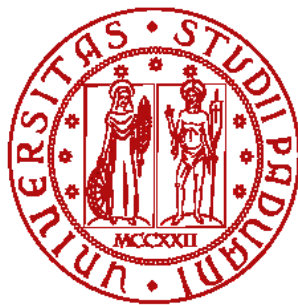


1222•2022
800
ANNI



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA

Direttore: Ch.mo Prof. Roberto Vettor

U.O.C. DI ANATOMIA PATOLOGICA

Direttore: Ch.mo Prof. Angelo Paolo Dei Tos

TESI DI LAUREA

CARATTERISTICHE CLINICO-PATOLOGICHE DELLA MALATTIA DI KIKUCHI-FUJIMOTO

RELATORE: Dott. Marco Pizzi

CORRELATORE: Dott. Federico Scarmozzino

LAUREANDO: Luca Cortese

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

INDICE

RIASSUNTO – ABSTRACT	pag. 1
1. INTRODUZIONE	pag. 5
1.1 Caratteristiche cliniche delle adenopatie dell'età pediatrica	pag. 5
1.1.1 Etiologia delle adenopatie dell'età pediatrica	pag. 5
1.1.2 Inquadramento clinico delle adenopatie dell'età pediatrica	pag. 6
1.2 Istologia delle adenopatie reattive dell'età pediatrica	pag. 7
1.2.1 Adenopatie reattive aspecifiche	pag. 8
1.2.2 Adenopatie specifiche granulomatose	pag. 10
1.2.3 Adenopatie specifiche non granulomatose	pag. 11
1.3 La malattia di Kikuchi-Fujimoto (KFD)	pag. 13
1.3.1 Caratteristiche clinico-epidemiologiche della KFD	pag. 13
1.3.2eziopatogenesi della KFD	pag. 14
1.3.3 Caratteristiche istologiche della KFD	pag. 15
1.3.4 Diagnosi differenziale della KFD	pag. 16
1.4 Neoplasie linfoidi dell'età pediatrica	pag. 17
1.4.1 Linfomi di Hodgkin	pag. 18
1.4.2 Linfomi non-Hodgkin a cellule B periferiche dell'età pediatrica	pag. 20
1.4.3 Linfomi non-Hodgkin a cellule T periferiche dell'età pediatrica	pag. 22
2. SCOPO DELLO STUDIO	pag. 27
3. MATERIALI E METODI	pag. 29
3.1 Disegno dello studio e selezione dei casi	pag. 29
3.2 Valutazione istologica	pag. 29
3.3 Analisi immunoistochimiche e di ibridazione in situ per EBV	pag. 30
3.4 Elaborazione dei dati, analisi statistiche e analisi di immagine	pag. 30
4. RISULTATI	pag. 33
4.1 Caratteristiche cliniche dei casi del <i>test set</i>	pag. 33
4.2 Caratteristiche istologiche della KFD	pag. 33
4.3 Caratteristiche immunoistochimiche della KFD	pag. 35
4.4 Espressione di MUM1 nella KFD	pag. 38
4.5 Validazione dei risultati relativi all'espressione di MUM1 nella KFD	pag. 38
5. DISCUSSIONE	pag. 43
6. CONCLUSIONI	pag. 47
Bibliografia	pag. 49

RIASSUNTO

Presupposti dello studio. La malattia di Kikuchi-Fujimoto (*Kikuchi-Fujimoto disease*, KFD) è una rara linfadenopatia benigna dell'età pediatrica/giovanee-adulta, caratterizzata da prevalente proliferazione di linfociti T citotossici. L'abnorme espansione di tali cellule nella KFD può simulare linfomi a cellule T periferiche biologicamente e clinicamente aggressivi. Per quanto i criteri per la diagnosi di KFD siano ben stabiliti, pochi studi hanno finora valutato le aberrazioni fenotipiche e possibili correlazioni tra i reperti istologici e le caratteristiche biologiche di questa malattia.

Scopo dello studio. Scopi del presente studio sono: (i) descrivere le caratteristiche clinico-patologiche della KFD; (ii) valutare la frequenza e il tipo di aberrazioni fenotipiche dei linfociti T nella KFD; (iii) correlare le aberrazioni fenotipiche T con le caratteristiche cliniche e morfologiche della KFD.

Materiali e metodi. Questo studio retrospettivo ha considerato un *test set* di 17 casi di KFD, provenienti dall'U.O.C di Anatomia Patologica dell'Azienda Ospedale-Università di Padova. Di tali casi sono stati valutati i seguenti parametri clinico-patologici: (i) dati anagrafici e caratteristiche cliniche dei pazienti; (ii) fase istologica di malattia (proliferativa, necrotizzante o xantomatosa); (iii) estensione di eventuali aree di necrosi; (iv) perdita dell'espressione di marcatori di linea T; (v) indice proliferativo (analisi immunohistochimica per Ki67); (vi) espressione aberrante di MUM1 nei linfociti T citotossici (doppia colorazione per CD8 e MUM1). I reperti clinico-patologici del *test set* sono stati confrontati con quelli di un *validation set* di 41 casi, provenienti dalle Unità Operative di Anatomia Patologica dell'Istituto San Raffaele di Milano e del Policlinico Sant'Orsola di Bologna. Per le analisi statistiche, sono stati utilizzati test non parametrici per il confronto tra variabili quantitative (test Wilcoxon-Mann-Whitney) e qualitative (test esatto di Fisher). Sono state inoltre eseguite analisi di regressione lineare e di correlazione mediante coefficiente di Pearson. Le differenze tra sottogruppi sono state considerate statisticamente significative per valori di $p < 0.05$.

Risultati. La popolazione del *test set* comprendeva 5 maschi e 12 femmine, con età media alla diagnosi di 25,5 anni (*range*: 10,8-57,7 anni). Comorbidità autoimmuni/disimmuni sono state documentate in 6/17 (35,3%) casi. La rivalutazione istologica ha documentato KFD in fase proliferativa in 9/17 (52,9%)

casi, KFD in fase necrotizzante in 7/17 (41,2%) casi e KFD in fase xantomatosa in 1/17 (5,9%) casi. Perdita parziale o completa dell'espressione di marcatori T è stata documentata in 7/17 (41,2%) casi. Di questi, CD5 è risultato il più frequentemente difettivo (6/17 [35,3%] casi). In tutti i casi, i linfociti T citotossici sono risultati positivi per MUM1 (positività media: 36,8% delle cellule CD8-positivo; *range*: 1-70%). L'espressione di MUM1 era maggiore nella KFD in fase proliferativa rispetto alle fasi necrotizzanti/xantomatose di malattia (54,4% vs 14,0% delle cellule; $p < 0,01$). La positività per MUM1 è risultata direttamente proporzionale all'indice proliferativo dei linfociti T citotossici ($r = 0,8$; $p < 0,01$) e inversamente proporzionale all'estensione delle aree di necrosi ($r = -0,7$; $p < 0,01$). Tali risultati sono stati confermati nel *validation set*.

Conclusioni. La KFD è un'adenopatia reattiva, associata a comorbidità autoimmuni/disimmuni e a frequente difettività per marcatori di linea T. L'espressione di MUM1 nei linfociti T citotossici è un reperto frequente (e spesso misconosciuto) nella KFD. La consapevolezza di tali aberrazioni è di fondamentale importanza per evitare errori diagnostici con implicazioni cliniche potenzialmente gravi. Ulteriori studi biologici sono necessari per chiarire le basi patogenetiche delle aberrazioni fenotipiche della KFD.

ABSTRACT

Background. Kikuchi-Fujimoto disease (KFD) is a reactive adenopathy of the pediatric/young-adult age, characterized by sheets of large cytotoxic T cells. Despite its benign nature, KFD may mimic peripheral T-cell lymphomas (PTCLs). The histology of KFD is well described, yet few studies have focused on its possible phenotypic aberrancies. To address this issue, we characterized a multi-centric Italian series of KFD.

Study aims. This study aims at: (i) describing the clinical-pathological features of KFD; (ii) evaluating frequency and type of phenotypic aberrancies of KFD; (iii) correlating phenotypic aberrancies and clinical-pathological features of KFD.

Materials & Methods. This study considered a discovery set of 17 KFD, retrieved from the Pathology Unit of Padua University Hospital (Padua - Italy). The following data were considered: (i) patients' age and clinical features; (ii) KFD phase; (iii) presence/extent of necrotic areas; (iv) pan-T cell antigen loss; (v) Ki67 proliferation index; (vi) MUM1 expression in cytotoxic T-cells (MUM1/CD8 double-immunostain). The latter was evaluated, because MUM1 is aberrantly expressed in subsets of PTCLs. The obtained results were confronted with a *validation set* of 41 cases, obtained from the Pathology Units of San Raffaele (Milan – Italy) and Sant'Orsola (Bologna – Italy) University Hospitals. Statistical analyses were performed using non-parametric tests for quantitative and qualitative variables (Wilcoxon-Mann-Whitney and Fisher's exact tests, respectively), and the Pearson's correlation coefficient. Differences were considered statistically significant for p values $<0,05$.

Results. The discovery set included 5 males and 12 females (median age at diagnosis: 25.5 years). An underlying autoimmune/dysimmune disorder was present in 6/17 (35,3%) cases. Histological review disclosed proliferating KFD in 9/17 (52,9%), necrotizing KFD in 7/17 (41,2%) and xanthomatous KFD in 1/17 (5,9%) cases. Partial/complete loss of pan-T cell antigens was reported in 7/17 (41.2%) cases, CD5 being most frequently down-regulated (6/17 [35,3%]). Cytotoxic T cells were MUM-positive in all cases (positivity range: 1-70% of cells; mean value: 36,8%). MUM1-positive cytotoxic T cells were higher in proliferating than necrotizing/xanthomatous KFD (54,4% vs 14,0% of cells; $p <0,01$). The rate of MUM1-positive T cells correlated directly with their proliferation index ($r= 0,8$)

and inversely with the extent of necrosis ($r = -0,7$; $p < 0,01$). These results were confirmed in the *validation set*.

Conclusions. KFD is commonly associated with an underlying autoimmune/dysimmune disorder and shows frequent pan-T cell antigen defectivity. MUM1 expression in T cells is a common (and under-recognized) finding of KFD and should not be regarded as atypical. These findings should be considered to avoid potential diagnostic pitfalls with relevant clinical implications. Further studies are needed to address the biological underpinning of these findings.

1. INTRODUZIONE

1.1 Caratteristiche cliniche delle adenopatie dell'età pediatrica

Le adenopatie mono/multi-stazionarie dell'età pediatrica costituiscono un frequente problema diagnostico. L'ingrandimento di una o più stazioni linfonodali può, infatti, sottendere un ampio spettro di condizioni benigne o maligne. Un corretto inquadramento di tali condizioni è, d'altra parte, requisito essenziale per qualsiasi intervento terapeutico e per una corretta gestione clinica dei pazienti.

1.1.1 Etiologia delle adenopatie dell'età pediatrica

Le linfadenopatie dell'età pediatrica riconoscono molteplici cause (Tabella 1). A fini classificativi, esse possono essere distinte in forme acute (< 2 settimane), sub-acute (2-6 settimane) o croniche (> 6 settimane). Le adenopatie acute sono solitamente benigne e hanno un'etiologia infettiva nella maggior parte dei casi (infezioni virali o da comuni batteri piogeni/non-piogeni). Le adenopatie sub-acute hanno cause più variabili (infettiva, disimmune/autoimmune o da immunodeficienza), mentre le adenopatie croniche comprendono sia forme benigne (malattie infettive/disimmuni) che condizioni maligne (linfomi/leucemie e metastasi di neoplasie solide). Nonostante questo, una ricca quota di adenopatie pediatriche non è inquadrata in termini di etiologia specifica.

Una revisione sistematica della letteratura ha, in particolare, dimostrato che il 66% delle adenopatie laterocervicali dell'età pediatrica è di natura benigna, pur mancando di un preciso fattore etiologico. Nei casi in cui è possibile identificare una causa, le forme infettive sono di gran lunga le più frequenti (adeniti virali, batteriche o, più raramente, fungine e da protozoi). Seguono le linfadenopatie in quadri di immunodeficienza e le forme secondarie a reazioni da farmaci [1]. Le linfadenopatie di natura neoplastica costituiscono <5% del totale e sono più frequentemente secondarie a patologie linfoproliferative. Le metastasi linfonodali da tumori solidi (epiteliali e non-epiteliali) sono molto più rare in età pediatrica (Tabella 1) [1].

Tabella I. Adenopatie dell'età pediatrico-adolescenziale [1]

Tipologia	Eziologia
Acuta (<2 settimane)	Infettiva <ul style="list-style-type: none"> - Virus (e.g. virus respiratori; adenovirus; morbillo) - Batteri piogeni/non-piogeni (e.g. <i>S. aureus</i>) Disimmuni (e.g. malattia di Kawasaki) Reazione da farmaci Adenopatie ad etiologia non nota <ul style="list-style-type: none"> - Malattia di Kikuchi-Fujimoto
Subacuta (2-6 settimane)	Infettiva <ul style="list-style-type: none"> - Virus (e.g. EBV; CMV; HIV) - Batteri (e.g. Micobatteri; <i>B. henselae</i>) - Funghi o protozoi (e.g. <i>T. gondii</i>; <i>P. falciparum</i>) Autoimmunità (e.g. lupus eritematoso sistemico; artrite reumatoide) Immunodeficienze (e.g. ALPS; immunodeficienze congenite)
Cronica (>6 settimane)	Infettiva <ul style="list-style-type: none"> - Virus (e.g. HIV) - Batteri (e.g. Micobatteri) Autoimmunità/disimmunità (e.g. sarcoidosi; lupus; artrite reumatoide) Immunodeficienza (e.g. ALPS; IDCV; malattie croniche granulomatose) Neoplasie ematologiche <ul style="list-style-type: none"> - Leucemie/linfomi - Istiocitosi a cellule di Langerhans/altre istiocitosi Neoplastiche non ematologiche (i.e. metastasi di tumori solidi) Malattie da accumulo (e.g. malattia di Gaucher o di Niemann-Pick) Adenopatie rare a etiologia non nota <ul style="list-style-type: none"> - Malattia di Castleman - Malattia di Rosai-Dorfman

Abbreviazioni: EBV = Epstein-Barr virus; CMV = citomegalovirus; HIV = Human-immunodeficiency virus; ALPS = sindrome linfoproliferativa autoimmune; IDCV = immunodeficienza comune variabile

1.1.2 Inquadramento clinico delle adenopatie dell'età pediatrica

L'inquadramento diagnostico delle adenopatie dell'età pediatrica richiede un approccio integrato, che consideri dati clinico-anamnestici, reperti obiettivi e (ove necessario) esami laboratoristici di approfondimento. In casi di difficile risoluzione, è inoltre necessario ricorrere all'esame istologico dell'adenopatia sospetta [1].

Per quanto riguarda i dati clinico-anamnestici, è di fondamentale importanza considerare i seguenti aspetti: (i) età del paziente; (ii) sede dell'adenopatia e numero di linfonodi coinvolti; (iii) durata dell'adenopatia; (iv) presenza/assenza di sintomi sistemici (e.g. febbre, calo ponderale, sudorazioni notturne, astenia); (v) presenza/assenza di altre manifestazioni cliniche specifiche (e.g. sintomi delle alte/basse vie respiratorie; rash cutanei; epato/splenomegalia; artralgie); (vi) possibile esposizione ad agenti patogeni; (vii) possibili contatti con vettori di malattie infettive o parassitarie; (viii) terapie eventualmente somministrate a ridosso

o dopo lo sviluppo dell'adenopatia; (viii) informazioni anamnestiche riguardo a patologie disimmuni/autoimmuni o infettive; e (vii) familiarità per malattie ematologiche o neoplastiche.

Oltre ai dati clinici e anamnestici, un appropriato inquadramento diagnostico richiede la valutazione di specifiche caratteristiche obiettive dei linfonodi, quali: (i) la dimensione; (ii) la mobilità rispetto ai piani superficiali e profondi; (iii) la consistenza (morbida, teso-elastica o dura); (iv) la dolorabilità alla palpazione. Adenopatie di natura benigna non eccedono solitamente i 2 cm di diametro, sono mobili, di consistenza morbida o teso/elastica e possono essere dolenti alla palpazione. Lesioni di natura maligna tendono, invece, ad avere dimensioni maggiori, consistenza duro-ligneo e scarsa mobilità sui piani superficiali e profondi. Qualora la valutazione anamnestica e obiettiva risulti non dirimente, analisi più approfondite possono comprendere esami di laboratorio (*e.g.* emocromo con formula leucocitaria; profilo delle proteine sieriche; esami di funzionalità d'organo; profilo auto-anticorpale; profili vitaminici) e valutazioni sierologiche/microbiologiche. Se queste indagini non conducono a una diagnosi precisa o se emergono alterazioni di non univoco inquadramento, è indicato il ricorso all'esame istologico dell'adenopatia. Quest'ultimo dovrebbe essere condotto su biopsie escissionali/incisionali del linfonodo sospetto. In casi selezionati, può essere anche considerato l'esame istologico di agobiopsie linfonodali [2].

Il *work-up* qui presentato consente un approccio razionale a un problema clinico comune e non sempre facilmente risolvibile. Esso permette inoltre di ottimizzare le risorse sanitarie, portando a un inquadramento etiologico utile ai fini terapeutici.

1.2 Istologia delle adenopatie reattive dell'età pediatrica

Come precedentemente accennato, la valutazione istologica di linfonodi sospetti è parte integrante dell'approccio diagnostico alle adenopatie dell'età pediatrica. La valutazione istologica integra i dati clinici e laboratoristici, consentendo una diagnosi di benignità o malignità nella maggior parte dei casi.

Da un punto di vista istologico, le adenopatie reattive dell'età pediatrica possono essere suddivise in forme aspecifiche e forme specifiche. Le prime presentano

caratteri generali di benignità, pur non consentendo attendibili precisazioni in merito alla causa scatenante. Le seconde hanno alterazioni morfologiche suggestive di specifici fattori etiologici e possono essere ulteriormente distinte in forme granulomatose e non-granulomatose. Le più frequenti linfadenopatie granulomatose dell'età pediatrica sono la linfadenite tubercolare, la linfadenite della malattia da graffio di gatto e le linfadenopatie di tipo sarcoidico. Le più importanti linfadenopatie specifiche non-granulomatose sono invece le linfadeniti in corso di mononucleosi infettiva, l'adenopatia di Piringer-Kuchinka e la malattia di Kikuchi-Fujimoto (KFD).

1.2.1 Adenopatie reattive aspecifiche

Le linfadenopatie reattive aspecifiche presentano quadri morfologici caratterizzati da espansione di uno o più compartimenti linfonodali. Si identificano, in particolare, aspetti di iperplasia follicolare, di iperplasia paracorticale, di istiocitosi dei seni o di iperplasia mista. Le adenopatie con iperplasia follicolare presentano espansione dei follicoli B, con centri germinativi polarizzati, ricchi di cellule dei corpi tingibili e di centrociti/centroblasti attivamente proliferanti (elevata positività per Ki67). Le zone mantellari attorno ai centri germinativi sono conservate e ben evidenti [76]. Queste caratteristiche consentono la diagnosi differenziale con processi linfoproliferativi quali il linfoma follicolare o altri linfomi a cellule B periferiche. Le adenopatie reattive con iperplasia follicolare sono tipicamente associate a infezioni virali/batteriche o a reazioni da ipersensibilità da farmaci.

Le adenopatie aspecifiche con iperplasia paracorticale sono caratterizzate da espansione delle zone para-follicolari da parte di linfociti T, macrofagi, plasmacellule e linfociti B (anche attivati e di grande taglia). Tale *pattern* è secondario a reazioni immunologiche T-mediate e si associa più spesso a infezioni virali (*e.g.* virus respiratori; herpesvirus), a reazioni da farmaci (*e.g.* fenitoina; vaccini) e a discrasie immunologiche. La diagnosi differenziale con processi linfoproliferativi a cellule B o a cellule T si basa sull'assenza di un chiaro sovvertimento dell'architettura nodale e sulla composizione eterogenea e policlonale dell'infiltrato infiammatorio.

Le adenopatie aspecifiche con istiocitosi dei seni sono caratterizzate da espansione dei seni sotto-capsulari, trabecolari e midollari da parte di una ricca quota di istiociti e/o altre cellule accessorie. A questo può associarsi iperplasia plasmacellulare e variabile espansione delle zone paracorticali. Il *pattern* istiocitico delle adenopatie reattive è caratteristico di tutte le condizioni che determinano un aumento del drenaggio linfonodale di antigeni endogeni o esogeni. Esso è quindi riscontrato in linfonodi posti lungo le catene di drenaggio di flogosi croniche o di neoplasie maligne [76]. Istiocitosi dei seni si verifica anche dopo iniezioni sottocutanee di materiale inorganico (e.g. emulsioni lipidiche quali eccipienti farmacologici; inchiostri di tatuaggi; mezzi di contrasto per studi radiologici). Forme peculiari di adenopatia reattiva con incremento di istiociti e cellule accessorie comprendono anche l'adenopatia di Whipple (istiocitosi linfonodale costituita da macrofagi contenenti *T. whipplei*) [3] e l'adenopatia dermatopatica (espansione sinusale e paracorticale da parte di istiociti e cellule di Langerhans, secondaria a patologie cutanee) [4]. La diagnosi differenziale di queste condizioni si basa su: (i) le caratteristiche delle popolazioni istiocitarie (elementi con citoplasma granulare eosinofilo nella malattia di Whipple; cellule schiumose o pigmentate nelle adenopatie da corpo estraneo); (ii) la composizione delle popolazioni accessorie (macrofagi CD68/163-positivi nelle istiocitosi aspecifiche e nella malattia di Whipple; ricca quota di cellule di Langerhans CD1a/S100/langerina-positivo nell'adenopatia dermatopatica); (iii) il pattern di crescita delle cellule accessorie (prevalentemente sinusale nelle istiocitosi aspecifiche; sinusale e interstiziale nella malattia di Whipple e nell'adenopatia dermatopatica); e (iv) l'integrazione di reperti istologici e dati clinico-anamnestici.

Il *pattern* misto di linfoadenopatia aspecifica è caratterizzato dalla coesistenza di iperplasia follicolare e paracorticale e di istiocitosi dei seni. Come nei casi precedentemente illustrati, le cause di linfoadenopatia di tipo misto sono innumerevoli e di difficile inquadramento sulla base della sola valutazione istologica. Ai fini della caratterizzazione etiologica sono indispensabili approfondite correlazioni clinico-patologiche.

Nell'ambito delle linfoadenopatie aspecifiche è possibile infine comprendere le linfoadeniti ascessualizzanti. Queste sono caratterizzate da una ricca quota di granulociti neutrofili, che si localizzano inizialmente nei seni sub-capsulari/settali,

per estendersi in un secondo momento al parenchima linfonodale con formazione di ascessi. Le adenopatie di questo tipo sono solitamente causate da infezioni batteriche che drenano ai linfonodi loco-regionali (e.g. infezioni cutanee da *S. aureus*; infezioni oro-faringee da *Streptococchi* o microrganismi anaerobi). In casi particolarmente gravi, l'intero linfonodo è sostituito da tessuto necrotico che può comprendere colonie batteriche microscopicamente evidenti. La degenerazione ascessuale del linfonodo e dei tessuti adiacenti può determinare complicanze locali (e.g. fistole, flemmoni, celluliti) o sistemiche (embolie settiche, sepsi o *shock settico*) [5].

1.2.2 Adenopatie specifiche granulomatose

Per quanto riguarda le linfoadeniti granulomatose, le forme secondarie a infezione tubercolare si caratterizzano per la presenza di granulomi necrotizzanti, nel cui contesto sono presenti istiociti mono/pluri-nucleati e cellule giganti tipo cellule di Langhans (i.e. istiociti contenenti multipli nuclei disposti a ferro di cavallo). La necrosi delle adenopatie tubercolari è definita di tipo "caseoso" (i.e. di colorito biancastro e di aspetto diffluente alla valutazione macroscopica). Istologicamente, essa si presenta come materiale eosinofilo amorfo, contenente pochi detriti cellulari e solo isolate cellule infiammatorie [6]. Nelle adenopatie tubercolari, la presenza di *M. tuberculosis* o di altri *Micobatteri* è dimostrabile mediante colorazione istochimica di Ziehl-Nielsen o analisi molecolari (i.e. ricerca di acidi nucleici di *Micobatteri* mediante reazione a catena della polimerasi) [7,8].

Come le adenopatie tubercolari, anche la malattia da graffio di gatto si caratterizza per la presenza di granulomi necrotizzanti all'interno dei linfonodi coinvolti. Tale patologia è causata dall'inoculamento sottocutaneo del batterio *B. henselae*, solitamente come conseguenza di graffi/ferite superficiali, causate da gatti domestici infetti. Drenando alle stazioni linfonodali locoregionali, il batterio causa dapprima una spiccata iperplasia follicolare e, successivamente, una reazione granulomatosa estesamente necrotizzante. Diversamente dalle adeniti tubercolari, la necrosi della malattia da graffio di gatto è tipicamente ascessualizzata (i.e. necrosi contenente numerosi granulociti neutrofili in disfacimento). Le aree di necrosi sono solitamente molto estese e hanno il tipico aspetto "a carta geografica" [9,10]. I reperti istologici della malattia da graffio di gatto sono altamente suggestivi, ma

non patognomonic, di questa condizione. Quadri morfologici simili possono, infatti, osservarsi in altre infezioni batteriche, quali, ad esempio, il linfogranuloma venereo da *C. trachomatis* [11]. In tali circostanze, la diagnosi corretta viene posta sulla base di correlazioni clinico-anamnestiche ed esami microbiologici/infettivologici.

Le adenopatie specifiche di tipo granulomatoso comprendono, infine, forme non-necrotizzanti. Prototipo di queste condizioni è la linfadenite in corso di sarcoidosi. Questa patologia interessa più spesso i linfonodi mediastinici/peri-bronchiali e laterocervicali. Istologicamente, le linfadeniti di tipo sarcoideo presentano numerosi granulomi epitelioidi comprendenti istiociti mono/pluri-nucleati e cellule giganti, del tipo cellule di Langhans e cellule di Touton. Queste ultime sono elementi istiocitari contenenti numerosi nuclei, disposti circonferenzialmente. Non raramente, nel citoplasma delle cellule giganti sono presenti anche concrezioni calcifiche sferiche (“corpi concoidi”) o stellate (“corpi asteroidi”). Per quanto numerosi e tendenti alla confluenza, i granulomi di tipo sarcoideo sono solitamente piccoli, ben circoscritti e singolarmente circondati da sottili bande di sclerosi [12,13]. La diagnosi differenziale delle adenopatie granulomatose non-necrotizzanti di tipo sarcoideo è molto ampia e comprende patologie infettive (*e.g.* infezioni fungine; micobatteriosi atipiche), disimmuni (*e.g.* adenopatie da morbo di Crohn; reazioni granulomatose in linfonodi adiacenti a neoplasie solide; rare forme di adenopatia correlata a IgG4) [14] e neoplastiche (*e.g.* forme granulomatose di linfomi di Hodgkin, linfomi B della zona marginale o, raramente, linfomi T) [15, 16, 17]. Il reperto istologico di un’adenopatia di tipo sarcoideo impone quindi attente correlazioni clinico-patologiche per chiarirne l’etiopatogenesi.

1.2.3 Adenopatie specifiche non granulomatose

Come precedentemente accennato, le linfadeniti specifiche di tipo non granulomatoso comprendono numerose entità, le più frequenti delle quali sono le linfadeniti in corso di mononucleosi infettiva (*i.e.* infezioni acute da virus di Epstein Barr [EBV]), la linfadenite di Piringer-Kukchinka e la KFD. Altre forme includono le linfadeniti associate a IgG4 e alcune linfadenopatie in corso di immunodeficienza.

Le iperplasie linfoidi secondarie a infezione da EBV sono caratterizzate da parziale/completo sovvertimento dell'architettura nodale con spiccata iperplasia follicolare e zone paracorticali espanse e distorte. Possono essere inoltre documentati focolai di necrosi. Gli elementi linfoidi sono estremamente eterogenei, variando da linfociti maturi di piccola taglia, a blasti atipici di grande taglia (anche sternbergoidi), a plasmacellule in varia fase maturativa. Da un punto di vista fenotipico, la mononucleosi infettiva si caratterizza per un infiltrato polimorfo a cellule B (CD20-positive) e T (CD3-positive) con quote variabili (spesso prominenti) di blasti attivati CD30-positivi. Le plasmacellule e i blasti di grande taglia risultano politipici per le catene leggere delle immunoglobuline. Restrizioni clonali dei linfociti B e/o T sono, tuttavia, possibili e non devono essere considerate indicative di una proliferazione neoplastica. L'ibridazione *in situ* per acidi nucleici di EBV (EBER) dimostra positività in quote variabili di cellule B e (più raramente) T. Le cellule infettate da EBV hanno taglia e fase differenziativa molto eterogenea [18]. Le caratteristiche cito-architetturali dei linfonodi in corso mononucleosi infettiva possono mimare processi linfoproliferativi di alto grado. In tale contesto, la diagnosi di mononucleosi è supportata dalla presenza di elementi atipici sia di linea B che di linea T, dalla positività per EBV in cellule di taglia molto variabile e dal quadro clinico-anamnestico [18].

La linfoadenite di Piringer-Kukchinka è un'adenopatia specifica secondaria a infezione da *T. gondii*. Essa colpisce pazienti di qualsiasi età e si presenta con quadri clinici che possono mimare una neoplasia linfoide (adenopatia generalizzata PET-captante con sintomi sistemici) [19]. Da un punto di vista istologico, la linfoadenopatia da *T. gondii* è caratterizzata da spiccata iperplasia follicolare (anche associata ad aspetti di follicololisi), con aggregati perifollicolari di cellule B monocitoidi e numerosi istiociti epiteliodi. Questi ultimi sono distribuiti nelle zone paracorticali e solo raramente si organizzano in micro-aggregati. Franchi aspetti granulomatosi sono, tuttavia, assenti [20]. La diagnosi differenziale con proliferazioni linfoidi neoplastiche si basa sulla sostanziale preservazione dell'architettura nodale e sull'assenza di evidenti aberrazioni fenotipiche.

Oltre alle linfoadeniti da mononucleosi infettiva e in corso di toxoplasmosi, altre adenopatie specifiche possono mimare processi linfoproliferativi. Tra queste, vanno ricordate le linfoadenopatie da HIV, le adenopatie correlate a IgG4 e la KFD. Le

prime si caratterizzano per un'iniziale spiccata iperplasia follicolare, cui fa seguito una progressiva deplezione dei centri geminativi e delle popolazioni linfoidi con iperplasia di vasi di piccolo calibro e quote variabili di elementi EBV-postivi. Tali reperti possono mimare linfomi a cellule T periferiche (*i.e.* linfoma T angioimmunoblastico) [21] o la malattia di Castleman [22]. Simili considerazioni valgono per le adenopatie correlate a IgG4, che (almeno in alcune varianti) possono mimare la malattia di Castleman o processi linfoproliferativi quali il linfoma di Hodgkin nodulare a prevalenza linfocitaria [23]. La KFD presenta caratteristiche peculiari, che la distinguono nettamente da tutte le altre adenopatie dell'età pediatrica e che possono mimare linfomi a cellule T clinicamente aggressivi.

1.3 La malattia di Kikuchi-Fujimoto (KFD)

La KFD è una rara linfadenopatia dell'età pediatrico-adolescenziale, caratterizzata da abnorme proliferazione di linfociti T citotossici. La presentazione clinica e le caratteristiche istologiche della KFD sono molto diverse da quelle delle altre adenopatie reattive dell'età pediatrica. La comprensione di tali peculiarità è fondamentale per un corretto inquadramento della malattia e per evitare errori diagnostici potenzialmente gravi.

1.3.1 Caratteristiche clinico-epidemiologiche della KFD

La KFD colpisce prevalentemente pazienti di età pediatrica/giovane adulta (età media alla diagnosi: 13-30 anni, secondo le casistiche; *range*: 5-59 anni) [24,25] con prevalenza nel sesso femminile (rapporto maschi:femmine di 1:4). La KFD ha un'incidenza annua di circa 2.8 casi/1.000.000 abitanti e colpisce frequentemente pazienti di origine asiatica/medio-orientale [24].

Da un punto di vista clinico, la malattia si manifesta con linfadenopatie laterocervicali o sovraclaveari (90% dei casi) e con frequente interessamento di altre stazioni linfonodali superficiali (52% dei casi) [26]. Epatomegalia, splenomegalia e adenopatie profonde sono rare (15-18% dei casi). La maggior parte dei pazienti lamenta sintomi sistemici, come astenia (70-75% dei casi), febbricola (67% dei casi), calo ponderale (51.2%) o, più raramente, artro-mialgie e manifestazioni cutanee [26]. Gli esami ematochimici dimostrano alterazioni

secondarie a uno stato infiammatorio sistemico, quali citopenie di grado lieve, monocitosi, incremento della velocità di sedimentazione eritrocitaria e dei livelli sierici di proteina C reattiva, di ferritina e di lattato deidrogenasi [2]. Una quota di pazienti presenta inoltre positività per anticorpi anti-nucleo (ANA; 50% dei casi) o anti-DNA (18% dei casi) [26].

Il decorso clinico della KFD è solitamente benigno e auto-limitantesi. Recidive di malattia sono tuttavia riportate in circa il 20% dei casi [26]. Una netta minoranza di pazienti può sviluppare complicanze gravi, quali sindromi emofagocitiche [27]. Le terapie per la KFD comprendono corticosteroidi per via sistemica, idrossiclorochina (soprattutto nei pazienti con comorbidità autoimmuni) e/o immunoglobuline endovena [26].

1.3.2 Eziopatogenesi della KFD

L'eziopatogenesi della KFD è ancora dibattuta. La maggior parte degli studi propone l'esistenza di *trigger* immunologici, in grado di stimolare l'espansione di popolazioni T citotossiche abnormi. Sono così ammesse forme idiopatiche di malattia e forme potenzialmente associate a infezioni o a condizioni di disimmunità [28,77].

Per quanto riguarda gli agenti infettivi, numerosi studi hanno proposto una varietà di virus o batteri come *trigger* di KFD. Tra i primi vi sono EBV e altri herpesvirus (HSV1, HSV2, VZV, CMV, HHV6, HHV7 e HHV8), parvovirus B19, il papillomavirus umano (HPV), il virus dell'epatite B (HBV), retrovirus quali HIV 1/2 e HTLV-1, il virus della rosolia, paramyxovirus e alcuni virus parainfluenzali [28,77]. Una metanalisi di studi di letteratura sembra escludere un ruolo diretto per la maggior parte di questi agenti patogeni, fatta eccezione per HHV8 [28]. Tra i possibili *trigger* di natura batterica sono stati, invece, proposti *Brucella spp*, *B. henselae*, *T. gondii*, *Y. enterocolitica*, *E. histolytica* e numerosi micobatteri. Nessuno di questi è stato tuttavia isolato in modo riproducibile dai linfonodi della KFD [28,77].

L'ipotesi di un'eziologia autoimmune è sostenuta dalla frequente associazione tra KFD (o condizioni simil-KFD) e lupus eritematoso sistemico (LES), sindrome di Sjögren, granulomatosi con poliangioite, artrite reumatoide e morbo di Still [77].

L'associazione più forte sembra, in particolare, quella con il LES. In accordo con tali osservazioni, i pazienti lupici sviluppano frequenti adenopatie simili alla KFD. La diagnosi differenziale tra quest'ultima e una linfadenite lupica può quindi essere complicata (*vide infra; paragrafo 1.3.4*) [7].

1.3.3 Caratteristiche istologiche della KFD

Da un punto di vista istologico, la KFD appartiene al gruppo delle linfadenopatie specifiche non granulomatose. Caratteristica peculiare di questa adenopatia è la presenza di ampi aggregati di blasti T citotossici, variabilmente associati ad aree di necrosi e a istiociti schiumosi. In base alla combinazione di tali elementi, si distinguono tre fasi di malattia: (i) KFD in fase proliferativa (pKFD); (ii) KFD in fase necrotizzante (nKFD); e (iii) KFD in fase xantomatosa (xKFD) [29,77].

La pKFD presenta parziale sovvertimento dell'architettura nodale da parte di aggregati di blasti T di grande taglia, localizzati nelle zone paracorticali. I blasti T sono mitoticamente attivi, hanno cromatina grossolanamente dispersa ed evidenti nucleoli. Adiacenti a tali aggregati, sono presenti elementi istiociti di media taglia con citoplasma chiaro e nucleo convoluto/reniforme (*crencent cells*). Tali cellule esprimono l'enzima mieloperossidasi (MPO) e sono caratteristiche della KFD [30]. Oltre alle *crencent cells*, sono inoltre presenti cellule plasmocitoidi dendritiche CD123/CD303-positive.

La nKFD si differenzia dalla pKFD per la presenza di ampie aree di necrosi in corrispondenza degli aggregati di cellule T paracorticali. La necrosi è il risultato della morte e disfacimento dei blasti citotossici, è caratteristicamente priva di cellule infiammatorie e non dimostra aspetti di ascessualizzazione. Come nella pKFD, anche la nKFD si caratterizza per la presenza di *crencent cells* e cellule plasmocitoidi dendritiche [31].

La xKFD costituisce la fase finale della malattia ed è caratterizzata da numerosi istiociti (anche schiumosi/xantomatosi) con riduzione dei blasti T e progressivo riassorbimento delle aree di necrosi. *Crencent cells* e cellule plasmocitoidi dendritiche sono ridotte [31,77].

La caratterizzazione immunocistochemica della KFD dimostra diffusa positività per marcatori di linea T (CD3, CD2, CD5, CD7) nelle aree paracorticali. I blasti citotossici esprimono ad alta intensità CD8 e TIA1, con variabile (solitamente intensa) positività per perforina e Granzyme B [32]. Le aree follicolari sono positive per CD20 e per altri marcatori di linea B e dimostrano regolare espressione di CD10, Bcl6 e Bcl2. L'indice proliferativo dei blasti citotossici (reazione per Ki67) è solitamente molto alto (>50%) nella pKFD e tende a ridursi nella nKFD e nella xKFD.

Per quanto aberrazioni fenotipiche dei linfociti T siano state riportate in corso di KFD [33], poco ancora si sa sul loro tipo e sulla loro frequenza relativa. Una precisa definizione di questi aspetti potrebbe contribuire a un miglior inquadramento istologico della malattia, supportando la diagnosi differenziale con altre condizioni benigne e maligne.

1.3.4 Diagnosi differenziale della KFD

La diagnosi differenziale della KFD varia secondo le fasi di malattia.

In fase proliferativa, la KFD deve essere differenziata da: (i) alcune infezioni virali (e.g. mononucleosi infettiva); (ii) adenopatie disimmuni (adenopatia lupica); e (iii) linfomi a cellule T periferiche. La diagnosi differenziale con la mononucleosi infettiva si basa sulla negatività dei blasti citotossici per EBV e sul pressoché completo risparmio dei follicoli B. La distinzione tra pKFD e adenopatia lupica può essere molto complicata. Quest'ultima, tuttavia, è caratterizzata da una maggior quota di plasmacellule, dalla presenza di corpi ematossilinofili (*i.e.* aggregati di materiale amorfo di colore blu/viola, corrispondenti a nuclei degenerati), da iperplasia T spiccatamente peri-follicolare e dalla diffusa positività per C4d nel parenchima linfonodale. In casi particolarmente complessi, è tuttavia necessario integrare i reperti istologici con i dati clinico-sierologici e reumatologici [34]. Anche la diagnosi differenziale con i linfomi a cellule T può essere molto complessa. In generale, un linfoma T determina, tuttavia, maggior sovvertimento dell'architettura nodale, ha evidenti atipie citologiche/fenotipiche e non si associa a espansione di cellule plasmocitoidi dendritiche e *crescent cells* [78].

In fase necrotizzante, la KFD deve essere distinta dalla linfadenite tubercolare, dalla malattia da graffio di gatto e dal linfogranuloma venereo. Diversamente dalla nKFD, queste adenopatie sono tuttavia di natura granulomatosa e presentano necrosi diversa da quella della KFD (caseosa nella tubercolosi; ascessualizzata nella malattia da graffio di gatto e nel linfogranuloma venereo).

In fase xantomatosa, la KFD deve, infine, essere distinta da: (i) adenopatie aspecifiche ricche in istiociti; (ii) adenopatia di Whipple; e (iii) adenopatia dermatopatica. Diversamente da tutte queste, la xKFD presenta *crescent cells*, cellule plasmocitoidi dendritiche e quote residue di blasti T di grande taglia. Gli istiociti, inoltre, non dimostrano la tipica reattività istochimica della malattia di Whipple (*i.e.* intensa positività granulare alla colorazione con acido periodico di Schiff). Nella xKFD sono, infine, assenti gli aggregati intra-sinusali e paracorticali di cellule di Langerhans, tipici delle adenopatie dermatopatiche.

Per quanto questi criteri consentano di porre diagnosi in molti casi, la distinzione tra KFD e suoi mimi può essere assai complessa. Tra tutti, i problemi più gravi sono quelli che riguardano la diagnosi differenziale tra KFD e linfomi aggressivi dell'età pediatrica. Per chiarire queste problematiche, è quindi importante approfondire gli aspetti clinici e istopatologici delle più frequenti neoplasie linfoidi di questa fascia d'età.

1.4 Neoplasie linfoidi dell'età pediatrica

Le neoplasie linfoidi dell'età pediatrico-adolescenziale comprendono un ampio spettro di entità, tra cui linfomi di Hodgkin e linfomi non-Hodgkin a cellule B e cellule T. Questi ultimi possono essere ulteriormente classificati in forme derivate da precursori (linfomi/leucemie linfoblastiche a cellule B e cellule T) e forme derivate da cellule periferiche/mature. Ai fini del presente studio, nei paragrafi che seguono saranno trattate le neoplasie linfoidi derivate da linfociti B e T periferiche. Queste ultime, infatti, sono quelle che mimano più frequentemente la KFD da un punto di vista clinico.

1.4.1 Linfomi di Hodgkin

I linfomi di Hodgkin (HL) sono le più comuni neoplasie dell'età adolescenziale (22% di tutti i tumori di questa fascia d'età) e costituiscono circa il 5% delle neoplasie dell'età pediatrica. L'incidenza dei LH aumenta progressivamente dopo la pubertà e raggiungere un picco intorno ai 20-25 anni di età. Nei bambini di età inferiore ai 5 anni, i LH sono molto rari e si associano spesso a condizioni di immunodeficienza [35]. Da un punto di vista classificativo, i HL si distinguono in (i) HL classico (cHL; 90% dei casi) e (ii) LH nodulare a prevalenza linfocitaria (NLPHL; 10% dei casi). Per quanto condividano alcune caratteristiche clinico-patologiche, cHL e NLPHL sono neoplasie biologicamente molto diverse.

I cHL si presentano solitamente con adenopatie laterocervicali o cervico/mediastiniche e tendono a progredire verso stazioni linfonodali limitrofe, verso la milza e il fegato. La diffusione avviene in senso cranio-caudale senza saltare stazioni linfonodali intermedie. Il NLPHL ha comportamento clinico più eterogeneo. Esordisce più spesso in sede latero-cervicale, ma presentazioni ascellari, addominali o inguinali sono relativamente comuni. La progressione non avviene per contiguità e possono essere coinvolte stazioni linfonodali anche molto distanti tra loro [78].

Da un punto di vista istologico, cHL e NLPHL sono caratterizzati da: (i) cellule neoplastiche di grande taglia con nucleo polilobato; (ii) ricco *background* infiammatorio; (iii) rosette di linfociti T attorno alle cellule diagnostiche. Al di là di queste caratteristiche comuni, cHL e NLPHL differiscono per la citologia e il fenotipo delle cellule neoplastiche e per le caratteristiche del *background* infiammatorio.

Il cHL si caratterizza per cellule neoplastiche di grande taglia mono/multi-nucleate con evidenti nucleoli eosinofili. Le prime sono definite “cellule di Hodgkin”, le seconde “cellule di Reed-Sternberg”. Varianti di cellule diagnostiche del cHL sono le “cellule lacunari” (elementi con citoplasma retratto per artefatti da fissazione in formalina) e le “cellule mummificate” (elementi in apoptosi). Da un punto di vista fenotipico, le cellule del cHL sono positive per CD30 e PAX5 (positività debole), negative a marcatori di linea B e T e variabilmente positive per CD15 (85% dei casi) ed EBER (25-75% dei casi). Fenotipi aberranti (*e.g.* espressione di multipli

marcatori di linea T o B) sono riportati nel 10-30% dei casi [36]. In base alle caratteristiche del *background* infiammatorio e all'architettura della proliferazione linfoide, si distinguono le seguenti forme di cHL: (i) varietà sclerosi nodulare (caratterizzata da noduli linfoidi ricchi di granulociti eosinofili, plasmacellule e istiociti, circoscritti da ampie bande di sclerosi); (ii) varietà ricca in linfociti (caratterizzata da *background* infiammatorio prevalentemente costituito da linfociti B maturi); (iii) varietà a deplezione linfocitaria (caratterizzata da aggregati confluenti di cellule diagnostiche o da estese aree di sclerosi); (iv) varietà a cellularità mista (caratterizzata da *background* infiammatorio misto, senza caratteristiche specifiche per una delle precedenti varianti) [37,78].

Il NLPHL si caratterizza per la presenza di cellule diagnostiche con nucleo polilobato/cerebroide (cellule LP o “popcorn”). Tali cellule hanno fenotipo B completo (intensa positività per CD20 e PAX5), sono negative per CD30 e CD15 ed esprimono EMA in circa il 50% dei casi. EBER è negativo nella quasi totalità dei NLPHL. A seconda del *pattern* di crescita, esistono le seguenti forme di NLPHL: (i) *pattern* A (caratterizzato da noduli di linfociti B, nel cui contesto sono presenti le cellule LP); (ii) *pattern* B (caratterizzato da aggregati serpiginosi di linfociti B contenenti cellule LP); (iii) *pattern* C (simile al *pattern* A/B, ma con cellule LP prevalentemente localizzate al di fuori dei noduli linfoidi B); (iv) *pattern* D (caratterizzato da noduli di linfociti T, nel cui contesto sono presenti cellule LP); (v) *pattern* E (caratterizzato da una proliferazione diffusa di linfociti T a prevalente fenotipo T CD4-positivo); (vi) *pattern* F (caratterizzato da una proliferazione diffusa di linfociti B). In rari casi, i linfociti T di accompagnamento di un NLPHL possono assumere caratteristiche citologiche atipiche, mimando un linfoma a cellule T periferiche [38]. In tale contesto, la presenza di isolate cellule atipiche con fenotipo B e l'assenza di riarrangiamento monoclonale dei geni del *T cell receptor* aiutano a porre la diagnosi corretta.

Per quanto cHL/NLPHL e KFD possano avere presentazione clinica simile, la valutazione istologica delle adenopatie sospette risolve la diagnosi differenziale nella maggior parte dei casi. La KFD, infatti, non ha gli elementi atipici del cHL e del NLPHL. Il fenotipo citotossico delle cellule atipiche della KFD è inoltre molto diverso dal *background* infiammatorio dei LH. Questi ultimi, infatti, anche quando ricchi di linfociti T atipici, dimostrano una predominanza di elementi T *helper*

(CD4-positivi) e contengono solo quote minoritarie di linfociti T citotossici (CD8-positivi).

1.4.2 Linfomi non-Hodgkin a cellule B periferiche dell'età pediatrica

I linfomi non-Hodgkin a cellule B periferiche sono i più comuni linfomi dell'età pediatrica e le seconde neoplasie linfoidi per frequenza dell'adolescente [39]. Essi comprendono per lo più forme biologicamente aggressive, quali il linfoma di Burkitt (BL), i linfomi B diffusi a grandi cellule (DLBCL) e i linfomi a grandi cellule traslocati in *IRF4*. In età pediatrica e giovane adulta sono riportati anche linfomi B indolenti e, in particolare, il linfoma follicolare di tipo pediatrico (PTFL) e il linfoma pediatrico della zona marginale (PMZL) [40,41].

Il BL è il linfoma a cellule B periferiche più frequente nella popolazione pediatrica (30-50% dei casi) [42]. Tale neoplasia deriva dalla trasformazione neoplastica dei linfociti B della zona scura del centro germinativo e si presenta in tre forme clinico-epidemiologiche: (i) il BL endemico (variante tipica delle regioni dell'Africa equatoriale, solitamente associato a infezione da EBV); (ii) il BL sporadico (più frequente in Europa occidentale e negli Stati Uniti d'America e spesso non associato a infezione da EBV); e (iii) il BL in stati di immunodeficienza (tipico di pazienti HIV-positivi e associato a infezione da EBV nel 25-40% dei casi) [78]. Da un punto di vista clinico, il BL coinvolge tipicamente sedi extra-nodali (ossa mascellari nella variante endemica; cavità addominale e tratto gastro-enterico nella variante sporadica) e ha decorso clinico rapido ed estremamente aggressivo. La forma associata a immunodeficienza dimostra interessamento nodale e midollare in una ricca quota di casi [78]. Istologicamente, il BL è caratterizzato da una proliferazione diffusa di blasti di media taglia con cromatina finemente dispersa e piccoli nucleoli. Nel contesto della neoplasia sono presenti numerosi istiociti, che fagocitano detriti cellulari. L'associazione di cellule neoplastiche e istiociti con citoplasma chiaro conferisce alla malattia il tipico aspetto "a cielo stellato". Da un punto di vista immunoistochimico, il BL dimostra costante espressione di marcatori del centro germinativo (Bcl6 e CD10), negatività/debole positività per Bcl2 ed elevatissimo indice proliferativo (Ki67 >99% delle cellule neoplastiche). I linfociti B del BL esprimono la proteina c-Myc a forte intensità. Ciò si deve alla presenza di traslocazioni ricorrenti, che giustappongono il gene *MYC* al promotore dei geni

delle catene pesanti o leggere delle immunoglobuline. Le traslocazioni che ne conseguono sono un *hallmark* per la diagnosi di BL e comprendono la t(8;14)(q24;q32) (riarrangiamento *MYC/IGH*; 80-85% dei casi), la t(2;8)(q11;q24) (riarrangiamento *MYC/IGK*; 10-15% dei casi), o la t(8;22)(q24;q11) (riarrangiamento *MYC/IGL*; 5-10% dei casi) [43].

I DLBCL sono i secondi più frequenti linfomi non-Hodgkin a cellule B dell'età pediatrica. Tali neoplasie dimostrano un ampio spettro di presentazioni cliniche e istologiche, potendo presentarsi come masse *bulky* extra-nodali o come linfoadenomegalie mono/pluri-stazionarie. Diversamente dal BL, i DLBCL sono composti da blasti di grande taglia con cromatina grossolanamente dispersa ed evidenti nucleoli. Il *pattern* di crescita della neoplasia è tipicamente diffuso. Da un punto di vista fenotipico, i DLBCL esprimono marcatori pan-B (CD20, CD79a e PAX5 a forte intensità) e hanno indice proliferativo medio-elevato (>30% delle cellule neoplastiche). L'espressione di marcatori del centro germinativo (CD10, Bcl6), di MUM1, Bcl2, c-Myc ed EBER è molto variabile e correla con la biologia e le caratteristiche clinico-prognostiche della malattia [44,45,46]. I DLBCL dell'età pediatrica/giovane adulta esistono in forme "non altrimenti specificate" (*i.e.* DLBCL, NOS) o in più rare varianti (*e.g.* linfoma a grandi cellule B primitivo del mediastino; DLBCL primitivo del testicolo; linfoma a grandi cellule B, ALK-positivo; DLBCL, NOS EBV-positivo). Tali varianti sono identificate sulla base della sede di insorgenza, delle caratteristiche morfologiche e del fenotipo delle cellule neoplastiche [40,41].

Una forma peculiare di linfoma B aggressivo dell'età pediatrica è anche il linfoma a grandi cellule B riarrangiato in *IRF4*. Tale patologia colpisce solitamente bambini, adolescenti o giovani adulti e si presenta come voluminose masse in corrispondenza dell'anello del Waldeyer, di linfonodi latero-cervicali o del tratto gastro-intestinale. Morfologicamente, il linfoma a grandi cellule riarrangiato in *IRF4* è caratterizzato da una proliferazione linfoide a *pattern* di crescita follicolare, follicolare/diffuso o completamente diffuso, costituita da blasti di media/grande taglia mitoticamente attivi, con cromatina dispersa ed evidenti nucleoli. Le cellule neoplastiche esprimono CD20, PAX5, CD79a e MUM1 a forte intensità, sono spesso positive per CD10 e Bcl6 ed esprimono CD5 in circa il 30-40% dei casi. L'indice proliferativo della neoplasia è solitamente elevato (>50% delle cellule totali) [47].

Da un punto di vista citogenetico, le cellule neoplastiche dimostrano riarrangiamento del gene *IRF4*, che viene più spesso giustapposto al promotore del gene delle *IGH* [48]. Per quanto istologicamente aggressivo, il linfoma a grandi cellule riarrangiato in *IRF4* sembra associato a una prognosi meno severa di quella dei DLBCL o del BL dell'età pediatrica.

Come precedentemente accennato, una minoranza di linfomi B dell'età pediatrica ha caratteristiche cliniche e istologiche indolenti. Questi linfomi comprendono in particolare il PTFL e il PMZL. Tali neoplasie si presentano come linfadenopatie latero-cervicali pauci/a-sintomatiche e di lunga durata. Nei casi di PTFL, l'esame istologico dimostra centri germinativi espansi e serpiginosi, poco polarizzati e con zone mantellari attenuate. Le cellule neoplastiche hanno fenotipo del centro germinativo (positività per CD10 e Bcl6) e sono quasi sempre negative per Bcl2 [49]. I PMZL si presentano, invece, come ampie aree nodulari di linfociti di piccola taglia, che circondano e infiltrano centri germinativi residui. Le cellule neoplastiche possono avere citoplasma chiaro e aspetti monocitoidi. Diversamente dal PTFL, i linfociti del PMZL sono negativi per marcatori del centro germinativo, esprimono Bcl2 e possono dimostrare gradi variabili di differenziazione plasmacellulare [50]. Recenti evidenze istologiche e molecolari suggeriscono che PTFL e PMZL rappresentino gli estremi di un unico spettro biologico. Il profilo mutazionale di tali entità è, infatti, largamente sovrapponibile e la valutazione istologica di un'ampia serie di casi ha documentato processi linfoproliferativi con caratteristiche morfologiche e fenotipiche ibride [51].

Da quanto finora discusso, emerge chiaramente come i linfomi B dell'età pediatrica/giovane adulta non rientrino nello spettro delle diagnosi differenziali istologiche della KFD. Tale malattia può tuttavia simulare linfomi a cellule T periferiche clinicamente e biologicamente aggressivi.

1.4.3 Linfomi non-Hodgkin a cellule T periferiche dell'età pediatrica

I linfomi a cellule T periferiche dell'età pediatrica comprendono entità sistemiche e forme primitivamente cutanee. Le prime sono quasi unicamente rappresentate dal linfoma anaplastico a grandi cellule (ALCL), ALK-positivo [52] e da rare proliferazioni linfoide indotte da EBV [53]. Le seconde comprendono disordini

linfoproliferativi, quali la micosi fungoide, alcune forme di papulosi linfomatoide e di processi linfoproliferativi T/NK EBV-positivi [50,54]. Di tutti questi, il linfoma che più di ogni altro entra in diagnosi differenziale con la KFD è l'ALCL, ALK-positivo. Ai fini del presente studio, saranno considerate nel dettaglio le caratteristiche clinico-patologiche e molecolari di questa sola entità.

L'ALCL, ALK-positivo costituisce circa il 10-20% di tutti i linfomi dell'età pediatrico-adolescenziale e dimostra una predilezione per il sesso maschile (rapporto maschi:femmine di 1,5:1). Questo linfoma ha presentazione clinica molto variabile [55], potendo interessare sedi nodali ed extra-nodali, quali la cute, l'apparato scheletrico, i tessuti molli, il tratto gastro-enterico e l'apparato respiratorio. La maggior parte dei pazienti presenta alla diagnosi malattia sintomatica (febbre, astenia, malessere, *rash* cutaneo) e in stadio avanzato. Nel 10% dei casi, sono presenti localizzazioni midollari.

Dal punto di vista istologico, l'ALCL, ALK-positivo è costituito da una proliferazione di blasti atipici di grande taglia, anche sternbergoidi e plurinucleati. Nel contesto di tale proliferazione sono presenti "cellule *hallmark*" (*i.e.* elementi atipici di grande taglia con nucleo a ferro di cavallo o reniforme). La popolazione neoplastica ha un *pattern* di crescita intra-sinusale, interstiziale o diffuso, che può ricordare una metastasi linfonodale di tumore solido [78]. L'insieme di queste caratteristiche istologiche definisce il così detto tipo "comune" di ALCL, ALK-positivo (60% circa dei casi). Oltre a questo, sono riportati *pattern* varianti, quali: (i) il *pattern* "linfo-istiocitico" (10% dei casi), caratterizzato da cellule neoplastiche di dimensioni minori, tendenti a formare aggregati perivascolari e associate a numerosi istiociti e linfociti reattivi di piccola taglia; (ii) il *pattern* "a piccole cellule" (10% dei casi), costituito da cellule neoplastiche di piccole/medie dimensioni, associate a rare cellule *hallmark*; (iii) il *pattern* "Hodgkin-like" (3-5% dei casi), caratterizzato da cellule neoplastiche di aspetto sternbergoidi, a distribuzione interstiziale o in aggregati; (iv) il *pattern* "misto" (10-15% dei casi), caratterizzato dalla co-esistenza di due o più dei *pattern* precedentemente descritti [56].

Da un punto di vista immunofenotipico, le cellule neoplastiche dell'ALCL, ALK-positivo sono invariabilmente positive per CD30 e per ALK1. La positività per

CD30 è tipicamente diffusa con rinforzo citoplasmatico *dot-like*. I marcatori di linea T (CD3, CD2, CD5, CD7) sono spesso positivi, per quanto difettività multiple siano comuni e costituiscano un potenziale *pitfall* diagnostico. I marcatori T più frequentemente difettivi sono CD3 e CD7 (>75% dei casi). Le cellule linfomatose esprimono CD4, sono quasi sempre negative per CD8 e hanno un fenotipo citotossico attivato (positività per TIA1, Granzyme B e perforina). MUM1, EMA, CD25 e CD45 sono inoltre comunemente positivi [57,58].

Da un punto di vista citogenetico, tutti gli ALCL, ALK-positivi sono caratterizzati da traslocazioni/aberrazioni cromosomiche coinvolgenti il gene *ALK* sul cromosoma 2p23. La traslocazione più frequente è la t(2;5)(p23;q35), che giustappone il gene *ALK* al gene *NPM1*. Ciò comporta positività citoplasmica e nucleare per ALK1. Traslocazioni varianti includono la t(1;2)(q25;p23) (13% dei casi; prodotto di fusione: *ALK::TMP3*), la t(2;3)(p23;q12.2) (1% dei casi; prodotto di fusione: *ALK::TFG*), la t(2;17)(p23;q23) (1% dei casi; prodotto di fusione: *ALK::CLTC*) e molte altre [59]. A seconda del *partner* di fusione, l'espressione di ALK varia da citoplasmatica granulare (traslocazione coinvolgente *CLTC*) a citoplasmica diffusa (traslocazioni coinvolgenti *TMP3* e *TFG*).

Il decorso clinico dell'ALCL, ALK-positivo è aggressivo e richiede terapie con regimi di poli-chemioterapia. Casi recidivi o refrattari sono candidabili a trapianto allogenico di cellule staminali e/o a regimi di *target therapy* contro CD30 (Brentuximab-vedotin) o altri bersagli molecolari [60]. Per quanto severa, la prognosi di questo linfoma è migliore di quella dell'ALCL, ALK-negativo (linfoma tipico dell'adulto, strettamente correlato alla variante pediatrica ALK-positiva) [55].

Da quanto riportato, risulta evidente che le caratteristiche cliniche e istologiche dell'ALCL, ALK-positivo possono somigliare a quelle della KFD. Entrambe le malattie possono, infatti, presentarsi con sintomi sistemici e sono morfologicamente costituite da blasti di grande taglia con parziale sovvertimento dell'architettura nodale. Le cellule neoplastiche hanno fenotipo T e possono dimostrare variabile difettività per CD3, CD2, CD5 o CD7. Criteri a favore della diagnosi di ALCL, ALK-positivo sono la positività immunoistochimica per CD4 e ALK1 delle cellule atipiche e la documentazione molecolare o FISH di traslocazioni coinvolgenti il

gene *ALK*. Più complessa è, invece, la diagnosi differenziale con processi linfoproliferativi T, *ALK*-negativi. Questi sono, tuttavia, eccezionali in età pediatrica e sono per lo più confinati in sedi extra-nodali.

Una più precisa definizione delle caratteristiche clinico-patologiche e delle aberrazioni fenotipiche della KFD potrebbe comunque aiutare a chiarire le alterazioni istologiche di questa malattia, supportando la diagnosi differenziale con i linfomi a cellule T dell'età pediatrica.

2. SCOPO DELLO STUDIO

Scopi del presente studio sono:

- (i) Descrivere le caratteristiche clinico-patologiche della KFD;
- (ii) Valutare la frequenza e il tipo di aberrazioni fenotipiche dei linfociti T nella KFD;
- (iii) Correlare le aberrazioni fenotipiche T con le caratteristiche cliniche e morfologiche della KFD.

3. MATERIALI E METODI

3.1 Disegno dello studio e selezione dei casi

Questo studio multicentrico ha considerato un *test set* di 17 casi di KFD, provenienti dall'U.O.C. di Anatomia Patologica dell'Università degli Studi di Padova, e un *validation set* di 41 casi, provenienti dall'Unità di Emolinfopatia dell'I.R.C.S.S. Policlinico Sant'Orsola di Bologna (34 casi) e dall'Unità di Anatomia Patologica dell'Università Vita e Salute/I.R.C.S.S. Ospedale San Raffaele di Milano (7 casi). Tutti i casi sono stati reclutati retrospettivamente nel periodo compreso tra il 1° gennaio 2000 e 1° settembre 2022.

Ai fini dello studio, sono stati considerati i seguenti criteri di inclusione: (i) diagnosi istologica di KFD o di adenopatia KFD-like; (ii) disponibilità di dati anagrafici completi; (iii) disponibilità di dati clinici relativi alla sede dell'adenopatia, a comorbidità autoimmuni/immunologiche e a sintomi sistemici al momento della biopsia; (iv) disponibilità di campioni istologici adeguati per la caratterizzazione morfologica e immunoistochimica. I dati clinici e istologici sono stati trattati in maniera anonimizzata e le attività dello studio sono state svolte in accordo con la dichiarazione di Helsinki e con le normative riguardanti la ricerca in ambito clinico.

3.2 Valutazione istologica

In tutti i casi, la diagnosi di KFD è stata confermata da due ematopatologi in sedute congiunte al microscopio. Dopo selezione dei preparati maggiormente rappresentativi, sono stati valutati i seguenti parametri istologici: (i) fase di malattia (proliferativa, necrotizzante o xantomatosa); (ii) presenza ed estensione percentuale di eventuali aree di necrosi; (iii) presenza e distribuzione di *crescent cells* (i.e. elementi istioidei positivi all'immunoreazione per MPO); (iv) presenza e distribuzione di cellule plasmocitoidi dendritiche (i.e. elementi istioidei positivi all'immunoreazione per CD123); (v) difettività per marcatori pan-T nei blasti citotossici (valutazione mediante immunoreazione per CD2, CD3, CD5 e CD7); (vi) presenza e quantificazione percentuale dell'espressione di MUM1 nei blasti citotossici (valutazione mediante doppia colorazione per MUM1/CD8); (vii) indice proliferativo dei blasti citotossici (immunoreazione per Ki67).

Ai fini della valutazione morfologica, sono state adottate le seguenti definizioni: (i) *fase proliferativa di malattia*: aggregati confluenti di blasti CD8-positivi con necrosi <10% della superficie biptica totale; (ii) *fase necrotizzante di malattia*: necrosi >10% della superficie biptica totale (indipendentemente dalla presenza di blasti CD8-positivi); (iii) *fase xantomatosa di malattia*: aggregati confluenti di istiociti (anche xantomatosi), necrosi <10% della superficie biptica totale, blasti CD8-positivi non tendenti alla confluenza.

3.3 Analisi immunoistochimiche e di ibridazione *in situ* per EBV

Le analisi immunoistochimiche sono state realizzate su sezioni di tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina dello spessore di 4 µm, utilizzando il Bond Polymer Refine Detection kit in un coloratore automatizzato (BOND-MAX *system*; Leica Biosystems – Newcastle upon Tyne, UK). Tutte le colorazioni sono state realizzate su sezioni intere, utilizzando i seguenti anticorpi primari: anti-CD3 (clone LN10; Leica Biosystems – Newcastle upon Tyne, UK), anti-CD2 (clone AB75; Dako – Golstrup, Danimarca), anti-CD5 (clone 4C7; Leica Biosystems), anti-CD7 (clone LP15; Biocare – Pacheco, CA, USA), anti-CD4 (clone 4B12; Dako), anti-CD8 (clone C8/144B, Dako), anti-CD123 (clone BR4MS; Leica Biosystems), anti-MPO (policlonale; Dako), anti-MUM1 (clone MUM1p, Dako). L'espressione di MUM1 nei linfociti T citotossici è stata valutata mediante doppie colorazioni immunoistochimiche MUM1/CD8 con sistemi di rilevazione Dako sia per MUM1 che per CD8. Ove opportuno, sono state eseguite anche analisi di ibridazione *in situ* per EBV (EBER), utilizzando la sonda CISH Bond EBER Probe (Leica Biosystems).

3.4 Elaborazione dei dati, analisi statistiche e analisi di immagine

Le differenze tra sottogruppi sono state valutate mediante test non parametrici per il confronto tra variabili qualitative (*Fisher's exact test*) e quantitative (*test Wilcoxon-Mann-Withney*). Tanto nel *test set* quanto nel *validation set*, l'associazione tra variabili quantitative è stata valutata mediante analisi di regressione lineare e coefficiente di correlazione di *Pearson*. L'associazione è stata considerata: (i) *forte*, per valori del coefficiente di correlazione r superiori a 0.5 o inferiori a -0.5; (ii) *media*, per valori del coefficiente di correlazione r compresi tra

0.3 e 0.5 o tra -0.5 e -0.3; (iii) *bassa*, per valori del coefficiente di correlazione r compresi tra -0.3 e 0.3. Le differenze tra i gruppi sono state considerate statisticamente significative per valori di $p < 0.05$.

Le analisi statistiche sono state condotte utilizzando il *software* SPSS 21.0 (IBM; Chicago – IL, USA) e il programma statistico SAS (SAS-PC, version 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC). Le analisi di immagine sono state realizzate utilizzando la fotocamera digitale Leica DFC295 e il *software* LAS X (Leica Microsystems; Milano – Italia).

4. RISULTATI

4.1 Caratteristiche cliniche dei casi del *test set*

La popolazione del *test set* comprendeva 5/17 (29,4%) pazienti di sesso maschile e 12/17 (70,6%) pazienti di sesso femminile con età media alla diagnosi di 25,5 anni (*range*: 10,8 - 57,7). Tale popolazione comprendeva 11/17 (64,7%) pazienti di origine caucasica, 5/17 (29,4%) pazienti di origine medio-orientale e 1/17 (5,9%) di origine africana.

Alla diagnosi, 8/17 (47,1%) pazienti presentavano sintomi sistemici (febbre, sudorazioni notturne, astenia, artralgie), mentre 9/17 (52,9%) pazienti riferivano linfadenomegalia asintomatica. Disturbi autoimmuni/reumatologici erano presenti in 6/17 (35,3%) casi. Nel dettaglio, 3/17 (17,6%) erano affetti da lupus eritematoso sistemico, 1/17 (5,9%) da dermatomiosite 1/17 (5,9%) da connettivite mista e 1/17 (5,9%) presentava anticorpi anti-nucleo positivi ad alto titolo, senza diagnosi accertata di specifica patologia reumatologica.

2/17 (11,8%) pazienti avevano anamnesi positiva per neoplasie linfoidi e 1/17 (5,9%) pazienti era affetto da neoplasia solida non-linfoma. Infine, 1/17 (5,9%) pazienti presentava comorbidità dismetabolica.

Nella maggior parte dei casi (13/17 [76,5%] pazienti), l'adenopatia era monostazionaria (adenopatia laterocervicale: 8/17 [47,1%] casi; adenopatia ascellare: 3/17 [17,6%] casi; sede di adenopatia non riportata: 2/17 [11,8%] casi). In 4/17 (23,5%) casi, erano interessate due o più regioni linfonodali (Tabella 1).

4.2 Caratteristiche istologiche della KFD

I campioni biotici del *test set* comprendevano 9/17 (52,9%) casi in fase proliferativa, 7/17 (41,2%) casi in fase necrotizzante e 1/17 (5,9%) casi in fase xantomatosa.

Nel dettaglio, le KFD in fase proliferativa erano caratterizzate da architettura linfonodale parzialmente sovvertita da aree nodulari ricche in blasti di grande taglia, mitoticamente attivi, con cromatina grossolanamente dispersa ed evidenti nucleoli. Tali cellule tendevano a formare aggregati confluenti, nel cui contesto erano

Tabella II. Caratteristiche clinico-patologiche della KFD (*test set*)

Variabile	pKFD (n=9)	n/xKFD (n=8)	Totale (n=17)	pKFD vs n/xKFD (<i>p-value</i>)
Età alla diagnosi (anni)	26,5 (10,8-57,7)	24,2 (10,9-44,5)	25,5 (10,8-57,7)	n.s.
Sesso (%)				
<i>Maschi</i>	2 (22,2)	3 (37,5)	5 (29,4)	n.s.
<i>Femmine</i>	7 (77,8)	5 (62,5)	12 (70,6)	
Etnia (%)				
<i>Caucasica</i>	6 (66,7)	5 (62,5)	11 (64,7)	n.s.
<i>Non caucasica</i>	3 (33,3)	3 (37,5)	6 (35,3)	
Sintomi sistemici (%)				
<i>Presenti</i>	4 (44,4)	4 (50,0)	8 (47,1)	n.s.
<i>Assenti</i>	5 (55,6)	4 (50,0)	9 (52,9)	
Comorbidità (%)				
<i>Nessuna</i>	5 (55,6)	2 (25,0)	7 (41,2)	n.s.
<i>Autoimmuni/reumatologiche</i>	1 (11,1)	5 (62,5)	6 (35,3)	
<i>Neoplastiche</i>	2 (22,2)	1 (12,5)	3 (17,6)	
<i>Dismetaboliche</i>	1 (11,1)	0 (0,0)	1 (5,9)	
Tipo di adenopatia (%)				
<i>Singola</i>	8 (88,9)	5 (62,5)	13 (76,5)	n.s.
<i>Pluristazionaria</i>	1 (11,1)	3 (37,5)	4 (23,5)	
Difettività per marker T (%)				
<i>Presente</i>	6 (66,7)	1 (12,5)	7 (41,2)	<0,05
<i>Assente</i>	3 (33,3)	7 (87,5)	10 (58,8)	
Positività per MUM1* (%)	54,4 (25,0-70,0)	14,0 (1,0-40,0)	36,8 (1,0-70,0)	<0,01
Positività media per CD30 (%)	39,6 (2,0-70,0)	9,0 (1,0-30,0)	24,3 (1,0-70,0)	<0,05
Estensione aree di necrosi (%)	5,0 (0,0-10,0)	51,9 (20,0-75,0)	27,1 (0,0-75,0)	<0,01
Indice proliferativo medio (%)	51,7 (15,0-75,0)	18,8 (5,0-55,0)	36,2 (5,0-75,0)	<0,01

Note: *valutazione riferita a doppia colorazione MUM1/CD8. **Abbreviazioni:** pKFD = malattia di Kikuchi Fujimoto in fase proliferativa; n/xKFD = malattia di Kikuchi Fujimoto in fase necrotizzante/xantomatosa

presenti linfociti maturi di piccola taglia e microfocolai di necrosi (aree necrotiche <10% della superficie biptica totale). Le aree necrotiche contenevano detriti cellulari, senza tuttavia aspetti di ascessualizzazione (*i.e.* assenza di granulociti neutrofili). All'interno delle aree ricche in blasti o in loro prossimità, erano anche presenti istiociti, cellule plasmocitoidi dendritiche e *crested cells*. Le cellule plasmocitoidi dendritiche e le *crested cells* erano presenti in tutti i casi come

cellule isolate o in aggregati di piccola e (occasionalmente) grande taglia (Figura 1A-B).

I linfonodi con KFD in fase necrotizzante avevano architettura parzialmente/totalmente sovvertita da ampie aree di necrosi nel cui contesto erano riconoscibili detriti cellulari (ma non granulociti neutrofili). Le aree di necrosi variavano dal 20% al 75% della superficie bioptica totale (valore medio: 56,4%) ed erano circondate da quote variabili di blasti di grande taglia (anche in aggregato), da istiociti, cellule plasmocitoidi dendritiche e *crencent cells*. Anche in questi casi erano presenti cellule plasmocitoidi dendritiche e *crencent cells* (Figura 1C-D).

Il solo caso di KFD in fase xantomatosa era caratterizzato da architettura linfonodale quasi completamente sovvertita da estese aree di sclerosi capsulare/sotto-capsulare, associate ad aggregati confluenti di istiociti epitelioidi e con citoplasma schiumoso (20% della superficie bioptica totale). A questi, si associavano aree di necrosi contenenti materiale proteinaceo amorfo e detriti cellulari. Nonostante l'alta quota di linfociti T citotossici, gli elementi blastici costituivano un'assoluta minoranza della popolazione linfoide totale (<1% delle cellule CD8-positive). Come nelle KFD in fase proliferativa e necrotizzante, sono state documentate cellule plasmocitoidi dendritiche e aggregati di *crencent cells* MPO-positive (Figura 1E-F).

4.3 Caratteristiche immunoistochimiche della KFD

Nella KFD in fase proliferativa/necrotizzante, la caratterizzazione immunoistochimica ha documentato positività per CD3 e CD8 negli aggregati di blasti di grande taglia. In tali aree, i linfociti T *helper* (CD4-positivi) erano rari (20-30% dei linfociti totali), di piccola/media taglia e privi di significative atipie. In tutti i casi, erano inoltre presenti follicoli linfoidi B (CD20-positivi), senza chiari aspetti di marginalizzazione (*i.e.* compressione in sede sotto-capsulare).

La caratterizzazione immunoistochimica per CD2, CD3, CD5 e CD7 ha documentato parziale/totale difettività per ≥ 1 marcatore pan-T in 7/17 (41,2%) casi. Di questi, i marcatori più frequentemente difettivi erano CD5 (6/17 [35,3%] casi),

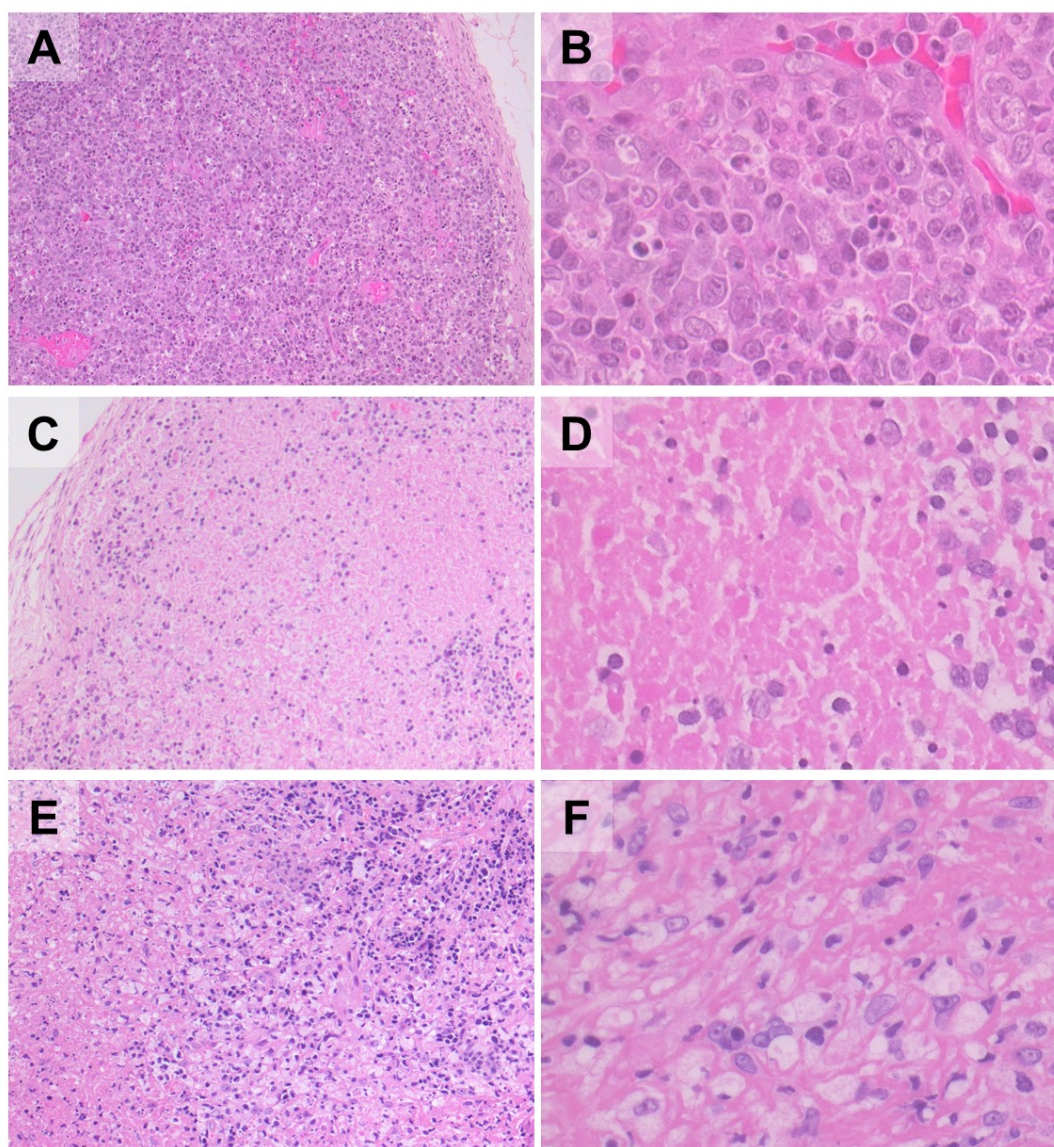


Figura 1. Caratteristiche istologiche della malattia di Kikuchi-Fujimoto. A-B. La KFD in fase proliferativa è caratterizzata da architettura linfonodale parzialmente sovvertita da aree nodulari ricche in blasti di grande taglia, mitoticamente attivi, con cromatina grossolanamente dispersa ed evidenti nucleoli. **C-D.** La KFD in fase necrotizzante è caratterizzata da ampie aree di necrosi, nel cui contesto sono riconoscibili detriti cellulari e rari blasti di grande taglia. **E-F.** La KFD in fase xantomatosa è caratterizzata da aggregati confluenti di istiociti epitelioidei (**E**), anche con citoplasma schiumoso (**F**). (Colorazione con ematossilina/eosina; ingrandimento originale: 10x e 40x).

CD3 (2/17 [11,8%] casi) e CD7 (2/17 [11,8%] casi). Difettività per ≥ 2 marcatori pan-T è stata documentata in 4/17 (23,5%) casi. La valutazione immunohistochimica per CD30 ha dimostrato positività variabile dall'1% al 70% dei linfociti nelle aree T. In tali aree, l'intensità dell'espressione di CD30 variava da debole/moderata a forte. L'indice proliferativo nelle aree T (immunoreazione per Ki67) è risultato eterogeneo, variando dal 5% al 75% degli elementi linfoidi.

Il confronto tra sottogruppi istologici di malattia, ha documentato più frequenti

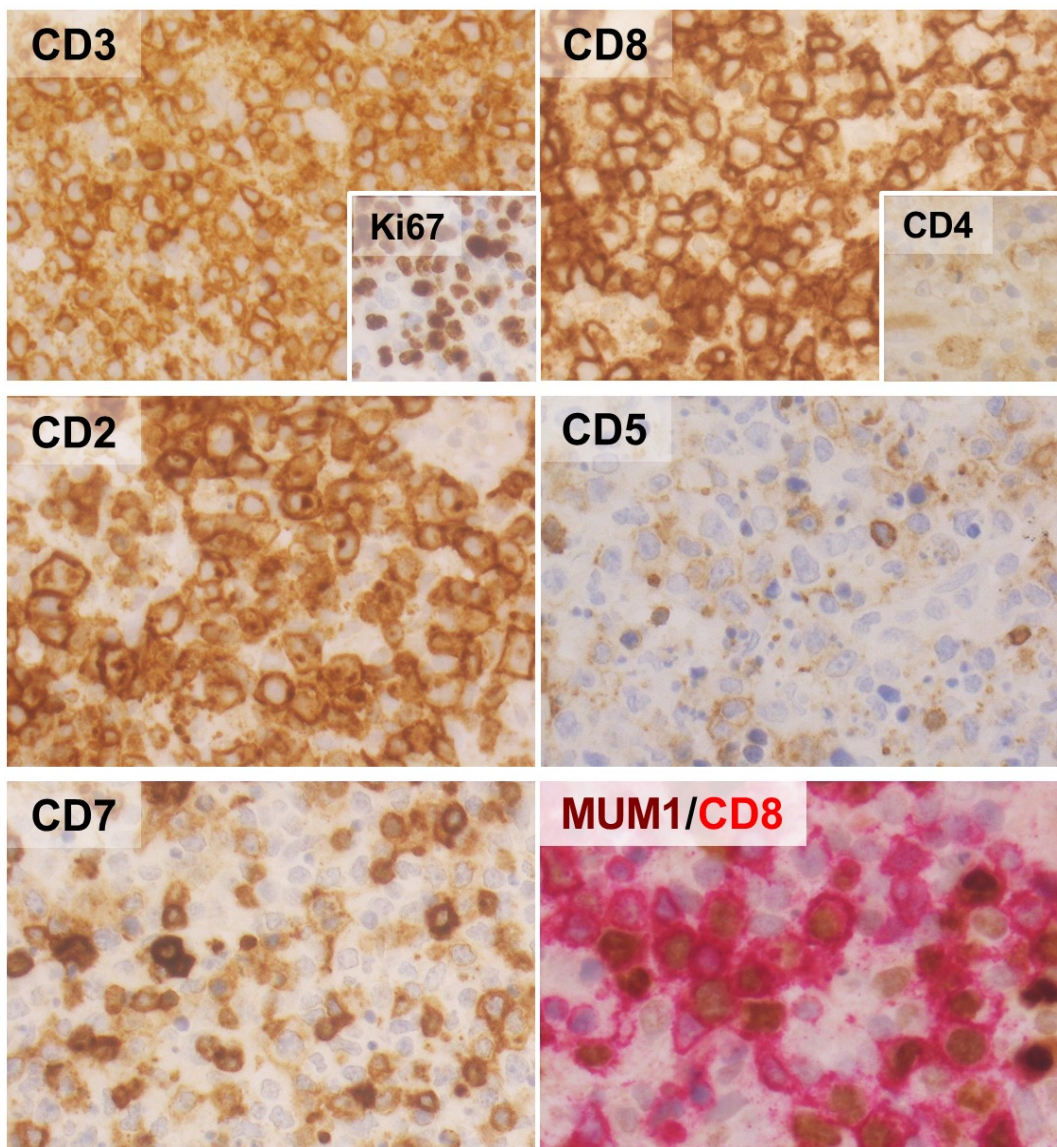


Figura 2. Caratteristiche immunoistochimiche della malattia di Kikuchi-Fujimoto. La caratterizzazione immunoistochimica della KFD documenta diffusa positività per CD3 e CD8 negli aggregati di blasti di grande taglia, con elevato indice proliferativo (pannello in alto a sinistra, *inserto*) e rari elementi CD4-positivi (pannello in alto a destra, *inserto*). Dei marcatori T, CD2 era frequentemente espresso, mentre CD5 e CD7 sono risultati spesso difettivi. Quote variabili di blasti CD8-positivi esprimevano inoltre MUM1. (Colorazione con immunoperossidasi; ingrandimento originale: 40x).

difettività pan-T nella fase proliferativa rispetto alla fase necrotizzante/xantomatosa (6/9 [66,7%] casi vs 1/8 [12,5%] casi; $p < 0.05$). I casi di KFD in fase proliferativa erano inoltre caratterizzati da più intensa espressione di CD30 (valore medio: 39,6% nei casi in fase proliferativa e 9,0% nei casi in fase necrotizzante/xantomatosa; $p < 0,05$) e più alto indice proliferativo (Ki67 medio: 51,7% nei casi in fase proliferativa e 18,8% nei casi in fase necrotizzante/xantomatosa; $p < 0.01$) (Figura 2).

4.4 Espressione di MUM1 nella KFD

Alcuni linfomi a cellule T periferiche (*i.e.* ALCL, ALK-positivo e ALK-negativo; sottotipi di PTCL, NOS) dimostrano frequente espressione di MUM1 [61,62]. Per chiarire il ruolo di tale marcatore nella diagnosi differenziale delle proliferazioni a cellule T, si è quindi valutata la sua espressione nelle KFD.

In tutti i casi del *test set*, la doppia colorazione MUM1/CD8 ha documentato la presenza di cellule T citotossiche esprimenti MUM1. La percentuale di cellule MUM1/CD8-positivo variava dall'1% al 70% dei linfociti CD8-positivi totali (valore medio: 36,8%). Tali cellule corrispondevano morfologicamente ai blasti attivati di grande taglia, tipici della KFD.

Il confronto tra sottotipi di malattia, ha documentato una maggior frequenza di cellule MUM1/CD8-positivo nella KFD in fase proliferativa rispetto alla KFD in fase necrotizzante/xantomatosa (54,4% vs 14,0%; $p < 0.01$). La positività per MUM1 correlava con l'indice proliferativo dei linfociti T citotossici (forte correlazione diretta, $r: 0,8$; $p < 0,01$) ma non con l'espressione di CD30 ($p > 0,05$) (Figura 3A). Una correlazione inversa è stata invece documentata tra l'espressione di MUM1 e l'estensione delle aree di necrosi ($r: -0,7$; $p < 0,01$) (Figura 3B). L'espressione di MUM1 non era invece associata alle caratteristiche cliniche della malattia e/o alla difettività per marcatori pan-T.

4.5 Validazione dei risultati relativi all'espressione di MUM1 nella KFD

I dati sull'espressione di MUM1 nella KFD sono stati confermati in un'ulteriore serie di 41 casi, provenienti da centri di riferimento per l'ematopatologia in Italia (Policlinico Sant'Orsola di Bologna e Ospedale San Raffaele di Milano). Tale *validation set* comprendeva 14/41 (34,1%) pazienti di sesso maschile e 27/41 (65,9%) pazienti di sesso femminile con età media alla diagnosi di 30,0 anni (*range*: 8,7-60,7). Da un punto di vista istologico, i casi del *validation set* comprendevano 14/41 (34,15%) KFD in fase proliferativa, 26/41 (63,41%) KFD in fase necrotizzante e 1/41 (2,44%) KFD in fase xantomatosa. Le caratteristiche demografiche e istologiche dei casi del *validation set* erano sovrapponibili a quelle dei pazienti del *test set* ($p > 0,05$).

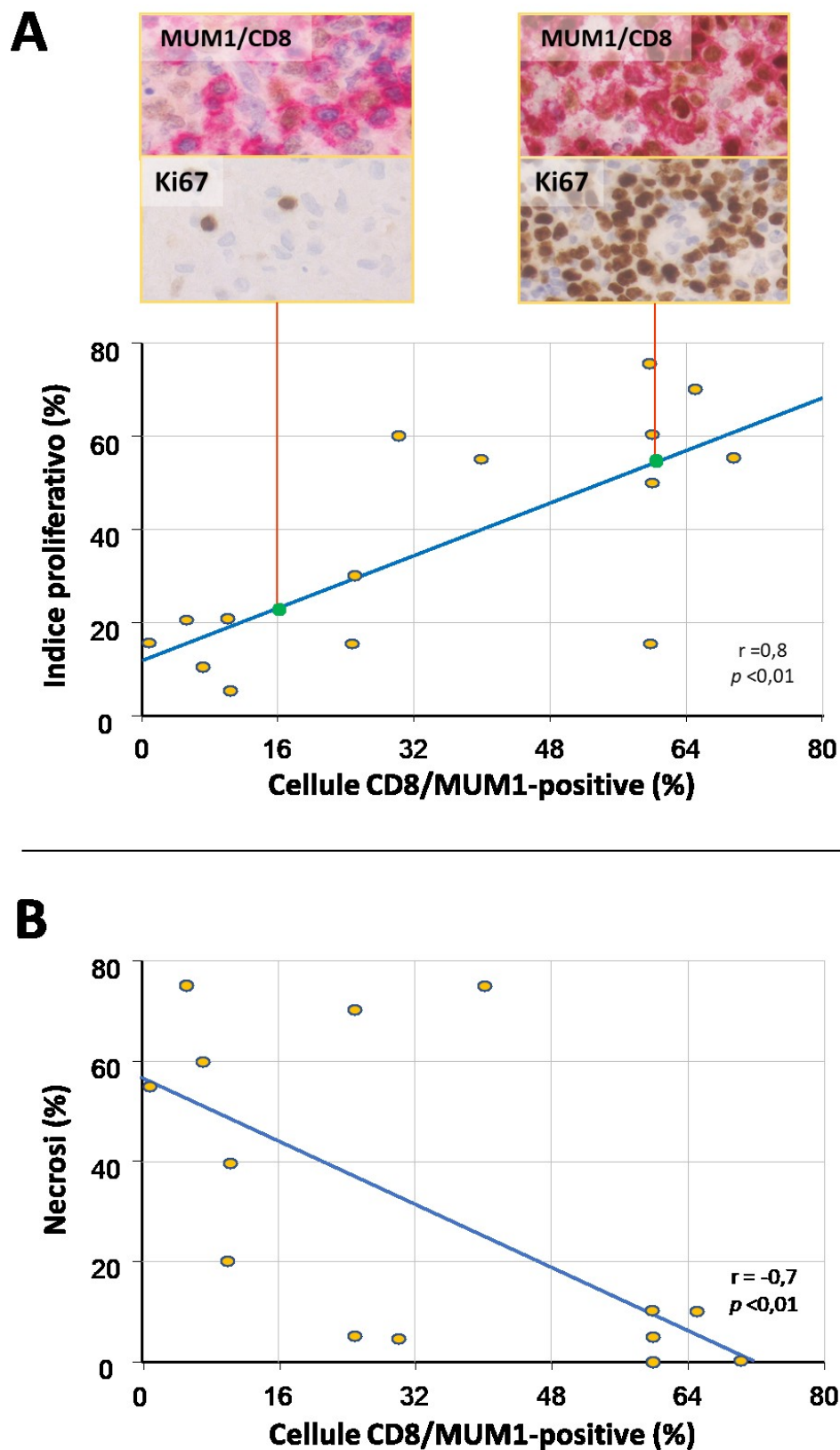


Figura 3. Correlazione tra l'espressione di MUM1, l'indice proliferativo delle cellule citotossiche e l'estensione delle aree di necrosi (*test set*). A. L'espressione di MUM1 nelle cellule T citotossiche era direttamente proporzionale al loro indice proliferativo. B. Il numero di cellule CD8/MUM1-doppio positive era invece inversamente proporzionale all'estensione delle aree di necrosi. (Immagini istologiche: colorazione con immunoperossidasi; ingrandimento originale: 40x).

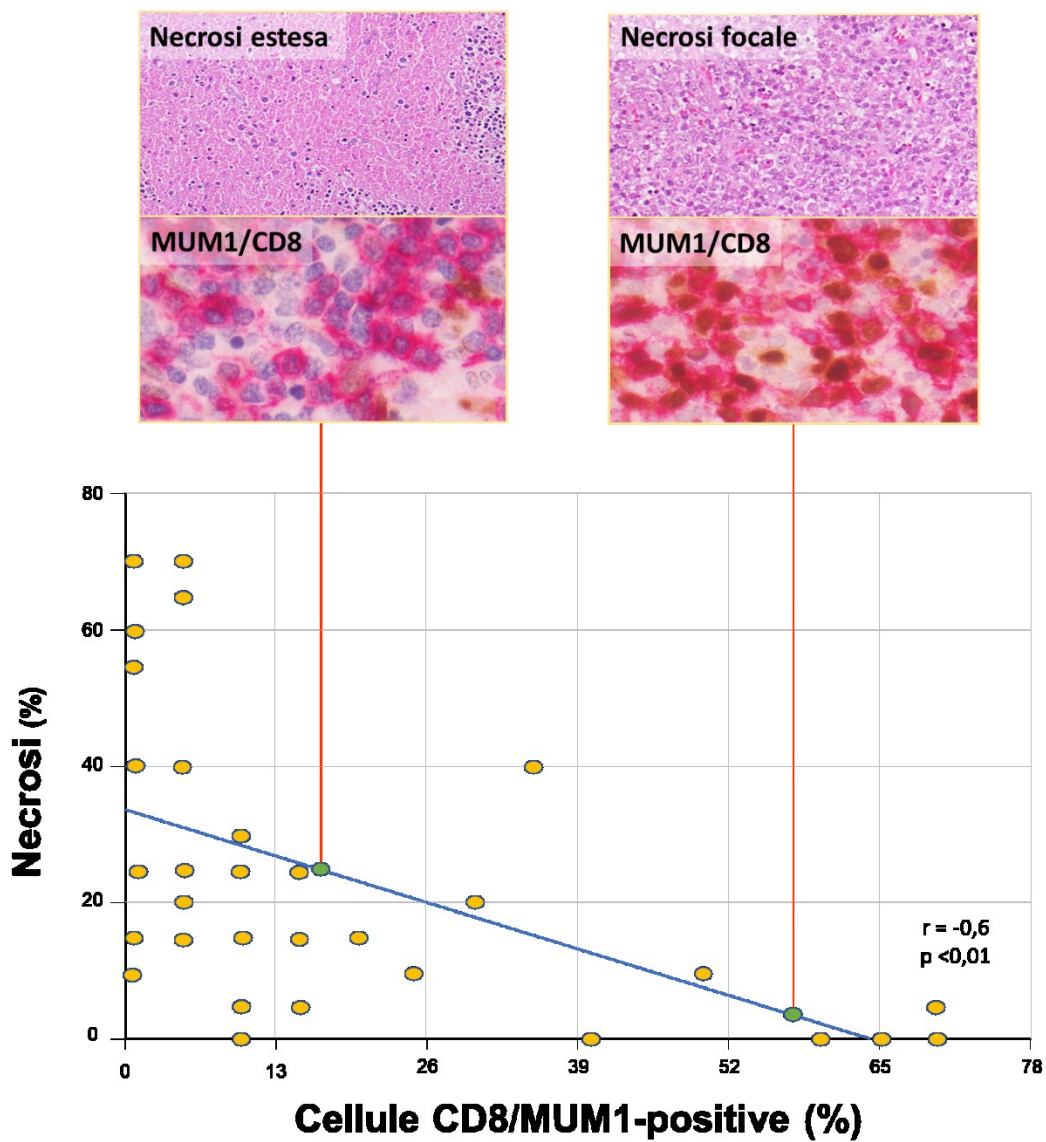


Figura 4. Correlazione tra l'espressione di MUM1 nelle cellule citotossiche e l'estensione delle aree di necrosi (*validation set*). Come nel *test set*, il numero di cellule CD8/MUM1-doppio positive correlava inversamente con l'estensione delle aree di necrosi. (Immagini istologiche: colorazione con ematossilina/eosina e immunoperossidasi; ingrandimento originale: 40x).

In accordo con i risultati ottenuti sulla coorte iniziale, la doppia colorazione MUM1/CD8 è risultata positiva in tutti i casi del *validation set* (espressione di MUM1 variabile dall'1% al 70% dei blasti CD8-positivi; valore medio: 20,8%). Anche in questo caso, le cellule MUM1/CD8-positive erano più abbondanti nella KFD in fase proliferativa rispetto a quella necrotizzante/xantomatosa (44,6% vs 8,4%; $p < 0.01$) e il loro numero correlava inversamente con l'estensione delle aree di necrosi (forte correlazione inversa, $r: -0,6$; $p < 0.01$) (Figura 4). La limitata disponibilità di immunoreazioni per CD30 e Ki67 nel *validation set* non ha consentito ulteriori studi di correlazione.

5. DISCUSSIONE

La KFD è una rara adenopatia reattiva dell'età pediatrico-adolescenziale con caratteristiche clinico-patologiche potenzialmente ambigue e di non univoco inquadramento [29]. Indipendentemente dalla fase di malattia, la KFD può, infatti, mimare neoplasie linfoidi aggressive, quali (in particolare) linfomi a cellule T periferiche [63,64]. In tali casi, solo un elevato indice di sospetto e l'integrazione di dati clinico-epidemiologici e istologici consente di porre la diagnosi corretta.

Per caratterizzare nel dettaglio lo spettro di alterazioni clinico-patologiche della KFD, il presente studio ha considerato un'ampia casistica retrospettiva, proveniente da tre centri di riferimento italiani per l'ematopatologia. Lo studio di questi casi ha permesso di valutare le caratteristiche clinico-epidemiologiche e le aberrazioni fenotipiche più frequenti nella KFD, consentendo di individuare correlazioni morfo-fenotipiche potenzialmente associate alla biologia della malattia.

In linea con quanto riportato in letteratura [65,77], la maggior parte dei pazienti della nostra casistica era di sesso femminile e di età pediatrica/giovane-adulta. Circa un terzo dei casi aveva anamnesi positiva per patologie autoimmuni (*lupus* eritematoso sistemico, dermatomiosite, connettivite, positività per ANA ad alto titolo) o per altre condizioni disimmuni (patologie linfoproliferative pregresse o in atto; malattie dismetaboliche). Tali associazioni sono frequenti nella KFD [65,66,67] e suggeriscono la presenza di *trigger* immunologici per l'espansione dei linfociti T citotossici.

Da un punto di vista istologico, la nostra casistica ha documentato una netta prevalenza di KFD in fase proliferativa e necrotizzante. Tali casi presentavano le tipiche alterazioni morfologiche della KFD, con parziale sovvertimento dell'architettura nodale da parte di aggregati confluenti di blasti T di media/grande taglia, associati a espansione di cellule plasmocitoidi dendritiche e a istiociti MPO-positivi (*crescent cells*). Quando presenti, le aree di necrosi erano caratterizzate da detriti cellulari senza aspetti di ascessualizzazione e senza reazioni di tipo granulomatoso. I casi di KFD in fase xantomatosa hanno dimostrato una netta riduzione degli elementi linfoidi T atipici e una ricca quota di istiociti epitelioidi, anche contenenti materiale lipidico (alterazioni verosimilmente secondarie alla

risoluzione del processo infiammatorio e al riassorbimento delle aree di necrosi). In tutte le fasi di malattia, la caratterizzazione immunoistochimica ha confermato la natura citotossica della proliferazione linfoide (positività per CD3 e CD8) con variabile espressione di CD30 e costante negatività per EBV (ibridazione *in situ* per EBER). La globalità di tali reperti ha così escluso adenopatie reattive di altra natura (e.g. linfadeniti granulomatose necrotizzanti; linfadeniti secondarie a mononucleosi infettiva) e linfomi a cellule T periferiche.

Nonostante ciò, la caratterizzazione immunoistochimica ha dimostrato frequenti aberrazioni fenotipiche dei linfociti T citotossici, potenzialmente interpretabili come atipie di natura neoplastica. Nel dettaglio, una ricca quota di KFD (7/17 [41.2%] casi del *test set*) ha dimostrato difettività per uno o più marcatori di linea T. Tra questi, il marcatore più frequentemente difettivo è risultato il CD5 (6/17 [35.3%]). Le cellule T citotossiche sono inoltre risultate positive per MUM1 in tutti i casi esaminati (*range* di positività variabile dall'1% al 70% delle cellule T). Tali reperti sono inusuali in corso di adenopatia reattiva e possono comportare significativi problemi nel *work-up* diagnostico della KFD. Le caratteristiche citologiche della popolazione linfoide, la perdita di marcatori pan-T, la positività per MUM1 e la variabile espressione di CD30 possono, infatti, suggerire la diagnosi di linfoma a grandi cellule anaplastico (ALCL) ALK-negativo o di linfoma a cellule T periferiche non altrimenti specificato (PTCL, NOS) [61,62,68]. In tale contesto, la diagnosi di KFD si fonda principalmente sull'integrazione di dati clinico-epidemiologici e di reperti istologici.

Per quanto riguarda gli aspetti clinico-epidemiologici, i PTCL, NOS e gli ALCL, ALK-negativi non rientrano nello spettro dei linfomi tipici dell'età pediatrica/adolescenziale. In tale fascia di età, le neoplasie a cellule T più comuni sono, infatti, gli ALCL, ALK-positivi e i linfomi/leucemie linfoblastiche a cellule T [78]. Tali neoplasie sono d'altra parte facilmente differenziabili dalla KFD, grazie alle loro caratteristiche fenotipiche e morfologiche (diffusa positività per ALK nell'ALCL, ALK-positivo; popolazione blastica di piccola/media taglia positiva per TdT, CD1a, CD34 e/o CD10 nei linfomi/leucemie linfoblastiche a cellule T) [78].

Oltre a considerazioni di tipo epidemiologico, anche specifici reperti istologici aiutano nella diagnosi differenziale tra KFD, PTCL, NOS e ALCL, ALK-negativo.

In particolare, la KFD dimostra solo parziale sovvertimento dell'architettura nodale e si associa a espansione di cellule accessorie (*crescent cells* e cellule plasmocitoidi dendritiche) solitamente assenti nei linfomi T. Gli ALCL, ALK-negativi sono inoltre quasi sempre negativi per CD8, pur dimostrando frequente positività per marcatori citossici [78]. Pochi marcatori immunoistochimici supportano invece la diagnosi differenziale tra KFD e PTCL, NOS. In sintesi, per quanto la KFD presenti caratteristiche morfologiche e immunofenotipiche talora ambigue, l'integrazione di dati clinico-epidemiologici, istologici e (ove necessario) molecolari consente un corretto inquadramento nella maggior parte dei casi.

Oltre a considerazioni di natura diagnostica, la documentazione di fenotipi T aberranti nella KFD suggerisce rilevanti questioni di tipo biologico. La perdita di marcatori pan-T potrebbe, in particolare, sottendere alterazioni funzionali/fenotipiche dei linfociti T, simili a quelle osservate in alcune infezioni virali [69] o in fenomeni infiammatori di specifici distretti corporei (*e.g.* difettività per CD7 nei linfociti T delle reazioni flogistiche cutanee) [70]. Di più complessa interpretazione è, invece, la costante positività per MUM1 nei linfociti T citotossici della KFD.

Per quanto spesso considerato un *marker* di differenziazione plasmacellulare espresso in modo aberrante nei linfomi T, MUM1 è un fattore di trascrizione ubiquitario, coinvolto nelle vie di trasduzione del segnale dell'interferone [71]. Positività immunoistochimica per MUM1 può essere quindi documentata nelle cellule di varie linee emopoietiche, tra cui linfociti, plasmacellule, elementi mieloidi e cellule dendritiche [71,72]. Nel caso dei linfociti T, MUM1 è coinvolto nella differenziazione delle popolazioni *helper* e citotossiche [73], contribuisce alla loro attivazione e alla regolazione delle risposte immunologiche contro agenti patogeni. Recenti studi hanno inoltre documentato un ruolo per MUM1 nella differenziazione dei linfociti T citotossici in cellule della memoria [74,75].

La rilevanza di MUM1 nelle risposte immunitarie T-mediate può quindi giustificare la positività nei linfociti della KFD, fornendo un razionale ai suoi profili di espressione nelle varie fasi di malattia. In particolare, la rilevanza di MUM1 nell'attivazione dei linfociti T può spiegare la diffusa positività per questa proteina nelle fasi proliferative di malattia e la forte correlazione diretta tra i suoi livelli di espressione e l'indice proliferativo dei linfociti citotossici. La ridotta

positività per MUM1 nelle fasi necrotizzanti/xantomatose di KFD e la correlazione inversa tra espressione della proteina ed estensione delle aree di necrosi possono essere interpretate in modo analogo, quale correlato immunohistochimico della ridotta attivazione immunologica di queste fasi di malattia.

Per quanto confermate in serie indipendenti di casi e sostenute da correlazioni statisticamente significative, queste ipotesi sono basate su pure analisi di associazione e richiedono conferme mediante studi sperimentali *in vivo/in vitro*. Nel complesso, le osservazioni del presente studio contribuiscono, tuttavia, a chiarire lo spettro di alterazioni fenotipiche della KFD e identificano possibili correlati biologici per spiegare quanto osservato nella pratica clinica.

6. CONCLUSIONI

La KFD è una patologia benigna dell'età pediatrica/adolescenziale, frequentemente associata a stati di autoimmunità/disimmunità. I reperti istologici della KFD comprendono un ampio spettro di alterazioni morfologiche e fenotipiche, che possono mimare linfomi a cellule T biologicamente aggressivi. L'integrazione di dati clinico-epidemiologici e istologici consente, tuttavia, un corretto inquadramento diagnostico nella maggior parte dei casi. La frequente difettività per marcatori pan-T e la positività dei linfociti citotossici per MUM1 costituiscono reperti caratteristici della KFD e sono potenzialmente associati alla spiccata attivazione immunologica che caratterizza questa malattia.

BIBLIOGRAFIA

1. Chang SS, et al. An approach to cervical lymphadenopathy in children. *Singapore Med J.* 2020;61(11):569–577.
2. Pizzi M, et al. Lymph node core needle biopsy for the diagnosis of lymphoproliferative disorders: A word of caution. *Eur J Haematol.* 2021;106:737-739.
3. Pizzi M, et al. Beware of Histiocytes: Whipple Adenopathy and its Mimics. *Int J Surg Pathol.* 2022;30(2):163-166.
4. Garces S, et al. Clinical, histopathologic, and immunoarchitectural features of dermatopathic lymphadenopathy: an update. *Mod Pathol.* 2020;33:1104-1121.
5. Vaienti S, et al. Lymph Node Involvement in Axillary Hidradenitis Suppurativa: A Clinical, Ultrasonographic and Bacteriological Study Conducted during Radical Surgery. *J Clin Med.* 2021;10(7):1433.
6. Jayalakshmi P, et al. Histopathology of lymph nodal tuberculosis--university hospital experience. *Malays J Pathol.* 1994;16(1):43-7.
7. Mirza S, et al. Diagnosis of tuberculosis lymphadenitis using a polymerase chain reaction on peripheral blood mononuclear cells. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;69(5):461-5.
8. Baek CH, et al. Polymerase chain reaction detection of *Mycobacterium tuberculosis* from fine-needle aspirate for the diagnosis of cervical tuberculous lymphadenitis. *Laryngoscope.* 2000;110(1):30-4.
9. Zangwill KM. Cat Scratch Disease and Bartonellaceae: The Known, the Unknown and the Curious. *Pediatr Infect Dis J.* 2021;40(5S):S11-S15.
10. Guttman PH. Pathology of cat-scratch disease. *Calif Med.* 1955;82(1):25-31.
11. Hadfield TL, et al. Demonstration of *Chlamydia trachomatis* in inguinal lymphadenitis of lymphogranuloma venereum: a light microscopy, electron microscopy and polymerase chain reaction study. *Mod Pathol.* 1995;8(9):924-9.
12. Rossi G, et al. Pathology of Sarcoidosis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2015;49(1):36-44.
13. Welter SM, et al. Histologic Review of Sarcoidosis in a Neck Lymph Node. *Head Neck Pathol.* 2018;12(2):255-258.
14. Li Y, et al. Presence of Granulomas in Mesenteric Lymph Nodes Is Associated with Postoperative Recurrence in Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2015;21(11):2613-8.

15. Du J, et al. Hodgkin's lymphoma with marked granulomatous reaction: a diagnostic pitfall. *Int J Clin Exp Pathol*. 2019;12(7):2772-2774.
16. Manipadam MT, et al. Primary splenic marginal zone lymphoma with florid granulomatous reaction--a case report and review of literature. *Pathol Res Pract*. 2007;203(4):239-43.
17. Yamashita Y, et al. Lennert's lymphoma: a variant of cytotoxic T-cell lymphoma?. *Am J Surg Pathol*. 2000;24(12):1627-33.
18. Louissaint Jr A, et al. Infectious mononucleosis mimicking lymphoma: distinguishing morphological and immunophenotypic features. *Mod Pathol*. 2012;25(8):1149-59.
19. Quiroz ES, et al. Toxoplasmic Lymphadenopathy Clinically Presenting as Lymphoma. *Cancer Control*. 1997;4(5):434-439.
20. Stansfeld AG. The histological diagnosis of toxoplasmic lymphadenitis. *J Clin Pathol*. 1961;14(6): 565-573.
21. Ost A, et al. Lymphadenopathy in HIV infection: histological classification and staging. *APMIS Suppl*. 1989;8:7-15.
22. Fajgenbaum DC, et al. International, evidence-based consensus diagnostic criteria for HHV-8-negative/idiopathic multicentric Castleman disease. *Blood*. 2017;129(12):1646-1657.
23. Cheuk W, Chan JKC. Lymphadenopathy of IgG4-related disease: an underdiagnosed and overdiagnosed entity. *Semin Diagn Pathol*. 2012;29(4):226-34.
24. Moinet F, et al. Epidemiology and Characteristics of Kikuchi-Fujimoto Disease in the African-Descent Population of Martinique, French West Indies. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2016;68(12):1883-1887.
25. Lin YC, et al. Pediatric Kikuchi-Fujimoto disease: A clinicopathologic study and the therapeutic effects of hydroxychloroquine. *J Microbiol Immunol Infect*. 2019;52(3):395-401.
26. Dumas G, et al. Kikuchi-Fujimoto disease: retrospective study of 91 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2014;93(24):372-382.
27. Nishiwaki M, et al. Kikuchi-Fujimoto Disease Complicated with Reactive Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Acta Med Okayama*. 2016;70(5):383-388.
28. Chong Y, Kang CS. Causative agents of Kikuchi-Fujimoto disease (histiocytic necrotizing lymphadenitis): A meta-analysis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2014;78(11):1890-7.

29. Perry AM, Choi SM. Kikuchi-Fujimoto Disease: A Review. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(11):1341-1346.
30. Pileri SA, et al. Myeloperoxidase Expression by Histiocytes in Kikuchi's and Kikuchi-Like Lymphadenopathy. *Am J Pathol*. 2001;159(3):915-24.
31. Chisholm KM, et al. A Malignant Mimicker: Features of Kikuchi-Fujimoto Disease in the Pediatric Population. *Pediatr Dev Pathol*. 2022;25(5):538-547.
32. Ohshima K, et al. Perforin and Fas pathways of cytotoxic T-cells in histiocytic necrotizing lymphadenitis. *Histopathology*. 1998;33(5):471-8.
33. Wei XJ, et al. Aberrant phenotypes in Kikuchi's disease. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(9):5557-5563.
34. Yu SC, et al. Distinguishing lupus lymphadenitis from Kikuchi disease based on clinicopathological features and C4d immunohistochemistry. *Rheumatology (Oxford)*. 2021;60(3):1543-1552.
35. *Epidemiol Prev* 2013; 37(1 Suppl 1):1-296.
36. Pizzi M, et al. Histology of pediatric classic Hodgkin lymphoma: From diagnosis to prognostic stratification. *Pediatr Blood Cancer*. 2020;67(5):e28230.
37. Agostinelli C, Pileri S. Pathobiology of Hodgkin Lymphoma. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2014;6(1):e2014040.
38. Sohani AR, et al. Nodular lymphocyte-predominant hodgkin lymphoma with atypical T cells: a morphologic variant mimicking peripheral T-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 2011;35(11):1666-78.
39. Sandlund JT, Martin MG. Non-Hodgkin lymphoma across the pediatric and adolescent and young adult age spectrum. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2016;2016(1):589-597.
40. Alaggio R, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1720-1748.
41. Campo E, et al. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. *Blood*. 2022;140(11):1229-1253.
42. Stefan DC, Lutchman R. Burkitt lymphoma: epidemiological features and survival in a South African centre. *Infect Agent Cancer*. 2014;9:19.

43. Berger R, Bernheim A. Cytogenetics of Burkitt's lymphoma-leukaemia: a review. *IARC Sci Publ.* 1985;(60):65-80.
44. Alizadeh AA, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature.* 2000;403(6769):503-11.
45. Pedrosa L, et al. Proposal and validation of a method to classify genetic subtypes of diffuse large B cell lymphoma. *Sci Rep.* 2021;11(1):1886.
46. Hu S, et al. MYC/BCL2 protein coexpression contributes to the inferior survival of activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphoma and demonstrates high-risk gene expression signatures: a report from The International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Blood.* 2013;121(20):4021-4031.
47. Salaverria I, et al. Translocations activating IRF4 identify a subtype of germinal center-derived B-cell lymphoma affecting predominantly children and young adults. *Blood.* 2011;118(1):139-47.
48. Ramis-Zaldivar JE, et al. Distinct molecular profile of IRF4-rearranged large B-cell lymphoma. *Blood.* 2020;135(4):274-286.
49. Louissaint Jr A, et al. Pediatric-type nodal follicular lymphoma: an indolent clonal proliferation in children and adults with high proliferation index and no BCL2 rearrangement. *Blood.* 2012;120(12):2395-404.
50. Rizzo KA, et al. Marginal zone lymphomas in children and the young adult population; characterization of genetic aberrations by FISH and RT-PCR. *Mod Pathol.* 2010;23(6):866-73.
51. Salmeron-Villalobos J, et al. A unifying hypothesis for PNMZL and PTFLL: morphological variants with a common molecular profile. *Blood Adv.* 2022;6(16):4661-4674.
52. Ferreri AJM, et al. Anaplastic large cell lymphoma, ALK-positive. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2012;83(2):293-302.
53. Montes-Mojarro IA, et al. Epstein - Barr virus positive T and NK-cell lymphoproliferations: Morphological features and differential diagnosis. *Semin Diagn Pathol.* 2020;37(1):32-46.
54. Wu JH, et al. Mycosis fungoides in pediatric patients: Clinical features, diagnostic challenges, and advances in therapeutic management. *Pediatr Dermatol.* 2020;37(1):18-28.
55. Hapgood G, Savage KJ. The biology and management of systemic anaplastic large cell lymphoma. *Blood.* 2015;126(1):17-25.
56. Piccaluga PP, et al. Pathobiology of anaplastic large cell lymphoma. *Adv Hematol.* 2010;2010:345053.

57. Muzzafar T, et al. Flow cytometric immunophenotyping of anaplastic large cell lymphoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133(1):49-56.
58. Lino-Silva LS, et al. Primary esophageal CD30-positive ALK-positive anaplastic large cell lymphoma with MUM1 expression. *Esophagus.* 2013;10:51-54.
59. Pizzi M, et al. Anaplastic lymphoma kinase: activating mechanisms and signaling pathways. *Front Biosci (Schol Ed).* 2015;7(2):283-305.
60. Prokoph N, et al. Treatment Options for Paediatric Anaplastic Large Cell Lymphoma (ALCL): Current Standard and beyond. *Cancers (Basel).* 2018;10(4):99.
61. Heo MH, et al. IRF4/MUM1 expression is associated with poor survival outcomes in patients with peripheral T-cell lymphoma. *J Cancer.* 2017;8(6):1018-1024.
62. Tsuboi K, et al. MUM1/IRF4 expression as a frequent event in mature lymphoid malignancies. *Leukemia.* 2000;14(3):449-56.
63. Chamulak GA, et al. Kikuchi-Fujimoto disease mimicking malignant lymphoma. *The American Journal of Surgical Pathology.* 1990;14(6):514-523.
64. Gism Elseed I, et al. Kikuchi-Fujimoto Disease: A Rare Benign Cause of Lymphadenopathy That Mimics Malignant Lymphoma. *Cureus.* 2022;14(3): e23177.
65. Bosch X, et al. Kikuchi-Fujimoto disease. *Orphanet J Rare Dis.* 2006; 1:18.
66. Bosch X, et al. Enigmatic Kikuchi-Fujimoto disease: a comprehensive review. *Am J Clin Pathol.* 2004;122(1):141-52.
67. Martínez-Vázquez C, et al. Histiocytic necrotizing lymphadenitis, Kikuchi-Fujimoto's disease, associated with systemic lupus erythematosus. *QJM.* 1997;90(8):531-3.
68. Falini B, et al. A monoclonal antibody (MUM1p) detects expression of the MUM1/IRF4 protein in a subset of germinal center B cells, plasma cells, and activated T cells. *Blood.* 2000;95(6):2084-92.
69. Weisberger J, et al. Down-regulation of pan-T-cell antigens, particularly CD7, in acute infectious mononucleosis. *Am J Clin Pathol.* 2003;120(1):49-55.
70. Alaibac M, et al. CD7 expression in reactive and malignant human skin T-lymphocytes. *Anticancer Res.* 2003;23(3B):2707-10.

71. Gualco G, et al. MUM1/IRF4: A Review. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2010;18(4):301-10.
72. Garces S, et al. MUM1/IRF4 is Highly Expressed in Dermatopathic Lymphadenopathy: Potential Utility in Diagnosis and Differential Diagnosis. *Am J Surg Pathol*. 2022; in press.
73. Huber M, Lohoff M. IRF4 at the crossroads of effector T-cell fate decision. *Eur J Immunol*. 2014;44(7):1886-95.
74. Nayar R, et al. Graded levels of IRF4 regulate CD8+ T cell differentiation and expansion, but not attrition, in response to acute virus infection. *J Immunol*. 2014;192(12):5881-93.
75. Man K, et al. Transcription Factor IRF4 Promotes CD8+ T Cell Exhaustion and Limits the Development of Memory-like T Cells during Chronic Infection. *Immunity*. 2017;47(6):1129-1141.
76. Ioachim HL, Medeiros LJ, eds. *Ioachim's lymph node pathology*; Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, ©2009.
77. Masab M, et al, eds. *StatPearls*; Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.
78. Swerdlow SH, et al, eds. *WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues*; International Agency for Research on Cancer (IARC) 2017.