

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр гематологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

Шерстнев Андрей Алексеевич

**Сравнительная клиническая и морфоиммуногистохимическая
характеристика разных стадий грибовидного микоза**

3.1.28. – гематология и переливание крови

3.3.2. – патологическая анатомия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор биологических наук Ковригина Алла Михайловна

кандидат медицинских наук Горенкова Лилия Гамилевна

МОСКВА – 2023 г.

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Актуальность работы.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1 Грибовидный микоз. Этиология, патогенез. Проблемы диагностики.	11
1.2 Т-клеточные популяции: функции, иммунофенотип.....	17
1.3 Т-хелперы 1-го и 2-го типа и их роль в патогенезе грибовидного микоза .	21
1.4 Т-клеточная популяция с T _{fh} -иммунофенотипом.....	24
1.5 Реактивное микроокружение опухолевого субстрата грибовидного микоза	26
1.6 Первичное кожное CD4-позитивное Т-клеточное лимфопролиферативное заболевание из мелких и средних клеток.....	29
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	32
2.1 Характеристика групп пациентов с грибовидным микозом	32
2.2 Методы исследования биоптатов кожи	34
2.3 Клинико-лабораторные данные и данные инструментального обследования	38
2.4 Молекулярно-генетическое исследование	39
2.5 Статистическая обработка данных	40
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	41
3.1.1 Клиническая характеристика групп пациентов с грибовидным микозом	41
3.1.2 Результаты молекулярно-генетических исследований биоптатов кожи у пациентов с грибовидным микозом	45
3.1.3 Патоморфологическая и иммуногистохимическая характеристика пятнистой стадии грибовидного микоза.....	47
3.1.4 Патоморфологическая характеристика бляшечной стадии грибовидного микоза.....	57

3.1.5 Патоморфологическая характеристика опухолевой стадии грибовидного микоза	66
3.2 Сравнительный клинико-патоморфологический анализ групп пациентов с разными стадиями грибовидного микоза	75
3.3 Клинико-патоморфологическая характеристика первичного кожного CD4-позитивного Т-клеточного лимфопролиферативного заболевания из мелких и средних клеток	88
3.4 Сопоставление грибовидного микоза и первичного кожного CD4-позитивного Т-клеточного лимфопролиферативного заболевания из мелких и средних клеток	93
3.5 Клинико-патоморфологическая характеристика пациентов грибовидным микозом до проведения терапии интерфероном α	98
3.6 Изменения морфологических и иммуногистохимических параметров у пациентов с ГМ в процессе терапии препаратами IFN α	101
3.7 Клинический случай первичного кожного CD4-позитивного Т-клеточного лимфопролиферативного заболевания из небольших и мелких и средних клеток	111
3.8 Клинический случай грибовидного микоза с крупноклеточной трансформацией в процессе терапии препаратами интерфероном альфа	114
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ.....	120
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	133
Практические рекомендации	134
ВЫВОДЫ	136
Список используемых сокращений	138
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	141

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

Грибовидный микоз (ГМ) – первичная эпидермотропная опухоль, характеризующаяся инфильтрацией атипичными лимфоидными клетками эпидермиса, дермы и гиподермы, с редкой внекожной генерализацией [121].

ГМ – наиболее распространенный тип первичных кожных Т-клеточных лимфом (около 50% первичных лимфом кожи (ЛК) и 65% Т-клеточных ЛК). Обычно наблюдается индолентное течение. Средний возраст больных – 55-60 лет.

Согласно современной классификации WHO-EORTC первичных Т-клеточных лимфом последнего пересмотра 2018г. выделяют следующие основные варианты ГМ: классический, фолликулотропный, педжетоидный ретикулез, синдром гранулематозной «вялой» кожи [121]. Вместе с тем, на практике встречается до 20 клинико-морфологических вариантов ГМ. Выбор тактики терапии и прогноз зависят от стадии заболевания.

В соответствии с клиническими проявлениями классического ГМ выделяют: пятнистую, бляшечную, опухолевую и эритродермическую стадии [5]. Диагноз устанавливается на основании совокупности клинико-anamnestических данных, результатов гистологического, иммуногистохимического, молекулярно-генетического исследований. До настоящего времени чётких критериев диагностики ранней стадии ГМ не разработано. Гистологический анализ и выбор панели иммуногистохимических маркеров для верификации диагноза ГМ зачастую опираются на индивидуальные подходы авторов и оказываются субъективными [71].

По имеющимся данным развитие ГМ представляет собой сложный процесс, в котором важная роль принадлежит генетической предрасположенности, нарушению иммунного надзора и/или воздействию неблагоприятных внешних факторов.

Известно, что неопухолевым аналогом клеток ГМ являются эффекторные Т-клетки памяти, в большинстве случаев CD4+. Клетки ранней стадии ГМ сохраняют способность к экспрессии хемокинового рецептора CXCR3 и транскрипционного фактора T-bet, характерных для CD4+ Th1 типа. На поздних стадиях ГМ, по мере накопления опухолевых клеток в коже, цитокиновый профиль смещается с Th1-типа на Th2 с экспрессией транскрипционного фактора GATA3 и хемокинового рецептора CCR4 [60; 97].

Определено, что STAT-сигнальная система (Signal Transducers and Activators of Transcription) играет центральную роль в патогенезе ГМ, участвуя в дифференцировке клеток Th1 и эволюции фенотипа Т-клеток от Th1 к Th2 [81].

Доказано, что обнаружение клона атипичных Т-клеток свидетельствует в пользу опухолевого характера заболевания [66]. Вместе с тем, в ряде случаев клональная перестройка лимфоидных клеток возможна и при реактивных состояниях (заболеваниях соединительной ткани, инфекционно-воспалительных процессах, неопухолевых дерматозах).

Таким образом, диагноз ГМ на ранних стадиях представляет определенные трудности и требует совершенствования диагностики с привлечением комплекса методов исследований: морфологического, иммуногистохимического, молекулярно-генетического. При этом основным для верификации диагноза по-прежнему остается гистологическое исследование.

В процессе эволюции ГМ изменения в клинической картине характеризуются различными полиморфными кожными высыпаниями, а при морфологическом исследовании – сменой характера роста лимфоидного инфильтрата с полосовидного на диффузный, увеличением размера и количества опухолевых клеток. На фоне терапии заболевания также определяются изменения: редукция опухолевого субстрата, гистоархитектоники, исчезновение или ослабление выраженности признаков, характерных для ГМ.

Установлено, что нарушение регуляции апоптоза является одним из основных признаков ГМ, а ведущим белком, индуцирующим апоптоз, служит PD-1 (programmed death-1), который экспрессируется на поверхности CD8+ Т-клеток

[78]. С другой стороны, PD-1, наряду с ICOS и CXCL13, относится к маркерам Tfh-иммунофенотипа. Tfh клетки обнаруживаются не только при ГМ, но и при вторичном вовлечении кожи в случае ангиоиммунобластой Т-клеточной лимфомы, а также при первичном кожном CD4+ Т-клеточным лимфопролиферативном заболевании из мелких и средних клеток (ПК CD4+ Т-ЛПЗ из мелких/средних клеток). Исследование экспрессии Tfh маркеров при первичных Т-клеточных лимфомах кожи и их значение в дифференциальной диагностике в настоящее время мало изучено [25].

Отмечено, что развитие и прогрессия грибвидного микоза во многом зависят от клеточного состава реактивного микроокружения. Реактивное микроокружение, представленное макрофагами M1 и M2, гистиоцитами, мелкими В-клетками, мастоцитами, может влиять на течение и прогноз заболевания. Однако роль микроокружения в этом процессе до конца не ясна [50].

Таким образом, исследование клинических, морфологических, иммуногистохимических особенностей опухолевого субстрата и реактивного микроокружения на разных стадиях ГМ позволит детализировать критерии диагностики и изучить дополнительные прогностические факторы заболевания.

Цель исследования – изучить клинические, морфологические, иммуногистохимические особенности опухолевого субстрата и реактивного микроокружения различных стадий грибвидного микоза, в том числе, в процессе терапии препаратами интерферона α .

Задачи исследования:

1. Изучить морфологические особенности опухолевого субстрата у пациентов с пятнистой, бляшечной и опухолевой стадией грибвидного микоза.
2. Выявить особенности иммунофенотипа пятнистой, бляшечной и опухолевой стадий грибвидного микоза с использованием антител к T-bet и CXCR3, GATA3 и CCR4.

3. Оценить признаки Tfh-иммунофенотипа у пациентов с пятнистой, бляшечной и опухолевой стадией грибovidного микоза с использованием антител к PD-1, ICOS, CXCL-13.

4. Уточнить критерии дифференциальной диагностики грибovidного микоза и первичного кожного CD4+ Т-клеточного лимфопролиферативного заболевания из мелких и средних клеток.

5. Оценить экспрессию PD-L1, CD30, CD68, CD163 и CD20 в клетках опухолевого субстрата на разных стадиях грибovidного микоза.

6. Изучить связь между морфологическим и иммуногистохимическим исследованием с использованием антител к CD30 с течением заболевания, ответом на терапию.

Научная новизна

Впервые на биопсийном материале опухолевых новообразований кожи с помощью гистологического и иммуногистохимического исследований дана сравнительная характеристика разных стадий грибovidного микоза с учетом экспрессии маркеров, характеризующих Th1 типа и Th2-типа, фолликулярные Т-клетки хелперы, различные популяции реактивного микроокружения.

Впервые определен критерий диагностики опухолевой стадии грибovidного микоза в зависимости от количества макрофагов M2.

Выделены морфологические и иммуногистохимические критерии дифференциальной диагностики грибovidного микоза с первичным кожным CD4+ Т-клеточным лимфопролиферативным заболеванием из мелких и средних клеток.

Охарактеризованы изменения клинических и морфологических признаков грибovidного микоза в процессе терапии препаратами интерферона альфа.

Практическая значимость

В диссертационной работе на основании совокупности клинико-анамнестических и инструментальных данных, результатов гистологического и

иммуногистохимического исследований с новых позиций охарактеризованы морфоиммуногистохимические особенности разных стадий грибвидного микоза.

Обнаруженная при проведении научного исследования выраженная экспрессия Tfh-маркеров позволяет отнести часть случаев грибвидного микоза к группе первичных кожных Т-клеточных лимфом с Tfh-иммунофенотипом, что может служить основой для разработки новых терапевтических подходов.

Применение, обоснованного в работе иммуногистохимического критерия с использованием антител к CD163, характеризующего M2 макрофаги реактивного микроокружения, позволит усовершенствовать диагностику опухолевой стадии грибвидного микоза на материале биоптатов кожи.

Предложенные критерии дифференциальной диагностики грибвидного микоза и первичного кожного CD4+ Т-клеточного лимфопролиферативного заболевания из мелких и средних клеток позволят повысить качество диагностической работы врача-патологоанатома.

Положения, выносимые на защиту

1. При сопоставлении клинических и морфологических изменений у пациентов с ГМ в процессе терапии препаратами интерферона α отмечено соответствие динамики, а также увеличение CD30-позитивных клеток как маркера активации собственного противоопухолевого иммунитета.

2. Изучение реактивного микроокружения, а именно, макрофагов M1 и M2, позволило выявить дополнительный критерий дифференциальной диагностики опухолевой стадии грибвидного микоза от пятнистой и бляшечной стадий.

3. Количество PD-1- и ICOS-позитивных клеток (медиана 30%), определяемое на разных стадиях грибвидного микоза, позволяет отнести часть случаев грибвидного микоза к группе первичных кожных Т-клеточных лимфом с Tfh-иммунофенотипом.

4. Количество PD-1- и ICOS-позитивных клеток, выраженность В-клеточной популяции, формирование PD-1-позитивных «розеткоподобных» структур, полиморфизм ICOS-позитивных клеток – дополнительные параметры дифференциальной диагностики грибovidного микоза и первичного кожного CD4+ Т-клеточного лимфопролиферативного заболевания из мелких и средних клеток в клинически сходных случаях.

Степени достоверности и апробации результатов

Достоверность полученных результатов основана на изучении достаточного объема научной литературы, методологии исследования, многоступенчатого статистического анализа данных.

Апробация работы состоялась 18 сентября 2023 года на заседании проблемной комиссии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России «Фундаментальные и клинические исследования в гематологии; проблемы клинической и производственной трансфузиологии» (протокол №9).

Анализ промежуточных результатов представлен в виде устного доклада «Клиническая и патоморфологическая характеристика разных стадий грибovidного микоза» на «XXII Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов» в Москве 20 – 23 сентября 2022 года; постерном докладе «Гистологические и иммуногистохимические характеристики биоптатов кожи у пациентов с грибovidным микозом в процессе терапии интерфероном альфа: оценка противоопухолевого ответа и предпосылки к новым вариантам лечения» на «VI Конгрессе гематологов России и III Конгрессе трансфузиологов России» в Москве 21 – 22 апреля 2022 г.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 4 работы, из них 2 статьи в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки и 2 тезисных сообщения (2 на русском языке).

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 157 страницах машинописного текста и включает разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение», «Практические рекомендации» и «Список литературы». Работа иллюстрирована 70 рисунками, содержит 35 таблиц. Список литературы включает 130 литературных источников: 11 отечественных и 119 зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Грибовидный микоз. Этиология, патогенез. Проблемы диагностики.

Первичные лимфомы кожи представляют собой гетерогенную группу лимфопролиферативных заболеваний НК/Т - и В-клеточной природы, которые на момент верификации диагноза характеризуются формированием лимфопролиферативных очагов в коже без вовлечения в процесс лимфатических узлов, костного мозга и внутренних органов [3].

Лимфомы кожи занимают 2-е место по частоте среди экстранодальных лимфом и представляют собой отдельный клинический и гистопатологический вариант лимфомы, отличающийся от соответствующих им нодальных аналогов не только по характеру течения и прогнозу, но и наличию специфических хромосомных aberrаций и экспрессии онкогенов.

В отличие от нодальных лимфом, среди которых преобладают В-клеточные, кожу чаще поражают Т-клеточные лимфомы. По имеющимся на сегодняшний день литературным данным 65% всех первичных лимфом кожи образуется из зрелых Т – клеток, 35% - из зрелых В–клеток.

Грибовидный микоз (ГМ), наиболее часто встречающийся вариант Т-клеточных лимфом кожи, является первичной эпидермотропной лимфомой, характеризующейся инфильтрацией атипичными лимфоидными клетками эпидермиса, дермы и, при опухолевой стадии, гиподермы, с возможностью вторичного внекожного распространения (лимфатические узлы, кровь, селезенка, легкие, печень) [123].

Общая заболеваемость первичными кожными Т-клеточными лимфомами (ПКТЛ) составляет 10,2 случаев на 1.000000 с тенденцией к увеличению [69]. Более половины случаев составляет грибовидный микоз с частотой заболеваемости 5,6 случаев на 1.000000 человек [69]. Грибовидному микозу более подвержены мужчины, чем женщины (М:Ж=5:1,6) [63]. Риск возникновения

ПКТЛ увеличивается с возрастом, средний возраст дебюта заболевания 55-60 лет. ГМ распространен среди всех этнических групп, однако, представители негроидной расы болеют чаще европеоидов (5:1,57) и имеют более низкий показатель выживаемости [63].

Первые упоминания о заболевании встречаются в научной литературе 1806г. Дерматологом Жан Луи Альбертом ГМ охарактеризован как заболевание, поражающее не только кожные покровы, но и внутренние органы, приводящее к летальному исходу [24].

Несмотря на то, что причины возникновения ГМ неизвестны, одной из ведущих гипотез является теория хронической антигенной стимуляции, впервые высказанная в 1974 году Tan et al [106]. Считается, что хроническая антигенная стимуляция способствует клональной экспансии Т-клеток и их злокачественной трансформации. ГМ в значительной степени является злокачественным новообразованием Т-клеток памяти [29]. Для выживания и пролиферации опухолевые Т-клетки используют дендритные клетки [22]. Наиболее частая клональная популяция Т-клеток характеризуется активацией гена *TRBV20-1*, который связан с распознаванием *S. aureus* [115]. Необходимо подчеркнуть, что у ряда пациентов с ГМ *S.aureus* способен действовать как суперантиген и стимулировать пролиферацию злокачественных Т-клеток [72]. На данный момент не найдено никаких наследственных/герминальных мутаций в патогенезе ГМ. Вместе с тем, пациенты с вульгарным псориазом или атопическим дерматитом, анамнез которых отягощен семейной наследственностью, имеют более высокий риск возникновения ГМ [47; 74]. Известно, что у большинства пациентов с ПКТЛ нет предшествующего кожного заболевания в анамнезе [47; 74]. Многие инфекционные агенты рассматривались в качестве этиологической причины возникновения ГМ, но противоречивые результаты не позволили надежно установить патогенетическую связь определенного возбудителя с развитием ПКТЛ [79; 80].

Согласно клиническим рекомендациям выделяют следующие стадии классического ГМ: пятнистую, бляшечную, опухолевую и эритродермическую [4;

5; 11; 73]. Каждая из указанных выше стадий характеризуется своеобразным элементом сыпи и площадью поражения тела.

Дифференциальная диагностика ГМ на ранней (пятнистой) стадии является трудной задачей, несмотря на существующие алгоритмы и методы исследования, и требует детального клинико-anamnestического обследования пациента [73]. Диагноз устанавливается на основании совокупности клинико-anamnestических данных, результатов гистологических, иммуногистохимических, молекулярно-генетических исследований [1; 11; 73]. Клиническая картина при ГМ может напоминать доброкачественные воспалительные дерматозы, а характерные гистологические особенности ГМ могут отсутствовать на ранней стадии заболевания даже при исследовании материала нескольких последовательно выполненных биопсий кожи [11; 73; 105].

Метод полимеразной цепной реакции, используемый для обнаружения клона Т-лимфоцитов в биопсийных образцах - клональной реаранжировки генов TCR, на ранней стадии заболевания имеет значительную частоту ложноотрицательных результатов [3; 11; 73]. Несмотря на длительное изучение ГМ, чётких критериев диагностики ранней стадии ГМ на данный момент не установлено [2; 73].

Современные клинические рекомендации выделяют следующие клинические признаки ГМ: стойкие, прогрессирующие пятна или бляшки на участках кожи, не подверженных солнечному излучению. К морфологическим проявлениям относят: поверхностный лимфоидный инфильтрат с признаками эпидермотропизма, лимфоидные клетки с признаками атипии; при иммуногистохимическом исследовании отмечается экспрессия CD3, CD4 и других пан-Т-клеточных маркеров, при этом в большинстве случаев определяется снижение экспрессии CD8 [2; 56]. Обязательным методом диагностики является молекулярная оценка Т-клеточной клональности [7; 9]. На сегодняшний день не существует специфичных диагностически значимых маркеров, которые позволяют верифицировать опухолевые Т-клетки среди доброкачественных Т-клеток лимфоидного инфильтрата кожи [2; 11; 73].

Одним из важных достижений в диагностике ГМ является применение высокопроизводительного секвенирования (HTS) гена TCRB с целью идентификации клона Т-клеток по аминокислотной последовательности его области CDR3 с более высокой чувствительностью по сравнению с традиционным ПЦР-исследованием генов TCR [101]. Данный метод диагностики показал свою эффективность при верификации ПКТЛ с группой доброкачественных воспалительных заболеваний, частота клона в клональных Т-клетках оценивается как доля от общего числа ядерных клеток [2; 68].

Стадирование ГМ было первоначально предложено Совместной группой ГМ Американского объединенного комитета по злокачественным заболеваниям (MF Cooperative Group of the American Joint Committee on Cancer) в 2007 году [65]. Международное общество по изучению кожных лимфом (International Society for Cutaneous Lymphomas – ISCL) и Европейская организация по исследованию и лечению рака (European Organization for Research and Treatment of Cancer – EORTC) предложили новые критерии стадирования, которые позже были подтверждены при исследовании одноцентровой когорты из 1502 пациентов [86].

При исследовании данной группы пациентов с ГМ были определены прогностические факторы, влияющие на выживаемость [12]. Доказано, что пожилой возраст связан с более высоким риском прогрессирования ГМ и более низким уровнем общей выживаемости. Кроме того, стадия заболевания, фолликулотропный вариант, крупноклеточная трансформация ГМ, высокий уровень лактатдегидрогеназы независимо связаны с риском прогрессирования болезни, ухудшением общей выживаемости [96]. Указанные выше факторы послужили основанием для оценки прогностического индекса, разработанного Международным консорциумом по кожным лимфомам (Cutaneous Lymphoma International Consortium) для пациентов с поздней стадией ГМ. Таким образом, возраст старше 60 лет, IV стадия ГМ, крупноклеточная трансформация и повышение уровня ЛДГ были объединены в 3-х уровневую прогностическую модель. Пациенты этих групп риска имели разные показатели 5-летней выживаемости: низкий риск (68%), средний риск (44%) и высокий риск (28%).

Одна из важных задач состоит в выявлении пациентов на ранней стадии заболевания, подверженных риску прогрессирования. Значительный прогресс в идентификации таких пациентов стал результатом работы Masson et al. [39]. В данном одноцентровом ретроспективном исследовании количественные показатели опухолевого клона Т-клеток в пораженной коже предсказывали риск развития заболевания и общую выживаемость пациентов на ранней стадии. Клональная популяция Т-клеток, превышающая 25%, является неблагоприятным предикторным фактором. Этот показатель превосходит прогностическую значимость выживаемости без прогрессирования по сравнению со стадией (IB против IA), наличием бляшек, повышенным уровнем ЛДГ, возрастом и наличием крупноклеточной трансформации. Кроме того, если пациенты с высоким риском прогрессирования заболевания, с учетом величины опухолевого клона, получали лучевую терапию и терапию, способную локально устранить злокачественное заболевание, то это приводило к увеличению общей выживаемости. Определение опухолевой клональной нагрузки с помощью секвенирования с высоким разрешением также оказалось важным для определения прогноза после трансплантации костного мозга [96].

Дифференциальная диагностика лимфопролиферативных заболеваний кожи на современном этапе является одной из самых сложных проблем патологической анатомии, что обусловлено:

1. неоднородностью группы пациентов;
2. возможностью развития в коже разнообразных доброкачественных лимфопролиферативных процессов, симулирующих истинный опухолевый процесс, что может создавать трудности при установлении диагноза, несмотря на наличие новых методов диагностики.
3. необходимостью использования сложных технологичных методов диагностики (иммуногистохимического, молекулярно-биологического и цитогенетического) с целью окончательной верификации диагноза.

Опухолевые клетки при ГМ обычно возникают из CD4⁺ Т-клеток памяти (также могут наблюдаться подтипы CD8⁺ и CD4⁻/CD8⁻).

ГМ, так же как и синдром Сезари, имеет разнообразные и сложные генетические нарушения, которые лучше всего изучены при синдроме Сезари [32]. Данные открытия включают обнаружение многих хромосомных аномалий, изменение количества соматических копий (somatic copy number variations - SCNV); при этом 92% всех мутаций возникает вследствие SCNV [32]. Хромосомные нарушения чаще всего возникают на хромосомах 8, 10 и 17 [32; 115]. Хромосомные структурные перестройки более чем в 65% случаях демонстрируют, по крайней мере, одну хромотриписис-подобную перестройку (тип комплексных геномных изменений, при которых хромосома сначала разрывается на множество частей, с последующим соединением этих фрагментов в случайном порядке). Хромосомная нестабильность может быть благоприятной из-за аномального механизма репарации ДНК, активации эндонуклеаз RAG, нарушения контроля клеточного цикла и широко распространенного гипометилирования ДНК [32; 88].

Исследование профиля экспрессии генов 220-х пациентов с ПКТЛ выявило 55 драйверных мутаций и 14 биологически значимых сигналов путей [103]. Среди найденных биологически значимых путей присутствуют те, что участвуют в активации Т-клеток, их функционировании, дифференцировке, выживаемости и пролиферации [81; 96, 102]. Большинство генов затронуто вследствие смены SCNV [26; 96]. Среди ПКТЛ соматические мутации внутри генов менее распространены [115]. Оценка открытых участков хроматина используется для прогнозирования участков связывания факторов транскрипции в образцах ПКТЛ при сопоставлении их с доброкачественными Т-клетками хозяина и Т-клетками здорового донора [92].

Пациенты с ГМ подвержены повышенному риску бактериальной инфекции, особенно на поздних стадиях заболевания, из-за нарушения кожного барьера участками изъязвления, а также подавлением местного и системного иммунного ответа на патогены [19]. Иммуносупрессия напрямую связана с опухолевой Т-клеточной нагрузкой и частично обусловлена аномалиями сигнального пути JAK/STAT [84; 115]. Микроокружение опухоли смещается от фенотипа Т-

хелперов 1-го типа к фенотипу Т-хелперов 2-го типа в процессе эволюции заболевания [52; 114]. Эти эффекты обратимы при истощении опухолевых Т-лимфоцитов [52].

Лечение ГМ во многих случаях требует привлечения специалистов разного профиля, поскольку сочетает в себе кожную (местную) и системную терапию [42]. Несмотря на то, что ISCL/EORTC предлагает разные методы лечения ГМ, эффективных, обеспечивающих устойчивый ответ, мало [110]. Частота ответа при таргетной терапии, по опубликованным данным, варьируется от 30% до 67%, полный – не превышает 41% [6; 110]. Традиционные курсы химиотерапии обеспечивают более высокий уровень ответа на лечение, но длительность его кратковременна, прогноз значительно хуже [30; 57; 128]. Традиционная немиелоаблативная трансплантация аллогенных стволовых клеток – единственное возможное средство излечения от ПКТЛ, позволяет достигнуть 5-летний уровень выживаемости 46% [38; 41]. Применение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток крови группой авторов (Weng et al.) показало общий уровень ответа 90% при 2-летней OS и PFS 76% и 50%, соответственно, причем констатирована низкая частота реакций «трансплантат против хозяина» (РТПХ) (23% пациентов с острой РТПХ II – IV степени и 23% с хронической РТПХ через 2 года) [118]. Смертность вследствие РТПХ, или вторичного злокачественного новообразования через 1 год, составила 3% [118]. Важным предиктором успешной трансплантации является степень ремиссии, достигнутая до трансплантации аллогенных стволовых клеток крови.

1.2 Т-клеточные популяции: функции, иммунофенотип

Созревание Т-клеток происходит в тимусе. Т-клетки обладают способностью экспрессировать Т-клеточный рецептор Т-клеток. В зависимости от возможности экспрессии гликопротеина CD8 или гликопротеина CD4, Т-клетки делятся на две популяции: CD8⁺ Т-клетки и CD4⁺ Т-клетки [47].

В свою очередь, клетки CD4⁺ дифференцируются в различные популяции Т-клеток хелперов: Т-хелперы 1-го типа, Т-хелперы 2-го типа, Т-хелперы 9-го типа, Т-хелперы 17-го типа, Т-хелперы 22-го типа, Т-регуляторные клетки (Treg) и Т-фолликулярные хелперные Т-клетки (Tfh) (Рисунок 1) [51]. Каждая клеточная популяция характеризуется уникальным цитотоксическим профилем. Вышеперечисленные популяции CD4⁺ Т-клеток играют решающую роль в функциях иммунного и эффекторного ответа. CD4⁺ Т-хелперы взаимодействуют с В-клетками, макрофагами, дендритными клетками, что приводит к уничтожению внеклеточных антигенов [35]. Все CD4⁺ Т-хелперы дифференцируются из наивных CD4⁺ Т-клеток под влиянием специфичных цитокинов. Наивные Т-клетки находятся в крови или лимфатических узлах [35]. При первом взаимодействии наивных CD4⁺ Т-клеток с главным комплексом гистосовместимости I типа, содержащего антиген, в лимфатических узлах, дренирующих кожу, происходит дифференцировка в эффекторные Т-клетки. CD4⁺ эффекторные Т-клетки начинают экспрессировать кожный лимфоцитарный антиген (CLA) и хемокиновый рецептор С-С 4 (CCR4) [35]. При уничтожении антигена эффекторные Т-клетки дифференцируются в Т-клетки памяти [34; 35; 116]. Т-клетки памяти кожи – это клетки с иммунофенотипом CCR4⁺/CCR7⁺/L-селектин⁺, которые циркулируют в коже, крови и лимфатических узлах [117]. CD4⁺ резидентные Т-клетки памяти кожи обладают иммунофенотипом CCR4⁺/CLA⁺/CCR7⁻/L-селектин⁻ и редко покидают кожу [36]. CD4⁺ Т-циркулирующие клетки памяти, обладающие экспрессией CCR4⁺/CLA⁺/CCR7⁺, но отсутствием экспрессии L-селектина, представляют промежуточный фенотип [117].

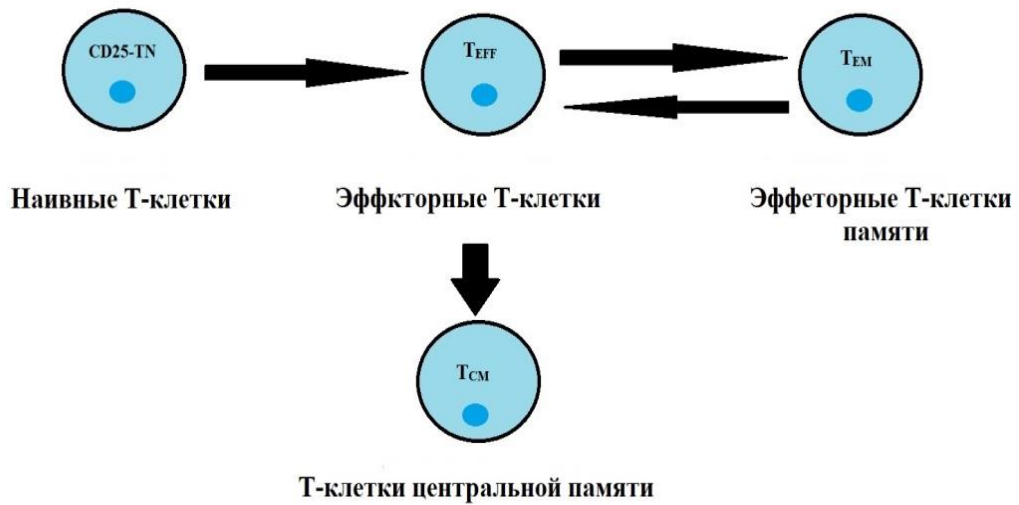


Рисунок 1 – Схема дифференцировки CD4+ эффекторных клеток

Наивные CD8+ клетки при взаимодействии с главным комплексом гистосовместимости II типа, созревают в цитотоксические CD8+ Т-клетки. CD8+ Т-клетки возникают из наивных Т-клеток, которые дифференцируются в Т-клетки памяти (Рисунок 2) [51]. Т-клетки памяти можно разделить на Т-клетки центральной памяти и Т-клетки эффекторной памяти [95]. CD8+ Т-клетки центральной памяти экспрессируют CD62L и CCR7 и участвуют в миграции CD8+ клеток в лимфатические узлы, и быстром ответе при повторном воздействии антигена [28]. У CD8 + Т-клеток эффекторной памяти отсутствует CD62L, вследствие чего данные клетки могут мигрировать в ткани и органы, и немедленно выполнять свою функцию [28]. Во время стимуляции антигеном CD8+ Т-клеток центральной памяти и CD8+ Т-клеток эффекторной памяти происходит пролиферации и дифференцировка этих клеток в цитотоксические CD8+ Т-клетки (CD62L -) [119]. Основной задачей цитотоксических CD8+ Т-клеток является элиминация вирусных патогенов и опухолевых клеток.

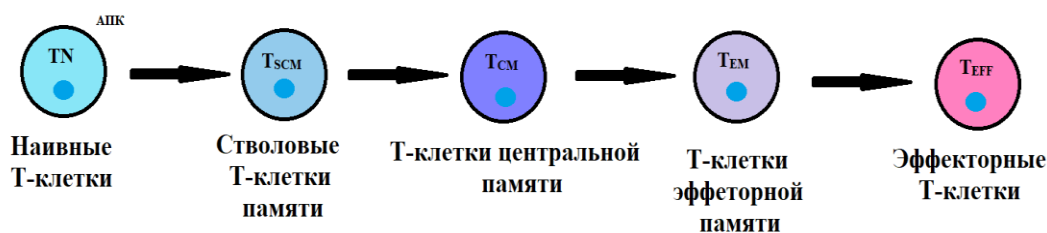


Рисунок 2 – Схема дифференцировки CD8⁺ эффекторных клеток

Т-клетки обычно присутствуют в неизменной коже человека. В среднем кожа взрослого человека содержит около 20 миллиардов Т-клеток [36]. Большинство из них является Т-клетками памяти; менее 5% — наивными [10]. Campbell et al. показали, что опухолевые Т-клетки при ГМ — это CCR4⁺ /CLA⁺ /L-селектин- /CCR7⁻ (резидентные Т-клетки памяти кожи) [29]. Резидентные Т-клетки памяти кожи относятся к немигрирующим популяциям и клинически у пациентов с ГМ формируют области поражения кожи с фиксированными границами [34; 117].

Имунофенотип Т-клеточных популяций кожи представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Иммунофенотип Т-клеточных популяций кожи

Группы	Название Т-клеточной популяции	Иммунофенотип
CD4+	наивные Т-клетки	CD4+, TCR+
	эффекторные Т-клетки	CD4+, TCR+, CCR4+
	эффекторные Т-клетки памяти	CD4+, TCR+, CCR7+, L-селектин+
	резидентные Т-клетки памяти	CD4+, TCR+, CCR4+, CLA+, CCR7-, L-селектин-
	миграционные Т-клетки памяти	CD4+, TCR+, CCR4+, CLA+, CCR7+, L-селектин-
CD8+	наивные Т-клетки	CD8+, TCR+
	цитотоксические Т-клетки	CD8+, TCR+, CD62L-
	Т-клетки центральной памяти	CD8+, TCR+, CCR7+, CD62L+
	эффекторные Т-клетки памяти	CD8+, TCR+, CCR7+, CD62L-

1.3 Т-хелперы 1-го и 2-го типа и их роль в патогенезе грибovidного микоза

CD4+ Т-хелперы имеют решающее значение для функционирования иммунной системы, так как выполняют множество задач, необходимых для реализации иммунного надзора и защиты организма от воздействия чужеродных патогенов. В основе этой мультизадачности лежит способность наивных CD4+ Т-хелперов дифференцироваться в различные эффекторные Т-клетки, которые обладают способностью устранять угрозы для организма. Иммунная система человека работает таким образом, что антиген стимулирует определенную цитокиновую среду, которая, в свою очередь, активирует сигнальные пути, опосредованные транскрипционными факторами, участвующими в дифференцировке Т-клеток хелперов по определенному пути развития. Этот

механизм лежит в основе дихотомии Т-хелперов 1-го типа – Т-хелперов 2-го типа, согласно которой интерлейкин-12 (ИЛ) индуцирует экспрессию фактора транскрипции T-bet (TBX21), который в свою очередь, опосредует дифференцировку IFN γ -секретирующих клеток Т-хелперов 1-го типа. Т-хелперы 1-го типа принимают участие в клеточно-опосредованном противовирусном и противомикробном иммунитете. ИЛ-4, в свою очередь, индуцирует фактор транскрипции GATA3 и последующую дифференциацию продуцирующих ИЛ-4 клеток Т-хелперов 2-го типа, задача которых – устранение внеклеточных патогенов. На данный момент среди эффекторных Т-клеток хелперов выделяют Т-хелперы 17-го типа, Т-хелперы 22-го типа, Т-регуляторные клетки (Treg) и Т-фолликулярные хелперные Т-клетки (Tfh) [40; 76].

Таким образом, CD4⁺ Т-хелперы при взаимодействии с антигенами и цитокинами дифференцируются в специфичные Т-клетки эффекторы. Данная особенность позволяет иммунной системе адекватно реагировать на различные патогены [127]. Дифференцировка CD4⁺Т-хелперов в Т-эффекторные хелперы 1-го типа и хелперы 2-го типа контролируется факторами транскрипции T-bet и GATA3, соответственно. Индукция экспрессии T-bet вызывает дифференцировку Т-хелперов 1-го типа, тогда как потеря T-bet стимулирует пролиферацию Т-хелперов 2-го типа и Т-хелперов 17-го типа, что приводит к нарушению защитных функций организма. Дефекция GATA3, в свою очередь, предотвращает дифференцировку наивных CD4⁺ Т-клеток в Т-хелперы 2-го типа [23; 44]. Избыточная экспрессия GATA3 в Т-хелперах 1-го типа преобразует Т-хелперы 1-го типа в Т-хелперы 2-го типа.

ГМ рассматривается как заболевание Т-хелперов 2-го типа, часто сопровождающееся эозинофилией и высоким уровнем иммуноглобулина Е в сыворотке крови. На поздних стадиях ГМ опухолевые клетки в очаге поражения имеют фенотип Т-хелперов 2-го типа и характеризуются увеличением выработки ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10 и ИЛ-13 [81; 114]. Однако цитокиновые паттерны Т-хелперов 2-го типа минимальны на ранних стадиях ГМ из-за высокого уровня интерферона, синтезируемого Т-хелперами 1-го типа [81]. His et al. также изучили соотношение

Т-хелперов 1-го типа и Т-хелперов 2-го типа при ГМ путем окрашивания Th1- и Th2-специфическими транскрипционными факторами, T-bet и GATA3, соответственно [62]. В соответствии с вышеизложенными данными, неопластические Т-клетки на стадии пятна показали заметно повышенную положительную экспрессию T-bet (Th1) при минимальной экспрессии GATA3 (Th2) [62]. На стадии бляшки опухолевый субстрат ГМ имел смешанный фенотип T-bet/GATA3, тогда как стадия опухоли демонстрировала диффузную экспрессию GATA3. Прогрессирование ГМ может быть ускорено снижением числа Т-хелперов 1-го типа, которые продуцируют IFN, поскольку IFN обладает противоопухолевой активностью против субстрата ГМ [101]. Было высказано предположение, что накопление опухолевых клеток с течением времени зависит от устойчивости их к апоптозу, а не за счет повышения пролиферативной активности опухолевого субстрата ГМ. В соответствии с этим утверждением Gu et al. продемонстрировали, что BCL11B, фактор транскрипции устойчивости к апоптозу, экспрессируется в повышенных количествах при прогрессии ГМ в сравнении с доброкачественными воспалительными заболеваниями кожи [55].

Подавляющее большинство лимфоидных клеток опухолевого субстрата при ГМ на стадиях пятна и бляшки экспрессирует хемокиновый рецептор CXС 3 (CXCR3). Хемокиновые лиганды CXС 9 (CXCL), CXCL10 и CXCL11, которые высвобождаются из кератиноцитов, фибробластов, клеток Лангерганса, связываются с CXCR3, могут играть решающую роль в адгезии и маскировке клеток ГМ на ранней стадии в коже, несмотря на экспрессию опухолевыми клетками СС хемокинового рецептора 4 (CCR) [70; 81]. CCR4 известен как рецептор, характерный для хемокинового профиля Т-хелперов 2-го типа. Хемокиновый лиганд СС (CCL17) является лигандом CCR4 и известен как биомаркер кожных заболеваний, в патогенезе которых основную роль играют Т-хелперы 2-го типа. При ГМ CCR4 экспрессируется также клетками Лангерганса и эндотелиальными клетками [67]. Используя новый набор для чувствительного окрашивания CCR4, Sugaya et al. продемонстрировали, что CCR4 экспрессируется на опухолевых клетках в пораженной коже на пятнистой, бляшечной и

опухолевой стадии, а количество клеток, обладающих положительной экспрессией, увеличивается по мере прогрессирования заболевания [100].

1.4 Т-клеточная популяция с Tfh-иммунофенотипом

Tfh-клетки были впервые описаны более 10 лет назад как CD4⁺ Т-клетки, расположенные в В-клеточных областях вторичных лимфоидных фолликулов и обладающие иммунофенотипом CD3⁺/CD4⁺/PD-1⁺/CXCL-13⁺/ICOS⁺/Vcl6⁺/CD10⁺ [25; 26]. Способность Tfh-клеток покидать область Т-клеток и локализоваться в В-клеточном лимфоидном фолликуле обеспечивается за счет одновременной экспрессии хемокинового рецептора CXCR5 хоминговой зоны В-клеток и подавления хемокинового рецептора CCR7 хоминговой зоны Т-клеток. Эта непосредственная близость к В-клеткам позволяет Tfh-клеткам поддерживать их активацию, размножение и дифференцировку [58]. Эта «помощь» опосредована экспрессией таких молекул, как CD40L, и цитокинов, например, ИЛ-21. Первые сообщения о Tfh-клетках детерминировали их анатомическое расположение, но более поздние исследования показали существование их циркулирующих аналогов.

У пациентов с ГМ молекулы «иммунных контрольных точек» являются перспективными диагностическими и прогностическими маркерами. Наличие локальной и системной иммуносупрессии хорошо выражено во время прогрессии заболевания [71]. Высокое число CD8-позитивных Т-клеток, составляющих реактивное микроокружение при ГМ, обеспечивает более длительную выживаемость [113]. Гены, связанные с «иммунными контрольными точками», часто изменяются в опухолевом субстрате у пациентов с ГМ, что поддерживает представление о важной роли развития иммунной системы пациента [111]. PD-1 и его лиганды (PD-L1 и PD-L2) в настоящее время являются наиболее изученными и используемыми молекулами иммунных контрольных точек.

PD-1 опосредует ингибирующие сигналы, которые блокируют активацию и пролиферацию Т-клеток [130]. Антитела, направленные на блокировку PD-1, могут частично восстанавливать функцию PD-1+ Т-клеток и, соответственно, могут быть эффективны при различных злокачественных новообразованиях [109]. У пациентов с ГМ Т-клетки, циркулирующие в организме и проникающие в кожу, экспрессируют высокий уровень PD-1 [31]. Высокие уровни лиганда PD-L1 также обнаружены у пациентов с ГМ, при котором экспрессия PD-L1, вероятно, увеличивается в процессе прогрессирования лимфомы и коррелирует с усилением иммуносупрессивного микроокружения [66]. Однако экспрессия PD-1 и/или PD-L1 также может быть обнаружена в других подгруппах Т-клеток. Регуляторные Т-клетки могут экспрессировать PD-1, что делает их негативным медиатором Treg-клеток. Таким образом, блокада PD-1 может усиливать подавляющие функции Treg-клеток, что препятствует иммунному ответу организма на злокачественные новообразования [108]. Механизм на самом деле устроен более сложно, если учесть, что опухолевые клетки ГМ, в некоторых случаях имеют фенотип Treg и, как было показано, способны подавлять пролиферацию Т-клеток *in vitro*. Экспрессия PD-1 также связана с так называемым фенотипом истощения, который характеризуется нарушением функций Т-клеток, повышением активности ингибирующих молекул и снижением продукции эффекторных цитокинов и цитотоксической активности [48; 93]. Действительно, как лимфоциты, присутствующие в реактивном микроокружении, так и опухолевые клетки пациентов с ГМ потенциально обладают истощенным PD-1-позитивным фенотипом, что ведет к снижению иммунного надзора и приобретению фенотипического профиля «уклонения от иммунного надзора» [82]. Высокая экспрессия PD-1, обнаруженная в ПКТЛ, привела к клиническим исследованиям, изучающим использование антител, направленных на ингибирование PD-1 у пациентов с ГМ [31].

Индукцируемый костимулятор Т-клеток (ICOS) – это гомодимерный белок с молекулярной массой приблизительно 55-60 кДа, который был первоначально обнаружен на поверхности Т-клеток при стимуляции Т-клеточного рецептора

(TCR) в 1999 году. Наиболее важная биологическая роль костимуляции ICOS заключается в создании и поддержании герминативных центров (GCs) в лимфатических узлах, Т-зависимой помощи В-клеток и переключении классов антител. Это связано с ролью ICOS в дифференцировке и активации Т-клеток в Т-фолликулярные хелперы (T_{fh}), миграции CXCR5-позитивных T_{fh}-позитивных клеток от границы мантийной зоны лимфоидных фолликулов в фолликул. ICOS опосредует дифференцировку T_{fh}-позитивных клеток благодаря активации PI3K, что способствует постоянной миграции Т-клеток. Кроме того, стимуляция ICOS индуцирует, с одной стороны, секрецию IL-21 в T_{fh}-позитивных клетках, а с другой стороны, экспрессию CXCR5, которые необходимы как для дифференцировки, так и для поддержания T_{fh}-позитивных клеток, центров размножения лимфоидных фолликулов и, следовательно, дифференцировки В-клеток. Дефицит ICOS вызывает общую переменную иммунную недостаточность, вирусные и оппортунистические инфекции и злокачественные опухолевые процессы [16; 75].

1.5 Реактивное микроокружение опухолевого субстрата грибовидного микоза

При гистологическом исследовании опухолевого инфильтрата при ПКТЛ кроме опухолевых Т-клеток большое значение имеют клеточные элементы реактивного микроокружения. К ним относятся: CD8-позитивные Т-клетки, T_{reg}, дендритные клетки, макрофаги и тучные клетки. На ранней стадии грибовидного микоза инфильтрат состоит преимущественно из Т-хелперов 1-го типа и CD8-позитивных Т-клеток [53; 112]. Большая доля Т-клеток реактивного микроокружения была обнаружена в образцах биоптатов кожи пациентов на ранней стадии заболевания при сравнении с более поздними стадиями ГМ. Дополнительно была обнаружена закономерность между высоким количеством CD8-позитивных Т-клеток и повышением общей выживаемости при ПКТЛ [61]. FOXP3+ T_{reg} также коррелировали с более высокой выживаемостью при

грибовидном микозе и неутонченных ПКТЛ. Treg и T-клетки, составляющие реактивное микроокружение опухолевого лимфоидного инфильтрата, могут способствовать противоопухолевому ответу. Количество этих клеток значительно снижается при прогрессии ГМ [13; 33].

Клетки ГМ обладают высокой тропностью не только к клеткам эпидермиса, но и к клеткам Лангерганса, формируя вокруг них кластеры (микроабсцессы Потрие) [49]. Доказано, что опухолевые клетки ГМ росли в долговременных культурах при совместном культивировании с незрелыми дендритными клетками. В поддержку этих результатов выдвинута гипотеза о том, что рост клеток ПКТЛ осуществляется за счет взаимодействия между пептидами класса главного комплекса гистосовместимости II типа на дендритных клетках и TCR на опухолевых T-клетках. Опухолевые T-клетки могут способствовать выживанию CD40-позитивных дендритных клеток за счет лиганда CD40L на опухолевых T-клетках [22]. Есть также доказательства того, что отсутствие стимуляции дендритных клеток, или блокирование экспрессии главного комплекса гистосовместимости II типа дендритными клетками с характерным Treg-подобным фенотипом, не ингибирует пролиферацию опухолевых T-клеток [124]. Следовательно, дендритные клетки, вероятно, участвуют в патогенезе ГМ, активируются под воздействием опухолеспецифических антигенов и способствуют неконтролируемой пролиферации злокачественного клона [124].

Макрофаги играют ключевую роль в иммунитете человека. Они отвечают за воспалительную реакцию и восстановление поврежденных тканей. Кроме того, макрофаги играют важную роль в развитии опухолей и инвазии при злокачественных новообразованиях человека, но мало известно об их патогенной роли при ПКТЛ. Различают две категории макрофагов: M1 и M2. M1 макрофаги (активированные) принимают участие в провоспалительных реакциях, продуцируют ИЛ-6, ИЛ-12 и фактор некроза опухоли, и элиминируют патогены. M2 макрофаги (альтернативно активированные), в свою очередь, играют важную роль в противовоспалительных реакциях, а также восстанавливают поврежденные ткани [8; 64]. Отмечено, что количество клеток CD163+ в пораженной коже при

ПКТЛ, атопическом дерматите или псориазе было значительно больше, чем в нормальной контрольной группе [99]. Другое исследование продемонстрировало, что число CD163⁺ или CD68⁺ клеток у пациентов с ПКТЛ увеличивалось по мере того, как в инфильтрате определялась пролиферация опухолевых Т-клеток, в то время как количество макрофагов уменьшалось на фоне терапии местными глюкокортикостероидами и ПУВА [99]. Было продемонстрировано, что истощение M2-подобных опухолеассоциированных макрофагов, экспрессирующих широкий спектр противовоспалительных молекул, таких как IL-10, TGF- β и аргиназа, задерживает развитие кожной лимфомы в ксенотрансплантатах ПКТЛ человека у мышей с дефектом иммунной системы [125]. Эти исследования дают основание предполагать, что макрофаги могут иметь значение в развитии ГМ, а их взаимодействие с неопластическими Т-клетками подлежат дополнительному изучению.

В ряде опубликованных статей отмечается значительная активация инфильтрирующих В-клеток при ГМ в сравнении с неопухолевыми дерматитами [65]. Функциональная роль ассоциированных с опухолью В-клеток микроокружения ГМ до конца не изучена, но, вероятно, что, как и при различных солидных опухолях (например, раке легких, молочных желез и яичников), присутствие В-клеток служит положительным прогностическим фактором [83]. Прогностическое влияние В-клеток, инфильтрирующих опухоль, при ГМ с признаками крупноклеточной трансформации требует углубленного изучения. Опубликованы результаты, демонстрирующие заметный клинический регресс и стойкую полную ремиссию ГМ, при терапии анти-CD20-антителом (ритуксимаб) [107]. Кроме того, у пациентов было обнаружено истощение В-клеток, T-regs, а также опухолевых CD4⁺ клеток, в то время как количество цитотоксических Т-клеток в реактивном микроокружении возрастало [107].

Таким образом, ГМ обладает крайне вариативными клиническими, морфологическими, иммуногистохимическими проявлениями, в том числе экспрессией Tfh-иммунофенотипа, разнообразным реактивным микроокружением, и его следует дифференцировать с другими опухолевыми Tfh-

позитивными заболеваниями, в том числе первичным кожным CD4+ Т-клеточным лимфопролиферативным заболеванием из мелких и средних клеток.

1.6 Первичное кожное CD4-позитивное Т-клеточное лимфопролиферативное заболевание из мелких и средних клеток

Первичное кожное CD4-позитивное Т-клеточное лимфопролиферативное заболевание из мелких и средних клеток (ПК CD4+ Т-ЛПЗ из мелких/средних клеток) – новая нозология среди Т-клеточных лимфом, впервые упомянутое в классификации ВОЗ 2008г., характеризуется, чаще всего, единичными новообразованиями (крайне редко - множественными пятнами) на коже лица, шеи и верхней части туловища [123].

Первая информация о ПК CD4+ Т-ЛПЗ из мелких/средних клеток появилась в обновленной Кильской классификации (1986-1992 г.) и была обозначена как «плеоморфная первичная Т-клеточная лимфома из мелких клеток» [120]. В классификации первичных лимфом кожи EORTC 1997 г. указанная нозология была отнесена к плеоморфной Т-клеточной лимфоме из мелких/средних клеток [121]. В 2008 г. в классификации ВОЗ опухолей гемопозитической и лимфоидной природы ПК CD4+ Т-ЛПЗ из мелких/средних клеток было описано как «первичная кожная CD4+ Т-клеточная лимфома» с пан-Т-клеточным иммунофенотипом, индолентным течением [20]. Впоследствии, с расширением знаний о Т-хелперах и фолликулярных Т-клетках, с учетом развития молекулярных и иммунофенотипических технологий, в лимфоидной популяции ПК CD4+ Т-ЛПЗ из мелких/средних клеток был выявлен Tfh-иммунофенотип. Вместе с тем генетические аномалии/мутации в генах, свойственные нодальным Т-клеточным лимфомам с иммунофенотипом Tfh, обнаружены не были. На основе полученных данных высказано предположение, что ограниченный клональный ответ неизвестной этиологии, представленный в первичной кожной CD4+ Т-клеточной лимфоме, не отвечает критериям злокачественности, данные

кожные поражения имеют неопределенный злокачественный потенциал, и нозология была отнесена к первичным кожным Т-клеточным лимфопролиферативным заболеваниям [104; 122].

ПК CD4+ Т-ЛПЗ из мелких/средних клеток встречается редко, составляет около 2% среди всех Т-клеточных лимфом кожи. Этиология и патогенез заболевания на данный момент до конца не изучены. Основным элементом ПК CD4+ Т-ЛПЗ из мелких/средних клеток являются CD4+ Tfh-клетки.

Клинически ПК CD4+ Т-ЛПЗ из мелких/средних клеток представлены небольшими солитарными пятнисто-папулезными новообразованиями.

Прогноз заболевания благоприятный. Возможна спонтанная ремиссия после иссечения новообразования или выполнения биопсии [17, 46]. В дифференциальный диагностический ряд ПК CD4+ Т-ЛПЗ из мелких/средних клеток входят такие нозологические формы как: ГМ, первичные Т-клеточные лимфомы, кожная лимфоидная гиперплазия (В- и Т-клеточная псевдолимфома кожи) и первичная кожная лимфома из клеток маргинальной зоны [14; 21; 94].

Таким образом, ПК CD4+ Т-ЛПЗ из мелких/средних клеток является новой нозологической единицей, этиология, патогенез и прогноз которой требуют дальнейшего изучения. Так как, ПК CD4+ Т-ЛПЗ из мелких/средних клеток находится в одном дифференциальном ряду с ГМ, наиболее частой встречающейся ПКТЛ, то изучение различий между этими нозологиями является актуальной задачей.

Таким образом, как показал анализ литературы последних лет, диагностика ГМ осложнена крайне разнообразными клиническими и морфологическими проявлениями. Четкие критерии для выявления ранней стадии ГМ на данный момент не сформулированы. Изучение механизмов развития ГМ, выделение новых нозологических форм и разработка дополнительных дифференциально-диагностических критериев обуславливают необходимость дальнейших исследований, а также и дифференцировки с новыми нозологиями. Кроме того, остаются спорными ряд вопросов, в том числе, и в отношении диагностической ценности морфоиммуногистохимического исследования при оценке особенностей

течения и исхода грибвидного микоза. С целью ответа на них и была выполнена данная работа.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Характеристика групп пациентов с грибовидным микозом

Для формирования групп проанализированы результаты обследования 180 пациентов с установленным в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России диагнозом ГМ за период с 2017 по 2021гг. с использованием лабораторной информационной системы (ЛИС) патологоанатомического отделения. Локализации выполненных биопсий кожи были выбраны лечащими врачами пациентов.

По результатам первичной селекции отобран 51 биоптат кожи больных с диагнозом ГМ на основании следующих критериев:

- большой объем диагностического материала;
- наличие сопроводительной медицинской документации.

На втором этапе отбора полученный материал проанализирован «слепым методом» в соответствии с критериями «Классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей ВОЗ 2017 года» и сопоставлен с клиническими данными. На основании вышеуказанных современных критериев диагностики ГМ все больные были разделены на три группы:

- 1 группа с пятнистой стадией – 18 пациентов;
- 2 группа с бляшечной стадией – 19 пациентов;
- 3 группа с опухолевой стадией – 14 пациентов.

Пациенты с эритродермической стадией ГМ составили малочисленную группу, поэтому не были включены в исследование.

Проспективно сформирована 4-я группа в составе 15 пациентов с установленным диагнозом ГМ, которые на базе ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России получали терапию препаратами интерферона альфа (IFNa) с контрольной оценкой эффективности лечения через 3-6 месяцев и более 6 месяцев терапии. Полученный нами биопсийный материал был разделен на три подгруппы: 1 – до терапии, 2 – через 3-6 месяцев терапии, 3 – более 6 месяцев от начала терапии.

С целью изучения Tfh-популяции и сопоставления с пациентами с ГМ сформирована 5-я группа больных с установленным диагнозом: Первичное кожное CD4+ лимфопролиферативное заболевание из мелких и средних клеток. Всего проанализировано 28 биоптатов. Отбор биоптатов проводился в соответствии с критериями:

- большой объем диагностического материала;
- наличие сопроводительной медицинской документации.

Дизайн исследования схематично представлен на Рисунке 3.



Рисунок 3 – Дизайн исследования с указанием числа пациентов, групп сравнения

2.2 Методы исследования биоптатов кожи

Морфологическое, иммуногистохимическое исследование на материале биоптатов кожи проводилось в патологоанатомическом отделении ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (зав. отд. д.б.н. А.М. Ковригина). Расширенные исследования с использованием морфологического, гистохимического и иммуногистохимического исследований были выполнены на срезах парафиновых блоков 62 биоптатов кожи. Для проведения морфологического исследования использовалось окрашивание гематоксилином и эозином.

Изготовление гистологических препаратов.

- Фиксация биоптата костного мозга в 10% формалине забуференном в течение 12 часов.
- Проводка материала: обезвоживание в спиртах и насыщение формалином с использованием автомата для гистологической обработки тканей Leica PelorisII.
- Погружение блоков в парафин с использованием модульного заливочного центра EG1150C.
- Микротомия (3-4 микрон) с использованием микротомы Leica RM2235
- Стандартная окраска гематоксилином и эозином.
- Заключение гистологических препаратов под покровное стекло производилась в аппаратах Leica ST5020 и Leica CV5030.
- Микроскопия гистологических, гистохимических и иммуногистохимических препаратов проводилась на световом микроскопе Leica 3000.

Анализ гистологических препаратов

При морфологическом исследовании полуколичественным методом оценивались следующие морфологические признаки [56; 90]:

- Дискератоз (да/нет);

- Вакуольная дистрофия кератиноцитов (да/нет);
- Удлинение эпидермальных сосочков (да/нет);
- Состояние сосочкового слоя (отек сосочкового слоя, фиброз сосочкового слоя);
 - Характер роста инфильтрата (полосовидный, периваскулярный, очаговый, диффузный);
 - Объем лимфоидного инфильтрата (скудный (менее 100 клеток при увеличении x400), умеренный, выраженный);
 - Наличие гистиоцитов (да/нет);
 - Наличие зрелых плазматических клеток (да/нет);
 - Наличие нейтрофильных гранулоцитов (да/нет);
 - Наличие эозинофильных гранулоцитов (да/нет);
 - Наличие меланофагов (да/нет);
 - Наличие ангиоматоза (да/нет);
 - Наличие эластоза (да/нет);
 - Лимфоидная инфильтрация ретикулярного слоя дермы (да/нет);
 - Лимфоидная инфильтрация стенок сосудов (да/нет);
 - Лимфоидная инфильтрация придатков кожи (да/нет);
 - Лимфоидная инфильтрация волосяных фолликулов (да/нет);
 - Лимфоидная инфильтрация гиподермы (да/нет).

Методика иммуногистохимического исследования

Иммуногистохимическое исследование проведено с использованием иммуностейнера Leica Bond-Max, реакций с антителами к T-bet, GATA3, CCR4, CXCR3, PD-1, ICOS, CXCL13, CD20, CD68, CD163, CD30, PD-L1. Характеристика антител представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Характеристика антител, примененных в исследовании

Наименование	Клон	Производитель	Разведение	Визуализация
CXCR3	PA5-33457	Invitrogen	1:80	Мембранная реакция
CCR4	PA5-32697	Invitrogen	1:100	Мембранная реакция
T-bet	368R-75	Cell Marque	1:100	Ядерная реакция
GATA3	390M-15	Cell Marque	1:100	Ядерная реакция
PD-1	315M-96	Cell Marque	1:20	Мембранная реакция
ICOS	MA5-16415	Invitrogen	1:100	Мембранная реакция
CXCL-13	MAB801-500	Abcam RD Systems	1:10	Dot-like цитоплазматическая реакция
CD20	NCL-L-CD20-L26	Leica	1:100	Мембранная реакция
CD68	PA0273	Leica	RTU Bond	Мембранная реакция
CD163	163M-16	Cell Marque	1:50	Мембранная реакция
CD30	NCL-L-CD30-591	Leica	1:50	Мембранная/цитоплазматическая реакция
PD-L1	MABC1120-100UG	Cell Marque	1:25	Мембранная реакция

Антитела к CD3, CD4, CD8, относящиеся к рутинным диагностическим маркерам, в данном исследовании не использовались, так как основная задача состояла в изучении новых иммуногистохимических маркеров в биоптатах кожи, характеризующих популяции фолликулярных Т-клеток-хелперов, Th1 типа и Th2 типа.

Стандартный протокол окраски в иммуностейнере

С помощью микротомы с парафиновых блоков выполнены срезы толщиной 3 мкм и монтированы на предметные положительно заряженные стекла Leica Bond Plus Slides.

Стекла высушены при температуре 37°C в течение 12 часов, затем при температуре 60°C в течение 30-60 мин

Окрашивание проводилось на иммуностейнере Leica Bond-Max по стандартной методике «IHC protocol F» с применением готовой системы детекции. Титр наносимых антител и pH буфера для демаскировки антигенов были определены опытным путем. Заключительная проводка включала в себя поэтапное инкубирование срезов в этаноле и ксилоле.

Заключение срезов под покровные стекла проводилось с использованием специальной среды Surgipath Sub-X Leica с помощью аппарата Leica CV5030.

Анализ иммуногистохимических препаратов

При иммуногистохимическом исследовании с антителами к T-bet, GATA3, CCR4, CXCR3, PD-1, ICOS, CXCL13, PD-L1, CD30 оценивалась доля позитивных лимфоидных Т-клеток среди клеток лимфоидного инфильтрата (полуколичественная оценка с интервалом в 5%).

При иммуногистохимическом исследовании с антителами к CD20 оценивалась доля CD20-позитивных лимфоидных В-клеток среди клеток лимфоидного инфильтрата (полуколичественная оценка с интервалом в 5%).

При иммуногистохимическом исследовании с антителами к CD68 оценивалась доля CD68-позитивных макрофагов M1 среди клеток лимфоидного инфильтрата (количественное исследование клеток среди клеток лимфоидного инфильтрата в 5 полях зрения, увеличение x400).

При иммуногистохимическом исследовании с антителами к CD163 оценивалась доля CD163-позитивных макрофагов M2 среди клеток лимфоидного инфильтрата (количественное исследование клеток среди клеток лимфоидного инфильтрата в 5 полях зрения, увеличение x400).

С использованием 2-х вышеописанных методов исследования для решения поставленной научной задачи всего изготовлено и проанализировано 62 гистологических, 612 иммуногистохимических препарата.

2.3 Клинико-лабораторные данные и данные инструментального обследования

Клинико-anamnestические и лабораторно-инструментальные данные получены на базе научно-клинического отделения химиотерапии лимфатических опухолей с блоком трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток с дневным стационаром ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (зав. отд., к.м.н. Я.К. Мангасарова), а также отдела диагностики и лечения гематологических заболеваний (зав. отделом, к.м.н. А.В. Кохно) – клинико-диагностического отделения гематологии и химиотерапии с дневным стационаром (зав. отд., к.м.н. Т.Н. Моисеева).

Во всех случаях проведено сопоставление морфологической картины в биоптатах кожи со следующими клинико-лабораторными, инструментальными данными обследования:

- клинические проявления заболевания;
- длительность анамнеза;
- проведенная терапия;

Для изучения клинических проявлений заболевания использовалась шкала mSWAT (Severity Weight Assessment Tool – модифицированная шкала оценки тяжести поражения кожи). Шкала является одним из наиболее применяемых методик оценки поражения кожи при ПКТЛ, в том числе и ГМ, наряду с общей классификацией TNMB, и позволяет оценить площадь поражения тела пациента каждым типом элемента (пятно, бляшка, опухолевый узел), провести сопоставление с объемом поражения в динамике, а также оценить эффективность проведенной терапии. Единицу измерения составляет площадь кожи, равная «одной ладони». Каждый элемент имеет своё балльное значение. Формула подсчета mSWAT представлена суммой баллов (площадь поражения кожи каждым элементом) [98].

2.4 Молекулярно-генетическое исследование

Определение Т-клеточной клональности методом ПЦР

Молекулярно-генетическое исследование проведено в лаборатории молекулярной гематологии ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (зав. лаб., д.б.н. А.Б. Судариков). Определение Т-клеточной клональности проводили по реаранжировкам генов цепей Т-клеточного рецептора, TCRG ($V\gamma$ -J γ). В части случаев при отсутствии TCRG, или при сомнительной реакции, определение Т-клеточной клональности проводили по реаранжировкам генов TCRB ($V\beta$ -J β , D β -J β) с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с мультиплексными системами праймеров BIOMED-2. Для фрагментного анализа ПЦР-продуктов использовали автоматический анализатор нуклеиновых кислот Нанофор 05 (Россия) и капиллярный электрофорез высокого разрешения на полимере ПДМА-6 (ЗАО Синтол, Россия). Флуоресценция амплификатов и их профиль (распределение по длинам) оценивались при помощи компьютерной программы GeneMapper v. 4.0 (Applied Biosystems, USA).

2.5 Статистическая обработка данных

Для сопоставления клинические, лабораторные, молекулярно-генетические данные, а также результаты морфологического и иммуногистохимического исследования внесены в сводную таблицу.

Статистический анализ полученных данных проведен при взаимодействии с информационно-аналитическим отделом ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (зав. отд., к.т.н. С.М. Куликов). В работе использованы классические методы статистического анализа: описательный, частотный, корреляционный, событийный.

Анализ проводился с использованием статистического пакета SAS 9.4.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1.1 Клиническая характеристика групп пациентов с грибвидным микозом

Группу с пятнистой стадией грибвидного микоза составили 18 пациентов (Рисунок 4). Медиана возраста 59 лет (возрастной диапазон 28-73 года), соотношение М:Ж 1:1,25. Длительность заболевания - от 1 месяца до 50 лет (медиана 72 месяца).



Рисунок 4 – Пациент Г. 67 лет. Пятнистая стадия ГМ

У пациентов с пятнистой стадией ГМ коэффициент mSWAT составил от 0 до 40 баллов у 8 пациентов. Коэффициент mSWAT от 40 до 80 баллов у 4 пациентов. Коэффициент mSWAT от 80 до 120 у 6 пациентов (Рисунок 5).

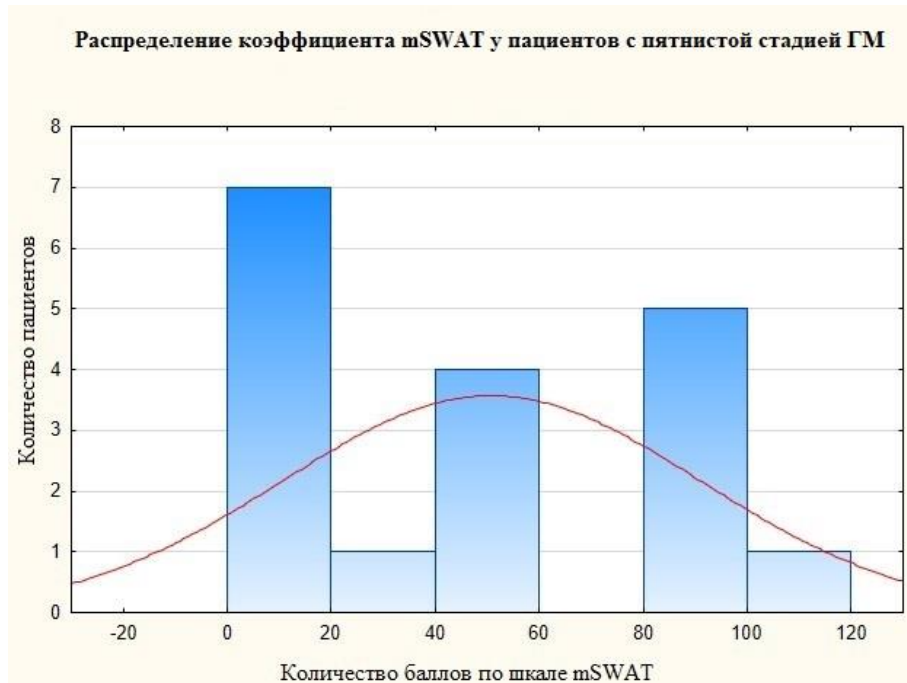


Рисунок 5 – Распределение коэффициента mSWAT у пациентов с пятнистой стадией ГМ

В группу пациентов с бляшечной стадией ГМ вошло 19 человек, с соотношением мужчин и женщин 1,375:1, медианой возраста 56 лет (возрастной диапазон от 19 до 80 лет) (Рисунок 6). Длительность заболевания у данной группы составляла от 6 месяцев до 32 лет (медиана 84 месяца).



Рисунок 6 – Пациентка А. 64 года. Бляшечная стадия ГМ

У пациентов с бляшечной стадией ГМ коэффициент mSWAT составил от 0 до 40 баллов у 8 пациентов. Коэффициент mSWAT от 40 до 80 баллов у 4 пациентов. Коэффициент mSWAT от 80 до 120 у 7 пациентов (Рисунок 7).



Рисунок 7 – Распределение коэффициента mSWAT у пациентов с бляшечной стадией ГМ

В группу пациентов с опухолевой стадией грибвидного микоза вошло 14 человек (Рисунок 8). Медиана возраста пациентов – 60,5 лет (от 50 до 80 лет), соотношение мужчин и женщин 2,5:1. Длительность заболевания – от 1 до 23 лет (медиана 90 месяцев).



Рисунок 8 – Пациентка С. 58 лет. Опухолевая стадия ГМ

У пациентов с опухолевой стадией ГМ коэффициент mSWAT составил от 0 до 40 баллов у 8 пациентов (Рисунок 9). Коэффициент mSWAT от 40 до 80 баллов у 4 пациентов. Коэффициент mSWAT от 80 до 140 у 2 пациентов.

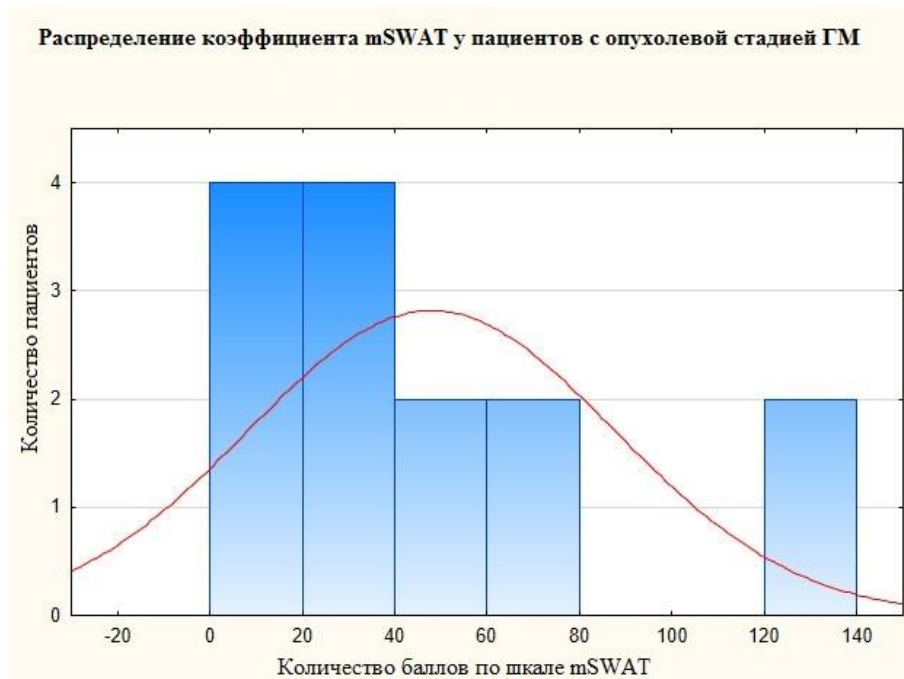


Рисунок 9 – Распределение коэффициента mSWAT у пациентов с опухолевой стадией ГМ

3.1.2 Результаты молекулярно-генетических исследований биоптатов кожи у пациентов с грибовидным микозом

У пациентов с пятнистой стадией ГМ исследование реаранжировки генов γ -цепей TCR проведено 16/18 пациентам, β -цепей – 8/18 пациентам. У 13/16 (81,25%) пациентов выявлена Т-клеточная клональность по γ - или β -цепям TCR, а именно: в 9/16 (56,3%) случаях выявлена реаранжировка генов γ -цепей; В у 8/10 (80%) пациентов - реаранжировка генов β - цепей. У 6/18 пациентов отмечалась реаранжировка генов γ - и β -цепей TCR. У остальных пациентов при обнаружении Т-клеточной клональности по одной из цепей TCR, исследование клональности по генам другой цепи TCR не проводилось.

Результаты ПЦР-исследования у пациентов с пятнистой стадией ГМ представлены в Таблице 3.

Таблица 3 – Результаты молекулярно-генетического исследования пациентов с пятнистой стадией ГМ.

Клональная реаранжировка генов цепей TCR	Есть	Нет	Всего
γ	9	7	16
β	8	2	10
γ и β	6	-	-

При проведении ПЦР-исследования в группе с бляшечной стадией ГМ клональная реаранжировка γ -цепей TCR обнаружена у 14/19 (73,7%) больных, β -цепей у 7/19 (31,6%) больных. У 17/19 (89,47%) пациентов выявлена клональность γ - или β -цепей. У 7/19 (31,6%) отмечалась реаранжировка генов γ - и β -цепей TCR одновременно. Не проведено дополнительное ПЦР-исследование на наличие реаранжировки генов второй цепи TCR: 1 пациенту – с реаранжировкой генов γ -цепей TCR; 10 пациентам – с реаранжировкой генов β -цепей TCR

Данные молекулярно-генетического исследования у пациентов с бляшечной стадией ГМ представлены в Таблице 4.

Таблица 4 – Результаты молекулярно-генетического исследования у пациентов с бляшечной стадией ГМ.

Клональная реаранжировка генов цепей TCR	Есть	Нет	Всего
γ	14	3	17
β	7	2	9
γ и β	7	-	-

При проведении ПЦР-исследования на наличие клональной реаранжировки генов цепей TCR у пациентов с опухолевой стадией ГМ выявлена T-клеточная клональность по γ -цепям в 10/14 (71,4%) случаях, и β -цепям - в 4/14 (28,6%) случаях. У 11/14 (78,57%) пациентов выявлена клональность реаранжировки генов γ - или β -цепей. У 4/14 отмечалась реаранжировка генов γ - и β -цепей TCR. Данные ПЦР-исследования у пациентов с опухолевой стадией ГМ представлены в таблице 8. Не проведено дополнительное ПЦР-исследование: 3 пациентам – с реаранжировкой генов γ -цепей TCR, 10 пациентам – с реаранжировкой генов β -цепей TCR.

Результаты молекулярно-генетического исследования у пациентов с бляшечной стадией ГМ представлены в Таблице 5.

Таблица 5 – Результаты молекулярно-генетического исследования у пациентов опухолевой стадией ГМ

Клональная реаранжировка генов цепей TCR	Есть	Нет	Всего
γ	10	1	11
β	4	0	4
γ и β	4	-	-

Только у 3/51 (5,9%) пациентов не было выявлено клональной реаранжировки при ПЦР-исследовании по обеим цепям TCR.

3.1.3 Патоморфологическая и иммуногистохимическая характеристика пятнистой стадии грибовидного микоза

При проведении гистологического исследования в биоптатах кожи обнаружены следующие изменения.

Роговой слой эпидермиса в 8/18 (44,4%) наблюдениях был представлен с признаками ортокератоза, в 2/18(11,1%) – с явлениями гипер-ортокератоза, в 4/18 (22,2%) – с признаками паракератоза, в 4/18 (22,2%) – с явлениями гипер-паракератоза. Гранулярный слой был в норме в 15/18 (83,3%) случаях, гранулез отмечался в 3/18 (16,7%) случаях. Явления акантоза были представлены в 14/18 (77,8%) случаях. Спонгиоз встречался примерно в половине случаев (10/18, 55,6%), как и признаки экзоцитоза (8/18, 44,4%).

Эпидермотропизм был обнаружен в большинстве наблюдений (16/18, 88,9%), однако, его выраженность была переменна: в 4/18 (22,2%) случаях присутствовали отдельные клетки, в 5/18 (27,8%) – формировались «цепочки» клеток в базальном слое эпидермиса, в 9/18 (50%) случаев были выражены массивные признаки эпидермотропизма. Микроабсцессы Потрие визуализировались в 6/18 (33,3%) случаях (Рисунок 10).

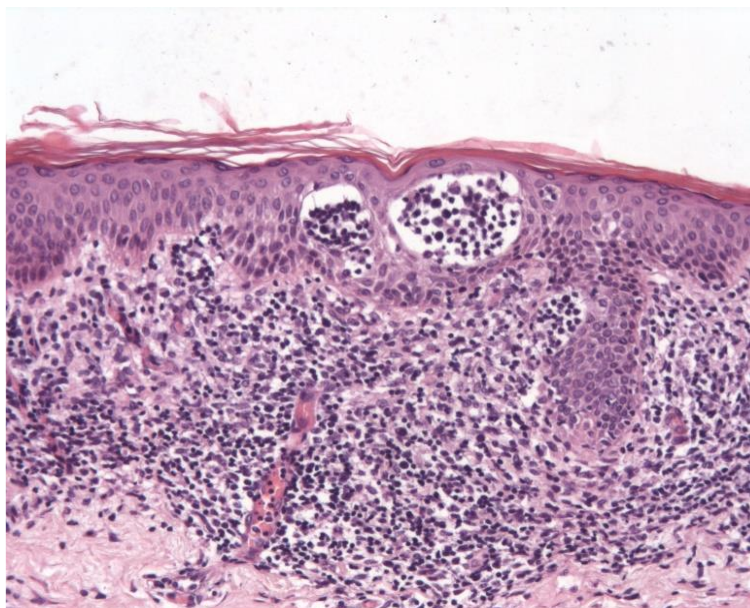


Рисунок 10 – Биоптат кожи пациента с грибковидным микозом. Микроабсцессы Потрие. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x200

Вакуольная дистрофия кератиноцитов представлена в 8/18 (44,4%) случаях, признаки дискератоза кератиноцитов – в 3/18 (16,7%).

В исследованных препаратах лимфоидный инфильтрат отмечался в сосочковом слое в биоптатах кожи всех пациентов 18/18 (100%), у 9/18 (50%) пациентов был поражен ретикулярный слой. Гиподерма не была вовлечена ни в одном случае. Лимфоидный инфильтрат представлен клетками небольшого и среднего размера, с неправильной формой ядер. В 6/18 (33,3%) случаях лимфоидная инфильтрация была скудной, в 7/18 (38,9%) – умеренно выраженной, в 5/18 (27,8%) – выраженной. Характер роста лимфоидного инфильтрата: 9/18 – периваскулярный (50%), 5/18 (27,8%) – полосовидный, очаговый характер роста – 4/18 (22,2%) случаях (Рисунок 11).

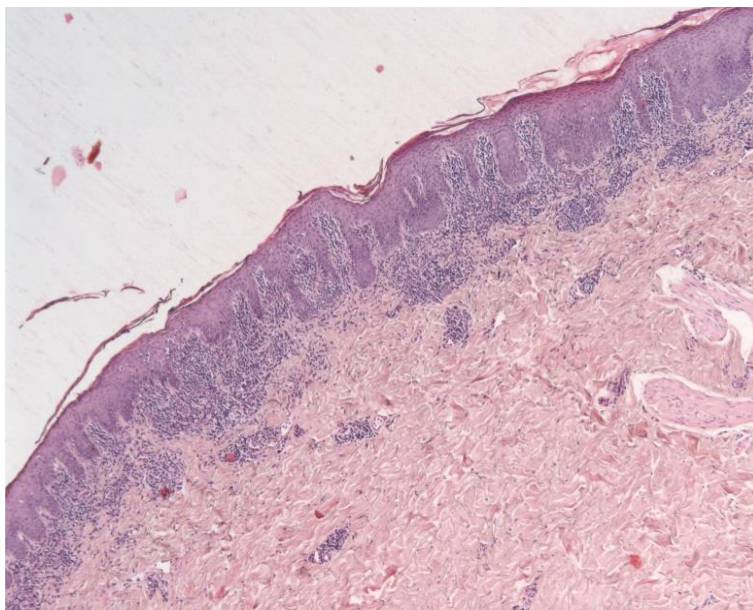


Рисунок 11 – Биоптат кожи пациента с грибковым микозом, пятнистой стадией. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x50

Реактивное микроокружение было представлено преимущественно гистиоцитами (17/18, 94,4%). В части случаев присутствовали плазмоциты (9/18), нейтрофильные гранулоциты (4/18, 22,2%), эозинофильные гранулоциты (3/18, 16,7%). В 5/18 (27,8%) случаях в сосочковом слое дермы встречались меланофаги.

Клетки лимфоидного инфильтрата поражали стенки сосудов в 3/18 (16,7%) случаях. Волосные фолликулы были поражены в 5/18 (27,8%) случаях. Потовые и сальные железы были сохранены во всех случаях (18/18, 100%).

При проведении иммуногистохимического исследования в группе пациентов с пятнистой стадией ГМ были выявлены следующие признаки:

Среди пациентов с пятнистой формой заболевания количество Т-bet-позитивных клеток менее 10% наблюдалось у 55,6% пациентов, количество Т-bet-позитивных клеток в диапазоне от 10% до 20% – у 33,3% пациентов, количество Т-bet-позитивных клеток $\geq 20\%$ – у 11,1% пациентов (Рисунок 12).

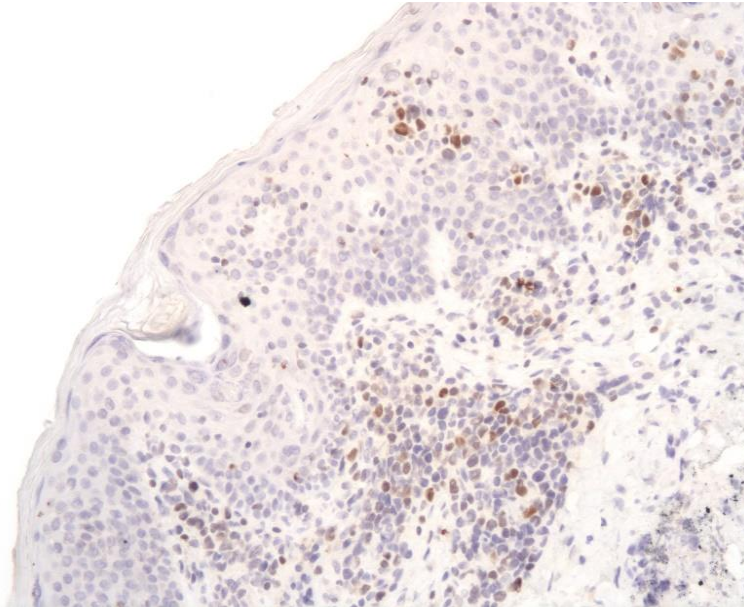


Рисунок 12 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия T-bet у пациентов с пятнистой стадией грибовидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

Количество CXCR3-позитивных клеток менее 80% наблюдалось у 11,1% пациентов, количество CXCR3-позитивных клеток в диапазоне от 80% до 90% – у 66,7% пациентов, количество CXCR3-позитивных клеток более 90% – у 22,2% пациентов (Рисунок 13).

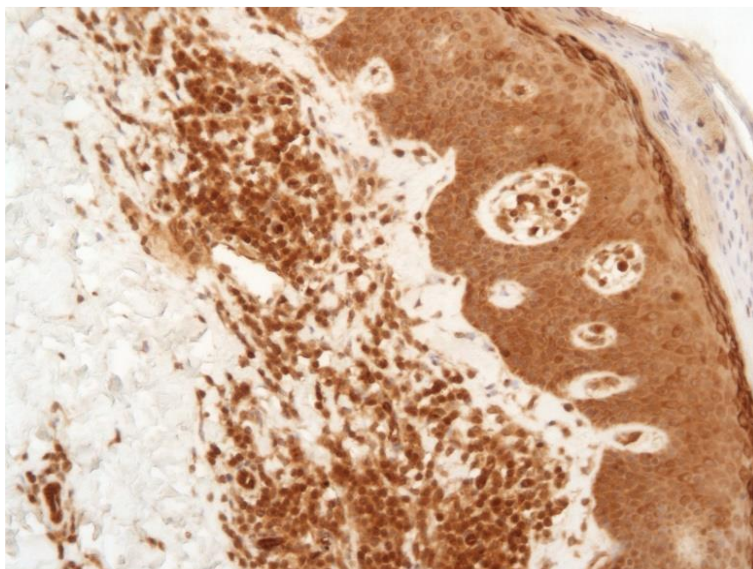


Рисунок 13 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия CXCR3 у пациентов с пятнистой стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x200

Количество GATA3-позитивных клеток менее 40% наблюдалось у 27,8% пациентов, количество GATA3-позитивных клеток в диапазоне от 40% до 70% – у 50,0% пациентов, количество GATA3-позитивных клеток $\geq 70\%$ – у 22,2% пациентов (Рисунок 14).

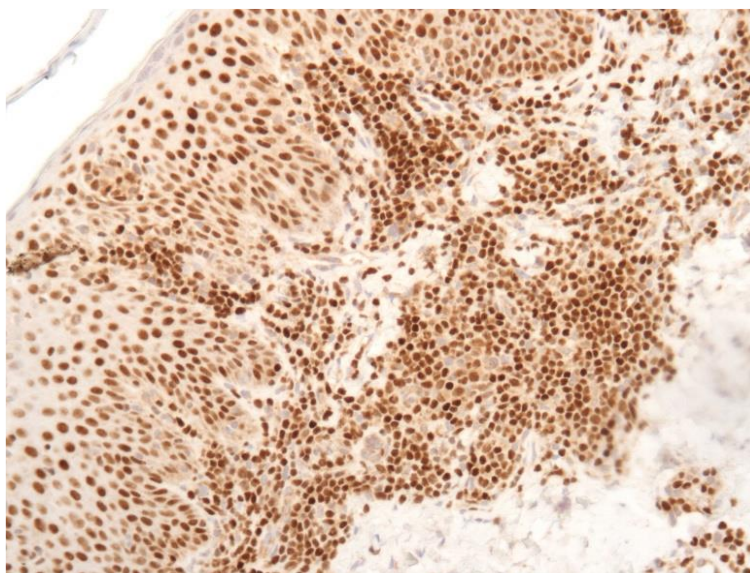


Рисунок 14 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия GATA3 у пациентов с пятнистой стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x200

Количество CCR4-позитивных клеток менее 30% наблюдалось у 38,9% пациентов, уровень количество CCR4-позитивных клеток в диапазоне от 30% до 70% – у 33,3% пациентов, количество CCR4-позитивных клеток \geq 70% – у 27,8% пациентов (Рисунок 15).

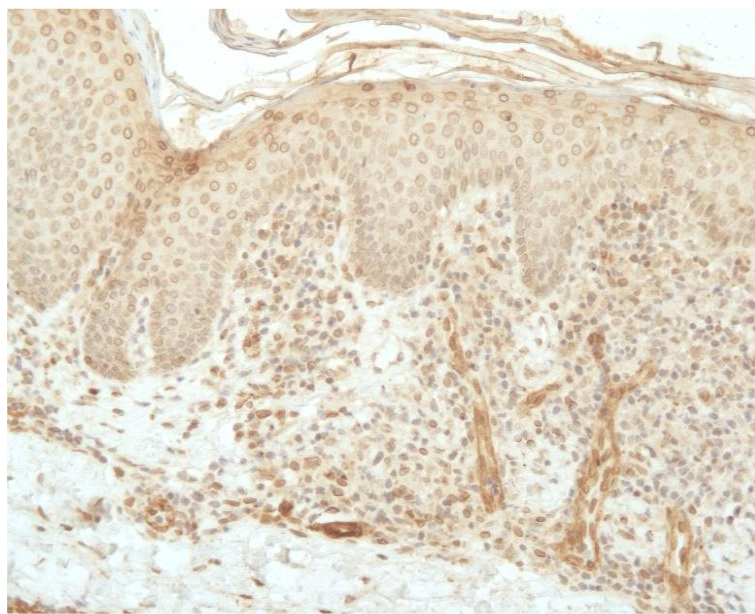


Рисунок 15 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия CCR4 у пациентов с пятнистой стадией грибовидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x200

Количество PD-1-позитивных клеток менее 20% наблюдалось у 27,8% пациентов, количество PD-1-позитивных клеток в диапазоне от 20% до 50% – у 44,4% пациентов, количество PD-1-позитивных клеток \geq 50% – у 27,8% пациентов. Количество ICOS-позитивных клеток менее 20% наблюдалось у 50,0% пациентов, количество ICOS-позитивных клеток в диапазоне от 20% до 50% – у 33,3% пациентов, количество ICOS-позитивных клеток \geq 50% – у 16,7% пациентов (Рисунок 16).

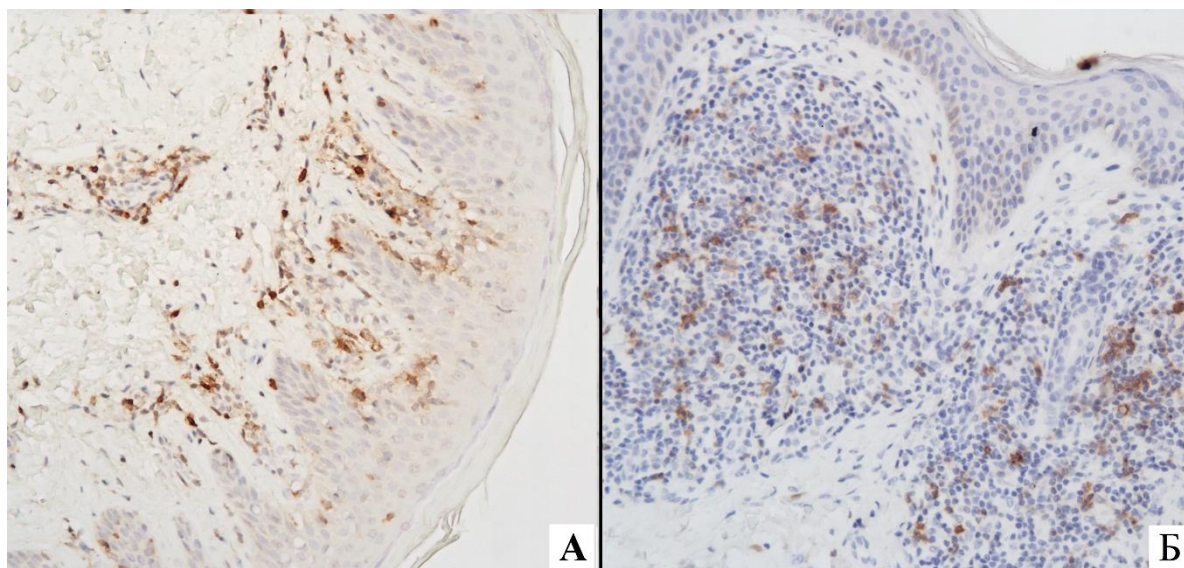


Рисунок 16 – Биоптат кожи пациента. А) Экспрессия PD-1 у пациентов с пятнистой стадией грибовидного микоза. Б) Экспрессия ICOS у пациентов с пятнистой стадией грибовидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x200

Количество CXCL13-позитивных клеток менее 6% наблюдалось у 77,8% пациентов, количество CXCL13-позитивных клеток в диапазоне от 6% до 20% – у 11,1% пациентов, количество CXCL13-позитивных клеток $\geq 20\%$ – у 11,1% пациентов (Рисунок 17).

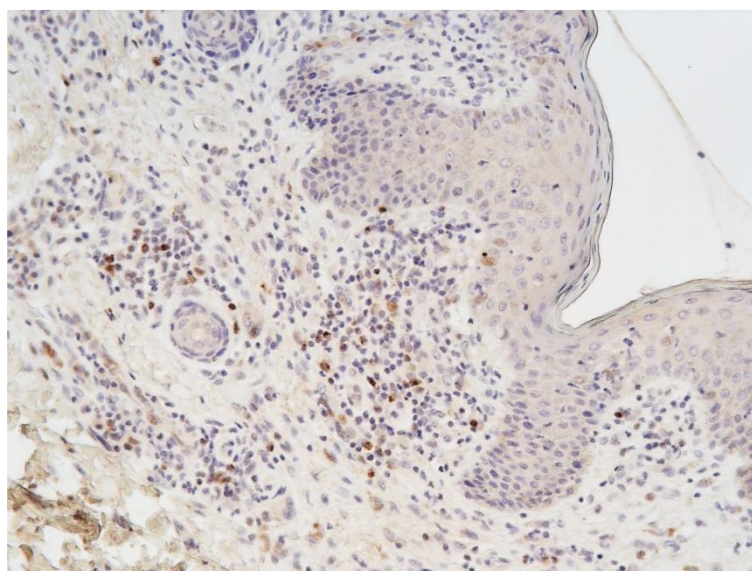


Рисунок 17 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия CXCL13 у пациентов с пятнистой стадией грибовидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x200

При исследовании иммуногистоархитектоники Tfh-позитивные клетки располагались преимущественно разрозненно и в виде скоплений разного размера.

Количество CD20-позитивных клеток менее 10% наблюдалось у 55,6% пациентов, количество CD20-позитивных клеток в диапазоне от 10% до 20% – у 33,3% пациентов, количество CD20-позитивных клеток $\geq 20\%$ – у 11,1% пациентов (Рисунок 18). Количество CD30-позитивных клеток менее 10% наблюдалось у 16,7% пациентов, количество CD30-позитивных клеток в диапазоне от 15% до 20% – у 66,7% пациентов, количество CD30-позитивных клеток $\geq 20\%$ – у 16,7% пациентов (Рисунок 19). Количество PD-L1-позитивных клеток менее 15% наблюдалось у 55,5% пациентов, количество PD-L1-позитивных клеток в диапазоне от 15% до 30% – у 27,8% пациентов, количество PD-L1-позитивных клеток $\geq 30\%$ – у 16,7% пациентов (Рисунок 20).

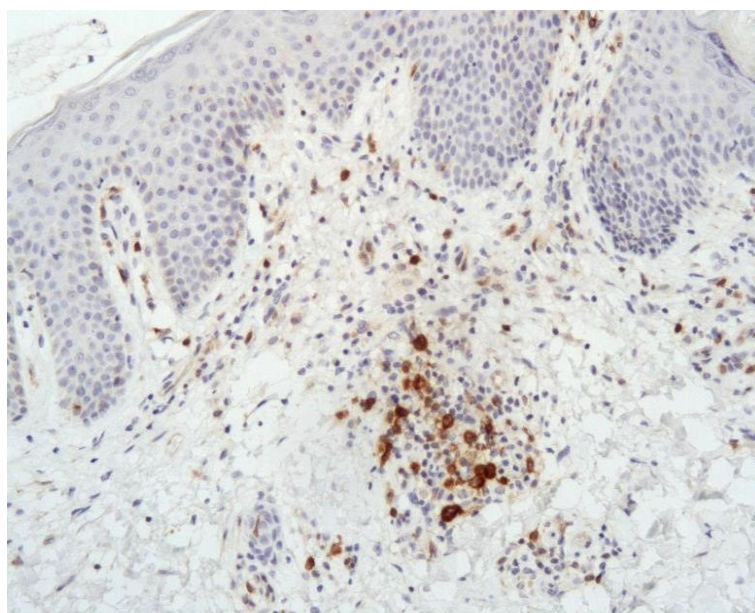


Рисунок 18 – Биоптат кожи пациента. Визуализация CD20-позитивных клеток у пациентов с пятнистой стадией грибовидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x200

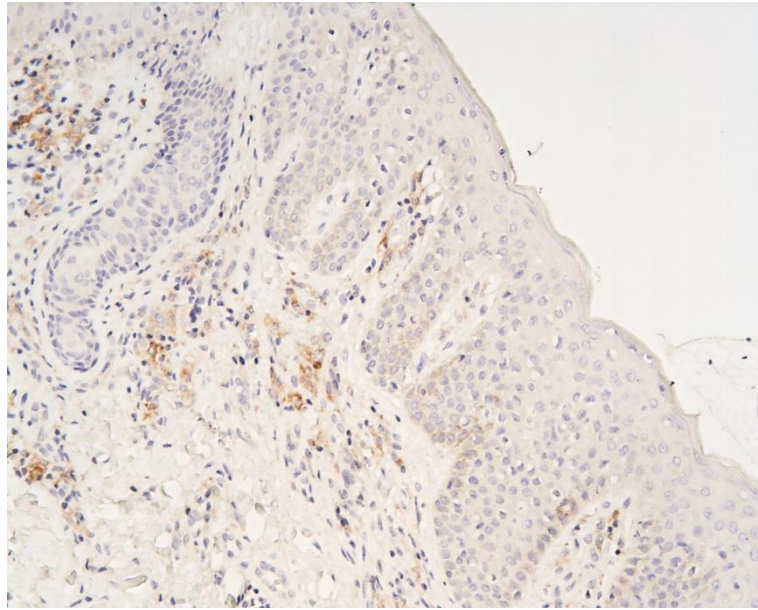


Рисунок 19 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия CD30 у пациентов с пятнистой стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x200

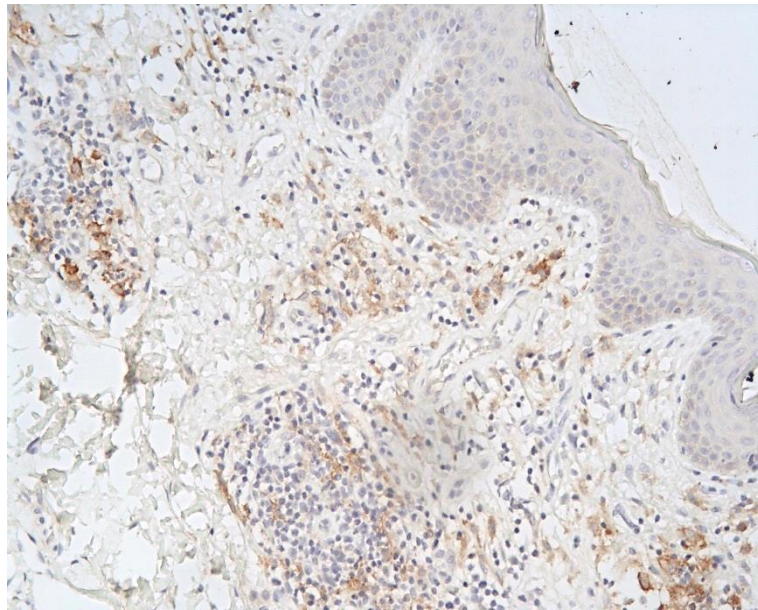


Рисунок 20 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия PD-L1 у пациентов с пятнистой стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x200

Распределение числового значения количества CD68-позитивных клеток близко к нормальному, среди пациентов с пятнистой формой заболевания оценка

среднего 81,5; медианы 77,0; среднеквадратичное отклонение 28,1; 1 квартиль 59,4; 3 квартиль 107,0 (Рисунок 21).

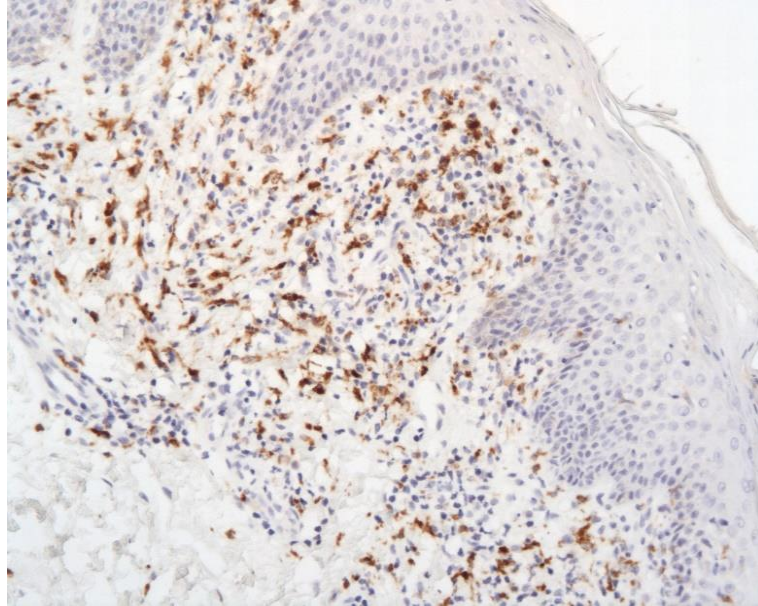


Рисунок 21 – Биоптат кожи пациента. Визуализация CD68-позитивных клеток у пациентов с пятнистой стадией грибкового микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x200

Оценка среднего числового значения количества CD163-позитивных клеток у пациентов 121,3; медианы 118,0; среднеквадратичное отклонение 34,8; 1 квартиль 100,4; 3 квартиль 143,6 (Рисунок 22).

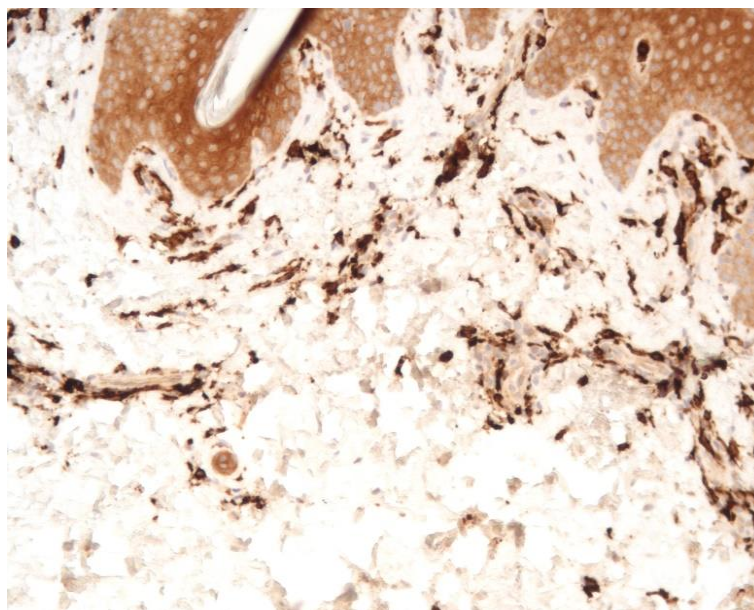


Рисунок 22 – Биоптат кожи пациента. Визуализация CD163-позитивных клеток у пациентов с пятнистой стадией грибовидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x200

3.1.4 Патоморфологическая характеристика бляшечной стадии грибовидного микоза

При детальном гистологическом исследовании отмечались следующие признаки:

В роговом слое эпидермиса явления ортокератоза представлены в 3/19 (15,8%), гипер-ортокератоза в 3/19 (15,8%), паракератоза в 7/19 (36,8%), гипер-паракератоза в 6/19 (31,6%) случаях. Гранулярный слой был истончен в 3/19 (15,8%), в остальных случаях (16/19, 84,2%) изменений не обнаружено. Признаки акантоза в эпидермисе встречались в 15/19 (78,9%) случаях, спонгиоза – 16/19 (84,2%) случаях. Изменения кератиноцитов представлены вакуольной дистрофией в 9/19 (47,4%) случаях, дискератозом – 1/19 (5,3%) случае. Экзоцитоз лимфоидных клеток определялся в 11/19 (57,9%) случаях. Удлинение эпидермальных сосочков - в 8/19 (42,1%).

Явления эпидермотропизма выявлены в 18/19 (94,7%). Причем, в 10/19 (52,6%) отмечался эпидермотропизм отдельных клеток, в 4/19 (21,1%)

опухолевые лимфоидные клетки формировали небольшие группы, в 3/19 (15,8%) отмечались признаки массивного эпидермотропизма, в 1/19 (5,3%) случае встретились явления эпидермотропизма педжетоидного типа. Микроабсцессы Потрие отмечены в 7/19 (36,8%) случаях.

Лимфоидный инфильтрат в 6/19 (31,6%) скудный, в 7/19 (36,8%) умеренно выраженный, в 6/19 (31,6%) выраженный. Периваскулярный характер роста опухолевого инфильтрата встречался в 10/19 (52,6%) случаях, полосовидный характер роста - в 6/19 (31,6%) случаях, очаговый характер роста – 1/19 (5,3%), диффузный характер роста - в 2/19 (10,5%) случаях. Вовлечение ретикулярного слоя опухолевым инфильтратом определялось в 12/19 (63,2%) случаях, подкожно-жировой клетчатки - в 3/19 (15,8%) случаях. Лимфоидный инфильтрат представлен клетками небольшого и среднего размера, с атипичной морфологией (Рисунок 23).

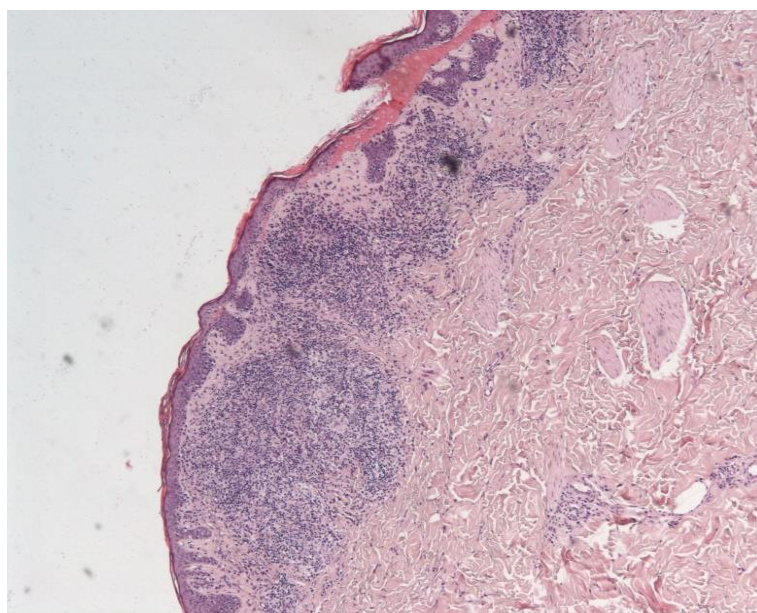


Рисунок 23 – Биоптат кожи пациента. Грибовидный микоз, бляшечная стадия. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x50

Среди клеток реактивного микроокружения выделяли: гистиоциты (18/19, 94,7%), зрелые плазматические клетки (13/19, 68,4%), нейтрофильные

гранулоциты (5/19), эозинофильные гранулоциты (3/19, 15,8%), меланофаги (7/19).

Отек сосочкового слоя дермы отмечался в 5/19 (26,3%) случаях, фиброз - в 14/19 (73,7%). Явления ангиоматоза были выявлены в 8/19 (42,1%) наблюдений. Инфильтрация лимфоидным инфильтратом сосудов определялась в 3/19 (15,8%) случаях, придатков кожи - в 5/19 (26,3%) случаях.

Среди пациентов с бляшечной формой заболевания количество T-bet-положительных клеток менее 10% наблюдалось у 68,4% пациентов, количество T-bet-положительных клеток в диапазоне от 10% до 20% – у 21,1% пациентов, количество T-bet-положительных клеток $\geq 20\%$ – у 10,5% пациентов (Рисунок 24).

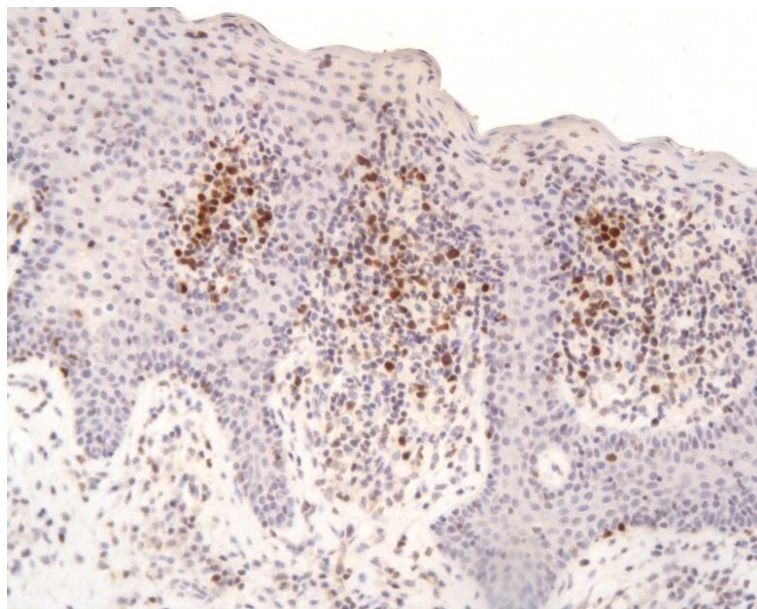


Рисунок 24 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия T-bet у пациентов с бляшечной стадией грибовидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение $\times 200$

Количество CXCR3-положительных клеток менее 80% наблюдалось у 26,3% пациентов, количество CXCR3-положительных клеток в диапазоне от 80% до 90% – у 31,6% пациентов, уровень CXCR3-положительных клеток $\geq 90\%$ – у 42,1% пациентов (Рисунок 25).

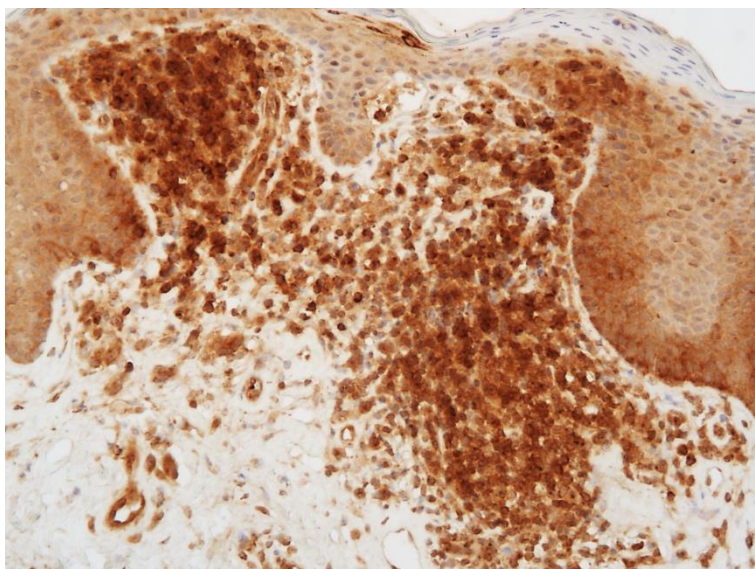


Рисунок 25 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия CXCR3 у пациентов с бляшечной стадией грибовидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

Количество GATA3-позитивных клеток менее 40% наблюдалось у 10,5% пациентов, количество GATA3-позитивных клеток в диапазоне от 40% до 70% – у 47,4% пациентов, количество GATA3-позитивных клеток $\geq 70\%$ – у 42,1% пациентов (Рисунок 26).

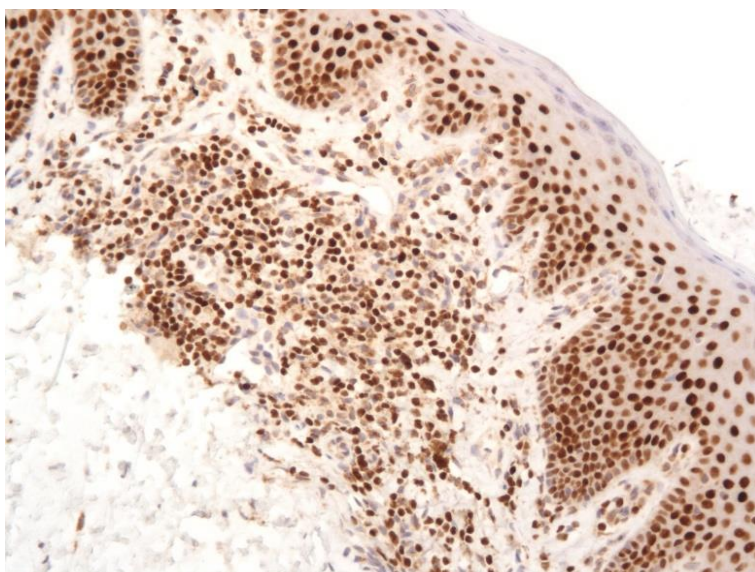


Рисунок 26 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия GATA3 у пациентов с бляшечной стадией грибовидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

Количество CCR4-позитивных клеток менее 20% наблюдалось у 36,8% пациентов, количество CCR4-позитивных клеток в диапазоне от 20% до 70% – у 47,4% пациентов, количество CCR4-позитивных клеток $\geq 70\%$ – у 15,8% пациентов (Рисунок 27).

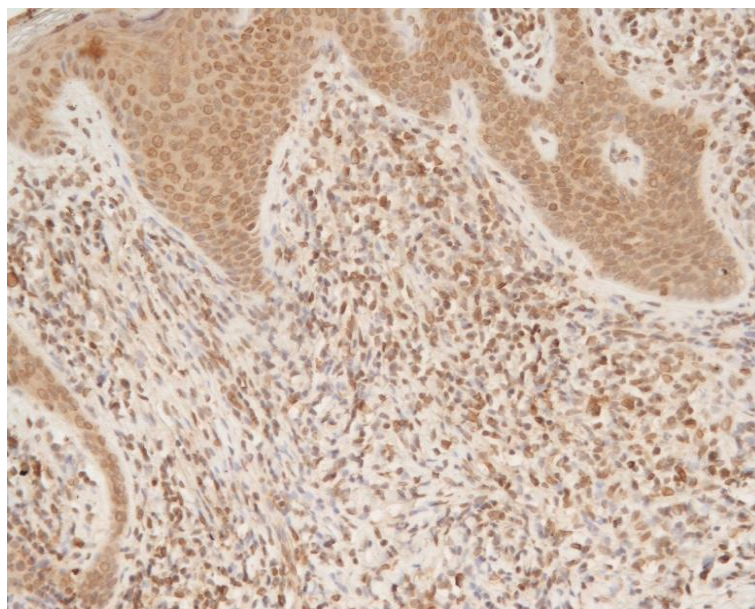


Рисунок 27 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия CCR4 у пациентов с бляшечной стадией грибовидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение $\times 200$

Количество PD-1-позитивных клеток менее 20% наблюдалось у 36,8% пациентов, количество PD-1-позитивных клеток в диапазоне от 20% до 50% – у 31,6% пациентов, количество PD-1-позитивных клеток $\geq 50\%$ – у 31,6% пациентов. Количество ICOS-позитивных клеток менее 20% наблюдалось у 21,1% пациентов, количество ICOS-позитивных клеток в диапазоне от 20% до 50% – у 47,4% пациентов, количество ICOS-позитивных клеток $\geq 50\%$ – у 31,5% пациентов (Рисунок 28). Количество CXCL13-позитивных клеток менее 6% наблюдалось у 63,2% пациентов, количество CXCL13-позитивных клеток в диапазоне от 6% до 20% наблюдался у 21,1% пациентов, количество CXCL13-позитивных клеток $\geq 20\%$ – у 15,8% пациентов (Рисунок 29).

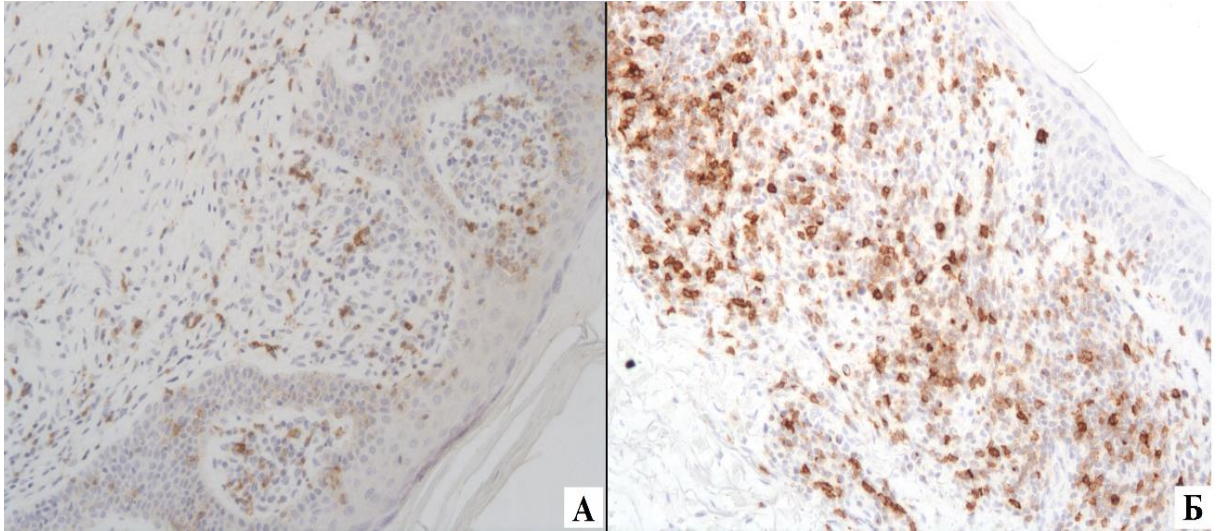


Рисунок 28 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия PD-1 у пациентов с бляшечной стадией грибвидного микоза. Экспрессия ICOS у пациентов с бляшечной стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

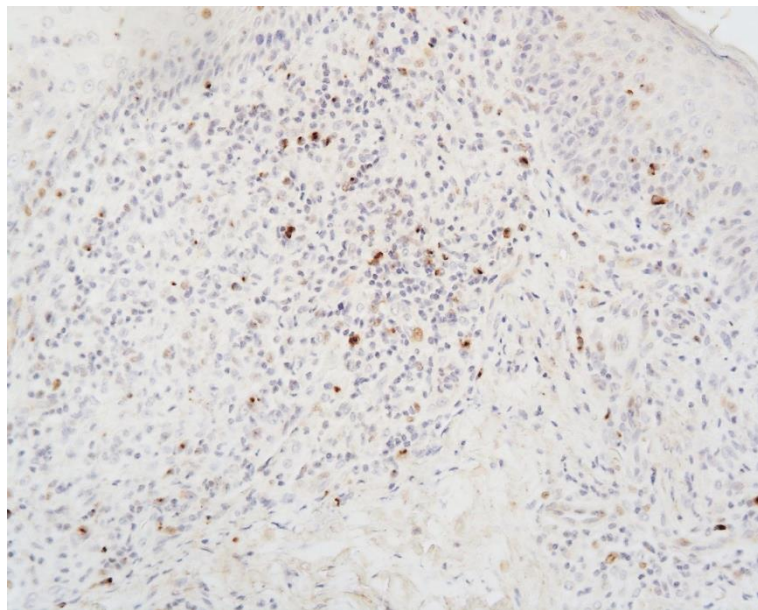


Рисунок 29 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия CXCL13 у пациентов с бляшечной стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

Tfh-позитивные клетки в исследуемых препаратах представлены клетками небольшого размера, рассеяно, формируют в части случаев группки.

Количество CD20-позитивных клеток менее 10% наблюдалось у 42,1% пациентов, количество CD20-позитивных клеток в диапазоне от 10% до 20% – у 31,7% пациентов, количество CD20-позитивных клеток $\geq 20\%$ – у 26,2% пациентов (Рисунок 30). Количество CD30-позитивных клеток менее 10% наблюдалось у 21,1% пациентов, количество CD30-позитивных клеток в диапазоне от 10% до 20% – у 63,1% пациентов, количество CD30-позитивных клеток $\geq 20\%$ – у 15,8% пациентов (Рисунок 31). Количество PD-L1-позитивных клеток менее 15% наблюдалось у 42,1% пациентов, количество PD-L1-позитивных клеток в диапазоне от 15% до 30% – у 57,9% пациентов, количество PD-L1-позитивных клеток $\geq 30\%$ – у 0,0% пациентов (Рисунок 32).

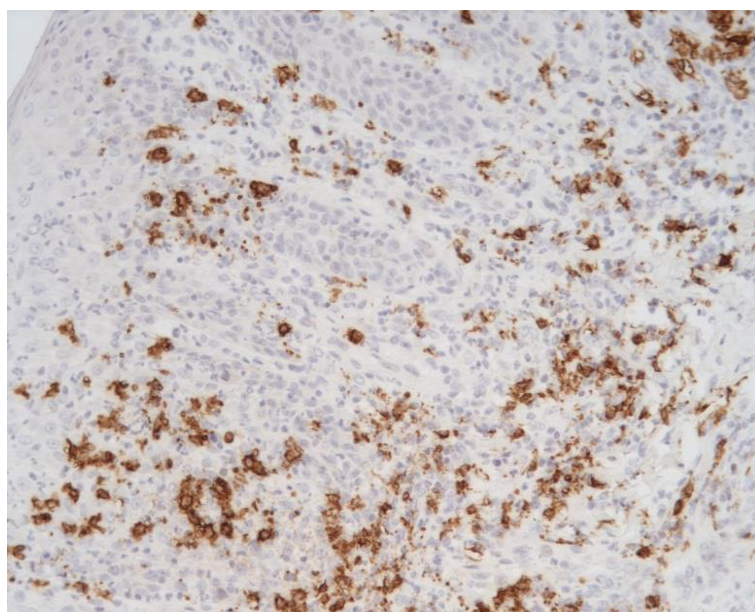


Рисунок 30 – Биоптат кожи пациента. Визуализация CD20-позитивных клеток у пациентов с бляшечной стадией грибкового микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

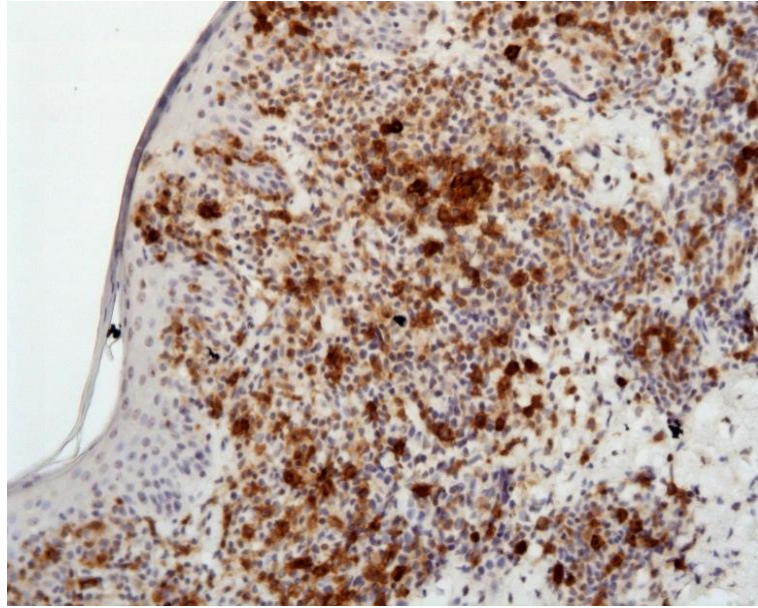


Рисунок 31 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия CD30 у пациентов с бляшечной стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

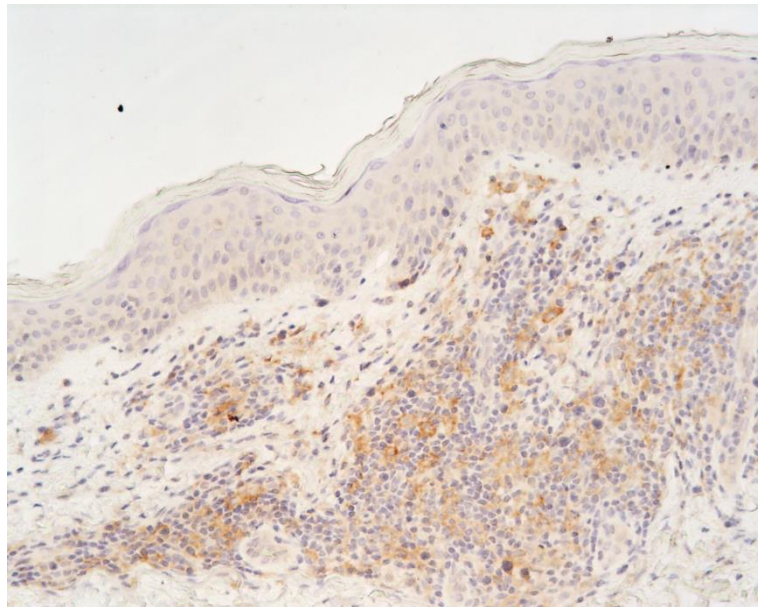


Рисунок 32 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия PD-L1 у пациентов с бляшечной стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

Среди пациентов с бляшечной формой заболевания оценка количества CD68-позитивных клеток среднего 90,7; медианы 85,8; среднеквадратичное отклонение 34,7; 1 квартиль 71,4; 3 квартиль 112,8 (Рисунок 33).

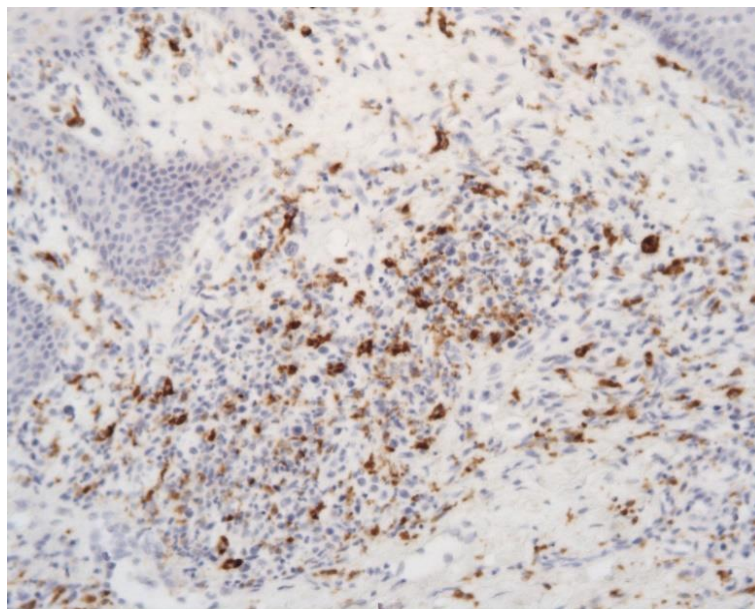


Рисунок 33 – Биоптат кожи пациента. Визуализация CD68-позитивных клеток у пациентов с бляшечной стадией грибкового микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

Среди пациентов с бляшечной формой заболевания оценка количества CD163-позитивных клеток среднего 132,3; медианы 128,0; среднеквадратичное отклонение 51,5; 1 квартиль 89,2; 3 квартиль 161,6 (Рисунок 34).

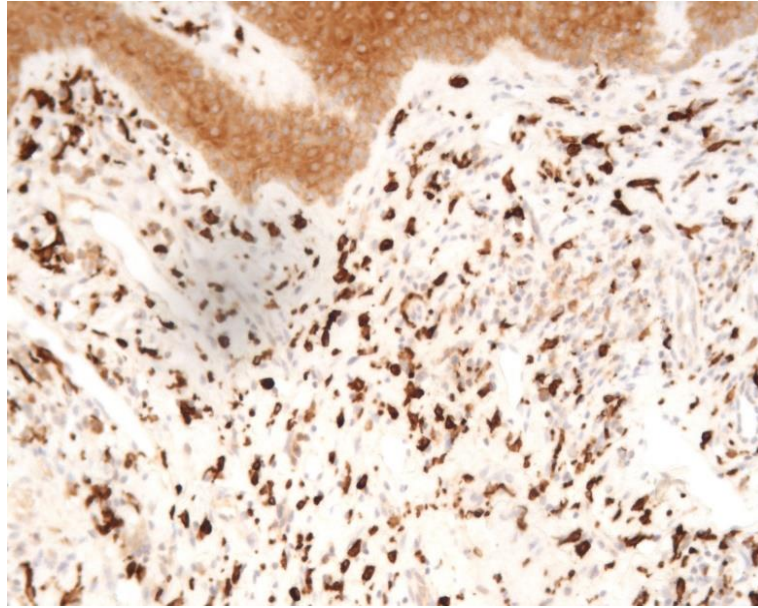


Рисунок 34 – Биоптат кожи пациента. Визуализация CD163-позитивных клеток у пациентов с бляшечной стадией грибовидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x200

3.1.5 Патоморфологическая характеристика опухолевой стадии грибовидного микоза

При проведении гистологического исследования признаки ортокератоза рогового слоя присутствовали в 6/14 (42,9%) случаях, паракератоза в 3/14 (21,4%) случаях, гипер-паракератоза в 5/14 (35,7%) случаях. Истончение гранулярного слоя встречалось в 2/14 (14,3%) случаях. Явления акантоза эпидермиса отмечались в 12/14 (85,7%), спонгиоза в 9/14 (64,3%). Экзоцитоз мелких лимфоидных клеток присутствовал в 6/14 (42,9%) случаях.

Морфологические признаки эпидермотропизма определялись в 11/14 (78,6%) случаях. Эпидермотропизм отдельных опухолевых клеток был представлен в 4/14 (28,6%), выстраивание «цепочек» вдоль базального слоя эпидермиса отмечалось в 1/14 (7,1%), явления массивного эпидермотропизма в 4/14 (28,6%). Педжетоидный тип эпидермотропизма визуализировался в 2/14 (14,3%). Микроабсцессы Потрие были найдены в 3/14 (21,4%) случаях.

Кератиноциты эпидермиса, подверженные вакуольной дистрофии, отмечены в 9/14 (64,3%), явления дискератоза – в 1/14 (7,1%).

Отек сосочкового слоя в 2/14 (14,3%), фиброз в 12/14 (85,7%).

Лимфоидный инфильтрат затрагивал ретикулярный слой в 14/14 (100%), гиподерму в 1/14 (7,1%). Массивный лимфоидный инфильтрат отмечался в 11/14 (78,6%), умеренно выраженный в – 3/14 (21,4%). Характер роста был представлен в 9/14 (64,3%) случаях диффузным ростом, 1/14 (7,1%) - очаговым ростом, 2/14 (14,3%) – полосовидным ростом, 2/14 (14,3%) – периваскулярным. Лимфоидный инфильтрат состоял из клеток небольшого и среднего размера, неправильной формы, среди которых рассеяны в увеличенном количестве крупные лимфоидные клетки. Клетки лимфоидного инфильтрата поражают стенки сосудов в 4/14 (28,6%) случаях; придатки кожи инфильтрированы в 6/14 (42,9%) случаях (Рисунок 35).

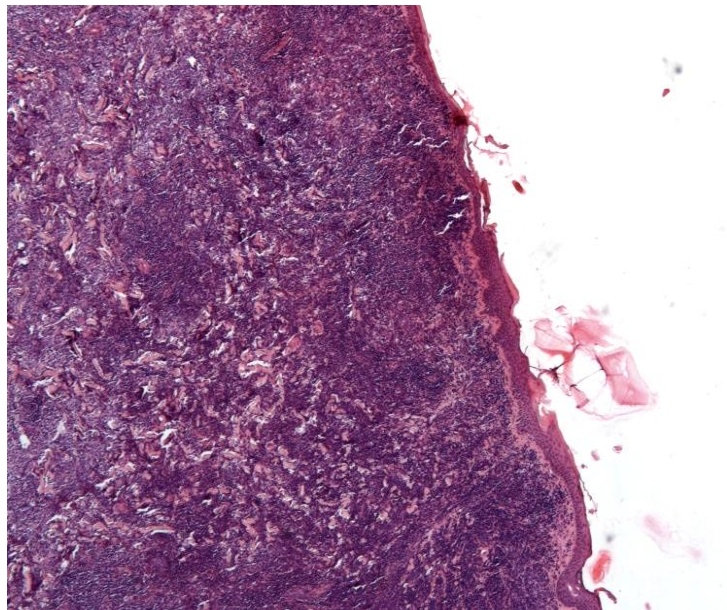


Рисунок 35 – Биоптат кожи пациента. Грибовидный микоз, опухолевая стадия. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x50

Реактивное микроокружение опухолевого инфильтрата состояло из гистиоцитов (14/14, 100%), зрелых плазматических клеток (8/14, 57,1%),

нейтрофильных гранулоцитов (7/14, 50%), эозинофильных гранулоцитов (7/14, 50%). Меланофаги встречались в сосочковом слое дермы в 1/14 случае (7,1%).

Среди пациентов с опухолевой формой заболевания количество T-bet - позитивных клеток менее 10% наблюдалось у 50,0% пациентов, количество T-bet -позитивных клеток в диапазоне от 10% до 20% - у 42,9% пациентов, количество T-bet -позитивных клеток $\geq 20\%$ - у 7,1% пациентов (Рисунок 36).

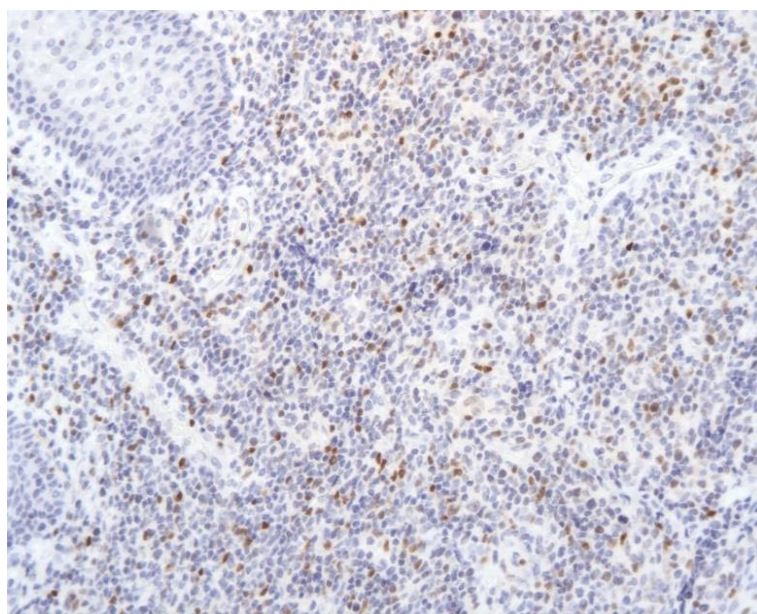


Рисунок 36 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия T-bet у пациентов с опухолевой стадией грибовидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение $\times 200$

Количество CXCR3-позитивных клеток менее 70% наблюдалось у 14,2% пациентов, количество CXCR3-позитивных клеток в диапазоне от 70% до 90% – у 42,9% пациентов, количество CXCR3-позитивных клеток $\geq 90\%$ – у 42,9% пациентов (Рисунок 37).

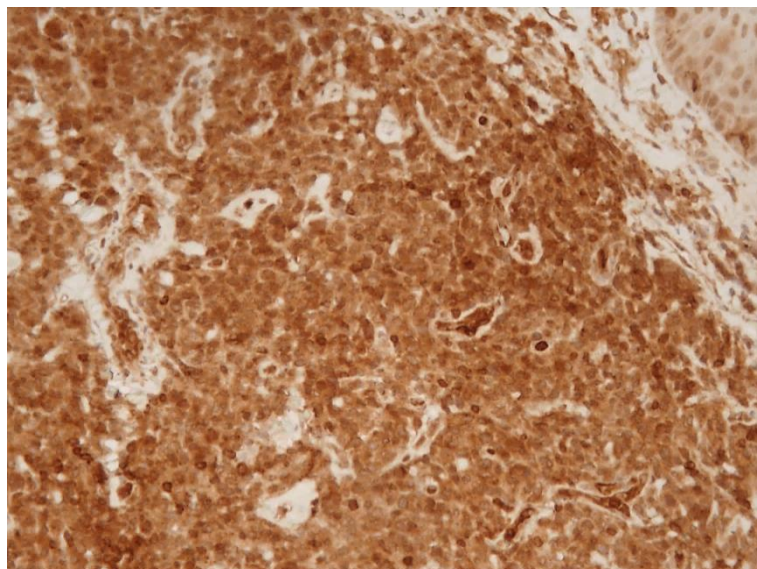


Рисунок 37 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия CXCR3 у пациентов с опухолевой стадией грибовидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

Количество GATA3-позитивных клеток менее 40% наблюдалось у 14,3% пациентов, количество GATA3-позитивных клеток в диапазоне от 40% до 70% – у 28,6% пациентов, количество GATA3-позитивных клеток $\geq 70\%$ – у 57,1% пациентов (Рисунок 38).

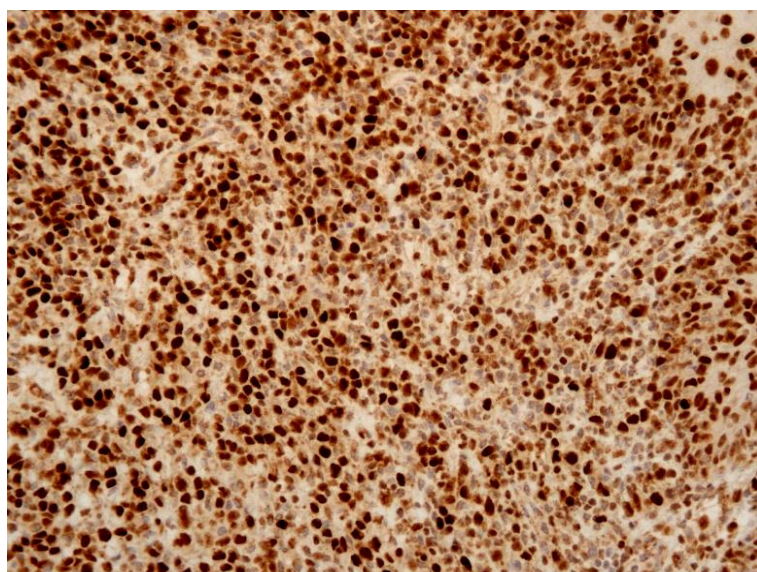


Рисунок 38 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия GATA3 у пациентов с опухолевой стадией грибовидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

Количество CCR4-позитивных клеток менее 30% наблюдалось у 71,4% пациентов, количество CCR4-позитивных клеток в диапазоне от 30% до 70% – у 0,0% пациентов, количество CCR4-позитивных клеток $\geq 70\%$ – у 28,6% пациентов (Рисунок 39).

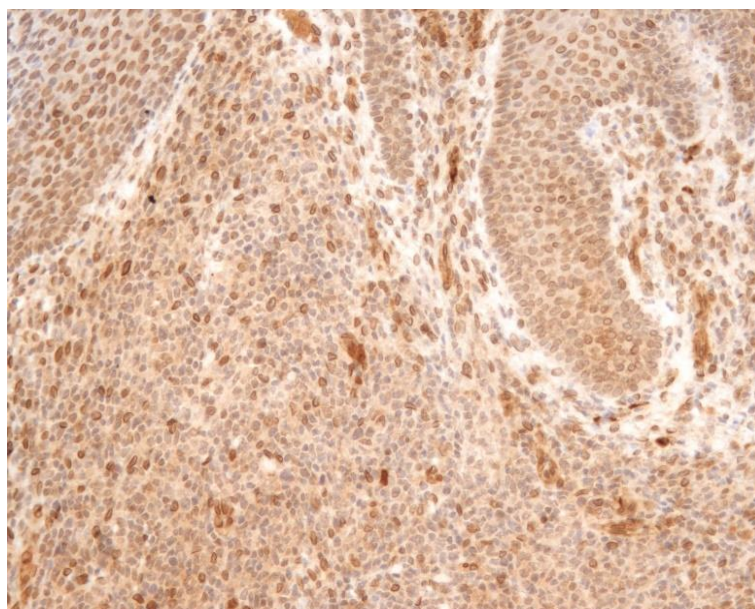


Рисунок 39 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия CCR4 у пациентов с опухолевой стадией грибовидного микоза. Реакция с применением антител к CCR4. Иммуноферментный метод, увеличение $\times 200$

Количество PD-1-позитивных клеток менее 20% наблюдалось у 21,4% пациентов, количество PD-1-позитивных клеток в диапазоне от 20% до 50% – у 57,2% пациентов, количество PD-1-позитивных клеток равно или выше 50% – у 21,4% пациентов. Количество ICOS-позитивных клеток менее 20% наблюдалось у 28,6% пациентов, количество ICOS-позитивных клеток в диапазоне от 20% до 50% – у 35,7% пациентов, количество ICOS-позитивных клеток равно или выше 50% – у 35,7% пациентов (Рисунок 40). PD-1-позитивные и ICOS-позитивные клетки располагались разрозненно и в виде скоплений полиморфных по размеру. Количество CXCL13-позитивных клеток менее 6% наблюдалось у 57,1% пациентов, количество CXCL13-позитивных клеток в диапазоне от 6% до 20% – у

35,7% пациентов, количество CXCL13-позитивных клеток равно или выше 20% – у 7,2% пациентов (Рисунок 41).

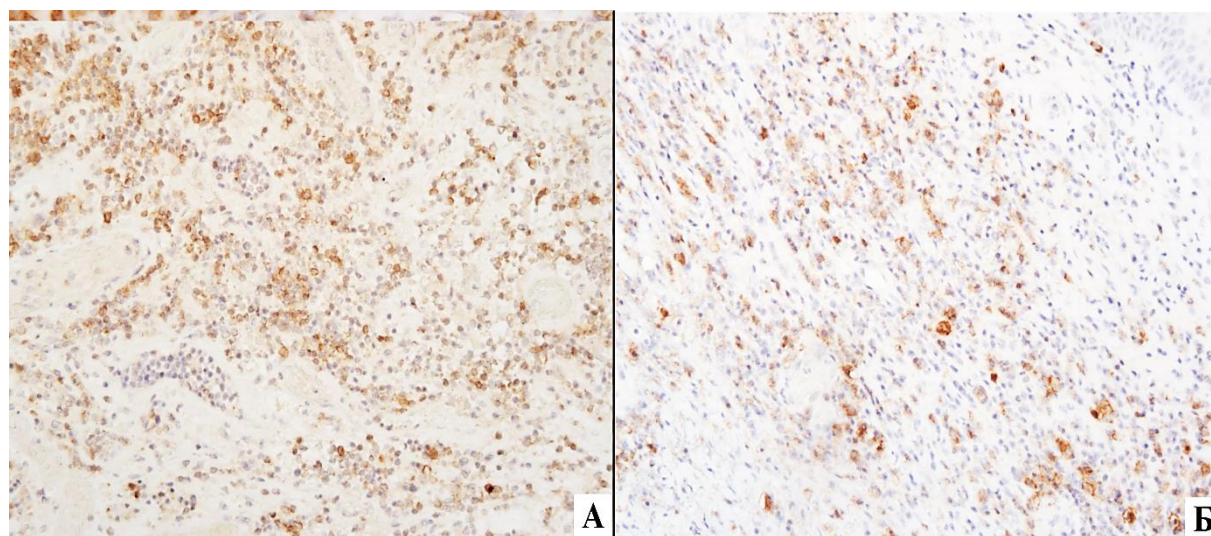


Рисунок 40 – Биоптат кожи пациента. А) Экспрессия PD-1 у пациентов с опухолевой стадией грибвидного микоза. Б) Экспрессия ICOS у пациентов с опухолевой стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

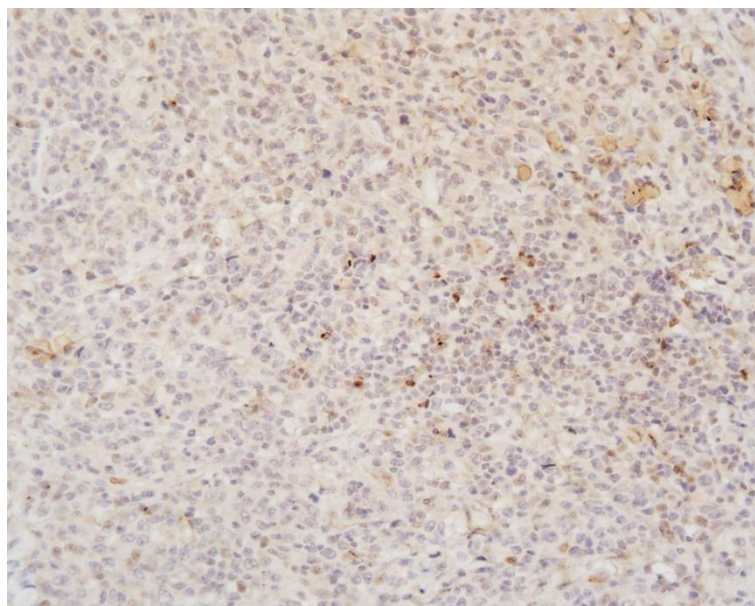


Рисунок 41 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия CXCL13 у пациентов с опухолевой стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

Количество CD20-позитивных клеток менее 10% наблюдалось у 35,7% пациентов, количество CD20-позитивных клеток в диапазоне от 10% до 20% - у 35,7% пациентов, уровень CD20 \geq 20% – у 28,6% пациентов (Рисунок 42). Количество CD30-позитивных клеток менее 10% наблюдалось у 14,3% пациентов, количество CD30-позитивных клеток в диапазоне от 10% до 20% – у 50,0% пациентов, количество CD30-позитивных клеток \geq 20% – у 35,7% пациентов (Рисунок 43). Количество PD-L1-позитивных клеток менее 15% наблюдалось у 57,1% пациентов, количество PD-L1-позитивных клеток в диапазоне от 15% до 30% – у 0,0% пациентов, количество PD-L1-позитивных клеток \geq 30% – у 42,9% пациентов (Рисунок 44).

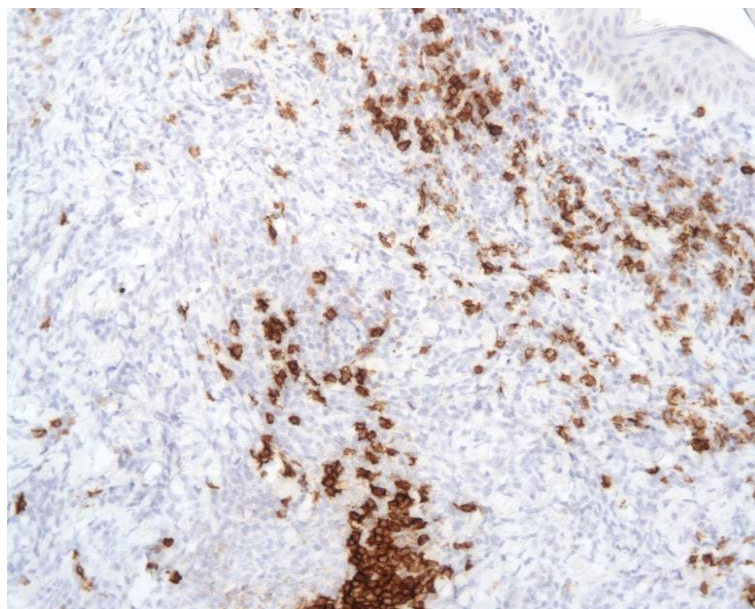


Рисунок 42 – Биоптат кожи пациента. Визуализация CD20-позитивных клеток у пациентов с опухолевой стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

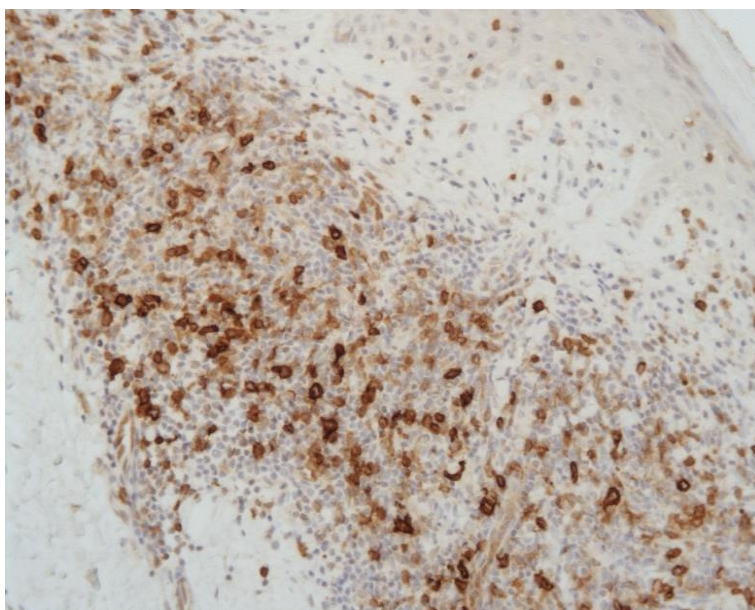


Рисунок 43 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия CD30 у пациентов с опухолевой стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

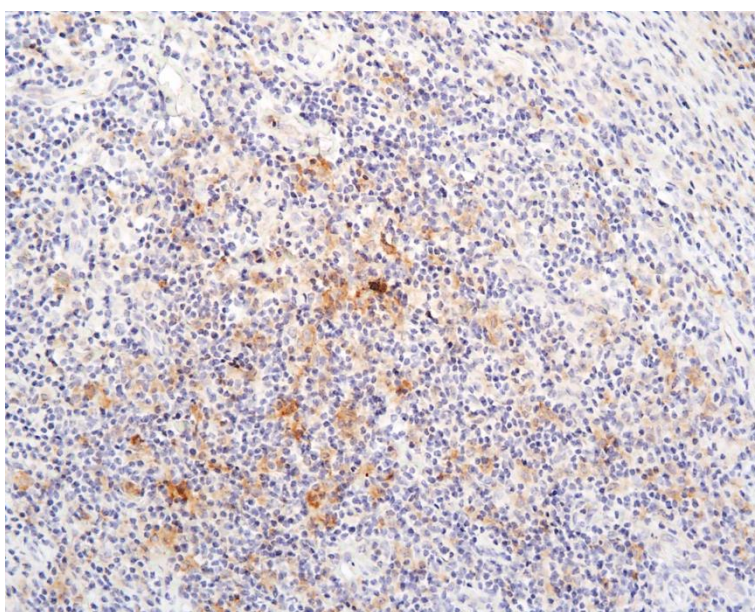


Рисунок 44 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия PD-L1 у пациентов с опухолевой стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

Среди пациентов с опухолевой формой заболевания оценка CD68-позитивных клеток среднего 125,27; медианы 124,7; среднеквадратичное отклонение 52,4; 1 квартиль 78,6; 3 квартиль 150,2 (Рисунок 45).

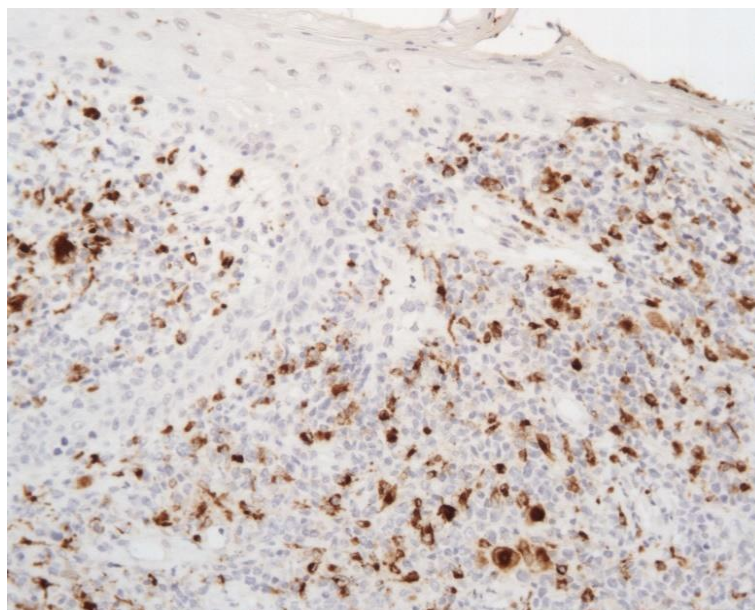


Рисунок 45 – Биоптат кожи пациента. Визуализация CD68-позитивных клеток у пациентов с опухолевой стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

Среди пациентов с опухолевой формой заболевания оценка среднего CD163-позитивных клеток 192,0; медианы 199,0; среднеквадратичное отклонение 71,5; 1 квартиль 168,4; 3 квартиль 219,2 (Рисунок 46).

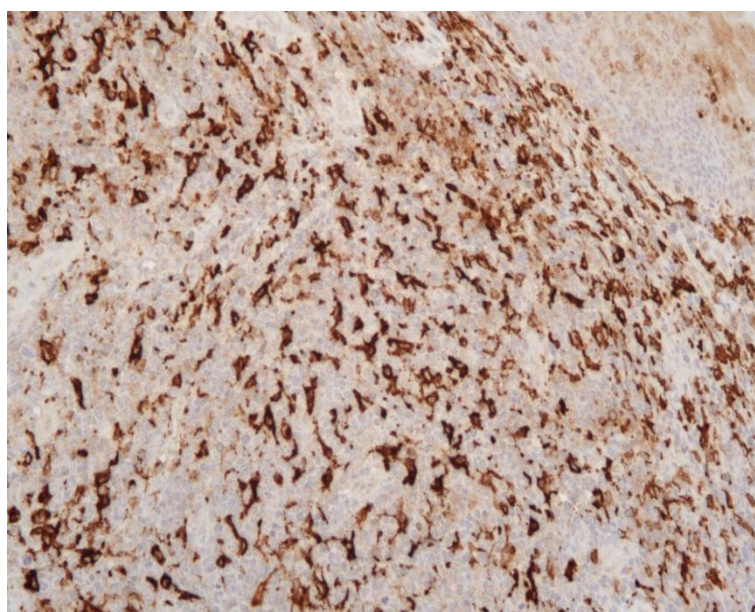


Рисунок 46 – Биоптат кожи пациента. Визуализация CD163-позитивных клеток у пациентов с опухолевой стадией грибвидного микоза. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

3.2 Сравнительный клиничко-патоморфологический анализ групп пациентов с разными стадиями грибовидного микоза

Проведено сравнение исследуемых групп пациентов с пятнистой стадией ГМ (18 человек), бляшечной (19 человек) и опухолевой стадией ГМ (14 человек) по всем вышеописанным гистологическим и иммуногистохимическим признакам, с учетом клинических и лабораторных данных.

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам эпидермиса представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Морфологические признаки изменения эпидермиса

Признак	Пятнистая стадия ГМ (N)	Бляшечная стадия ГМ (N)	Опухолевая стадия ГМ (N)	p
Ортокератоз	8/18 (44,4%)	3/19 (15,8%)	6/14 (42,9%)	0,3828
Гипер-ортокератоз	2/18 (11,1%)	3/19 (15,8%)	0/14 (0,0%)	
Паракератоз	4/18 (22,2%)	7/19 (36,8%)	3/14 (21,4%)	
Гипер-паракератоз	4/18 (22,2%)	6/19 (31,6%)	5/14 (35,7%)	
Истончение гранулярного слоя	3/18 (16,7%)	3/19 (15,8%)	2/14 (14,3%)	0,9185
Неизмененный гранулярный слой	15/18 (83,3%)	16/19 (84,2%)	11/14 (78,6%)	
Гипергранулез	0/18 (0,0%)	0/19 (0,0%)	1/14 (7,1%)	
Акантоз	14/18 (77,8%)	15/19 (78,9%)	12/14 (85,7%)	0,9099
Спонгиоз	10/18 (55,6)	16/19 (84,2%)	9/14 (64,3%)	0,1551
Экзоцитоз	8/18 (44,4%)	11/19 (57,9%)	6/14 (42,9%)	0,6393

При сравнении исследуемых групп статистически достоверных различий не обнаружено ($p > 0,05$).

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам эпидермотропизма представлены в Таблице 7.

Таблица 7 – Морфологические признаки эпидермотропизма

Признак	Пятнистая стадия ГМ (N)	Бляшечная стадия ГМ (N)	Опухолевая стадия ГМ (N)	p
Эпидермотропизм	16/18 (88,9%)	18/19 (94,7%)	11/14 (78,6%)	0,4154
Минимальные признаки эпидермотропизма	4/18 (22,2%)	10/19 (52,6%)	4/14 (28,6%)	0,0493
Умеренно выраженные признаки эпидермотропизма	5/18 (27,8%)	4/19 (21,1%)	1/14 (7,1%)	
Выраженные признаки эпидермотропизма	9/18 (50,0%)	3/19 (15,8%)	4/14 (28,6%)	
Педжетоидный тип эпидермотропизма	0/18 (0,0%)	1/19 (5,3%)	2/14 (14,3%)	
Микроабсцессы Потрие	6/18 (33,3%)	7/19 (36,8%)	3/14 (21,4%)	0,6928

Статистические достоверные различия в группах сравнения были отмечены по показателям выраженности эпидермотропизма ($p = 0,0493$).

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам кератиноцитов представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Морфологические изменения кератиноцитов

Параметр	Пятнистая стадия ГМ (N)	Бляшечная стадия ГМ (N)	Опухолевая стадия ГМ (N)	p
Дискератоз кератиноцитов	3/18 (16,7%)	1/19 (5,3%)	1/14 (7,1%)	0,6343
Вакуольная дистрофия кератиноцитов	8/18 (44,4%)	9/19 (47,4%)	9/14 (64,3%)	0,5303

При сравнении исследуемых групп статистически достоверных различий не выявлено ($p > 0,05$).

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам сосочкового слоя дермы представлены в Таблице 9.

Таблица 9 – Изменения сосочкового слоя дермы

Признак	Пятнистая стадия ГМ (N)	Бляшечная стадия ГМ (N)	Опухолевая стадия ГМ (N)	p
Удлинение эпидермальных отростков	6/18 (33,3%)	8/19 (42,1%)	5/14 (35,7%)	0,9338
Отек сосочкового слоя	10/18 (55,6%)	5/19 (26,3%)	2/14 (14,3%)	0,0482
Фиброз сосочкового слоя	8/18 (44,4%)	14/19 (73,7%)	12/14 (85,7%)	

По показателям изменений сосочкового слоя дермы выявлены статистические достоверные различия в группах сравнения ($p = 0,0482$).

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам лимфоидного инфильтрата представлены в Таблице 10.

Таблица 10 – Морфологические признаки характера лимфоидного инфильтрата

Признак	Пятнистая стадия ГМ (N)	Бляшечная стадия ГМ (N)	Опухолевая стадия ГМ (N)	p
Периваскулярный инфильтрат	4/18 (22,2%)	10/19 (52,6%)	2/14 (14,3%)	0,0007
Полосовидный инфильтрат	5/18 (27,8%)	6/19 (31,6%)	2/14 (4,3%)	
Очаговый инфильтрат	9/18 (50,0%)	1/19 (5,3%)	1/14 (7,1%)	
Диффузный инфильтрат	0/18 (0,0%)	2/19 (10,5%)	9/14 (64,3%)	
Скудный инфильтрат	6/18 (33,3%)	6/19 (31,6%)	0/14 (0,0%)	0,0218
Умеренно выраженный инфильтрат	7/18 (38,9%)	7/19 (36,8%)	3/14 (21,4%)	
Выраженный инфильтрат	5/18 (27,8%)	6/19 (31,6%)	11/14 (78,6%)	

Выявлены статистически значимые различия по параметрам, характеризующим выраженность и характер лимфоидного инфильтрата ($p=0,0007$, $p=0,0218$, соответственно) в исследуемых группах.

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам реактивного микроокружения представлены в Таблице 11.

Таблица 11 – Сравнение реактивного микроокружения

Параметр	Пятнистая стадия ГМ (N)	Бляшечная стадия ГМ (N)	Опухолевая стадия ГМ (N)	p
Гистиоциты	17/18 (94,4%)	18/19 (94,7%)	14/14 (100,0%)	1,0000
Зрелые плазматические клетки	9/18 (50,0%)	13/19 (68,4%)	8/14 (57,1%)	0,4500
Нейтрофильные гранулоциты	4/18 (22,2%)	5/19 (26,3%)	7/14 (50,0%)	0,2303
Эозинофильные гранулоциты	3/18 (16,7%)	3/19 (15,8%)	7/14 (50,0%)	0,0749
Меланофаги	5/18 (27,8%)	7/19 (36,8%)	1/14 (7,1%)	0,1577

При сравнении исследуемых групп статистически достоверных различий не выявлено ($p > 0,05$).

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам изменения дермы представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Изменения дермы

Параметр	Пятнистая стадия ГМ (N)	Бляшечная стадия ГМ (N)	Опухолевая стадия ГМ (N)	p
Ангиоматоз	7/18 (38,9%)	8/19 (21,1%)	0/14 (0,0%)	0,0098
Эластоз	1/18 (5,6%)	1/19 (5,3%)	1/14 (7,1%)	1,0000

По показателям изменений сосочкового слоя дермы выявлены статистические достоверные различия в группах сравнения ($p = 0,0482$).

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам выраженности лимфоидного инфильтрата представлены в Таблице 13.

Таблица 13 – Морфологические признаки выраженности лимфоидного инфильтрата

Параметр	Пятнистая стадия ГМ (N)	Бляшечная стадия ГМ (N)	Опухолевая стадия ГМ (N)	p
Ретикулярный слой	9/18 (50,0%)	12/19 (84,2%)	14/14 (100,0%)	0,0034
Гиподерма	0/18 (0,0%)	3/19 (15,8%)	1/14 (7,1%)	0,1857
Придатки кожи	5/18 (27,8%)	4/19 (21,1%)	6/14 (42,9%)	0,4297
Сосуды	3/18 (16,7%)	3/19 (15,8%)	4/14 (28,6%)	0,6101

Статистические достоверные различия в группах сравнения были отмечены по показателю инфильтрации ретикулярного слоя дермы опухолевыми клетками ($p=0.0493$).

Данные сравнительного анализа по экспрессии T-bet, GATA3, CCR4, CXCR3 клетками лимфоидного инфильтрата представлены в Таблице 14.

Таблица 14 – Сравнение экспрессии к T-bet, GATA3, CCR4, CXCR3 клетками лимфоидного инфильтрата

Параметр	Пятнистая стадия ГМ, Медиана (диапазон)	Бляшечная стадия ГМ, Медиана (диапазон)	Опухолевая стадия ГМ, Медиана (диапазон)	p
T-bet	5,0(1,0-20,0)	5,0(1,0-10,0)	7,5(5,0-10,0)	0,5400
GATA3	50,0(30,0-65,0)	60,0(40,0-80,0)	70,0(60,0-90,0)	0,0820
CCR4	40,0(25,0-80,0)	30,00(10,0-50,0)	12,5 (5,0-85,0)	0,2600
CXCR3	90,0(80,0-90,0)	90,0(80,0-95,0)	90,0(80,0-95,0)	0,6500

При сравнении разных стадий ГМ была обнаружена тенденция по показателю экспрессии GATA3 ($p=0,082$). При сравнении исследуемых групп статистически достоверных различий не выявлено ($p>0,05$).

Данные сравнительного анализа экспрессии PD-1, ICOS, CXCL13, CD30, PD-L1 клетками лимфоидного инфильтрата представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Сравнение экспрессии антител к PD-1, ICOS, CXCL13, CD30, PD-L1 клетками лимфоидного инфильтрата

Параметр	Пятнистая стадия ГМ, Медиана (диапазон)	Бляшечная стадия ГМ, Медиана (диапазон)	Опухолевая стадия ГМ, Медиана (диапазон)	p
PD-1	30,0(10,0-60,0)	20,0(15,0-60,0)	35,0(20,0-70,0)	0,8200
ICOS	17,5(10,0-35,0)	35,0(25,0-55,0)	35,0(15,0-70,0)	0,2200
CXCL13	1,0(1,0-5,0)	5,0(1,0-10,0)	5,0(1,0-15,0)	0,3100
CD30	10,0(10,0-15,0)	10,0(10,0-15,0)	10,0(10,0-20,0)	0,5000
PD-L1	10,0(5,0-20,0)	15,0(5,0-20,0)	10,0(5,0-40,0)	0,8800

При сравнении исследуемых групп статистически достоверных различий не выявлено ($p > 0,05$).

Данные сравнительного анализа экспрессии CD20, CD68, CD163 клетками реактивного микроокружения представлены в Таблице 16.

Таблица 16 – Экспрессия CD20, CD68, CD163 клетками реактивного микроокружения

Параметр	Пятнистая стадия ГМ, Медиана (диапазон)	Бляшечная стадия ГМ, Медиана (диапазон)	Опухолевая стадия ГМ, Медиана (диапазон)	p
CD20	5,0 (5,0-10,0)	5,0(5,0-20,0)	5,0 (5,0-35,0)	0,3600
CD68	77,0 (59,4-107,0)	85,8 (71,6-112,8)	124,7 (78,6-165,0)	0,0260
CD163	118,0 (100,4-143,6)	128,0 (93,0-161,6)	199,0 (168,4-231,2)	0,0049

Статистические достоверные различия в группах сравнения были определены по показателям наличия CD68 и CD163-позитивных клеток ($p=0,026$, $p=0,0049$, соответственно).

Статистические достоверные различия в группах пятнистой стадии и опухолевой стадии по показателю экспрессии GATA 3 ($p= 0,0319$).

Основные различия групп пациентов с разными стадиями ГМ отмечались по признакам: выраженность эпидермотропизма, состояние сосочкового слоя, объем и характер лимфоидного инфильтрата, явления ангиоматоза, инфильтрация ретикулярного слоя дермы.

Обобщённые результаты сравнения морфологических признаков представлены в Таблице 17.

Таблица 17 – Сводная таблица морфологических различий разных стадий ГМ

Признак	Пятнистая стадия ГМ (N)	Бляшечная стадия ГМ (N)	Опухолевая стадия ГМ (N)	p
Минимальные признаки эпидермотропизма	4/18 (22,2%)	10/19 (52,6%)	4/14 (28,6%)	0,0493
Умеренно выраженные признаки эпидермотропизма	5/18 (27,8%)	4/19 (21,1%)	1/14 (7,1%)	
Выраженные признаки эпидермотропизма	9/18 (50,0%)	3/19 (15,8%)	4/14 (28,6%)	
Педжетоидный тип эпидермотропизма	0/18 (0,0%)	1/19 (5,3%)	2/14 (14,3%)	

Продолжение Таблицы 17.

Признак	Пятнистая стадия ГМ (N)	Бляшечная стадия ГМ (N)	Опухолевая стадия ГМ (N)	p
Отек сосочкового слоя	10/18 (55,6%)	5/19 (26,3%)	2/14 (14,3%)	0,0482
Фиброз сосочкового слоя	8/18 (44,4%)	14/19 (73,7%)	12/14 (85,7%)	
Периваскулярный инфильтрат	4/18 (22,2%)	10/19 (52,6%)	2/14 (14,3%)	0,0007
Полосовидный инфильтрат	5/18 (27,8%)	6/19 (31,6%)	2/14 (4,3%)	
Очаговый инфильтрат	9/18 (50,0%)	1/19 (5,3%)	1/14 (7,1%)	
Диффузный инфильтрат	0/18 (0,0%)	2/19 (10,5%)	9/14 (64,3%)	
Скудный инфильтрат	6/18 (33,3%)	6/19 (31,6%)	0/14 (0,0%)	0,0218
Умеренно выраженный инфильтрат	7/18 (38,9%)	7/19 (36,8%)	3/14 (21,4%)	
Выраженный инфильтрат	5/18 (27,8%)	6/19 (31,6%)	11/14 (78,6%)	
Ангиоматоз	7/18 (38,9%)	8/19 (21,1%)	0/14 (0,0%)	0,0098
Ретикулярный слой	9/18 (50,0%)	12/19 (84,2%)	14/14 (100,0%)	0,0034

При сравнении пятнистой, бляшечной и опухолевой стадий ГМ с использованием ИГХ-реакций были отмечены статистические различия по показателям: GATA3, CD68, CD163.

Обобщённые результаты сравнения ИГХ-признаков представлены в Таблице 18.

Таблица 18 – Сводная таблица иммуногистохимических различий разных стадий ГМ

Параметр	Пятнистая стадия ГМ, Медиана (диапазон)	Бляшечная стадия ГМ, Медиана (диапазон)	Опухолевая стадия ГМ, Медиана (диапазон)	р
GATA3	50,0 (30,0-65,0)	60,0 (40,0-80,0)	70,0 (60,0-90,0)	0,0820
CD68	77,0 (59,4-107,0)	85,8 (71,6-112,8)	124,7 (78,6-165,0)	0,0260
CD163	118,0 (100,4-143,6)	128,0 (93,0-161,6)	199,0 (168,4-231,2)	0,0049

На разных стадиях ГМ количество PD-1-позитивных и ICOS-позитивных клеток превышало 20% более чем в >70% (Рисунки 47, 48).

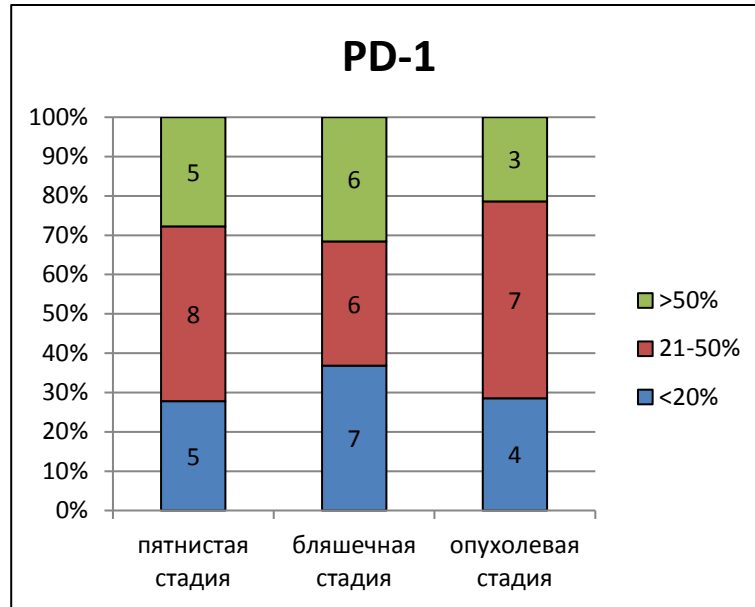


Рисунок 47 – Распределение количества PD-1-позитивных клеток в зависимости от стадии

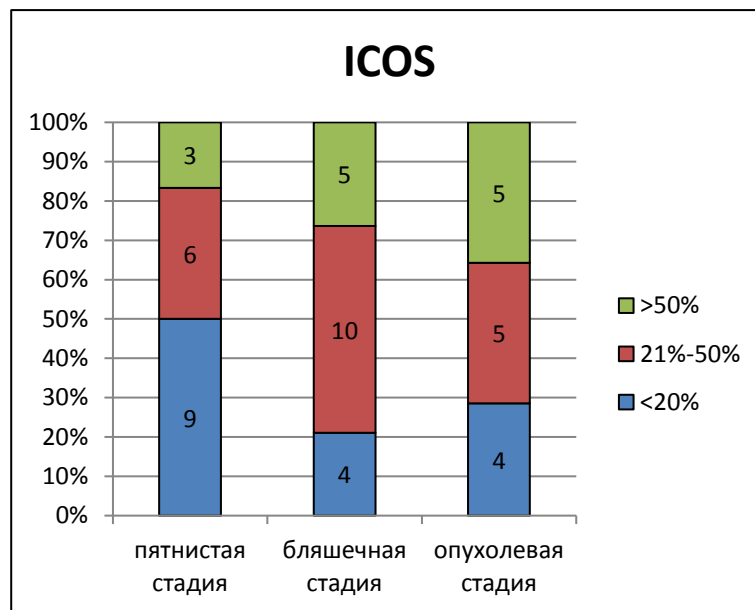


Рисунок 48 – Распределение количества ICOS-позитивных клеток в зависимости от стадии

На первом этапе анализа проведен пошаговый логистический анализ с пошаговым отбором факторов, в который были включены следующие параметры: T-bet, GATA3, CCR4, CXCR3, PD-1, ICOS, CXCL13, CD20, CD68, CD163, CD30,

PD-L1. Целевым параметром для нас являлась стадия заболевания ((пятнистая или бляшечная) /опухолевая).

В результате пошагового отбора факторов в результирующую модель были включены следующие параметры: CD163 ($p < 0.0005$).

Далее для наиболее информативного признака – CD163 нами был проведен ROC анализ (Рисунок 49). Достаточно высокое значение площади под кривой (AUC =0,79) ($p < 0.0003$) подтверждает предиктивную значимость этого признака.

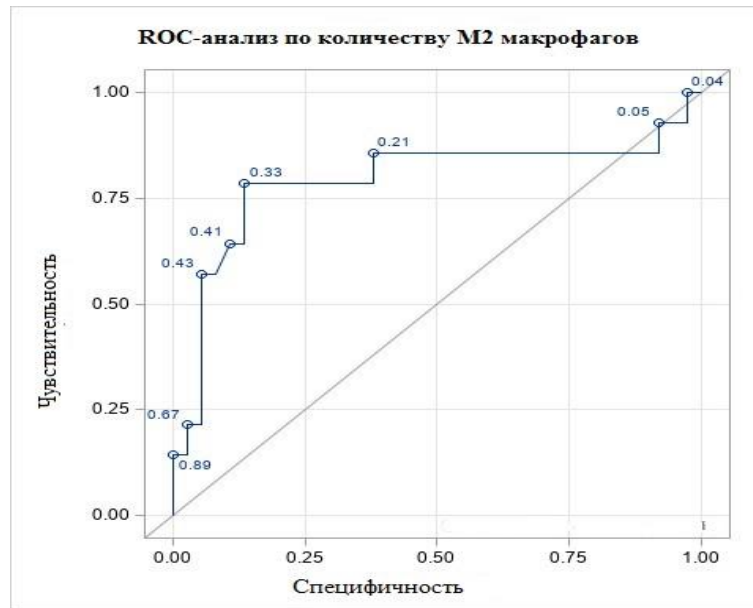


Рисунок 49 – ROC-анализ по количеству M2 макрофагов CD163+

Более удобным представлением ROC-кривой является изображение на одном графике чувствительности и специфичности в зависимости от численного значения исходной переменной (Рисунок 50). По результатам анализа кривых чувствительности – специфичности оптимальным порогом выбрано значение CD163, равное 190. При этом пороге достигается оптимальное для решаемой задачи соотношение чувствительности и специфичности (специфичность 95%, чувствительность 60%). При снижении этого порога специфичность значительно снижается, а чувствительность повышается при этом не столь существенно.

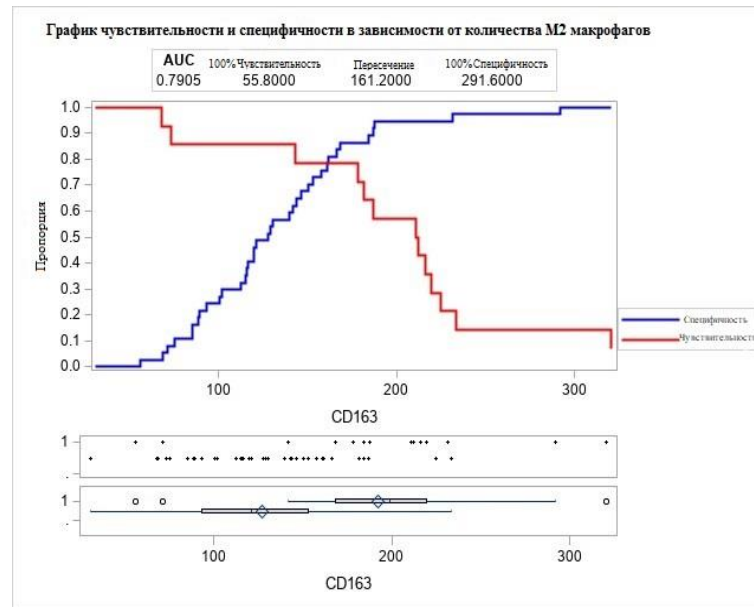


Рисунок 50 – График чувствительности и специфичности в зависимости от количества M2 макрофагов CD163+

На основании проведенного анализа нами было предложено правило на основании единственного признака – уровня CD163. Если уровень CD163 более 190, то можно с достаточно высокой степенью уверенности предполагать, что это опухолевая стадия заболевания.

Поскольку заболевание является крайне редким, и по этой причине мы не обладаем достаточным количеством наблюдений, чтобы разделить нашу выборку на две (одну для проведения обучения, вторую – для верификации полученного правила), в целях визуальной демонстрации его работы мы построили диаграммы рассеяния CD163 со всеми параметрами, включенными в первоначальный пошаговый логистический анализ. По результатам визуального анализа диаграмм рассеяния можно подтвердить вывод о том, что уровень CD163 является единственным фактором, обладающим существенной предиктивной значимостью для стадии заболевания.

При проведении анализа корреляции распределения Th1-типа и Th2-типа зависимость не обнаружена.

3.3 Клинико-патоморфологическая характеристика первичного кожного CD4-позитивного Т-клеточного лимфопролиферативного заболевания из мелких и средних клеток

В исследование включено 28 пациентов в возрасте от 23 до 75 лет, медиана возраста - 51,5 лет, соотношение мужчин и женщин 1:1,15 (13 мужчин и 15 женщин). Кожные высыпания представлены преимущественно солитарными, возвышающимися над поверхностью кожи, новообразованиями розоватого цвета. В одном случае отмечалось вовлечение подкожно-жировой клетчатки. Папулы были расположены на голове в 11 случаях (39,3%), на туловище - у 11 пациентов (39,3%), на верхних и нижних конечностях - у 2 (7,1%) и 3 (10,7%) пациентов, соответственно. Предварительная терапия пациентам не проводилась.

В 23 случаях (82,1%) новообразование визуализировалось в виде единичного очага, в 2 случаях (7,1%) – множественных, у 3 (10,7%) пациентов число новообразований не известно.

При проведении гистологического исследования отмечен нодулярный (11 случаев/39,3%), очагово-диффузный (6 случаев/21,4%) и диффузный (11 случаев/39,3%) инфильтрат из клеток небольшого (15 наблюдений/53,6%) и среднего (13 наблюдений/46,4%) размера (Рисунок 51, 52). Среди лимфоидного инфильтрата определялись гистиоциты, зрелые плазматические клетки (13 наблюдений/ 46,4%), значительная примесь эозинофильных (4 наблюдения/14,3%) и нейтрофильных (7 наблюдений/25%) гранулоцитов. В 14 случаях стенки сосудов были инфильтрированы мелкими лимфоидными клетками. Поражение гиподермы отмечалось в 19 наблюдениях (67,9%). В исследованных случаях признаков эпидермотропизма не обнаруживалось. Явления экзоцитоза встречались в 21 случаях (75%).

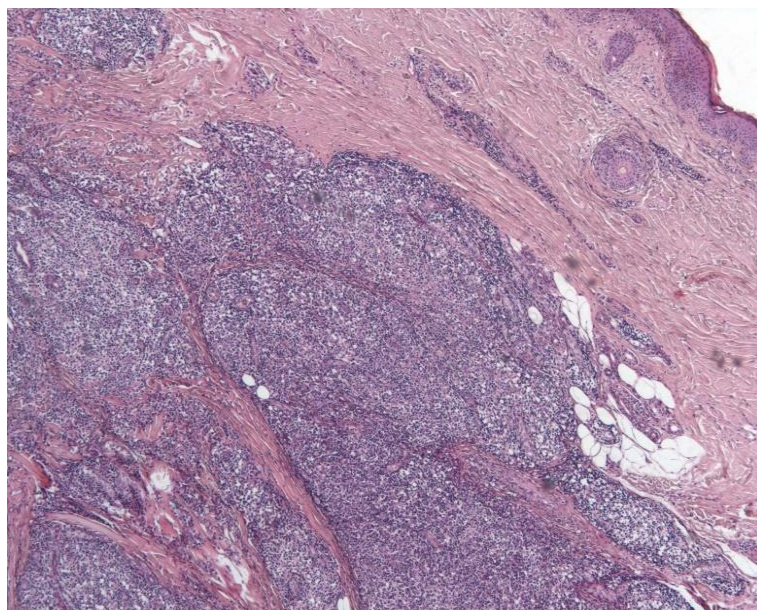


Рисунок 51 – Биоптат кожи пациента с первичным кожным CD4+ Т-клеточным лимфопролиферативным заболеванием из мелких и средних клеток. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x50

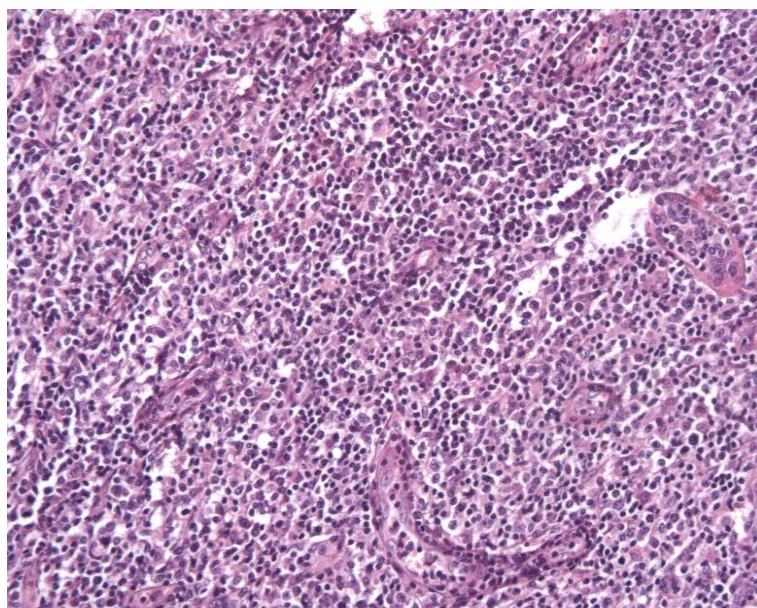


Рисунок 52 – Биоптат кожи пациента с первичным кожным CD4+ Т-клеточным лимфопролиферативным заболеванием из мелких и средних клеток. Окраска гематоксилином и эозином. увеличение x200

По результатам иммуногистохимического исследования в лимфоидном инфильтрате преобладала Т-клеточная лимфоидная популяция CD4+ из небольших клеток (мембранная реакция), CD3+ (мембранная реакция) с

экспрессией Tfh маркеров (PD-1+, ICOS+) и низким уровнем пролиферативной активности Ki-67.

В-клеточная инфильтрация CD20+ составила 10% - 70% реактивного микроокружения. Во всех наблюдениях В-клетки были расположены разрозненно и в виде скоплений небольшого и среднего размера. В гиподерме разного размера скопления В-клеток отмечались в 17 случаях из 18 (94%), что, по-видимому, является характерной особенностью данного лимфопролиферативного заболевания кожи (Рисунок 53).

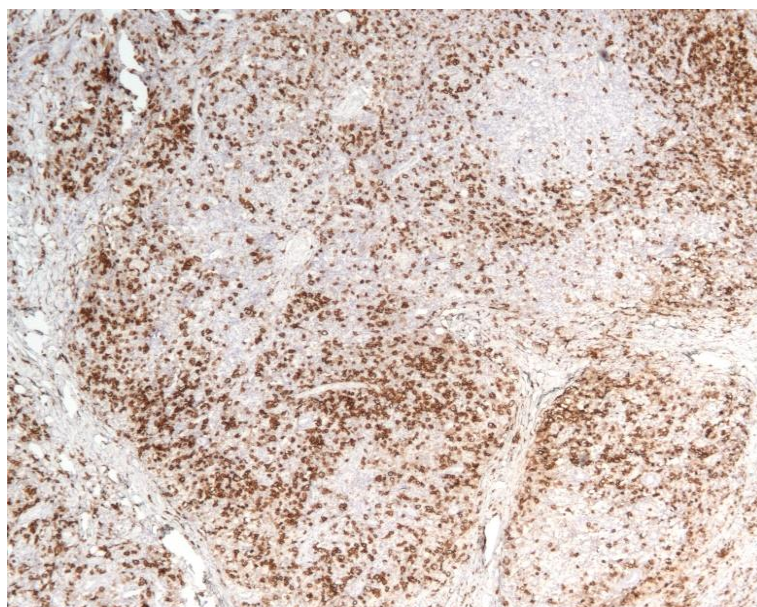


Рисунок 53 – Биоптат кожи пациента. Визуализация CD20-позитивных клеток у пациентов с первичным кожным CD4+ Т-клеточным лимфопролиферативным заболеванием из мелких и средних клеток. Иммуноферментный метод, увеличение x200

Экспрессия ICOS отмечалась в 25% – 80% клеток лимфоидного инфильтрата, представлена клетками разного размера. ICOS-позитивные клетки были расположены разрозненно (24 случая), периваскулярно в виде небольших кластеров (22 случая) и/или крупных скоплений (6 случаев). В подкожно-жировой клетчатке ICOS-позитивные скопления встречались только в 3 случаях (11,1%) (Рисунок 54).

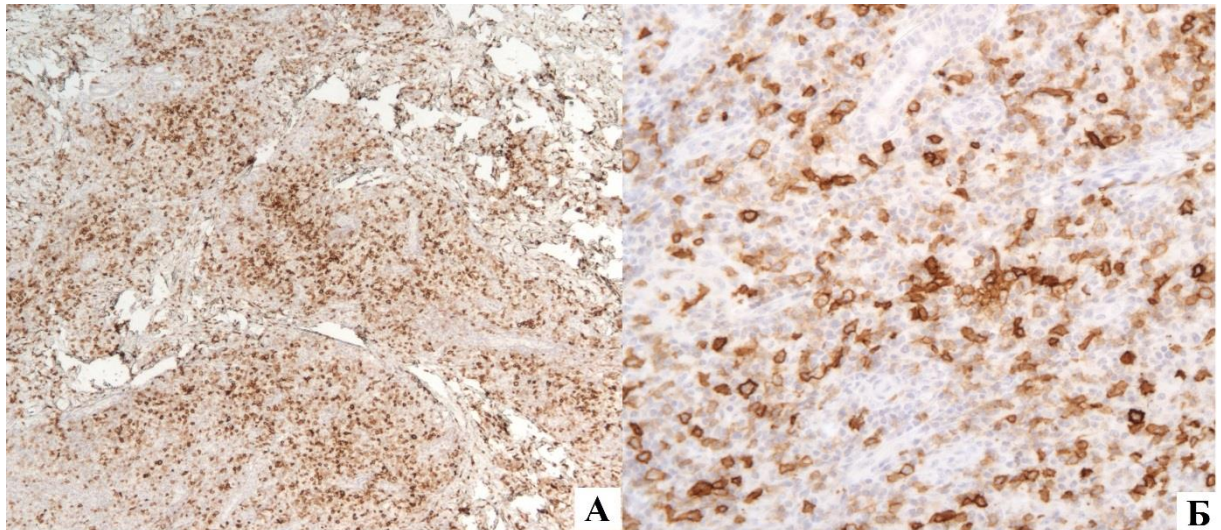


Рисунок 54 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия ICOS у пациентов с первичным кожным CD4+ Т-клеточным лимфопролиферативным заболеванием из мелких и средних клеток. Иммуноферментный метод, А) увеличение x50; Б) увеличение x200

Экспрессия антител к PD-1 отмечалась в 15% – 35% позитивных клеток лимфоидного инфильтрата. PD-1-позитивные клетки располагались преимущественно разрозненно и формировали скопления небольшого и крупного размера периваскулярно и вокруг крупных клеток («розеткоподобные» структуры) (Рисунки 55, 56). Только в 6 случаях (21,4%) отмечались скопления PD-1-позитивных клеток в гиподерме.

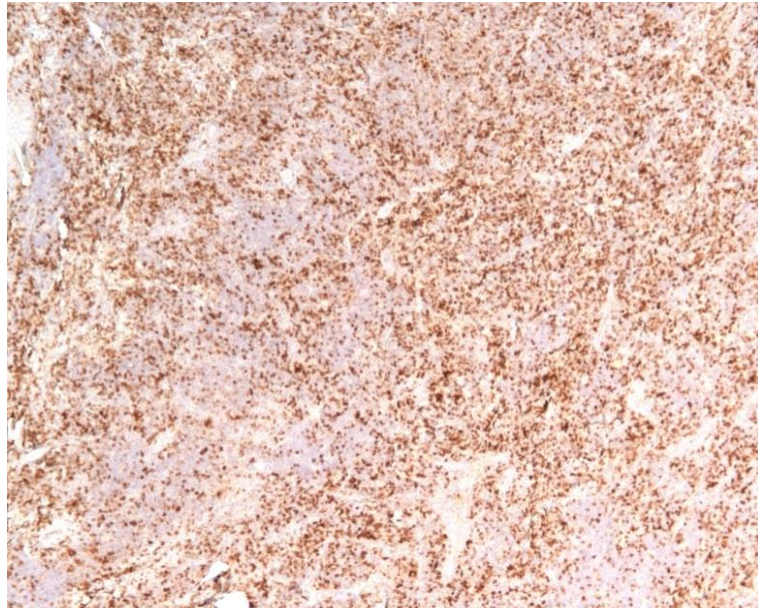


Рисунок 55 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия PD-1 у пациентов с первичным кожным CD4+ Т-клеточным лимфопролиферативным заболеванием из мелких и средних клеток. Иммуноферментный метод, увеличение x50.

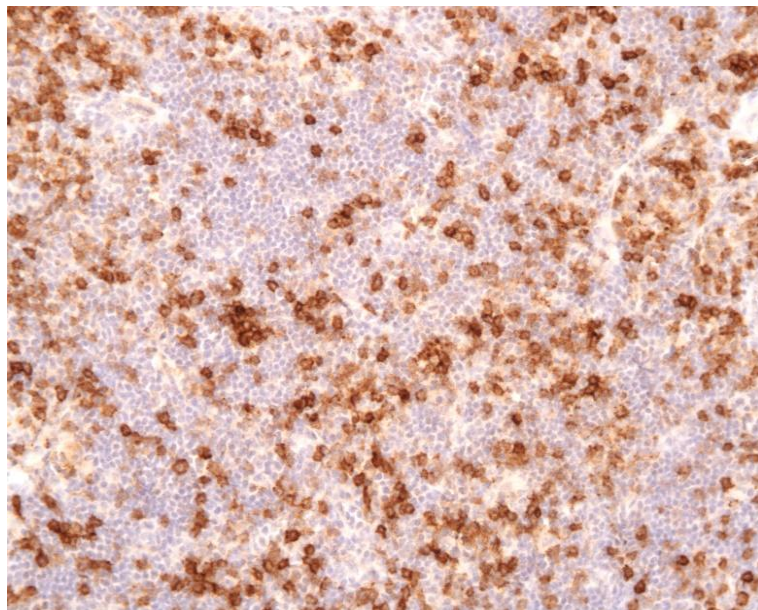


Рисунок 56 – Биоптат кожи пациента. Экспрессия PD-1 у пациентов с первичным кожным CD4+ Т-клеточным лимфопролиферативным заболеванием из мелких и средних клеток. Отмечается формирование «розеткоподобных» структур. Иммуноферментный метод, увеличение x 200

ПЦР-исследование на наличие клональной реаранжировки генов γ -цепи TCR проведено 11/28 пациентам, из них у 4/11 (36,3%) обнаружена

моноклональная Т-клеточная популяция. ПЦР-исследование на наличие клональной реаранжировки генов β -цепи TCR проведено 4/28 пациентам, моноклональная Т-клеточная популяция не обнаружена.

3.4 Сопоставление грибовидного микоза и первичного кожного CD4-позитивного Т-клеточного лимфопролиферативного заболевания из мелких и средних клеток

Для проверки гипотез влияния В-клеток и клеток с Tfh-иммунофенотипом использовался анализ таблиц сопряжения. В качестве меры связи приведено отношение шансов с соответствующим 95% доверительным интервалом.

При проведении сравнения групп пациентов с ПК CD4+ Т-клеточным ЛПЗ из мелких/средних клеток и пациентов с грибовидным микозом по морфологическим признакам было обнаружено статистически значимое различие по критерию «роговой слой» ($p=0,00004$). Статистически значимые различия отмечались также по критериям: акантоз ($p=0,0010$), эпидермотропизм ($p<0,0000$), удлинение эпидермальных отростков ($p=0,0152$), нейтрофильные гранулоциты ($p=0,0402$), ангиоматоз ($p=0,0080$), эластоз ($p<0,0000$), ретикулярный слой ($p=0,0080$).

Данные сравнительного анализа по параметрам роговой слой и гранулярный слой эпидермиса представлены в Таблице 19.

Таблица 19 – Сравнение морфологических признаков рогового и гранулярного слоя эпидермиса

Признаки	ГМ (N)	ПК CD4+ Т-клеточное ЛПЗ (N)	p
Ортокератоз	17/51 (33,3%)	23/28 (82,1%)	0,00004
Гипер-ортокератоз	5/51 (9,8%)	1/28 (3,6%)	
Паракератоз	14/51 (27,5%)	3/28 (10,7%)	
Гипер-паракератоз	15/51 (29,4%)	0/28 (0,0%)	
Истончение гранулярного слоя	8/51 (15,7%)	3/28 (10,7%)	0,4526
Неизменный гранулярный слой	43/51 (84,3%)	23/28 (82,1%)	
Гипергранулез	0/51 (0,0%)	0/28 (0,0%)	

Статистически значимые различия отмечались по критериям акантоз ($p=0,0010$), эпидермотропизм ($p<0,0000$)

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам эпидермиса представлены в Таблице 20.

Таблица 20 – Сравнение морфологических признаков эпидермиса

Параметры	ГМ (N)	ПК CD4+ Т-клеточное ЛПЗ (N)	p
Акантоз	41/51 (80,4%)	11/28 (39,3%)	0,0010
Спонгиоз	35/51 (68,6%)	20/28 (71,4%)	0,3140
Экзоцитоз	25/51 (49,0%)	17/28 (60,7%)	0,1308
Эпидермотропизм	45/51 (88,2%)	0/28 (0,0%)	<0,0000
Дискератоз кератиноцитов	5/51 (9,826%)	2/28 (7,1%)	0,5603
Вакуольная дистрофия кератиноцитов	26/51 (60,0%)	14/28 (50,0%)	0,5017

Статистически значимые различия отмечались по критериям удлинения эпидермальных отростков ($p=0,0152$), состояния сосочкового слоя дермы ($p<0,0000$), ангиоматоза ($p=0,0080$), эластоз ($p<0,0000$).

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам сосочкового слоя представлены в Таблице 21.

Таблица 21 – Сравнение параметров сосочкового слоя

Параметры	ГМ (N)	ПК CD4+ Т- клеточное ЛПЗ (N)	p
Удлинение эпидермальных отростков	19/51 (37,3%)	3/28 (10,7%)	0,0152
Отек сосочкового слоя	17/51 (33,3%)	22/28 (78,6%)	<0,0000
Фиброз сосочкового слоя	34/51 (66,7%)	4/28 (14,3%)	
Ангиоматоз	15/51 (29,4%)	4/28 (14,3%)	0,0080
Эластоз	3/51 (14,3%)	25/28 (89,3%)	<0,0000

Статистически значимые различия отмечались по критериям наличия нейтрофильных гранулоцитов ($p=0,0402$), меланофагов ($p=0,0138$).

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам реактивного микроокружения представлены в Таблице 22.

Таблица 22 – Сопоставление клеточных популяций реактивного микроокружения

Параметры	ГМ (N)	ПК CD4+ T-клеточное ЛПЗ (N)	p
Гистиоциты	49/51 (96,1%)	27/28 (96,4%)	0,4246
Зрелые плазматические клетки	30/51 (58,8%)	12/28 (42,9%)	0,1652
Нейтрофильные гранулоциты	16/51 (31,4%)	3/28 (10,7%)	0,0402
Эозинофильные гранулоциты	13/51 (25,5%)	7/28 (25,0)	0,5857
Меланофаги	13/51 (25,5%)	1/28 (3,6%)	0,0138

Статистически значимые различия отмечались по критериям инфильтрации ретикулярного слоя дермы ($p=0,0080$), придатков кожи ($p<0,0000$).

Данные сравнительного анализа выраженности инфильтрации лимфоидными клетками разных отделов дермы и придатков кожи представлены в Таблице 23.

Таблица 23 – Сравнение выраженности инфильтрации лимфоидными клетками разных отделов дермы и придатков кожи

Параметры	ГМ (N)	ПК CD4+ T-клеточное ЛПЗ (N)	p
Ретикулярный слой	35/51 (68,6%)	13/28 (46,4%)	0,0080
Гиподерма	4/51 (7,8%)	2/28 (7,1%)	0,6585
Придатки кожи	5/51 (9,8%)	12/28 (42,9%)	<0,0000
Сосуды	10/51 (19,6%)	5/28 (17,9%)	0,7973

Статистические достоверные различия в группах сравнения были определены по показателям экспрессии CD20, PD-1, ICOS ($p=0,0003$, $p=0,0001$, $p=0,0210$, соответственно).

Данные сравнительного анализа по экспрессии PD-1, ICOS клетками лимфоидного инфильтрата, и CD20 – клетками реактивного микроокружения, представлены в Таблице 24.

Таблица 24 – Сравнение экспрессии PD-1, ICOS клетками лимфоидного инфильтрата, и CD20 – клетками реактивного микроокружения

Параметры	ГМ, Медиана (диапазон)	ПК CD4+ Т-клеточное ЛПЗ, Медиана (диапазон)	p
CD20	10,0 (5,0-20,0)	30,0 (10,0-70,0)	0,0003
PD-1	20,0 (10,0-60,0)	12,5 (5,0-35,0)	0,0081
ICOS	35,0 (20,0-55,0)	15,0 (5,0-80,0)	0,0036

Таким образом, при сравнении морфологических признаков субстрата ПК CD4+ Т-ЛПЗ из мелких/средних клеток и ГМ отмечены статистически значимые различия по признакам: состояние рогового слоя, акантоз, эпидермотропизм, удлинение эпидермальных отростков, нейтрофильные гранулоциты, ангиоматоз, эластоз, инфильтрация ретикулярного слоя. Также отмечаются различия в количестве PD-1- и ICOS-позитивных клеток, выраженности В-клеточной популяции. В отличие от ГМ для ПК CD4+ Т-ЛПЗ из мелких/средних клеток характерно формирование PD-1-позитивных «розеткоподобных» структур и полиморфизм ICOS-позитивных клеток. Обобщенные данные представлены в Таблице 25.

Таблица 25 – Сводная таблица морфологических различий ПК CD4+ Т-клеточного ЛПЗ из мелких/средних клеток и ГМ

Признаки	ГМ (N)	ПК CD4+ Т-клеточное ЛПЗ (N)	p
Ортокератоз	17/51 (33,3%)	23/28 (82,1%)	0,00004
Гипер-ортокератоз	5/51 (9,8%)	1/28 (3,6%)	
Паракератоз	14/51 (27,5%)	3/28 (10,7%)	
Гипер-паракератоз	15/51 (29,4%)	0/28 (0,0%)	
Акантоз	41/51 (80,4%)	11/28 (39,3%)	0,0010
Эпидермотропизм	45/51 (88,2%)	0/28 (0,0%)	<0,0000
Удлинение эпидермальных отростков	19/51 (37,3%)	3/28 (10,7%)	0,0152
Отек сосочкового слоя	17/51 (33,3%)	22/28 (78,6%)	<0,0000
Фиброз сосочкового слоя	34/51 (66,7%)	4/28 (14,3%)	
Ангиоматоз	15/51 (29,4%)	4/28 (14,3%)	0,0080
Эластоз	3/51 (14,3%)	25/28 (89,3%)	0,0000
Нейтрофильные гранулоциты	16/51 (31,4%)	3/28 (10,7%)	0,0402
Ретикулярный слой	35/51 (68,6%)	13/28 (46,4%)	0,0080
Придатки кожи	5/51 (9,8%)	12/28 (42,9%)	<0,0000

3.5 Клинико-патоморфологическая характеристика пациентов грибовидным микозом до проведения терапии интерфероном α

В группу наблюдавшихся в процессе терапии IFN α вошло 15 пациентов, соотношение М:Ж = 1:1,5, медиана возраста – 55 лет (диапазон 36-75 лет). У 5/15 пациентов верифицирована пятнистая, у 6/15 – бляшечная, у 4/15 – опухолевая стадия ГМ. ПЦР исследование для обнаружения/исключения реаранжировки генов γ - и β - цепей TCR проведено 12/15 пациентам. Данные ПЦР исследования

биоптатов кожи группы пациентов, получающих терапию препаратами IFN α , представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Определение клональной реаранжировки генов цепей TCR

Клональная реаранжировка генов цепей TCR	Есть	Нет	Всего
γ	11	1	9
β	7	0	3
γ и β	6	-	-

В одном гистологическом препарате эпидермис отсутствовал. Роговой слой эпидермиса обладал признаками ортокератоза в 2/14 случаях, явлениями гиперортокератоза – в 1/14 случае, признаками паракератоза 6/14 случаях, гиперпаракератоза в 5/14 случаях. Роговой слой был истончен в 2/14 случаях. В остальных случаях (12/14) роговой слой был без изменений. Признаки акантоза отмечались в 13/14 случаях, явления спонгиоза присутствовали в 7/14 случаях.

Признаки эпидермотропизма определялись во всех гистологических препаратах (14/14). Минимальные явления эпидермотропизма отмечались в 7/14 случаях. Умеренно выраженные признаки эпидермотропизма встречались в 4/14 случаях. Выраженный эпидермотропизм присутствовал в 3/14 случаях. Микроабсцессы Потрие определялись в 7/14 случаях.

Явления вакуольной дистрофии кератиноцитов присутствовали в 1/14 случае, признаки дискератоза также визуализировались в 1/14 случае. Признаки удлинения эпидермальных отростков отмечались в 8/14 случаях.

Отек сосочкового слоя дермы определялся в 3/14 случаях, фиброз сосочкового слоя дермы присутствовал в 11/14 случаях.

Характер роста лимфоидного инфильтрата представлен в 7/15 случаев периваскулярным характером роста, в 4/15 – полосовидным характером роста, в 2/15 – очаговым характером роста, у 2/15 пациентов отмечался диффузный

характер роста. Объем лимфоидного инфильтрата в 2/15 случаев был отнесен к скудному, в 7/15 – умеренно выраженному, в 6/15 – к выраженному (Рисунок 57).

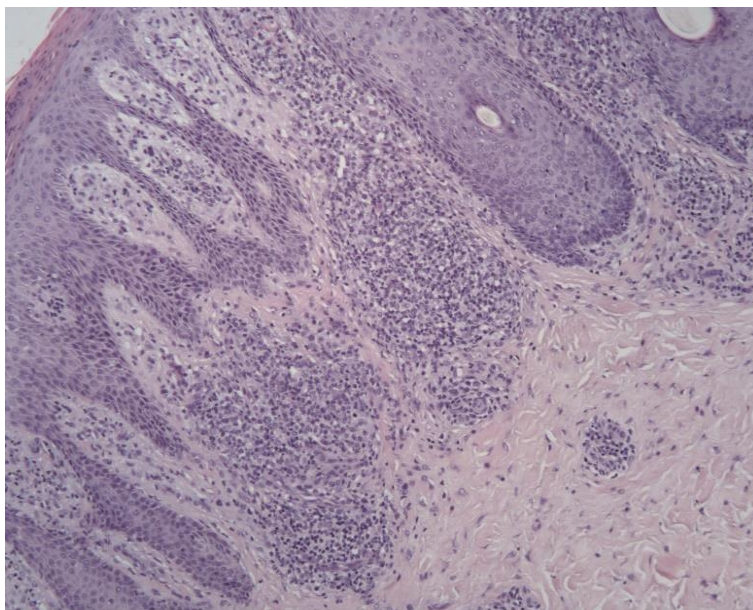


Рисунок 57 – Биоптат кожи пациента с грибовидным микозом до начала терапии. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x50

Реактивное микроокружение представлено гистиоцитами в 15/15 случаях, зрелыми плазматическими клетками в 6/15 случаях, нейтрофильными гранулоцитами в 1/15 случае, эозинофильными гранулоцитами в 2/15 случаях. Меланофаги отмечались в 3/15 случаях.

Явления эластоза определялись в 1/14 случае. Признаки ангиоматоза присутствовали в 2/14 случаях. Поражение гиподермы отмечалось в 2/15 случаях, вовлечение стенок сосудов – в 6/15 наблюдений. Инфильтрация волосяных фолликулов лимфоидными клетками отмечалась в 4/15 случаях, поражение придатков кожи встречалось в 2/15 случаях.

При проведении иммуногистохимического исследования с антителами к CD30 было выявлено:

В 14/15 случаях CD30-позитивные клетки реактивного микроокружения (Рисунок 58). Небольшие клетки лимфоидного инфильтрата экспрессировали CD30 в 13/15 случаях, клетки среднего размера визуализировались в 8/15 случаях,

крупные клетки отмечались в 6/15 случаях. Среди пациентов с ГМ количество CD30-позитивных клеток менее 20% отмечалось в 12/15 (80%) случаях. Экспрессия CD30, превышающая 20% позитивных клеток лимфоидного инфильтрата, определялась в 3-х (20%) наблюдениях.

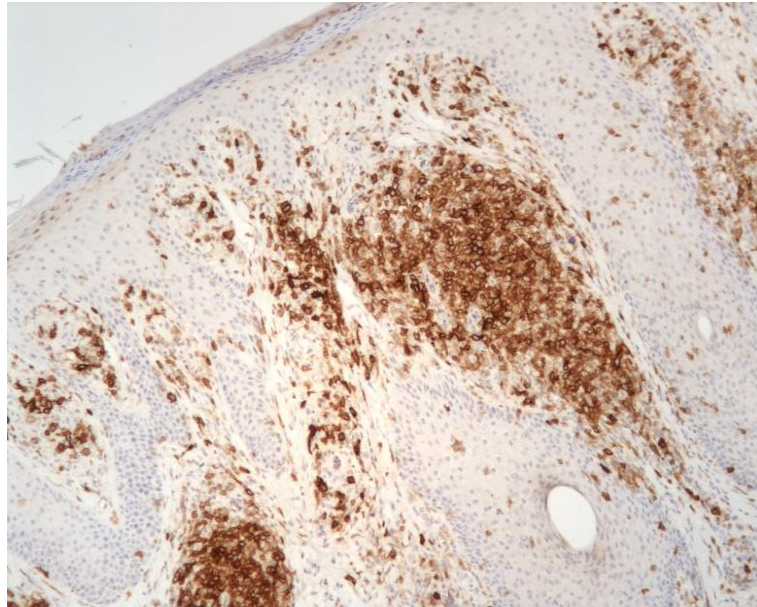


Рисунок 58 – Биопсия кожи пациента. Экспрессия CD30 у пациентов с грибковым микозом до начала терапии IFN α . Иммуноферментный метод, увеличение x 200

3.6 Изменения морфологических и иммуногистохимических параметров у пациентов с ГМ в процессе терапии препаратами IFN α

При оценке эффективности терапии пациентов с диагнозом ГМ препаратами IFN α в течение 6 месяцев по результатам обследования были выявлены некоторые позитивные изменения в отношении кожных проявлений на местах поражения и субъективных ощущений у 8/15 (53,3%) пациентов.

При сопоставлении клинической картины с помощью шкалы mSWAT изменения в количестве менее 10 баллов выявлено у 2/8 (25%) пациентов, от 10 до 50 баллов – 4/8 (50%) пациентов, более 50 баллов – 2/8 (25%) пациентов (Рисунки 59, 60).

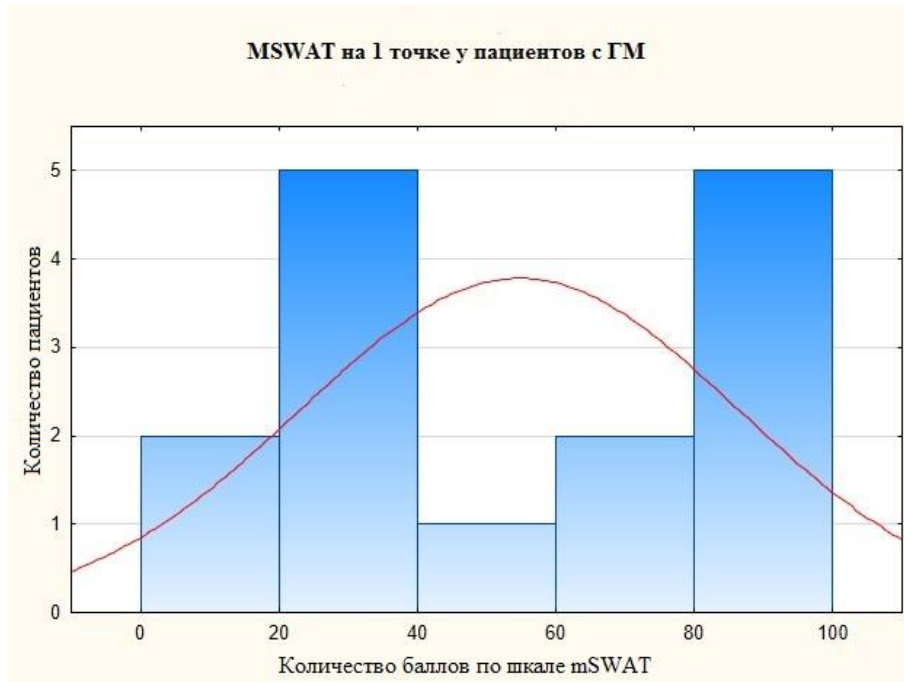


Рисунок 59 – MSWAT на 1 точке у пациентов с ГМ

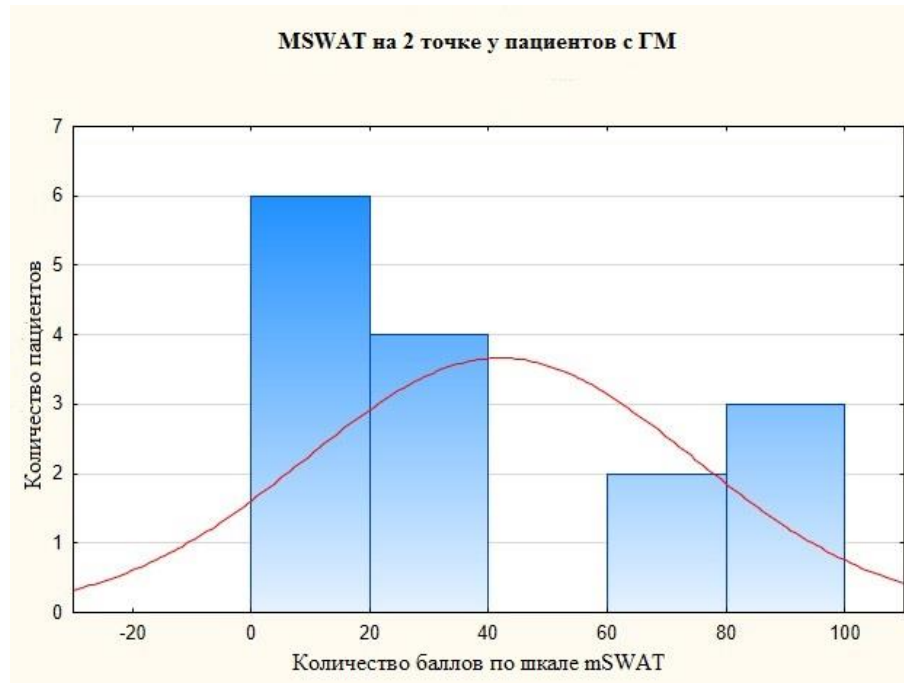


Рисунок 60 – MSWAT на 2 точке у пациентов с ГМ в процессии IFN α

У 7/15 (46,6%) пациентов определялась отрицательная динамика течения заболевания.

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам рогового и гранулярного слоев эпидермиса представлены в Таблице 27.

Таблица 27 – Сравнение рогового и гранулярного слоев эпидермиса

Признак	До терапии(N)	3-6 месяцев после начала терапии (N)	p
Ортокератоз	2/15 (13,3%)	4/15 (26,7%)	0,8840
Гипер-ортокератоз	0/15 (0,0%)	1/15 (6,7%)	
Паракератоз	6/15 (40,0%)	6/15 (13,3%)	
Гипер-паракератоз	15/15 (100,0%)	5/15 (33,3%)	
Истончение гранулярного слоя	2/15 (13,3%)	6/15 (40,0%)	0,1832
Неизменный гранулярный слой	11/15 (13,3%)	10/15 (66,7%)	
Гипергранулез	0/15 (0,0%)	0/15 (0,0%)	

При сравнении исследуемых групп статистически достоверных различий не обнаружено ($p > 0,05$).

При проведении сравнения между первой и второй точкой у пациентов с ГМ в процессе терапии IFNa отмечалась тенденция к различию по гистологическому признаку – «экзоцитоз» ($p = 0,0563$). Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам эпидермиса представлены в Таблице 28.

Таблица 28 – Сравнение морфологических параметров эпидермиса

Параметр	До терапии(N)	3-6 месяцев после начала терапии (N)	p
Акантоз	12/15 (80,0%)	13/15 (86,7%)	0,3831
Спонгиоз	9/15 (60,0%)	10/15 (66,7%)	0,5071
Экзоцитоз	7/15 (46,7%)	3/15 (20,0%)	0,0563

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам эпидермотропизма представлены в Таблице 29.

Таблица 29 Сравнение выраженности эпидермотропизма и наличие микроабсцессов Потрие

Признак	До терапии (N)	3-6 месяцев после начала терапии (N)	p
Эпидермотропизм	14/15 (93,3%)	15/15 (100,0%)	-
Минимальные признаки эпидермотропизма	7/15 (46,7%)	6/15 (40,0%)	0,7026
Умеренно выраженный эпидермотропизм	4/15 (26,7%)	6/15 (40,0%)	
Массивный эпидермотропизм	2/15 (13,3%)	4/15 (26,7%)	
Микроабсцессы Потрие	6/15 (40,0%)	6/15 (40,0%)	0,4628

При сравнении исследуемых групп статистически достоверных различий не обнаружено ($p > 0,05$).

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам кератиноцитов представлены в Таблице 30.

Таблица 30 Сравнение морфологических признаков кератиноцитов

Параметр	До терапии (N)	3-6 месяцев после начала терапии (N)	p
Дискератоз кератиноцитов	1/15 (6,7%)	3/15 (20,0%)	0,3831
Вакуольная дистрофия кератиноцитов	1/15 (6,7%)	1/15 (6,7%)	0,7044

При сравнении исследуемых групп статистически достоверных различий не обнаружено ($p > 0,05$).

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам сосочкового слоя дермы представлены в Таблице 31.

Таблица 31 Сравнение морфологических признаков сосочкового слоя дермы

Параметр	До терапии (N)	3-6 месяцев после начала терапии (N)	p
Удлинение эпидермальных сосочков	8/15 (53,3%)	9/15 (60,0%)	0,5372
Отек сосочкового слоя	3/15 (20,0%)	4/15 (26,7%)	0,6258
Фиброз сосочкового слоя	10/15 (66,7%)	12/15 (80,0%)	
Ангиоматоз	2/15 (13,3%)	1/15 (6,7%)	0,4198
Эластоз	1/15 (6,7%)	1/15 (6,7%)	0,7044

При сравнении исследуемых групп статистически достоверных различий не обнаружено ($p > 0,05$).

Данные сравнительного анализа по признакам гистоархитектоники и выраженности лимфоидного инфильтрата представлены в Таблице 32.

Таблица 32 Сравнение гистоархитектоники и объема лимфоидного инфильтрата

Признак	До терапии (N)	3-6 месяцев после начала терапии (N)	p
Периваскулярный инфильтрат	7/15 (46,7%)	10/15 (66,7%)	0,4537
Полосовидный инфильтрат	3/15 (20,0%)	5/15 (33,3%)	
Очаговый инфильтрат	2/15 (13,3%)	1/15 (6,7%)	
Диффузный инфильтрат	2/15 (13,3%)	0/15 (0,0%)	
Скудный инфильтрат	2/15 (13,3%)	4/15 (26,7%)	0,7968
Умеренно выраженный инфильтрат	7/15 (46,7%)	7/15 (46,7%)	
Выраженный инфильтрат	5/15 (33,3%)	5/15 (33,3%)	

При сравнении исследуемых групп статистически достоверных различий не обнаружено ($p > 0,05$).

Данные сравнительного анализа по морфологическим признакам реактивного микроокружения представлены в Таблице 33.

Таблица 33 Сравнение клеточных популяций реактивного микроокружения

Параметр	До терапии (N)	3-6 месяцев после начала терапии (N)	p
Гистиоциты	14/15 (93,3%)	15/15 (100,0%)	-
Зрелые плазматические клетки	6/15 (40,0%)	5/15 (33,3%)	0,3899
Нейтрофильные гранулоциты	1/15 (6,7%)	1/15 (6,7%)	0,7241
Эозинофильные гранулоциты	2/15 (13,3%)	1/15 (6,7%)	0,4483
Меланофаги	2/15 (13,3%)	6/15 (40,0%)	0,1541

При сравнении исследуемых групп статистически достоверных различий не обнаружено ($p > 0,05$).

Данные сравнительного анализа выраженности лимфоидного инфильтрата представлены в Таблице 34.

Таблица 34 Сравнение лимфоидной инфильтрации разных отделов дермы и придатков кожи

Параметр	До терапии (N)	3-6 месяцев после начала терапии (N)	p
Ретикулярный слой	12/15 (80,0%)	13/15 (86,7%)	0,5670
Гиподерма	2/15 (13,3%)	0/15 (0,0%)	0,2092
Придатки кожи	2/15 (13,3%)	0/15 (0,0%)	0,2092
Сосуды	5/15 (33,3%)	2/15 (13,3%)	0,1433
Волосяные фолликулы	4/15 (26,7%)	4/15 (26,7%)	0,5743

При сравнении исследуемых групп статистически достоверных различий не обнаружено ($p > 0,05$).

Данные сравнительного анализа экспрессии CD30 клетками опухолевого субстрата представлены в Таблице 35.

Таблица 35 Сравнение экспрессии CD30 у пациентов с ГМ до и после начала терапии IFN α

Параметр	До терапии, Медиана (диапазон)	3-6 месяцев после начала терапии, Медиана (диапазон)	p
CD30	10,0 (5,0-15,0)	10,0 (5,0-20,0)	0,6482

У 8/15 (53,3%) пациентов через 3-6 месяцев терапии препаратами IFN α выявлена положительная динамика в отношении кожных высыпаний. При сопоставлении изменений в биоптатах кожи до и после проведенного лечения у данной группы больных отмечено уменьшение объема опухолевого инфильтрата в 4/8 (50,0%) случаях и смена характера роста на менее выраженный – в 5/8 (62,5%). Из них у 1/8 (12,5%) пациента была выявлена положительная динамика, как в изменениях характера роста, так и объема лимфоидного инфильтрата. В 1/8 (12,5%) случае изменений морфологической картины в процессе лечения не обнаружено.

Количество CD30-позитивных клеток через 3-6 месяцев терапии препаратами IFN α увеличилось в 3/8 (37,5%) случаях, уменьшилось в 4/8 (50,0%) случаях, то есть, была выявлена разнонаправленная динамика.

Через 6-12 месяцев терапии препаратами IFN α 4 пациентам была выполнена повторная биопсия кожи. У 3/4 пациентов отмечалась положительная динамика в отношении кожных проявлений, в 1/4 случае изменений обнаружено не было. Морфологическая картина в тех 3/4 случаях также визуализировала положительные изменения объема лимфоидного инфильтрата и характера роста. Количество CD30-позитивных клеток снизилось в 1/3 случаев; увеличилось – 1/3 случаев. У 1/4 пациента динамики изменений клинической и морфологической картины отмечено не было (морфологическая картина была идентична при сопоставлении гистологических препаратов до и после лечения), однако, количество CD30-позитивных клеток значительно уменьшилось по данным ИГХ-исследования.

Для проверки гипотезы об ассоциации изменения количества CD30-позитивных клеток в процессе терапии с клиническим ответом нами для каждого пациента была определена разница в числе позитивных клеток в двух точках (в первой контрольной точке после начала терапии и в дебюте заболевания) (Рисунок 61).

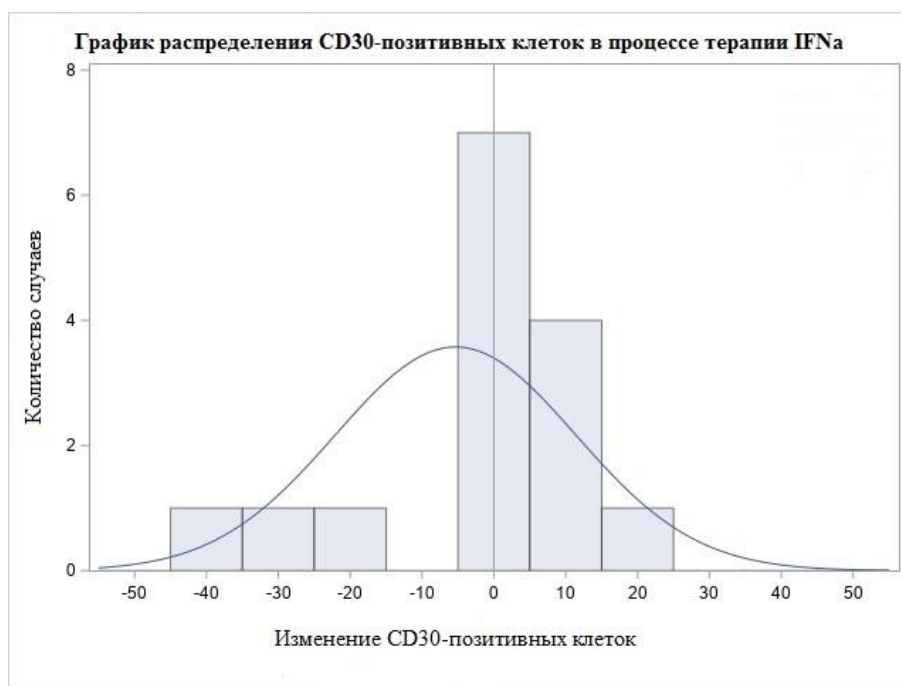


Рисунок 61 – График распределения CD30-позитивных клеток в процессе терапии IFNa

Абсолютное значение изменения количества CD30-позитивных клеток значительно не отличается в группе пациентов с ответом и без ответа ($p = 0,34$). Таким образом, не обнаружено значимого изменения количества CD30-позитивных клеток в процессе терапии, что возможно связано с небольшим числом наблюдений и малым временным промежутком между началом терапии и первой контрольной точкой.

Также нами был сформирован интегральный индекс «выраженности заболевания», в котором были просуммированы (1- наличие, 0 – отсутствие) следующие клинические признаки: «температура», «проявления на коже», «пятна», «бляшки», «узлы», «голова», «туловище», «верхние конечности»,

«нижние конечности», «паховые л/у», «аксиллярные л/у», «подвздошные л/у», «шейные л/у», «шелушение», «зуд», «боль», «изъязвление».

Для проверки гипотезы о том, ассоциировано ли изменение интегральной тяжести заболевания по предложенной шкале в процессе терапии, с клиническим ответом, для каждого пациента была определена разница баллов по предложенной шкале в двух точках (в первой контрольной точке после начала терапии и в дебюте заболевания) (Рисунок 62).

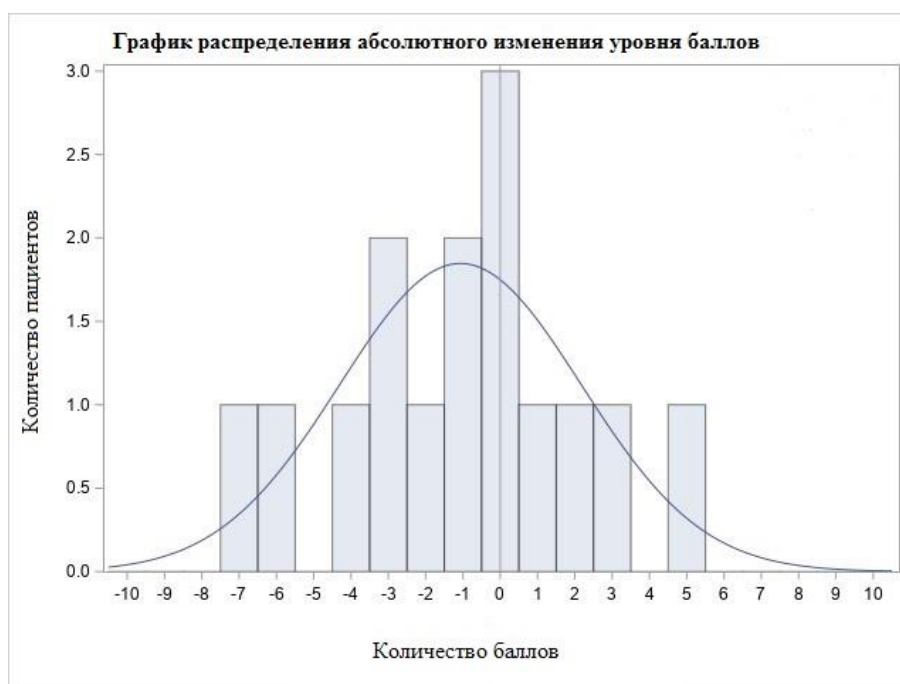


Рисунок 62 – График распределения абсолютного изменения уровня баллов

Абсолютное значение изменения баллов по интегральной шкале отличается в двух группах пациентов, ответивших/не ответивших на терапию ($p = 0,0141$). В группе ответивших баллы по интегральному показателю уменьшаются в среднем на 2,8 балла, в группе не ответивших на терапию - увеличиваются в среднем на 1 балл.

Кроме того, был проанализирован стандартный индекс “тяжести заболевания” (стадия). Абсолютное значение изменения баллов по стандартной шкале отличается в двух группах пациентов (ответивших/не ответивших) на

терапию ($p=0,0196$). В группе пациентов, ответивших на терапию, баллы по стандартному показателю уменьшаются в среднем на 1,25 балла, в группе пациентов, не ответивших на терапию, увеличиваются в среднем на 1,43 балла.

3.7 Клинический случай первичного кожного CD4-позитивного Т-клеточного лимфопролиферативного заболевания из небольших и мелких и средних клеток

Пациент К., 32-х лет, в июне 2022 г. обнаружил на коже в области лопатки новообразование размером 2см в диаметре. Общий анализ крови – в пределах нормы. Новообразование было полностью иссечено 23.10.2022г. При проведении гистологического исследования по месту жительства было заподозрено лимфопролиферативное заболевание с поражением кожи.

Пациент обратился в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России для уточнения диагноза. При гистологическом исследовании обнаружен массивный лимфоидный инфильтрат во всех слоях дермы с инфильтрацией гиподермы (Рисунок 63). Лимфоидный инфильтрат был представлен клетками небольшого и среднего размера, среди которых определялись немногочисленные укрупненные лимфоидные клетки.

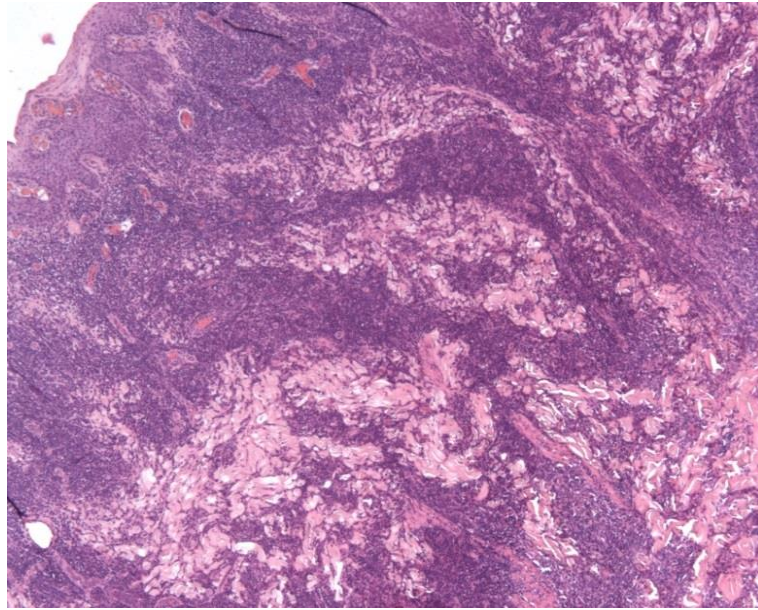


Рисунок 63 – Биоптат кожи пациента К. 32 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x50

При иммуногистохимическом исследовании клетки лимфоидного инфильтрата экспрессировали CD3, CD4, BCL2. Большинство клеток обладали Tfh-иммунофенотипом (PD-1+, ICOS+). Клетки с Tfh-иммунофенотипом располагались разрозненно и в виде небольших скоплений. PD-1-позитивные клетки формировали «розеткоподобные скопления» вокруг укрупненных лимфоидных клеток (Рисунок 64). Отмечалось большое количество В-клеток (CD20+), расположенных разрозненно и в виде скоплений (Рисунок 65). В-клетки располагались преимущественно в гиподерме и в нижних отделах ретикулярного слоя дермы. При проведении реакции с антителами к CD23 в основании В-клеточных скоплений отмечались кластеры сети ФДК. Индекс пролиферативной активности Ki-67 среди клеток массивного лимфоидного инфильтрата составлял около 10-15%.

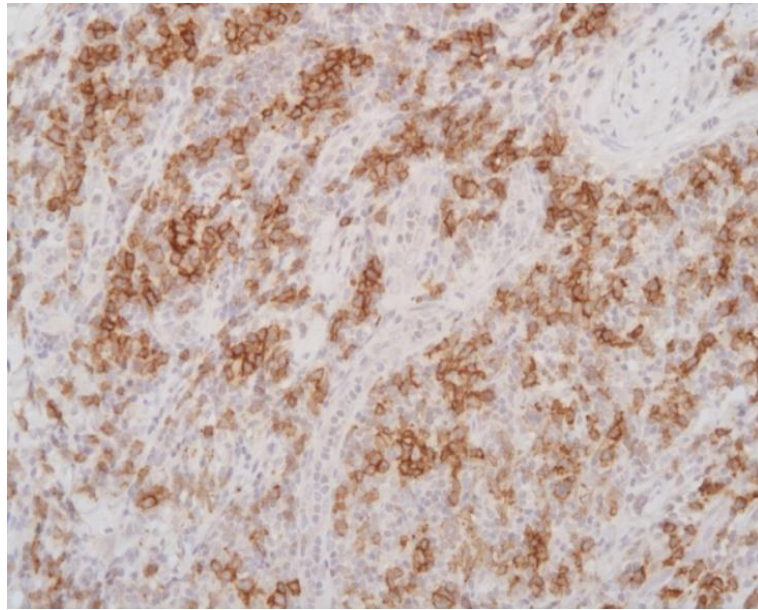


Рисунок 64 – Биоптат кожи пациента К. 32 лет. PD-1-позитивные клетки располагались разрозненно и в виде скоплений, формировали «розеткоподобные» структуры. Иммуногистохимический метод, увеличение x200

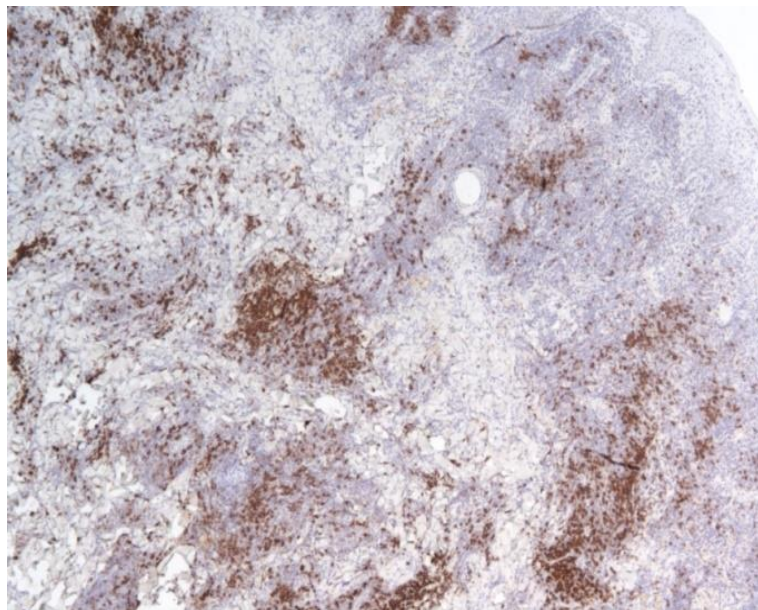


Рисунок 65 – Биоптат кожи пациента К. 32 лет. При реакции с антителами к CD20 отмечаются скопления В-клеток, расположенные в нижних отделах ретикулярного слоя и в гиподерме. Иммуногистохимический метод, увеличение x50

Проведено ПЦР-исследование на парафиновом материале с целью выявления клональной реаранжировки генов цепей TCR. Моноклональность по γ - и β -цепям не обнаружена.

Таким образом, с учетом результатов гистологического, ИГХ- и ПЦР-исследований был установлен диагноз первичного кожного CD4+ Т-клеточного лимфопролиферативного заболевания из мелких и средних клеток. Пациенту, в связи с отсутствием подобных новообразований на поверхности тела, была назначена наблюдательная терапия.

В представленном клиническом случае у пациента с ПК CD4+ Т-клеточным ЛПЗ из мелких/средних клеток отмечалась выраженная В-клеточная инфильтрация.

Наличие выраженной В-клеточной инфильтрации является фактором, усложняющим установление диагноза. Однако причины появления данной инфильтрации, как и этиология ПК CD4+ Т-клеточного ЛПЗ из мелких/средних клеток, неизвестна. Вероятно, ПК CD4+ Т-клеточное ЛПЗ из мелких/средних клеток также, как и кожная лимфоидная гиперплазия, возникает на фоне воспалительной реакции на внешние раздражители вследствие нарушения иммунного ответа на антигены. Наличие выраженной В-клеточной инфильтрации, расположенной преимущественно в нижних отделах дермы и в гиподерме, позволяет предположить, что она выполняет барьерную функцию между здоровой тканью и возникшим новообразованием.

3.8 Клинический случай грибовидного микоза с крупноклеточной трансформацией в процессе терапии препаратами интерфероном альфа

Пациентка К., 31 г., в апреле 2014 г. обратилась в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России для уточнения диагноза. Из предоставленной медицинской документации известно, что с 2008 г. состояла под наблюдением дерматологов по поводу высыпаний на коже в области ребер и спины.

Специфичной терапии не получала. После беременности и родов отмечалась резкая отрицательная динамика в виде распространения кожных изменений.

Пациентке была выполнена биопсия кожи. По результатам морфологического исследования в сосочковом и верхних отделах ретикулярного слоя дермы обнаружен массивный полосовидный лимфоидный инфильтрат из атипичных клеток небольшого и среднего размера с неправильной формы ядрами (Рисунок 66).

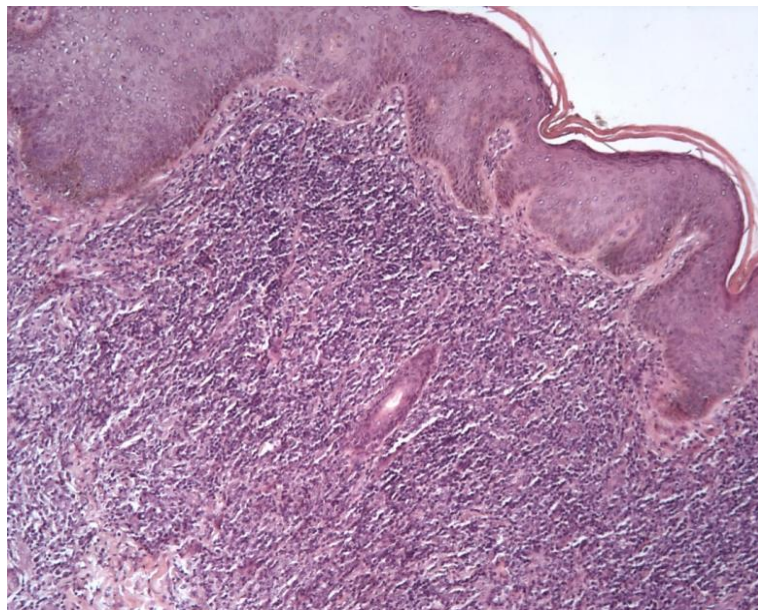


Рисунок 66 – Биоптат кожи 2014 г. пациентки К. 31 год Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100

По данным ПЦР-исследования была выявлена моноклональность по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора.

На основании данных гистологического и молекулярного исследований пациентке установлен диагноз грибвидного микоза. Проведенная терапия препаратами интерферона α в дозе 3 млн МЕ в сутки в сочетании с ПУВА-терапией привела к регрессии большинства новообразований. Терапия была закончена в декабре 2014 г.

При обследовании в июне 2015г. у пациентки были обнаружены множественные бляшки на коже внутренней поверхности бедер, под молочными

железами, верхних и нижних конечностей. Для лечения вновь появившихся новообразований пациентке повторно назначена терапия препаратами интерферона α (в дозе 3 млн МЕ/сутки) в сочетании с ПУВА-терапией. При оценке эффективности лечения остаточные элементы были представлены единичными зудящими пятнисто-бляшечными высыпаниями в левой аксиллярной области и на внутренней поверхности левого бедра. С учетом обнаруженного лимфоцитоза проведено ПЦР-исследование на наличие Т-клеточной клональности. Результат отрицательный. После 2-х месяцев лечения терапия была прекращена.

Через небольшой промежуток времени появились новые пятнистые новообразования. Пациентка проводила самостоятельно сеансы ПУВА-терапии.

В марте 2016г. после контрольного обследования было принято решение продолжить терапию препаратами интерферона α в дозе 3 млн МЕ/сутки, ежедневно. Достигнута полная ремиссия заболевания. Рекомендована поддерживающая терапия препаратами интерферона α в дозе 3 млн МЕ через день.

В октябре 2016 г. отмечена прогрессия заболевания в виде появления новых высыпаний. Выполнена биопсия новообразования с последующим гистологическим исследованием. По данным гистологического исследования обнаружен массивный плотный полосовидный лимфоидный инфильтрат из клеток небольшого и среднего размера с ядрами неправильной/церибриформной формы, минимальными признаками эпидермотропизма (Рисунок 67). По результатам обследования пациентке возобновлена иммунотерапия препаратами интерферона α в дозе 5 млн МЕ/сутки, ежедневно, в течение 3-х месяцев. По окончании лечебного курса достигнута хорошая частичная ремиссия (единичные бляшки). Проводилась поддерживающая терапия препаратами интерферона α в дозе 3 млн МЕ x 3 раза в неделю.

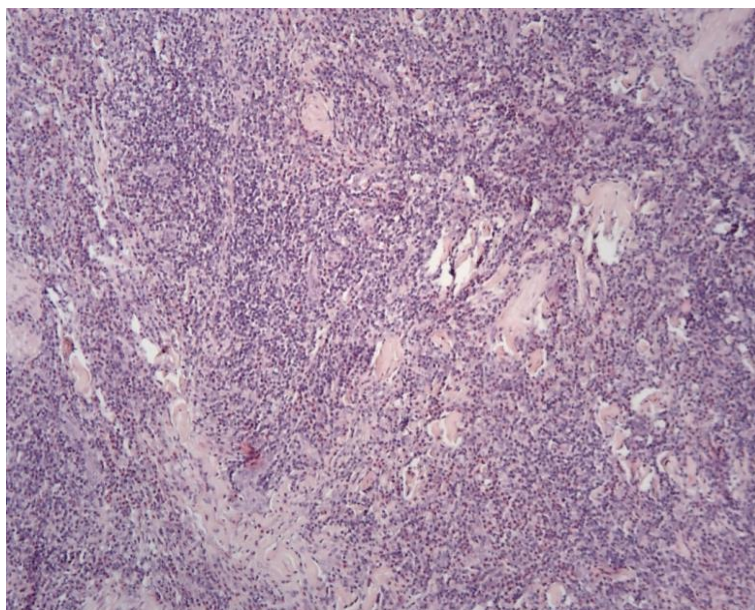


Рисунок 67 – Биоптат кожи 2016 г. пациентки К. 33 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100

В мае 2017г. – эпизод ухудшения состояния пациентки в виде возобновления интенсивного зуда, покраснение пятнисто-бляшечных элементов в области левого соска, аксиллярной области. Как позже выяснилось, ухудшение состояния спровоцировала беременность, разрешившаяся самопроизвольным выкидышем. Иммунотерапия была продолжена.

В марте 2019г. отмечен бурный рост новообразования по типу опухолевого узла в области ареолы соска. Выполнена повторная биопсия кожи из очага поражения (Рисунок 68). По данным морфологического и иммуногистохимического исследований выявлен массивный диффузный лимфоидный инфильтрат из атипичных клеток небольшого и среднего размера, с явлениями эпидермотропизма и формированием микроабсцессов Потрие, а также расположенных в виде скоплений и групп крупных клеток с атипичной морфологией (Рисунок 69). При проведении иммуногистохимического исследования индекс пролиферативной активности Ki-67 среди клеток диффузного лимфоидного инфильтрата составлял 70-80%. Клетки лимфоидного инфильтрата экспрессировали CD3 (мембранная реакция), CD4 (мембранная реакция), BCL2 (цитоплазматическая реакция). Среди них отмечались расположенные разрозненно CD30-позитивные средние и крупные клетки

(Рисунок 70). Проведена локальная лучевая терапия на область молочной железы (СОД 10-20 Гр), продолжена иммунотерапия препаратами интерферона α в дозе 5 млн МЕ/сутки, ежедневно.



Рисунок 68 – Новообразование на коже левого соска. 2019 г. Пациентка К.
35 лет

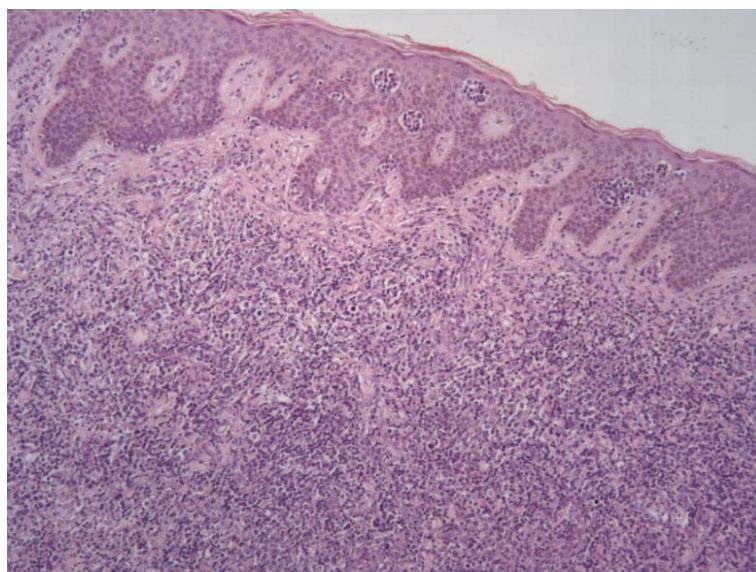


Рисунок 69 – Биоптат кожи 2019 г. пациентки К. 35 лет. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$

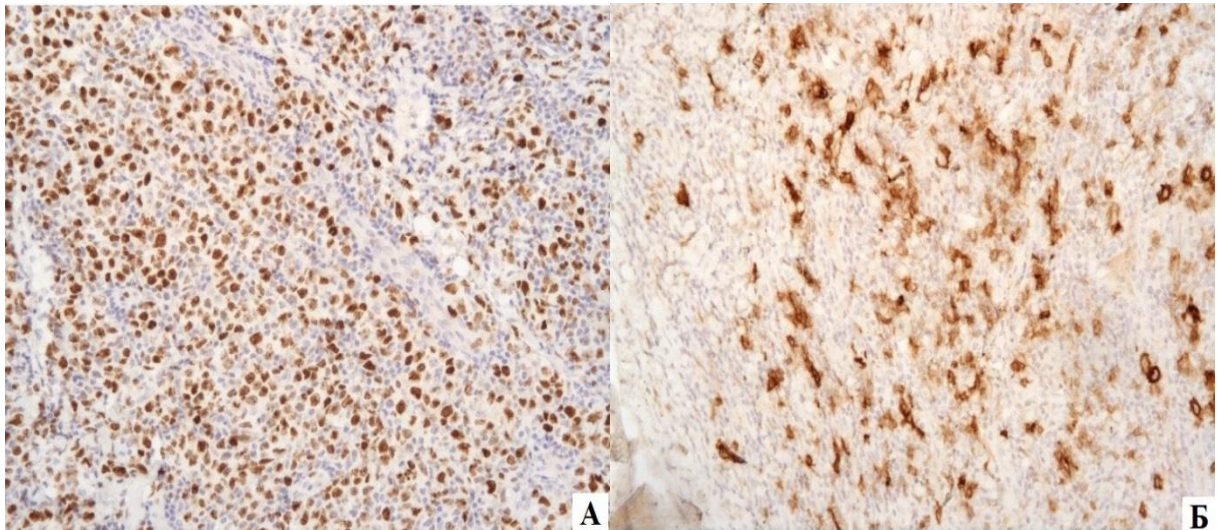


Рисунок 70 – Биоптат кожи 2019 г. пациентки К. 35 лет. А) Индекс пролиферативной активности Ki-67 составляет 70-80. Б) CD30-позитивные средние и крупные клетки расположены разрозненно среди клеток лимфоидного инфильтрата. Иммуногистохимический метод, увеличение x200

В июле 2020 г. у пациентки наблюдалось единичное сливное бляшечное новообразование на коже левой молочной железы. Продолжена терапия интерфероном α в дозировке 3 млн ЕД, ежедневно, в течение 3-х месяцев с дальнейшим противоопухолевым ответом. Таким образом, в данном клиническом случае представлено течение грибовидного микоза в процессе длительной (>8 лет) комбинированной терапии препаратами интерферона альфа в сочетании с ПУВА-терапией, с последующим развитием крупноклеточной трансформации.

Сочетание иммунной терапии препаратами интерферона α с ПУВА показало хороший результат при лечении ГМ в течение длительного времени как на начальных этапах заболевания, так и после развития крупноклеточной трансформации.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

Грибовидный микоз представляет собой наиболее часто встречающийся вариант первичных кожных Т-клеточных лимфом; обладает крайне разнообразными клиническими, лабораторными, морфологическими проявлениями [56]. Характеризуется прогрессивным течением, изменением морфологического субстрата в процессе эволюции заболевания.

Патогенез заболевания сложен и остается до конца не изученным. Предполагается, что развитие ГМ – многоэтапный процесс, в котором значительная роль принадлежит генетической предрасположенности, нарушению иммунного надзора, воздействию внешних неблагоприятных факторов [39]. Обсуждается роль бактериальной и вирусной инфекции, последствия проведенной иммуносупрессивной терапии [39].

Установлено, что в основе патогенеза ГМ лежит неконтролируемая пролиферация Т-клеток, инфильтрирующих сначала кожу, а затем, по мере прогрессирования болезни, лимфатические узлы и внутренние органы.

В литературе имеются сведения о том, что ведущее значение в развитии ГМ имеют нарушения апоптоза, иммунных и эпигенетических механизмов, а также не исключается влияние окружающих иммунных клеток на пролиферирующий клон Т-клеток [66].

Высокая изменчивость ГМ, вариабельность клинических проявлений, наличие атипичных клинических форм, отсутствие общепринятых дифференциально-диагностических критериев зачастую создают значительные трудности в диагностике заболевания, особенно его ранних стадий, обуславливая широкий дифференциально-диагностический ряд. ГМ необходимо различать с неопухолевыми дерматитами, другими первичными кожными Т-клеточными лимфомами, первичными кожными Т-клеточными CD30+ лимфопролиферативными заболеваниями.

В начале 2000-х годов был опубликован алгоритм для диагностики пятнистой стадии ГМ, основанный на совокупности клинических,

морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических данных [90].

Следует отметить, что задача клинико-анамнестического метода состоит в том, чтобы своевременно заподозрить заболевание, в то время как «золотым стандартом» диагностики ГМ, по-прежнему, остается морфологический метод исследования на материале биоптатов патологически измененных участков кожи. В соответствии с алгоритмом, среди гистологических критериев к наиболее важным относятся признаки атипии лимфоидного инфильтрата и эпидермотропизм при отсутствии спонгиоза. Однако гистологические изменения в биоптатах кожи на ранних стадиях нередко оказываются переменными и малоинформативными, что требует проведения дополнительных исследований: иммуногистохимического и молекулярно-генетического.

В ряде публикаций сообщается о значительной роли молекулярно-генетического исследования в диагностике ГМ [64]. Так, методом ПЦР возможно определение клонов Т-клеток у 90-95% больных; а специфическая чувствительность высокопроизводительного секвенирования ещё выше (до 97%). С другой стороны, следует помнить, что наличие/отсутствие клональности по генам γ - и β -цепей TCR не является абсолютным критерием злокачественности/доброкачественности процесса, но может быть дополнительным методом диагностики в сложных случаях, а полученные результаты необходимо учитывать в совокупности с клиническими, морфологическими и ИГХ-данными.

Одновременное исследование у пациентов с ГМ реаранжировки генов γ - и β -цепей TCR позволяет повысить частоту определения моноклональности по генам цепей TCR, что продемонстрировано в проведенной нами работе.

Для диагностики системного поражения и стадирования заболевания используются инструментальные методы (КТ, УЗИ). Позитронно-эмиссионная томография с фтор-оксиглюкозой (F18-FDG) – достаточно новый и наиболее чувствительный и специфичный метод для определения кожного и внекожного

поражения при ГМ, ответа на терапию и рецидива заболевания. В проведенной работе результаты ПЭТ/КТ не были оценены вследствие отсутствия данных.

Таким образом, нерешенные проблемы диагностики ГМ диктуют необходимость повышения результативности комплексных патоморфологических исследований, в том числе, по выявлению ранних стадий заболевания.

С целью оптимизации диагностики ГМ, принимая во внимание, что в процессе опухолевой эволюции заболевание меняет свою клиническую и морфологическую картину, нами были подробно изучены гистологические признаки изменения эпидермиса, дермы и гиподермы в препаратах на разных стадиях заболевания на биопсийном материале кожи.

Для решения поставленных задач были сформированы группы пациентов с пятнистой, бляшечной и опухолевой стадией ГМ. В группу пациентов с установленным диагнозом пятнистой стадии грибовидного микоза вошло 18 человек (медиана возраста 59 лет, М:Ж – 1:1,25). 2-ю группу составили пациенты с бляшечной стадией ГМ (19 человек, медиана возраста 56 лет, соотношение М:Ж – 1,375:1). В группе с опухолевой стадией ГМ было 14 человек, медиана возраста 60,5 лет, соотношение М:Ж – 2,5:1).

Для оценки степени выраженности клинических проявлений на разных стадиях ГМ использовался коэффициент mSWAT, позволяющий оценить площадь поражения кожи пациентов. Нами отмечено, что в большинстве случаев коэффициент mSWAT не превышал 40 баллов, независимо от стадии заболевания. Возможно, полученные результаты объясняются тем, что, несмотря на наличие бляшек или изъязвленных опухолевых узлов, объем поражения кожи больных с более поздними стадиями ГМ был мал.

Цель нашей работы состояла не только в изучении иммунофенотипа опухолевых клеток, но и реактивного микроокружения при ГМ, в связи с чем в исследуемых гистологических препаратах были подробно охарактеризованы гистоструктурные составляющие биоптатов кожи – эпидермис, дерма, гиподерма, клеточный состав микроокружения.

В процессе работы при исследовании морфологической картины на разных стадиях ГМ нами проанализировано 26 параметра для оценки изменений эпидермиса, дермы, гиподермы и состава реактивного микроокружения.

Так, на пятнистой стадии заболевания были отмечены более массивные и выраженные признаки эпидермотропизма, в отличие от бляшечной и опухолевой стадий (50%, против 15,8% и 28,8%; 27,8%, против 21,1% и 7,1%). В то же время при бляшечной стадии ГМ чаще обнаруживались минимальные признаки эпидермотропизма (52,6% - бляшечная стадия, 22,2% - пятнистая стадия, 28,6%-опухолевая стадия). Микроабсцессы Потрие определялись на всех стадиях грибovidного микоза. По результатам исследования было обнаружено, что фиброз сосочкового слоя дермы наиболее характерен для бляшечной (73,7%) и опухолевой стадий (85,7%) ГМ, в то время как для пятнистой стадии – отек (55,6%).

Нами отмечено, что выраженность и характер роста лимфоидного инфильтрата при ГМ менялись от стадии к стадии. Так, массивный лимфоидный инфильтрат встречался при опухолевой стадии ГМ чаще, чем при бляшечной и пятнистой (78,5%, против 31,6% и 27,8%, соответственно). Для опухолевой стадии был характерен диффузный характер роста опухолевого инфильтрата (64,3%), в то время как для пятнистой стадии - очаговый характер роста (50,0%), а для бляшечной стадии – периваскулярный характер роста инфильтрата (52,6%). Ретикулярный слой дермы был чаще инфильтрирован лимфоидным инфильтратом при опухолевой и бляшечной стадиях заболевания, чем на пятнистой (100,0% и 63,2%, против 50,0%).

Известно, что в патогенезе ГМ основными Т-клеточными популяциями являются лимфоидные клетки, обладающие иммунофенотипом Th1 и Th2 типов [114]. Так, на ранних стадиях ГМ в коже преобладают неопухолевые Th1 и цитотоксические Т-клетки. Последние, в частности, посредством секреции IFN α - и IFN γ -цепей, способны контролировать опухолевый процесс. Доказано, что при прогрессировании ГМ наблюдается снижение числа неопухолевых клеток, в том числе, CD8⁺ и НК-клеток, что способствует угнетению иммунного ответа и

нарастанию клона атипичных Т-лимфоцитов, прогрессированию заболевания, увеличению количества клеток с Th2 иммунофенотипом [81]. Цитокины Th2-типа (IL4, IL 5, IL 10, IL 13) способствуют развитию иммуносупрессии, повышению чувствительности к бактериальным и вирусным инфекциям, повышению уровня IgE в сыворотке крови, эозинофилии периферической крови и развитию эритродермии [81].

Миграция опухолевых клеток в кожу при ГМ регулируется рядом хемокиновых рецепторов, в том числе CCR4 и CCR10, которые на поверхности эндотелиальных клеток, клеток Лангерганса и кератиноцитов образуют связи с соответствующими лигандами и облегчают миграцию Т-клеток в дерму и эпидермис. Есть данные, что часть хемокиновых рецепторов (CXCR3, CCR5) экспрессируется клетками Th1, а другая (CCR3, CCR4, CCR8) – клетками Th2-типа. На ранних стадиях ГМ дермальные фибробласты и кератиноциты экспрессируют лиганды CXCL9/CXCL10, что способствует индукции хемотаксиса CXCR3+ Т-клеток Th 1-го типа [126].

При ГМ миграции лимфоцитов в очаги поражения также способствует ИЛ1, который синтезируется клетками эпидермиса, а по свойствам имеет сходство с эпидермальным тимоцит-активирующим фактором, отвечающим за дифференцировку Т-клеток вне тимуса. Кроме того, ИЛ1 способствует увеличению экспрессии на поверхности лимфоцитов рецепторов к ИЛ2 и синтеза ИЛ2, который является фактором Т-клеточного роста [59].

В публикациях ряда авторов было предложено использовать определение экспрессии антигенов T-bet/CXCR3 и GATA3/CCR4 для проведения дифференциальной диагностики грибвидного микоза с неопухолевыми дерматитами/дерматозами [62]. Для дифференциальной диагностики опухолевой стадии ГМ и ПКАЛ (первичной кожной анапластической лимфомы) Collins et al. предложила применять иммуногистохимическое исследование с использованием антител к GATA3 [37].

Одной из основных задач нашей работы явилось изучение характеристики иммунофенотипа Th1- и Th2 типа на разных стадиях грибвидного микоза. Для ее

выполнения проведено иммуногистохимическое исследование с антителами к T-bet, CXCR3, GATA3, CCR4. Для оценки выраженности лимфоидных популяций использовали полуколичественный метод с последующим сопоставлением полученных результатов с общей клеточностью лимфоидного инфильтрата. В нашем случае по данным выполненного ИГХ-исследования обнаружено статистическое значимое различие по экспрессии GATA3 при опухолевой ГМ, в отличие от пятнистой и бляшечной стадий (70% против 55%, $p=0,0319$). При исследовании других вышеуказанных маркеров на разных стадиях грибовидного микоза было обнаружено сопоставимое количество позитивных клеток, статистически достоверного различия обнаружено не было.

Таким образом, постепенное изменение иммунофенотипа между Th1 и Th2 в нашей работе подтверждено не было. Алгоритм диагностики различных стадий грибовидного микоза с использованием антител к T-bet, CXCR3, GATA3, CCR4, предложенный группой под руководством Hsi и воспроизведенный в нашей работе, не применим в практической работе врача-патологоанатома. В последующей публикации указанная группа авторов сообщила, что использование предложенного ими ранее алгоритма не нашло подтверждения для проведения дифференциальной диагностики различных стадий ГМ [43].

При ГМ, по нашим данным, GATA3 экспрессировались не только опухолевыми клетками, но и клетками реактивного микроокружения, о чем можно судить по количеству выявленных позитивных клеток ($> 50\%$ в большинстве изученных случаев).

Значимость использования GATA3 в качестве маркера ГМ в полной мере еще не определена. Исследователи по-разному оценивают эффективность данного иммуногистохимического маркера. Так, например, по мнению Atwa et al, данный маркер GATA3 обладает значительной корреляцией с маркерами TOX и ICOS [18].

Сообщается, что использование молекулярно-генетических методов исследования позволило открыть новые механизмы развития ГМ. Так,

внутриклеточная сигнальная система STAT играет центральную роль в канцерогенезе, в том числе и развитии ГМ [84].

Доказано, что в опухолевых клетках наблюдается aberrантная активация белков JAK и сигнальных систем STAT. На ранних стадиях отмечается повышенная экспрессия маркера сигнальной системы STAT5, а при прогрессии заболевания в продвинутых стадиях – маркера STAT3, который негативно влияет на экспрессию цитокинов Th1-типа, предотвращает апоптоз, опосредует пролиферацию и выживаемость клеток опухоли [27; 84].

Изучение популяции Tfh в субстрате ГМ является актуальной задачей гематопатологии для выявления особенностей различных стадий ГМ, а также для проведения дифференциальной диагностики с другими нозологиями первичных Т-клеточных лимфом кожи.

Группа авторов под руководством Meyerson et al. обнаружила экспрессию Tfh-маркеров BCL6, CD10, PD-1 в 8 случаях ГМ и СС. С использованием иммуногистохимического исследования и метода проточной цитометрии было показано, что именно опухолевые клетки обладают Tfh-иммунофенотипом. Кроме того, авторами указывалось, что наличие экспрессии указанных маркеров клетками ГМ может вызывать трудности в дифференциальной диагностике с другими Tfh-позитивными лимфомами [77].

Согласно публикации Pulitzer Tfh-иммунофенотип определяется при ГМ достаточно часто [91]. Наиболее чувствительным маркером является PD-1, в сочетании с ICOS, CXCL-13, BCL6, CD10. Вместе с тем, для биопатов кожи использование маркеров CD10, BCL-6 является малоинформативным [25].

Одной из задач настоящего исследования было выявление и изучение наличие Tfh-иммунофенотипа на разных стадиях грибовидного микоза. Для изучения экспрессии Tfh-иммунофенотипа клетками лимфоидного инфильтрата мы использовали антитела к PD-1, ICOS, CXCL13. Использование антител к BCL6, CD10 в биопсийном материале кожи было осложнено выраженным «внутренним» позитивным контролем (BCL-6-позитивны кератиноциты, CD10-позитивны стромальные фибробластические клетки).

При исследовании экспрессии Tfh-маркеров количество позитивных клеток среди лимфоидного инфильтрата на всех стадиях грибвидного микоза в нашем исследовании составило в среднем 30% позитивных клеток опухолевого субстрата (экспрессия PD-1 на пятнистой стадии – 30%, бляшечной стадии – 20%, опухолевой стадии – 35%; экспрессия ICOS отмечалась в 17,5%, 35% и 35%, соответственно).

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют в пользу отнесения части случаев грибвидного микоза к Т-клеточным лимфомам кожи с Tfh-иммунофенотипом, что соответствует общей тенденции к субклассификации первичных кожных Т-клеточных лимфом, для разработки новых дифференцированных терапевтических подходов [116].

Обнаружение значительного количества Tfh-позитивных клеток при ГМ поднимает вопрос о необходимости проведения дифференциальной диагностики данного заболевания с другими нозологиями со сходным иммунофенотипом. Первичное кожное CD4+ Т-клеточное лимфопролиферативное заболевание из мелких и средних клеток – единственная нозология Т-клеточных лимфопролиферативных заболеваний кожи, согласно классификации ВОЗ Опухолей кроветворной и лимфоидной ткани 2017г., неопухолевым аналогом которой является фолликулярная Т-клетка-хелпер.

ПК CD4+ ЛПЗ из мелких/средних клеток представляет собой преимущественно солитарное новообразование, возвышающееся над поверхностью кожи. При морфологическом исследовании отмечается очаговый или диффузный инфильтрат из клеток небольшого и среднего размера, поражающий как дерму, так и гиподерму. Как известно, вышеописанные признаки могут встречаться и при ГМ, что вызывает необходимость проведения дифференциальной диагностики и выделения дополнительных клинических, морфологических и иммуногистохимических критериев, которые могут использоваться в повседневной практике врачей клинических специальностей и врачей-патологоанатомов.

Для выполнения данной задачи нами была сформирована группа пациентов из 28 человек с установленным диагнозом ПК CD4+ ЛПЗ из мелких/средних клеток с медианой возраста 51,5 лет (возрастным диапазоном 23-75 лет, соотношением М:Ж 1:1,15).

ПК CD4+ ЛПЗ из мелких/средних клеток было представлено очаговым (39,3%), очагово-диффузным (21,4%) и диффузным инфильтратом (39,3%). Клеточный состав лимфоидного инфильтрата был представлен преимущественно клетками небольшого размера в 53,6%, а среднего размера клетками в 46,4%.

При сравнительном анализе морфологических признаков для ПК CD4+ ЛПЗ из мелких/средних клеток, в отличие от ГМ, в большей степени свойственен отек сосочкового слоя ($p < 0,0000$), отсутствие признаков эпидермотропизма ($p < 0,0000$) и явления удлинения эпидермальных отростков сосочкового слоя ($p = 0,0152$).

В целях визуализации клеток, обладающих Tfh-иммунофенотипом, и мелких В-клеток реактивного микроокружения лимфоидного инфильтрата проведено иммуногистохимическое исследование с использованием антител к PD-1, ICOS и CD20.

Для ПК CD4+ ЛПЗ из мелких/средних клеток характерна выраженная В-клеточная инфильтрация среди реактивного микроокружения. Экспрессия PD-1-позитивных клеток встречается в 12% клеточного инфильтрата, а ICOS-позитивные клетки составляют, в среднем 15% клеток от общего числа.

Грибовидный микоз, напротив, обладает небольшим количеством мелких В-клеток среди клеток реактивного микроокружения (10% позитивных клеток), но экспрессия Tfh-маркеров встречается при ГМ в среднем в 30% клетках лимфоидного инфильтрата: 20% PD-1 позитивных клеток и 35% ICOS-позитивных клеток. Согласно полученным нами данным, более чем у 70% пациентов с разными стадиями грибовидного микоза среди опухолевого субстрата отмечается в среднем 20% клеток с Tfh-иммунофенотипом.

По данным группы авторов Gru et al также установлено, что ПК CD4+ ЛПЗ из мелких/средних клеток характеризуется более выраженной В-клеточной инфильтрацией [54]. Дополнительно авторами было установлено, что при ГМ

чаще встречаются признаки эпидермотропизма, чем при ПК CD4+ ЛПЗ из мелких/средних клеток.

При сопоставлении экспрессии маркеров Tfh-иммунофенотипа в исследуемых группах было обнаружено статистически значимое различие между грибвидным микозом и первичным кожным CD4+ Т-клеточным лимфопролиферативным заболеванием из мелких и средних клеток. Выявлены статически значимые различия по показателям экспрессии PD-1 ($p=0,0081$) и ICOS ($p=0,0036$). Значительно выраженная экспрессия Tfh-иммунофенотипа при ГМ может быть обусловлена более скудным объемом лимфоидного инфильтрата, представленного в исследуемых препаратах, по сравнению с первичным кожным CD4+ Т-клеточным лимфопролиферативным заболеванием из мелких и средних клеток. Более того, при проведении морфологического сопоставления двух заболеваний, при исследовании иммуногистоархитектоники ПК CD4+ ЛПЗ из мелких/средних клеток отмечены специфические для этой нозологии признаки – иммуногистохимические паттерны, такие как PD-1-позитивные «розеткоподобные» структуры, полиморфизм размеров ICOS-позитивных клеток, которые не были обнаружены при грибвидном микозе.

Аналогичные данные были получены группой итальянских авторов Bosisio et al. [25] по экспрессии Tfh-маркераов при ПТКЛ, в том числе, при ГМ и ПК CD4+ ЛПЗ из мелких/средних клеток. Для выполнения поставленной задачи они использовали антитела к CD10, PD-1, ICOS, BCL6, CXCL13, проанализировано 13 биоптатов кожи с ПК CD4+ ЛПЗ из мелких/средних клеток и 21 биоптат кожи с ГМ. Оценка наличия/отсутствия Tfh-иммунофенотипа осуществлялась в случае позитивной реакции 3-х или более иммуногистохимических маркеров. Согласно полученным данным, Tfh-иммунофенотип преимущественно был обнаружен при ГМ (в среднем до 50% позитивных клеток) независимо от стадии заболевания. Однако при ПК CD4+ ЛПЗ из мелких/средних клеток отмечалось более низкое количество Tfh-позитивных клеток. Результаты исследований авторы связали с трудностью интерпретации иммуногистохимической реакции вследствие выраженности реактивного микроокружения, а наличие выраженной экспрессии

Tfh-иммунофенотипа как при ГМ, так и ПК CD4+ ЛПЗ из мелких/средних клеток, не позволяет использовать Tfh-маркеры для проведения дифференциальной диагностики этих заболеваний.

Важно указать, что группа германских авторов Oschlies et al. с помощью метода тканевой микродиссекции обнаружила, что при ПК CD4+ ЛПЗ из мелких/средних клеток именно PD-1-позитивные клетки обладали Т-клеточной клональностью, а часть PD-1-позитивных клеток демонстрировала экспрессию *cyclin D1*, что отражает их пролиферативный потенциал и свидетельствует в пользу опухолевой природы ПК CD4+ ЛПЗ из мелких/средних клеток с доброкачественным течением заболевания [87].

Реактивное микроокружение при ГМ играет огромную роль в развитии заболевания. В этой связи одной из задач нашего исследования явилось изучение реактивного микроокружения при грибовидном микозе, а именно мелких В-клеток, макрофагов M1 и M2, количества CD30-позитивных клеток и PD-L1-позитивных клеток. С помощью антител к CD20, CD68, CD163 дана полуколичественная оценка популяции В-клеток, макрофагов 1-типа (M1) и макрофагов 2-типа (M2) среди клеток реактивного микроокружения грибовидного микоза.

Группа авторов Nielson et al. изучила 85 биоптатов кожи пациентов на разных стадиях ГМ в сопоставлении с 57 биоптатами кожи пациентов с неопухолевыми дерматитами и добровольцев со здоровой кожей. Согласно опубликованным данным, отмечалось увеличение количества В-клеток в биоптатах кожи больных ГМ в отличие от образцов с неопухолевыми дерматитами и здоровой кожей. На основании этих данных авторы предположили, что В-клетки также могут принимать участие в механизме развития ГМ, однако, доказать значимость выраженного В-клеточного инфильтрата среди реактивного микроокружения при ГМ как критерия негативного прогноза не удалось [85].

В нашей работе популяция В-клеток оказалась небольшой во всех исследуемых группах (пятнистая стадия – 5%, бляшечная стадия – 5%,

опухолевая стадия – 5%). Полученные нами данные, вероятно, свидетельствуют о том, что мелкие В-клетки играют незначительную роль в патогенезе ГМ и могут быть проявлением локальной иммунной реакции в ответ на клональную Т-клеточную опухоль.

Группа авторов Pileri et al. обнаружила, что макрофаги, ассоциированные с опухолью, участвуют в развитии ПКТЛ [89]. Исследовательская группа под руководством Sugaya отметила увеличение числа M1 и M2 макрофагов при сравнении биоптатов неизменной кожи с биоптатами кожи при дерматитах, псориазе и ГМ. Несмотря на увеличение количества макрофагов на продвинутых стадиях ГМ, авторы обратили внимание, что соотношение опухолевых клеток к макрофагам снижается в зависимости от стадии заболевания. Sugaya et al. предположили, что на более поздних стадиях ГМ роль макрофагов в пролиферации опухолевых клеток может уменьшаться. Вместе с тем, большое количество M2 макрофагов, согласно полученным данным, свидетельствует о неблагоприятном прогнозе заболевания [99]. Группа исследователей Furudate et al. также подтвердила увеличение количества M2 макрофагов на разных стадиях ГМ с помощью иммуногистохимических маркеров к антителам CD163 и CD206+ на материале 26-ти биоптатов кожи [45].

В нашей работе количество макрофагов 1-го и 2-го типа также менялось от стадии к стадии. Если на пятнистой стадии ГМ отмечалось сравнительно низкое количество позитивных клеток, то при бляшечной и, тем более, при опухолевой стадии количество макрофагов 1-го и 2-го типа значительно увеличивалось. Особенно была заметна разница при сопоставлении пятнистой и бляшечной стадий ГМ с опухолевой. Таким образом, полученные данные подтвердили участие макрофагов в развитии ГМ.

Следует отметить, что в ходе работы при сопоставлении и анализе полученных результатов удалось сформировать критерий диагностики опухолевой стадии грибвидного микоза в зависимости от количества CD163-позитивных клеток. Пороговое значение составило 190 клеток, экспрессирующих

CD163, в 5 полях зрения $\times 400$. Чувствительность данного критерия 60%, специфичность 95%.

Известно, что одним из основных методов диагностики ГМ служит молекулярно-генетическое исследование методом ПЦР для выявления клональной реаранжировки генов γ - и β - цепей TCR. В исследуемых группах у большинства наших пациентов была обнаружена моноклональность по генам хотя бы одной из цепей T-клеточного рецептора. Только в 5,9% случаях в исследованном материале результаты по клональной реаранжировке генов обеих цепей TCR были негативны, в то время как при ПК CD4+ Т-ЛПЗ из мелких/средних клеток, клональная реаранжировка генов цепей TCR отмечалась лишь у 36,3% пациентов.

Таким образом, определение T-клеточной клональности является важным дополнительным методом в комплексной диагностике ГМ.

Следующая задача нашего исследования состояла в изучении характера изменений клинических и морфологических признаков в процессе терапии препаратами интерферона альфа. С этой целью была сформирована группа из 15 пациентов, медиана возраста 55 лет (возрастной диапазон 36-77 лет, соотношение М:Ж 1:1,5).

При оценке эффективности терапии пациентов с диагнозом ГМ препаратами IFN α в течение 6 месяцев, по результатам обследования выявлены определенные позитивные изменения в отношении кожных проявлений на местах поражения и субъективных ощущений у 8 пациентов. По данным морфологического исследования при сопоставлении изменений в биоптатах кожи до и после проведенной терапии, у данной группы больных с положительным ответом на лечение отмечено уменьшение объема опухолевого инфильтрата в 4/8 случаях и изменение гистоархитектоники опухолевого инфильтрата по признаку характера роста на менее выраженный – в 5/8 случаях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение клинических, лабораторных, морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических особенностей разных стадий грибвидного микоза является актуальной задачей гематологии и гематопатологии. В результате проведенного научного исследования было обнаружено увеличение экспрессии GATA3 в клетках опухолевого инфильтрата при прогрессировании заболевания при сравнении с ранними стадиями. Полученные данные позволяют предположить, что транскрипционный фактор GATA3, опосредующий сдвиг Т-клеточного иммунофенотипа в сторону Т-хелперов 2 типа, имеет важное значение в развитии заболевания и, вероятно, является неблагоприятным фактором течения заболевания.

При исследовании маркеров Tfh-иммунофенотипа в биоптатах кожи, более чем у 70% пациентов с грибвидным микозом было отмечено >20% позитивных клеток на всех стадиях заболевания (медиана 30%). Полученные результаты позволяют отнести часть случаев грибвидного микоза к группе первичных Т-клеточных лимфом кожи с Tfh- иммунофенотипом.

Роль клеток реактивного микроокружения в опухолевой эволюции грибвидного микоза недостаточно изучена. В работе охарактеризована популяция В-клеток на разных стадиях развития заболевания. Полученные результаты проведенного исследования позволяют использовать иммуногистохимический метод с использованием антител к CD163 для верификации опухолевой стадии грибвидного микоза при отсутствии резко выраженных морфологических признаков.

В классификации ВОЗ 2017 г. опухолей гемопоэтической и лимфоидной природы впервые в качестве неопухолевого аналога для первичного кожного CD4+ Т-клеточного лимфопролиферативного заболевания из мелких и средних клеток обозначена CD4+ фолликулярная Т-клетка хелпер (Tfh). В то же время дифференциальная диагностика данной нозологии с другими заболеваниями, в том числе, и грибвидным микозом недостаточно изучена. В работе определены

дополнительные критерии, такие как: отсутствие эпидермотропизма, состояние сосочкового слоя, клеточный состав реактивного микроокружения с В-клеточной популяцией, количество Tfh-позитивных клеток, которые позволяют дифференцировать первичное кожное CD4+ Т-клеточное лимфопролиферативное заболевание из мелких и средних клеток и грибovidный микоз.

Результаты проведенной диссертационной работы демонстрируют значимость сочетания гистологического и иммуногистохимического методов исследования для диагностики разных стадий грибovidного микоза, и проведения дифференциальной диагностики между первичным кожным CD4+ Т-клеточным лимфопролиферативным заболеванием из мелких и средних клеток и бляшечной стадией грибovidного микоза в клинически сходных случаях.

Практические рекомендации

На основе проведенного патоморфологического и иммуногистохимического исследования полученные данные обосновывают отнесение части случаев грибovidного микоза к группе первичных кожных Т-клеточных лимфом с Tfh-иммунофенотипом.

Использование антител к CD163 при проведении иммуногистохимического исследования служит дополнительным критерием диагностики опухолевой стадии грибovidного микоза.

Иммуногистохимическое исследование с использованием антител к GATA3 позволит усовершенствовать диагностику разных стадий грибovidного микоза.

Использование морфологических критериев (наличие/отсутствие эпидермотропизма), а также проведение иммуногистохимического исследования с антителами к PD-1, ICOS и CD20 позволят усовершенствовать дифференциальную диагностику первичного кожного CD4+ Т-клеточного лимфопролиферативного заболевания из мелких и средних клеток с различными стадиями грибovidного микоза.

В результате обнаруженной тенденции к увеличению количества CD30+ активированных клеток на фоне применения препаратов IFN α возможно применение иммунно-таргетной терапии (интерферон α +анти-CD30 антитело).

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что при гистологическом исследовании разные стадии грибовидного микоза различаются как по объему опухолевого инфильтрата, так и по выраженности эпидермотропизма. Массивный опухолевый инфильтрат отмечен у 78,5% пациентов с опухолевой стадией, против 27,8% и 31,6% у пациентов, соответственно, с пятнистой и бляшечной стадиями. Массивные признаки эпидермотропизма обнаружены у 50% пациентов с пятнистой стадией ГМ, против 15,8% и 28,8% у пациентов, соответственно, с бляшечной и опухолевой стадиями.

2. При оценке эффективности с использованием индекса mSWAT клиническое улучшение в процессе терапии препаратами интерферона альфа отмечено у 53% пациентов. Положительный противоопухолевый ответ был сопоставим с изменениями при гистологическом (уменьшение выраженности лимфоидного инфильтрата) и иммуногистохимическом исследовании (увеличение количества CD30+ клеток как маркера активации собственного противоопухолевого иммунитета).

3. Определено статистически значимое различие в количестве GATA3+ клеток между опухолевой и пятнистой стадиями грибовидного микоза (70% против 50%). Использование алгоритма с включением маркеров T-bet и CXCR3 (Th 1 типа), GATA3 и CCR4 (Th 2 типа) не может рассматриваться в качестве дополнительного диагностического критерия при дифференциальной диагностике разных стадий грибовидного микоза.

4. У пациентов с грибовидным микозом при изучении реактивного микроокружения доказано, что по мере прогрессирования заболевания увеличивается количество макрофагов M1 и M2. Для дифференциальной диагностики опухолевой стадии и пятнистой/бляшечной стадиями определен оптимальный порог, соответствующий 190 CD163-позитивных макрофагов (чувствительность метода 95%, специфичность метода 60%).

5. Установлено, что на всех стадиях грибovidного микоза количество позитивных клеток с Tfh-иммунофенотипом составило в среднем 30% (экспрессия PD-1 на ранней стадии – 30%, бляшечной стадии – 20%, опухолевой стадии - 35%; экспрессия ICOS отмечалась в 17,5%, 35% и 35%, соответственно). На разных стадиях ГМ количество Tfh-позитивных клеток >20% определяется у большинства пациентов (>70%).

6. При проведении морфологического сопоставления по гистологическим и иммуногистохимическим параметрам инфильтрат грибovidного микоза отличается от первичного кожного CD4-позитивного T-клеточного лимфопролиферативного заболевания из мелких и средних клеток по следующим признакам: отек сосочкового слоя ($p < 0,0000$), удлинение эпидермальных отростков ($p = 0,0152$), наличие/отсутствие эпидермотропизма ($p < 0,0000$), экспрессия PD-1 ($p = 0,0081$), ICOS ($p = 0,0036$), выраженность популяции CD20+ B-клеток ($p = 0,0003$).

Список используемых сокращений

- ГМ – грибовидный микоз
- ИГХ-исследование – иммуногистохимическое исследование
- ЛДГ – лактатдегидрогеназа
- Макрофаги М1 – активированные макрофаги
- Макрофаги М2 – альтернативно активированные макрофаги
- ПТКЛ – первичные кожные Т-клеточные лимфомы
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РТПХ – реакция «трансплантат против хозяина»
- BCL11B – B-cell lymphoma/leukemia 11B – белок, кодируемый *BCL11B*
- CCR4 – C-C chemokine receptor type 4 – C-C хемокиновый рецептор 4
- CD3 – Cluster of Differentiation 3 – корецептор Т-клеточного рецептора, маркер Т-лимфоцитов
- CD4 – Cluster of Differentiation 4 – мономерный трансмембранный гликопротеин, маркер Т-лимфоцитов хелперов
- CD8 – Cluster of Differentiation 8 – мембранный белок главного комплекса гистосовместимости I класса, корецептор, маркер цитотоксических Т-лимфоцитов
- CD20 – Cluster of Differentiation 20 – белок на поверхности В-лимфоцитов, продукт гена MS4A1, маркер В-лимфоцитов
- CD30 – Cluster of Differentiation 300 – TNFRSF8 (TNF receptor superfamily member 8) – мембранный белок из семейства рецепторов факторов некроза опухоли
- CD68 – Cluster of Differentiation 68 – гликопротеин из семейства LAMP, маркер макрофагов М1
- CD163 – Cluster of Differentiation 163 – белок, клеточный рецептор, продукт *CD163*, маркер макрофагов М2
- CXCL13 – C-X-C ligand 13 – хемоаттрактант В-лимфоцитов
- CXCR 3 – C-X-C chemokine receptor type 3 – C-X-C хемокиновый рецептор 3

EORTC – European Organization for Research and Treatment of Cancer –
Европейская организация по исследованию и лечению рака

GATA3 – GATA Binding Protein 3 – транскрипционный фактор, кодируемый
GATA3, ключевой регулятор Т-хелперов 2-го типа

HTS – высокопроизводительное секвенирование

ICOS – Inducible T Cell Costimulator – белок, продукт *ICOS*

IFN α – интерферон α

IL – ИЛ – интерлейкин

ISCL – International Society for Cutaneous Lymphomas – Международное
общество по изучению кожных лимфом

mSWAT – Modified Severity-Weighted Assessment Tool – модифицированный
инструмент оценки тяжести заболевания

NFAT – Nuclear factor of activated T-cells – ядерный фактор активированных
Т-клеток

NK-клетки – натуральные клетки-киллеры

OS – Overall Survival – общая выживаемость

PD-1 – Programmed cell death protein 1 – белок программируемой клеточной
смерти 1

PD-L1/2 – Programmed death-ligand 1/2 – лиганд рецептора
программируемой клеточной гибели 1/2

PFS – Progression Free Survival – выживаемость без прогрессирования

PIK3R1 – Phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit alpha - альфа-
регуляторная субъединица фосфатидилинозитол-3-киназы

T-bet (TBX21) – транскрипционный фактор, ключевой регулятор
дифференцировки Т-хелперов 1-го типа

TCR – T-cell receptor – Т-клеточный рецептор

TCR β – T-cell receptor β – β -цепь Т-клеточного рецептора

TCR γ – T-cell receptor γ – γ -цепь Т-клеточного рецептора

Tfh – T follicular helper cells – фолликулярные Т-клетки хелперы

Th1 – Type 1 T-helper cells – Т-хелперы 1 типа

Th2 – Type 2 T-helper cells – Т-хелперы 2 типа

T-reg – Т-регуляторная клетка

WHO – ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белоусова, И.Э. Современные подходы к диагностике и лечению первичных лимфом кожи на основе новой ВОЗ-ЕОРТС классификации. Т-клеточные лимфомы кожи / И.Э. Белоусова, Д.В. Казаков, Ю.А. Криволапов // Архив патологии. – 2007. – Т. 69. – № 5. – С. 11–17.

2. Братцева, Е.В. Современные подходы к диагностике грибовидного микоза / Е.В. Братцева, С.В. Ротанов // Вестник дерматологии и венерологии. – 2010. – Т. 6. – С. 16–22.

3. Кохан, М.М. Т-клеточные злокачественные лимфомы кожи: клинические и иммунологические аспекты диагностики, стадийного течения и терапии : спец. 14.00.36 «Аллергология иммунология», 14.00.11 «Кожные и венерические болезни» : автореф. дис. ... д-ра. мед. наук / Кохан Муза Михайловна. – Челябинск, 2002. – 38 с.

4. Лимфома кожи / А.В. Молочков, А.М. Ковригина, А.В. Кильдюшевский, А.В. Караулов – Москва : БИНОМ, 2012. – 183 с.

5. Олисова, О.Ю. Эритродермическая форма грибовидного микоза: алгоритм диагностики и лечения / О.Ю. Олисова, А.А. Сыдилов, И.Н. Чупров [и др.] // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2018. – Т. 11. – № 4. – Р. 295–302.

6. Поддубная, И.В. Новые возможности системной терапии CD30+ первичных кожных Т-клеточных лимфом / И.В. Поддубная, В.В. Птушкин, И.Э. Белоусова // Резолюция. Современная онкология. – 2020. – Т. 22. – № 2. – С. 79–81.

7. Поддубная, И.В. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний / И.В. Поддубная, В.Г. Савченко. Москва: Буки Веди, 2016. – С. 85–91

8. Сарбаева, Н.Н. Макрофаги: разнообразие фенотипов и функций, взаимодействие с чужеродными материалами / Н.Н. Сарбаева, Ю.В. Пономарева, М.Н. Милякова // Гены и клетки. – 2016. – Т. 11. – № 1. – С. 9–17.

9. Сидорова, Ю.В. Т-клеточная клональность в диагностике лимфопролиферативных заболеваний : спец 14.00.29 «Гематология и переливание крови» : дис. – канд. мед. наук / Сидорова Юлия Владимировна. – Москва, 2004. – 96 с.

10. Смольяникова, В.А. Трудности дифференциальной диагностики грибовидного микоза и псориаза: клинико-морфологические сопоставления / В.А. Смольяникова, А.Э. Карамова, А.А. Воронцова [и др.] // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2022. – Т. 11. – № 3. – С. 73–80. DOI: 10.31088/СЕМ2022.11.3.73-80.

11. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных лимфомами кожи / И.Э. Белоусова, А.В. Самцов // Москва. – 2015. – С. 13–25.

12. Agar, N.S. Survival outcomes and prognostic factors in mycosis fungoides/Sézary syndrome: validation of the revised International Society for Cutaneous Lymphomas / N.S. Agar, E. Wedgeworth, S. Crichton [et al.] // S.,European Organisation for Research and Treatment of Cancer staging proposal. Journal of clinical oncology. – 2010. – Vol. 28. – №31. – P. 4730–4739. DOI:10.1200/jco.2009.27.7665.

13. Ahmed, M.M. TOX Outperforms FOXP3, CD4 and GATA3 in Histopathological Diagnosis of Early Mycosis Fungoides / M.M. Ahmed, A.A. Hegazy, A. Embaby [et al.] // Turkish Journal of Pathology. – 2023. – Vol. 39. – № 1. – P. 15–22. DOI: 10.5146/tjpath.2022.01578

14. Alberti-Violetti, S. Clinicopathological and molecular study of primary cutaneous CD4+ small/medium-sized pleomorphic T-cell lymphoma / S. Alberti-Violetti, C.A. Torres-Cabala, R. Talpur [et al.] // J Cutan Pathol. – 2016. – Vol. 43. – № 12. – P. 1121–30. DOI: 10.1111/cup.12806.

15. Amador, C. Reproducing the molecular subclassification of peripheral T-cell lymphoma-NOS by immunohistochemistry / C. Amador, T.C. Greiner, T.B. Heavican [et al.] // Blood. – 2019. – Vol. 134 – № 24. – P. 2159–70. DOI: 10.1182/blood.2019000779.

16. Amatore, F., Gorvel, L., & Olive, D. (2020). Role of Inducible Co-Stimulator (ICOS) in cancer immunotherapy / F. Amatore, L. Gorvel, D. Olive // Expert opinion on biological therapy, – 2020, – Vol. 20, – № 2, – P. 141-150. DOI: 10.1080/14712598.2020.1693540.

17. Ardeleanu, V. Surgical, dermatological and morphopathological considerations in the diagnosis and treatment of cutaneous lymphoproliferative tumors, primary CD4 / V. Ardeleanu, L.A. Moroianu, A. Sava [et al.] // Medicina (Kaunas). – 2022. – Vol.58. – № 11. – P. 1618. DOI: 10.3390/medicina58111618.

18. Atwa, H.A. Pulitzer The Value of Immunohistochemical Expression of TOX, ICOS, and GATA-3 in the Diagnosis of Mycosis Fungoides / H.A. Atwa, D.I. Abdelrahman // Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology. – 2023. – Vol. – 31. № 3. – P.163-171. DOI: 10.1097/PAI.0000000000001110

19. Axelrod, P.I. Infections complicating mycosis fungoides and Sezary syndrome / P.I. Axelrod, B. Lorber, E.C. Vonderheid // Jama. – 1992. – Vol. 267. – № 10. – P. 1354–1358. DOI: 10.1001/jama.267.10.1354.

20. Beltraminelli, H. Primary cutaneous CD4+ small-/medium-sized pleomorphic T-cell lymphoma: A cutaneous nodular proliferation of pleomorphic T lymphocytes of undetermined significance? A study of 136 cases / H. Beltraminelli, B. Leinweber, H. Ker, L. Cerroni // Am J Dermatopathol. – 2009. – Vol. 31. – № 4. – P. 317–22. DOI: 10.1097/DAD.0b013e31819f19bb.

21. Beltzung, F. Primary cutaneous CD4+ small/medium T-cell lymphoproliferative disorders: A clinical, pathologic, and molecular study of 60 cases presenting with a single lesion: A multicenter study of the French Cutaneous Lymphoma Study Group / F. Beltzung, N. Ortonne, L. Pelletier [et al.] // Am J Surg Pathol. – 2020. – Vol. 44. – № 7. – P. 862–72. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001470.

22. Berger, C.L. The growth of cutaneous T-cell lymphoma is stimulated by immature dendritic cells / C.L. Berger, D. Hanlon, D. Kanada [et al.] // Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2002. – Vol. 99. – № 8. – P. 2929–2939. DOI: 10.1182/blood.v99.8.2929.

23. Bettelli, E. Loss of T-bet, but not STAT1, prevents the development of experimental autoimmune encephalomyelitis / E. Bettelli, B. Sullivan, S.J. Szabo [et al.] // *The Journal of experimental medicine*. – 2004. – Vol. 200. – № 1. – P. 79–87. DOI:10.1084/jem.20031819.

24. Block, J. B. et al. Mycosis fungoides: natural history and aspects of its relationship to other malignant lymphomas / J.B. Block, J. Edgcomb, A. Eisen, , E.J. Van Scott, // *The American Journal of Medicine*. – 1963. – Vol. 34. – №. 2. – P. 228-235.

25. Bosisio, F.M. Expression of T-follicular helper markers in sequential biopsies of progressive mycosis fungoides and other primary cutaneous T-cell lymphomas / F.M. Bosisio, L. Cerroni // *The American Journal of Dermatopathology*. – 2015. – Vol. 37. – № 2. – P. 115–21. DOI: 10.1097/DAD.0000000000000258

26. Breitfeld, D. Follicular B helper T cells express CXC chemokine receptor 5, localize to B cell follicles, and support immunoglobulin production / D. Breitfeld, L. Ohl, E. Kremmer [et al.] // *The Journal of experimental medicine*. – 2000. – Vol. 192. – № 11. – P. 1545–1552. DOI:10.1084/jem.192.11.1545.

27. Brender, C. STAT3-mediated constitutive expression of SOCS-3 in cutaneous T-cell lymphoma / C. Brender, M. Nielsen, K. Kaltoft [et al.] // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, – 2001, – Vol. 97, – № 4, – P. 1056-1062. DOI: 10.1182/blood.V97.4.1056

28. Butcher, E.C. Lymphocyte homing and homeostasis / E.C. Butcher, L.J. Picker // *Science*. – 1996. – Vol. 272. – № 5258. – P. 60–67. DOI:10.1126/science.272.5258.60.

29. Campbell, J.J. Sézary syndrome and mycosis fungoides arise from distinct T-cell subsets: a biologic rationale for their distinct clinical behaviors / J.J. Campbell, R.A. Clark, R. Watanabe, T.S. Kupper // *Blood*. – 2010. – Vol. 116. – № 5. – P. 767–771. DOI: 10.1182/blood-2009-11-251926.

30. Cerroni, L. Mycosis fungoides-clinical and histopathologic features, differential diagnosis, and treatment / L. Cerroni // *Semin Cutan Med Surg.* – 2018. – Vol. 37. – № 1. – P. 2–10. DOI: 10.12788/j.sder.2018.002.
31. Çetinözman, F. Differential expression of programmed death-1 (PD-1) in Sézary syndrome and mycosis fungoides / F. Çetinözman, P.M. Jansen, M.H. Vermeer, R. Willemze // *Archives of dermatology.* – 2012. – Vol. 148. – № 12. – P. 1379–1385. DOI:10.1001/archdermatol.2012.2089.
32. Choi, J. Genomic landscape of cutaneous T cell lymphoma. / J. Choi, G. Goh, T T. Walradt [et al.] // *Nature genetics.* – 2015. – Vol. 47. – №. 9. – P. 1011–1019. DOI:10.1038/ng.3356.
33. Clark, R.A. Regulation gone wrong: a subset of Sézary patients have malignant regulatory T cells / R.A. Clark // *Journal of Investigative Dermatology.* – 2009. – Vol. 129. – № 12. – 2747–2750. DOI:10.1038/jid.2009.290.
34. Clark, R.A. Resident memory T cells in human health and disease / R.A. Clark // *Science translational medicine.* – 2015. – Vol. 7. – № 269. – P. 269rv1–269rv1. DOI:10.1126/scitranslmed.3010641.
35. Clark, R.A. Skin-resident T cells: the ups and downs of on site immunity / R.A. Clark // *Journal of Investigative Dermatology.* – 2010. – Vol. 130. – № 2. – P. 362–370. DOI:10.1038/jid.2009.247.
36. Clark, R.A. The vast majority of CLA⁺ T cells are resident in normal skin / R.A. Clark, B. Chong, N. Mirchandani // *The Journal of Immunology.* – 2006. – Vol. 176. – №. 7. – P. 4431–4439. DOI:10.4049/jimmunol.176.7.4431.
37. Collins, K. Is immunohistochemical expression of GATA3 helpful in the differential diagnosis of transformed mycosis fungoides and primary cutaneous CD30-positive T cell lymphoproliferative disorders? / K. Collins, J. Gu, P. Aung, [et al.] // *Virchows Archiv,* – 2021, – Vol. 479, – P.377-383. DOI: 10.1007/s00428-021-03056-y.
38. Damsky, W.E. Genetics of cutaneous T cell lymphoma: from bench to bedside / W.E. Damsky, J. Choi // *Current treatment options in oncology.* – 2016. – Vol. 17. – № 7. – P. 1–14. DOI: 10.1007/s11864-016-0410-8.

39. De Masson, A. High-throughput sequencing of the T cell receptor β gene identifies aggressive early-stage mycosis fungoides / A. De Masson, J.T. O'Malley, C.P. Elco [et al.] // *Science translational medicine*. – 2018. – Vol. 10. – № 440. – P. eaar5894. DOI:10.1126/scitranslmed.aar5894.

40. Deenick, E.K. Regulation of T follicular helper cell formation and function by antigen presenting cells / E.K. Deenick, C.S Ma, R. Brink, S.G. Tangye // *Current opinion in immunology*. – 2011. – Vol. 23. – №. 1. – P. 111–118. DOI:10.1016/j.coi.2010.10.007.

41. Duarte, R.F. Long-term outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation for patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome: a European society for blood and marrow transplantation lymphoma working party extended analysis / R.F. Duarte, A. Boumendil, F. Onida, [et al.] // *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, – 2014, – Vol. 32, – № 29, – P. 3347-3348. DOI: 10.1200/jco.2014.57.5597

42. Dummer, R. Cutaneous T cell lymphoma / R. Dummer, M.H. Vermeer, J.J. Scarisbrick [et al.] // *Nature reviews Disease primers*, – 2021 – Vol. 7, – № 1, – P. 61. DOI: 10.1038/s41572-021-00296-9.

43. Elbendary, A. Expression of T-bet and GATA-3 in early mycosis fungoides and spongiotic dermatitis / A. Elbendary, K. Parikh, I. Elattar [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2016. – Vol. 74. – № 5. – P. 1012-1014. DOI: 10.1016/j.jaad.2015.12.004.

44. Finotto, S. Development of spontaneous airway changes consistent with human asthma in mice lacking T-bet / S. Finotto, M.F. Neurath, J.N. Glickman [et al.] // *Science*. – 2002. – Vol. 295. – № 5553. – P. 336–338. DOI:10.1126/science.1065544.

45. Furudate, S. The possible interaction between periostin expressed by cancer stroma and tumor-associated macrophages in developing mycosis fungoides / S. Furudate, T. Fujimura, A. Kakizaki, [et al.] // *Experimental dermatology*, – 2016, – Vol. 25, – № 2, – P. 107-112. DOI:10.1111/exd.12873

46. Gaulard, P. Primary cutaneous CD4+ small/medium T-cell lymphoproliferative disorder / P. Gaulard, E. Berti, R. Willemze [et al.] // WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues / S.H. Swerdlow, E. Campo, N.L. Harris [et al.] (eds.). – 4th ed. Lyon: IARC, 2017. – P. 401–2.

47. Gelfand, J.M. The risk of lymphoma in patients with psoriasis / J.M. Gelfand, D.B. Shin, A.L. Neimann [et al.] // Journal of investigative dermatology. – 2006. – Vol. 126. – № 10. P. 2194–2201. DOI:10.1038/sj.jid.5700410.

48. Gholami, M.D. Exhaustion of T lymphocytes in the tumor microenvironment: Significance and effective mechanisms / M.D. Gholami, Y. Saeedi, S. Heydari [et al.] // Cellular immunology. – 2017. – Vol. 322. – P. 1-14. DOI:10.1016/j.cellimm.2017.10.002

49. Girardi, M. The pathogenesis of mycosis fungoides / M. Girardi, P.W. Heald, L.D. Wilson // New England Journal of Medicine. – 2004. – Vol. 350. – № 19. – P. 1978-1988. DOI: 10.1056/NEJMra032810

50. Gjerdrum, L. FOXP3+ regulatory T cells in cutaneous T-cell lymphomas: association with disease stage and survival / L. Gjerdrum, A. Woetmann, N. Odum [et al.] // Leukemia. – 2007. – Vol. 21. – № 12. – P. 2512–2518. DOI:10.1038/sj.leu.2404913.

51. Golubovskaya, V. Different subsets of T cells, memory, effector functions, and CAR-T immunotherapy / V. Golubovskaya, L. Wu // Cancers. – 2016. – Vol. 8. – № 3. – P. 36. DOI: 10.3390/cancers8030036.

52. Gonzalez, B.R. Tumor microenvironment in mycosis fungoides and Sézary syndrome / B.R. Gonzalez, J. Zain, S.T. Rosen, C. Querfeld // Current opinion in oncology. – 2016. – Vol. 28. – № 1. – P. 88–96. DOI: 10.1097/CCO.0000000000000243

53. Goteri, G. Density of neoplastic lymphoid infiltrate, CD8+ T cells, and CD1a+ dendritic cells in mycosis fungoides / G. Goteri, A. Filosa, B. Mannello [et al.] // Journal of clinical pathology. – 2003. – Vol. 56. – № 6. – P. 453–458. DOI:10.1136/jcp.56.6.453.

54. Gru, A.A. Primary cutaneous CD4+ small/medium T-cell lymphoproliferative disorder-clinical and histopathologic features, differential diagnosis, and treatment / A.A. Gru, M.R. Wick, M. Eid // *Semin Cutan Med Surg.* – 2018. – Vol. 37. – №. 1. – P. 39-48. DOI: 10.12788/j.sder.2018.00

55. Gu, X. Aberrant expression of BCL 11 B in mycosis fungoides and its potential role in interferon-induced apoptosis / X. Gu, Y. Wang, G. Zhang [et al.] // *The Journal of dermatology.* – 2013. – Vol. 40. – №. 8. – P. 596–605. DOI:10.1111/1346-8138.12160.

56. Guitart, J. Histologic criteria for the diagnosis of mycosis fungoides: proposal for a grading system to standardize pathology reporting / J. Guitart, J. Kennedy, S. Ronan [et al.] // *Journal of cutaneous pathology.* – 2001. – Vol. 28. – № 4. – P. 174–183. DOI:10.1034/j.1600-0560.2001.028004174.x.

57. Hanel, W. A retrospective comparative outcome analysis following systemic therapy in Mycosis fungoides and Sezary syndrome / W. Hanel, R. Briski, C.W. Ross [et al.] // *American journal of hematology.* – 2016. – Vol. 91. – № 12. – P. E491–E495. DOI:10.1002/ajh.24564.

58. Hardtke, S. Balanced expression of CXCR5 and CCR7 on follicular T helper cells determines their transient positioning to lymph node follicles and is essential for efficient B-cell help / S. Hardtke, L. Ohl, R. Förster. // *Blood.* – 2005. – Vol. 106. – № 6. – P. 1924–1931. DOI:10.1182/blood-2004-11-4494.

59. Helfand, S.C. Functional interleukin-2 receptors are expressed on natural killer-like leukemic cells from a dog with cutaneous lymphoma. / S.C. Helfand, J.F. Modiano, P.F. Moore [et al.] // *Blood,* – 1995, – Vol. 86, – № 2,– P. 636-645. DOI: 10.1182/blood.V86.2.636.bloodjournal862636

60. Hodak E., Amitay-Laish I. Mycosis fungoides: A great imitator / E. Hodak, I. Amitay-Laish // *Clinics in Dermatology.* – 2019. – Vol. 37. – №. 3. – P. 255-267. DOI:

61. Hoppe, R.T. CD8-positive tumor-infiltrating lymphocytes influence the long-term survival of patients with mycosis fungoides / R.T. Hoppe, L.J. Medeiros,

R.A. Warnke, G.S. Wood // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 1995. – Vol. 32. – № 3. – P. 448–453. DOI:10.1016/0190-9622(95)90067-5.

62. Hsi, A.C. Expression of helper T cell master regulators in inflammatory dermatoses and primary cutaneous T-cell lymphomas: diagnostic implications / A.C.Hsi, S.J. Lee, I.S. Rosman [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2015. – Vol. 72. – № 1. – P. 159–167. DOI:10.1016/j.jaad.2014.09.022.

63. Imam, M.H. Incidence and survival patterns of cutaneous T-cell lymphomas in the United States / M.H. Imam, P.J. Shenoy, C.R. Flowers, A. Phillips [et al.] // *Leukemia & lymphoma*. – 2013. – Vol. 54. – № 4. – P. 752–759. DOI: 10.3109/10428194.2012.729831.

64. Ivashkiv, L.B. Epigenetic regulation of macrophage polarization and function / L.B. Ivashkiv // *Trends in Immunology*, – 2013, – Vol. 34, – № 5, – P/ 216–223. DOI: 10.1016/j.it.2012.11.001.

65. Jullié, M.L. CD20 antigen may be expressed by reactive or lymphomatous cells of transformed mycosis fungoides: diagnostic and prognostic impact / M.L. Jullié, M. Carlotti, Jr.A. Vivot [et al.] // *The American journal of surgical pathology*. – 2013. – Vol. 37. – № 12. – P. 1845–1854. DOI:10.1097/pas.0000000000000091.

66. Kantekure, K. Expression patterns of the immunosuppressive proteins PD-1/CD279 and PD-L1/CD274 at different stages of cutaneous T-cell lymphoma (CTCL)/mycosis fungoides (MF) / K. Kantekure, Y. Yang, P. Raghunath [et al.] // *The American Journal of dermatopathology*. – 2012. – Vol. 34. – № 1. – P. 126. DOI:10.1097/dad.0b013e31821c35cb.

67. Kataoka, Y. Thymus and activation-regulated chemokine as a clinical biomarker in atopic dermatitis / Kataoka Y. // *The Journal of dermatology*. – 2014. – Vol. 41. – № 3. – P. 221–229. DOI:10.1111/1346-8138.12440.

68. Kirsch, I.R. TCR sequencing facilitates diagnosis and identifies mature T cells as the cell of origin in CTCL / I.R. Kirsch, R. Watanabe, J.T. O'Malley, D.W. Williamson [et al.] // *Science translational medicine*. – 2015. – Vol. 7. – № 308. – P. 308ra158–308ra158. DOI:10.1126/scitranslmed.aaa9122.

69. Korgavkar, K. Changing incidence trends of cutaneous T-cell lymphoma / K. Korgavkar, M. Xiong, M. Weinstock // *JAMA dermatology*. – 2013. – Vol. 149. – № 11. – P. 1295–1299. DOI:10.1001/jamadermatol.2013.5526.
70. Krejsgaard, T. Malignant inflammation in cutaneous T- cell lymphoma—a hostile takeover / T. Krejsgaard, L.M. Lindahl, N.P. Mongan [et al.] // *In Seminars in immunopathology*, – 2017, – Vol. 39, – P. 269-282. DOI: 10.1007/s00281-016-0594-9.
71. Krejsgaard, T. Regulatory T cells and immunodeficiency in mycosis fungoides and Sezary syndrome / T. Krejsgaard, N. Odum, C. Geisler [et al.] // *Leukemia*. – 2012. – Vol. 26. – № 3. – P. 424– 432. DOI:10.1038/leu.2011.237.
72. Krejsgaard, T. Staphylococcal enterotoxins stimulate lymphoma-associated immune dysregulation / T. Krejsgaard, A. Willerslev-Olsen, L.M. Lindahl [et al.] // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. – 2014. – Vol. 124. – № 5. – P. 761–770. DOI: 10.1182/blood-2014-01-551184.
73. Larocca, C. Mycosis fungoides and sezary syndrome: an update / C. Larocca, N. Kupper // *Hematology/Oncology Clinics*. – 2019. – Vol. 33. – № 1. – P. 103–120. DOI:10.1016/j.hoc.2018.09.001.
74. Legendre, L. Risk of lymphoma in patients with atopic dermatitis and the role of topical treatment: a systematic review and meta-analysis / L. Legendre, T. Barnetche, J. Mazereeuw-Hautier [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2015. – Vol. 72. – № 6. – P. 992–1002. DOI:10.1016/j.jaad.2015.02.1116.
75. Li, D.Y. ICOS+ tregs: A functional subset of tregs in immune diseases / D.Y. Li, X.Z. Xiong // *Frontiers in immunology*. – 2020, Vol. 28, – № 11, – P. 2104. DOI: 10.3389/fimmu.2020.02104
76. Ma, C.S. The origins, function, and regulation of T follicular helper cells / C.S. Ma, E.K. Deenick, M. Batten, S.G. Tangye // *Journal of Experimental Medicine*. – 2012. – Vol. 209. – № 7. – P. 1241–1253. DOI: 10.1084/jem.20120994
77. Meyerson, H.J. Follicular center helper T-cell (TFH) marker positive mycosis fungoides/Sezary syndrome / H.J. Meyerson, A. Awadallah, P. Pavlidakey

[et al.] // *Mod Pathol.* – 2013. – Vol. 26. – № 1. – P. 32–43. DOI: 10.1038/modpathol.2012.124.

78. Mintz, M.A. T follicular helper cells in germinal center B cell selection and lymphomagenesis / M.A. Mintz, J.G. Cyster // *Immunological reviews.* – 2020. – Vol. 296. – №. 1. – P. 48-61. DOI: 10.1111/imr.12860

79. Mirvish, E.D. Infectious agents in cutaneous T-cell lymphoma / E.D. Mirvish, R.G. Pomerantz, L.J. Geskin // *Journal of the American Academy of Dermatology.* – 2011. – Vol. 64. – № 2. – P. 423– 431. DOI:10.1016/j.jaad.2009.11.692.

80. Mirvish, J. J.. Role of infectious agents in cutaneous T-cell lymphoma: facts and controversies / J.J. Mirvish, R.G. Pomerantz, Jr L.D. Falot, L.J. Geskin // *Clinics in dermatology.* – 2013. – Vol. 31. – №. 4. – P. 423-431. DOI:10.1016/j.clindermatol.2013.01.009.

81. Miyagaki, T. Immunological milieu in mycosis fungoides and Sézary syndrome / T. Miyagaki, M. Sugaya // *The Journal of dermatology.* – 2014. – Vol. 41. – № 1. – P. 11–18. DOI:10.1111/1346-8138.12305.

82. Murray, D. Progression of mycosis fungoides occurs through divergence of tumor immunophenotype by differential expression of HLA-DR / D. Murray, J.L. McMurray, S. Eldershaw [et al.] // *Blood advances.* – 2019. – Vol. 3. – № 4. – P. 519–530. DOI:10.1182/bloodadvances.2018025114.

83. Nelson, B.H. CD20+ B cells: the other tumor-infiltrating lymphocytes. *The Journal of Immunology.* – 2010. – Vol. 185. – № 9. – P. 4977–4982. DOI:10.4049/jimmunol.1001323.

84. Netchiporouk, E. Deregulation in STAT signaling is important for cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) pathogenesis and cancer progression / E. Netchiporouk, I.V. Litvinov, L. Moreau [et al.] // *Cell Cycle.* – 2014. – Vol. 13. – № 21. – P. 3331–3335. DOI:10.4161/15384101.2014.965061.

85. Nielsen, P.R. Role of B-cells in Mycosis Fungoides / P.R. Nielsen, J.O. Eriksen, M.D. Sørensen, [et al.] // *Acta Dermato-Venereologica.* – 2021. – Vol. 101. – № 3. – P.adv00413. DOI: 10.2340/00015555-3775

86. Olsen, E. Revisions to the staging and classification of mycosis fungoides and Sezary syndrome: a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the cutaneous lymphoma task force of the European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC) / E. Olsen, E. Vonderheid, N. Pimpinelli [et al.] // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. – 2007. – Vol. 110. – № 6. – P. 1713–1722. DOI:10.1182/blood-2008-02-142653.

87. Oschlies, I. Cyclin D1 expression, cell proliferation, and clonal persistence characterize primary cutaneous CD4+ small or medium T- cell lymphoproliferative disorder / I.Oschlies, K. Kock, T. Wüseke [et al.] // *Histopathology*. – 2023. – Vol. 82. – № 3. – P. 485-494. DOI: 10.1111/his.14834.

88. Park, J. Genomic analysis of 220 CTCLs identifies a novel recurrent gain-of-function alteration in RLTPR (p. Q575E) / J. Park, J. Yang, A.T. Wenzel [et al.] // *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2017. – Vol. 130. – № 12. – P. 1430–1440. DOI:10.1182/blood-2017-02-768234.

89. Pileri, A. The microenvironment's role in mycosis fungoides and Sézary syndrome: from progression to therapeutic implications / A. Pileri, A. Guglielmo, V. Grandi, [et al.] // *Cells*. – 2021. – Vol. 10. – № 10. – P. 2780. DOI: 10.3390/cells10102780

90. Pimpinelli, N. Defining early mycosis fungoides / N. Pimpinelli, E.A. Olsen, M. Santucci [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2005. – Vol. 53. – № 6. – P. 1053-1063. DOI: 10.1016/j.jaad.2005.08.05.

91. Pulitzer, M. Cutaneous T-cell lymphoma / M. Pulitzer // *Clinics in laboratory medicine*. – 2017. – Vol. – 37. – № 3. – P.527-546. DOI: 10.1016/j.cll.2017.06.006

92. Qu, K. Chromatin accessibility landscape of cutaneous T cell lymphoma and dynamic response to HDAC inhibitors / Qu, K., Zaba, L. C., Satpathy [et al.]// *Cancer cell*, – 2017, – Vol. 32, – № 1, – P. 27-41. DOI:10.1016/j.ccell.2017.05.008

93. Querfeld, C. T cells in CTCL have an exhausted phenotype while cutaneous dendritic cells display a normally activated mature phenotype / C.

Querfeld, S. Curran, S. Leung [et al.] // *Blood*. – 2014. – Vol. 124. – № 21. – P. 1695. DOI:10.1182/blood.v124.21.1695.1695.

94. Salah, E. Primary cutaneous CD4+ small/medium pleomorphic T-cell lymphoproliferative disorder: Where do we stand? A systematic review / E. Salah // *J Dtsch Dermatol Ges*. – 2019. – Vol. 17. – № 2. – P. 123–36. DOI: 10.1111/ddg.13691.

95. Sallusto, F. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance / F. Sallusto, J. Geginat, A. Lanzavecchia // *Annu. Rev. Immunol.* – 2004. – Vol. 22. – P. 745–763. DOI: 10.1146/annurev.immunol.22.012703.104702

96. Scarisbrick, J.J. Cutaneous Lymphoma International Consortium study of outcome in advanced stages of mycosis fungoides and Sézary syndrome: effect of specific prognostic markers on survival and development of a prognostic model / J.J. Scarisbrick, H.M. Prince, M.H. Vermeer. [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2015. – Vol. 33. – № 32. – P. 3766. DOI:10.1182/blood.v124.21.1621.1621.

97. Shi, H.Z. Clinicopathological analysis of primary cutaneous CD4-positive small/medium pleomorphic T-cell lymphoproliferative disorder: A retrospective study of 22 patients / H.Z. Shi, J. Zhang, J.S. Xion [et al.] // *Int J Dermatol*. – 2021. – Vol. 60. – № 4. – P. 497–502. DOI: 10.1111/ijd.15372.

98. Stevens, S.R. Quantifying skin disease burden in mycosis fungoides-type cutaneous T-cell lymphomas: the Severity-Weighted Assessment Tool (SWAT) / S.R. Steven, M.S. Ke, E.J. Parry [et al.] // *Archives of dermatology*. – 2002 Jan 1. – Vol. 138. – № 1. – P. 42–8.

99. Sugaya, M. Association of the numbers of CD163+ cells in lesional skin and serum levels of soluble CD163 with disease progression of cutaneous T cell lymphoma / M. Sugaya, T. Miyagaki, H. Ohmatsu [et al.] // *Journal of dermatological science*. – 2012. – Vol. 68. – № 1. – P. 45–51. DOI:10.1016/j.jdermsci.2012.07.007.

100. Sugaya, M. CCR 4 is expressed on infiltrating cells in lesional skin of early mycosis fungoides and atopic dermatitis / M. Sugaya, S. Morimura, H. Suga

[et al.] // The Journal of dermatology. – 2015. – Vol. 42. – № 6. – P. 613–615. DOI:10.1111/1346-8138.12852.

101. Sugaya, M. Phase II study of iv interferon-gamma in Japanese patients with mycosis fungoides / M. Sugaya, Y. Tokura, T. Hamada [et al.] // The Journal of dermatology. – 2014. – Vol. 41. – № 1. – P. 50–56. DOI:10.1111/1346-8138.12341.

102. Sun, G. Poor prognosis in non-Caucasian patients with early-onset mycosis fungoides / G. Sun, C. Berthelot, Y. Li [et al.] // Journal of the American Academy of Dermatology. – 2009. – Vol. 60. – № 2. – P. 231–235. DOI:10.1016/j.jaad.2008.09.063.

103. Surmanowicz, P. The clinical spectrum of primary cutaneous CD4+ small/medium-sized pleomorphic T-cell lymphoproliferative disorder: An updated systematic literature review and case series / P. Surmanowicz, S. Doherty, A. Sivanand [et al.]. // Dermatology. – 2021. – Vol. 237. – № 4. – P. 618–28. DOI: 10.1159/000511473.

104. Swerdlow, S.H. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms / S.H. Swerdlow, E. Campo, S.A. Pileri [et al.]. // Blood. – 2016. – Vol. 127. – № 20. – P. 2375–90. DOI: 10.1182/blood-2016-01-643569.

105. Talpur, R. Long-term outcomes of 1,263 patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome from 1982 to 2009 / R. Talpur, L. Singh, S. Daulat [et al.] // Clinical cancer research. 2012. – Vol. 18. – № 18. – P. 5051–5060. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-12-0604.

106. Tan, R.H. Mycosis fungoides—a disease of antigen persistence / R.H. Tan, C.M. Butterworth, H. McLaughlin [et al.]. // British Journal of Dermatology. – 1974. – Vol. 91. – № 6. – P. 607–616. DOI:10.1111/j.1365-2133.1974.tb12449.x.

107. Theurich, S. Targeting tumor-infiltrating B cells in cutaneous T-cell lymphoma / S. Theurich, M. Schlaak, H. Steguweit [et al.] // Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology. – 2016. – Vol. 34. – № 12. – P. e110–e116. DOI:10.1200/jco.2013.50.9471.

108. Togashi, Y. Regulatory T cells in cancer immunosuppression—implications for anticancer therapy / Y. Togashi, K. Shitara, H. Nishikawa // *Nature reviews Clinical oncology*. – 2019. – Vol. 16. – № 6. – P. 356–371. DOI:10.1038/s41571-019-0175-7.

109. Topalian, S.L. Immune checkpoint blockade: a common denominator approach to cancer therapy / S.L. Topalian, C.G. Drake, D.M. Pardoll // *Cancer cell*. – 2015. – Vol. 27. – № 4. – P. 450–461. DOI:10.1016/j.ccell.2015.03.001.

110. Trautinger, F. European Organisation for Research and Treatment of Cancer consensus recommendations for the treatment of mycosis fungoides/Sézary syndrome—Update 2017 / F. Trautinger, J. Eder, C. Assaf [et al.] // *European Journal of Cancer*. – 2017. – Vol. 77. – P. 57–74. DOI:10.1016/j.ejca.2017.02.027.

111. Ungewickell, A. Genomic analysis of mycosis fungoides and Sezary syndrome identifies recurrent alterations in TNFR2 / A. Ungewickell, A. Bhaduri, E. Rios [et al.] // *Nature genetics*. – 2015. – Vol. 47. – № 9. – P. 1056–1060. DOI:10.1038/ng.3370.

112. Vermeer, M.H. CD8⁺ T cells in cutaneous T-cell lymphoma: expression of cytotoxic proteins, Fas ligand, and killing inhibitory receptors and their relationship with clinical behavior / M.H. Vermeer, R. van Doorn, D. Dukers [et al.] // *Journal of clinical oncology*. – 2001. – Vol. 19. – № 23. – P. 4322–4329. DOI:10.1200/jco.2001.19.23.4322.

113. Vonderheid, E.C. Prognostic factors and risk stratification in early mycosis fungoides / E.C. Vonderheid, I. Pavlov, J.C. Delgado [et al.]. // *Leukemia & lymphoma*. – 2014. – Vol. 55. – № 1. – P. 44– 50. DOI:10.3109/10428194.2013.790541.

114. Vowels, B.R. Th2 cytokine mRNA expression in skin in cutaneous T-cell lymphoma / B.R. Vowels, S.R. Lessin, M. Cassin [et al.]. // *Journal of Investigative Dermatology*. – 1994. – Vol. 103. – № 5. – P. 669–673. DOI:10.1111/1523-1747.ep12398454.

115. Wang, L. Genomic profiling of Sezary syndrome identifies alterations of key T cell signaling and differentiation genes / L. Wang, X. Ni, K. Covington [et al.]

// Nature genetics. – 2015. – Vol. 47. – № 12. – P. 1426–1434. DOI:10.1038/ng.3444.

116. Wang, L. Primary cutaneous peripheral T- cell lymphomas with a T-follicular helper phenotype: an integrative clinical, pathological and molecular case series study / L. Wang, D. Rocas, S. Dalle [et al.] // British Journal of Dermatology. – 2022. – Vol. 187. – № 6. – P. 970-980. DOI: 10.1111/bjd.21791

117. Watanabe, R. Human skin is protected by four functionally and phenotypically discrete populations of resident and recirculating memory T cells / R. Watanabe, A. Gehad, C. Yang [et al.] // Science translational medicine. – 2015. – Vol. 7. – № 279. – P. 279ra39–279ra39. DOI:10.1126/scitranslmed.3010302.

118. Weng, W.K. Non-myeloablative allogeneic transplantation resulting in clinical and molecular remission with low Non-Relapse Mortality (NRM) in patients with advanced stage Mycosis Fungoides (MF) and Sézary Syndrome (SS) / W.K. Weng, A. Gehad, C. Yang [et al.] // Science translational medicine. – 2014. – Vol. 124. – № 21. – P. 2544. DOI:10.1182/blood.v124.21.2544.2544.

119. Wherry, E.J. Lineage relationship and protective immunity of memory CD8 T cell subsets / E.J. Wherry, V. Teichgräber, T.C. Becker [et al.] // Nature immunology. – 2003. – Vol. 4. – № 3. – P. 225–234. DOI:10.1038/ni889.

120. Willemze, R. Classification of primary cutaneous T-cell lymphomas / R. Willemze, R.C. Beljaards, C.J. Meijer, J.R. Rijlaarsdam // Histopathology. – 1994. – Vol. 24. – № 5. – P. 405–15. DOI: 10.1111/j.1365-2559.1994.tb00549.x.

121. Willemze, R. EORTC classification for primary cutaneous lymphomas: A proposal from the Cutaneous Lymphoma Study Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer / R. Willemze, H. Kerl, W. Sterry [et al.] // Blood. – 1997. – Vol. 90. – № 1. – P. 354–71. PMID: 9207472.

122. Willemze, R. The 2018 update of the WHO-EORTC classification for primary cutaneous lymphomas / R. Willemze, L. Cerroni, W. Kempf [et al.] // Blood. – 2019. – Vol. 133. – № 16. – P. 1703–1714. DOI:10.1182/blood.2019002852.

123. Willemze, R. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas / R. Willemze, E.S. Jaffe, G. Burg [et al.] // *Blood*. – 2005. – Vol. 105. – № 10. – P. 3768–3785. DOI: 10.1182/blood-2004-09-3502.

124. Wong, H.K. Increased expression of CTLA-4 in malignant T cells from patients with mycosis fungoides–cutaneous T-cell lymphoma / H.K. Wong, A.J. Wilson, H.M. Gibson [et al.] // *Journal of investigative dermatology*. – 2006. – Vol. 126. – № 1. – P. 212–219. DOI:10.1038/sj.jid.5700029.

125. Wu, X. Depletion of M2-like tumor-associated macrophages delays cutaneous T-cell lymphoma development in vivo / X. Wu, B. Schulte, Y. Zhou [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2014. – Vol. 134. – № 11. – P. 2814–2822. DOI:10.1038/jid.2014.206.

126. Yagi, H. Chemokine receptor expression in cutaneous T cell and NK/T-cell lymphomas: immunohistochemical staining and in vitro chemotactic assay / H. Yagi, N. Seo, A. Ohshima [et al.] // *The American journal of surgical pathology*, – 2006, – Vol. 30, – № 9, – P. 1111-1119. DOI: 10.1097/01.pas.0000213267.92349.59

127. Yoshitomi, H. Shared and distinct roles of T peripheral helper and T follicular helper cells in human diseases / H. Yoshitomi, H. Ueno // *Cell Mol Immunol*. – 2021. – Vol. 18. – № 3. – P. 523–7. DOI: 10.1038/s41423-020-00529-z.

128. Zhu, J. Differentiation of effector CD4 T cell populations / J.Zhu, H. Yamane, W.E. Paul // *Annual review of immunology*. – 2009. – Vol. 28. – P. 445–489. DOI:10.1146/annurev-immunol-030409-101212.

129. Zinzani, P.L. Gemcitabine as single agent in pretreated T-cell lymphoma patients: evaluation of the long-term outcome / P.L. Zinzani, F. Venturini, V. Stefoni [et al.] // *Annals of Oncology*. – 2010. – Vol. 21. – № 4. – P. 860–863. DOI:10.1093/annonc/mdp508.

130. Zou, W. PD-L1 (B7-H1) and PD-1 pathway blockade for cancer therapy: Mechanisms, response biomarkers, and combinations / W. Zou, J.D. Wolchok, L. Chen // *Science translational medicine*. – 2016. – Vol. 8. – № 328. – P. 328rv4–328rv4. DOI:10.1126/scitranslmed.aad7118.