



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN HOSPITAL
GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"**

**EXPRESIÓN DE LOS MARCADORES MOLECULARES T-BET Y/O GATA-3,
POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN MICOSIS FUNGOIDE EN FASE DE MANCHA
Y/O PLACA Y EN DERMATOSIS INFLAMATORIAS SIMULADORAS**

**TESIS:
PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN DERMATOPATOLOGÍA**

**PRESENTA:
VIANEY VENECIA LANDINI ENRÍQUEZ**

**ASESOR:
DRA. SONIA TOUSSAINT CAIRE DEPARTAMENTO DE
DERMATOPATOLOGÍA**

Ciudad de México, febrero de 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"

AUTORIZACIONES



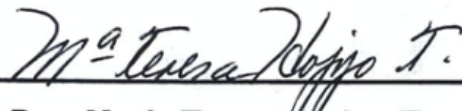
Dr. Héctor Manuel Prado Calleros

Director de Enseñanza e Investigación



Dr. José Pablo Maravilla Campillo

Subdirector de Investigación Biomédica



Dra. María Teresa Hojyo Tomoka

Jefa de la División de Dermatología



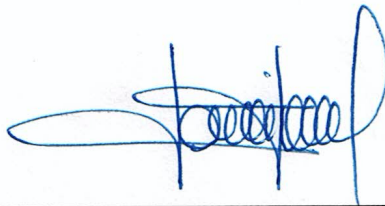
Dra. María Elisa Vega Memije

Profesora Titular del Curso de Dermatopatología

**“EXPRESIÓN DE LOS MARCADORES MOLECULARES T-BET Y/O GATA-3,
POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN MICOSIS FUNGOIDE EN FASE DE MANCHA
Y/O PLACA Y EN DERMATOSIS INFLAMATORIAS SIMULADORAS”**

Este trabajo fue realizado en el Hospital General “Dr. Manuel Gea González” en la División de Dermatología bajo la dirección de la Dra. Sonia Toussaint Caire con el apoyo de otros investigadores y adscritos de la División, quienes orientaron y aportaron a la conclusión de este trabajo.

COLABORADORES:

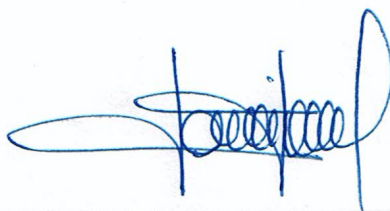


Dra. Sonia Toussaint Caire
Investigador Principal

**“EXPRESIÓN DE LOS MARCADORES MOLECULARES T-BET Y/O GATA-3,
POR INMUNOHISTOQUÍMICA EN MICOSIS FUNGOIDE EN FASE DE MANCHA
Y/O PLACA Y EN DERMATOSIS INFLAMATORIAS SIMULADORAS”**

Este trabajo fue realizado en el Hospital General “Dr. Manuel Gea González” en la División de Dermatología bajo la dirección de la Dra. Sonia Toussaint Caire con el apoyo de otros investigadores y adscritos de la División, quienes orientaron y aportaron a la conclusión de este trabajo.

COLABORADORES:



Dra. Sonia Toussaint Caire
Investigador Principal

AGRADECIMIENTOS

A Dios que me ha acompañado en cada paso que he dado, en cada decisión y momento de mi vida. Y que ahora me permite llegar al punto de culminar esta tesis para graduarme como Dermatopatóloga.

A mi madre que siempre me ha inspirado a ser una mejor persona, a superarme y a conducirme con ética y responsabilidad a donde quiera que vaya, mi mayor ejemplo en la vida.

A mi padre quien me ha inculcado sus ganas de siempre saber más, de la búsqueda del conocimiento, la apreciación del arte y la riqueza de la cultura.

A mi hermano quien ha sido mi compañero de vida, mi confidente y apoyo incondicional.

A mi tutora Dra. Sonia Toussaint quien me ayudó a la realización de esta tesis y me enseñó a amar la dermatopatología y el estudio integral de los pacientes, con vocación y dedicación.

A mi maestra Dra. Elisa Vega, quien me inspira día con día a ser una mujer y doctora impecable en cada acto y cada palabra, así como su compromiso con la enseñanza.

A todos mis maestros y compañeros que me han acompañado en este proceso y que me han dejado valiosas enseñanzas.

Al histotecnólogo Héctor Trinidad Bibiano, quien sin su valiosa colaboración no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2-5
3. MATERIALES Y MÉTODOS	5-7
4. RESULTADOS	7-9
5. DISCUSIÓN.....	10-11
6. CONCLUSIONES.....	11-12
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12-15
8. TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS	15-17

1. RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La micosis fungoide (MF) es el linfoma cutáneo de células T (CTCL) más frecuente, y en etapas etapas iniciales (fase de mancha y placa) a menudo se confunde con otros trastornos inflamatorios cutáneos, en los que se incluyen dermatitis espongiformes, psoriasiformes y liquenoides. Diferenciarlas es fundamental para el tratamiento y seguimiento de estos pacientes.

OBJETIVO: Conocer la expresión de los inmunomarcadores moleculares T-bet y/o GATA-3, por inmunohistoquímica en MF en fase de mancha y/o placa y en dermatosis inflamatorias simuladoras.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se realizó un estudio observacional, analítico, transversal y prolectivo. En el que se seleccionaron 20 casos representativos de MF en fase de mancha y/o placa y 20 casos de dermatosis inflamatorias. Se realizó inmunohistoquímica con T-bet y GATA-3 para evaluar su expresividad intraepidérmica y dérmica en 4 grados; 0 < 10%, 1 del 10 al 25%, 2 del 26% al 50%, 3 50% al 75% y 4 > 75%.

RESULTADOS: La tasa de expresión nuclear de T-bet intraepidérmica tuvo un nivel de expresión nuclear de 4 puntos (>75%) en 14 de los casos (70%). En cambio 18 casos (90%) tuvieron una expresión nuclear de GATA-3 epidérmica de 0 a 1 puntos (<10%, 10-25%).

CONCLUSIONES: En este estudio se demostró que existen diferencias entre la intensidad de la inmunoexpresión en T-bet y GATA-3 en la Micosis fungoides y en las dermatosis inflamatorias simuladoras. T-bet mostró significativamente mayor expresividad en los linfocitos intraepidérmicos de MF.

PALABRAS CLAVE: micosis fungoide, dermatosis inflamatorias, inmunohistoquímica.

2. INTRODUCCIÓN

El linfoma cutáneo primario de células T (CTCL, por sus siglas en inglés) comprende el segundo grupo más común de linfoma no Hodgkin extra-nodal.¹ El tipo más común de CTCL es la Micosis Fungoide (MF), la cual representa del 50% al 70% de todos los casos de linfoma cutáneo primario.² Se considera un linfoma de bajo grado que evoluciona lentamente. No obstante, del 1 al 2% de los pacientes progresan hacia la forma sistémica, con la posibilidad de transformación a células grandes, invasión de ganglios linfáticos, sangre periférica y órganos viscerales, como en el Síndrome de Sezary (SS).³

El diagnóstico temprano de MF tiene importantes implicaciones para el manejo terapéutico y pronóstico de la enfermedad. Ya que hasta el 34% de los pacientes presentan progresión de la enfermedad y 24% muere a causa de esta. Los pacientes en estadio 1A tienen una media de supervivencia de 35.5 años, disminuyendo a 1.4 años en estadio IVB.^{4,5,6}

La MF en fases tempranas se caracteriza por manchas de inicio insidioso, polimorfas que pueden ser diseminadas o localizadas, con predilección por las áreas protegidas por el sol (nalgas, axilas, muslos, mamas y abdomen bajo). Las manchas usualmente son eritematosas y recubiertas por una escama fina blanquecina y son en su mayoría asintomáticas, aunque también pueden ser pruriginosas.⁷ La progresión de la enfermedad es hacia las placas, que se caracterizan por lesiones infiltradas, irregulares, con descamación variable.⁸

Las características histológicas de MF en fase de mancha, son sutiles y frecuentemente pueden pasar desapercibidas. Muchas veces múltiples biopsias se requieren para llegar al diagnóstico. Los criterios histológicos para el diagnóstico de MF influye un infiltrado atípico de linfocitos pequeños a medianos, dérmico que puede ser de muy leve a liquenoide, epidermotropismo el cual puede ser focal o extenso, y presencia de micro agregados de Pautrier (grupo de ≥ 4 linfocitos con un

halo transparente circundante), los cuales son más evidentes en estadio de placa.
9, 10,11

Los estadios de parche y placa pueden ser difícil de diferenciar, clínica e histopatológicamente, de las dermatosis inflamatorias, incluyendo a las dermatitis espongiformes, dermatitis liquenoides y dermatitis psoriasiformes.¹² En esta etapa, las diferencias morfológicas son muchas veces insuficientes para hacer un diagnóstico preciso.¹³ Debido a que los infiltrados linfoides cutáneos (ILC) se pueden observar tanto en trastornos benignos como malignos. Diferenciar los infiltrados benignos de los malignos es una de las tareas más difíciles en dermatopatología, ya que existe una superposición histopatológica considerable entre los linfomas cutáneos primarios y algunas dermatosis inflamatorias que clínica y/o histopatológicamente pueden simular linfomas cutáneos.¹⁴ En un paciente con lesiones eritematosas discretas, un infiltrado dérmico predominante de células T superficial (SDI) puede plantear el desafío de distinguir entre micosis fungoide (MF) en etapa temprana de parche y/o placa y afecciones inflamatorias.¹⁵ Entre las dermatosis con un patrón de dermatitis espongiforme se encuentran la pitiriasis alba, psoriasis eczematizada, dermatitis de contacto y dermatitis atópica. Entre las dermatosis con un patrón de dermatitis liquenoide se encuentra la reacción liquenoide a fármacos, pitiriasis liquenoide crónica, el eritema discrómico de perstans (Dermatitis cenicienta) y dermatitis púrpura pigmentada persistente.

Esto se debe en parte a los hallazgos sutiles en las biopsias de MF temprana que pueden mostrar espongiosis y/o cambios psoriasiformes con escaso epidermotropismo.¹⁶ En estos casos, decidir si se deben realizar pruebas auxiliares a menudo costosas se vuelve un desafío, particularmente en lugares con recursos limitados. Tanto la inmunohistoquímica (IHC) como la TCR-PCR se han propuesto como estudios auxiliares para su uso en casos no diagnósticos. En particular, algunos estudios han sugerido que la detección de un inmunofenotipo aberrante con pérdida de antígenos de células pan-T, como CD2, CD5 y CD7, puede ser útil ya que dicha pérdida puede ocurrir en la MF temprana mientras que los infiltrados

reactivos no pierden expresión de estos marcadores.¹⁶ Sin embargo, se notificaron casos de infiltrados linfoides cutáneos benignos con pérdida de marcadores de células pan-T; por lo tanto, un inmunofenotipo aberrante no es específico de la MF temprana.^{17,18} La TCR-PCR es útil para diferenciar la naturaleza clonal de la policlonal de un infiltrado de células T, en el 50-75% de los casos). Sin embargo, en la MF temprana, la mezcla relativa de linfocitos neoplásicos y reactivos puede producir resultados falsos negativos. Por el contrario, las dermatosis inflamatorias pueden demostrar reordenamientos clonales, en particular cuando se realiza PCR en infiltrados escasos (oligoclonalidad), y algunas dermatosis inflamatorias suelen ser clonales, aunque presentan un curso clínico benigno (pitiriasis liquenoide [PL], PPPD o reacciones a fármacos).¹⁵

Debido a que MF en fases tempranas es difícil e incluso puede llegar a ser imposible de diferenciar de sus imitadores inflamatorios, mediante histología, se han investigado nuevos marcadores moleculares por IHQ, y 2 estudios previos sugieren que el predominio de células T-bet T en la epidermis apoya el diagnóstico de MF en estadio de mancha sobre la de otra dermatosis inflamatoria.^{19,20} La micosis fungoide (MF) temprana demuestra un aumento en IL2 e INF, que es un perfil de Th1, mientras que en la dermatitis de contacto muestran involucro tanto de Th1 como Tc. Las células T colaboradoras (Th) juegan un papel importante en la respuesta inmune a través de la colaboración entre los linfocitos T y B. Los linfocitos CD4 Th1 y Th2 se diferencian por las citocinas que secretan. Los linfocitos Th1 producen INF e IL2, mientras que las células Th2 secretan IL4, IL5, IL6, IL10 e IL13. Además los linfocitos T CD8 citotóxicos se subdividen en Tc1 y Tc2, y su activación da como resultado la producción de INF. T-bet es un factor de transcripción de compromiso del linaje Th1 necesario para la diferenciación de células T CD8 vírgenes. En contraste, GATA-3 es un factor de transcripción de compromiso de linaje Th2. Ambos T-bet y la expresión de GATA-3 afectan el equilibrio de las células Th1 / Th2.

21, 22

T-bet es un miembro de la familia T-box de factores de transcripción regulador del de linfocitos T CD4 cooperadores (Th), participa en la diferenciación de los linfocitos T CD8 vírgenes, activando al interferón gamma (IFN- γ). IFN- γ es producida principalmente por células Th1 CD4, T CD8 y NK (Natural killer). Actúa uniéndose al receptor de membrana de IFN- γ desencadenando la señalización de la vía Jak-STAT. ^{23,24} En contraste, GATA-3 es un regulador clave de la diferenciación Th2, además controla la supervivencia y la proliferación de las células T CD8 + y es esencial para la función reguladora de las células T (Treg). Mientras que las células Th2 regulan sustancialmente los niveles de GATA-3 durante el desarrollo, las células Th1 expresan cantidades muy bajas de GATA-3. Durante la diferenciación de células Th2, GATA-3 inhibe la función T-bet y la expresión de IFN-g.²⁵

Por lo cual el objetivo de este estudio es conocer la expresión de los inmunomarcadores moleculares T-bet y/o GATA-3, por inmunohistoquímica en MF en fase de mancha y/o placa y en dermatosis inflamatorias simuladoras.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional descriptivo, transversal mediante análisis retrospectivo y prolectivo de forma exhaustiva de muestras de biopsia de piel de pacientes con diagnóstico clínico de MF vs una dermatosis inflamatoria, desde enero de 2010 a diciembre de 2019, en la base de datos electrónica de los registros de Dermatopatología del Hospital General Dr. Manuel Gea González. La autorización ética se obtuvo del comité de revisión de ética institucional con el número de registro 06-37-2021.

Características clínicas e Histológicas

Todos eran casos clínicamente sospechosos de MF vs alguna otra dermatosis inflamatoria simuladora clínica de la neoplasia. Excluyendo los casos que tuvieran material de estudio insuficiente.

Las características clínicas y patológicas fueron revisadas por 2 investigadores (VLE y STC). Se evaluaron los cambios epidérmicos, la disposición y densidad del infiltrado dérmico, la presencia de epidermotropismo, microagregados de Pautrier y el nivel de atipia linfocítica.

Inmunohistoquímica

Se tiñeron secciones de tejido embebidas en parafina fijadas con formalina (4 mm) usando la inmunotinción automática Ventana Ultra (Ventana Medical Systems, Tucson, AZ). Después de la desparafinación, se realizó la recuperación del antígeno a 95°C durante 65 minutos usando la solución de acondicionamiento de células ultra (ULTRACC1). El tejido en los portaobjetos se hizo reaccionar secuencialmente primero con el anticuerpo anti-CD3 (clon PS1, Biocare Medical, Concord, CA). Este sólo en los casos que no contaban previamente con esta Inmunotinción. En el total de las muestras se realizó reacción con anti-T-bet (clon MRQ -46, Cell Marque, Rocklin, CA) y con el anticuerpo anti-GATA-3 (clon L50-823, Biocare Medical), los cuales fueron incubados con el kit ultraView Universal Alkaline Phosphatase Red Detection Kit (Ventana Medical Systems).

El conteo de células se realizó por 2 de los autores (VLE y STC) enumerando las células positivas en el campo más representativo “campo caliente” en aumento de 40x, por cada laminilla, para la MF en etapa temprana (etapas de mancha y/o placa) y en las dermatosis inflamatorias. Se cuantificaron de acuerdo con el porcentaje de la tasa de expresión en los linfocitos intraepidérmicos y los que se encuentren en dermis superficial. Los cuales fueron reportados como la tasa de expresión en porcentaje del número de células positivas entre el número de células observadas x 100%, comparándolas con la expresión de linfocitos CD3. Los resultados se dividieron en 4 grados de expresión: 0 < 10%, 1 del 10 al 25%, 2 del 26% al 50%, 3 50% al 75% y 4 > 75% y en cuatro categorías: T-bet epidérmico, T-bet dérmico, GATA-3 epidérmico y GATA-3 dérmico, para las dermatosis inflamatorias y los casos de MF.

Análisis estadístico

El análisis e interpretación de la información se realizó con estadística descriptiva, con medidas de tendencia central, frecuencias, media y desviación estándar para las variables cuantitativas numéricas y de frecuencias, rango y moda en variables nominales categóricas. Las puntuaciones obtenidas para la expresión de T-bet y GATA-3 se trataron como variables categóricas y se compararon mediante análisis de Chi-cuadrado para contrastar las frecuencias esperadas de acuerdo con la hipótesis, con intervalo de confianza del 95% (IC del 95%). Se consideró significativo un valor de $p < 0.05$.

4. RESULTADOS

Se evaluaron 200 expedientes clínicos de pacientes con la búsqueda de MF vs otras dermatosis inflamatorias en las bases de datos. Tras la exclusión, de 130 casos con otras variantes histopatológicas (MF en fase de placa avanzada, tumoral, granulomatosa, hipopigmentada y foliculotrópica), el número de muestras de biopsia evaluadas fue de 52 pacientes, excluyendo 12 casos con material insuficiente para la realización de estudios de inmunohistoquímica. Teniendo un número total de muestras de pacientes evaluadas de 40, 20 en cada grupo (MF en fase de parche/placa y dermatosis inflamatorias respectivamente). La **tabla 1** resume las características clínicas y demográficas de los grupos de Dermatitis inflamatorias y de MF. La edad de los pacientes fue de 6 a 95 años, con una media de 37.3 (± 22.5) con un tiempo de evolución de la dermatosis de 6.99 (± 7.07), y una relación hombre:mujer de 1.1:1.

Los diagnósticos clínicos de envío, para realización de una biopsia están desglosados en la **Tabla 2**. La Pitiriasis liquenoide crónica (PLC) fue el diagnóstico más frecuente en el grupo de MF y en el grupo de dermatosis inflamatorias de 6 (30%) y 9 (45%), respectivamente. Entre los diagnósticos menos frecuentes se encontró un caso de Lepra en el grupo de MF y un caso de Lepra y otro de Amiloidosis en el grupo de dermatosis inflamatorias.

Características histopatológicas

Dentro del grupo de las dermatosis inflamatorias se encontró que el patrón histopatológico más frecuente fue el de dermatitis de interfaz con 11 casos (55%), seguido de dermatitis espongiforme con 8 casos (40%) y sólo un caso de dermatitis psoriasiforme (5%) el cual fue diagnosticado como Psoriasis. El diagnóstico definitivo más frecuente fue el de PLC (35%), seguido de pitiriasis alba (30%).

Todos los casos de MF mostraron el patrón histopatológico clásico. La comparación entre los casos de MF en fase de parche (15) y de MF en fase de placa (5) se muestra en la **Tabla 3**. Los casos de MF en fase de parche tuvieron en su mayoría (53%) un infiltrado dérmico con pocas células linfoides dispersas en la dermis papilar. El 53% mostró menos de 3 focos de linfocitos con epidermotropismo basal lineal, 46% demostró un solo micro agregado de Pautrier (alineación de ≥ 4 linfocitos a lo largo de la capa basal), y el 53% tuvo más de 2 microagregados de Pautrier. La atipia linfocítica fue en 80% de los casos leve (células pequeñas/medianas).

Por otro lado, en los casos de MF en fase de placa el 80% de los casos mostró un infiltrado dérmico perivascular moderado con agrupamiento de células. 4 casos de los 5 presentaron 3 focos de epidermotropismo basal lineal y más de 2 microagregados de Pautrier en la unión dermo-epidérmica. Todos los casos mostraron células uniformemente atípicas o pleomórficas y figuras mitóticas. En este grupo, 12 casos tuvieron confirmación con estudios de inmunohistoquímica. Los linfocitos expresaron en su mayoría CD3 (linfocitos T) y en menor proporción CD20 (linfocitos B) con una relación T-B de 5:1. Hay tanto linfocitos CD4 y CD8 con relación CD4/CD8 de 6:1 y pérdida focal de la expresión de CD7.

Expresión T-bet y GATA-3

Las diferencias entre ambos grupos, sobre la expresión nuclear de los linfocitos estudiados por inmunohistoquímica, en ambos grupos, se exponen en la **Tabla 4**. La expresión nuclear de T-bet en los linfocitos dérmicos, comparada con la expresión de CD3 en las dermatosis inflamatorias fue menor del 50% en el 100% de los casos, con 11 casos (55%) en el grupo de 10-25%. En cambio en MF se mostró una distribución en donde la mayoría de los casos tuvo una expresión mayor de 26%, 18 casos (90%). Ésta diferencia mostró significancia estadística entre los dos grupos con un valor de Chi-cuadrada de 18.733, con una razón de verosimilitud de 44.5 $P = 0.001$. **(Figura 1 y 2)**

La expresión nuclear de T-bet en los linfocitos T intraepidérmicos en las dermatosis inflamatorias se presentó en 18 casos (90%) por debajo del 25%. En el grupo de MF la expresión fue mayor del 75% en 14 casos (70%), y mayor del 51% en el 85% de los casos en total (17 casos). El examen de Chi-cuadrada tuvo un valor de 32.667, con una razón de verosimilitud de 44.5 y una significancia estadística de $P = 0.000$. **(Figura 1 y 2)**

La expresión nuclear en los linfocitos T de GATA-3 epidérmica, comparada con CD3, tuvo una disposición heterogénea en ambos grupos. Sin embargo mostró la misma tendencia con mayor expresión en el grupo de las dermatosis inflamatorias que el grupo de MF. Con un valor de Chi-cuadrada de 15.83 y una razón de verosimilitud de 20.303 ($P = 0.001$). **(Figura 1 y 2)**

La expresión nuclear en los linfocitos T de GATA-3 epidérmica, comparada con CD3, tuvo predominio de en las dermatosis inflamatorias; 8 casos (40%) con una expresión de 26-50%, y 10 casos (50%) mayor del 51%. En el grupo de MF, 90% de los casos estudiados tuvieron una expresión menor del 25%. La prueba de hipótesis de Chi-cuadrada tuvo un valor de 25.9 con una razón de verosimilitud del 30.78 ($P = 0.000$). **(Figura 1 y 2)**

5. DISCUSIÓN

Este estudio fue realizado para identificar y comparar la tasa de expresión nuclear por inmunohistoquímica en MF comparada con las dermatosis inflamatorias simuladoras de la enfermedad. Estudios previos sugieren que existe una diferencia entre ambos marcadores (T-bet y GATA-3), incluso con un potencial de utilidad diagnóstica para discriminar entre dermatosis inflamatorias reactivas y un linfoma cutáneo de células T. ⁽³¹⁾ Los análisis inmunofenotípicos y / o los reordenamientos clonales del gen del receptor de células T (TCR) en las células neoplásicas a menudo se usan para apoyar los diagnósticos histológicos. Sin embargo, dependen de la densidad del infiltrado linfoide, ya que se basan en los CD derivados de linfocitos T, y se requieren combinaciones de los mismos (CD3+, CD4+, y CD45 +, CD7 -, CD26 - y baja expresión de CD2, CD3, CD4 y CD5) resultando costoso y poco específicos. Además, a pesar de que existen marcadores de linfocitos T CD4/CD8, CD4 no es específico de células T_H, implicadas en la patogénesis de MF. ^(17,19, 20)

Previos a este estudio se realizaron dos para evaluar la expresión y utilidad de los marcadores específicos TH1 y TH2, T-bet y GATA-3, respectivamente, en MF y en dermatosis inflamatorias. El primero de ellos se realizó en 2015 por Hsi y colaboradores, en donde realizaron un estudio en 15 MF en fase de placa, ninguna de ellas en fase de parche, a diferencia de nuestro estudio, y lo compararon con 56 dermatosis inflamatorias. ⁽³¹⁾ El segundo de ellos fue realizado por Elbendary y colaboradores en 2016 en donde compararon 10 MF y 10 dermatosis con un patrón histopatológico de espongiosis. ⁽²⁶⁾ Este estudio se realizó en una población mayor de casos de MF e incluyó fases más tempranas de la enfermedad con un predominio de casos en fase de parche (n=15, 75%) sobre placa (n=5, 25%).

En este estudio, no se realizó tinción dual de CD3 con los marcadores T-bet/GATA-3 debido a que previamente se demostró previamente una baja concordancia interobservador al realizar esta doble tinción (r = 0.29). ⁽²⁶⁾ Sin embargo, se hizo la comparación directa con la inmunomarcación membranal de los linfocitos CD3+ en el "punto caliente". Demostrando, una clara diferencia entre linfocitos reactivos y

linfocitos neoplásicos, con una diferencia estadísticamente significativa en los 4 grupos estudiados.

T-bet, marcador de diferenciación TH1, tuvo una mayor expresión en los linfocitos neoplásicos tanto epidérmicos como dérmicos en el grupo de MF ($p= 0.000$ y $p=.001$ respectivamente). En la **Tabla 4** se aprecia que la distribución fue mayor en la evaluación intraepidérmica, de los casos estudiados. En cambio, GATA-3, marcador de diferenciación TH2, tuvo una mayor expresión nuclear en los linfocitos reactivos de la epidermis y dermis ($p= 0.000$ y 0.001 respectivamente).

En concordancia con el presente trabajo, el estudio realizado por Hsi y colaboradores encontró un predominio de células T-bet+ en la epidermis en etapa de placa sobre las dermatosis inflamatorias, así como un predominio de células T expresando GATA+3 en la epidermis de las dermatosis inflamatorias.⁽³¹⁾ En el estudio llevado a cabo por Elbendary y colaboradores, en contraste con el reporte previo, no encontró diferencias significativas entre los grupos en la tinción de las células T epidermotrópicas y en el infiltrado dérmico en cada grupo.⁽²⁶⁾ Esto puede deberse, primero el tamaño de la muestra y segundo la inclusión de sólo dermatosis espongióticas en su muestra.

Las limitaciones de este estudio es que la muestra es relativamente pequeña, es un estudio retrospectivo y se necesitan estudios prospectivos más grandes para validar aún más la utilidad de estos marcadores; así como la inclusión de otras variables en un análisis multivariado que pudieran estar teniendo un impacto en los resultados, como lo es el tiempo de evolución de las lesiones.

6. CONCLUSIONES

En este estudio transversal, descriptivo se demostró que existen diferencias entre la intensidad de la inmunexpresión en T-bet y GATA-3 en la MF y en las dermatosis inflamatorias simuladoras. T-bet mostró significativamente mayor expresividad en los linfocitos intraepidérmicos de MF.

Esta investigación puede tener implicaciones en la identificación de MF en etapas más temprana, lo que tiene un impacto relevante en el pronóstico y costes de atención tanto para los pacientes como para los sistemas de salud pública.

Debido a la controversia en la literatura sobre la utilidad de esos marcadores y los tamaños de muestra utilizados, se propone la realización de estudios prospectivos con un mayor número de casos estudiados para continuar validando los resultados obtenidos.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. Stadler R, Stranzenbach R. Molecular pathogenesis of cutaneous lymphomas. *Exp Dermatol*. 2018;10:1078-1083.
8. Keehn CA, Belongie IP, Shistik G, Fenske NA, Glass LF. The diagnosis, staging, and treatment options for mycosis fungoides. *Cancer Control*. 2007; 14:102-111.
9. Wernham AG, Shah F, Amel-Kashipaz R, et al. Stage I mycosis fungoides: frequent association with a favourable prognosis but disease progression and disease-specific mortality may occur. *Br J Dermatol*. 2015;173:1295-1297.
10. Agar NS, Wedgeworth E, Crichton S, et al. Survival outcomes and prognostic factors in mycosis fungoides/Sezary syndrome: validation of the revised International Society for Cutaneous Lymphomas/European Organization for Research and Treatment of Cancer staging proposal. *J Clin Oncol* 2010;28(31):4730–9.
11. Cerroni L. Mycosis fungoides-clinical and histopathologic features, differential diagnosis, and treatment. *Semin Cutan Med Surg* 2018; 37:2-10.
12. Ruwanthi D, Dissanayake K, Vipula M. Comparison between the histopathological and immunophenotypical features of hypopigmented and nonhypopigmented mycosis fungoides: A retrospective study. *J Cutan Pathol*. 2021;48:486-494

13. Willemze R, Cerroni L, Kempf W, et al. The 2018 update of the WHO-EORTC classification for primary cutaneous lymphomas. *Blood*. 2019;133(16):1703-1714. doi:10.1182/blood-2018-11-881268.
14. Ahn CS, ALSayyah A, Sangüeza OP. Mycosis fungoides: an updated review of clinicopathologic variants. *Am J Dermatopathol*. 2014; 36(12):933-48; quiz 949-51.
15. Willemze R. Mycosis fungoides variants-clinicopathologic features, differential diagnosis, and treatment. *Semin Cutan Med Surg*. 2018;37(1):11-17. doi: 10.12788/j.sder.2018.004. PMID: 29719015.
16. Sanchez JL, Ackerman AB. The patch stage of mycosis fungoides. Criteria for histologic diagnosis. *Am Dermatopathol*. 1979 Spring; 1(1):5-26.
17. Pimpinelli N, Olsen EA, Santucci M, et al. Defining early mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol* 2005;53: 1053-1063.
18. Albendaño A, Arias M, Ochoa K, et al. Micosis fungoide mas alla de la forma clasica de Alibert-Bazin: comunicacion de diecisiete variantes atipicas. *Dermatol Argent* 2008;14(2):124-133.
19. Pimpinelli N, Olsen EA, Santucci M, Vonderheid E, Haeffner AC, Stevens S, et al. Defining early mycosis fungoides. *J Am Acad Dermatol* 2005;53:1053-63.
20. Charli-Joseph YV, Gatica-Torres M, Pincus LB. Approach to Cutaneous Lymphoid Infiltrates: When to Consider Lymphoma? *Indian J Dermatol*. 2016;61(4):351-74. doi: 10.4103/0019-5154.185698. PMID: 27512181.
21. Charly-Joseph Y, Gatica-Torres M, Pincus L, Hodak E, Amitay-Laish I. Mycosis fungoides: A great imitator. *Clinics in Dermatology*, 2019; 37: 255-267
22. Ming M, LeBoit PE. Can dermatopathologists reliably make the diagnosis of mycosis fungoides?. If not, who can. *Arch Dermatol*. 2000;136:543–6.
23. Michie SA, Abel EA, Hoppe RT, Warnke RA, Wood GS. Discordant expression of antigens between intraepidermal and intradermal T cells in mycosis fungoides. *Am J Pathol*. 1990;137(6):1447-51. PMID: 2260631
24. Knowles DM. Immunophenotypic and antigen receptor gene rearrangement analysis in T cell neoplasia. *Am J Pathol*. 1989;134:761–785

25. Moll M, Reinhold U, Kukel S, Abken H, Müller R, Oltermann I, et al. CD7-negative helper T cells accumulate in inflammatory skin lesions. *J Invest Dermatol.* 1994;102:328–332.
26. Elbendary A, Parikh K, Elattar I, Truong J, Elston D. Expression of T-bet and GATA-3 in early mycosis fungoides and spongiotic dermatitis. *J Am Acad Dermatol.* 2016;74(5):1012-4. DOI: 10.1016/j.jaad.2015.12.004
27. Saed G, Fivenson DP, Naidu Y, Nickoloff BJ. Mycosis fungoides exhibits a Th1-type cell-mediated cytokine profile whereas Sezary syndrome expresses a Th2-type profile. *J Invest Dermatol* 1994;103:29-33.
28. Szabo SJ, Sullivan BM, Stemmann C, Satoskar AR, Sleckman BP, Glimcher LH. Distinct effects of T-bet in TH1 lineage commitment and IFN-gamma production in CD4 and CD8 T cells. *Science* 2002; 295:338-42.
29. Yuki A, Shinkuma S, Hayashi R, Fujikawa H, Kato T, Homma E, Hamade Y, Onodera O, Matsuoka M, Shimizu H, Iwata H, Abe R. CADM1 Is a Diagnostic Marker in Early-Stage Mycosis Fungoides: Multicenter Study of 58 Cases *J Am Acad Dermatol.* 2018;79(6):1039-1046.
30. Saed G, Fivenson DP, Naidu Y, Nickoloff BJ. Mycosis fungoides exhibits a Th1-type cell-mediated cytokine profile whereas Sezary syndrome expresses a Th2-type profile. *J Invest Dermatol* 1994;103:29-33.
31. Hsi A, Lee S, Rosman I, Carson K, Kelly A, Viele V et al. Expression of helper T cell master regulators in inflammatory dermatoses and primary cutaneous T-cell lymphomas: Diagnostic implications. *J Am Acad Dermatol.* 2015 ;72(1): 159 - 167.
32. Szabo SJ, Sullivan BM, Stemmann C, Satoskar AR, Sleckman BP, Glimcher LH. Distinct effects of T-bet in TH1 lineage commitment and IFN-gamma production in CD4 and CD8 T cells. *Science* 2002; 295:338-42.
33. Tindemans I, Serafini N, Di Santo JP, Hendriks RW. GATA-3 function in innate and adaptive immunity. *Immunity.* 2014 Aug 21;41(2):191-206. doi: 10.1016/j.immuni.2014.06.006.

34. Han XY, KC Sizer, JS Velarde-Félix, LO Frias-Castro, F Vargas-Ocampo. Expression of helper T cell master regulators in inflammatory dermatoses and primary cutaneous T-cell lymphomas: Diagnostic implications.

8. TABLAS FIGURAS Y GRÁFICOS

Tabla 1. Características clínicas y demográficas del grupo de MF y Dermatitis inflamatorias

	Grupo MF n = 20 Frecuencia (% dentro del grupo de MF)	Grupo Dermatitis inflamatorias n = 20 Frecuencia (% dentro del grupo de dermatosis)
Edad		
0-14 años	7 (35%)	2 (10%)
15-29 años	4 (20%)	4 (20%)
30-44 años	2 (10%)	5 (25%)
45-59 años	3 (15%)	6 (30%)
≥60 years	4 (20%)	3 (15%)
Género		
Hombres	10 (50%)	11 (55%)
Mujeres	10 (50%)	9 (45%)
Tiempo de evolución*		
< 5 años	14 (70%)	6 (30%)
5-10 años	1 (5%)	3 (15%)
> 10 años	5 (25%)	5 (25%)

*6 datos perdidos en el grupo de MF

Tabla 2. Diagnósticos clínicos de envío en el grupo de MF y Dermatitis inflamatorias.

	Grupo de MF n = 20 Frecuencia (%)	Grupo de Dermatitis inflamatorias n = 20 Frecuencia (%)
PLC	6 (30%)	9 (45%)
PR	0 (0%)	1 (5%)
PSO	2 (10%)	2 (10%)
Pos inflamatorias	0 (0%)	3 (15%)
Eczema	3 (15%)	3 (15%)
Parapsoriasis	2 (10%)	0 (0%)
Otros	1 (10%)	2 (10%)

PLC (pitiriasis liquenoide crónica), PR (pitiriasis rosada), PSO (psoriasis).

Tabla 3. Características histopatológicas evaluadas en el grupo de MF n=20

Característica histológica	MF en parche n=15 (75%)	MF en placa N=5 (25%)
Infiltrado dérmico	1.46 ± 0.63	2.8 ± 0.44
Epidermostropismo	1.66 ± 0.61	2.2 ± 0.44
Microagregados de Pautrier	1.4 ± 0.63	1.8 ± 0.44
Atipia linfocítica	1.2 ± 0.41	2 ± 0

Infiltrado dérmico: (0) sin infiltrado (1) Pocas células linfoides dispersas en la dermis subepitelial y papilar, (2) Infiltrado dérmico perivascular leve y suelto en la dermis papilar, (3) Infiltrado dérmico perivascular moderado con agrupamiento de células. **Epidermostropismo:** (0) Ninguno (1) Linfocitos dispersos dentro de la capa basal de la epidermis. (2) <3 focos de epidermotropismo basal lineal (3) ≥3 focos de epidermotropismo basal lineal. **Microagregados de Pautrier:** (0) ninguno (1) un solo agregado (grupo de ≥4 linfocitos con un halo transparente circundante) dentro de la epidermis o en la unión dermoepidérmica (2) > 2 microagregados en la unión dermo epidérmica. **Atipia linfocítica:** (0) sin atipia (1) atipia (2) atipia moderada (linfocitos pequeños, intermedios y grandes), (3) Células uniformemente atípicas o pleomórficas, muchas figuras

Tabla 4. Puntuaciones obtenidas para las categorías de expresión de T-bet y GATA 3 en los grupos de MF y dermatosis inflamatorias y los resultados del análisis estadístico entre los dos grupos

Expresión Inmunohistoquímica	Puntuación	Grupo MF	Grupo Dermatosis	Prueba de Chi- cuadrada	
		n=20 (Frecuencia en %)	inflamatorias n=20 (Frecuencia en %)	RV*	valor de <i>p</i>
T-bet epidérmico	< 10% 0	1 (5%)	5 (25%)	32.667	.000
	10-25% 1	0 (0%)	13 (65%)	44.500	
	26- 50% 2	2 (10%)	2 (10%)		
	51-75% 3	3 (15%)	0 (0%)		
	> 75% 4	14 (70%)	0 (0%)		
T-bet dérmico	< 10% 0	2 (10%)	1 (5%)	18.733	.001
	10-25% 1	11 (55%)	1 (5%)	24.021	
	26- 50% 2	7 (35%)	8 (40%)		
	51-75% 3	0 (0%)	7 (35%)		
	> 75% 4	0 (0%)	3 (15%)		
GATA-3 epidérmico	< 10% 0	10 (50%)	1 (5%)	25.919	.000
	10-25% 1	8 (40%)	1 (5%)	30.785	
	26- 50% 2	1 (5%)	8 (40%)		
	51-75% 3	1 (5%)	5 (25%)		
	> 75% 4	0 (0%)	5 (25%)		
GATA-3 dérmico	< 10% 0	0 (0%)	0 (0%)	15.836	.001
	10-25% 1	4 (20%)	2 (10%)	20.308	
	26- 50% 2	10 (50%)	3 (15%)		
	51-75% 3	6 (30%)	4 (20%)		
	> 75% 4	0 (0%)	11 (55%)		

Abreviaciones: VR (razón de verosimilitud)

*El primer dato es el resultado de la prueba de Chi-cuadrado de Pearson

Figura 1. Comparación de la expresividad de los marcadores T-bet y GATA-3 en un caso de Pitiriasis Rosada. A) Paraqueratosis, espongiosis y exocitosis de linfocitos. H&E 20X. B) Inmunohistoquímica CD3 + 40X. C) Expresión de T-bet intraepidérmico 1 punto, dérmico 2 puntos, en 20X y 40X respectivamente. D) Expresión de GATA-3 intraepidérmico y dérmico 4 puntos.

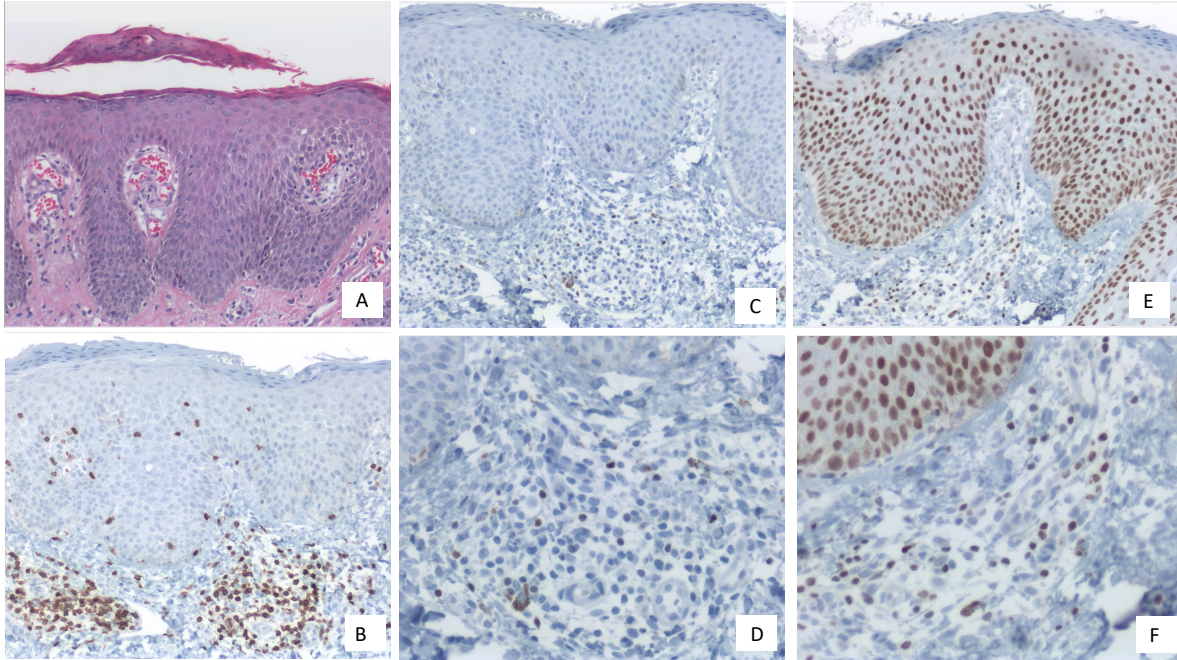


Figura 2. Comparación de la expresividad de los marcadores T-bet y GATA-3 en un caso de Micosis fungoides en fase de parche. A) Cambios epidérmicos mínimos, infiltrado linfocítico dérmico disperso en dermis papilar, epidermotropismo lineal, 1 micro agregado de Pautrier y atipia leve linfocítica. H&E 20X. B) Inmunohistoquímica CD3 + 40X. C) D) Expresión de T-bet intraepidérmico 1 punto, dérmico 2 puntos, en 20X y 40X respectivamente. E) F) Expresión de GATA-3 intraepidérmico y dérmico 4 puntos.

