



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina

División de Estudios de Posgrado e Investigación

Secretaría de Salud del Distrito Federal

Dirección de Educación e investigación

Subdirección de Posgrado e Investigación

Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”

Curso Universitario de Especialización en Dermatología

Título de Tesis:

“Inmunofenotipo de linfocitos T en lesiones de Micosis Fungoide en estadios tempranos, antes y después del primer ciclo de tratamiento con PUVA, en pacientes del Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”.

Trabajo de Investigación

Preexperimental

Presentado por: Dr. Gustavo Armando Gómez Meléndez

Para Obtener el Diploma de Especialista en Dermatología

Director: Dr. Fermín Jurado Santa Cruz

Director de Tesis: Dra. María Antonieta Domínguez Gómez

Asesora Metodológica: Dra. María Luisa Peralta Pedrero





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

“Inmunofenotipo de linfocitos T en lesiones de Micosis Fungoide en estadios tempranos, antes y después del primer ciclo de tratamiento con PUVA, en pacientes del Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”.

Dr. Gustavo Armando Gómez Meléndez

Vo. Bo.

Dr. Fermín Jurado Santa Cruz

Director de Tesis y Profesor Titular del Curso de
Especialización en Dermatología

Vo. Bo.

Dr. Antonio Fraga Mouret

Director de Educación e Investigación

“Inmunofenotipo de linfocitos T en lesiones de Micosis Fungoide en estadios tempranos, antes y después del primer ciclo de tratamiento con PUVA, en pacientes del Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”.

Dr. Gustavo Armando Gómez Meléndez

Vo. Bo.

Dra. María Antonieta Domínguez Gómez

Jefa del Servicio de Fototerapia

Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”

Vo. Bo.

Dra. Martha Alejandra Morales Sánchez

Jefa de Enseñanza e Investigación

Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”

Dedicatoria y Agradecimientos

Dedicado a Diana y Gabriel (mis amores), que son el motor más importante para mi superación como médico, esposo y padre.

Agradecimientos:

A Dios porque “sus caminos son más altos” de lo yo puedo entender, y me ha llevado de la mano para ser Dermatólogo.

A mis Padres, por su amor, enseñanzas y apoyo.

A mis Maestros del Pascua, por su paciencia y sencillez.

Resumen

La Micosis Fungoide es el linfoma cutáneo de células T más frecuente, se caracteriza por un curso clínico indolente progresando lentamente por los estadios de mancha, placa y finalmente tumor, se caracteriza por presentar infiltrados de linfocitos T cooperadores maduros (CD4+, CD45RO+), con pérdida de marcadores de maduración (CD2, CD5 y CD7). En los estadios tempranos el tratamiento se encuentra dirigido exclusivamente a la piel, siendo la fototerapia UVA más psoraleno una de las opciones terapéuticas más utilizadas y con mayor efectividad, induciendo la remisión en hasta el 90% de los pacientes. A pesar de lograrse la remisión se pueden presentar recaídas e incluso progresión de la enfermedad.

Por lo anterior se decidió realizar un estudio destinado a conocer los cambios inducidos por la fototerapia, en el inmunofenotipo de linfocitos T de lesiones en pacientes con Micosis Fungoide en estadios tempranos.

Se incluyeron 8 pacientes con Micosis Fungoide en estadios IA y IB, en los que se realizó estudio inmunofenotípico antes y después del tratamiento con fototerapia PUVA, observándose una disminución significativa en la población de linfocitos T posterior al tratamiento, sin embargo al analizar la expresión de CD2, esta se encontró disminuida en todos los pacientes, indicando la persistencia del inmunofenotipo aberrante.

Abreviaturas

LCCT: Linfoma cutáneo de células T

LCCB: Linfoma cutáneo de células B

MF: Micosis Fungoide

TCR: Receptor de células T (Siglas en Ingles de: T cell receptor)

HTLV: Virus linfotrópico de células T del Humano (Siglas en Ingles de: Human T-lymphotropic virus)

VHS: Virus del herpes simple

HVH: Herpes virus humano

CMV: Citomegalovirus

VEB: Virus de Epstein Barr

VHC: Virus de la hepatitis C

CLA: antígeno leucocitario cutáneo (siglas en Ingles de: cutaneous lymphocyte-associated antigen)

WHO: Organización mundial de la salud (Siglas en Ingles de: World Health Organisation)

EORTC: Organización Europea para la Investigación y Tratamiento del Cáncer (Siglas en Ingles de: European Organisation for Research and Treatment of Cancer)

ISCL: Sociedad Internacional de Linfomas Cutáneos (Siglas en Ingles de: International Society of Cutaneous Lymphoma)

Contenido

Dedicatoria y Agradecimientos	3
Resumen	4
Abreviaturas	5
Contenido	6
Marco Teórico	7
Antecedentes:	7
Definición de Micosis Fungoide	7
Historia	8
Epidemiología	9
Etiología:	10
Patogenia:	11
Características clínicas	14
Histopatología:	19
Inmunofenotipo:	20
Determinación de Clonalidad de TCR:	22
Sangre periférica	22
Criterios para Diagnóstico:	22
Estadificación	23
Tratamiento de MF en estadios tempranos.	25
Planteamiento del problema:	32
Justificación:	33
Hipótesis:	33
Objetivos:	33
Material y métodos:	34
Diseño del estudio:	34
Población de Estudio:	34
Criterios de selección:	34
Determinación de Variables	36
Análisis Estadístico	37

Aspectos éticos:	38
Resultados	38
Discusión	41
Conclusión	43
Anexos	44
Bibliografía	52

Marco Teórico

Antecedentes:

Definición de Micosis Fungoide

Los linfomas cutáneos primarios corresponden a linfomas no Hodgkin, estos a su vez se subclasifican en linfomas cutáneos de Células T (LCCT) y linfomas cutáneos de células B (LCCB). Además existen linfomas cutáneos de células Natural Killer y un grupo de linfomas no clasificables temporalmente, con características fenotípicas indefinidas. ¹

Los LCCT comprenden un grupo heterogéneo de linfomas en los que se observa una conducta diferente de los linfomas sistémicos. Aun dentro de los propios LCCT se puede apreciar una gran variabilidad en cuanto a las manifestaciones clínicas, conducta biológica, inmunofenotipo y pronóstico. ²

Los subtipos indolentes de LCCT incluyen; la Micosis Fungoide (MF) y sus variantes, el linfoma anaplásico de células T grandes, la papulosis linfomatoide, los linfomas de células T similares a paniculitis subcutánea con fenotipo de células T alfa/beta, y los linfomas cutáneos de células T CD4+, de células pleomórficas de tamaño pequeño a mediano. ¹

La MF es la forma más común de LCCT, ocupando el 90% de los mismos. Se caracteriza por un infiltrado epidermotrópico de células T, de tamaños pequeño a medio, con núcleos cerebriformes, típicamente estos linfocitos exhiben un inmunofenotipo de células T maduras de memoria (CD3+, CD4+, CD45RO+, CD8-) y un rearreglo clonal del receptor de células T (TCR). ³

Historia

En 1806 en Francia, Alibert describe por primera vez a la MF, y en 1814 le da el nombre de “Pian Fungoides”. El termino Micosis Fungoide es utilizado por primera vez por Alibert en 1832, haciendo referencia a su similitud morfológica con setas. En 1870, Bazin describe la historia natural de la enfermedad y define sus estadios, dicha descripción es clásica y aún vigente en nuestros días, clasificándolo como; mancha, placa, tumor y con diseminación sistémica.⁴

En 1885, Vidal y Brocq introdujeron el término “Micosis Fungoides d’emblée”, haciendo alusión a una forma clínica en la que, desde el inicio del cuadro, se observan lesiones tumorales de aspecto lipomatoso.⁴

En 1938 se realizó la descripción del síndrome de Sezary, la forma leucémica de la MF. ⁴

Epidemiología

Representa el 1.5% del total de linfomas reportados en los Estados Unidos, es el segundo linfoma extranodal más frecuente, solo superado por el de aparato digestivo. En Europa se estima una incidencia anual de linfoma primarios de piel de 1/100,000 habitantes ¹⁻³.

La Micosis Fungoide es la variante más común de linfoma primario de piel ocupando el 50 % del total de estos, y el 90% de los linfomas cutáneos de células T ³.

En Estados Unidos se reporta una incidencia de 0.36 casos/100,000 habitantes. La incidencia de la enfermedad es más frecuente en negros en relación a caucásicos (1.7: 1). La relación entre asiáticos y caucásicos de 0.6: 1 ³.

Se observa una relación hombre mujer 1.4-2:1, con una edad media de diagnóstico a los 55 años ³.

Se presenta con mayor frecuencia y con peor pronóstico en americanos descendientes de africanos. ³.

Etiología:

Se plantean múltiples hipótesis, la más aceptada es la de una “estimulación antigénica persistente”, dado que en la MF predominan los linfocitos T CD4+ maduros de memoria (CD45RO+), sin embargo el antígeno que ocasionaría dicha estimulación es desconocido³.

Se han dirigido múltiples estudios buscando la asociación de agentes microbianos, con la Micosis Fungoide. Considerando la asociación entre el HTLV-I y la leucemia, se han realizado estudios buscando una relación entre la infección por este virus y los LCCT, sin encontrarse resultados con significancia estadística⁵⁻⁷. En algunos pacientes con LCCT, se aisló un nuevo virus, el HTLV-V, sin embargo la importancia de tal hallazgo no ha sido determinada⁸.

Otros virus que han sido estudiados en cuanto a su relación con la MF son; virus de la familia de los herpes virus humanos (VHS-1, VHS-2, VVZ, CMV, VEB, HVH-6 y HVH-8), los poliomavirus, VIH, y VHC, entre otros, sin que hasta el momento se pueda establecer una relación directa entre la infección por estos virus y el desarrollo de MF⁹.

De las bacterias, la más estudiada en cuanto a su relación con la MF es el *Staphylococcus aureus*, el cual se ha relacionado dada su alta prevalencia

colonizando pacientes con LCCT, siendo la primer causa de sepsis y choque toxico, y además por la capacidad de inducir respuestas oligoclonales del TCR a través de sus superantigenos. Todo lo anterior indica que puede haber una relación entre el *S. aureus* y la MF, aunque no necesariamente como evento gatillo. Otras bacterias estudiadas son *Chlamydia pneumoniae* y *Borrelia burgdorferi*, que en estudios iniciales sugerían tener relación, sin embargo, estudios subsecuentes no lograron reproducir dichos resultados⁹.

Patogenia:

Las entidades clínicas incluidas dentro del término LCCT presentan tres componentes constantes; una población clonal de células T, una respuesta antitumoral modulada, y un microambiente epidérmico favorable³.

Población clonal de células T: Los LCCT se caracterizan por células T que muestran un tropismo por la piel, el cual es dado por un receptor de superficie denominado antígeno linfocitario cutáneo (cutaneous lymphocyte-associated antigen, CLA). El CLA es expresado por células T de memoria que tienen la capacidad de residir en la piel por la unión a la E-selectina, la cual es expresada en el endotelio vascular y que es fuertemente inducida durante la inflamación cutánea.^{3,10}

En situaciones normales los linfocitos T llegan a la piel en respuesta a señales emitidas por las células del sistema inmune innato residentes en este órgano (células presentadoras de antígenos). Esta respuesta puede ser mediada por componentes bacterianos, componentes de la pared celular, y ADN o ARN viral, que son captados por receptores de reconocimiento de patrones, principalmente los de tipo Toll-like (TLRs).^{3,10}

Las células presentadoras de antígeno activadas migran al ganglio linfático regional, donde al interactuar con linfocito T naive adecuado, inician la respuesta inmune adaptativa. Los linfocitos T entonces se convierten en linfocitos T efectores/de memoria antígeno específicos con la capacidad de residir en el tejido inflamado, como ya se mencionó antes con la expresión del CLA.^{3,10}

Se piensa que las células neoplásicas de la MF, dependan de células del arsenal “normal” con el que cuenta la piel para su defensa, se ha observado que los microabscesos de Pautrier, característicos de la MF, se encuentran rodeados por células de Langerhans, estas células han sido objeto de un intenso estudio, suponiéndose que son las encargadas de la estimulación antigénica que llevaría a la expansión clonal de los linfocitos T.¹⁰

La naturaleza clonal en MF ha sido demostrada por la detección de rearrreglos del receptor de células T, por medio de PCR. El método de PCR es muy sensible, y puede detectar la monoclonalidad aun en estadios muy tempranos.¹⁰

Respuesta antitumoral modulada: Las lesiones de los LCCT frecuentemente tienen un componente de células T CD8+, a las cuales se les atribuye una función antitumoral. El número de linfocitos T CD8+ in situ y circulantes guardan una relación directa con el curso clínico y el pronóstico, observándose en mayor número en lesiones tempranas y en paciente que responden mejor al tratamiento, y en menor cantidad en lesiones avanzadas, y en aquellos pacientes que se mostraran como no respondedores a tratamiento. ³

Se ha observado que los linfocitos T CD4 malignos presentan un perfil Th2, y que la cantidad de citosinas de tipo Th2 producidas, guardan relación con el estadio de las lesiones, siendo más intensa en estadios más avanzados. ¹⁰

La vía Fas/FasL ha sido el mecanismo propuesto a través del cual los linfocitos CD8+ realizan la función antitumoral, en fases avanzadas de MF y en formas agresivas de otros LCCT se observa una pérdida en la expresión de Fas y FasL, contrario a lo que se observa en formas tempranas de MF en las que hay una fuerte expresión. ¹¹

Epidermis como microambiente para células malignas:

También se ha visto como una enfermedad ocasionada por desregulación inmune, en la que se observa un deterioro en la respuesta antígeno-específica de las células T, deterioro en la citotoxicidad mediada por células y con predominio en la respuesta Th-2. Estas alteraciones explican lo observado en la fase avanzadas

de la MF, en que se observa hipereosinofilia, aumento de IgA e IgE, deterioro en la función de las células NK y deterioro en la inmunidad celular.³

Características clínicas

Inicialmente puede presentarse como una “dermatitis crónica” resistente al tratamiento, usualmente asociada a prurito, en la que se puede observar un retraso de hasta 10 años en el diagnóstico.³

La MF puede progresar a través de distintos estadios, de mancha, a placa y finalmente tumor, sin embargo esta puede nunca progresar, o presentar cualquier lesión de *novo*.³

Topográficamente se presenta como una dermatosis diseminada a tronco y raíces de extremidades, con cierta predilección por glúteos y caras internas de brazos.

Estadio de Mancha:

En la fase inicial se observan manchas eritematosas, no infiltradas, de evolución lenta progresiva. Clásicamente se caracterizan por la variabilidad en el tamaño, la forma, y color de cada lesión. Estas lesiones usualmente miden más de 5 cm de diámetro. Sin tratamiento tienden a diseminarse lentamente para formar lesiones bien delimitadas que varían en tamaño; que pueden o no confluir o desaparecer de forma espontánea, este fenómeno de progresión-regresión, produce lesiones irregulares. Se ha descrito una duración aproximada de 1 a 42 años, con una

media de 7.2 años. Puede acompañarse de prurito. En esta fase el diagnóstico diferencial de mayor importancia es la parapsoriasis de grandes placas.^{1-3, 12,13}

Estadio de Placa:

En la segunda fase se encuentran placas infiltradas de color rojo oscuro con bordes claros, y espacios respetados de piel sana; con una distribución más generalizada, siendo usual el prurito intenso en esta fase. Pueden formar lesiones anulares o arciformes. La duración de esta fase va de 1 a 9 años, con un promedio de 2.9 años, con una duración más corta para mujeres (1.2 años) que para varones (2.5 años).^{3,12}

Estadio de Tumor:

En una tercera fase, en alrededor del 15% al 20% de los casos pueden aparecer tumores, usualmente ulcerados o necróticos, cuya forma recuerda al pilio de las setas, asociados de forma secundaria a invasión ganglionar y luego visceral. La duración media de esta fase es de 1.8 años aproximadamente; siendo de 1.6 para los varones y de 2.8 para las mujeres.^{3,12}

Se observa eritrodermia en 5% de los pacientes con MF, se asocia con queratodermia palmoplantar, fisuras dolorosas en palmas y plantas, distrofia y pérdida de uñas.^{3,12,13}

Variedades Clínicas de Micosis Fungoide

En la clasificación de WHO/EORTC (Cuadro 1) se refieren tres variedades clínicas de MF, la MF foliculotrópica, reticulosis pagetoide y la cutis laxa granulomatosa.¹

Cuadro 1. Clasificación de Linfomas Cutáneos de Células T (WHO/EORTC)

Linfoma cutáneos de células T y células NK
1. Micosis Fungoide: variantes y subtipos
Micosis Fungoide foliculotropa Cutis laxa granulomatosa Reticulosis pagetoide
2 Síndrome de Sézary
3 Leucemia linfoma con células T del adulto
4 Enfermedades linfoproliferativas cutáneas primarias CD30+
Linfoma cutáneo primario de células anaplásicas grandes CD30+ Papulosis linfomatoidea
5 Linfoma T paniculítico
6 Linfoma de células T extranodal NK, tipo nasal
7 Periféricos inespecíficos
Linfoma T cutáneo primario epidermotrópico CD8+ citotóxico agresivo Linfoma cutáneo de células T gamma/delta Linfoma de células T cutáneo primario CD4+ de células pequeñas y mediana

MF foliculotrópica: Se caracteriza por la presencia infiltrados foliculotropos, que en la mayoría de los casos presentan degeneración mucinosa. Afecta principalmente a adultos, y en forma ocasional niños y adolescentes, y es más frecuente en hombres. La topografía más frecuente es cabeza y cuello, presentándose como grupos de pápulas foliculares, lesiones acneiformes, placas induradas, y algunas veces como tumor, la piel afectada frecuentemente presenta alopecia, mucinorrea y puede infectarse en forma secundaria. Su pronóstico es igual al de Micosis Fungoide en fase de tumor, y significativamente peor que la de la fase de placa.¹

Reticulosis pagetoide: Se caracteriza por la presencia de manchas o placas localizadas, con infiltrados de células T. Esta forma localizada es también conocida como MF tipo Woringer-Kolopp. Clínicamente se presenta como una placa única de aspecto psoriasiforme o hiperqueratósico, localizado, casi siempre, en extremidades inferiores. Presenta una progresión lenta, y nunca se ha reportado diseminación extra cutánea ni muerte relacionada a esta forma clínica.¹

Cutis laxa granulomatosa: Forma clínica extremadamente rara de MF, caracterizada por el desarrollo lento y progresivo de piel laxa sobre los grandes pliegues, histopatológicamente caracterizada por un infiltrado clonal de células T. Clínicamente se observa como áreas circunscritas de piel laxa, péndula, con predilección por las ingles y axilas. En un tercio de los pacientes se asocia con linfoma de Hodgkin. En la mayoría de los pacientes se reporta un curso indolente.¹

Además de las variedades incluidas en la clasificación de la WHO/EORTC, en la literatura se refieren otras formas clínicas, entre las que se encuentran las variedades: hipopigmentada, eritrodermica, poiquilodermatosa (*poikiloderma atrophicans vasculare*), pupúrica, siringotrópica, vesículo ampollosa, entre otras.

MF hipopigmentada: se caracteriza por lesiones hipocrómicas aisladas o confluentes, de tamaños variables, puede coexistir con lesiones eritematosas y algunas veces con alopecia. Puede presentarse como manifestación única de MF, o coexistir con placas o tumores.²

Esta variedad, es frecuentemente observada en niños, adolescentes y personas con fototipos entre IV-VI.^{2,14-16}

Las lesiones presentan predilección por el tronco y las raíces de las extremidades, con disposición en traje de baño. En las placas hipocrómicas se puede observar atrofia leve, escama fina, eritema e infiltración. Casi siempre asintomático o ligeramente pruriginoso.²

Histopatológicamente es indistinguible de la forma clásica de Micosis Fungoide.

El inmunofenotipo muestra linfocitos T supresores (CD8+)^{14,17}, a diferencia de la MF clásica que exhibe un inmunofenotipo CD4 positivo.

En un estudio piloto realizado en el Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”, se identificó que esta forma clínica es la más frecuente en la población estudiada, con un inmunofenotipo CD8+, CD3+ y CD2-.

Entre los diagnósticos diferenciales se encuentran la lepra caso indeterminado, pitiriasis alba, pitiriasis versicolor hipocromiante, manchas hipopigmentadas posinflamatoria y vitíligo.²

MF eritrodérmica: forma eritrodérmica de MF, clínicamente indistinguible del síndrome de Sezary (SS), sin embargo no cubre completamente los criterios diagnósticos de SS. Histológicamente e inmunofenotípicamente igual a la MF clásica.²

MF poiquilodérmica: Se caracteriza por placas color café eritematosas, con hiper e hipopigmentación, atrofia y telangiectasias en su superficie. En una serie de 49 casos, esta variedad fue más frecuente en pacientes jóvenes y en asociación con

papulosis linfomatoide. Los sitios más frecuentemente afectados son mamas, tronco, glúteos y pliegues. Histológicamente los hallazgos característicos son atrofia de la epidermis, pérdida de las crestas interpapilares, infiltrado liquenoide y fibrosis de la dermis papilar. El inmunofenotipo más frecuente es CD8+ y CD4-.²

MF purpúrica: es una forma rara en el que las lesiones son persistentes y pigmentadas. Histopatológicamente, además de los hallazgos clásicos de MF, se observan eritrocitos extravasadas en la dermis. El fenotipo más frecuente es CD4+, y en ocasiones es necesario realizar estudios moleculares para determinar la clonalidad de TCR y entonces realizar el diagnóstico.²

MF vesiculoampollosa: forma extremadamente rara, con lesiones vesiculares, ampollosas y dishidrosiformes. Se presenta en pacientes con edad mayor que aquellos con diagnóstico de MF clásica y es más frecuente en pacientes Caucásicos. Afecta principalmente el tronco y las extremidades inferiores. Histopatológicamente la ampolla puede localizarse a nivel subcorneo, intraepidérmico y subepidérmico. Se sugiere que la ampolla podría originarse por la confluencia de microabscesos de Pautrier. La presencia de ampollas es un factor de mal pronóstico, aproximadamente el 50% de los pacientes una sobrevida de 12 meses posterior a la aparición de dichas lesiones.²

Histopatología:

El epidermotropismo (presencia de linfocitos en la epidermis en ausencia de espongirosis) es el dato característico de los LCCT, cuando estos se agrupan y son rodeados por células de Langerhans constituyen los microabscesos de Pautrier. Además se puede observar un infiltrado linfocitario superficial de tipo liquenoide, los linfocitos pueden variar en tamaño y presentan núcleos grandes, hiper cromáticos y cerebriformes. El infiltrado es inicialmente polimorfo (incluyendo múltiples células inflamatorias) y conforme avanza la enfermedad se observa un predominio de linfocitos atípicos grandes dispuestos en lo profundo de la dermis. Otro hallazgo que es característico de las fases tempranas de la enfermedad son los linfocitos atípicos alineados a lo largo de la unión dermo-epidérmica, rodeados por un halo de artefacto.^{2,18}

En el caso de la Micosis Fungoide en estadio temprano es necesario diferenciar con procesos inflamatorios benignos. Para mejorar las posibilidades de establecer el diagnóstico histopatológico, pueden ser necesarias múltiples biopsias de lesiones, de diferentes características y tiempo de evolución. Además es importante suspender todo tipo de medicación, en especial esteroides, de 2 a 4 semanas antes de la toma de la biopsia.¹⁹

Inmunofenotipo:

El inmunofenotipo hace referencia a un grupo de elementos expresados en la superficie de los elementos celulares del sistema hematopoyético, que permite

identificar los diferentes linajes, y además establecer su grado de maduración o diferenciación.

Los linfocitos T maduros expresan fuertemente el complejo CD3-TCR, y se diferencian en dos poblaciones, una que expresa el antígeno CD4 y otra el CD8, con expresión de CD2, CD5 y CD7. La inmunotipificación se realiza generalmente por inmunohistoquímica y por citometría de flujo.¹⁸

La inmunotipificación juega un rol importante en el diagnóstico de la MF. Las células usualmente son CD3+CD4+CD45RO+CD8-, un fenotipo asociado con linfocitos T cooperadores maduros. El CD7, que se observa en el 85% de los linfocitos circulantes normales, puede estar ausente en las células de Sézary circulantes y en los linfocitos T que infiltran la piel en MF. La pérdida del CD26 en los linfocitos CD4+ se considera uno de los marcadores más importantes de malignidad.^{20,21}

La determinación de pérdida de antígenos es de gran ayuda como un auxiliar en el diagnóstico de MF, la pérdida de CD7 tiene una sensibilidad aproximada de 59 a 88%, con una especificidad de 87 a 98%. Cuando se analiza la totalidad de la pieza, una pérdida de expresión de CD2, CD3 y CD5 de 50% tiene una especificidad de 100% con una sensibilidad de 10%. Cuando se realiza análisis por separado de dermis y epidermis, la discordancia dermo- epidérmica en la expresión de los marcadores antes mencionados presenta un alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de MF.²²⁻²⁴

Determinación de Clonalidad de TCR:

Se realiza a través de PCR, detectando reareglos de genes para el receptor de células T (rearreglos para cadenas β o γ). La monoclonalidad del TCR es un hallazgo que puede ser identificado aun en formas clínicas incipientes. Sin embargo este puede no identificarse si el infiltrado se encuentra muy disperso. Otra desventaja es que se puede observar oligoclonalidad o monoclonalidad en múltiples procesos inflamatorios benignos, e incluso en controles sanos.^{10,24}

Sangre periférica

En el frotis de sangre periférica se pueden observar linfocitos atípicos con nucleos cerebriformes.³

Criterios para Diagnóstico:

El diagnóstico definitivo de MF puede hacerse en base a hallazgos clínicos y características histopatológicas, la determinación de la clonalidad y el estudio del inmunofenotipo de células T, son auxiliares en el diagnóstico.^{1,19}

En el cuadro 2 se presentan los criterios diagnósticos propuestos por el grupo del trabajo para el diagnóstico de Micosis Fungoide en estadios tempranos, de la Sociedad Internacional de Linfomas Cutáneos (ISCL), en el que para realizar el diagnóstico se requiere de que se reúnan cuatro puntos, siendo necesario reunir

características clínicas e histopatológicas, y en caso necesarios inmunohistoquímicas y/o moleculares.¹⁹

Cuadro 2 Criterios Diagnósticos de MF en estadios tempranos

Trastorno	Criterio Diagnóstico
Micosis Fungoide (Se requieren 4 puntos para diagnóstico)	<p>Clínico (2 puntos para 1 básico + 2 adicionales; 1 punto para 1 básico + 1 adicional) Básico: manchas o placas persistente y/o progresivas Adicional: localización no fotoexpuesta, variación en tamaño y forma, poiquilodermia)</p> <p>Histopatológico (2 puntos para 1 básico + 2 adicionales; 1 punto para 1 básico + 1 adicional) Básico: infiltrado linfoide superficial Adicional: epidermotropismo sin espongirosis, atipia linfoide (núcleos grandes cerebriformes).</p> <p>Molecular (1 punto) Rearreglo clonal de TCR</p> <p>Imunopatológico (1 punto por uno o mas criterios) < 50% de linfocitos T CD2+, CD3+ y/o CD5+ < 10% de linfocitos T CD7+ Discordancia dermo-epidérmica de CD2, CD3, CD5 y CD7.</p>

Adaptado de referencia 19

Los criterios diagnósticos propuestos por la ISCL tienen como finalidad estandarizar el diagnóstico de MF temprana, y aunque aún no han sido validados son un primer paso para establecer criterios que puedan ser aplicados en forma amplia.¹⁹

Estadificación

La clasificación TNMB (Cuadro 3 y 4) es la más utilizada, adoptada desde 1975 por el Mycosis Fungoides Cooperative Study Group. La adecuada estadificación

de la MF y el SS es de gran importancia, dadas las implicaciones en el pronóstico. Se ha encontrado que la superficie de piel afectada y el tipo de lesiones se correlacionan con la supervivencia y son predictores pronósticos importantes.¹⁻³

Cuadro 3. Revisión ISCL/EORTC para la estadificación de la Micosis Fungoide y síndrome de Sézary

Piel	
T1	Parches limitados, ^b pápulas o placas ^c que cubren <10% de la superficie de la piel. Podría estratificarse más aún en T1a (parche solo) contra T1b (placa ± parche).
T2	pápulas, o placas que cubren ≥10% de la superficie de la piel. Podría estratificarse más aún en T2a (parche solo) contra T2b (placa ± parche).
T3	≥1 tumor ^d (≥1 cm de diámetro).
T4	Confluencia de eritema que cubre ≥80% del área de la superficie corporal.
Nódulo	
N0	No hay ganglios linfáticos periféricos clínicamente anómalos; ^e no se requiere biopsia.
N1	Ganglios linfáticos periféricos clínicamente anómalos; histopatología grado de Dutch 1 o NCI LN0–2.
N1a	Clon negativo. ^f
N1b	Clon positivo. ^f
N2	Ganglios linfáticos periféricos clínicamente anómalos; histopatología grado 2 de Dutch o NCI LN3.
N2a	Clon negativo. ^f
N2b	Clon positivo. ^f
N3	Ganglios linfáticos periféricos clínicamente anómalos; histopatología grado 3–4 de Dutch o NCI LN4; clon positivo o negativo.
Nx	Ganglios linfáticos periféricos clínicamente anómalos; sin confirmación histológica.
Visceral	
M0	No hay compromiso de órgano visceral.
M1	Compromiso visceral (debe contar con confirmación patológica, ^g y se debe especificar el órgano comprometido).
Compromiso de sangre periférica	
B0	Ausencia de compromiso sanguíneo significativo: ≤5% de linfocitos sanguíneos periféricos son células atípicas de (Sézary). ^h
B0a	Clon negativo. ^f
B0b	Clon positivo. ^f
B1	Carga tumoral baja de sangre: >5% de linfocitos sanguíneos periféricos son células atípicas de (Sézary) pero no cumple con el criterio de B2.
B1a	Clon negativo. ^f
B1b	Clon positivo. ^f
B2	Carga tumoral sanguínea alta: ≥1,000/μL células de Sézary ^h con clon positivo. ^f

Estadio	T	N	M	Compromiso de sangre periférica
IA	1	0	0	0, 1
IB	2	0	0	0, 1
IIA	1, 2	1, 2	0	0, 1
IIB	3	0-2	0	0, 1
III	4	0-2	0	0, 1
IIIA	4	0-2	0	0
IIIB	4	0-2	0	1
IVA1	1-4	0-2	0	2
IVA2	1-4	3	0	0-2
IVB	1-4	0-3	1	0-2

Tratamiento de MF en estadios tempranos.

Los pacientes con MF en estadio temprano (IA,IB y IIA) tienen un excelente pronóstico, por lo que la meta del tratamiento es mejorar los síntomas y la calidad de vida evitando la toxicidad relacionada al tratamiento. Los tratamientos frecuentemente utilizados incluyen terapias dirigidas a la piel.¹²

La primera línea de tratamiento dirigida a piel incluye: Fototerapia en modalidades psoralenos mas UVA, y UVB de banda estrecha, esteroides de alta potencia, bexaroteno, mecloretamina, carmustina y terapia con haz de electrones.¹²

Como segunda línea de tratamiento se encuentran el bexaroteno oral, interferón α , interferón + retinoide, denileukin difitox, dosis bajas de metotrexate, y retionoides mas PUVA.¹²

Fototerapia en MF

La primer publicación de fototerapia en MF se realizó en 1976 cuando Gilchrest y cols. reportaron el tratamiento de 8 pacientes con 8-metoxipsoraleno mas UVA. Todos los pacientes respondieron favorablemente y 4 alcanzaron remisión completa. Se logró confirmar la eficacia del tratamiento y la ausencia de efectos adversos sistémicos relevantes. Actualmente además de PUVA se incluye el uso de UVB de banda estrecha dentro de las modalidades terapéuticas de fototerapia para MF.²⁵

PUVA

Desde hace más de 30 años se ha utilizado PUVA para el manejo de MF, sin embargo como era de esperarse por la poca frecuencia de la enfermedad y el curso prolongado, los estudios realizados en este respecto carecen de homogeneidad en cuanto a la selección de pacientes, protocolos de tratamiento, medidas de desenlace, periodos de observación, tratamientos concomitantes, tamaño de muestra y calidad en general ²⁵.

En el año 2009, Carter y Zug, publicaron un estudio en el que buscaban establecer las variaciones en el tratamiento actual con fototerapia, en pacientes con MF en estadios tempranos, y además realizaron una revisión de la literatura relevante disponible hasta ese momento. La primer parte del estudio la realizaron en base a un cuestionario aplicado a miembros del ISCL (30 miembros), encontrando que;

1. El 93% tenía acceso a PUVA y el 86% la utilizaba en el tratamiento de LCCT.

2. El 67% tenía acceso a NBUVB y el 78% la utilizaba para el tratamiento de LCCT.
3. El 98% utilizó PUVA como modalidad inicial de tratamiento
4. La mayoría utilizó un régimen de 3 días por semana, por 3 a 4 meses, para inducir la remisión.
5. La terapia de mantenimiento mostró una mayor variabilidad, pasando de los que no la utilizaban, por los que utilizaban periodos cortos, hasta los que utilizaban una vez por semana por un año.

En la revisión de la literatura de los pacientes tratados con PUVA, el 25% utilizó 2-3 días por semana, el 25% tres días por semana y el 22% de 3-4 días por semana, en el ciclo inicial de tratamiento, la frecuencia de remisión fue similar en las tres modalidades. En cuanto al mantenimiento, fue utilizado en el 85% de los estudios²⁶.

En cuanto a la efectividad, se ha calculado un porcentaje de remisión posterior al uso de PUVA de 90% en estadio IA, 76% en estadio IB, 78% en estadio IIA, 59% en estadio IIB, y 61% en estadio III²⁵.

Querfeld y colaboradores, en un estudio en pacientes que alcanzaron remisión completa siendo manejados con PUVA como monoterapia, encontraron que el 50% se mantuvo sin recaída con un seguimiento promedio de 99 meses, sin embargo al comparar la supervivencia entre los grupos con recaída y sin recaída

no observaron diferencias, sin observar diferencia en la supervivencia, entre el uso o no de terapia de mantenimiento posterior a la remisión²⁷.

Características Histopatológicas e Inmunofenotípicas Post-Fototerapia

EI-Mofty y colaboradores, realizaron uno de los estudios más completos para valorar la respuesta clínica e histopatológica a la fototerapia. Se valoró la respuesta a fototerapia tanto PUVA, como NB-UVB, en pacientes con MF en estadios tempranos (Ia, Ib y IIa), aplicándose a cada mitad del cuerpo del paciente una modalidad diferente de fototerapia completando 48 sesiones, iniciando con la fototerapia con NB-UVB (dosis inicial de 0.74 J/cm² con aumento de 20% cada dosis hasta alcanzar un eritema mínimo), posteriormente se administraba 8-metoxipsoraleno a dosis de 0.7mg/kg, y dos horas después se exponía radiación UVA (dosis inicial de 1 J/cm² con aumento de 0.5J/cm² cada 2 sesiones hasta alcanzar mejoría, con una dosis máxima de 7J/cm²). En el análisis clínico se observó remisión completa (desaparición de más de 80% de lesiones) en el 70% de los pacientes de ambos grupos y parcial (desaparición entre 60 y 80% de las lesiones) en 30% de los pacientes de ambos grupos, en cuanto a las respuesta histopatológica solo el 20% de los pacientes en ambos grupos alcanzaron remisión completa (solo infiltrado difuso en dermis), y el 80% en ambos grupos obtuvo remisión parcial (epidermotropismo leve, infiltrado dérmico difuso y ausencia de células atípicas).²⁸

Gokdermir y colaboradores, publicaron un estudio realizado en 23 pacientes con MF en estadios Ia, Ib y IIa, a los que administraron fototerapia NB-UVB (dosis inicial en base al fototipo de piel, de 0.3 a 0.5 J/cm², con aumento de 0.3 a 0.4 J/cm² semanal) hasta presentar desaparición del 90% de las lesiones, de los 23 pacientes solo uno no respondió y otro tuvo respuesta parcial, el resto presentó remisión completa de las lesiones, histopatológicamente 78% de los pacientes presentaron remisión completa, definida como la ausencia de epidermotropismo y microabscesos de Pautrier y disminución marca del infiltrado dérmico y epidérmico de linfocitos atípicos, con núcleos irregulares y mitosis.²⁹

++++

En el año 2010, Apa y colaboradores realizaron un estudio en pacientes con Micosis Fungoide estadio Ia, se formaron dos grupos, al primero se le administró PUVA (dosis inicial 0.5 J/cm² con aumento semanal de 0.5J/cm², hasta una dosis máxima de 8.5 J/cm², 3 días por semana, por 3 meses), al segundo grupo se le administró NB-UVB (dosis inicial de 0.6 J/cm², con aumento semanal de 0.4 J/cm² hasta alcanzar 5J/cm²), se realizó biopsia pre y post tratamiento, encontrándose que aunque existía mejoría en cuanto a las alteraciones histopatológicas post-tratamiento, todos los paciente presentaban algún grado de epidermotropismo³⁰.

El año 2012, Zemheri y colaboradores realizaron un estudio para valorar la respuesta tanto clínica como histopatológica en pacientes con MF temprana (Ia, Ib y IIa), tratados con fototerapia NB-UVB, en el que se incluyeron 32 pacientes, con

dosis inicial de 0.2 J/cm² con aumento de 0.1 J/cm² cada 2 sesiones hasta un máximo de 2.9 J/cm², completando 48 sesiones, se realizó biopsia pre y post tratamiento. Se encontró que el 28% de los pacientes no tuvieron respuesta clínica ni histopatológica al tratamiento. Sin embargo al revisar los resultados se refiere que cuatro de los pacientes clasificados como respondedores presentaban epidermotropismo, tres con linfocitos aislados y uno formando microabscesos de Pautrier, y estos no son incluidos en los pacientes que se cuentan sin respuesta histológica³¹.

En cuanto al estudio de inmunofenotipo post-fototerapia, son pocos los que han analizado dicho parámetro.

En el año 2012 El-Motfy realizó un estudio en el que comparó la efectividad de fototerapia UVA de banda ancha (BB-UVA), contra PUVA, se incluyeron 30 pacientes con MF estadios Ia y Ib, de los cuales 15 fueron tratados con PUVA y 15 fueron tratados con BBUVA. El grupo de PUVA recibió 0.7 mg/kg de 8-metoxipsoraleno 2 horas antes de la sesión de fototerapia, se inició con 2.5 J/cm² con aumento del 20% en cada sesión de acuerdo a la tolerancia, el grupo tratado con BBUVA recibió una dosis fija de 20 J/cm². Se realizó estudio inmunohistoquímico con determinación del área afecta para BCL2 y CD4, en muestras histopatológicas pre y postratamiento. Se observó disminución en el porcentaje del área marcada para BCL2 y CD4 en ambos grupos, siendo solo estadísticamente significativa en el grupo tratado con BBUVA, lo que se relacionó con el hecho de que estos paciente presentaron menor recidiva en un lapso de

seguimiento a 36 meses (13.3% en el grupo de BBUVA contra 26.6% en el grupo de PUVA) ³².

Lo anterior nos permite ver que la fototerapia en su modalidad PUVA, ocasiona una disminución significativa del infiltrado neoplásico, lo cual se refleja también en mejoría clínica, sin embargo también es claro que los linfocitos T con comportamiento anormal no se eliminan por completo, y seguramente estos linfocitos T con comportamiento anormal, exhibirán también un inmunofenotipo anormal.

Planteamiento del problema:

La Micosis Fungoide es el linfoma cutáneo de células T más frecuente, ocupando el 90% de los mismos. El diagnóstico se realiza a través de correlación clínico-patológica y en algunos casos apoyándose de la inmunohistoquímica y estudios moleculares. El inmunofenotipo de las células neoplásicas, descrito clásicamente, es CD4+ de memoria (CD3+, CD4+,CD45RO+ y CD8-). En cuanto al pronóstico, se refiere que la mortalidad en estadios tempranos es baja, en algunos casos similar a la de controles sanos, no así en estadios avanzados en los que la sobrevida a 5 años es menor del 20% (IV B). Hasta este momento no se cuenta con un tratamiento curativo, aunque algunas opciones terapéuticas como la fototerapia ofrecen índices altos de remisión por periodos prolongados.

La fototerapia es capaz de modificar las características del infiltrado linfocitario, tanto dérmico como epidérmico, que constituye la carga tumoral en la MF, esto valorado por estudios histopatológicos convencionales. Sin embargo es poco conocido el efecto de la fototerapia sobre el inmunofenotipo de los linfocitos en MF.

Por los que nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es el efecto de la fototerapia en su modalidad PUVA sobre el inmunofenotipo en pacientes con MF en estadios tempranos, que acuden al Centro Dermatológico Dr. Ladislao de la Pascua?

Justificación:

En el Centro de Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua” de la Ciudad de México, se cuenta con el servicio de Fototerapia en el que se tratan pacientes con Micosis Fungoide en estadios tempranos. Se desconoce cuál es el efecto de la fototerapia PUVA sobre el inmunofenotipo de las células que constituyen el infiltrado neoplásico en MF en estadios tempranos. Hasta este momento no se han publicado estudios a este respecto.

Hipótesis:

En las lesiones de piel de pacientes con MF en estadios tempranos, posterior al tratamiento con fototerapia PUVA, se encontrará una disminución del porcentaje de linfocitos T CD2+, CD3+ y CD4+ .

Objetivos:**Objetivo primario:**

Determinar el cambio en el inmunofenotipo de linfocitos T presentes en lesiones de piel de pacientes con diagnóstico de MF en estadios tempranos, antes y después del tratamiento con fototerapia PUVA, del Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”.

Objetivos secundarios

Determinar el porcentaje de linfocitos T CD2+, CD3+, y CD4+, en dermis y epidermis, antes del tratamiento con fototerapia

Determinar el porcentaje de linfocitos T CD2+, CD3+, y CD4, en dermis y epidermis, después del tratamiento con fototerapia

Material y métodos:**Diseño del estudio:**

Estudio pre-experimental

Población de Estudio:

Pacientes con diagnóstico clínico e histológico de Micosis Fungoide en estadio IA y IB tratados con fototerapia PUVA en el Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua” de noviembre del 2010 a marzo del 2014.

Criterios de selección:**Criterios de inclusión:**

1. Pacientes de cualquier sexo, de entre 18 y 65 años de edad con diagnóstico tanto clínico como histopatológico de Micosis Fungoide en estadio IA y IB, que acepten participar en el estudio, y hayan firmado el consentimiento informado
2. Pacientes que hayan completado su primer ciclo de tratamiento con fototerapia PUVA.
3. Pacientes con estudio histopatológico y de inmunofenotipificación pre y post tratamiento

Criterios de exclusión:

1. Pacientes con alguna otra dermatosis en el sitio de toma de biopsia

2. Paciente con tratamiento para MF diferente a fototerapia PUVA
3. Pacientes con enfermedades linfoproliferativas distintas a MF
4. Mujeres embarazadas

Tamaño de Muestra:

No se aplicó el cálculo de tamaño de muestra considerando la baja frecuencia del padecimiento. Se realizará un muestreo de casos consecutivos no probabilístico

Descripción general del estudio:

Se incluyeron pacientes con diagnóstico clínico de Micosis Fungoide, atendidos en la unidad de Fototerapia del Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”.

Previa firma de consentimiento informado, se realizó registro de imágenes clínicas, de acuerdo a la superficie corporal afectada se clasificó en estadio IA cuando fue menor de 10% y IB cuando fue mayor. Previa indicación de sitio de biopsia por parte del Servicio de Histopatología se tomó una biopsia con sacabocado de 4mm para análisis inmunohistoquímico y por citometría de flujo en el laboratorio de inmunología del Centro Médico Nacional siglo XXI, y posteriormente se completó el huso, para estudio por microscopia de luz, en el Servicio de Histopatología del Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua”.

El tratamiento con fototerapia se realizó en una cabina vertical modelo Spectra 311/350, de 240 voltz, 30 amperes, y 60 hz con 48 lámparas de luz UVS de 311-

350nm, de la compañía Daavlin. Se calculó la dosis inicial en base al fototipo de piel con un mínimo de 0.5 a 1.5 J/cm² con aumento semanal a tolerancia hasta un máximo de 2.5 J/cm², tres veces a la semana hasta completar un ciclo de fototerapia. Se administró 8-metoxipsoraleno a razón de 0.6mg/kg, noventa minutos antes de la sesión de fototerapia. Al completar su primer ciclo de tratamiento, se tomó una biopsia de control en un sitio adyacente al de la biopsia inicial, la muestra obtenida se sometió al mismo proceso que la primera biopsia.

Como controles se utilizaron remanentes de piel de pacientes sin padecimientos dermatológicos, del Servicio de Cirugía Plástica del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Determinación de Variables

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Tipo	Escala de Medición	Unidad de Medición
Sexo	Constitución orgánica que distingue masculino y femenino	Constitución orgánica que distingue masculino y femenino	Cualitativa	Nominal	Masculino Femenino
Edad	Tiempo que una persona ha vivido desde su nacimiento	Edad en años al momento de registro	Cuantitativa	Continua	Años
Tiempo de Evolución	Tiempo desde el que el paciente presenta lesiones clínicas sugestivas de MF	Se registra en base al tiempo en que aparece la primer lesión	Cuantitativa	Continua	Meses
Porcentaje de Superficie corporal afectada	Porcentaje de superficie corporal ocupada por lesiones	Porcentaje de superficie corporal ocupada por lesiones de MF al momento del registro	Cuantitativa	Continua	Porcentaje

Fototipo	Clasificación asignada en base a la respuesta cutánea del individuo a la exposición solar (quemadura/ bronceado)	El asignado por el investigador en base a las características clínicas	Cualitativa	Nominal	Tipo I a VI
Fenotipo de linfocitos T	Elementos expresados en la superficie de los linfocitos, que permite diferenciar los diferentes linajes, y además establecer su grado de maduración o diferenciación.	Porcentaje de células positivas al marcaje con anticuepos contra CD2, CD3 y CD4, determinados por citometria de flujo	Cuantitativa	Continua	Porcentaje
Respuesta a tratamiento	Grado de mejoría observado con el manejo	Se clasificara en base al porcentaje de eliminación de lesiones	Cualitativa	Nominal	Respuesta completa (100%) Respuesta parcial (50% o más) No respondedor (Menor a 50%)

Análisis Estadístico

Las variables estudiadas: edad, tiempo de evolución, fototipo de piel, así como las características de las lesiones, el tratamiento y resultados del mismo, se analizaron para conocer las medidas de tendencia central así como el mínimo y el máximo de cada una.

En cuanto al análisis de la población de los linfocitos T y el cambio con la fototerapia, las pruebas estadísticas y las gráficas se realizaron mediante el programa de Graphpad Prism versión 5 para Windows. De acuerdo al

comportamiento de los datos se realizaron pruebas de t-student para datos paramétricos y Anova mas t student para no paramétricos.

Aspectos éticos:

El protocolo se apegó a los estándares éticos internacionales establecidos en Helsinki y modificados en Tokio y se desarrolló siguiendo los lineamientos de las buenas prácticas clínicas^{33,34}.

De acuerdo al artículo 17 de la Ley General de Salud se considera una investigación con “riesgo mayor que el mínimo” ya que incluyen un procedimiento quirúrgico para la toma de biopsia.

Los resultados obtenidos cuentan con la garantía de confidencialidad y buen uso de los mismos.

Resultados

Descripción de los participantes:

Se incluyeron 8 pacientes, 6 mujeres y 2 hombres, con diagnóstico clínico e histopatológico de Micosis Fungoide. El rango de edad fue de 20 a 73 años, con un promedio de 42 años, en cuanto al fototipo cutáneo 5 correspondieron al fototipo III y 3 al fototipo IV.

Clínicamente, la totalidad de los pacientes presentaba lesiones en estadio de mancha, en los 8 pacientes la afección era superior al 10% (estadio Ib).

Cuadro 1. Características clínicas de los pacientes

Paciente	Edad	Sexo	Fototipo	Estadio TNMB	Variedad Clínica
1	22	Hombre	IV	1B	Hiperpigmentada
2	39	Mujer	III	1B	Hiperpigmentada/Poiquilodermica
3	73	Mujer	IV	1B	Eritematosa
4	41	Mujer	III	1B	Hipopigmentada
5	56	Mujer	III	1B	Eritematosa
6	45	Mujer	III	1B	Hiperpigmentada
7	40	Mujer	III	1B	Hipopigmentada
8	20	Hombre	IV	1B	Hiperpigmentada, Hipopigmentada y eritematosa

Descripción del Tratamiento

En lo que respecta al tratamiento, los pacientes recibieron en promedio 34.3 sesiones de fototerapia, con un mínimo de 27 y un máximo de 44 sesiones, la dosis promedio fue de 71 J/cm², con un mínimo de 54 J/cm² y un máximo de 94.5 J/cm², y a todos se les administró 8-metoxipsoraleno a dosis promedio de 30mg, dos horas antes de la sesión de tratamiento. Las respuestas observadas fueron; remisión completa en 2 pacientes (25%), remisión parcial en 4 (50%), y sin respuesta al tratamiento en 2 pacientes (25%).

Inmunofenotipo de linfocitos T pre y post PUVA

La expresión de CD3⁺CD4⁺ en piel de pacientes con MF, tanto en dermis como epidermis, presento un descenso estadísticamente significativo tras completar el tratamiento con fototerapia PUVA, con un valor de t= 3.51 y p=0.0095 al comparar

las medias de epidermis pre y postratamiento, y con $t= 4.0$ y $p=0.0048$ en el caso de dermis (figura 1).

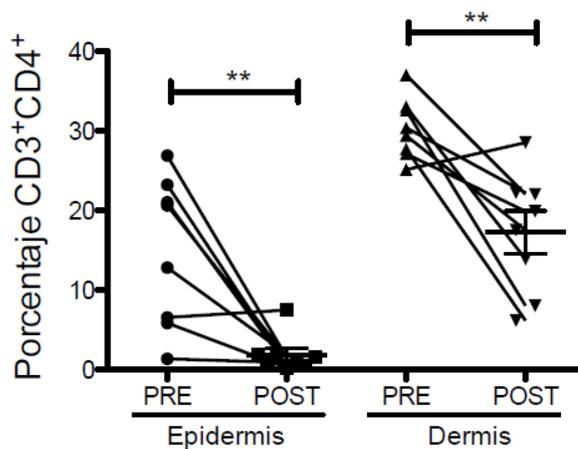


Figura 1

Para el análisis de la expresión de CD2 se utilizó ANOVA y prueba de "t" con comparación múltiple de Bonferroni, se encontró que existe diferencia significativa entre las medias de expresión de CD2 del grupo de pacientes sanos con respecto a la expresión de CD2 en epidermis de pacientes con MF pre y postratamiento ($p: 0.0002$) Figura 2. Al analizar las medias de expresión de CD2 entre la dermis y epidermis, pre y postratamiento, no se observó diferencia estadísticamente significativa (Cuadro 2)

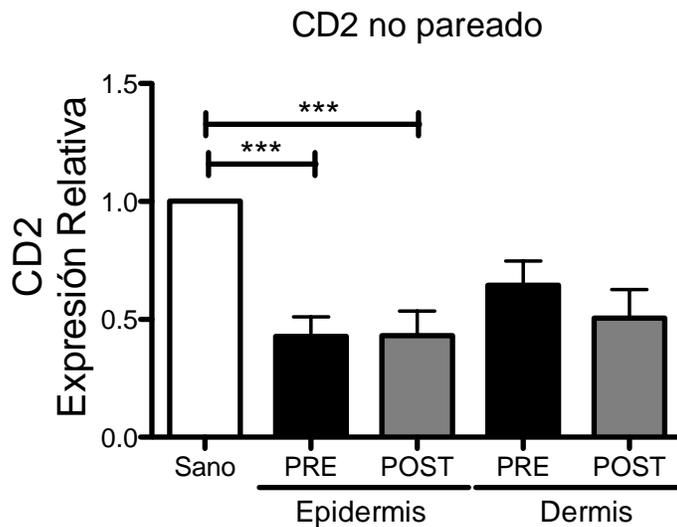


Figura 2

Cuadro 2

Test de Comparación Múltiple	Dif de Medias	t	P sig	IC 95%
Sano vs Pre Epidermis	0.57	4.360	Si	0.18 a 0.95
Sano vs Post Epidermis	0.58	4.341	Si	0.18 a 0.95
Sano vs Pre Dermis	0.35	2.711	No	-0.02 a 0.73
Sano vs Post Dermis	0.49	3.773	Si	0.11 a 0.87
Pre Epidermis vs Post Epidermis	-0.002	0.018	No	-0.38 a 0.38
Pre Dermis vs Post Dermis	-0.07	0.586	No	-0.46 a 0.3
Post Epidermis vs Pre Dermis	-0.21	1.630	No	-0.59 a 0.1
Pre Epidermis vs Post Dermis	0.13	1.062	No	-0.24 a 0.5

Discusión

La Micosis Fungoide es el linfoma cutáneo de células T más frecuente, y en sus estadios iniciales es diagnosticado y tratado por dermatólogos. En el Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de la Pascua” de la ciudad de México, la fototerapia

es el tratamiento de primera línea en Micosis Fungoide que presenta una afección extensa de la superficie cutánea (Estadio IB). En este estudio se obtuvo una respuesta aceptable al tratamiento en 75% de los pacientes, lo cual coincide con el 76% reportado por Trautinger para pacientes con MF en estadio IB tratados con fototerapia PUVA.²⁵ A pesar de la remisión clínica existe una alta probabilidad de recaídas, que de acuerdo Querfeld se presentaran en hasta el 33% de los pacientes con remisión completa, en un lapso promedio de 39 meses²⁷.

El objetivo de nuestro estudio fue determinar el efecto de la fototerapia PUVA sobre el inmunofenotipo de células T, en donde se puede observar que el tratamiento provoca una disminución en la población de linfocitos T cooperadores (CD3+CD4+), tanto dérmicos como epidérmicos, pero estos continúan expresando un fenotipo aberrante, caracterizado por la disminución en la expresión de CD2. Aunque no existen estudios previos similares, El-Mofty²⁸ y Apa³⁰ han reportado que a pesar de la remisión clínica de las lesiones, histopatológicamente persisten linfocitos con comportamiento anormal en grado variable.

Es importante considerar que este estudio se realizó después del primer ciclo de tratamiento y que la mayor parte de los pacientes continúan con una fase de mantenimiento, por lo que a partir de esta primera aproximación se pueden plantear otros estudios para valorar el cambio en el inmunofenotipo con el tratamiento prolongado con fototerapia PUVA

Conclusión

El tratamiento con fototerapia PUVA para Micosis Fungoide en estadios tempranos ofrece un adecuado índice de remisión clínica, lo cual se ve respaldado por la observación en la disminución de linfocitos T CD3 y CD4+ tanto dérmicos como epidérmicos, posterior al tratamiento, sin embargo a pesar de la remisión clínica, es claro que persisten poblaciones de linfocitos T con inmunofenotipo aberrante con disminución en la expresión de CD2, los cuales serían los responsables de las posteriores recaídas.

Por lo anterior es importante continuar en la búsqueda del tratamiento “ideal”, ya que hasta el momento solo podemos hablar de “remisión” con los tratamientos ahora disponibles, y no de curación.

Anexos

Anexo 1:

Carta de consentimiento informado

Lo (a) estamos invitando a participar en un estudio de investigación que se lleva a cabo en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Autoinmunes del Hospital de Especialidades "Bernardo Sepúlveda" del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

El estudio servirá para evaluar las características de algunas células que están presentes en las lesiones de mi piel y en mi sangre y de esa manera ayudamos a conocer más de la enfermedad.

Usted ha sido invitado(a) a participar en este estudio porque tiene lesiones cutáneas presuntivas de parapsoriasis o Micosis Fungido, por lo que pensamos que pudiera ser un buen candidato para participar en este proyecto.

Su participación en este estudio es completamente voluntaria.

Por favor, lea la información que le proporcionamos, y haga las preguntas que desee antes de decidir si desea o no participar.

Si usted acepta participar ocurrirá lo siguiente:

Le pediremos que asista a 1 visita, en su visita se le realizará toma de biopsia de piel lesionada con parapsoriasis o Micosis Fungoide y una toma de muestra de sangre periférica.

Se le pedirá que responda algunas preguntas, por ejemplo: su edad, el tiempo que lleva enfermo (a), el tipo de medicamentos que ha tomado, en caso de que lo haya hecho, etc.

Para poder realizarle la toma de muestra de sangre

1. **NO deberá presentarse en ayuno** de ningún tipo,
2. Tomaremos una muestra de sangre venosa de uno de sus brazos.
3. Nos tardaremos aproximadamente 10 minutos en tomarle la muestra de sangre.

Las molestias durante la toma de muestra de sangre son mínimas; en algunas ocasiones el procedimiento para tomarle una muestra de sangre puede causar un poco de dolor o una discreta molestia, es posible que se le pueda formar un moretón.

En cuanto a la toma de la biopsia:

Esta será tomada de una zona de piel que se encuentre afectada por una lesión de lupus al momento de su consulta. La biopsia es un procedimiento necesario para confirmar el diagnóstico y siempre se realiza.

No necesita presentarse en ayuno o con alguna preparación especial, también es probable que presente dolor o ardor al momento de colocar la anestesia y nos tomará aproximadamente 20-30min; este procedimiento deja una cicatriz permanente en el sitio.

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, de cualquier manera recibirá la atención médica que suele recibir en su institución hospitalaria. Esto es, no afectará su relación con la misma y tampoco afectará su derecho a obtener los servicios de salud u otros servicios que recibe.

Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento. El abandonar el estudio en momento que quiera no modificará de ninguna manera la atención médica que se le brinda.

Usted puede hacer las preguntas que desee al inicio o a lo largo del estudio a las personas encargadas del estudio.

La información que nos proporcione que pudiera ser utilizada para identificarla/o (como su nombre, teléfono y dirección) será guardada de manera confidencial y por separado al igual que sus respuestas a los cuestionarios y los resultados de sus pruebas clínicas, para garantizar su privacidad.

El equipo de investigadores, su médico en el Centro Dermatológico Ladislao de la Pascua, su médico familiar y las personas que estén involucradas en el cuidado de su salud sabrán que usted está participando en este estudio. Sin embargo, nadie más tendrá acceso a la información que usted nos proporcione durante su participación en este estudio. Sólo proporcionaremos su información si fuera necesario para proteger sus derechos o su bienestar (por ejemplo si llegara a sufrir algún daño físico o si llegara a necesitar cuidados de emergencia), o si lo requiere la ley.

Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias, por ejemplo, no se dará información que pudiera revelar su identidad. Su identidad será protegida y ocultada. Para proteger su identidad le asignaremos un número que utilizaremos para identificar sus datos, y usaremos ese número en lugar de su nombre en nuestras bases de datos.

Si tiene preguntas o quiere hablar con alguien sobre este estudio de investigación puede comunicarse de 9:00 a 16:00 hrs., de lunes a viernes con la Dra. Laura Bonifaz Alfonso, que es el investigador responsable del estudio a los teléfonos: 5627 6900 ext. 21370, en la Unidad de

Investigación Médica en Enfermedades Autoinmunes ubicada en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

En caso de presentarse alguna molestia o complicación relacionada con la toma de la muestra de sangre o la biopsia, deberá comunicarse con su médico Dermatólogo (a), quien le brindará la atención médica necesaria en caso de ser necesario.

Dermatólogo (a): _____

Centro Hospitalario: _____

Número de contacto: _____

Si usted tiene dudas o preguntas sobre sus derechos al participar en un estudio de investigación, puede comunicarse con los responsables de la Comisión de Ética en Investigación del IMSS, a los Tel. 56276900 ext. 21216, de 9 a 16:00 hrs.; o si así lo prefiere al correo electrónico: conise@cis.gob.mx. La Comisión de Ética se encuentra ubicada en el Edificio del Bloque B, Unidad de Congresos piso 4, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Av. Cuauhtémoc 330 Colonia Doctores, C.P. 06725, México D.F.

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me ha dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Se me ha dado una copia de este formato.

Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe.

Nombre del Participante

Firma del Participante

Fecha

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

Nombre del encargado de obtener el consentimiento informado

Firma del encargado de obtener el CI

Fecha

Firma de los testigos

Mi firma como testigo certifica que el/la participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

Nombre del Testigo 1

Parentesco con participante

Firma del Testigo

Fecha

Nombre del Testigo 2

Parentesco con participante

Firma del Testigo

Fecha

Anexo 2. Hoja de recolección de datos

Nombre del paciente: _____ Fecha: _____

Expediente: _____ Sexo: _____ Edad: _____

Domicilio: _____

Teléfono: _____

DIAGNÓSTICO:

MF Mancha MF Placa MF Tumor

MF Eritrodermia

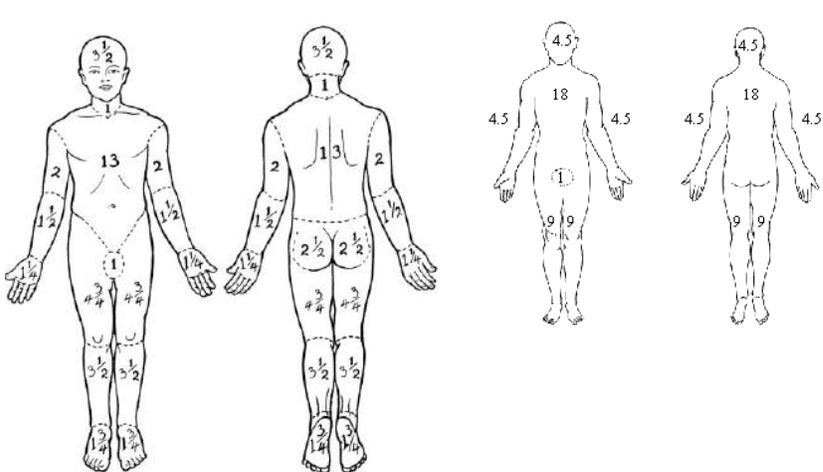
Tiempo de evolución de la enfermedad: _____

Tipo de lesión al inicio: _____

Tiempo de evolución de la lesión: _____

Tiempo desde el diagnóstico: _____

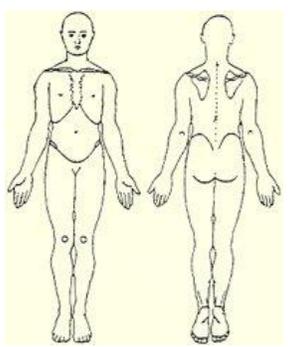
Superficie Corporal Afectada:



CABEZA	9%
TRONCO	36%
Anterior	18%
Posterior	18%
EXTREMIDAD	
Superior	9%
Inferior	9%
PERINE	1%

Total _____ %

Distribución y características de la lesión:



Tratamiento

Tópico: Emolientes Esteroides

Sistémico: Retinoides PUVA Esteroides

Numero de Sesiones

Dosis total

Respuesta a tratamiento:

R. Completa R. Parcial........Sin Respuesta

Clasificación	Descripción / Definición						
T: Piel							
T0	Lesiones clínicas o patológicas sugestivas de Linfoma cutáneo de células T (LCCT)						
T1	Placas limitadas, pápulas o parches eczematosos que involucren <10% de la superficie corporal						
T2	Placas generalizadas, pápulas o parches eritematosos que involucren ≥10% de superficie corporal						
T3	Tumores						
T4	Eritrodermia generalizada						
N: Nódulos linfáticos							
N0	No se palpa adenopatía, patología de nódulo linfático negativa para LCCT						
N1	Linfadenopatía palpable, nódulo linfático con patología negativa para LCCT						
ESTADIO	T	N	M	IIA	1,2	1	0
IA	1	0	0	IIB	3	0,1	0
IB	2	0	0	III	4	0,1	0

Anexo 3 Estadificación de Micosis Fungoide y Síndrome de Sezary ISCL/EORTC/NCI

Piel	
T1	Parches limitados, ^b pápulas o placas ^c que cubren <10% de la superficie de la piel. Podría estratificarse más aún en T1a (parche solo) contra T1b (placa ± parche).
T2	Pápulas, o placas que cubren ≥10% de la superficie de la piel. Podría estratificarse más aún en T2a (parche solo) contra T2b (placa ± parche).
T3	≥1 tumor ^d (≥1 cm de diámetro).
T4	Confluencia de eritema que cubre ≥80% del área de la superficie corporal.
Nódulo	
N0	No hay ganglios linfáticos periféricos clínicamente anómalos; ^e no se requiere biopsia.
N1	Ganglios linfáticos periféricos clínicamente anómalos; histopatología grado de Dutch 1 o NCI LN0–2.
N1a	Clon negativo. ^f
N1b	Clon positivo. ^f
N2	Ganglios linfáticos periféricos clínicamente anómalos; histopatología grado 2 de Dutch o NCI LN3.
N2a	Clon negativo. ^f
N2b	Clon positivo. ^f
N3	Ganglios linfáticos periféricos clínicamente anómalos; histopatología grado 3–4 de Dutch o NCI LN4; clon positivo o negativo.
Nx	Ganglios linfáticos periféricos clínicamente anómalos; sin confirmación histológica.
Visceral	
M0	No hay compromiso de órgano visceral.
M1	Compromiso visceral (debe contar con confirmación patológica, ^g y se debe especificar el órgano comprometido).
Compromiso de sangre periférica	
B0	Ausencia de compromiso sanguíneo significativo: ≤5% de linfocitos sanguíneos periféricos son células atípicas de (Sézary). ^h
B0a	Clon negativo. ^f
B0b	Clon positivo. ^f
B1	Carga tumoral baja de sangre: >5% de linfocitos sanguíneos periféricos son células atípicas de (Sézary) pero no cumple con el criterio de B2.
B1a	Clon negativo. ^f
B1b	Clon positivo. ^f
B2	Carga tumoral sanguínea alta: ≥1,000/μL células de Sézary ^h con clon positivo. ^f

EORTC = European Organization of Research and Treatment of Cancer; ISCL = International Society for Cutaneous Lymphomas; NCI = National Cancer Institute.

^bSe debe notar que para la piel, el parche indica una lesión cutánea de cualquier tamaño sin elevación significativa o induración. La presencia o ausencia de hipo o hiperpigmentación, escamación, endurecimiento o poiquilodermia.

^cEs importante notar que en la piel, una placa indica una lesión cutánea que está elevada o endurecida. Presencia o ausencia de escamación, endurecimiento o poiquilodermia. Características histológicas como el foliculotropismo o transformación de células grandes (células grandes >25%), CD30+ o CD30-, y es importante documentar características clínicas como ulceración.

^d Para la piel, el tumor indica por lo menos 1 cm de diámetro de lesión sólida o nodular con constancia de crecimiento profundo o vertical. Esté pendiente del número total de lesiones, el volumen total de estas lesiones, la lesión de mayor tamaño y la parte del cuerpo comprometida. También esté pendiente si se ha presentado constancia histológica de transformación de células grandes. Se recomienda un fenotipo de CD30.

^e Para los nódulos, los ganglios linfáticos periféricos anómalos indican cualquier nódulo periférico palpable que examinado físicamente, resulta firme, irregular, enclaustrado, fijo o $\geq 1,5$ cm de diámetro. Los grupos nodulares, una vez sometidos a un examen físico incluye: cervical, supraclavicular, epitroclear, axilar, e inguinal. Los ganglios centrales, que por lo general no son factibles de evaluación patológica, actualmente no se toman en cuenta para la clasificación nodal a menos que se usen para establecer N3 de forma histopatológica.

^f Un clon de célula T se define mediante una reacción en cadena de la polimerasa o un análisis Southern Blot del gen receptor de célula T (RCT).

^g Por el contrario las vísceras, bazo e hígado se pueden diagnosticar mediante criterio imaginológico.

^h Para la sangre, las células de Sézary se definen como linfocitos con núcleo cerebriforme hiperconvoluto. Si las células de Sézary no se pueden usar con el fin de determinar la carga tumoral para B2, entonces uno de los siguientes criterios modificados de ISCL junto con un reordenamiento clonal positivo del RCT podría usarse en su lugar: (1) expansión de las células CD4+ o CD3+ con proporción CD4/CD8 ≥ 10 ; y (2) expansión de células CD4+ con inmunofenotipo anómalo que incluye pérdida de CD7 o CD26.

Bibliografía

1. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, Cerroni L, Berti E, Swerdlow SH, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood*. 2005;105:3768-85.
2. Yamashita T, Abbade LP, Marques ME, Marques SA. Mycosis Fungoides and Sézary syndrome: clinical, histopathological and immunohistochemical review and update. *An Bras Dermatol*. 2012;87:817-28
3. Geskin Larisa J, "Chapter 105. Cutaneous T-Cell Lymphoma (Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome)." Lichtman MA, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal, JT: *Williams Hematology*. 8th ed. Available from: AccessMedicine.
4. IzuBelloso RM. Perspectiva histórica de los linfomas cutáneos a través de actas Dermo-Sifiliográficas. *Actas Dermosifiliogr* 2010;101:411-4
5. Wantzin GL, Thomsen K, Nissen NI, Saxinger C, Gallo RC. Occurrence of human T cell lymphotropic virus (type I) antibodies in cutaneous T cell lymphoma. *J Am Acad Dermatol*. 1986;15:598-602.
6. Ranki A, Niemi KM, Nieminen P, Krohn K. Antibodies against retroviral core proteins in relation to disease outcome in patients with mycosis Fungoides. *Arch Dermatol Res*. 1990;282:532-8.
7. Shohat M, Shohat B, Mimouni D, Pauli G, Ellerbrok H, David M, Hodak E. Human T-cell lymphotropic virus type 1 provirus and phylogenetic analysis in patients with mycosis Fungoides and their family relatives. *Br J Dermatol*. 2006;155:372-8.

8. Fine RM. HTLV-V: a new human retrovirus associated with cutaneous T-cell lymphoma (mycosis Fungoides). *Int J Dermatol.* 1988;27:473-4.
9. Mirvish JJ, Pomerantz RG, Falo LD Jr, Geskin LJ. Role of infectious agents in cutaneous T-cell lymphoma: facts and controversies. *Clin Dermatol.* 2013;31:423-31.
10. Kim EJ, Hess S, Richardson SK, et al. Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma. *J Clin Invest.* 2005;115:798-812.
11. Vermeer MH, van Doorn R, Dukers D, Bekkenk MW, Meijer CJ, Willemze R. CD8+ T cells in cutaneous T-cell lymphoma: expression of cytotoxic proteins, Fas Ligand, and killing inhibitory receptors and their relationship with clinical behavior. *J Clin Oncol.* 2001;19:4322-9.
12. Assaf C, Sterry W. Cutaneous Lymphoma. en: Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrist BA, Paller AS, Leffell DJ. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine.* 7th Ed. New York; McGraw-Hill, 2008; pp. 1386-1402.
13. Wilcox RA. Cutaneous T-cell lymphoma: 2011 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am. J. Hematol.* 2011;86:929–948.
14. Rizzo FA, Vilar EG, Pantaleão L, Fonseca EC, Magrin PF, Henrique-Xavier M, Rocha MC. Review. Mycosis Fungoides in children and adolescents: a report of six cases with predominantly hypopigmentation, along with a literature review]. *Dermatol Online J.* 2012 Mar 15;18(3):5.
15. Hassab-EI-Naby HM, El-Khalawany MA .Hypopigmented mycosis Fungoides in Egyptian patients. *J Cutan Pathol.* 2013;40:397-404.
16. AlGhamdi KM, Arafah MM, Al-Mubarak LA, Khachemoune A, Al-Saif FM. Profile of mycosis Fungoides in 43 Saudi patients. *Ann Saudi Med.* 2012;32:283-7.

17. Rustin MH, Griffiths M, Ridley CM, Kato H. The immunopathology of hypopigmented mycosis Fungoides. *Clin Exp Dermatol.* 1986;11:332-9
18. Burg G, Kempf W, Cozzio A, *et al.* WHO/EORTC classification of cutaneous lymphomas 2005: histological and molecular aspects. *J Cutan Pathol.* 2005;32:647-74.
19. Pimpinelli N, Olsen EA, Santucci M, *et al.* Defining early mycosis Fungoides. *J Am Acad Dermatol.* 2005;53:1053-63
20. Pierson DM, Jones D, Muzzafar T, Kersh MJ, Challagundla P, Medeiros LJ, Jorgensen JL. Utility of CD26 in flow cytometric immunophenotyping of T-cell lymphomas in tissue and body fluid specimens. *Cytometry B Clin Cytom.* 2008;74:341-8,
21. Kelemen K, Guitart J, Kuzel TM, Goolsby CL, Peterson LC. The usefulness of CD26 in flow cytometric analysis of peripheral blood in Sézary syndrome. *Am J Clin Pathol.* 2008;129:146-56.
22. Kim EJ, Hess S, Richardson SK, Newton S, Showe LC, Benoit BM, Ubriani R, Vittorio CC, Junkins-Hopkins JM, Wysocka M, Rook AH. Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma. *J Clin Invest.* 2005;115:798-812.
23. Reinhold U, Abken H. Cutaneous T-cell lymphoma: molecular genetics, immunology and pathogenesis. *Eur J Cancer* 1995;31:793-9.
24. Ormsby A, Bergfeld WF, Tubbs RR, Hsi ED. Evaluation of a new paraffin-reactive CD7 T-cell deletion marker and a polymerase chain reaction-based T-cell receptor gene rearrangement assay: implications for diagnosis of

- mycosis Fungoides in community clinical practice. *J Am Acad Dermatol* 2001;45:405-13.
25. Trautinger F. Phototherapy of mycosis Fungoides. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2011;27:68-74.
26. Carter J, Zug KA. Phototherapy for cutaneous T-cell lymphoma: online survey and literature review. *J Am Acad Dermatol*. 2009;60:39-50.
27. Querfeld C, Rosen ST, Kuzel TM, Kirby KA, Roenigk HH Jr, Prinz BM, Guitart J. Long-term follow-up of patients with early-stage cutaneous T-cell lymphoma who achieved complete remission with psoralen plus UV-A monotherapy. *Arch Dermatol*. 2005;141:305-11.
28. El-Mofty M, El-Darouty M, Salonas M, *et al*. Narrow band UVB (311 nm), psoralen UVB (311 nm) and PUVA therapy in the treatment of early-stage mycosis Fungoides: a right-left comparative study. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2005;21:281-6.
29. Gökdemir G, Barutcuoglu B, Sakiz D, Köşlü A. Narrowband UVB phototherapy for early-stage mycosis Fungoides: evaluation of clinical and histopathological changes. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2006;20:804-9
30. Apa DD, Pfeiffer ES, Baz K, Kanik EA, Inandioğlu P. Histopathological changes seen in mycosis Fungoides patients after phototherapy. *Am J Dermatopathol*. 2010;32:276-80.
31. Zemheri E, Ozkanli S, Zindanci I, Senol S, Akbulak O, Turfanda E, Toprak M, Kosemetin D, Aydın A. Evaluation of histopathological changes in control biopsies which taken 48 sessions after NB-UVB phototherapy for early-stage mycosis Fungoides. *Scientific World Journal*. 2012;2012:426732.

32. El Mofty M, Ramadan S, Fawzy MM, Hegazy RA, Sayed S. Broad band UVA: a possible reliable alternative to PUVA in the treatment of early-stage mycosis Fungoides. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2012;28:274-7
33. World Medical Assembly, Helsinki Finland. World Medical Association Declaration of Helsinki. World Medical Assembly, Helsinki, Finland. World Medical Association Declaration of Helsinki. 1989.
34. Comité Directivo de la Conferencia Internacional de Armonización. Normas de Buenas Prácticas Clínicas. 1996.