

ОРИГІНАЛЬНА СТАТТЯ

УДК 616.-018.73-07-08-092

РОЛЬ СООТНОШЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ МАРКЕРОВ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ CD8+: CD3+ В ЛИМФОЦИТАРНЫХ ИНФИЛЬТРАТАХ КОЖИ ПРИ ГРИБОВИДНОМ МИКОЗЕ

Хамаде Луай Мустафа

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

Гистологический диагноз грибковидного микоза (ГМ) сложен, особенно на этапе ранних клинических кожных проявлений болезни, когда изменения могут быть интерпретированы как банальный воспалительный процесс. Гистопатология грибковидного микоза характеризуется формированием в верхних отделах дермы лимфоцитарных инфильтратов как результат клональной пролиферации опухолевых эпидермотропных CD4+ лимфоцитов с небольшой примесью CD8+ клеток. Подавляющее преобладание в инфильтрате CD4+ лимфоцитов и увеличение соотношения CD4+: CD8+ является основным критерием в диагностике грибковидного микоза. Однако, гистиоциты, участвующие в формировании инфильтрата воспаления, также имеют CD4 позитивную окрашенность, что суммарно с CD4+ лимфоцитами представляется как весомый признак грибковидного микоза.

Ключевые слова: CD3+, CD8+, лимфоциты, грибковидный микоз.

Вступление. Грибковидный микоз (ГМ) является наиболее распространенной формой первичных кожных Т-клеточных лимфом [1]. Клинически болезнь характеризуется медленным прогрессирующим течением с тремя последующими морфологическими кожными проявлениями, характеризующимися эритематозными пятнами, бляшками и узлами. Гистологически, для грибковидного микоза характерно формирование субэпидермальных лимфоцитарных инфильтратов, ассоциированных с выраженным эпидермотропизмом [2].

Определенные трудности гистологического диагноза ГМ возникают при раннем развитии заболевания, когда не удается четко дифференцированно разграничить гистологические изменения свойственные ГМ с изменениями характерными кожному воспалительному процессу иного происхождения. Известно, что лимфоцитарные инфильтраты при грибковидном микозе преобладающе состоят из CD3+ и CD4+ Т лимфоцитов, с минимальной численностью CD8+ Т-клеток, что является важным критерием в дифференциальной диагностике грибковидного микоза и воспаления [3]. Однако экспрессия CD4+ антигенного маркера также может быть характерна и для клеток гистиоцитарного ряда (макрофагов, дендритных клеток эпидермиса и дермы), накопление которых в условиях воспаления может восприниматься как инфильтрат с преобладающим содержанием CD4+лимфоцитов, что ошибочно трактуется патогистологами, как признак грибковидного микоза [4].

Цель исследования: определение возможности использования оценки соотношения маркеров дифференцировки CD8+: CD3+клеток лимфоцитарного инфильтра-

та в качестве дифференциальной диагностики грибковидного микоза на ранних стадиях заболевания.

Объект и методы исследования. Материал для исследования – биоптаты кожи, взятые у 5 больных с грибковидным микозом, которые наблюдались на кафедре дерматологии и венерологии НМУ имени А.А.Богомольца. Каждый пациент получал подробную информацию о проводимом исследовании и давал информированное согласие на участие в исследовании. Гистологическое обзорное исследование осуществляли по общепринятой методике окрашивания гематоксилин- эозином с целью выявления общей гистологической картины. Иммуногистохимические реакции (ИГХР) проводили по стандартизированной методике [5] с использованием серийных парафиновых срезов толщиной 3-5 мкм, помещенных на адгезивные стекла, покрытые поли L-лизином («Menzel-Glaser», Германия) и реактивов компании DAKO. Иммуногистохимическая панель включала в себя следующие антитела: CD3 (Clone 4B12), CD8 (Clone C8/144B) (Dako Cytomation). Для визуализации использовалась проявочная система визуализации EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH (Link), Code K8012 на автостейнере фирмы DAKO. В месте локализации антигена визуализировался продукт реакции коричневого цвета. Морфометрическое исследование включало подсчет CD3+ и CD8+ позитивно окрашенных клеток в 5 полях зрения при увеличении 200 с последующим расчетом соотношения маркеров дифференцировки CD8+: CD3+. Полученные данные пересчитывали на 1 мм² среза дермального компонента и 2 мм длины эпидермиса. Просмотр и цифровые фотографии микропрепаратов осуществляли циф-

ровой камерой OLYMPUS C 5050Z, установленной на микроскопе «Olympus CX-41».

Результаты и обсуждения.

В коже больных с бляшечной формой грибовидного микоза наблюдалось умеренное утолщение эпидермиса за счет пролиферации клеток мальпигиевого слоя, местами незначительный спонгиоз, акантоз и умеренный гиперкератоз. Отмечен эпидермотропизм лимфоидных клеток с диффузным распределением в эпидермисе, однако без тенденции к формированию эпидермальных абсцессов Потрие. Дермальные клеточные инфильтраты, которые при гистологической оценке были классифицированы как типичные и имели характерные гистологические особенности грибовидного микоза: полосовидные, высокой плотности субэпидермальные лимфоидноклеточные инфильтраты, наличие клеток с церебриформной морфологией ядра (клетки Сезари). Гистологическое исследование клеточного состава сформированных субэпидермальных инфильтратов с использованием моноклональных антител (CD3, CD8) выявило, что наибольшая численная плотность была характерна для CD3+ Т-лимфоцитов (рис. 1).

Количественный подсчет CD8 и CD3 позитивных клеток показал, что среднее значение соотношения маркеров дифференцировки CD8+: CD3+ в эпидермальном компоненте было равно 1:5 (Рис 1). В дермальных инфильтратах больных ГМ это соотношение было на уровне 1:3 (Рис 2).

Гистологически, грибовидный микоз может имитировать воспалительный процесс, характерный для многих дерматозов, так что гистологическое подтверждение заболевания затруднено. Наиболее важной морфологической особенностью для диагностики ГМ является присутствие атипичных лимфоцитов с церебриформным ядром [5]. Тем не менее, диагностическое значение лимфоцитарной атипичности, остается спорным [7].

Иммуногистохимия, является дополнительным инструментом в диагностике грибовидного микоза. Лимфоциты дермальных инфильтратов при микозе являются зрелыми CD4+ Т-лимфоцитами. Таким образом, можно было бы полагать, что при иммуногистохимической маркировке в клеточных инфильтратах опухолевого генеза при грибовидном микозе численно доминирует CD3+ CD4+ Т-лимфоцитарная популяция при низкой численности CD8+ Т-лимфоцитов. Высокий коэффициент в соотношении CD4:CD8 позитивных клеток в лимфоцитарных инфильтратах считается наиболее важным критерием при постановке гистологического диагноза грибовидный микоз [8, 9].

Однако имеющиеся данные относительно диагностической ценности соотношения CD4+: CD8+ для грибовидного микоза не всегда убедительны. Например, процент содержания в клеточных инфильтратах CD8+ Т-клеток существенно не различается в случаях грибовидного микоза и воспаления [12]. Преобладающее содержание в дермальных инфильтратах CD4+ клеток не может быть решающим в разграничении ГМ и воспаления, поскольку при воспалении наблюдается накопление клеток гистиоцитарного ряда, которые также несут на своей поверхности

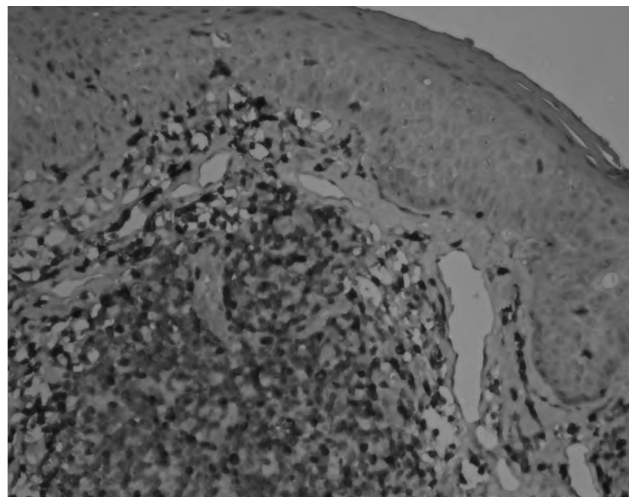


Рис. 1. Грибовидный микоз. CD3+ лимфоцитарный состав клеточного инфильтрата эпидермального и дермального компонента пораженной кожи. X 200.

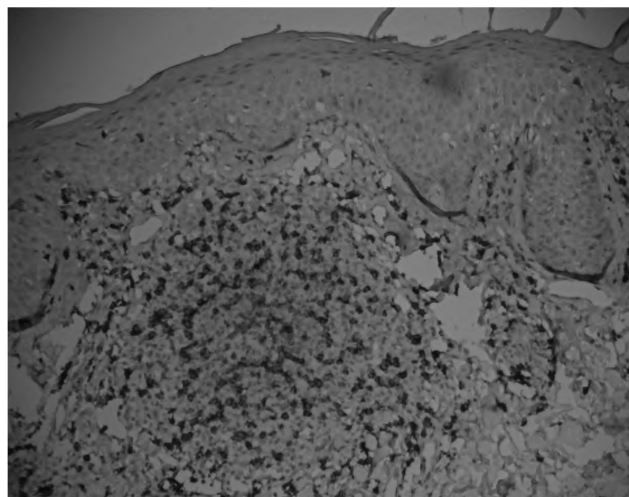


Рис. 2. Грибовидный микоз. CD8+ лимфоцитарный состав клеточного инфильтрата эпидермального и дермального компонента пораженной кожи. X200

CD4+ антигенный маркер. Более достоверным критерием может быть соотношение CD8+: CD3+, в котором исключается погрешность связанная с численностью CD4+ клеток гистиоцитарного происхождения, при оценке общего содержания CD3 позитивных лимфоцитов.

Значение высокого содержания CD8+ Т-клеточного компонента в патогенезе грибовидного микоза остается до сих пор неясным. Большая численность CD8+ Т-клеток в пределах инфильтрата при грибовидном микозе может быть маркером микоза раннего периода развития [15]. Тем не менее, это предположение остается спорным [16]. Было предположено, что грибовидный микоз с большим содержанием в инфильтратах CD8+ Т-клеток может иметь лучший прогноз [17]. Действительно, CD8+ Т-клетки в микозных инфильтратах могут проявлять цитотоксические свойства, направленные на опухолевые клетки [18].

Выводы. Наличие низкого уровня CD8/CD3 клеточных соотношений в эпидермальном компоненте и

лимфоцитарном інfiltrаті дерми підтримує предположення о грибовидному мікозі і може бути використано в діагностиці, оскільки виключає значення CD4+гистиоцитарного клітинного компонента в рутинній оцінці співвідношень CD4+: CD8+ применительно к грибовидному мікозу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jaffe E.S. *Peripheral T-cell and NK-cell lymphomas in the WHO classification: pearls and pitfalls* / Jaffe E.S., Nicolae A., Pittaluga S. // *Modern Pathology*. – 2013. – Vol. 26. – P.71-87.
2. Kim E.J. *Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma* / Kim E.J., Hess S., Richardson S.K., Newton S., Showe L.C., Benoit B.M. // *J Clin Invest* – 2005. – Vol. 115. – P.798–812.
3. Massone C. *The prognosis of early mycosis fungoides is not influenced by phenotype and T-cell clonality* / Massone C., Crisman G., Kerl H. // *Br. J. Dermatol.* – 2008. – Vol.159. – P.881–886.
4. Olsen E., Vonderheid E., Pimpinelli N., et al. *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)* / Olsen

E., Vonderheid E., Pimpinelli N. // *Blood* – 2007. – Vol. 110. – P.1713–1722.

5. Вавилов А.М. *Иммунологические исследования Т-лимфоцитов в коже* / А.М. Вавилов, В.А.Самсонов, Л.Е.Димант и др. // *Вестн. дерматол.* – 2000. – №4. – С.4-5.

6. Santucci M. *Efficacy of histologic criteria for diagnosing early mycosis fungoides: an EORTC cutaneous lymphoma study group investigation*. European Organization for Research and Treatment of Cancer / Santucci M., Biggeri A., Feller A.C., Massi D., Burg G. // *Am J Surg Pathol* – 2000. – Vol. 24. – P.40–50.

7. Izban K.F. *Immunohistochemical analysis of mycosis fungoides on paraffin-embedded tissue sections* / Izban K.F., Hsi E.D., Alkan S. // *Mod Pathol* – 1998. – Vol. 11. – P.978–82.

8. Nuckols J.D. *Quantitation of intraepidermal T-cell subsets in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue helps in the diagnosis of mycosis fungoides* / Nuckols J.D., Shea C.R., Horenstein M.G., Burchette J.L., Prieto V.G. // *J Cutan Pathol* – 1999. – Vol. 26. – P.169–75.

9. Whittam L.R. *CD8-positive juvenile onset mycosis fungoides: an immunohistochemical and enotypic analysis of six cases* / Whittam L.R., Calonje E., Orchard G., Fraser-Andrews E.A., Woolford A., Russell-Jones R. // *Br J Dermatol* – 2000. – Vol. 143. – P.1199–204.

10. Hoppe R.T. *CD8-positive tumor-infiltrating lymphocytes influence the long-term survival of patients with mycosis fungoides* / Hoppe R.T., Medeiros L.J., Warnke R.A., Wood G.S. // *J Am Acad Dermatol* – 1995. – Vol. 32. – P.448–53.

РОЛЬ СПІВВІДНОШЕННЯ КЛІТИННИХ МАРКЕРІВ ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ CD8 + : CD3 + В ЛІМФОЦИТАРНИХ ІНФІЛЬТРАТАХ ШКІРИ ПРИ ГРИБОПОДІБНОМУ МІКОЗІ

Хамаде Луай Мустафа

Національний медичний університет
імені А.А. Богомольця, г. Київ, Україна

Гістологічний діагноз грибовидного мікозу складний, особливо на етапі ранніх клінічних проявів хвороби, коли зміни можуть бути інтерпретовані як банальний запальний процес. Гістопатологія грибовидного мікозу характеризується формуванням у верхніх відділах дерми лімфоцитарних інfiltrатів як результат клональної проліферації пухлинних епідермотропних CD4+ лімфоцитів з невеликою кількістю CD8+ клітин. Переважання в інfiltrаті CD4+ лімфоцитів і збільшення співвідношення CD4+: CD8+ є основним критерієм в діагностиці грибовидного мікозу. Однак, гістіоцити, які беруть участь у формуванні інfiltrату запалення, також мають CD4 позитивний маркер, що сумарно з CD4+ лімфоцитами представляється як вагома ознака грибовидного мікозу. Метою даного дослідження було визначення можливості використання в диференціальній діагностиці грибовидного мікозу показника клітинних співвідношень CD8+: CD3+, який виключає гістіоцитарний компонент. Кількісні співвідношення CD8+: CD3+ клітин визначалися окремо в епідермальному та дермальному компоненті біоптатів шкіри 5 хворих грибовидним мікозом на ранніх стадіях захворювання. Отримані дані оцінки співвідношення маркерів диференціювання CD8+: CD3+ можуть бути використані в диференціальній діагностиці грибовидного мікозу і дерматозів запального генезу.

Ключові слова: CD3+, CD8+, лімфоцити, грибовидний мікоз.

THE ROLE OF THE CD8+:CD3+ RATIO OF CELL DIFFERENTIATION MARKERS IN LYMPHOCYTIC INFILTRATES OF THE SKIN WITH MYCOSIS FUNGOIDES

Hamade Luay Mustafa

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Histological diagnosis of mycosis fungoides is complicated, particularly during the early clinical manifestations of skin disease where changes can be interpreted as a banal inflammation. Histopathology of mycosis fungoides is characterized by the formation in the upper dermal of lymphocytic infiltrates as a result of clonal proliferation of tumor epidermotropic CD4+ lymphocytes with a small percentage of CD8 + cells. The vast predominance of CD4+ lymphocytes in skin infiltrate and an increase the ratio of CD4+:CD8+ is the main criterion of mycosis fungoides diagnosis. However, histiocytes, involved in the formation of inflammatory infiltrate, also have CD4 positivity the same as CD4+ lymphocytes, which were presented as a significant sign of mycosis fungoides. Therefore, the aim of this study was to determine whether the CD8+-CD3+ ratio could be a marker for the diagnosis of mycosis fungoides, which excludes histiocytic component. Quantitative CD8+:CD3+ ratios were determined separately in the epidermal and dermal component of the skin biopsies of 5 patients with mycosis fungoides in the early stages of the disease. As the result we can estimate that CD8+:CD3+ ratio can be used in the differential diagnosis of mycosis fungoides and inflammatory dermatoses.

Key words: CD3+, CD8+, Lymphocytes, Mycosis fungoides.