

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI ROMA  
"TOR VERGATA"**

**FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA**

**DOTTORATO DI RICERCA IN  
EMATOLOGIA**

**CICLO DEL CORSO DI DOTTORATO  
XX**

**Uso dell'associazione Doxorubicina liposomiale pugilato-  
Vinblastina-Bleomicina-Dacarbazina nel trattamento dei  
linfomi cutanei in stadio avanzato**

Dott.ssa Manuela Rizzo

Docente guida/Tutor: Prof.ssa Maria Cantonetti

Coordinatore: Prof. Sergio Amadori

## INDICE

I linfomi primitivi della cute.....	2
Introduzione e aspetti storici.....	4
Classificazione dei linfomi cutanei.....	9
Categorie prognostiche nelle patologie linfoproliferative cutanee.....	11
Aspetti clinici.....	15
Diagnosi.....	16
Stadiazione.....	17
Linfomi cutanei B: caratteristiche principali .....	22
Linfomi cutanei T: caratteristiche principali .....	28
Terapie.....	48
Pazienti e metodi.....	60
Risultati .....	72
Tossicità.....	75
Discussione.....	77
Conclusioni.....	81
Iconografia.....	82
Bibliografia.....	88

### **I LINFOMI PRIMITIVI DELLA CUTE**

I linfomi cutanei rappresentano un notevole gruppo nell'ambito delle patologie linfoproliferative e, tra i linfomi extranodali, sono al secondo posto, per ordine di frequenza, dopo quelli del tratto gastroenterico costituendo circa il 7% di tutti i linfomi.

Circa il 65% dei linfomi primitivi cutanei mostrano un fenotipo caratteristico delle cellule T, mentre meno del 25 % sono linfomi a cellule B. Questo dato da solo giustifica il sempre maggiore interesse suscitato da questi peculiari linfomi caratterizzati da un'estrema eterogeneità in termini di presentazione clinica, prognosi e profilo immuno-molecolare.

Come per altre neoplasie, la patogenesi è basata soprattutto su un graduale accumulo di mutazioni che coinvolgono oncogeni e geni oncosoppressori, causate da fattori genetici, ambientali o infezioni. L'iter diagnostico include

la clinica, l'esame istologico, gli esami di diagnostica per immagini e gli esami ematochimici; attualmente l'uso sempre più diffuso di metodiche di studio quali l'immunoistochimica e l'analisi molecolare ad integrazione dell'esame istomorfologico di routine contribuiscono, in modo rilevante, alla determinazione del linfoma cutaneo. La correlazione tra profilo clinico-patologico e caratteri immunofenotipici e genotipici ha infatti consentito di distinguere con sufficiente chiarezza sottogruppi diversi e peculiari di linfomi cutanei, offrendo da un lato preziose indicazioni sul decorso clinico, sulla terapia e sulla prognosi e dall'altro nuovi e interessanti elementi per la comprensione della fisiopatologia del sistema immunitario associato alla cute. (Skin associated Lymphoid Tissue, Salt).

L'attuale classificazione WHO/EORTC differenzia i linfomi cutanei in:

- Linfomi a cellule T mature e cellule Natural Killer
- Linfomi a cellule B mature
- Tumori maligni a cellule emopoietiche immature con loro varianti e sottogruppi.

L'assegnazione dei vari tipi di linfomi cutanei, in categorie prognostiche, (malattie pre-linfomatose "primitive", linfomi maligni a basso grado di malignità e linfomi maligni ad alto grado) procura un'informazione essenziale inerente all'andamento biologico e permette un'appropriata programmazione della strategia terapeutica, che potrebbe essere topica o sistemica, aggressiva o non aggressiva. Oltre le classiche opzioni terapeutiche, si fanno strada oggi, altre nuove strategie "sperimentali", l'efficacia delle quali è stata studiata in "trials" clinici.

## **INTRODUZIONE E ASPETTI STORICI**

Con il termine di linfoma cutaneo si intende una proliferazione monoclonale di cellule linfoidi a primitiva insorgenza cutanea.

I linfomi cutanei, quindi possono essere considerati, come un "illegittimo" infiltrato cutaneo linfoproliferativo (1), che prende origine sia da cellule B, T o Natural Killer il quale si sviluppa e rimane confinato a livello della cute senza presentare, almeno al momento della diagnosi, manifestazioni extracutanee.

Dopo il tratto gastrointestinale, la cute è il secondo sito più comune di linfomi non-Hodgkin extranodali, con un'incidenza annuale stimata di 1 : 100.000 (2).

Jean-Louis Alibert (1768-1837) parlò nel 1814 di una strana alterazione della cute, come di un fungo simil tumorale, che descrisse in dettaglio sotto il nome di “Piano Fungoide “ e come “Micosi Fungoide “ nel 1832.

Nonostante Alibert diede un nome alla patologia, potrebbe essere un errore affermare che egli fu il primo a descrivere un linfoma cutaneo in quanto, a quel tempo, l'eziologia dell'alterazione era completamente sconosciuta. La prima relazione tra la Micosi Fungoide e il sistema linfoide venne elaborata nel 1869, mediante studi microscopici di Xavier Gillot e Louis Antoine Ranvier (1835 -1922 ) a Parigi, i quali chiarirono che la Micosi Fungoide era causata dalla rigenerazione del tessuto linfoide nella cute. Essi, quindi, la considerarono come la manifestazione cutanea di un linfoma, alla quale diedero in nome di “linfadenite cutanea”.

## PATOGENESI

I linfomi cutanei rappresentano il risultato di un processo multifattoriale e multifasico dovuto all'accumulo di mutazioni che coinvolgono i geni che intervengono nella riparazione del DNA, oncogeni e oncosoppressori che può essere suddiviso in tre tappe.

Nella prima fase si ha l'attivazione cronica dei linfociti, con instabilità genetica, che conduce allo sviluppo di una condizione pre-neoplastica linfoproliferativa. Questo step rappresenta un potenziale processo reversibile determinato da un aumento di attività di alcuni fattori di trascrizione (c-myc, bcl-3, STAT5), che portano ad un aumento di espressione di geni quali bcl-2, bcl-xL, bcl-1 e di fattori di crescita cellulare come IL-5 (11).

Nella seconda fase, la persistente stimolazione di tirosin kinasi endogene ha come conseguenza l'attivazione di ulteriori fattori di trascrizione (NFkB p50, p65, p52, STAT2, STAT3) e dei loro target genetici; ciò rappresenta l'inizio della transizione nel definitivo linfoma a basso grado. I contatti cellula-cellula, CD40/CD40L, sembrano essere di massima importanza nella promozione della linfoproliferazione in questa precoce fase della patologia.

Nella terza fase l'effetto patogenetico della persistente stimolazione antigenica è sostituito dalla ulteriore attivazione di tirosin kinasi endogene, di geni quali RAS e di altri fattori di trascrizione (RelB, c-Rel, STAT6, c-myc) che, in congiunzione con l'inattivazione di proteine promuoventi l'apoptosi (Bad, Bax) nonché p15 e Rb, conducono alla proliferazione di cellule neoplastiche linfoidi. Questi cambiamenti si concludono con la formazione del tumore e la trasformazione in linfoma a grandi cellule ad alto grado di malignità.

La disseminazione extracutanea nel sangue periferico, nel midollo osseo, negli organi interni, con l'ulteriore sviluppo di linfomi nodali, determina il quarto step.

Riassumendo, con molta probabilità, la prima alterazione inizia come un processo infiammatorio innescato e sostenuto da svariati stimoli cronici i quali possono essere di natura genetica, ambientale, immunologica o infettiva. Difetti nella regolazione cellulare e alterazioni di oncogeni e geni oncosoppressori favoriscono il passaggio da una condizione pre-neoplastica a una condizione di neoplasia.(3).

### Fattori genetici

Solo in pochi casi si è osservato lo sviluppo dello stesso tumore cutaneo in soggetti appartenenti alla stessa famiglia (gemelli o fratelli). Malattie congenite determinate da alterazioni cromosomiche, come la “reticolosi emofagocitica familiare”, potrebbero evolvere in un linfoma cutaneo. In contrasto però con i linfomi nodali, le aberrazioni cromosomiche raramente si ritrovano nei cutanei (4).

Mutazioni che coinvolgono la proteina p53, il gene c-myc sembrano, invece, essere correlate con l’aggressività di linfomi cutanei a cellule T.

### Fattori ambientali

Ci sono idee controverse sulle relazioni tra fattori ambientali, con particolari riferimenti alle industrie petrolifere, e lo sviluppo di linfomi cutanei a cellule T (5).

### Fattori infettivi

Nonostante sia ben chiaro il nesso tra l’HTLV-1 e la leucemia o il linfoma a cellule T negli adulti (6) i quali frequentemente possono anche coinvolgere la cute, nei linfomi cutanei, in occidente, risulta negativa la ricerca degli anticorpi per le proteine strutturali dell’ HTLV-1 che quindi non appaiono essere agenti eziologici primari in questi (7). Recentemente particelle retrovirali sono state riscontrate in alcune malattie linfoproliferative cutanee CD 30+. Il virus di Epstein Barr è coinvolto nella patogenesi del linfoma di Burkitt endemico in Africa, in alcuni linfomi extranodali (soprattutto T o NK) e in diversi linfomi cutanei con particolari pattern di crescita (8).

Comunque il ruolo eziopatogenetico dei virus in molti casi rimane oscuro. Mediante tecniche di PCR, si possono amplificare sequenze del DNA di alcuni virus; recentemente sono stati studiati EBV, Herpes Virus come il 7 e 8, ma non sembrano essere inclusi nella patogenesi dei linfomi primitivi cutanei.

In Europa (9), ma non negli Stati Uniti, alcuni casi di linfomi cutanei maligni di basso grado sembrano essere associati con l’infezione da *Borrelia Burgdoferi*. L’infezione da *Clamydia*, invece, gioca un ruolo

nell'eziologia dei linfomi cutanei a cellule T, in particolar modo nelle forme eritrodermiche (10).

### Fattori immunologici

Esiste una forte evidenza morfologica per un'interazione funzionale esistente tra i linfociti e le cellule dendritiche presenti nell'infiltrato cutaneo, che la patologia cutanea sia la conseguenza di una cronica stimolazione immunitaria.

In aggiunta a ciò, incrementano il rischio di sviluppo di un linfoma i disturbi della sorveglianza immunologica (patologie autoimmuni), le infezioni croniche o la condizione di immunosoppressione.

## **CLASSIFICAZIONE DEI LINFOMI CUTANEI**

In molti paesi la percentuale dei linfomi cutanei tra i LNH extranodali oscilla tra il 25% e il 35% ; complessivamente la frequenza annuale è di 0.3 per 100.000 abitanti (12).

Approssimativamente il 65% dei linfomi cutanei sono a cellule T, il 25% a cellule B e il 10% sono rare tipologie di infiltrati linfoproliferativi cutanei. Storicamente i linfomi maligni sono stati categorizzati in tre grandi entità: morbo di Hodgkin, linfosarcoma e sarcoma a cellule reticolari. Questo creava una gran confusione in ambito di terminologia tra i patologi, così come era evidente che esistevano altre tipologie. Allora la necessità di una nuova classificazione divenne evidente e soprattutto si cercò di stabilirne una specifica collocazione per l'ambito dermatologico. Il più importante passo in avanti è stato recentemente ottenuto con l'elaborazione di una nuova classificazione per i linfomi cutanei (WHO/EORTC classification). Questa è compatibile con la WHO classificazione per i tumori ematopoietici e del tessuto linfoide e con la EORTC classificazione (1997) ed include anche altre entità

Quella che segue è l'attuale classificazione WHO/EORTC dei linfomi cutanei.

### **A) CUTANEOUS T-CELL and NK-CELL LYMPHOMAS**

- Mycosis fungoides
  
- MF variants and subtypes
  - Pagetoid reticulosis
  - Folliculotropic MF
  - Granulomatous slack skin
  
- Sézary syndrome

- Adult T-cell leukemia/lymphoma
- Primary cutaneous CD30+ lymphoproliferative disorders
  - Lymphomatoid papulosis
  - Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma
- Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma
- Extranodal NK/T cell lymphoma, nasal type
- Primary cutaneous peripheral T-cell Lymph, unspecified
  - Primary cutaneous aggressive epidermotropic CD8-positive T-cell lymphoma (provisional)
  - Cutaneous gamma/delta-positive T-cell lymphoma (provisional)
  - Primary cutaneous CD4-positive small/medium-sized pleomorphic T-cell lymphoma (provisional )

## **B) CUTANEOUS B-CELL LYMPHOMA**

- Primary cutaneous marginal zone B-cell lymphoma
- Primary cutaneous follicle center lymphoma
- Primary cutaneous diffuse large B-cell lymph, leg type
- Primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, others
  - Intravascular large B-cell lymphoma

## **C) PRECURSOR HEMATOLOGIC NEOPLASM**

- CD4+/CD56+ hematodermic neoplasm  
(Blastic NK-cell lymphoma)

## **CATEGORIE PROGNOSTICHE**

Le patologie linfoproliferative cutanee possono mostrare un differente comportamento biologico, e in virtù di ciò possono essere ulteriormente suddivise in categorie prognostiche, le quali non sono menzionate nella classificazione WHO/EORTC (13).

Queste categorie fanno riferimento a :

- iperplasia linfonodale reattiva (pseudolinfoma) ,

- alterazione prelinfomatosa (“prematura”),
- linfoma maligno definito a basso grado di malignità
- linfoma maligno definito ad alto grado di malignità.

Nell’approccio diagnostico è preferibile l’identificazione della patologia neoplastica sia da un punto di vista clinico-patologico, mediante la classificazione sistemica, sia da un punto di vista prognostico.

Il vantaggio di questa integrazione è di fornire informazioni essenziali riguardo l’andamento biologico che potrebbe risultare significativamente differente rispetto ai linfomi nodali. Ciò è cruciale per il clinico e per le sue ulteriori decisioni inerenti il trattamento del paziente.

### Caratteri principali delle categorie prognostiche

CATEGORIE	CARATTERISTICHE	PROTOTIPI
Iperplasia linfonodale reattiva pseudolinfoma	reattiva, benigna; localizzata o disseminata; scompare spontaneamente o dopo rimozione dei fattori causali (tatuaggi, droghe, infezioni) o dopo trattamenti non aggressivi.	Linfocitoma (linfadenosi cutanea benigna) dovuta alla infezione da Borrellia
Alterazione prelinfomatosa “primitiva”	Lungo andamento cronico No regressione spontanea, no diffusione extracutanea. Clonalità dell’infiltrato assente. Il tempo di sopravvivenza non è intaccato.	Piccole placche parapsoriasiche
Linfoma definito a basso grado di malignità	Andamento lentamente progressivo con potenzialità di trasformazione in linfoma maligno ad alto grado e diffusione extracutanea in fase avanzata. Sopravvivenza solitamente superiore a 5 anni.	Micosi fungoide
Linfoma definito ad alto grado di malignità	Andamento rapidamente progressivo con trasformazione in cellule blastiche e rapida diffusione extracutanea. Sopravvivenza di solito inferiore a 5 anni.	Linfoma diffuso a grandi cellule B

### Parametri prognostici

L’andamento e la prognosi dei linfomi cutanei differisce significativamente da quelli nodali. Vari parametri prognostici hanno un



significativo impatto nella strategia terapeutica. Se il coinvolgimento extracutaneo è chiaro nei linfomi B, questo in molti casi indica un coinvolgimento secondario della cute in un linfoma nodale primitivo, che non è stato diagnosticato precedentemente .

I parametri prognostici sono diversi :

**Parametri clinici:** alcuni autori sostengono che sia il numero, il tipo o la localizzazione delle lesioni non siano correlati con la prognosi. Nonostante ciò i linfomi a grandi cellule B localizzati a livello del capo e del collo hanno una prognosi migliore. I linfomi centro-follicolari del dorso, che rimandano alla “reticolo istiocitosi del dorso” presentano anch’essi una prognosi favorevole (14);

**Parametri istologici:** i linfomi con pattern di crescita diffuso e intravascolare mostrano una prognosi peggiore rispetto al pattern di crescita follicolare. La gamma morfologica dei B è ampia e include piccole cellule clivate, larghe cellule non clivate, ma anche linfomi con stroma mixoide, linfoma sclerosante a cellule B, linfoma con cellule ad anello, linfoma a cellule B multilobate, linfoma a cellule B epidermiotropico. Il significato prognostico, però, di queste varianti morfologiche non è stato ancora sufficientemente studiato;

**Parametri immunofenotipici:** l’espressione della proteina bcl-2 indica una prognosi peggiore o una manifestazione secondaria di un linfoma nodale primitivo. L’impatto prognostico riguardo la presenza e la percentuale di infiltrato tumorale di cellule T CD8+ non è ancora ben chiaro. Di questi, comunque, ne sono stati ritrovati di più nei linfomi B a grandi cellule rispetto agli pseudolinfomi, ai linfomi follicolari e ai marginali. L’espressione delle molecole di adesione ICAM-1 e LFA 1 sono state studiate in vari gruppi e i risultati da essi apportati dimostrano che l’assenza di entrambe sulle cellule neoplastiche sono correlate con una prognosi poco favorevole (15).

#### **Parametri prognostici nei linfomi cutanei B**

<b>Clinical Parameters</b>	<b>Favorable Prognosis</b>	<b>Poor Prognosis</b>
Localization	Head and neck	Lower leg
Distribution	Solitary or regional	Disseminated
GrowthPattern	Follicular	Diffuse
Cytomorphology	Large	Small
Admixture of plasma cell	+	-
Intravascular Proliferation	-	+
Bcl-2	-	+
t 14;18	-	+
CD21	+ regular networks	- or irregular

## ASPETTI CLINICI

La presentazione clinica dei linfomi cutanei può essere varia; essi infatti possono estrinsecarsi sotto forma di alterazioni ipo o iper pigmentate, placche, papule (con colorazioni differenti dal rosso al violaceo), lesioni eczematose, noduli, erosioni, ulcerazioni.

Possono presentarsi come lesioni singole o multiple, confinate in una sola area corporea o interessare contemporaneamente zone diverse anche in sedi non contigue tra loro. Nella maggior parte dei casi, almeno al momento della diagnosi, non si ha la presenza di sintomi sistemici; a volte, però le manifestazioni cutanee possono accompagnarsi alla comparsa di prurito, che può essere localizzato solo in corrispondenza delle lesioni o essere generalizzato e diffuso. A causa di questa estrema variabilità clinica, l'approccio ad un paziente con un sospetto linfoma cutaneo, deve essere il più possibile rigoroso e scrupoloso.

## DIAGNOSI

Nel sospetto di una patologia linfoproliferativa cutanea il paziente deve essere sottoposto in primo luogo ad una visita specialistica dermatologica/ematologica, che comprenda oltre ad un attento esame clinico una dettagliata anamnesi.

Successivamente, l'unico modo certo per poter avvalorare l'ipotesi diagnostica è la biopsia della lesione cutanea con relativo esame istologico. Questo includerà l'**analisi immunoistochimica** su materiale fissato ed incluso in paraffina e su materiale a fresco (tipizzazione dell'infiltrato cutaneo T o B) per la correlazione morfo-immunologica, la valutazione della clonalità delle catene leggere (kappa/lambda) delle immunoglobuline citoplasmatiche (linfomi a cellule B) e la tipizzazione con identificazione di antigeni con rilevanza prognostica; l'**analisi molecolare** (mediante PCR, Southern Blot) per verificare l'espressione di oncogeni specifici (bcl-2, c-myc).

Nel momento in cui tutte queste metodiche porteranno alla formulazione della diagnosi di linfoma primitivo cutaneo, il paziente verrà sottoposto a

ulteriori indagini cliniche, di laboratorio e strumentali per la stadiazione della patologia linfoproliferativa: tutto ciò è indispensabile per scegliere la terapia più appropriata fra le possibili opzioni terapeutiche.

## **STADIAZIONE**

La stadiazione dei tumori è importante sia nell'approccio che nell'effettiva cura dei pazienti. Il fine ultimo di un sistema di stadiazione è quello di fornire una base sulla quale ragionare per un'appropriata gestione, per prevedere una prognosi (integrata con gli altri fattori predittivi) e per facilitare la comparazione dei risultati tra differenti terapie e le diverse Istituzioni. Inizialmente venne applicato anche ai linfomi non Hodgkin il sistema di Ann Arbor ma poiché questo non riusciva a rispondere in maniera esaustiva alle finalità della stadiazione, si prese in considerazione la classificazione secondo il sistema TNM, adattandola ai linfomi primitivi cutanei (applicabile sia ai linfomi B e T ma non alla Micosi fungoide e alla sindrome di Sézary).

Questo sistema valuta fundamentalmente tre parametri essenziali quali le dimensioni della lesione (T), l'interessamento linfonodale (N) e la presenza di metastasi (M).

Il **parametro T** riflette l'estensione e la distribuzione del primario coinvolgimento cutaneo, comprendendo sia lesioni singole che lesioni multiple le quali possono presentarsi separate tra di loro oppure essere associate in gruppi, clusters o essere tra loro coalescenti.

Nello specifico il parametro T si suddivide in :

- **T1:** placche, papule o lesioni eczematose limitate che coinvolgono <10% della superficie corporea
- **T2:** placche o papule che coinvolgono >10% della superficie corporea
- **T3:** Lesioni multiple con diametro >1 cm
- **T4:** Eritrodermia diffusa che coinvolge >80% della superficie corporea

Il **parametro N** riguarda il coinvolgimento linfonodale. Poiché è implicito nella definizione di linfoma primitivo cutaneo che l'interessamento extracutaneo è assente (non coinvolge né i linfonodi né gli organi interni) tutti i pazienti sono, alla presentazione, in uno stadio N0. Tuttavia, il parametro N consente di applicare il sistema di stadiazione nel momento di un recidiva o di una progressione di malattia. E' indispensabile però che il coinvolgimento linfonodale sia documentato mediante una valutazione istologica (FNA o biopsia).

Nel dettaglio il parametro N si suddivide in :

- **N0:** nessun coinvolgimento clinico a livello linfonodale

- **N1:** coinvolgimento di un linfonodo di una regione periferica\* che drena un'area di attuale o precedente interessamento cutaneo
- **N2:** coinvolgimento di due o più linfonodi periferici o coinvolgimento di qualunque linfonodo che non drena un'area di attuale o precedente interessamento cutaneo
- **N3:** coinvolgimento di linfonodi centrali

\*La definizione di linfonodo regionale è in accordo con quella del sistema di Ann Arbor:

- siti periferici :cervicali, sopraclaveari, inguinali, femorali, poplitei
- siti centrali : mediastinici, dell'ilo polmonare, paraortici e iliaci.

Il **parametro M**, valuta invece la presenza o meno di metastasi. Anche per questo aspetto è implicito, sempre nella definizione di linfoma primitivo cutaneo, l'assenza di malattia extracutanea, quindi tutti i pazienti sono, al momento della presentazione allo stadio M0. Questo aspetto, comunque, permette di definire l'instaurarsi di una recidiva o di una progressione della patologia.

Nel dettaglio il parametro M si suddivide in :

- **M0:** assenza coinvolgimento degli organi viscerali
- **M1:** coinvolgimento viscerale

A questa classificazione si è recentemente aggiunto il **parametro B**, che definisce la presenza o meno di linfociti patologici circolanti.

Nel dettaglio il parametro B si suddivide in :

- **B0:** assenza di coinvolgimento del SVP (<5% di linfociti atipici circolanti)
- **B1:** >5% di linfocitosi atipica periferica
- **B2:** >1000/ml linfociti atipici nel SVP

Sarà possibile disporre di tutte queste informazioni sottoponendo il paziente dopo il primo step della diagnosi ad una serie di indagini complementari a quelle iniziali, in modo da ottenere una valutazione che sia il più possibile completa. Per questo durante la stadiazione si effettueranno: l'aspirato midollare, la biopsia osteomidollare, la tipizzazione linfocitaria su sangue circolante, la TC total body con m.d.c (importante per l'acquisizione di informazioni anatomico strutturali). Nel sospetto di un interessamento linfonodale si procederà anche ad una biopsia linfonodale (preferendo sempre, se possibile l'escissione chirurgica).

Viene riportata come esempio la stadiazione ISCL/EORTC della Micosi Fungoide e della Sindrome di Sezary:

	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>	<b>B</b>
<b>IA</b>	1	0	0	0-1
<b>IB</b>	2	0	0	0-1
<b>II</b>	1-2	1-2	0	0-1

<b>IIB</b>	3	0-2	0	0-1
<b>III</b>	4	0-2	0	0-1
<b>IIIA</b>	4	0-2	0	0
<b>IIIB</b>	4	0-2	0	1
<b>IVA1</b>	1-4	0-2	0	2
<b>IVA2</b>	1-4	3	0	0-2
<b>IVB</b>	1-4	0-3	1	0-2

## **LINFOMI CUTANEI B: CARATTERISTICHE PRINCIPALI**

### **Linfoma primitivo cutaneo a cellule B della zona marginale (PCMZL)**

Rappresenta un linfoma “indolent”.

È composto da piccole cellule che includono cellule della zona marginale (tipo centrociti), cellule linfoplasmacitoidi e cellule del plasma, insieme anche con un piccolo numero di centroblasti o immunoblasti e molte cellule reattive T. Si osservano anche centri germinativi reattivi. Le cellule della zona marginale esprimono positività per il CD20, CD79a, e il bcl-2 ma sono negative per il CD5, CD10 e il bcl-6 (16).

Si evidenziano riarrangiamenti clonali delle catene pesanti delle immunoglobuline nonché la presenza di traslocazioni: t(14;18) e t(3;14).

In questo gruppo vengono inclusi casi precedentemente designati come immunocitoma primitivo cutaneo e casi di iperplasia cutanea follicolare linfoide con monociti, casi eccezionali di plasmocitoma primitivo cutaneo senza un sottostante mieloma multiplo (plasmocitoma extramidollare della cute). I pazienti si presentano con papule rosse o violacee, placche o noduli localizzati preferenzialmente al tronco o alle estremità, soprattutto agli arti superiori. A differenza dei linfomi follicolari, la presentazione con lesioni multifocali è frequente; l’ulcerazione non è comune; hanno tendenza a ripresentarsi a livello cutaneo ma la disseminazione in altri siti è eccezionalmente rara .

In alcuni casi si verifica una risoluzione spontanea.

L’associazione con patologie autoimmuni non è frequente, mentre in alcuni casi si è dimostrata la presenza dell’infezione da *Borrelia Burgdoferi*.

La prognosi è eccellente con una sopravvivenza a 5 anni vicina al 100%.

### **Linfoma primitivo cutaneo centro follicolare (PCFCL)**

E’ definito come un tumore con cellule neoplastiche centro-follicolari, solitamente formato da un insieme di centrociti e un numero variabile di centroblasti con pattern di crescita follicolare, follicolare e diffuso o diffuso. Si localizza preferibilmente a livello della testa o del tronco.

L’istopatologia è variabile: nelle lesioni dello scalpo l’istologia si presenta con un pattern di crescita chiaramente follicolare più che in quelle del

tronco. Le lesioni piccole e precoci contengono un insieme di centrociti, pochi centroblasti e molte cellule reattive T. Aspetti ugualmente comuni sono la presenza di centrociti grandi, spesso multilobati come anche la presenza di grandi cellule neoplastiche con un aspetto simile ai fibroblasti. Se presenti, i follicoli patologici sono composti da cellule centrofollicolari bcl 6+ immersi in una rete di cellule dendritiche follicolari CD21+ o CD35+. I follicoli sono mal definiti, con scarsi macrofagi e generalmente hanno una riduzione o assenza della zona mantellare (17). Con la progressione tumorale le cellule neoplastiche B aumentano per numero e dimensioni, mentre le cellule reattive T decrescono.

Le cellule neoplastiche esprimono antigeni quali CD20 e CD79 e l'assenza di immunoglobuline di superficie (sIg) è comune nelle lesioni tumorali che mostrano una diffusa popolazione di grandi cellule centrofollicolari. L'espressione del CD10 è particolarmente osservato nei casi con un pattern di crescita follicolare ma non è comune in quelli con un pattern di crescita diffuso. Solitamente si ha l'espressione della proteina bcl-2.

Sono presenti sia riarrangiamenti clonali dei geni delle immunoglobuline sia ipermutazioni somatiche dei geni delle regioni variabili delle catene pesanti e leggere delle immunoglobuline. In molti studi si hanno dei casi dove è presente la traslocazione (14;18) che è caratteristica dei linfomi follicolari sistemici e di una porzione di linfomi B diffusi a grandi cellule.

I pazienti presentano lesioni solitarie o gruppi di placche localizzate tipicamente allo scalpo o alla fronte e al tronco.

Nel passato i linfomi follicolari con una tipica presentazione al dorso si riferivano al "reticoloistiocitoma" del dorso o al linfoma di "Crosti" (18).

Se non trattate, le lesioni gradualmente aumentano, ma la disseminazione extracutanea non è frequente.

Indipendentemente dal pattern di crescita (follicolare o diffuso), dal numero di blasti o dalla presenza o meno di localizzazione multipla, i linfomi cutanei di tipo follicolare hanno un'eccellente prognosi con una sopravvivenza a 5 anni superiore al 95%.

Recenti studi suggeriscono che una forte espressione della proteina bcl-2 con un quadro istologico diffuso a grandi cellule è associato con una prognosi più sfavorevole.

### **Linfoma primitivo cutaneo diffuso a grandi cellule, tipo della gamba (PCLBC-LT)**

Formato da una predominanza o confluenza di strati di centroblasti e immunoblasti caratteristicamente presenti con lesioni cutanee nelle aree più distali degli arti inferiori. Non comunemente, lesioni cutanee con simile morfologia e fenotipo, possono manifestarsi in sedi diverse.

Questo tipo di linfoma mostra un infiltrato diffuso che spesso si estende nel tessuto sottocutaneo. Oltre alla presenza di centroblasti e immunoblasti, si osservano frequentemente figure mitotiche.

Mancano piccole cellule B e le cellule T reattive sono relativamente poche e confinate nelle aree perivascolari. Non si osserva una prominente reazione stromale come nei linfomi follicolari.

Le cellule neoplastiche B esprimono sIg e/o cIg e antigeni di superficie CD20 e CD79a. Mostrano una forte espressione della proteina bcl-2, anche nei casi non localizzati a livello della gamba.

Non si riscontra la traslocazione (14;18).

In alcuni casi la forte espressione della bcl-2 è il risultato dell'amplificazione del gene che la codifica. In alcuni casi si ritrova l'inattivazione di p15 e p16.

Colpisce soprattutto pazienti anziani e in particolar modo il sesso femminile (19).

Le lesioni sono rapidamente progressive, rosse o verdi-bluestre su una o entrambe le gambe. In contrasto con gli altri tipi di linfoma B, più spesso mostrano una disseminazione extracutanea e hanno una prognosi più sfavorevole.

La sopravvivenza a 5 anni, in studi tedeschi, è riportata intorno al 55%. Inoltre la presenza di lesioni multiple al momento della diagnosi rappresenta un fattore di rischio sfavorevole. In un recente studio, pazienti che presentavano una singola lesione tumorale su una gamba, hanno avuto una percentuale di sopravvivenza a 5 anni del 100%, mentre i pazienti con lesioni multiple su una o entrambe le gambe hanno avuto una percentuale di sopravvivenza a 5 anni tra il 45% e il 36% rispettivamente.

### **Linfomi primitivi cutanei diffusi a grandi cellule B (PCLBCL)**

Con questo termine si indicano i linfomi cutanei che non appartengono al gruppo dei linfomi a grandi cellule della gamba o al gruppo dei linfomi follicolari.

Questi casi includono varianti morfologiche di linfomi diffusi a grandi cellule B così come i sottotipi anaplastico o plasmoblastico o i linfomi a cellule B ricchi di cellule T/istiociti. Molti casi sono anche manifestazioni cutanee di un linfoma sistemico. I linfomi plasmoblastici compaiono quasi sempre nei pazienti con infezione da HIV (20) o con altre immunodeficienze. Clinicamente appaiono simili alle manifestazioni degli altri gruppi e differenzialmente dalla loro controparte nodale, hanno un'eccellente prognosi.

### **Linfoma intravascolare a grandi cellule B**

Viene definito come un sottotipo di linfoma a grandi cellule B, dato dall'accumulo di cellule neoplastiche all'interno dei vasi sanguigni. Questo

linfoma colpisce preferenzialmente il sistema nervoso centrale, i polmoni, e la cute ed ha una pessima prognosi.

Clinicamente si presenta con placche violacee o teleangiectesie a livello delle gambe o del tronco (21). Le cellule tumorali, in considerazione della loro particolare posizione, possono causare occlusioni vascolari a vari livelli (capillari, vene, arteriole).

## **LINFOMI CUTANEI T: CARATTERISTICHE PRINCIPALI**

### **Micosi Fungoide (MF)**

La Micosi Fungoide è il più frequente tipo tra tutti i linfomi cutanei a cellule T: ne rappresenta circa il 50%.

Colpisce preferenzialmente adulti ed anziani (età media 50anni; rapporto M/F 2:1), sono descritti anche casi pediatrici e del giovane adulto (24).

Nella sua forma "classica" la MF è caratterizzata da tre stadi progressivi, rispettivamente stadio in chiazza (I), stadio in placca (II) e stadio tumorale (III), con o senza eritrodermia.

Tipica della MF è una storia naturale protratta, di solito associata ad una clinica relativamente indolente. Nello *stadio I* i pazienti si presentano con chiazze (dimensioni tra 1 e 5 cm) eritematose, non rilevate né infiltrate. Nello *stadio II* le chiazze divengono infiltrate, palpabili e con margini rilevati (placca); spesso i pazienti mostrano contemporaneamente entrambe le lesioni (chiazze e placche), con distribuzione asimmetrica, in aree diverse o contigue. Le sedi più colpite sono: glutei, tronco, inguine, ascelle e la regione mammaria. Nello *stadio III*, la fase più avanzata della malattia, i pazienti possono presentare una serie combinata di lesioni che, oltre a chiazze e placche, comprendono noduli/tumori, spesso ulcerati e soggetti a complicanze settiche. Le lesioni tumorali possono insorgere "de novo" o progredire da preesistenti lesioni in placca. Il decorso della MF è di solito lungo, ma l'esatta cronologia della progressione tra le varie fasi della malattia non è prevedibile. Lo stadio tumorale si accompagna a viraggio in termini di maggiore aggressività della malattia, caratterizzato da un alto rischio di disseminazione extracutanea con interessamento dei corrispondenti linfonodi loco-regionali e quindi di organi a distanza.

Istologicamente la popolazione linfomatosa della MF è costituita da linfociti T con nuclei ipercromatici, convoluti (cerebriformi) e variabile tendenza epidermotropa. Nella gran parte dei casi esiste una buona corrispondenza fra stadio clinico lesionale e caratteristiche istopatologiche dell'infiltrato linfomatoso (25).

Nello *stadio I (in chiazza)* l'infiltrato, quantitativamente modesto, interessa



il derma superficiale. Per molti anni le lesioni che successivamente saranno riconosciute come sede di malattia, presentano caratteristiche di aspecificità e, nella maggioranza dei casi, viene posta la diagnosi di eczema o psoriasi. Il periodo che intercorre tra la comparsa della lesione sulla cute e la definizione diagnostica di linfoma a cellule T è di 4-10 anni con una media di 6 anni. Le eruzioni sono tipicamente transitorie e possono ricomparire dopo una remissione spontanea sia nei siti già interessati che in quelli sani. Nello *stadio II (in placca)* l'infiltrato diviene più denso; oltre ai linfociti sono presenti sparsi eosinofili, alcune plasmacellule ed istiociti. Citologicamente le cellule neoplastiche possono essere della stessa misura o più grandi dei normali piccoli linfociti. Esse spesso presentano scarso citoplasma con nuclei ipercromatici e di forma irregolare. L'architettura è quella di un infiltrato polimorfo disposto a banda nel derma superficiale composto da istiociti, eosinofili, normali cellule linfoidi, plasmacellule e numero variabile di cellule CTCL. L'epidermide è generalmente infiltrata da cellule singole o da piccoli gruppi di cellule mononucleate circondate da un alone chiaro, detto microascesso di Pautrier.

Clinicamente si evidenziano chiazze eritemato-squamose e placche infiltrate di forma ovale o circolare con margini serpiginosi ben delimitati, generalmente a forma discoide. Le manifestazioni cutanee dapprima presentano fasi alterne di riacutizzazione e remissione clinica, quindi tendono ad acquisire caratteri di fissità aumentando gradualmente di dimensioni, coinvolgendo nuove aree cutanee ed infiltrandole maggiormente. La coalescenza di lesioni adiacenti forma lesioni estese che conferiscono un aspetto a carta geografica. Le lesioni tendono ad essere di colore uniforme, partendo da un eritema sino a un colore violaceo. Occasionalmente le lesioni sono ruvide, simulanti psoriasi, o sono associate con papule, vescicole e croste. Il prurito può essere un sintomo prominente. Molto raramente possono essere presenti bolle e pustole. E' stata anche descritta una forma verrucosa localizzata soprattutto al palmo delle mani, alla pianta dei piedi e alle pieghe cutanee. Poiché queste forme possono essere confuse con disordini cutanei non maligni, è sempre raccomandabile la biopsia della cute in uno stadio precoce.

Nello *stadio III (tumorale)* l'infiltrato linfomatoso si estende all'intero spessore del derma e talora al sottocute con un pattern diffuso e/o grossolanamente nodulare. Gli elementi neoplastici sono di medie e grandi dimensioni, pleomorfi; in questa fase l'epidermotropismo può risultare perso. Nel caso in cui la percentuale di grandi cellule sia quantitativamente superiore al 25% dell'intero infiltrato, diviene concreta la possibilità di una progressione/trasformazione in linfoma secondario a grandi cellule, con prognosi sfavorevole. I noduli possono insorgere ovunque ma prediligono la faccia e le pieghe cutanee (le ascelle, l'inguine, fossa antecubitale, il collo e nelle donne la zona inframammaria).

Nella gran parte dei casi di MF la popolazione linfomatosa ha un immunofenotipo T-periferico "helper" (CD2+, CD3+, BF1+, CD4+, CD5+, CD45RO+) spesso con perdita del CD7; sono stati segnalati anche rari casi di MF con fenotipo "suppressor" CD8+. Nella fase tumorale gli elementi neoplastici, in precedenza negativi, possono esprimere l'antigene CD30 che, nel caso specifico, assume una connotazione prognosticamente sfavorevole.

Le indagini di biologia molecolare evidenziano un riarrangiamento monoclonale per TCR ("T-cell-receptor") nella maggioranza delle MF in stadio in placca e tumorale; risultati variabili si ottengono invece nelle fasi iniziali di malattia ove la percentuale di casi "riarrangiati" può risultare inferiore al 50%. Al momento non sono descritte anomalie citogenetiche.

Una diagnosi di MF non può prescindere da un'accurata combinazione del quadro clinico con gli aspetti istopatologici ed immunomolecolari. Una delle maggiori difficoltà nella esatta identificazione della MF, soprattutto in fase iniziale, risiede proprio nella storia naturale della malattia, caratterizzata da un decorso protratto ed indolente con lesioni che possono essere facilmente scambiate per dermatiti a diversa eziologia (dermatiti superficiali eczematose, lichenoidi o psoriasiformi). Le recenti metodiche diagnostiche (immunoistochimica e biologia molecolare) non si sono purtroppo rivelate in grado, da sole, di fornire risposte conclusive. Modificazioni del profilo antigenico della popolazione T-linfocitaria (ad esempio la perdita del CD7) sono infatti osservabili anche in quadri flogistici. Ricordiamo che le indagini molecolari evidenziano, con sempre maggior frequenza, la presenza di popolazioni T oligoclonali in patologie quali il lichen planus, la pitiriasi lichenoidale, la dermatite spongiosa, etc. In sintesi, una diagnosi di MF in fase iniziale non è sempre agevole e può richiedere molto tempo ed una particolare cautela, che si traducono in un prolungato "follow-up" e nella necessità di multipli controlli biotici sequenziali.

La storia naturale della micosi fungoide può avere una durata variabile da pochi mesi a molte decadi. In un paziente con normale aspettanza di vita, se non trattato od inadeguatamente trattato, la malattia tende a progredire verso stadi più avanzati. Tuttavia la diffusione ai linfonodi e agli organi interni viene osservata raramente (circa il 10-20% dei casi), poiché la maggior parte dei pazienti muore per sepsi secondaria a lesioni dermatologiche infettate, per lo più da *S. Aureus* o da *Ps. Aeruginosa*, o per cause assolutamente non correlate con la malattia. Anche in pazienti con interessamento esclusivamente cutaneo si rileva abbastanza frequentemente in fase avanzata un coinvolgimento degli organi interni soprattutto linfonodi, milza, fegato, polmoni. Infatti all'esame autoptico l'incidenza dell'impegno extracutaneo è del 70% e in ordine decrescente sono

interessati linfonodi (61%), milza (52%), fegato (48%), polmoni (42%), midollo osseo (32%) e tratto gastrointestinale (31%).

I pazienti con MF sono stati divisi in tre gruppi prognostici:

- **prognosi favorevole** con sopravvivenza media maggiore ai 12 anni quando la malattia è allo stadio di placca senza coinvolgimento dei linfonodi, del sangue periferico e viscerale;
- **prognosi intermedia** con sopravvivenza media di 5 anni nella fase di nodulo, eritrodermia o malattia di placca con interessamento linfonodale o coinvolgimento del sangue periferico ma senza coinvolgimento viscerale;
- **cattiva prognosi** con sopravvivenza media di 2.5 anni in caso di coinvolgimento anche viscerale.

Pazienti con stadio clinico IA non hanno una sopravvivenza differente quando sono comparati con una popolazione controllo identica per età, sesso e razza.

### **Forme varianti della Micosi Fungoide**

Entrambe le classificazioni WHO ed EORTC descrivono varianti della Micosi Fungoide:

#### *a) Micosi Fungoide Follicolare con Mucinosi Follicolare*

Clinicamente si presenta in forma di lesioni (papule e/o placche eritematose) che coinvolgono le strutture annessiali follicolari della testa e del collo; in altre sedi cutanee gli stessi pazienti possono comunque mostrare lesioni tipiche della MF classica. Istologicamente l'infiltrato cellulare è tipicamente più follicolotropo che epidermotropo ed è costituito da linfociti T-"helper" CD4+, pleomorfi più spesso di piccole e medie dimensioni. È frequente la deposizione di una variabile quantità di mucina in sede intra e periannessiale.

#### *b) Reticulosi Pagetoide*

Clinicamente si presenta in forma di chiazze e/o placche di discrete dimensioni, di aspetto verrucoso ipercheratosico; le lesioni, a lenta crescita, interessano di solito l'estremità inferiore degli arti. Vengono distinte una forma localizzata (malattia di Woringer-Kolopp) a prognosi estremamente favorevole ed una forma disseminata (malattia di Ketrone-Goodman), quest'ultima con prognosi simile a quella della MF classica. Istologicamente l'infiltrato linfomatoso è costituito da elementi atipici, pleomorfi, di dimensioni variabili, con fenotipo T-periferico (CD4+/CD8- o CD8+/CD4-) caratterizzati da un peculiare e spiccato epidermotropismo; è frequente l'espressione dell'antigene CD30 almeno in una quota della popolazione neoplastica.

### **Sindrome di Sezary (SS)**

La sindrome di Sezary è una malattia rara, che colpisce quasi esclusivamente adulti ed anziani; si presenta generalmente con eritrodermia generalizzata, linfadenopatie ed un quadro leucemico

(almeno 1000 cellule di Sezary per mm<sup>3</sup>, caratteristiche per il loro aspetto mononucleato, cerebriforme e ipercromatico). L'eritrodermia può insorgere de novo, seguire un'eruzione pre-maligna o uno stadio di placca. L'eritrodermia è usualmente generalizzata, ma aree isolate di cute sana possono essere presenti. Il prurito è spesso intenso con escoriazioni e essudazione e si possono verificare alterazioni del trofismo con distrofia ungueale e alopecia.

Le lesioni cutanee sono simili ma più intense rispetto a quelle osservabili nelle forme eritrodemiche della MF classica; i pazienti possono inoltre presentare alopecia, prurito ed ipercheratosi palmo-plantare. Sono spesso documentabili un alterato rapporto CD4/CD8 (almeno >10) ed uno stesso riarrangiamento monoclonale per TCR nei linfociti T della cute e del sangue periferico. Il midollo osseo è spesso infiltrato. A livello cutaneo l'infiltrato neoplastico è simile a quello della MF classica (piccole e medie cellule T-pleomorfe) ma a differenza di quest'ultima, l'epidermotropismo è spesso assente. Utili indicatori diagnostici sono forniti da un incremento della quota percentuale di linfociti T CD4+/CD7- o CD4+/CD26- e da un innalzamento dei valori dell'LDH.

La sindrome di Sezary ha una prognosi generalmente sfavorevole con una sopravvivenza a 5 anni fra il 10 ed il 20%; l'evento terminale è spesso rappresentato da una trasformazione in linfoma ad alto grado.

I pazienti sono stati divisi in gruppi di rischio sulla base di 3 variabili che vengono considerati indicatori prognostici sfavorevoli indipendenti: la presenza di inclusioni citoplasmatiche PAS+ nella cellula di Sezary, il fenotipo CD7- e la presenza di gradi cellule di Sezary circolanti.

I pazienti che non hanno alcun indicatore avverso o ne hanno solo 1 hanno una sopravvivenza a 5 anni del 58%; mentre i pazienti con 2 o 3 indicatori avversi hanno una sopravvivenza a 5 anni del 5%.

Anche la trasformazione di MF/SS in linfoma a grandi cellule è un fattore prognostico sfavorevole (25).

È stato visto che il 23% di 115 pazienti sono andati incontro a trasformazione in linfoma a grandi cellule. È stata calcolata una probabilità di trasformazione del 39% a 12 anni dal momento della diagnosi. Il tempo medio dalla diagnosi alla trasformazione in questi pazienti è stata di 12 mesi e la sopravvivenza media dal momento della trasformazione è stata di circa 19 mesi. In questo studio, uno stadio avanzato (IIB-IV) e l'aumento della β2microglobulina o dell'LDH sono associati ad una più elevata probabilità di evoluzione. Anche pazienti che hanno avuto una evoluzione a 2 anni dalla diagnosi o che hanno una malattia avanzata al momento della trasformazione hanno una cattiva prognosi.

### **Disordini Linfoproliferativi CD30+**

I Disordini Linfoproliferativi CD30+ (DLCP) costituiscono il 25% di tutti i

linfomi cutanei a cellule T ed hanno come comune denominatore istologico la presenza di grandi cellule atipiche CD30+, talora simil Hodgkin e Reed-Stemberg. Clinicamente si caratterizzano per un andamento prognostico favorevole con frequente regressione spontanea delle lesioni cutanee. Lo spettro dei DLCP CD30+ comprende la papulosi linfomatoide (LyP), il linfoma a grandi cellule anaplastiche (ATCL) e le lesioni "borderline", caratterizzate da aspetti clinico-patologici intermedi fra la LyP e l'ALCL.

### **A) Papulosi Linfomatoide (LyP)**

Secondo la definizione originale, coniata nel 1968 da Macaulay, la Papulosi Linfomatoide (LyP) e' un' eruzione cutanea spesso generalizzata, ad andamento ritmico, recidivante, ma autorisolventesi. Le lesioni della LyP si presentano in forma di papule e/o piccoli noduli, isolati od in piccoli gruppi, di colore rossastro che risolvono spontaneamente di solito nel giro di poche settimane lasciando, quale reliquato, una piccola cicatrice o più semplicemente una zona cutanea con alterata pigmentazione.

La LyP colpisce più spesso soggetti adulti ed anziani ma, sporadicamente, anche giovani adulti e bambini. Le sedi più colpite sono il tronco e gli arti (ad esclusione delle regioni palmo-plantari). Nella forma classica la LyP progredisce attraverso quattro differenti stadi clinici, ben descritti da Willemze in uno studio del 1982:

**Stadio I:** lesioni iniziali in forma di papule eritematose, modicamente rilevate;

**Stadio II:** lesioni in fase di sviluppo, con aspetti intermedi tra lo stadio I ed il III;

**Stadio III:** lesioni completamente sviluppate in forma di papule/noduli rosso-brunastri con area centrale ulcero-necrotica, emorragica, ricoperta da crosta;

**Stadio IV:** lesioni in fase di risoluzione che esitano in una piccola cicatrice o in una zona discromica. Nella LyP "classica" l'infiltrato cellulare ha un "pattern" "wedge-shaped", con interessamento dermico e solo raramente ipodermico. L'infiltrato e' polimorfo: predomina un "background" reattivo di piccoli linfociti con nuclei irregolari, accompagnati da plasmacellule, granulociti eosinofili ed istiociti. L'elemento caratterizzante e' però rappresentato da una quota variabile di grandi cellule atipiche, intensamente positive per l'antigene CD30; gli elementi CD30+ sono isolati o disposti in piccoli gruppi ("clusters") di non più di 5-10 cellule. Il quadro descritto corrisponde alla forma "classica" della LyP, definito come di tipo A da Willemze. Questo autore ha descritto altri due tipi di LyP, più rari, rispettivamente la LyP di tipo B e la LyP di tipo C. Nella LyP di tipo B, l'infiltrato cellulare sarebbe costituito quasi esclusivamente da piccoli linfociti a nuclei irregolari, disposti in sede dermica similmente a quello che si verifica nella MF in fase iniziale; altra caratteristica della LyP di tipo

B la pressoché completa assenza di grandi cellule CD30+.

Il termine di LyP tipo C è usato da Willemze per indicare lesioni più spesso singole e nodulari, nelle quali l'infiltrato cellulare è costituito da ampi strati coesivi di cellule CD30+, distribuiti in sede dermica e spesso anche ipodermica. Risulta evidente da queste descrizioni che sia la LyP B che la LyP tipo C si differenziano nettamente dalle caratteristiche identificative (sia cliniche che patologiche) della LyP come originariamente descritta. Nella LyP di tipo B, l'assenza di elementi CD30+ rende poi problematico, se non paradossale, l'inserimento di queste lesioni tra i disordini linfoproliferativi cutanei accomunati invece proprio dall'espressione dell'antigene CD30; è più verosimile che, nonostante alcune possibili analogie cliniche con la LyP queste lesioni rappresentino dei disordini linfoproliferativi cutanei T riconducibili alla micosi fungoide od in alternativa all'ampio spettro dei linfomi T-periferici NAS e degli ancora poco definiti pseudolinfomi T. Per quanto concerne la LyP di tipo C, il fatto che lo stesso Willemze ne sottolinei la somiglianza con il CD30+ ALCL, suggerisce che queste lesioni possano rientrare più realisticamente nell'ambito delle lesioni "borderline", con aspetti di confine fra la LyP ed il CD30+ ALCL cutaneo (25)(26).

Le cellule CD30+ atipiche della LyP mostrano, nella gran parte dei casi, un fenotipo T-periferico helper CD3+ e CD4+. Frequente l'espressione di molecole citotossiche quali il TIA-1, il Granzyme B e la Perforina; l'espressione dell'antigene CD56 è stata osservata solo sporadicamente, ma l'eventuale significato prognostico correlato all'espressione di un fenotipo NK rimane sconosciuto. In una percentuale variabile dal 40 all'80% dei casi di LyP, le indagini di biologia molecolare con metodica PCR consentono di evidenziare un riarrangiamento monoclonale per TCR. A differenza di quanto osservato negli ALCL CD30+ nodali, né la LyP né gli altri tipi di disordini linfoproliferativi cutanei CD30+ si associano a specifiche anomalie citogenetiche; analogamente non si rileva alcuna espressione della proteina ALK. La ricerca del virus di Epstein Barr (EBV) e/o di proteine virus-correlate ha fornito esito negativo.

La LyP deve essere differenziata sia da localizzazioni cutanee secondarie in corso di linfomi CD30+ sistemici, sia dagli altri sottotipi di disordini linfoproliferativi cutanei CD30+. La clinica lesionale e le caratteristiche dell'infiltrato (scarso numero di cellule CD30+) sono di solito dirimenti. Merita un cenno anche la diagnosi differenziale nei confronti di altri infiltrati linfocitari cutanei con cellule CD30+ reattive quali ad esempio l'iperplasia linfocitaria cutanea con cellule CD30+, le reazioni da farmaci (ad es. nei confronti di alcuni anticonvulsivanti) con cellule CD30+, ed infine alcune lesioni di natura virale e come il "nodulo del mungitore" secondario ad infezione da poxvirus.

## **B) Linfoma CD30+ a Grandi Cellule Anaplastiche (ALCL)**

L'ALCL CD30+ cutaneo si presenta generalmente in forma di noduli/tumori singoli o multipli di colore rossastro, di medie o grandi dimensioni, che possono manifestare una regressione temporanea, ma più spesso persistono. E' possibile un coinvolgimento dei linfonodi loco-regionali nel 10% dei casi; l'interessamento viscerale è raro. Gli ALCL cutanei colpiscono soprattutto pazienti adulti ed anziani e meno frequentemente bambini ed adolescenti. Morfologicamente le lesioni mostrano un coinvolgimento dermico con pattern grossolanamente nodulare o diffuso e frequente estensione sottocutanea. In alcuni casi, l'epidermide sovrastante mostra una spiccata iperplasia pseudo-epiteliomatosa. La popolazione linfomatosa e' formata da grandi cellule anaplastiche disposte in grandi "sheets" confluenti e coesivi; possibile l'eliminazione transepidermica di elementi blastici. Da segnalare che, a differenza della classificazione WHO, la Classificazione EORTC inserisce in questa categoria tutti i linfomi T a grandi cellule cutanei CD30+ indipendentemente dalla loro citologia (anaplastica versus non anaplastica) (27)(28)(29).

"Conditio sine qua non" per una diagnosi di ALCL CD30+ è l'espressione dell' antigene CD30 da parte di almeno il 70-80% della popolazione neoplastica; se la percentuale di elementi positivi è inferiore, devono essere considerati altri tipi istologici. Oltre al CD30, le cellule linfomatose esprimono una serie di altri antigeni di attivazione (CD25, HLA-DR, CD7, ed EMA), e mostrano usualmente un fenotipo T Helper (CD3+, CD4+); variabile l'espressione di proteine associate ai granuli citotossici quali il TIA-1, la Perforina ed il Granzyme B. Sono possibili fenotipi aberranti con perdita di alcuni antigeni di linea T; meno del 10% dei casi ha un fenotipo CD8+; rari anche i casi "null" (non B, non T). Contrariamente a quanto indicato da alcuni studi, l'espressione dell'antigene CD56 è rara ed il suo significato prognostico è sconosciuto. I linfomi CD30+ ALCL sono costantemente CD15-. Le indagini di biologia molecolare dimostrano un riarrangiamento monoclonale per TCR nella gran parte degli ALCL CD30+, comprese anche molte forme "null".

I ALCL CD 30+ sono costantemente ALK negativi.

Questi linfomi devono essere differenziati innanzitutto dagli altri disordini linfoproliferativi cutanei CD30+, da eventuali localizzazioni cutanee secondarie in corso di malattia sistemica; in questo caso è utile la ricerca della proteina ALK, positiva in una percentuale variabile delle forme sistemiche, soprattutto dell'età pediatrica e dei giovani adulti, spesso assente invece nelle forme dell'anziano. L'espressione dell'antigene CD30 assume un connotato prognostico sfavorevole quando si accompagna ad una trasformazione/progressione citologica in alto grado di un preesistente linfoma CD30 negativo; è, per esempio, un'evenienza frequente nelle fasi

tumorali della MF. Ricordiamo infine che, in circa il 10% dei casi, i CD30+ cutanei possono andare incontro ad una diffusione extracutanea con interessamento soprattutto dei linfonodi loco-regionali. In base ad alcuni dati recenti, sembrerebbe tuttavia che l'interessamento di questi linfonodi non pregiudichi né l'outcome dei pazienti né una diagnosi di primitività cutanea della malattia.

### **C) Lesioni Borderline**

Il termine "lesioni borderline" identifica una serie di lesioni con caratteristiche clinico-patologiche intermedie fra quelle della LyP classica e quelle dei linfomi a grandi cellule anaplastiche CD30+. Clinicamente le lesioni "borderline" sono più spesso costituite da noduli singoli o multipli (comunque in numero limitato), talora ulcerati; in altri casi le lesioni sono prevalentemente tipo papule, avvicinandosi maggiormente alle tipiche lesioni della LyP. L'infiltrato delle lesioni "borderline" comprende un discreto numero di grandi cellule CD30+ disposte in ampi "clusters". A differenza di quanto osservabile nei ALCL CD30+, questi "clusters" appaiono meno coesivi e le cellule atipiche CD30+ sono frammiste ad un abbondante infiltrato infiammatorio. Utile ai fini di una diagnostica differenziale, l'aspetto bifasico dell'infiltrato cellulare con infiltrato più tipicamente "infiammatorio" a livello della parte superficiale (dermica). La relativa rarità di queste lesioni non consente peraltro di fornire indicazioni conclusive sulle loro caratteristiche biologico-funzionali.

### **Linfoma Anaplastico a Grandi Cellule CD30-**

In questo gruppo sono compresi tutti i CTCL CD30-, ad esclusione della MF e forme varianti. Si tratta, nella gran parte dei casi, di linfomi T pleomorfi a cellule di dimensioni variabili, accomunati dalla negatività per l'antigene CD30. Colpiscono più spesso soggetti anziani o comunque adulti; rari i casi pediatrici. Le lesioni si presentano di solito come noduli/tumori singoli o multipli. Le forme solitarie sono considerate a prognosi favorevole, mentre quelle disseminate si associano ad un più elevato rischio di disseminazione extracutanea. In letteratura le forme localizzate sono di solito indicate a fenotipo CD3+ e CD4+, mentre le forme disseminate hanno spesso fenotipo aberrante, con possibile perdita di vari antigeni T-correlati e, talora, espressione dell'antigene CD56.

### **Linfoma sottocutaneo simil-panniculitico (SPTCL)**

E' un linfoma raro ed aggressivo che infiltra preferenzialmente il tessuto sottocutaneo ed esprime un fenotipo citotossico CD8+ o CD56+. In passato casi simili sono stati diagnosticati come panniculite istiocitica citofagica "maligna". Il SPTCL colpisce entrambi i sessi e tutte le età. Le lesioni



linfomatose sono rappresentate da multiple nodularità sottocutanee o da placche eritematose infiltrate (casi CD8+) o da tumori cutanei ulcerati (casi CD56+) prevalentemente localizzati al tronco, alle estremità e al volto. I sintomi comprendono malessere generale, astenia, mialgia e perdita di peso; manifestazioni di un coinvolgimento sistemico sono febbre, epatosplenomegalia, ulcere mucose e, talora, versamenti sierosi. Alcuni pazienti presentano una sindrome emofagocitica, complicanza questa che spesso precipita il decorso clinico. L'infiltrato linfomatoso coinvolge i lobuli del tessuto adiposo sottocutaneo con un pattern simile a quello della panniculite lobulare (casi CD8+); in alcuni casi (di solito CD56+) è presente un contemporaneo interessamento dermico ed epidermico. Gli elementi linfomatosi sono di solito di piccole e medie dimensioni, con citoplasma chiaro da moderato ad abbondante; i nuclei, da rotondi a pleomorfi/indentati, sono spesso ipercromatici. Caratteristico è il "ringing" delle cellule linfomatose che circondano i singoli adipociti, con un aspetto "ad anello" (30).

Il fenotipo delle cellule linfomatose è variabile: si osservano casi con fenotipo T CD45RO+, CD2+, CD3+; altri mostrano invece fenotipo CD8+, CD4-, CD45RO+, CD56-, BFI +/- od ancora CD56+, CD4-, CD8-/+ , BFI-/+ , TCRdelta1 -/+ . In alcuni casi una quota comunque minoritaria di cellule neoplastiche può esprimere l'antigene CD30. Un riarrangiamento clonale per TCR è dimostrabile nella maggior parte dei casi mentre la ricerca di EBV è di solito negativa.

Il sottocute è la sede di molte patologie, soprattutto infiammatorie. La differenziazione da altre panniculiti, non neoplastiche, prevalentemente lobulari (vasculite nodulare-eritema indurato; panniculite da lupus e panniculiti associate a connettiviti, ecc.) e da altri sottotipi di CTCL si basa soprattutto sulle caratteristiche cliniche peculiari del SPLTCL (lesioni sottocutanee associate a sintomi sistemici) piuttosto che sulle caratteristiche morfologiche ed immunofenotipiche. Tuttavia, la presenza di un infiltrato costituito da cellule linfoidi ipercromatiche, pleomorfe, disposte ad anello attorno a singoli adipociti, deve suggerire la possibilità di un linfoma con coinvolgimento del sottocutaneo; al contrario, la presenza di follicoli B reattivi è invece indicativa di un disordine autoimmune (panniculite da lupus). Una diagnosi definitiva di SPLTCL può richiedere biopsie lesionali multiple, sequenziali, ed una conferma molecolare.

Il comportamento clinico e la prognosi del SPLTCL è variabile ma la sopravvivenza mediana è di solito inferiore ai 3 anni. Nella gran parte dei casi questo linfoma ha un decorso aggressivo accompagnato, ma solo nello stadio finale della malattia, da una possibile disseminazione nodale e/o viscerale. La sindrome emofagocitica e la sepsi sono complicanze frequenti e spesso fatali. Ciononostante, due diversi recenti studi sembrano indicare

che i casi di SPTCL a fenotipo alfa/beta siano caratterizzati da una prognosi più favorevole rispetto alle forme con fenotipo gamma/delta. Ulteriori studi sono comunque indispensabili per confermare l'effettiva esistenza di questi due diversi "subsets" clinici (31).

## **TERAPIE**

Il trattamento dei linfomi primitivi cutanei richiede un intervento multidisciplinare nel quale sono coinvolti il dermatologo, il radioterapista e l'ematologo.

Il dermatologo osserva per primo il paziente, pone la diagnosi, completa lo staging della malattia e pianifica il trattamento topico o sistemico diretto alla cute. Il radioterapista è coinvolto già nella prima fase del trattamento per l'intervento su manifestazioni ancora limitate del linfoma o nel trattamento delle manifestazioni estese per l'intervento su tutta la cute (total skin electron beam). La collaborazione dell'ematologo è, in genere, richiesta per un piccolo numero di pazienti con malattia avanzata già ripetutamente trattati, resistenti o in recidiva dopo terapie tradizionali topiche o sistemiche.

I linfomi primitivi cutanei nella maggioranza delle varianti istologiche presentano infatti un decorso indolente ed una buona prognosi con una lunga sopravvivenza.

I linfomi primitivi cutanei B presentano una buona prognosi con elevata incidenza e lunga durata della remissione completa con le terapie locali (chirurgia, radioterapia) o con  $\alpha$ 2Interferone o la monochemioterapia. Le terapie consigliate all'esordio della malattia sono ben riassunte da Willemze (Lugano 2002).

La maggior parte dei pazienti dovrebbe essere trattata con la radioterapia locale o con la sola escissione chirurgica. Terapie sistemiche più aggressive del Clorambucil e dell'alfa interferone sono richieste da pochissimi pazienti. Nonostante la lunga sopravvivenza, le recidive sono frequenti (circa il 50%) e spesso ineradicabili. In considerazione tuttavia della lunga sopravvivenza la terapia dovrebbe mirare ad una buona palliazione con rischio minimo e con scarsa influenza sulla qualità di vita. A volte però le recidive ripetute, le localizzazioni cutanee molto estese (di problematico trattamento locale) e, seppure rara e tardiva, la diffusione linfonodale e midollare della malattia, possono richiedere trattamenti più aggressivi come gli anticorpi monoclonali anti-CD20, la polichemioterapia e la chemioterapia sovramassimale.

Non esistono studi controllati che attraverso l'inquadramento diagnostico o la stratificazione prognostica sulla base di criteri clinico-biologici dimostrino l'utilità di un approccio sistemico, con l'intervento dell'ematologo, nel trattamento dei linfomi cutanei già all'esordio della malattia.

In un piccolo gruppo di pazienti, il linfoma cutaneo è aggressivo già all'esordio ed una malattia avanzata si osserva più frequentemente in pazienti che sono resistenti o hanno presentato una recidiva dopo ripetuti trattamenti con terapie tradizionali topiche o sistemiche.

In questi pazienti nessuna terapia è in grado di indurre una remissione stabile della malattia e la scelta del trattamento risulta difficile per l'eterogeneità clinica e biologica della patologia e per la tossicità cumulativa indotta dalle precedenti terapie associata spesso all'età avanzata dei pazienti.

In alcune varianti del linfoma, tuttavia, una più precisa definizione biologica e l'utilizzo di dati retrospettivi derivati da ampie casistiche possono permettere di pianificare un trattamento che possa avere come obiettivo anche l'eradicazione della malattia linfomatosa.

I linfomi cutanei primitivi a cellule T (CTCL, Cutaneous T Cell Lymphoma), dei quali il sottotipo più frequente è rappresentato dalla Micosi Fungoide (MF), rispondono per lungo tempo ai trattamenti topici o sistemiche di associazione con steroidi, UV e retinoidi o all' $\alpha 2$  Interferone.

Altre varianti, come i CTCL a grandi cellule (Anaplastic Large Cell, ALC) CD30+ presentano remissioni complete dopo il solo trattamento chirurgico e l'aggiunta della radioterapia.

Gli stadi avanzati della MF, la Sindrome di Sezary (SS), gli ALC CD30-, e altre varianti rare come la Subcutaneous Panniculitis-like sono refrattari o rispondono solo per un breve periodo anche a trattamenti sistemiche più aggressivi come la monochemioterapia, la polichemioterapia gli anticorpi monoclonali anti-CD52 o la chemioterapia sovramassimale con reinfusione

di Cellule Staminali Emopoietiche (CSE) autologhe o il trapianto di CSE allogeniche.

Le associazioni polichemioterapiche più utilizzate nel trattamento dei linfomi cutanei in fase avanzata contengono un antraciclinico associato alla ciclofosfamida, alla vincristina e al prednisone (CHOP) o ad altri farmaci (47),(48)(49).

Dopo una risposta di breve durata (in media 7 mesi) soprattutto i CTCL in fase avanzata, recidivano e si presentano resistenti ad ulteriori trattamenti.

Le strategie di trattamento possono essere divise in 2 categorie: terapia locale cutanea e terapia sistemica. La terapia locale include PUVA, chemioterapia topica e radioterapia. La terapia sistemica include chemioterapia e altri agenti citotossici, fotoforesi, retinoidi, IFN e altri modificatori della risposta biologica. Nessuno studio ha dimostrato una superiorità di un trattamento topico e la scelta terapeutica dipende in genere dalle condizioni del paziente e dalla sua capacità di tollerare un trattamento piuttosto che un altro.

Il successo del trattamento è la remissione dei sintomi e il miglioramento delle lesioni cutanee.

Sebbene i pazienti trattati più aggressivamente possono presentare una remissione completa, questo gruppo presenta anche una maggiore tossicità. Tra i due gruppi non ci sono differenze significative tra la durata della sopravvivenza libera da malattia e la sopravvivenza mediana.

La terapia con **UVB** (raggi ultravioletti B) è efficace in pazienti con malattia di chiazza stadio I. L'83% dei pazienti con stadio I chiazza ha ottenuto una remissione completa a una media di 5 mesi dopo l'inizio della terapia a una frequenza di 3 volte a settimana. La durata media della remissione è di 22 mesi (32).

La **PUVA** (psoralens plus ultraviolet light) terapia è un particolare tipo di trattamento che prevede l'uso di UVA in associazione a composti fotoattivati (derivati furocumarinici) in grado di inibire la sintesi sia di DNA che di RNA mediante formazione di mono o bi-funzionali addotti alla timidina, mutazioni genetiche o alterazioni cromatidiche. Il trattamento consiste nell'assunzione per os di un farmaco fotosensibilizzante, 8-methoxypsoralen (8-MOP), seguita dopo 2 ore dall'esposizione a raggi ultravioletti UVA di elevata intensità ed ampia lunghezza d'onda. Le apparecchiature utilizzate emettono uno spettro continuo di raggi ultravioletti di lunghezza d'onda compresa tra i 320 e 400 nm, con picco di emissione tra i 350 e i 380 nm. Il tempo di esposizione iniziale si basa sul grado di pigmentazione cutanea prima della terapia e viene aumentata di seduta in seduta in base alla risposta del paziente ed alla comparsa di eritema. La dose iniziale è di 0.6 mg/Kg ingerita 2 ore prima dell'esposizione a UVA. La dose iniziale di UVA è di circa 1,5-3 J/cm<sup>2</sup> e

può essere aumentata approssimativamente di 0,5 J/cm<sup>2</sup>. Normalmente la frequenza delle sedute è 2-3 volte alla settimana fino alla completa scomparsa delle lesioni cutanee poi il trattamento può essere sospeso, anche se una terapia di mantenimento (1 volta a settimana o una volta ogni 3-4 settimane) è utile per prolungare la durata della remissione. Il tempo necessario per la scomparsa delle lesioni varia dai 2 ai 6 mesi. Una remissione completa si può ottenere nel 70-100% dei pazienti in stadi iniziali. Si è visto che i pazienti con lesioni eritematose o a placca rispondono maggiormente rispetto ai pazienti con malattia avanzata.

Gli effetti della terapia sono ben tollerati. Gli effetti collaterali includono nausea, dovuta allo psoralene, eritema e prurito. Un'esposizione a lungo termine agli UVA può inoltre aumentare l'incidenza di carcinomi cutanei e determinare la formazione di cataratta. Nonostante ciò la PUVA-terapia è in genere ben tollerata, efficace e può essere eseguita anche in sinergia con altri tipi di trattamento. Recentemente sono stati riportati casi di mielodisplasia legati alla terapia e un caso di leucemia acuta.

Recentemente la PUVA-terapia è stata associata all'interferone, con percentuali elevate di remissione completa (oltre 60%) anche in pazienti pretrattati con altre modalità terapeutiche. Il tasso di remissioni complete e la loro durata con questo trattamento combinato sono risultati maggiori di quelle riportate con singoli trattamenti.

La PUVA-terapia è ristretta a pazienti con malattia stadio I e II.

La **fotoferesi** prevede l'utilizzo degli psoraleni associati agli UVA (33). I pazienti assumono lo psoralene 2 ore prima del trattamento e vengono successivamente sottoposti ad una leucoaferesi con isolamento della frazione cellulare mononucleata. Le cellule vengono esposte agli UVA all'interno di un particolare dispositivo e poi reinfuse nel circolo ematico del paziente. Gli UVA sono direttamente tossici per queste cellule che sono irradiate e in più le cellule irradiate e reinfuse stimolano una risposta selettiva contro le cellule maligne. Inizialmente la fotoforesi è eseguita per 2 giorni consecutivi una volta al mese. Seguono poi sei mesi di terapia mensile.

C'è una risposta del 73% in pazienti con CTCL refrattario alle terapie precedenti, la maggior parte dei quali hanno SS. Pazienti con SS, con conta linfocitaria di normali CD8+, rispondono bene alla terapia. La sopravvivenza media in questa coorte di pazienti è di circa 60 mesi. In questo studio non è stata valutata la clonalità genomica.

Un altro studio ha confrontato un gruppo di pazienti trattati con fotoforesi con un gruppo non trattato e ha preso in considerazione la clonalità delle cellule T. La sopravvivenza media dei pazienti trattati con fotoforesi è solo di 39 mesi e non è significativamente migliore rispetto al gruppo non trattato con fotoforesi. Si sta studiando una forma liquida di 8-MOP che è introdotto direttamente nella macchina da fotoforesi senza che il paziente

debba ingerire lo psoralene. Gli effetti collaterali sono blandi ed includono nausea, flash e febbre (34)

La **chemioterapia topica** può essere usata sia con mecloretamina (NH<sub>2</sub>, nitrogen mustard NM) o carmustina (BCNU) (35).

La terapia topica con NM è applicata quotidianamente per l'intera superficie corporea con una soluzione di 10mg in 50ml di soluzione acquosa. E' stata dimostrata una risposta completa del 51% e una risposta totale dell'81% in 43 pazienti con malattia allo stadio T1. Nella stesso studio c'è una risposta completa del 26% e totale del 70% tra 58 pazienti con malattia T2. Dopo 1 anno di trattamento con NM topica è stata evidenziata una risposta completa del 67% tra 41 pazienti con malattia T1 e del 40% tra 76 pazienti con T2. Il tempo medio di remissione per questo studio è di 4.4 mesi per T1 e 20.4 mesi per T2. Perciò NM topica è un trattamento efficace e conveniente.

I maggiori effetti collaterali di NM topica sono dermatite irritante o da contatto allergica, carcinomi squamosi e basaliomi secondari. Reazioni da ipersensibilità ritardata occorrono in più del 58% di pazienti. In questo caso bisogna interrompere la somministrazione e procedere con la desensibilizzazione.

In un follow up a lungo termine 11% di 331 pazienti trattati con NM topica ha una completa remissione per più di 8 anni. L'incidenza di carcinoma squamocellulare della cute è di 8.6 volte maggiore rispetto alla popolazione generale e l'incidenza di basalioma è di 1.8 volte. Analisi di questo studio è complicata dal fatto che molti pazienti sono stati anche trattati con altre modalità tipo radiazioni locali, TSEBT, ultraviolett phototerapy e chemioterapia sistemica.

BCNU topica è stata dimostrata avere una efficacia simile a NM. BCNU 10 mg in etanolo e poi miscelata con 60 ml di acqua. La soluzione finale è applicata una volta al giorno su tutta la superficie corporea eccetto aree non coinvolte della faccia, mani, genitali e pieghe cutanee. Studi hanno riportato una risposta superiore al 92% a 3 anni tra 89 pazienti con malattia T1 e oltre 64% a 3 anni tra 83 pazienti con T2. La sopravvivenza a 5 anni in questi 2 gruppi è del 97% e 79%, rispettivamente. Il tempo medio per ottenere una risposta completa è di 9 settimane per pazienti con stadio T1 e 12 settimane per quelli T2. Le reazioni da ipersensibilità a BCNU sono rare. Il più comune effetto collaterale all'uso topico di BCNU è l'eritema, che può essere seguito da teleangectasie. Tumori secondari della cute non sono di solito osservati. La mielosoppressione è rara alla dose standard di 10 mg ed è stata osservata in meno del 10% dei pazienti trattati con una dose doppia rispetto a quella standard.

I linfomi cutanei, come la maggior parte dei linfomi maligni, sono molto radiosensibili. La **radioterapia** esterna viene utilizzata con successo nei

linfomi cutanei in fase iniziale e a puro scopo palliativo nelle forme cutanee più avanzate ed in quelle con localizzazione viscerale. Le lesioni tumorali più infiltrate richiedono di solito un boost radioterapico, ciò evita il danno a carico di strutture più profonde, compreso il tessuto emopoietico. E' segnalata una remissione completa in circa il 65% dei casi. Le complicanze acute includono eritema cutaneo e alopecia temporanea. Le complicanze croniche sono rappresentate da xerosi della cute e sviluppo di teleangectasie.

La **chemioterapia sistemica** è usata usualmente per terapie palliative in pazienti con malattia refrattaria dopo terapia topica cutanea o in pazienti con malattia avanzata alla presentazione. La chemioterapia sistemica è stata utilizzata nel trattamento della Micosi Fungoide sia come monochemioterapia che come polichemioterapia. La monochemioterapia con alcuni agenti è stata usata includendo metotrexate, glucocorticoidi, NM, ciclofosfamide, cisplatino, etoposide, bleomicina, doxorubicina, vincristina e vinblastina (36). La monochemioterapia può ottenere una risposta completa in oltre il 30%, ma le remissioni sono di breve durata. Il prednisone induce una remissione parziale in approssimativamente il 50% dei pazienti e il desametasone è efficace nell'ottenere il miglioramento dei sintomi in pazienti con grave SS.

Uno studio ha riportato una risposta in oltre il 76% e una sopravvivenza a 5 anni del 71% in un gruppo di 17 pazienti trattati settimanalmente con una bassa dose di metotrexate.

La polichemioterapia è stata usata in pazienti con malattia avanzata. Vari regimi sono stati utilizzati, tra cui: CVP, CHOP, MOPP. Sebbene sia stata dimostrata una risposta che varia dall'80 al 100%, non ci sono significativi benefici per la sopravvivenza.

Così come per i linfomi cutanei a cellule B, anche nel campo dei linfomi cutanei a cellule T negli ultimi anni è utilizzata l'immunoterapia.

Alemtuzumab, un anticorpo monoclonale IgG2b di ratto, CAMPATH-1G, è in grado di rimuovere i linfociti da sangue periferico, midollo osseo e milza di pazienti con tumori linfoidi, grazie alla sua capacità di indurre citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente (ADCC). In vitro Alemtuzumab agisce attivando la citolisi mediata dal complemento e ADCC ( citotossicità cellulo mediata anticorpo dipendente) e inducendo l'apoptosi anticorpo-mediata. Non è chiaro quale di questi meccanismi sia più importante per l'attività terapeutica di questo anticorpo in vivo.

Nel nostro studio abbiamo valutato la sicurezza e l'efficacia della Doxorubicina Liposomiale Pegilato (Caelyx®) nel trattamento dei linfomi cutanei in fase avanzata in associazione con tre farmaci di provata efficacia nelle malattie linfoproliferative sistemiche ed in altre malattie neoplastiche primitivamente cutanee: **Bleomicina**, **Vinblastina** e **Dacarbazina (CBVD)**. L'efficacia e la scarsa tossicità della Doxorubicina Liposomiale Pegilato (Caelyx®) come agente singolo sono state dimostrate di recente nella terapia di seconda linea dei linfomi cutanei a T-cellule da Wollina U. et al (45) e da Di Lorenzo G. et al. (56).

## **PAZIENTI, MATERIALI E METODI**

### **- Piano del trattamento e scopi dello studio**

Il nostro studio ha preso in considerazione pazienti affetti da linfoma primitivo cutaneo a cellule B e a cellule T in stadio avanzato di malattia trattati consecutivamente dal febbraio 2003 a maggio 2008.

L'approccio terapeutico al paziente affetto da linfoma cutaneo deve tener conto della storia naturale delle specifiche malattie che rientrano in tale gruppo nosologico e risente della necessità di controllare la malattia, evitando di sovratrattare inutilmente la patologia, al fine di garantire un'adeguata qualità di vita al paziente. La scelta terapeutica effettuata alla diagnosi è, quindi, condizionata da tre fattori fondamentali:

- fattori prognostici
- aspettativa di vita
- consapevolezza dell'ineradicabilità della malattia

Nell'ampia varietà di forme istologiche, numerosi studi (37) hanno dimostrato che i due più importanti fattori prognostici dei linfomi cutanei



sono rappresentati dal tipo istologico della malattia e dallo stadio TNM; a questi fattori si aggiungono l'eventuale presenza di linfonodi clinicamente palpabili, ma istologicamente negativi (reattivi), la presenza della mucinosi follicolare, l'incremento della LDH e della beta-2 microglobulina. Particolare importanza riveste oggi anche la quantificazione della cellule circolanti di Sezary nel caso della Micosi Fungoide. Molti studi hanno dimostrato che una quota inferiore al 5% di cellule T clonali circolanti non appare come fattore prognostico negativo indipendente in un'analisi multivariata, mentre la presenza di percentuali comprese tra il 15 e il 20% o superiori acquisisce tale dignità nell'analisi statistica.

In considerazione dell'impossibilità clinico-biologica di eradicare la malattia, dimostrata da numerosi trials clinici precedenti (Eric C. et al.) (38), è ormai acquisito che l'utilizzo di trattamenti sistemici aggressivi al fine di raggiungere una remissione completa nelle forme a prognosi favorevole non incide significativamente nè *sull'overall survival*, nè sull'*event free survival* né sulla *disease free survival* mentre, come è ovvio, incide negativamente sulla qualità di vita dei pazienti; per tale motivo l'atteggiamento terapeutico più comune nelle forme a prognosi favorevole riguarda terapie topiche (PUVA, mecloretamina, carmustina) o somministrazione sistemica di farmaci citotossici a basso dosaggio (methotrexate, IFN) o radioterapia locale.

Di contro a quanto si verifica nelle forme a prognosi favorevole, è stato dimostrato (Eric C. Vonderheid et al.) (38) che nei pazienti affetti da forme istologiche a prognosi peggiore o con stadi avanzati e/o anomalie citogenetiche nelle forme a prognosi buona, il raggiungimento della remissione completa, seppur difficile e caratterizzato da elevata tossicità, rappresenta un significativo fattore prognostico indipendente nell'analisi multivariata statistica, che non risulta, inoltre influenzato dall'età e/o dallo stadio della patologia.

Lo scopo del nostro studio è stato quello di individuare un protocollo polichemioterapico ciclico, che ci permettesse di raggiungere tre finalità:

**valutazione dell'efficacia in termini di DFS, OS, PFS** mediante l'utilizzo di farmaci con elevata biodisponibilità cutanea e ridotto volume di distribuzione plasmatico, con aumentato assorbimento degli stessi nel tessuto neoplastico;

**ottenimento di un basso profilo di tossicità** (studio di feasibility);

**raggiungimento della remissione completa**, con mantenimento di un adeguato performance status, al fine di avviare il paziente al trapianto allogenico di CSE.

Abbiamo utilizzato un' associazione polichemioterapica di quattro farmaci che, singolarmente o in associazione, sulla base di precedenti esperienze, si erano dimostrati efficaci per l'elevata biodisponibilità a livello delle lesioni neoplastiche cutanee oltre che profonde: Doxorubicina liposomiale pegilato (**Caelyx®**), Bleomicina, Vinblastina e Dacarbazina (**CBVD**) ciascuno dei quali singolarmente o in associazione è già stato diffusamente utilizzato con efficacia sulle neoplasie cutanee di vario tipo (39), (50).

Lo **schema di trattamento** è stato mutuato dalla chemioterapia di prima linea del linfoma di Hodgkin (Doxorubicina, Bleomicina, Vinblastina e Dacarbazina, ABVD), ben conosciuto per l'efficacia su questa patologia linfoproliferativa e la buona tollerabilità (51).

La Doxorubicina è stata sostituita nello schema CBVD con la Doxorubicina liposomiale pegilato data la minore tossicità del farmaco a livello cardiaco rispetto ai farmaci della stessa famiglia e per la sua maggiore biodisponibilità a livello cutaneo (52) (53).

Precedenti studi dimostrano l'efficacia dei farmaci costituenti il protocollo nelle neoplasie a primitiva localizzazione cutanea, come, per esempio, la Vinblastina nel Sarcoma di Kaposi (39) e la Dacarbazina nel trattamento del Melanoma in stadio avanzato.

La novità del nostro programma terapeutico è costituita dall'introduzione di un farmaco chemioterapico, la Doxorubicina Liposomiale Pegilato, (**Caelyx®**), appartenente alla classe delle antracicline, che, pur utilizzato a basso dosaggio, garantisce un'elevata biodisponibilità nel tessuto neoplastico e un basso costo in termini di tossicità. E' noto come i farmaci antraciclinici tradizionali possiedano un'elevata tossicità cardiologica, mucosistica ed ematologica: la Doxorubicina convenzionale induce mortalità per eventi cardiologici nel 15% dei casi, qualora la dose cumulativa superi i 600 mg/mq (Fischer D.S. et al.).

La tossicità mucosistica ed ematologica di grado III sono frequenti (30% dei casi) con dosi cumulative superiori a 400 mg/mq o con dosi singole >100 mg di Doxorubicina convenzionale.

L'utilizzo del farmaco antraciclinico si è reso, tuttavia, necessario all'interno di un protocollo ciclico (a cadenza quindicinale) per le caratteristiche di farmacotossicità antiblastica, che potenziano e sinergizzano l'azione dei farmaci precedentemente indicati.

La Doxorubicina Liposomiale Pegilato (**Caelyx®**) è una formulazione liposomiale della tradizionale Doxorubicina, costituito dall'inserimento di polimeri di poli-etilenglicole su uno scheletro lipidico liposomiale, capace di indurre la riduzione del sequestro da parte del sistema reticolo-endoteliale (40) e, quindi, un'aumentata biodisponibilità, che si traduce in un profilo farmacocinetico caratterizzato da un aumento del tempo di

circolazione, con un ridotto volume di distribuzione (circa 60 volte rispetto alla Doxorubicina convenzionale) e un aumentato assorbimento da parte del tessuto neoplastico. L'emivita del farmaco corrisponde a circa 20-30 ore (41).

L'area compresa sotto la curva concentrazione – tempo (AUC) è aumentata almeno di 60 volte, confrontata con la Doxorubicina convenzionale(42).

Studi clinici con la doxorubicina liposomiale pegilato nell'uomo hanno inizialmente incluso pazienti con Sarcoma di Kaposi AIDS-correlato (ARKS) (43) e con una varietà di tumori solidi, quali i carcinomi ovarico (44), mammario e prostatico. Inoltre, un recente studio di Wollina et al., pubblicato su Cancer(45), riportava i dati di un'esperienza unicentrica su 34 pazienti affetti da CTCL, trattati con PLD. Anche Tsatalas et al. (46) suggeriscono l'uso della PLD in monochemioterapia come seconda o terza linea in pazienti con MF stadio T3.

#### **- Schema del trattamento**

Ai giorni 1° e 15° sono somministrati con infusione e.v. la Doxorubicina liposomiale pegilato, al dosaggio di 18 mg /mq (mediamente 30 mg dose totale), la Bleomicina al dosaggio di 10 mg/mq, la Vinblastina al dosaggio di 6 mg/mq e la Dacarbazina al dosaggio di 375 mg/mq.

Una premedicazione con Desametasone 4 mg e con Ondasentron 8 mg precede l'infusione dei farmaci chemioterapici a scopo antiemetico.

Prima dell'inizio del trattamento ogni paziente, in base alle attuali linee guida per la diagnosi e stadiazione delle patologie linfoproliferative cutanee è stato sottoposto ad un esame obiettivo, alla biopsia osteomidollare, e alla TC total body per la valutazione dell'estensione della malattia ed alla valutazione di alcuni parametri biologici: l'esame emocromocitometrico, la valutazione delle sottopopolazioni linfocitarie, gli indici di funzionalità renale ed epatica, lo studio degli indici biumorali di fase acuta (VES, fibrinogeno,  $\alpha_2$  globuline, proteina C reattiva), della  $\beta_2$  microglobulina,

dell'autoimmunità e dell'assetto anigenico-anticorpale per il CMV, l'HIV, l'EBV e i virus dell'epatite e dell'Helicobacter Pylori. È stata inoltre eseguita una valutazione della funzione cardiaca con ECG ed ecocardiogramma.

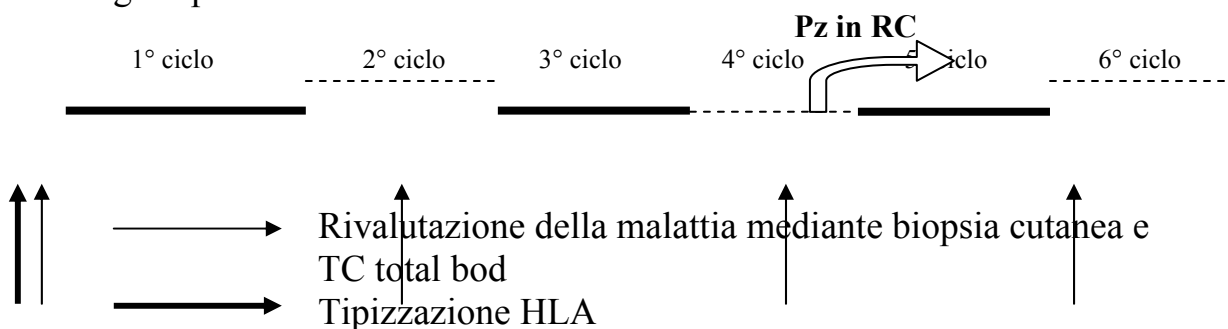
I pazienti sono stati sottoposti al trattamento dopo aver sottoscritto il consenso informato.

Nei pazienti con localizzazioni profonde la valutazione dell'estensione della malattia, con TC total body, è stata ripetuta ogni due cicli fino al termine del trattamento.

Prima di ogni ciclo sono state valutate la crasi ematica, la funzione renale ed epatica e la funzione cardiaca.

Tutti i pazienti con età inferiore o uguale a 60 anni sono stati sottoposti prima dell'inizio del trattamento alla tipizzazione HLA ed è stata avviata la ricerca di un donatore familiare compatibile di Cellule Staminali emopoietiche se non erano presenti fratelli HLA identici.

Al termine, ogni 6 mesi nei pazienti rispondenti, e, al momento dell'eventuale recidiva, sono stati ripetuti gli esami di staging della malattia eseguiti prima del trattame



Come evidenziato, il protocollo prevede cadenza quindicinale della somministrazione dei suddetti farmaci, per un totale di almeno 4 cicli completi, con eventuale prosecuzione di ulteriori 2 cicli, in base alla risposta ottenuta dal paziente dopo il quarto ciclo.

### **Criteri di inclusione dei pazienti**

- Età compreso tra i 18 e i 70 anni,
- Pazienti affetti da MF in stadio T3 – T4, ACTL CD30+, ACTL CD30-, Linfoma Panniculite-like, Linfomi a cellule B
- Pazienti non trattati o precedentemente trattati, con ultimo trattamento effettuato almeno 2 mesi prima
- Pazienti in grado di fornire un consenso informato
- Assenza di altre patologie neoplastiche concomitanti
- Non patologie del SNC o psichiatriche concomitanti

- Non infezioni attive
- Adeguata funzionalità renale ed epatica (creatinina e bilirubina <3 volte il limite superiore normale)
- Assenza di patologie cardiovascolari e polmonari
- Assenza di gravidanza in atto
- Sierologia negativa per HIV

#### - Caratteristiche dei pazienti

Le caratteristiche dei pazienti, l'istologia e l'estensione della malattia linfomatosa, sono indicati nella tabella 1° e tabella 1b.

Sono stati trattati 35 pazienti affetti da linfoma primitivo cutaneo dal maggio 2003 al maggio 2008 con età compresa tra 27 e 86 anni (età mediana 56 anni) con PS da 0 a 3 secondo WHO, in stadio avanzato, sia all'esordio, sia resistenti o in recidiva dopo trattamenti precedenti topici e/o sistemici.

**19 pazienti** affetti da **linfoma cutaneo a cellule T** dei quali:

6 pz affetti da micosi fungoide (2 pz con variante eritrodermica)

1 pz affetto da linfoma T simil-panniculite

10 pz affetti da ALCL CD30+ con coinvolgimento dimostrato istologicamente anche dei linfonodi (4 casi evoluti da precedenti MF o SS)

2 pz affetti da ALCL CD30-

**16 pazienti** affetti **linfoma cutaneo a cellule B** dei quali:

2 pz affetti da DLBC

5 pz affetti da DLBC leg type

2 pz affetto da EMZ

7 pz affetti da LNH follicolare

Come illustrato nella tabella 2, dei 35 pazienti affetti da linfoma cutaneo, trattati con CBVD, 8 pazienti non avevano ricevuto in precedenza alcun trattamento, 27 pazienti erano in progressione, resistenti o in recidiva dopo una terapia chirurgica, radiante o PUVA, fotoferesi e IFN variamente combinati o cicli di chemioterapia ev o immunoterapia.

I pazienti resistenti o in recidiva già trattati con chemioterapia con uno o più farmaci associati erano 8 e uno di questi, un paziente con linfoma B a cellule marginali, era stato già sottoposto a trattamento con Doxorubicina liposomiale pegilato in monochemioterapia.

Una chemioterapia sovramassimale con la reinfusione di CSE autologhe era stata in precedenza somministrata a 2 pazienti.

#### - Risposta

I pazienti sono stati valutati al momento dell'arruolamento con i seguenti esami:

- biopsia osteomidollare e esame citomorfologico ed immunofenotipo del sangue midollare;
- valutazione immunofenotipica su sangue venoso periferico per ricerca di cellule di Sezary, MF e sottotipizzazione linfocitaria nel caso di una linfocitosi periferica;
- TC total body per ricerca di eventuali linfadenopatie superficiali e profonde ed esclusione di neoplasie di altra origine.
- Biopsia cutanea con studio immunofenotipico e citochimica del campione prelevato

Una prima rivalutazione di malattia viene effettuata al termine del secondo ciclo, al fine di escludere la progressione di malattia durante la terapia (con l'esclusione, in tal caso, del paziente dal protocollo CBVD).

La rivalutazione al termine del quarto ciclo permette, invece, di definire un quadro di remissione parziale o completa e in tale occasione viene decisa la prosecuzione del protocollo terapeutico (in caso di RP) o l'eventuale follow-up del paziente (dopo l'ottenimento della RC).

*Remissione Parziale (RP):* viene considerato in RP il paziente che ha ottenuto una riduzione dell'estensione della patologia cutanea >50% e una riduzione delle dimensioni delle linfadenopatie >50% (nei pazienti che presentano localizzazione linfonodale di malattia all'esordio).

*Remissione Completa (RC):* viene considerato in RC il paziente che presenta completa risoluzione – istologicamente documentata – del quadro cutaneo e la totale risoluzione delle linfadenopatie (nei pazienti che presentano localizzazione linfonodale di malattia all'esordio).

*Malattia in Progressione (PM):* quando e' chiaramente evidente l'aumento delle lesioni cutanee e/o linfonodali con aggravamento del prurito e di altri sintomi sistemici.

## **RISULTATI**

Nella tabella 2 sono indicate le risposte al trattamento con CBVD:

I pazienti valutabili ai fini della risposta sono 29:

pazienti in Progressione di Malattia → 4 % ( 1/29 pz):

1 paziente con MF variante eritrodermica.

28/29 pazienti valutabili, pari all'96%, hanno risposto al trattamento con CBVD.

pazienti in RP → 7 % ( 2/29 pz)

pazienti in RC → 89% (26/29 pz)

La Risposta al trattamento è stata osservata entro il IV ciclo in tutti i pazienti che hanno ottenuto una risposta clinica.

Nella tabella 3 è indicata la durata delle risposte.

Quest'ultimo parametro è stata valutato sui pazienti che hanno completato i sei cicli di trattamento oppure che hanno presentato una progressione prima della fine della terapia programmata o che hanno dovuto sospendere il trattamento in RC a causa di tossicità o di complicanze infettive.

Dei 35 pazienti entrati nello studio 6 pazienti non sono valutabili ai fini della risposta al trattamento e precisamente:

- 3 pz nel gruppo dei linfomi cutanei a cellule B perché tuttora in corso di trattamento; tali pazienti hanno comunque ottenuto un quadro di RC dopo il secondo ciclo di chemioterapia.
- 3 pz nel gruppo dei linfomi cutanei a cellule T:
  - 2 pz sono tuttora in trattamento;
  - 1 pz con SS ha sospeso il trattamento al 4° ciclo per complicanze infettive e poi è morto in seguito a suicidio.

I pazienti valutabili ai fini della durata della risposta sono 27:

9/27 (33%) pazienti hanno presentato una Progressione di Malattia

18/27 (66%) pazienti hanno ottenuto Remissione Completa.

Dei 9 pazienti che hanno presentato una progressione di malattia, una sola paziente è deceduta per la patologia di base.

Dei 18 pazienti in RC due sono deceduti per cause diverse dal linfoma e precisamente:

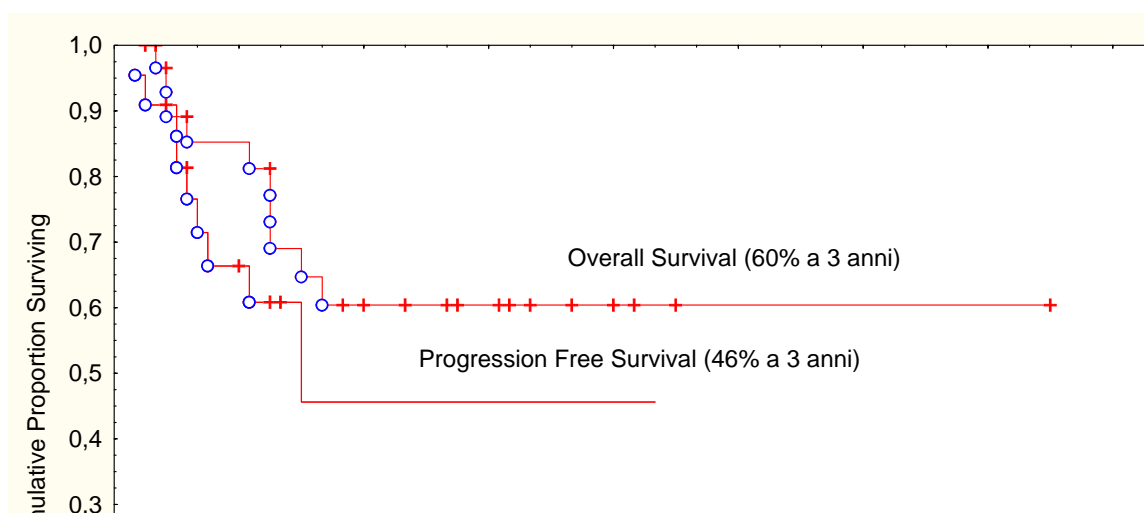
un paziente è deceduto per le complicanze di un'arteriopatia cerebrale su base aterosclerotica dopo 11 mesi dall'ottenimento della RC;

una pz, affetta da DBLC, è deceduta per cause infettive dopo 6 mesi dall'ottenimento della RC e dopo essere stato sottoposta a trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche da familiare HLA identico.

La Risposta al trattamento è stata osservata entro il IV ciclo in tutti i pazienti che hanno ottenuto una risposta clinica.

La durata della risposta (tab.3) nei 18 pazienti in RC al termine del trattamento varia da 1 a 58 mesi con 15/19 pazienti pari al 79%, che mantengono la risposta dopo follow up mediano di 30 mesi

Nel grafico riportato in seguito sono state calcolate le curve di OS e PFS:



## **TOSSICITA'**

Il trattamento è stato ben tollerato per quanto riguarda la nausea e nessun paziente ha presentato tossicità cardiologica.

Nessun paziente ha presentato alopecia.

Nessun paziente ha presentato mucosite

4 pazienti hanno presentato sindrome da Eritrodisestesia Palmo-Plantare (PPE) regredita dopo tp vitaminica endovenosa.

5 pazienti hanno presentato una neutropenia II-III grado sec WHO dopo il 3° ciclo controllata dalla somministrazione di GCSF.

1 paziente ha presentato neutropenia di IV grado complicata da polmonite batterica con insufficienza respiratoria grave regredita dopo adeguata terapia antibiotica senza necessità di ventilazione assistita.

Dei 35 pazienti trattati, 8 sono stati sottoposti a ricerca di un donatore HLA compatibile. 5/14 pazienti possedevano un donatore HLA compatibile familiare.

Per il paziente affetto da MF eritrodermica di 52 anni in RC dopo CBVD è stata avviata la ricerca di un donatore HLA compatibile non imparentato non avendo un donatore familiare compatibile. Ha effettuato autotrapianto di cellule staminali ed è tuttora in RC.



3 pazienti sono stati sottoposti a trapianto allogenico da cellule staminali emopoietiche da donatore HLA compatibile familiare.

Il paziente di 28 anni con SS evoluto in ALC CD30+ dopo 4 mesi dalla fine del trattamento con CBVD (10 mesi di RC) è stato sottoposto a trapianto allogenico di CSE dopo condizionamento con Busulfano + Ciclofosfamide ed è tuttora in RC dopo 50 mesi dal trapianto.

La paziente di 53 anni affetta da CTCL panniculitis-like dopo 4 mesi dalla fine del trattamento con CBVD (10 mesi di RC) è stata sottoposta a trapianto allogenico dopo condizionamento con Thiotepa, Fludarabina e Ciclofosfamide ed è in RC dopo 42 mesi il trapianto.

La pz di 48 anni con DBCL trattata in precedenza con vari schemi di polichemioterapia, in RC dopo solo due cicli di CBVD, dopo un condizionamento con Thiotepa, Fludarabina e Ciclofosfamide e la reinfusione di CSE allogeniche ha mantenuto la RC ma è morta dopo 6 mesi per complicanze infettive di tipo virale.

Tutti i pazienti hanno ben tollerato la procedura trapiantologica.

## **DISCUSSIONE**

Il nostro studio riguarda i risultati preliminari di un trattamento polichemioterapico nel quale sono stati associati farmaci che, singolarmente, sono stati utilizzati con buoni risultati nel trattamento di neoplasie cutanee e che hanno dimostrato grande efficacia in associazione con altri farmaci nel trattamento di altre malattie linfoproliferative sistemiche.

In particolare, ben conosciuta è l'efficacia dell'associazione Doxorubicina, Vinblastina, Bleomicina e Dacarbazina nel trattamento del linfoma di Hodgkin con uno schema di trattamento che prevede due somministrazioni al mese per ogni ciclo.

In considerazione della particolare efficacia sui linfomi cutanei della formulazione liposomiale pegilata della doxorubicina, e della sua ridotta tossicità cardiaca, renale e sulle mucose abbiamo sostituito con essa la doxorubicina nello schema utilizzato nel trattamento del linfoma di Hodgkin utilizzando un basso dosaggio totale del farmaco (18 mg/mq frazionato nelle due dosi) rispetto a quelli riportati in precedenti esperienze (46).

Sulla base dei controlli programmati ogni due cicli, abbiamo osservato una pronta risposta al trattamento. Dei 19 pazienti rispondenti, infatti, tutti hanno presentato una RC entro i primi 4 cicli

L'incidenza della risposta globale del 96% con il 79% di RC è risultata confrontabile con quella riscontrata da Wollina che, utilizzando la doxorubicina liposomiale pegilato in monochemioterapia riporta un'incidenza dell'88,2 % della risposta globale (RC più RP) e del 44.1% della RC.

I nostri dati risultano inoltre paragonabili con quelli riportati per schemi di polichemioterapia che prevedevano l'utilizzo della doxorubicina, il CHOP con una risposta globale del 40% e l'EPOCH con una risposta globale dell'80% e una RC del 27%.

Per quanto riguarda la durata della risposta, pur considerando il numero limitato dei pazienti e l'eterogeneità delle istologia, la mediana di sopravvivenza è di 20 mesi di sopravvivenza libera da malattia risulta superiore con quelle rilevate negli due ultimi studi citati: 5,7 mesi dopo il CHOP, 8 mesi dopo l'EPOCH.

9 pazienti hanno presentato recidiva di malattia dopo un tempo mediano pari ad 8 mesi dall'ottenimento della RC ottenuta con il CBVD.

La buona tollerabilità del trattamento ne ha permesso la somministrazione in day hospital ed il ricovero è stato necessario per 2 pazienti che, in corso di granulocitopenia, hanno presentato un episodio broncopneumonico grave.

Riteniamo che il mancato rilievo di tossicità segnalate come specifiche per la Doxorubicina liposomiale possa essere correlato con i bassi dosaggi utilizzati in ciascuna delle somministrazioni.

Dei 5 pazienti che possedevano un donatore HLA compatibile familiare 3 sono stati avviati al trapianto di CSE:

Il pz di 27 anni con SS evoluta in ALC CD30+ con interessamento linfonodale multiplo e infiltrazione dei tessuti molli in fase di RC dopo CBVD. Il paziente è stato sottoposto ad una terapia di condizionamento mieloablattiva con un decorso senza complicanze ed ha mantenuto la RC a distanza di 50 mesi dal trapianto con un controllo della malattia che era stata resistente al trattamento con IFN, fotoferesi e steroidi e che persisteva da circa 8 anni con l'evoluzione in linfoma ALC da circa 4 mesi prima del trattamento con CBVD.

La paziente di 53 anni affetta da CTCL panniculitis-like dopo 4 mesi dalla fine del trattamento con CBVD (1° mesi di RC) è stata sottoposta a trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche da donatore familiare HLA identico dopo condizionamento non mieloablattivo con Thiotepa, Fludarabina e Ciclofosfamide ed è tuttora in RC dopo 40 mesi dal trapianto.

La paziente di 48 anni affetta da DBCL, trattata in precedenza con vari schemi di polichemioterapia, in RC dopo 2 cicli di CBVD ha eseguito trapianto

allogeneico non mieloablato di cellule staminali emopoietiche da donatore familiare HLA identico ha mantenuto la RC per 6 mesi dopo il trapianto; è deceduta per infezione virale.

La buona compliance dei pazienti in RC dopo CBVD ci ha permesso di avviare i tre pazienti al trapianto allogeneico in buone condizioni generali offrendo loro la prospettiva dell'eradicatione possibile di patologie a pessima prognosi, obiettivo primario di tutte le esperienze di trapianto di CSE allogeneiche riportate nel trattamento dei linfomi cutanei in fase avanzata (55).

Il paziente con più lunga sopravvivenza libera da malattia pur disponendo di un donatore HLA compatibile, già sottoposto in precedenza a chemioterapia sovramassimale, ha rifiutato per il momento il trapianto allogeneico.

## **CONCLUSIONI**

Il nostro studio, con i limiti del piccolo numero di pazienti, dell'eterogeneità dei pazienti e del breve periodo di osservazione, dimostra l'efficacia dell'associazione polichemioterapica utilizzata tanto nel trattamento delle lesioni cutanee che nodali dei pazienti affetti da linfoma cutaneo in fase avanzata di malattia determinando un'importante riduzione della massa tumorale.

La risposta al trattamento è precoce e l'incidenza è elevata con il 79% di RC. Il trattamento è ben tollerato e può essere somministrato in day hospital.

Il trattamento permette nei pazienti che hanno ottenuto la riduzione della massa tumorale ulteriori trattamenti eradicanti.

Per i pazienti in RC che non sono candidati al trapianto allogeneico di CSE, una più lunga osservazione potrà definire l'efficacia del trattamento anche in termini di durata della risposta.

**Tabella 1°**

Caratteristiche dei pazienti: linfomi cutanei a cellule T

<b>Pz</b>	<b>Età</b>	<b>Sex</b>	<b>Istologia</b>	<b>Stadio</b>	<b>Terapie precedenti</b>
1 SS	52	M	MF eritro LN	IVA2	nessuna
2 DA	70	M	MF	IIB	RDT
3 SG	27	M	SS evoluta LN	IVA	PUVA, IFN
4 VR	65	F	ALCLCD30+	IVA2	Terapia per LH
5 ES	51	M	ALCLCD30+	IVA	DHAP, autotrapianto, Gemcitabina
6 PP	58	M	ALCL CD30+ LN	IVA	TSEB, CHOP, PDN
7 SA	54	M	MF	IIB	Steroidi, IFN, DHAP
8 CO	59	M	ALCL CD30+	IVA	IFN
9 BP	53	F	Subcutaneous PL	IIB	Chirurgia
10 SI	51	F	ALCL CD30+ evoluto da MF	IIB	IFN, Gemcitabina, CTX, MTX, Alemtuzumab
11 SC	70	M	MF + LN	IVA	IFN
12 PR	86	M	MF	IIB	PUVA, IFN
13 AL	79	M	MF eritr.	IVA	PUVA,IFN, Fotoaferesi
14DMM	34	F	ALCLCD30+ evoluto da MF	IVA	IFN
15 PM	67	M	ALCL CD30-	IIB	nessuna
16 TA	75	M	ALCL CD30+	IVA	MTX + IFN
17 AE	70	M	ALCL CD30+	IIIA	nessuna
18 VR	50	M	ALCL CD30-	IIA	nessuna
19 MC	67	M	ALCL CD30+	IIIB	Trapianto di fegato

**Tabella 1B**

Caratteristiche dei pazienti: linfomi cutanei a cellule B

<b>Pz</b>	<b>Età</b>	<b>Sex</b>	<b>Istologia</b>	<b>Stadio</b>	<b>Terapie precedenti</b>
1 GA	55	M	EMZ	Lesioni multiple	CEOP, COP, Caelyx, DHAP, autotrapianto
2 QF	57	M	Leg type	Lesioni multiple	nessuna
3 FG	67	M	DLBC (leg)	Lesione singola	Rituximab
4 MS	55	M	Follicolare	Lesione singola estesa	nessuna
5 SE	42	F	Follicolare	Lesione singola estesa	Rituximab
6 GS	61	F	DLBC leg type	Lesione singola	Rituximab
7 BM	86	F	DLBC(leg-type)	Lesione singola estesa	VBM
8 AF	51	M	Follicolare	Lesione singola estesa	nessuna
9 VM	77	F	Follicolare	Lesione singola estesa	nessuna
10 VE	48	F	Follicolare	Lesione singola	Rituximab, RT
11 SL	44	F	DLBC leg type	Lesioni multiple + LN	MACOP-B, FLUC, Rituximab, DHAP
12 LA	60	M	DLBC	Lesioni multiple	Chirurgia, Rituximab
13 PL	46	M	Follicolare	Lesioni multiple	Tp antibiotica
14 MM	46	M	Follicolare	Lesione singola estesa + LN	Infiltrazione steroidea
15 FM	63	F	DLBC	Lesioni multiple	IFN, fototerapia, Rituximab, CTX
16 MO	74	F	EMZ	Lesioni multiple	CVP, CNOP, IFN, Rituximab, RDT

### Tabella 2°

CBVD, risposta al trattamento: Linfomi cutanei a cellule T

<b>Pz</b>	<b>Et à</b>	<b>Sex</b>	<b>Istologia</b>	<b>Stadio</b>	<b>N° cicli</b>	<b>Risposta</b>
1 SS	52	M	MF eritro LN	IVA2	6	RC al 2°
2 DA	70	M	MF	IIB	6	RC al 4°
3 SG	27	M	SS evoluta LN	IVA	6	RC al 2°
4 VR	65	F	ALCLCD30+	IVA2	4	RC al 2°
5 ES	51	M	ALCLCD30+	IVA	6	RC al 2°
6 PP	58	M	ALCL CD30+ LN	IVA	4	RP al 4°
7 SA	54	M	MF	IIB	6	RC al 4°
8 CO	59	M	ALCL CD30+	IVA	6	RC al 2°
9 BP	53	F	Subcutaneous PL	IIB	6	RC al 2°
10 SI	51	F	ALCL CD30+ evoluto da MF	IIB	6	RC al 4°
11 SC	70	M	MF + LN	IVA	6	RC al 2°
12 PR	86	M	MF	IIB	6	RC al 2°
13 AL	79	M	MF eritr	IVA	1	PM
14DMM	34	F	ALCLCD30+ evoluto da MF	IVA	5	RC al 4°
15 PM	67	M	ALCL	IIB	4	RC al 3°
16 TA	75	M	ALCL CD30+	IVA	3	RC al 2°
17 AE	70	M	ALCL CD30+	IIIA	4	RC al 2°
18 VR	50	M	ALCL	IIA	4	RC al 2°
19 MC	67	M	ALCL	IIIB	2	RC al 2°

## **Tabella 2B**

CBVD, risposta al trattamento: Linfomi cutanei a cellule B

<b>Pz</b>	<b>Età</b>	<b>Sex</b>	<b>Istologia</b>	<b>Stadio</b>	<b>N° cicli</b>	<b>Risposta</b>
1 GA	55	M	EMZ	Lesioni multiple	6	RC al 2°
2 QF	57	M	Leg type	Lesioni multiple	6	RC al 4°
3 FG	67	M	DLBC (leg)	Lesione singola	2	RC al 2°
4 MS	55	M	Follicolare	Lesione singola estesa	6	RC al 2°
5 SE	42	F	Follicolare	Lesione singola estesa	6	RP al 6° (RT RC)
6 GS	61	F	DLBC leg type	Lesione singola	4	RP al 3°
7 BM	86	F	DLBC(leg-type)	Lesione singola estesa	4	RC al 2°
8 AF	51	M	Follicolare	Lesione singola estesa	6	RC al 3°
9 VM	77	F	Follicolare	Lesione singola estesa	6	RC al 2°
10 VE	48	F	Follicolare	Lesione singola	6	RC al 2°
11 SL	44	F	DLBC leg type	Lesioni multiple + LN	2	RC al 2°
12 LA	60	M	DLBC	Lesioni multiple	4	RC al 2°
13 PL	46	M	Follicolare	Lesioni multiple	6	RC al 2°
14 MM	46	M	Follicolare	Lesione singola estesa + LN	3	RC al 2°
15 FM	63	F	DLBC	Lesioni multiple	2	RC al 2°
16 MO	74	F	EMZ	Lesioni multiple	4	RC al 2°

**Tabella 3**

CBVD, durata della risposta: Linfomi cutanei a cellule T

<b>Pz</b>	<b>Età</b>	<b>Sex</b>	<b>Istologia</b>	<b>Stadio</b>	<b>N° cicli</b>	<b>Risp</b>	<b>Durata della risposta</b>
1 SS	52	M	MF eritro LN	IVA2	6	RC al 2°	36 mesi (recidiva)
2 DA	70	M	MF	IIB	6	RC al 4°	30 mesi (recidiva)
3 SG	27	M	SS evoluta LN	IVA	6	RC al 2°	53 mesi
4 VR	65	F	ALCLCD30+	IVA2	4	RC al 2°	18 mesi (recidiva)
5 ES	51	M	ALCLCD30+	IVA	6	RC al 2°	58 mesi
6 PP	58	M	ALCL CD30+ LN	IVA	4	RP al 4°	NV (deceduto altra causa)
7 SA	54	M	MF	IIB	6	RC al 4°	24 mesi (recidiva)
8 CO	59	M	ALCL CD30+	IVA	6	RC al 2°	15 mesi (deceduto altra causa)
9 BP	53	F	Subcutaneous PL	IIB	6	RC al 2°	50 mesi
10 SI	51	F	ALCL CD30+ evoluto da MF	IIB	6	RC al 4°	10mesi (deceduto)
11 SC	70	M	MF + LN	IVA	6	RC al 2°	18 mesi
12 PR	86	M	MF	IIB	6	RC al 2°	12 mesi (recidiva)
13 AL	79	M	MF eritr	IVA	1	PM	NV
14DMM	34	F	ALCLCD30+ evoluto da MF	IVA	5	RC al 4°	1 mese
15 PM	67	M	ALCL	IIB	4	RC al 3°	1 mese
16 TA	75	M	ALCL CD30+	IVA	3	RC al 2°	1 mese
17 AE	70	M	ALCL CD30+	IIIA	4	RC al 2°	1 mese
18 VR	50	M	ALCL	IIA	4	RC al 2°	1 mese
19 MC	67	M	ALCL	IIIB	2	RC al 2°	3 mesi
1 GA	55	M	EMZ	Lesioni multiple	6	RC al 2°	24 mesi (recidiva)
2 QF	57	M	Leg type	Lesioni multiple	6	RC al 4°	9 mesi (recidiva)
3 FG	67	M	DLBC (leg)	Lesione singola	2	RC al 2°	35 mesi
4 MS	55	M	Follicolare	Lesione singola estesa	6	RC al 2°	7 mesi
5 SE	42	F	Follicolare	Lesione singola estesa	6	RP al 6° (RT RC)	4 mesi
6 GS	61	F	DLBC leg type	Lesione singola	4	RP al 3°	5 mesi
7 BM	86	F	DLBC(leg-type)	Lesione singola estesa	4	RC al 2°	20 mesi (recidiva)
8 AF	51	M	Follicolare	Lesione singola	6	RC al 3°	7 mesi



				estesa			
9 VM	77	F	Follicolare	Lesione singola estesa	6	RC al 2°	18 mesi
10 VE	48	F	Follicolare	Lesione singola	6	RC al 2°	11 mesi
11 SL	44	F	DLBC leg type	Lesioni multiple + LN	2	RC al 2°	13 mesi (deceduto altra causa)
12 LA	60	M	DLBC	Lesioni multiple	4	RC al 2°	5 mesi
13 PL	46	M	Follicolare	Lesioni multiple	6	RC al 2°	3 mesi
14 MM	46	M	Follicolare	Lesione singola estesa + LN	3	RC al 2°	1 mese
15 FM	63	F	DLBC	Lesioni multiple	2	RC al 2°	1 mese
16 MO	74	F	EMZ	Lesioni multiple	4	RC al 2°	5 mesi

## **BIBLIOGRAFIA**

- 1) Newton R, Ferlay J, Beral V, Devesa SS. The epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma : compararison of nodal and extra-nodal sites. Int J Cancer 1997; 72(6) : 923-930.
- 2) Growes FD, Linet MS, Travis LB, Devessa SS. Cancer surveillanc series : non-Hodgkin's lymphoma incidence by istologic subtype in the United States from from 1978 through 1995.J Natl Cancer Inst. 2000 ; 92: 1240-1251.
- 3) Burg G,Kempf W, Haeffner A, Dobbeling U,Nestle FO,Boni R, Kadin.

From inflammation to neoplasia: new concepts in the pathogenesis of cutaneous lymphoma. *Recent Results Cancer Res* 2002; 160:271-80

4) Child FJ, Russel Jones. Absence of the t (14;18) chromosomal translocation in primary cutaneous B-cell lymphoma. *Br J Dermatol* 2001;144 (4): 735-44

5) Whittemore AS, Holly EA, Lee IM, Abel EA. Mycosis fungoides in relation to environmental exposures and immune response : a case control study. *J Natl Cancer Inst* 1989;81 (20): 1560-7.

6) Siegel RS, Gartenhaus RB, Kuzel TM. Human T-cell lymphotropic I associated leukemia /lymphoma. *Curr Treat Options Oncol* 2001; 2 (4) 291-300.

7) Li G, Vowels BR, Benoit BM, Rook AH. Failure to detect human T-lymphotropic virus type I proviral DNA in cell lines and tissues from patients with cutaneous T-cell lymphoma. *J Invest Dermatol* 1996;107(3) 308-13.

8) Misago N, Kohda H. Primary cutaneous T-cell lymphoma with an angiocentric growth pattern : association with Epstein-Barr virus. *Br J dermatol* 1996;135(4): 638-43.

9) Cerroni L, Zochling N, Putz B, Kerl H. Infection by *Borrelia burgdorferi* and cutaneous B-cell lymphoma. *J cutan Pathol* 1997;24 (8):457-61.

10) Abramams JT, Balin BJ. Sezary T-cell activating factor is a *Chlamydia pneumoniae*-associated protein. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999;6 : 895-905.

11) Quin JZ, Dummer R, Burg G. Constitutive and interleukin 7/interleukin-15 stimulated DNA binding of Myc, jun, and novel Myc-like protein in cutaneous T-cell lymphoma cells. *Blood* 1999;93 (1):207.

12) Weinstock MA, Gardstein B. Twenty-years trends in the reported incidence of mycosis fungoides and associated mortality. *Am J Public health* 1999;89 1240-4.

13) Burg G. Prognostic categorization of lymphoproliferative disorders of the skin. 2005p. 95-100.

14) Berti E, Alessi E. Reticulohistiocytoma of the dorsum. 1991, 82-90.

15) Beljaards RC, Van Beek P. Relation between expression of adhesion molecules and clinical behavior in cutaneous follicle center cell lymphomas. 1997;37 (1) :34-40.

16) Duncan LM. Cutaneous B-cell lymphomas of follicular and marginal zone types : use of bcl-6, CD10, bcl-2, CD21 in differential diagnosis and classification. 2001;25. 732-741.

17) Cerroni L, Arzberger E, Putz B et al. Primary cutaneous follicular center cell lymphoma with follicular growth pattern. *Blood*. 2000,95:3922-3938.

18) Crosti A. Micosi fungoide e reticuloistocitomi cutanei maligni. *Minerva Dermat*. 1951;26:3-11.

- 19) Geele FAMJ, Vermeer MH. Bcl-2 expression in primary cutaneous large B-cell lymphomas is site-related. 1998;16:2080-2085.
- 20) Nicol I, Boye T. Post-transplant plasmablastic lymphoma of the skin. 2003;149:889-891.
- 21) Perniciaro C. Malignant angioendotheliomatosis is an angiotropic intravascular lymphoma: immunohistochemical, ultrastructural and molecular genetic studies. 1995;17:242-248.
- 22) Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues in the series of World Health Organization Classification of Tumours. Edited by Jaffe E.S., Harris N.L., Stein H., and Vardiman J.W.. IARC Press, Lyon, 2001.
- 23) Willemze R., Kerl H., Sterry W., Berti E., Chimenti S., Diaz-Perez J.L., et al.. EORTC Classification for Primary Cutaneous Lymphomas: A Proposal From the Cutaneous Lymphoma Study Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. *Blood*, 90: 354-371, 1997.
- 24) Diamandidou E. Cohen P. R. and Kurzrock R. Mycosis Fungoides and Sezary Syndrome. Review Article *Blood*, Vol 88: 2385-2409, 1996.
- 25) Weinberg JM, Rook A.H., Lessin S.R.. Molecular diagnosis of lymphocytic infiltrates of the skin. *Arch Dermatol*, 129: 1491-1500. 1993.
- 26) Macaulay WL.. Lymphomatoid papulosis: a continuous self-healing eruption, clinically benign histologically malignant. *Arch Dermatol*; 97:23, 1968.
- 27) Riboni R., Boveri E., Lucioni M., Incardona P., Viglio A., Paulli M. CD30+ primary cutaneous lymphoproliferative disorders (PCLDs): TCR-gamma gene analysis by PCR on DNA extracted from CD30+ microdissected cells. *Virch. Arch.*; 443: 275, 2003.
- 28) Belijards RC, Kaudewitz P., Berti E., Gianotti R., Neumann C., Rosso R. et al. Primary cutaneous CD30-positive large cell lymphoma: definition of a new type of cutaneous lymphoma with a favorable prognosis. A European Multicenter Study on 47 cases. *Cancer*; 71: 2097-2104, 1993.
- 29) Paulli M., Berti E., Rosso R., Boveri E., Kindl S., Klersy C., et al.. CD30/Ki-1-Positive Lymphoproliferative disorders of the skin. Clinicopathologic Correlation and Statistical Analysis of 86 cases: A Multicentric Study From the European Organization for Research and Treatment of Cancer Cutaneous Lymphoma Project Group. *J Clin Oncol* 13: 1343- 1354, 1995.
- 30) Marzano A.V., Berti E., Paulli M., Caputo R.. Cytophagic Histiocytic Panniculitis and Subcutaneous Panniculitis-like T-cell lymphoma. *Arch Dermatol*. 136: 889-896, 2000.
- 31) Bekkenk MW, Vermeer MB, Jansen PM, Van Marion AM, Canninga-Van Dijk MR, Kluin PM, Geerts ML, Meijer CJ, Willemze R. Peripheral T-cell lymphomas unspecified presenting in the skin: analysis of prognostic

- factors in a group of 82 patients. *Blood*. 2003, 102: 2213-9.
- 32) Ramsay DL, Lish KM, Yalowitz CB, et al: Ultraviolet-B phototherapy for early- stage cutaneous T-cell lymphoma. *Arch Dermatol* 128: 931-933,1992.
- 33) Molin L., Thomsen K, Volden, et al: Photochemotherapy (PUVA) in the pretumor stage of Mycosis fungoides: A report from the Scandinavian Mycosis Fungoides Study Group. *Acta Derm Venereol* 61: 47-51, 1980.
- 34) Edelson R., Berger C, Gasparro F, et al: Treatment of cutaneous T-cell lymphoma by extracorporeal photochemoterapy. *N Engl J Med* 316: 297-303, 1987.
- 35) Ramsay DL, Ed M, Halperin PS, et al: Topical Mechlorethamine therapy for early stage mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol* 19:684-691, 1988.
- 36) Rosen ST, Foss FM: Chemotherapy for Mycosis Fungoides and the Sezary syndrome. *Hematol Oncol Clin North Am* 9:1109-1116, 1995.
- 37) Grange F, Bagot M: Prognosis of prymary cutaneous lymphomas, Masson, Paris 2002
- 38) Vonderheid Eric C et al. : Treatment planning in cutaneous T-cell lymphoma *Dermatologic Therapy* Volume 16 Issue 4 Page 276 - December 2003
- 39) Turk HM, Buyukberber S, Camci C, Inaloz HS, Sari I, Kirtak N, Uner A.: Chemotherapy of disseminated cutaneous classic Kaposi's sarcoma with vinblastine. *J Dermatol*. 2002 Oct;29(10): 657-60.
- 40) Gabizon A, Shmeeda H, Barenholz Y.: Pharmacokinetics of pegylated liposomal Doxorubicin: review of animal and human studies. in *Pharmacokinet*. 2003;42(5):419-36.
- 41) Cattel L, Ceruti M, Dosio F : From conventional to stealth liposomes: a new frontier in cancer chemotherapy. *Tumori*, 2003 May-Jun; 89 (3) : 237-49
- 42) O'Brien ME, Wigler N, Inbar M, Rosso R, Grischke E, Santoro A, Catane R, Kieback DG, Tomczak P, Ackland SP, Orlandi F, Mellars L, Alland L, Tendler C; CAELYX Breast Cancer Study Group : Reduced cardiotoxicity and comparable efficacy in a phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin HCl (CAELYX/Doxil) versus conventional doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer. *Ann Oncol*. 2004 Mar;15(3):440-9.
- 43) Dediccoat M, Vaithilingum M, Newton R. : Treatment of Kaposi's sarcoma in HIV-1 infected individuals with emphasis on resource poor settings. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(3):CD003256.
- 44) Vermorken JB. : The role of anthracyclines in second-line therapy of ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2003 Nov-Dec;13 Suppl 2:178-84.
- 45) Wollina U, Dummer R, Brockeymer NH, Konrad H, Busch JO, Kaatz M, Knopf B, Koch HJ, Hauschild A : Multicenter study of pegylated

liposomal doxorubicin in patients with cutaneous T-cell lymphoma. *Cancer*, 2003 Sep 1; 98 (5): 993 - 1001

46) Tsatalas C, Martinis G, Margaritis D, Spanoudakis E, Kotsianidis I, Karpouzis A, Bourikas G. : Long-term remission of recalcitrant tumour-stage mycosis fungoides following chemotherapy with pegylated liposomal doxorubicin. *J Eur Acad Dermatol Ven.* 2003 Jan;17(1):80-2.

47) Fierro MT, Quaglino P, Savoia P, Verrone A, Bernengo MG. Systemic polychemotherapy in the treatment of primary cutaneous lymphomas: a clinical follow-up study of 81 patients treated with COP or CHOP. *Leuk lymphoma.* 1998 Nov;31(5-6):583-8.

48) Fierro MT, Doveil GC, Quaglino P, Savoia P, Verrone A, Bernengo MG. Combination of etoposide, idarubicin, cyclophosphamide, vincristine, prednisone and bleomycin (VICOP-B) in the treatment of advanced cutaneous T-cell lymphoma. *Dermatology.* 1997;194(3):268-72.

49) Akpek G, Koh HK, Bogen S, O'Hara C, Foss FM. Chemotherapy with etoposide, vincristine, doxorubicin, bolus cyclophosphamide, and oral prednisone in patients with refractory cutaneous T-cell lymphoma. *Cancer.* 1999 Oct 1;86(7):1368-76

50) Tessier MH, Mansat E, Legoux B, Litoux P, Dreno B. Combination of dacarbazine, cisplatin and interferon alpha in the treatment of metastatic melanoma. *Ann Dermatol Venereol.* 1996; 123 (9): 538-42.

51) Bonadonna G, Zucali R, Monfardini S, De Lena M, Uslenghi C. Combination chemotherapy of Hodgkin's disease with adriamycin, bleomycin, vinblastine and imidazole carboxamide versus MOPP. *Cancer.* 1975 Jul; 36 (1): 252-9.

52) Martin FJ. Pegylated liposomal doxorubicin: scientific rationale and preclinical pharmacology, *Oncology*, 1997; 11: 11-20.

53) Northfelt DW, Martin FJ, Working P et al. Doxorubicin encapsulated in liposomes containing surface-bound polyethylene glycol: pharmacokinetics, tumor localization, and safety in patients with AIDS-related Kaposi's sarcoma. *J Clin Pharmacol.* 1996; 36; 555-563.

54) Tsatalas C, Martinis G, Margaritis D, Spanoudakis E, Kotsianidis I, Karpouzis A, Bourikas G. Long-term remission of recalcitrant tumour-stage mycosis fungoides following chemotherapy with pegylated liposomal doxorubicin. *J Eur Acad Dermatol Ven.* 2003 Jan;17(1):80-2.

55) Soligo D, Ibatci A, Berti E, Moranti P, Longhi E, Venegoni L, Corbellino M, Annaloro C, Robbiolo L, Della Volpe A, Alessi E, Lambertenghi Delilieri G. Treatment of advanced mycosis fungoides by allogeneic stem-cell transplantation with a nonmyeloblastic regimen. *Bone Marrow Transplant.* 2003 Apr, 31 (8):663-6.

56) Di Lorenzo G, Di Trolio R, Delfino M, De Placido S. Pegylated liposomal doxorubicin in stage IVB mycosis fungoides. *Br J Dermatol.* 2005 Jul; 153(1): 183-5.