

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Anatomía Patológica



**TESIS DOCTORAL**

Factores pronósticos de micosis fungoide:  
análisis de supervivencia y progresión

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Yolanda Rodríguez Gil**

Directores

José Luis Rodríguez Peralto  
Pablo Ortiz Romero

**Madrid, 2017**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA**



**FACTORES PRONÓSTICOS DE MICOSIS FUNGOIDE:**  
**Análisis de supervivencia y progresión**

**TESIS DOCTORAL**

Presentada por  
**Yolanda Rodríguez Gil**

Directores  
Dr Jose Luis Rodríguez Peralto  
Dr Pablo Ortiz Romero

Madrid, 2015





**D. José Luis Rodríguez Peralto**, Profesor Titular del Departamento de Anatomía Patológica de la Universidad Complutense de Madrid.

**D. Pablo Luis Ortiz Romero**, Profesor Titular del Departamento de Medicina Interna de la Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICAN:

Que **Dña. Yolanda Rodríguez Gil** ha realizado bajo nuestra dirección el trabajo **“Factores Pronósticos de Micosis fungoide: Análisis de supervivencia y progresión”** que a nuestro juicio reúne las condiciones para optar al Grado de Doctor. Para que así conste, firmamos el presente certificado en Madrid a 29 de Octubre del año dos mil y quince.

Vº Bº Directores de la Tesis Doctoral

**Dr. José Luis Rodríguez Peralto**  
Profesor Titular  
Departamento de Anatomía Patológica  
Facultad de Medicina  
Universidad Complutense de Madrid

**Dr. Pablo Luis Ortiz Romero**  
Profesor Titular  
Departamento de Medicina Interna  
Facultad de Medicina  
Universidad Complutense de Madrid



*A mis padres, por cuidar tan bien de su nieto, de mí y de toda la familia. Gracias por toda una vida confiando en que podría hacer aquello que me propusiera, por vosotros estoy aquí (en sentido literal y figurado)*

*Y a Antonio, mi compañero en la vida, porque cada día me doy más cuenta de que hacemos un equipo donde uno más uno son más de dos, gracias por ser también mi "pareja científica" a veces*

*Al Dr F.J. Colina y al Dr J.R. Ricoy, ahora ambos retirados, pero mis mentores y Amigos, pusieron unos cimientos sólidos enseñando con el ejemplo. Gracias por toda vuestra labor profesional ejemplar*

*A los pacientes futuros, que su pronóstico y su calidad de vida mejoren*



## I. AGRADECIMIENTOS

A la Fundación para la investigación Doce de Octubre por su trabajo en el fomento y apoyo a la investigación biomédica de sus trabajadores.

Al Profesor Jose Ramón Rico y Campo por su asesoramiento científico y estímulo infatigable.

Al Dr Miguel Angel Piris Pinilla por la generosidad con la que trata a todos los jóvenes investigadores que le solicitan ayuda con sus proyectos científicos.

A los técnicos del laboratorio de inmunohistoquímica del CNIO y a su coordinadora Lidia por facilitar anticuerpos novedosos y a los técnicos del Hospital doce de Octubre por su trabajo diario y su ayuda realizando cortes de *“macromatrices de piel”*. En especial a Bea Muñoz, por su habilidad en el manejo de la parafina y su disposición a colaborar en cualquier *“necesidad especial”*.

A la Dra Lucía Hernández González por comprender y estimular el esfuerzo. Por dar ejemplo con su habilidad diagnóstica y su diligencia en el trabajo.

Al Dr Martínez González por compartir sus conocimientos, explicar las estructuras moleculares de forma sencilla y proporcionar bibliografía de calidad.

A David Lora Pablos (servicio de epidemiología del Hospital 12 de Octubre) y a Marina Pollán (Unidad de epidemiología del Cáncer del Centro Nacional de epidemiología, Instituto de Salud Carlos III) por su apoyo con las técnicas estadísticas y su esfuerzo en hacer todos los tipos de análisis que íbamos proponiendo.

A los Directores de esta tesis, Dr. Rodríguez Peralto y Dr. Pablo Ortiz, por saber ser pacientes cuando compaginar la investigación con la asistencia clínica diaria, dificultaba el avance y saber estimular y ayudar generosamente, cuando la investigación avanzaba.

A mis compañeros y amigos del Hospital Doce de Octubre, celadores, técnicos, médicos y residentes, sin su trabajo diario ningún proyecto de investigación clinicopatológica podría hacerse. Pero sobre todo gracias a Carmen, Rosa, Eugenio, Ramón y Luis que desde secretaría han dado ánimo, apoyo logístico y técnico a este trabajo. También gracias a la Dra Alba Espárrago por su talento con la ilustración molecular, es una promesa de la patología y el dibujo.

A mi compañera científica en el proyecto la Dra Leticia Calzado, le dedico esta tesis. Gracias por compartir el desarrollo del proyecto y haber formado un equipo de trabajo multidisciplinar, juntas hemos aprendido a solventar los escollos de un trabajo de investigación.

A la Dra Alicia Maroto porque además de ser uno de los pilares de inicio de la biología molecular (sobre todo de la PCR) en el Hospital Doce de Octubre, gracias a ella y al director de esta tesis el Dr Rodríguez Peralto, existe un magnífico Banco de Tumores en el Hospital Doce de Octubre, que se va actualizando, que incorpora los consentimientos informados y que pese a que da mucho trabajo a todos los que colaboramos en su *“alimentación”* es el orgullo y la base de muchas investigaciones de dentro y fuera de nuestro hospital. Gracias porque además Alicia me ha enseñado lo importante que es colaborar, sembrar para luego cosechar, ser minucioso, ordenado y además se ha convertido en una gran amiga.



“Puedes saber el nombre de un pájaro en todos los idiomas del mundo, pero una vez que aprendes eso, no sabes nada de pájaros. Por lo tanto **mira el pájaro y observa qué es lo que hace**, eso es lo que importa. Yo aprendí muy temprano la diferencia entre saber el nombre de algo y saber algo” *R. Feynman*



**INDICE****LISTADO DE IMÁGENES HISTOLÓGICAS****LISTADO DE GRÁFICOS****LISTADO DE TABLAS****LISTADO DE IMÁGENES CLÍNICAS****I. AGRADECIMIENTOS****II. RESUMEN****III. ABSTRACT****IV. ABREVIATURAS**

<b>V. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>V.1. HISTORIA DE LA CLASIFICACIÓN DE LOS LINFOMAS CUTÁNEOS</b>	<b>1</b>
<b>V.2. MICOSIS FUNGOIDES Y SU PRONÓSTICO</b>	<b>3</b>
V.2.1.ANTECEDENTES	3
V.2.2.JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	5
<b>V.3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.</b>	<b>6</b>
V.3.1.CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS	6
V.3.2.PRESENTACIÓN CLÍNICA	6
<b>V.4. CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS</b>	<b>10</b>
<b>V.4.1.SEGÚN LAS FASES EN LA EVOLUCIÓN</b>	<b>10</b>
V.4.1.1. Mancha-parche (patch)	10
V.4.1.2. Placa	12
V.4.1.3. Tumor	13
V.4.1.4. Transformación a células grandes	14
<b>V.4.2.SUBTIPOS CLÍNICOPATOLÓGICOS RECONOCIDOS POR LA OMS</b>	<b>14</b>
V.4.2.1. MF Folliculotrópica	14
V.4.2.2. Reticulosis Pagetoide	16
V.4.2.3. Piel laxa granulomatosa	17
V.4.2.4. Síndrome de Sézary (SS)	19

<b>V.4.3. VARIANTES DE PRESENTACIÓN CLÍNICOPATOLÓGICA NO CONSIDERADAS POR LA OMS</b>	<b>20</b>
V.4.3.1. Hipopigmentada	20
V.4.3.2. Hiperpigmentada	20
V.4.3.3. Siringotrópica	20
V.4.3.4. Poiquilodérmica	21
V.4.3.5. Granulomatosa	22
V.4.3.6. Micosis fungoide d'emblée	23
V.4.3.7. Micosis fungoide papular	23
V.4.3.8. Micosis fungoide solitaria	24
<b>V.5. POSIBILIDADES DE TRATAMIENTO</b>	<b>24</b>
<b>V.6. CARACTERÍSTICAS MOLECULARES DE MF/SS</b>	<b>25</b>
<b>V.6.1.MARCADORES DE DIFERENCIACIÓN DE LOS LINFOCITOS T</b>	<b>25</b>
<b>V.6.2.RECEPTOR DE CÉLULAS T (TCR)</b>	<b>27</b>
<b>V.6.3.MARCADORES IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DE LAS VÍAS DE APOPTOSIS:</b>	<b>28</b>
V.6.3.1. Factor antiapoptosis bcl2	29
V.6.3.2. CD95 (FAS)	29
<b>V.6.4.MARCADORES IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA Y LA ACTIVACIÓN DE LOS LINFOCITOS T EN RESPUESTA A ESTÍMULOS DEL "MICROAMBIENTE"</b>	<b>30</b>
V.6.4.1. CD25 (receptor de Ile2)	30
V.6.4.2. PD1 (muerte celular programada 1, PDCD).	31
V.6.4.3. FOXP3 (Forkhead box P3, Scurfin, JM2).	31
V.6.4.4. CD123 (receptor alfa de interleukina 3, IL3RA).	32
V.6.4.5. CD54 (I-CAM1)	32
<b>V.6.5.MOLÉCULAS DE ACTIVACIÓN LINFOIDE</b>	<b>33</b>
V.6.5.1. CD30	33
V.6.5.2. ZAP-70	33
<b>V.6.6.ACTIVACIÓN NUCLEAR</b>	<b>34</b>
V.6.6.1. IK $\beta$ $\alpha$	34
<b>V.6.7.REGULADORES DEL CICLO CELULAR</b>	<b>35</b>
V.6.7.1. p16.	35
<b>V.6.8.REGULADOR DE LA SEÑALIZACIÓN</b>	<b>35</b>
V.6.8.1. MAL	35

<b>V.6.9.FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN</b>	<b>36</b>
V.6.9.1. STAT 1	36
V.6.9.2. STAT3	37
V.6.9.3. STAT4	37
<b>V.7. POSIBILIDADES TÉCNICAS. MATRICES TISULARES “ARRAYS”</b>	<b>38</b>
<b>V.7.1.MATRICES DE BIOPSIAS CUTÁNEAS COMPLETAS: MACROMATRICES DE PIEL         (SKIN MACROARRAYS)</b>	<b>38</b>
<b>VI. HIPÓTESIS</b>	<b>45</b>
VI.1. HIPÓTESIS CONCEPTUAL:	45
VI.2. HIPÓTESIS OPERATIVAS:	45
<b>VII. OBJETIVOS</b>	<b>49</b>
VII.1. OBJETIVO PRINCIPAL :	49
VII.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS	49
<b>VIII. MÉTODOS, PACIENTES Y MATERIALES</b>	<b>53</b>
VIII.1. DISEÑO DEL ESTUDIO:	53
VIII.2. SUJETOS DEL ESTUDIO:	53
VIII.2.1.CRITERIOS DE INCLUSIÓN DE PACIENTES:	53
VIII.2.2.CRITERIOS DE EXCLUSIÓN DE PACIENTES:	54
VIII.3. PROCEDIMIENTOS:	54
VIII.3.1.BASE DE DATOS CLÍNICOS:	54
VIII.3.2.CLASIFICACIÓN EN ESTADIO	55
VIII.3.3.SELECCIÓN DE MUESTRAS Y ELABORACIÓN DE MACROARRAYS	56
VIII.3.4.TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS	58
VIII.4. VARIABLES A CONSIDERAR	59
VIII.4.1.VARIABLES DEPENDIENTES (DETERMINADAS)	59
VIII.4.2.VARIABLES INDEPENDIENTES (DETERMINANTES)	60
VIII.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS	64
VIII.5.1.PARA TODOS LOS ESTADIOS. ANÁLISIS GENERAL	65
VIII.5.1.1. Análisis de supervivencia.	65
VIII.5.1.2. Análisis de progresión	65

VIII.5.2.ANÁLISIS ESPECÍFICO DE LOS CASOS DE MICOSIS FUNGOIDE EN ESTADIOS INICIALES	66
<b>IX. RESULTADOS</b>	<b>69</b>
IX.1. DESCRIPCIÓN DE LA SERIE DE PACIENTES	69
IX.2. ANÁLISIS SEGÚN LAS VARIABLES QUE PUEDEN SER FACTOR PRONÓSTICO	71
IX.2.1.VARIABLES CLÍNICAS	71
IX.2.1.1. Distribución General de la Evolución de la Serie de Pacientes, Según las Variables Dependientes: Progresión y Mortalidad por Todas las Causas o por Enfermedad	71
IX.2.1.2. Estadio al Diagnóstico (Clasificación TNMB)	73
IX.2.1.3. Análisis de Subtipos Reconocidos por la OMS, SS y Variantes de MF.	77
IX.2.1.3.1.Descripción de las variantes de MF encontradas en nuestra serie de casos	77
IX.2.1.4. Análisis por Grupos de Edad	80
IX.2.1.5. Análisis por Sexo	82
IX.2.2.VARIABLES HISTOLÓGICAS RELACIÓN CON SUPERVIVENCIA Y PROGRESIÓN A ESTADIOS MÁS AVANZADOS	82
IX.2.2.1. Supervivencia	83
IX.2.2.1.1.Supervivencia global (considerando muertes por todas las causas)	83
IX.2.2.2. Progresión (Tabla 23)	86
IX.2.3.VARIABLES INMUNOHISTOQUÍMICAS RELACIÓN CON SUPERVIVENCIA Y PROGRESIÓN A ESTADIOS MÁS AVANZADOS	89
IX.2.3.1. Supervivencia	89
IX.2.3.1.1.Supervivencia global (considerando muertes por todas las causas)	89
IX.2.3.2. Supervivencia considerando muertes por enfermedad (Tabla 26)	95
IX.2.3.3. Análisis de la Progresión desde el Inicio (Tabla 28)	101
IX.3. ANÁLISIS INDEPENDIENTE DEL GRUPO EN ESTADIOS INICIALES (IA,IB,IIA)	111
IX.3.1.ESTADIO AL DIAGNÓSTICO	111
IX.3.2.VARIABLES HISTOLÓGICAS EN RELACIÓN CON SUPERVIVENCIA Y PROGRESIÓN DEL SUBGRUPO DE ESTADIOS INICIALES	113
IX.3.3.VARIABLES INMUNOHISTOQUÍMICAS EN RELACIÓN CON SUPERVIVENCIA Y PROGRESIÓN DEL SUBGRUPO DE ESTADIOS INICIALES	114
IX.3.3.1. Supervivencia en los Estadios Iniciales	114

IX.3.3.1.1. Supervivencia global considerando muerte por todas las causas en estadios iniciales. Tabla 31	115
IX.3.3.1.2. Supervivencia específica por enfermedad en estadios iniciales.	118
IX.3.3.2. Progresión en los Estadios Iniciales	122
<b>IX.4. RESUMEN DE RESULTADOS</b>	<b>128</b>
<b>X. DISCUSIÓN</b>	<b>133</b>
<b>X.1. NECESIDAD DE MEJORAR LA CLASIFICACIÓN EN GRUPOS DE DISTINTO PRONÓSTICO: ANÁLISIS DE LA VARIABLE ESTADIO</b>	<b>133</b>
<b>X.2. RESUMEN DE RESULTADOS</b>	<b>134</b>
<b>X.3. LIMITACIONES Y COMENTARIOS A LAS DECISIONES ADOPTADAS SOBRE LA METODOLOGÍA</b>	<b>135</b>
<b>X.4. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES Y COMPARACIÓN CON LAS PUBLICACIONES CIENTÍFICAS PREVIAS</b>	<b>136</b>
<b>X.4.1. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES CLÍNICAS</b>	<b>136</b>
X.4.1.1. Estadio (Ver apartado 1 )	136
X.4.1.2. Edad	136
X.4.1.3. Sexo	137
X.4.1.4. Variantes aceptadas por la OMS	138
X.4.1.4.1. Síndrome de Sézary	138
X.4.1.4.2. Foliculotropismo	139
<b>X.4.2. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES HISTOLÓGICAS</b>	<b>140</b>
X.4.2.1. Linfocitos con halo claro	141
X.4.2.2. Atipia	142
X.4.2.3. Mitosis	143
X.4.2.4. El tamaño de las células en dermis es mayor que el de las células en epidermis	144
X.4.2.5. Transformación a células grandes (TCG)	144
<b>X.4.3. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES INMUNOHISTOQUÍMICAS</b>	<b>145</b>
X.4.3.1. Activación linfocitaria:	146
X.4.3.2. Regulación de la apoptosis:	148
X.4.3.3. Proliferación celular:	150
X.4.3.4. Regulación del tráfico a través de la membrana celular:	151
X.4.3.5. Factores de regulación de la inflamación y relación con el "micorambiente celular": PD1	151
<b>X.5. IMPLICACIONES EN LA PRÁCTICA MÉDICA</b>	<b>152</b>

X.6. PERSPECTIVAS DE FUTURO Y PREGUNTAS PARA RESOLVER	154
---	-----

<b>XI. CONCLUSIONES</b>	<b>157</b>
-------------------------	------------

### **XIII. APÉNDICES**

XIII.1. Tablas adicionales (ANEXO 1, 2, 3, 4)

XIII.2. Figuras adicionales

XIII.3. Comunicaciones científicas y publicaciones asociadas a este estudio de investigación

## LISTADO DE IMÁGENES HISTOLÓGICAS

<b>Imagen histológica 1.</b>	Linfocitos neoplásicos con epidermotropismo.	10
<b>Imagen histológica 2.</b>	Microabcesos de Pautrier	10
<b>Imagen histológica 3.</b>	Linfocitos con halo claro en la unión dermoepidérmica. Forman "cadenas" o parecen "etiquetar" a los queratinocitos basales. HE-200x	11
<b>Imagen histológica 4.</b>	Infiltrado acompañante mixto. A veces incluye eosinófilos. HE-200x	11
<b>Imagen histológica 5.</b>	Fase de placa. Infiltrado linfocitario en banda en dermis superficial y afectando a la capa hasla epidérmica. Moderados cambios en epidermis con discreta para queratosis y acantosis (izquierda) . HE 200x	12
<b>Imagen histológica 6.</b>	Fase tumor con atipia intensa. Aproximación para mostrar la celularidad atípica. HE 400x	13
<b>Imagen histológica 7.</b>	Fase tumor. Infiltrado neoplásico denso en toda la dermis y tejido celular subcutáneo. HE 100x	13
<b>Imagen histológica 8.</b>	Fase tumor con ulceración .Celularidad linfocitaria neoplásica densa. Epidermis con ulceración y recubrimiento de fibrina y detritu. HE 100x	13
<b>Imagen histológica 9.</b>	Fase de transformación a células grandes. El infiltrado de células grandes y muy atípicas supera el 25% de la celularidad tumoral. HE 400x	14
<b>Imagen histológica 10.</b>	Variante foliculotrópica. Dilatación folicular con abundante mucina en el interior de los folículos. HE 200x	15
<b>Imagen histológica 11.</b>	Variante foliculotrópica. Afectación de predominio folicular. HE 200x	15
<b>Imagen histológica 12.</b>	afectación folicular. Permeación del epitelio del folículo por células neoplásicas que provoca degeneración folicular y depósito de mucina. Izquierda: técnica de tinción HE 400x. Derecha: técnica de tinción Hierro coloidal para visualizar la mucina en azul intenso.	16
<b>Imagen histológica 13.</b>	Reticulosis pagetoide. Presencia de linfocitos que permean la epidermis. HE 400x	17
<b>Imagen histológica 14.</b>	Imagen de gran aumento de las áreas granulomatosas. HE 400x	18
<b>Imagen histológica 15.</b>	Piel laxa granulomatosa. Infiltrado linfocitario neoplásico acompañado de abundantes histiocitos que forman células gigantes y ocupan la dermis, produciendo degeneración de fibras elásticas. HE 200x	18
<b>Imagen histológica 16.</b>	Piel Laxa granulomatosa. Tinción de orceína. Piel Laxa granulomatosa que ha perdido el patrón normal de distribución de las fibras elásticas. 200x	18
<b>Imagen histológica 17.</b>	Variante siringotrópica. Afectación de un conducto ecrino	21
<b>Imagen histológica 18.</b>	MF granulomatosa. El infiltrado se localiza característicamente perianexial y perivascular. Incluye, además de las células neoplásicas un infiltrad acompañante mixto con células gigantes. HE 100x	23
<b>Imagen histológica 19.</b>	Transformación a células grandes. HE 400x	83
<b>Imagen histológica 21.</b>	Tinción IHQ CD30 epidermis. las células neoplásicas presentaron tinción membranosa en más del 30%. se asocia a mal pronóstico.	99
<b>Imagen histológica 22.</b>	Tinción IHQ para bcl2. negativo en microabcesos de Pautrier. Peor pronóstico p<0,05	100
<b>Imagen histológica 23.</b>	Tinción IHQ para bcl2. Positivo en epidermis. Mejor pronóstico p< 0,05	100
<b>Imagen histológica 24.</b>	Tinción IHQ para CD30. Positividad membranosa en más del 30% de células .	106
<b>Imagen histológica 25.</b>	Tinción IHQ para Ki67. Positividad de más del 15% de las células de la dermis	106
<b>Imagen histológica 26.</b>	Linfocitos con halo claro.	142

## LISTADO DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Clasificación de los linfomas cutáneos EORTC/WHO 2005 .....	2
<b>Tabla 2.</b>	Distribución de incidencia anual de MF según razas .....	6
<b>Tabla 3.</b>	Resumen de marcadores implicados en el pronóstico de MF .....	40
<b>Tabla 4.</b>	Tratamientos tópicos adicionales no de uso habitual .....	42
<b>Tabla 5.</b>	Esquema de la clasificación de Bunn (1979) .....	55
<b>Tabla 6.</b>	Primer Tratamiento después del diagnóstico .....	62
<b>Tabla 7.</b>	Valoración de las variables histopatológicas .....	62
<b>Tabla 8.</b>	Antisueros y categorías (puntos de corte) .....	63
<b>Tabla 9.</b>	Tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas y el diagnóstico en función del estadio.....	69
<b>Tabla 10.</b>	Descripción general de la evolución según los estadios en el momento del diagnóstico .....	71
<b>Tabla 11.</b>	Porcentaje de mortalidad por estadios.....	73
<b>Tabla 12.</b>	Porcentajes de pacientes que progresan según cada estadio .....	74
<b>Tabla 13.</b>	Variantes y Subtipos de MF.....	78
<b>Tabla 14.</b>	Evolución clínica de los pacientes con síndrome de Sézary.....	78
<b>Tabla 15.</b>	Diferencias en el tiempo hasta la evolución desfavorable entre de los pacientes con síndrome de Sézary y su significación estadística.....	79
<b>Tabla 16.</b>	Diferencias en los porcentajes que evolucionan según estuvieran o no en Síndrome de Sézary al diagnóstico.....	80
<b>Tabla 17.</b>	Descripción del estadio y evolución de los pacientes muy jóvenes (menores de 21 años en el momento de inicio de los síntomas).....	81
<b>Tabla 18.</b>	Comparación de los porcentajes de progresión y mortalidad en pacientes muy jóvenes .....	81
<b>Tabla 19.</b>	Comparación de los porcentajes de progresión y mortalidad en pacientes mayores.....	82
<b>Tabla 20.</b>	Porcentaje de pacientes que evolución en función del sexo .....	82
<b>Tabla 21.</b>	Variables histológicas y su asociación con la supervivencia considerando muerte por todas las causas .....	83
<b>Tabla 22.</b>	Variables histológicas y su asociación con la supervivencia específica considerando muertes por enfermedad .....	85
<b>Tabla 23.</b>	Características histopatológicas y su asociación con progresión.....	86
<b>Tabla 24.</b>	Factores pronósticos inmunohistoquímicos de supervivencia global considerando cualquier causa de muerte .....	90
<b>Tabla 25.</b>	Análisis bivalente de la supervivencia global.....	93
<b>Tabla 26.</b>	Análisis de los factores pronósticos inmunohistoquímicos según la supervivencia considerando sólo las muertes por enfermedad .....	95
<b>Tabla 27.</b>	Análisis bivalente de la supervivencia global.....	98
<b>Tabla 28.</b>	Análisis de las variables inmunohistoquímicas y su relación con la progresión .....	102
<b>Tabla 29.</b>	Análisis bivalente de la progresión .....	105
<b>Tabla 30.</b>	Resultados para cada variable histopatológica de la comparación entre las distribuciones de supervivencia considerando muertes por enfermedad . .....	113
<b>Tabla 31.</b>	Análisis de las variables inmunohistoquímicas candidatas a ser factor predictor de supervivencia considerando muertes por todas las causas.....	115
<b>Tabla 32.</b>	Análisis bivalente de la supervivencia global (muerte por todas las causas) .....	118
<b>Tabla 33.</b>	Análisis de las variables inmunohistoquímicas candidatas a ser factor predictor de supervivencia considerando solo las muertes específicas debido a la enfermedad de estudio .....	119
<b>Tabla 34.</b>	Análisis bivalente de la supervivencia respecto a muertes por enfermedad.....	122

<b>Tabla 35.</b> Análisis de las variables inmunohistoquímicas en relación a su asociación con la progresión de la enfermedad considerando solo el grupo de pacientes en estadios iniciales. ....	123
<b>Tabla 36.</b> Análisis bivariante de la progresión en estadios iniciales .....	126
<b>Tabla 37.</b> Resumen de Resultados .....	128
<b>Tabla 38.</b> Resumen de Bivariantes.....	129



## LISTADO DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b>	Expresión fenotípica de los linfocitos a lo largo de la evolución de la MF/SS.....	26
<b>Gráfico 2.</b>	Estructura del complejo receptor TCR.....	27
<b>Gráfico 3.</b>	Vías de activación del complejo del receptor TCR-CD3.....	28
<b>Gráfico 4.</b>	Vías de inducción de apoptosis e inhibición de la misma. Interacciones de Fas, Zap 70 y TCR. ....	30
<b>Gráfico 5.</b>	Mecanismos de activación y reclutamiento de los linfocitos CD4 durante la inflamación .....	34
<b>Gráfico 6.</b>	Activación de la expresión nuclear desde la vía JAK/STAT .....	37
<b>Gráfico 7.</b>	Issue Microarray: A rapidly evolving diagnostic and research tool.....	38
<b>Gráfico 8.</b>	Descripción de la serie de pacientes. Porcentaje de pacientes en cada estadio .....	70
<b>Gráfico 9.</b>	Descripción de la serie de pacientes. Se observa que la mayor parte corresponde a estadios iniciales de evolución de MF.....	70
<b>Gráfico 10.</b>	Curva de representación del tiempo de supervivencia global .....	72
<b>Gráfico 11.</b>	Curva de representación del tiempo de supervivencia considerando solo las muertes específicas por enfermedad.....	73
<b>Gráfico 12.</b>	Porcentajes de supervivencia al final del seguimiento según estadios.....	74
<b>Gráfico 13.</b>	Pacientes en cada estadio y porcentaje que progresan.....	75
<b>Gráfico 14.</b>	Tiempo de supervivencia en años, respecto a muertes por enfermedad en cada estadio.....	76
<b>Gráfico 15.</b>	Curva de progresión según estadios.....	77
<b>Gráfico 16.</b>	Supervivencia en SS respecto al resto de pacientes. Variante1: pacientes con síndrome de Sézary; Variante 0. Pacientes sin Síndrome de Sézary $p=0,008$ .....	79
<b>Gráfico 17.</b>	Progresión en los pacientes con síndrome de Sézary (variante:1): Se observa un menor tiempo hasta la progresión en los pacientes que presentaron SS.....	80
<b>Gráfico 18.</b>	Curvas de tiempo hasta la progresión estratificando según la variable histopatológica atipia en las células neoplásicas.....	88
<b>Gráfico 19.</b>	Curvas de tiempo hasta la progresión estratificando según la variable histopatológica linfocitos en dermis mayor tamaño que en epidermis.....	89
<b>Gráfico 20.</b>	Distribución del tiempo de supervivencia por todas las causas respecto al factor pronóstico CD30.....	93
<b>Gráfico 21.</b>	Distribución del tiempo de supervivencia por todas las causas respecto al factor pronóstico bcl2 en epidermis.....	94
<b>Gráfico 22.</b>	Distribución del tiempo de supervivencia estratificando con los dos posibles factores Bcl2 y CD30 en células neoplásicas de la epidermis.....	94
<b>Gráfico 23.</b>	Distribución de la supervivencia considerando muertes por enfermedad según el factor pronóstico CD30 expresado en epidermis.....	99
<b>Gráfico 24.</b>	Distribución de la supervivencia considerando muertes por enfermedad según el factor pronóstico Bcl-2Supervivencia por enfermedad según expresión de Bcl2 en epidermis. Kaplan Meier .....	100
<b>Gráfico 25.</b>	Distribución del tiempo de supervivencia para los grupos estratificados según sus factores de riesgo CD30 y Bcl2 en epidermis.....	101
<b>Gráfico 26.</b>	Distribución de la progresión según la positividad a CD30 en dermis. Este parámetro es un factor predictor de mal pronóstico.....	106
<b>Gráfico 27.</b>	Distribución de la progresión según la positividad a Mal que resulta un factor predictor de mal pronóstico .....	107

---

<b>Gráfico 28 y Gráfico 29.</b> Distribución de la progresión según la positividad a PD1 ya sea valorada en las células neoplásicas localizadas en la epidermis o en la dermis.....	108
<b>Gráfico 30.</b> Distribución del tiempo de progresión según la presencia de células positivas para Ki67 (>30%) localizadas en dermis .....	109
<b>Gráfico 31.</b> Distribución del tiempo de progresión estratificando por dos de los factores con mayor asociación, MAL y CD30.....	110
<b>Gráfico 32.</b> Tiempo de supervivencia por enfermedad en todo los estadios cuando se agrupan los pacientes según las dos variables CD30 en dermis y Ki67 en dermis.....	110
<b>Gráfico 33.</b> Distribuciones de supervivencia para cada estadio .....	111
<b>Gráfico 34.</b> Distribuciones del tiempo hasta la progresión para cada estadio .....	112
<b>Gráfico 35.</b> Supervivencia por enfermedad separando estadios iniciales (IA; IB, IIA) y estadios avanzados.....	112
<b>Gráfico 36.</b> Progresión. Distribución del tiempo hasta la progresión según estadios agrupados en iniciales y avanzados.....	112
<b>Gráfico 37.</b> Distribuciones de tiempo hasta la progresión, según las variables inmunohistoquímicas que resultaron tener asociación con un mayor riesgo de progresión para estadios iniciales .....	127
<b>Gráfico 38.</b> Activación de la transducción de señales al núcleo mediada por la activación de CD30 receptor de la superfamilia del receptor de necrosis tumoral .....	148

**LISTADO DE IMÁGENES MACROSCÓPICAS Y FOTOS CLÍNICAS**

<b>Figura 1 y 2</b> Fase de mancha-parche.....	7
<b>Figura 3 y 4</b> Placas induradas .....	8
<b>Figura 5.</b> Fase de tumor con extensas lesiones en placa .....	8
<b>Figura 6.</b> Fase de tumor con presencia de lesiones ulceradas.....	8
<b>Figura 7.</b> Afectación eritrodérmica por MF en un varón de edad media .....	9
<b>Figura 8.</b> MF Foliculotropa .....	15
<b>Figura 9.</b> MF unilesional con patrón de reticulosis pagetoide .....	17
<b>Figura 10.</b> Piel laxa granulomatosa (cutis laxa granulomatosa).....	18
<b>Figura 11.</b> Lesiones hiperpigmentadas. ....	21
<b>Figura 12.</b> Imagen de la región mamaria de una paciente con poiquilodermia atrofia vascular .....	22
<b>Figura 13.</b> Procedimiento para realizar manualmente el montaje de las “macromatrices de piel” (macroarrays de piel).....	56
<b>Figura 14.</b> Imagen del aspecto de las preparaciones histológicas que incluyen hasta 22 casos.....	57



**FACTORES PRONÓSTICOS DE MICOSIS FUNGOIDE:  
ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA Y PROGRESIÓN**







## II. RESUMEN

### INTRODUCCIÓN

La **Micosis Fungoide** (MF) es un linfoma primario cutáneo epidermotrópico constituido por células T de tamaño pequeño o intermedio con núcleo cerebriforme (1). En la forma clásica (la más frecuente) se caracteriza por comenzar por áreas en la piel maculosas que evolucionan lentamente a placas infiltradas y posteriormente a estadio tumoral. Ocasionalmente evoluciona de forma agresiva a pesar de las diferentes estrategias terapéuticas.

El **síndrome de Sézary** es una variante agresiva de linfoma T cutáneo con presentación leucémica en el cual se identifican en sangre periférica células malignas (células de Sézary); se define por la triada eritrodermia, linfadenopatía generalizada y la presencia de células neoplásicas clonales T con núcleos cerebriformes en sangre periférica (1)

La MF es el linfoma más frecuente de los que se originan en la piel. La edad media de aparición se sitúa entre la 5ª y la 6ª década. La incidencia está entre 0.5 y 1 caso de cada 100.000 habitantes/año. Se ha multiplicado por 4 en un periodo en que el resto de los linfomas aumentó solo un 16% (2, 3).

La mayoría de pacientes muestran un curso clínico indolente durante años. Sin embargo, el pronóstico es muy variable dependiendo del estadio. Cuando hay afectación extracutánea o transformación en un linfoma de alto grado, la mediana de supervivencia es menor de un año (4). La supervivencia a 5 años en estadio de mancha/placa es muy buena, alrededor del 80-90%, sin embargo cuando aparecen tumores o eritrodermia, ronda el 40% y si se encuentran ganglios afectados, se sitúa en torno al 30% (4). Dada esta variabilidad y siendo la enfermedad potencialmente letal, es esencial determinar factores pronósticos predictores de la evolución posterior y si fuera posible factores predictores de respuesta a los tratamientos actuales. La ausencia de remisión completa al primer tratamiento con o sin progresión posterior de la enfermedad se relaciona inversamente con las curvas de supervivencia para mortalidad por linfoma y mortalidad total en estos pacientes (5)(6).

Tradicionalmente los criterios que han tratado de elucidar el pronóstico contenían estrictamente parámetros clínicos basados en el sistema de estadiaje descrito en 1979 por el MJ Cooperative Group of the American Joint Committee on Cancer (AJCC) (ANEXO 1 y 2)(8) este sistema reproducía la forma clásica de valorar el pronóstico tumoral mediante la clasificación T (tamaño o extensión tumoral), N (afectación ganglionar) y M (afectación visceral), y no fue revisado hasta el año 2005. Posteriormente en el año 2007 la revisión de esta clasificación por los grupos ISCL/EORTC incluyó en los estadios iniciales, más categorías (7). Pero este sistema aún no ha sido validado, y dentro de un mismo estadio la progresión de los pacientes es diferente.

En esta línea nuestro grupo de investigación decidió participar en la búsqueda de un mejor sistema de estratificación del riesgo para estos pacientes, capaz de predecir el riesgo de progresión y supervivencia de un paciente concreto según su perfil inmunohistoquímico y la características morfológicas del tumor. Pocos de los estudios multicéntricos han utilizado factores inmunohistoquímicos. Los intentos de encontrar factores pronósticos inmunohistoquímicos solo han sido realizados en series cortas de pacientes y aún no han sido validados y aplicados a los índices pronósticos como el CLIPi (5)

### **HIPÓTESIS CONCEPTUAL:**

Existen marcadores inmunohistoquímicos capaces de predecir la progresión de la enfermedad y la supervivencia de los pacientes con Micosis Fungoide.

### **HIPÓTESIS OPERATIVAS:**

- Los pacientes con Micosis Fungoide que han presentado progresión de la enfermedad (definida como evolución de estadios iniciales: I, II, IIa; hacia estadios intermedios IIb, IIIa o avanzados IIIb, IVa,IVb) es previsible que tengan distinta expresión de proteínas en las muestras tomadas al inicio de la enfermedad que los pacientes que no han progresado .
- Los pacientes con Micosis Fungoide que tras al menos 5 años de seguimiento han evolucionado desfavorablemente y han muerto es previsible que tengan distinta expresión de proteínas en las muestras obtenidas al principio de su enfermedad e incluidas en parafina, con respecto a las muestras obtenidas e incluidas de igual forma de pacientes que, tras al menos 5 años de seguimiento, continúan vivos.

### **OBJETIVO PRINCIPAL :**

Determinar en muestras incluidas en parafina de pacientes con estadio inicial de Micosis Fungoide los marcadores capaces de predecir diferencias en la progresión de la enfermedad y la supervivencia.

Este objetivo general se desarrolla en los siguientes objetivos concretos:

- Determinar las características histológicas y su relación con la progresión de la enfermedad y la supervivencia.
- Determinar las características inmunohistoquímicas y su relación con la progresión de la enfermedad y la supervivencia.

### **PACIENTES, MÉTODOS Y MATERIAL**

Estudio de cohortes históricas (retrospectivo). Recoge una serie de 91 pacientes con diagnóstico de MF , con confirmación biopsica según criterios aceptados por la Internacional

Society for Cutaneous Lymphoma en cualquiera de los estadios (Tempranos : IA,IB, IIA; Intermedios: IIB, III, IVA; Avanzados: IVB) (11). Deben cumplir los criterios de inclusión :

- Seguimiento de al menos 5 años
- Disponibilidad de un bloque de parafina con material suficiente para estudios inmunohistoquímicos y construcción de matrices de tejido
- Pacientes con consentimiento informado para este estudio , incluídos en la base de datos de variables clínicas del servicio de dermatología

### **CLASIFICACIÓN EN ESTADIOS**

Utilizamos la clasificación en estadios (7) que divide las fases de evolución de la micosis fungoide en estadios: IA, IB, IIA, IIB, III, IVA, IVB e incluye la situación de afectación sanguínea (B) como una variable aparte pero también recogida en el estudio. Esto se justifica por estar los pacientes diagnosticados en su mayoría antes de 2005.

### **MATRICES DE BIOPSIAS CUTÁNEAS COMPLETAS: MACROMATRICES DE PIEL** (skin macroarrays)

Para optimizar la eficiencia de los estudios con múltiples marcadores inmunohistoquímicos desarrollamos una variante del método de arrays, que consiste en construir matrices tisulares con al menos 20 casos en cada “macromatriz” pero que incluyan la muestra completa de piel y no sólo un cilindro . Los métodos anteriores de incluir solo un “core” o cilindro de tejido no eran adecuados a nuestro estudio porque la MF tiene poca celularidad tumoral. Pudimos valorar separadamente las áreas de epidermis y dermis.

### **VARIABLES A ANALIZAR**

Realizamos estudio de 14 parámetros histológicos y 25 marcadores inmunohistoquímicos descritos en el apartado y las tabla siguientes.

#### **VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS**

Linfocitos con halo perinuclear en la unión dermoepidérmica o en epidermis, linfocitos en cadena en la unión dermo-epidérmica , epidermotropismo desproporcionado, microabcesos de Pautrier, linfocitos atípicos en dermis de mayor tamaño que en epidermis , colágeno “en alambre” en dermis papilar , atipia linfocitaria (menor de 25% de las células) actividad mitótica ( nº mitosis/10campos de gran aumento), espongirosis en epidermis, afectación folicular focal, foliculotropismo intenso (mayor que afectación en epidermis), infiltrado perivascular , densidad del infiltrado en dermis y mucinosis folicular.

## VARIABLES INMUNOHISTOQUÍMICAS

Antisuero	CLON	Reactividad	Punto de corte tras agrupar *
CD3	poliDako	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
Cd4	4B12	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
CD8	C8144B	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
CD2	AB75	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
CD5	4C7	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
CD7	272	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
CD30	6DG5	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
CD54	23G12	Pos/neg	>5% céls.positivas
FOXP3	206D7G7	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
TCRBF1	8 <sup>a</sup> 3	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
TCL-1	4042	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
Bcl-2	1214	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
TIA1	2G9	Pos/neg	>5% céls.positivas
Ki-67	MIB1	Alto/bajo	≥15% céls. positivas
Ikba	5	Pos/neg	>5% céls.positivas
ZAP-70	2F3.2	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
CD25	C9	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
CD95	M30	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
STAT-1	C136	Pos/neg	>30% céls.positivas (se valoró tinción nuclea y citoplásmicar)
P 16	F12	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
MAL	6D9	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
STAT4	policonal	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas (se valoró tinción nuclear y citoplásmica)
STAT3	F-2	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas (se valoró tinción nuclear y citoplásmica)
CD123	6H6	Pos/neg	>5% céls.positivas valorado en acompañantes de epidermis
PD1	NAT 105	Pos/neg	>10% céls. positivas

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para ambos análisis las variables determinadas fueron supervivencia por todas las causas de muerte, supervivencia en muerte específica por enfermedad y progresión. La progresión se valoró según criterios aceptados internacionalmente como paso a estadios T3, T4,N3, M1 (visceral), linfoma o muerte por enfermedad (13) . Se utilizó el programa informático STATA.

## RESULTADOS

Realizamos dos análisis uno para el **grupo total de pacientes** y otro para el **subgrupo de pacientes en estadios iniciales**. Obtuvimos resultados semejantes aunque el menor número de muestra en el subgrupo de pacientes en estadio iniciales disminuía la significación estadística.

TODOS LOS ESTADIOS					ESTADIOS INICIALES (IA,IB,IIA)			
Supervivencia global								
		valoración	p-val	H.R		Valoración	p-val	H. R.
Variables IHQ	CD30	Células neoplásicas de epidermis >30% positivas	0,028	3,04 (factor de riesgo)	CD30	Células neoplásicas de epidermis >30% positivas	0,047	3,81
	Bcl2	Células neoplásicas de epidermis >30% positivas	0,041	2,87 (factor protector)	Bcl2		No sig	
	Ki 67		No sig		Ki67d	No sig	0,07	
	MAL		No sig		MAL		No sig	
	CD4	Células neoplásicas abundantes en dermis		(factor protector)				
Variables histológicas	Linfocitos con halo claro	En la unión dermoepidérmica : abundantes o escasos	0,035	0,2 (factor de riesgo)			No sig	
Supervivencia específica (muertes por enfermedad)								
Variables IHQ	CD30	Células neoplásicas de epidermis >30% positivas	0,028	5,39	CD30	Células neoplásicas de epidermis >30% positivas	No Val	
	Bcl2	Células neoplásicas de epidermis >30% positivas	0,029	5,12	Bcl2	Células neoplásicas de epidermis >30% positivas	No Val	
Variables histológicas	Linfocitos con halo claro		No sig				No sig	
Progresión (paso a T3, T4, N3 o M1 o exitus por enfermedad)								
Variables IHQ	CD30d	Células neoplásicas de dermis >30% positivas	0,045	2,53	CD30d	Células neoplásicas de dermis >30% positivas	0,037	3,71
	CD30	Epidermis	No sig					
	Ki67d	Células neoplásicas de dermis (>15%)	0,007	3,33	Ki67d	Células neoplásicas de dermis (>15%)	0,009	4,9
	MAL	Células neoplásicas de epidermis >30% positivas	0,011	3,1	MAL	Células neoplásicas de epidermis >30% positivas	0,007	6,5
	PD1e	Células neoplásicas de epidermis >30% positivas	0,007	5,1	PD1e		No sig	
	PD1d	Células neoplásicas de dermis >30% positivas	0,035	5,7	PD1d		No sig	
Variables histológicas	Linfocitos atípicos en dermis de mayor tamaño que en epidermis	Valorar el tamaño de las células neoplásicas y comparar dérmicas y epidérmicas	0,047	2,39	Linfocitos atípicos en dermis de mayor tamaño que en epidermis		0,33	
	Atipia linfocitaria	Al to grado/bajo grado en células neoplásicas en dermis y epidermis	0,044	Bajo grado 0,38 (factor protector)	Atipia linfocitaria		0,12	

## DISCUSIÓN

Respecto a los hallazgos más importantes:

**CD30 y su asociación a mal pronóstico medido como supervivencia y progresión:** En la literatura revisada existe un artículo publicado durante la realización de esta tesis, con una serie menor de casos que la nuestra, que encuentra similar relación de CD30 con la progresión y supervivencia (8) Otros autores han tratado de demostrar esta asociación, pero los estudios tenían dificultades metodológicas y aún no está aceptado en la literatura como factor pronóstico de forma unánime, aunque parece que hay una tendencia a que esto suceda en breve (14). Nuestro estudio apoya esta utilidad de CD30 para determinar pacientes de mal pronóstico.

**Bcl2 negativo se asocia a peor supervivencia:** La relación con la negativización de bcl2 ha sido poco estudiada en series largas de pacientes. Algunos artículos han encontrado alteración en las mismas vías moleculares en que está implicado bcl2, las vías de la apoptosis y regulación de JUNK, lo que le daría significado biológico y explicaría nuestros hallazgos (9)

**Ki67 en dermis se asocia a más riesgo de progresión:** Varios artículos de la literatura corroboran que una mayor expresión de ki67 (marcador de proliferación celular) se asocia a peor pronóstico (8)(16)

**MAL asociado a más riesgo de progresión:** Este marcador ha sido poco estudiado a nivel internacional, fue descubierto por un español y ha sido objeto de las investigaciones de nuestro grupo (15) Se conoce que es factor de resistencia al tratamiento por IFN en cultivos celulares. En nuestra serie se asocia a más riesgo de progresión. Una posible explicación es el mecanismo de resistencia a IFN descrito anteriormente, ya que la mayor parte de nuestros pacientes fueron tratados con IFN.

**PD1 se asocia a mayor riesgo de progresión:** este marcador tanto en epidermis como en dermis se ha visto relacionado con menor tiempo hasta la progresión y más porcentaje de pacientes que progresan entre los que son positivos. La explicación no es bien conocida y está poco descrita esta asociación pronóstica en la literatura. Podría tener que ver con su papel mediador de la respuesta inmune (10)

## CONCLUSIONES

La actual clasificación en estadios (ISCL/EORTC) resulta útil aunque insuficiente para delimitar grupos de distinto pronóstico y predecir la evolución de los pacientes con MF y su respuesta a tratamiento.

El marcador de activación celular CD30 (expresado en células neoplásicas de la epidermis) y la negatividad de la inmunotinción para la proteína inhibidora de la apoptosis bcl2 (cuando es negativa en células neoplásicas linfocitarias T de la epidermis) se asocian a peor supervivencia por enfermedad y global en los pacientes con MF.

La expresión de los marcadores inmunohistoquímicos: CD30 en dermis (positividad de más del 30 % de las células) , Ki 67 (positividad de más del 15% de las células de dermis), MAL en epidermis (positividad de más del 30%) y PD1 (positividad en más del 30% de células neoplásicas) en cualquier localización , se asocia a mayor riesgo de progresión en MF de forma independiente para cada factor en el análisis multivariante y univariante.

En el grupo de MF en estadios iniciales se confirma la asociación de la expresión incrementada en más del 30% de las células neoplásicas de CD30 en dermis, Ki67 y MAL en epidermis con mayor riesgo de progresión.

Las variables histológicas (exceptuando variante foliculotropa y transformación a células grandes) o no mostraron asociación pronóstica significativa o la magnitud de la asociación (Hazard ratio) fue baja.

Los marcadores inmunohistoquímicos CD30, bcl2, ki67, MAL y PD1 se asocian a menor tiempo de supervivencia y mayor riesgo de progresión , estando su expresión alterada en MF respecto a células normales, lo que supone que podrían estar implicados en la patogenia o en la resistencia a tratamiento de la enfermedad . Son candidatos a ser diana terapéutica.

Hemos diseñado un método modificado de construir matrices de tejido, que hemos llamado "método de macromatrices tisulares" para muestras de piel y con este nuevo método hemos preparado seis macromatrices con muestras de micosis fungoide que pueden utilizarse en futuras investigaciones.

## REFERENCIAS

- 1 World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Swerdlow SH, Campo E, Harris NL (Eds), IARC Press, Lyon 2008.
- 2 National Cancer Institute sponsored study of classification of non-Hodgkin's Lymphomas: summary and description of a working formulation for clinical usage. Cancer 1982;49:2112-35.
- 3 Willenze R, Kerl H, Sterry W, Berti E, Cerroni L, Chimenti S et al. EORTC Classification for primary cutaneous lymphomas : a proposal from the Cutaneous Lymphoma Study Group of the European organization for Research and Treatment of Cancer. Blood 1997;.
- 4 Toro JR, Stoll HL Jr, Stomper PC, Oseroff AR. Prognostic factors and evaluation of mycosis fungoides and Sézary syndrome. J Am Acad Dermatol. 1997 Jul;37(1):58-67
- 5 Benton EC, Crichton S, Talpur R, Agar NS, Fields PA, Wedgeworth E, Mitchell TJ, Cox M, Ferreira S, Liu P, Robson A, Calonje E, Stefanato CM, Wilkins B, Scarisbrick J, Wain EM, Child F, Morris S, Duvic M, Whittaker SJ. A, «. A cutaneous lymphoma international prognostic index (CLIPi) for mycosis fungoides and Sézary syndrome. Eur J Cancer. 2013 Sep;49(13):2859-68»
- 6 Klemke CD, Mansmann U, Poenitz N, Dippel E, Goerdts S. , «Prognostic factors and prediction of prognosis by the CTCL Severity Index in mycosis fungoides and Sézary syndrome. Br J Dermatol. 2005 Jul;153(1):118-24.».

- 7 Olsen E, Vonderheld E, Pimpinelli N et al. Revisions to the staging Olsen E, Vonderheld E, Pimpinelli N, Willemze R, Kim Y, Knobler R, Zackheim H, Duvic M, Estrach T, Lamberg S, Wood G, Dummer R, Ranki A, Burg G, Heald P, Pittelkow M, Bernengo MG, Sterry W, «W, Laroche L, Trautinger F, Whittaker S; ISCL/EORTC. Revisions to the staging and classification of mycosis fungoides and Sézary syndrome: a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the cutaneous lymphoma task force of the,» European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Blood*. 2007 Sep 15;110(6):1713-22. Epub 2007 May 31. Review. Erratum in: *Blood*. 2008 May 1;111(9):4830.
- 8 Bunn PA, Lamberg SI, «Report of the committee on staging and classification of cutaneous T-cell lymphomas. *Cancer Treat Rep* 1979;63:725-728
- 9 Edinger JT; Beth ZC, Brian E; Pucevich et al. CD30 expression and proliferative fraction in nontransformed Mycosis Fungoides. *Am J Surg Pathol*. 2009 Dec, 33(12): 1860-1864.
- 10 Benner MF, Ballabio E, van Kester MS, Saunders NJ, Vermeer MH, Willemze R, Lawrie CH, Tensen CP. Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma shows a distinct miRNA expression profile and reveals differences from tumor-stage mycosis fungoides., *Exp Dermatol*. 2012 Aug;21(8):632-4.
- 11 Wada DA, Wilcox RA, Harrington SM, Kwon ED, Ansell SM, Comfere NI. Programmed death 1 is expressed in cutaneous infiltrates of mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Am J Hematol*. 2011 Mar;86(3):325-7.
- 12 Pimpinelli N, Olsen EA, Santucci M, Vonderheld E, Haeflner AC, Stevens S et al. International Society for Cutaneous Lymphoma. Related Articles. Defining early mycosis fungoides. *J AM Acad Dermatol*. 2005 Dec ; 53(6):1053-63).
- 13 Agar NS, Wedgeworth E, Crichton S, Mitchell TJ, Cox M, Ferreira S, Robson A, Calonje E, Stefanato CM, Wain EM, Wilkins B, Fields PA, Dean A, Webb K, Scarisbrick J, Morris S, Whittaker SJ. Survival outcomes and prognostic factors in mycosis fungoides/Sézary syndrome: validation of the revised International Society for Cutaneous Lymphomas/European Organisation for Research and Treatment of Cancer staging proposal. *J Clin Oncol*. 2010 Nov 1;28(31):4730-9
- 14 Scarisbrick JJ, Prince HM, Vermeer MH, Quaglino P, Horwitz S, Porcu P, Stadler R, Wood GS, Beylot-Barry M, Pham-Ledard A, Foss F, Girardi M, Bagot M, Michel L, Battistella M, Guitart J, Kuzel TM, Martinez-Escala ME, Estrach T, Papadavid E, Antoniou C, Rigopoulos D, Nikolaou V, Sugaya M, Miyagaki T, Gniadecki R, Sanches JA, Cury-Martins J, Miyashiro D, Servitje O, Muniesa C, Berti E, Onida F, Corti L, Hodak E, Amitay-Laish I, Ortiz-Romero PL, Rodríguez-Peralto JL, Knobler R, Porkert S, Bauer W, Pimpinelli N, Grandi V, Cowan R, Rook A, Kim E, Pileri A, Patrizi A, Pujol RM, Wong H, Tyler K, Stranzbach R, Querfeld C, Fava P, Maule M, Willemze R, Evison F, Morris S, Twigger R, Talpur R, Kim J, Ognibene G, Li S, Tavallae M, Hoppe RT, Duvic M, Whittaker SJ, Kim YH. Cutaneous Lymphoma International Consortium Study of Outcome in Advanced Stages of Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome: Effect of Specific Prognostic Markers on Survival and Development of a Prognostic Model. *J Clin Oncol*. 2015 Oct 5
- 15 Tracey L, Villuendas R, Ortiz P, Dopazo A, Spiteri I, Lombardia L, Rodríguez-Peralto JL, Fernández-Herrera J, Hernández A, Fraga J, Dominguez O, Herrero J, Alonso MA, Dopazo J, Piris MA. Identification of genes involved in resistance to interferon-alpha in cutaneous T-cell lymphoma. *Am J Pathol*. 2002 Nov;161(5):1825-37
- 16 Meissner K, Löning T, Rehenning W. [Mycosis fungoides and Sézary syndrome: diagnostic and prognostic relevance of cellular antigen expression]. *Hautarzt*. 1991 Feb;42(2):84-91

***ABSTRACT***



### III. ABSTRACT

#### INTRODUCTION

Mycosis fungoides (MF) is the most frequent type of cutaneous T-cell Lymphoma. Nevertheless the influence of prognostic factors on survival is poorly known (1).

The immunohistochemical study of MF is hampered by the small number of tumoral cells present in biopsies from the skin, specially in initial stages .

We assessed histological and immunohistochemical characteristics of a historical cohort to elucidate prognostic factors (2).

#### MATERIALS AND METHODS

We selected 91 patients with at least five-years follow up and first biopsy performed in our hospital. We obtained paraffin-embedded blocks and constructed "macroarrays of skin " to evaluate histological characteristics and 23 immunohistochemical markers. We obtained clinical data from clinical records and information about long-term outcomes from a data base in dermatology department. We performed a survival analysis and survival curves were compared with long-rank test. We also compared time to progression curves. Statistical Analysis was performed with STATA 10.1 software.

#### RESULTS

We performed progression and survival analysis for all group of patients and independtly for patients at initial stages with similar results about markers. In general, the outcome of patients at early stages (Ia, Ib, IIA) was significantly ( $p<0,004$ ) better than advanced stages) in survival and progression analysis. Some histological characteristics (mitosis and atypia) were associated to prognosis. CD30 over-expressed ( $p<0,028$ ) and lack of expression of bcl-2 ( $p<0,041$ ) correlated in univariate analysis with a poorer survival.

Progression was predicted with CD30 positive cells in epidermis ( $p>0,028$ ) or in dermis ( $p<0,063$ ) and epidermal MAL and PD1 positivity ( $p<0,011$ ). Finally, ki-67 increased expression in dermal infiltrates correlated with both poor survival and progression.

## DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Clinical staging is the most important independent prognostic factor. This is in accordance with previous studies but still needs to be improved (3) (5). We found immunophenotypical features that predict outcome in survival and progression analysis. There are few reports about CD30 and ki-67 expression in early stages of MF but previous findings also found predictive value (4). MAL, PD1 and bcl-2 prognosis association have not been previously described. All these markers could constitute an immunophenotypical prediction model of prognosis of Mycosis fungoides in future and also should be considered a possible target of therapeutic specific therapies.

## REFERENCES

- 1 Hughes CF, Newland K, McCormack C, Lade S, Prince HM. Mycosis fungoides and Sézary syndrome: Current challenges in assessment, management and prognostic markers. *Australas J Dermatol*. 2015 May 18 epub, in press
- 2 Willemze R, Jaffe ES, Burg G, Cerroni L, Berti E, Swerdlow SH, Ralfkiaer E, Chimenti S, Diaz-Perez JL, Duncan LM, Grange F, Harris NL, Kempf W, Kerl H, Kurrer M, Knobler R, Pimpinelli N, Sander C, Santucci M, Sterry W, Vermeer MH, Wechsler J, Whittaker S. World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Swerdlow SH, Campo E, Harris NL (Eds), IARC Press, Lyon 2008.
- 3 Benton EC, Crichton S, Talpur R, Agar NS, Fields PA, Wedgeworth E, Mitchell TJ, Cox M, Ferreira S, Liu P, Robson A, Calonje E, Stefanato CM, Wilkins B, Scarisbrick J, Wain EM, Child F, Morris S, Duvic M, Whittaker SJ. A cutaneous lymphoma international prognostic index (CLIPi) for mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Eur J Cancer*. 2013 Sep;49(13):2859-68.
- 4 Edinger JT, Clark BZ, Pucevich BE, Geskin LJ, Swerdlow SH. CD30 expression and proliferative fraction in nontransformed mycosis fungoides. *Am J Surg Pathol*. 2009 Dec;33(12):1860-8
- 5 Agar NS, Wedgeworth E, Crichton S, Mitchell TJ, Cox M, Ferreira S, Robson A, Calonje E, Stefanato CM, Wain EM, Wilkins B, Fields PA, Dean A, Webb K, Scarisbrick J, Morris S, Whittaker SJ. Survival outcomes and prognostic factors in mycosis fungoides/Sézary syndrome: validation of the revised International Society for Cutaneous Lymphomas/European Organisation for Research and Treatment of Cancer staging proposal. *J Clin Oncol*. 2010 Nov 1; 28(31) 4730-9.

***ABREVIATURAS***



## IV. ABREVIATURAS

AJCC:	American Joint Comitee on Cancer
BCNU:	Bichlorethylnitrosurea
CD:	Cluster of differentiation
CHOP:	Ciclofosfamida, Doxorubicina, Vimentina, Prednisona
CLIPi:	International Prognosis Index for Cutaneous Lymphomas
CNIO:	Centro nacional de Investigaciones Oncológicas
DAB-Ile.	Denileukin; diftitox, ontak, Interleukina 2
EORTC:	European Organization for Research and Treatment of Cancer
FLIPi:	International Prognostic Index for Follicular Lymphoma
H.R.	Hazard Ratio
IFN:	Interferón
IHQ:	Inmunohistoquímica
Ile:	Interleuquina
ISCL:	International Study Group of CUTAneous Lymphoma
MF:	Micosis fungoide
OMS:	Organización mundial de la salud
PUVA; PUVB:	Psoraleno; Ultravioleta A; Ultravioleta B
REAL:	Revised European Amerian Classification
SS:	Síndrome de Sézary
SAHA:	Suberoylanilide Hydroxaminacid
TCR:	Receptor de células T
TLR7:	Receptor Toll-like 7



## ***INTRODUCCIÓN***



## V. INTRODUCCIÓN

### V.1. HISTORIA DE LA CLASIFICACIÓN DE LOS LINFOMAS CUTÁNEOS

Es importante empezar por puntualizar que el término micosis fungoide (MF) *no es sinónimo* de linfoma cutáneo T, sino que la MF es *un subtipo* de entre las al menos *diez variedades de linfomas cutáneos primarios T*.

Esta confusión en la utilización de los términos, procede de que durante más de un siglo los **linfomas cutáneos** fueron clasificados sólo en tres entidades: micosis fungoide (MF), síndrome de Sézary (SS) o afectación cutánea por linfoma de otro origen. Hasta la década de los años 70, no se empezaron a diferenciar los linfomas cutáneos primarios B de la afectación cutánea por un linfoma de otro origen. Fue al hacer esta diferenciación cuando empezaron a desarrollarse las clasificaciones.

Lo primero que se observó es la aparición de linfomas B primarios cutáneos de dos tipos, los limitados a la piel sin progresar a otros órganos y los que tenían comportamiento agresivo y afectaban a vísceras durante su evolución. De estas observaciones surgieron entre los años 70 y 90 tres clasificaciones principales para los linfomas: Kiel [1], Lukes-Collins y Working Formulation [2], todas se basaban principalmente en los rasgos morfológicos del tipo celular.

Al principio los informes de diagnóstico incluían más de una clasificación, ante la falta de acuerdos. En 1994 The International Lymphoma Study Group alcanzó por fin un consenso en la clasificación y de allí salió la clasificación REAL (Revised European American Lymphoma Classification) [3].

Este nuevo sistema incorporaba a los rasgos morfológicos e inmunofenotípicos, las alteraciones genéticas y las características clínicas, tratando de separar verdaderas entidades clinicopatológicas por su morfología y forma de presentación.

Poco tiempo después la European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Cutaneous Lymphoma Program Group desarrolló un esquema especial para clasificar los linfomas cutáneos [4], esta última añadía el comportamiento biológico y respuesta al tratamiento, a las características ya incluidas en la clasificación REAL.

En 2001 la World Health Organization (WHO) International Agency for Research and Cancer publicó su libro "The Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues", (3rd Edition). Este libro incorporaba el esquema de la EORTC, pero había algunos aspectos aún en discusión, como qué terminología utilizar: "primario cutáneo" o usar "extraganglionar"; si decir "linfoma B difuso de células grandes" o "linfoma folicular difuso" y el uso de "tipo de las piernas" para linfomas de otra localización distinta de las piernas.

Los autores de ambas clasificaciones (grupos EORTC y WHO) se reunieron en Lyon y Zurich e hicieron en 2005 una publicación con el título : “EORTC /WHO classification of primary cutaneous lymphoma”.

En la edición cuarta del libro “WHO Classification of Tumours of Haematolymphoid Tissues “ la clasificación de los linfomas cutáneos se integró en la del total de los linfomas y desde entonces es la que se utiliza para establecer las pautas de tratamiento de los linfomas cutáneos [5]. Consiguió establecer un modo de clasificar compatible con los linfomas sistémicos y a la vez tener en cuenta las peculiaridades de los linfomas cutáneos. En esta clasificación se intenta individualizar entidades clínico-patológicas basadas en las características clínicas, histopatológicas, inmunofenotípicas y genotípicas, intentando establecer una correlación con la contrapartida fisiológica de la célula neoplásica responsable.

Reconoce 15 linfomas cutáneos de los cuales 11 son linfomas de estirpe T y 4 son de estirpe B, además se incluye la lesión precursora: Neoplasia de células NK blásticas (células CD4+/CD56+) (Tabla 1). De entre los linfomas T el más frecuente sigue siendo la micosis fungoide.

En las nuevas clasificaciones se ha separado como otra entidad el Síndrome de Sézary, aunque tradicionalmente se consideraba la “variante leucémica de la micosis fungoide” , sus características clínicas son diferentes y se han encontrado rasgos fenotípicos de célula T memoria , con fenotipo TH2 en lugar de fenotipo TH1 como ocurre en MF [6]. Por eso nosotros hemos extraído de la serie, los casos de síndrome de Sézary para compararlos con el resto de pacientes y hemos realizado un estudio independiente restringido a micosis fungoide en estadios iniciales. El trabajo ha tratado de superar la limitación que supone que en el momento en que estos enfermos fueron diagnosticados, aún se consideraba al SS una variante de MF con afectación leucémica y no se utilizaban las técnicas moleculares actuales para detectar los clones circulantes.

**Tabla 1 Clasificación de los linfomas cutáneos EORTC/WHO 2005**

<b>Clasificación de los linfomas cutáneos EORTC/WHO 2005</b>	
<b>Modificado de Willemze R, Jaffe ES, Burg G, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. Blood 2005 [7]</b>	
<b>Linfomas cutáneos de células T y células NK</b>	
<b>Micosis fungoide (MF)</b>	
<b>Variantes y subtipos de MF</b>	
	<b>MF Foliculotropa</b>
	<b>Reticulosis pagetoide</b>
	<b>Piel laxa granulomatosa</b>
<b>Síndrome de Sézary (SS)</b>	
<b>Linfoma/Leucemia de células T del adulto</b>	
<b>Trastornos linfoproliferativos cutáneos primarios CD30+</b>	
	<b>Linfoma cutáneo primario de células grandes anaplásicas</b>
	<b>Papulosis linfomatoide</b>
<b>Linfoma de células T paniculítico o subcutáneo</b>	
<b>Linfoma de células NK/T extraganglionar, tipo nasal</b>	
<b>Linfoma cutáneo primario de células T periférico, inespecífico</b>	
<b>Linfoma cutáneo primario agresivo de células T CD8+ (provisional)</b>	

**Clasificación de los linfomas cutáneos EORTC/WHO 2005**

Modificado de Willemze R, Jaffe ES, Burg G, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. Blood 2005 [7]

Linfoma cutáneo de células T  $\gamma/\delta$  (provisional)  
Linfoma cutáneo primario de células T CD4+ pleomórficas de tamaño mediano / pequeño.

**Linfomas cutáneos de células B**

Linfoma cutáneo primario de células B marginal  
Linfoma cutáneo primario del centro folicular  
Linfoma cutáneo primario de células B grandes, "leg type".  
Linfoma cutáneo primario de células B grandes, otros.

**Neoplasias de precursores hematológicos.**

Neoplasia hematodérmica CD4+ / CD56+ (lymphoma de células NK blásticas)

**V.2. MICOSIS FUNGOIDES Y SU PRONÓSTICO****V.2.1. ANTECEDENTES**

La **Micosis Fungoide (MF)** es un linfoma primario cutáneo epidermotrópico constituido por células T de tamaño pequeño o intermedio con núcleo cerebriforme [8]. En la forma clásica (la más frecuente) se caracteriza por comenzar por áreas en la piel maculosas que evolucionan lentamente a placas infiltradas y posteriormente a estadio tumoral. Ocasionalmente evoluciona de forma agresiva a pesar de las diferentes estrategias terapéuticas.

El **síndrome de Sézary** es una variante agresiva de linfoma T cutáneo con presentación leucémica en el cual se identifican en sangre periférica células malignas (células de Sézary); se define por la triada eritrodermia, linfadenopatía generalizada y la presencia de células neoplásicas clonales T con núcleos cerebriformes en sangre periférica, además de en piel y ganglios linfáticos [8]. Debe diferenciarse de la MF eritrodérmica en la cual, aparece eritrodermia en el contexto de una MF pre-existente con ausencia o con mínima afectación de sangre periférica (Bo o B1) [9].

La MF es el linfoma más frecuente de los que se originan en la piel. La edad media de aparición se sitúa entre la 5ª y la 6ª década [10]. La incidencia está entre 0.5 y 1 caso de cada 100.000 habitantes/año [11] y [12]. Se ha multiplicado por 4 en un periodo en que el resto de los linfomas aumentó solo un 16% [13], [14] aunque recientemente en Estados Unidos parece haber habido una estabilización [15]

La mayoría de pacientes muestran un curso clínico indolente durante años [16]. Sin embargo, el pronóstico es muy variable dependiendo del estadio. Cuando hay afectación extracutánea o transformación en un linfoma de alto grado, la mediana de supervivencia es menor de un año [17]. La supervivencia a 5 años en estadio de mancha/placa es muy buena, alrededor del 80-90%, sin embargo cuando aparecen tumores o eritrodermia, ronda el 40% y si se encuentran ganglios afectados, se sitúa en torno al 30% [18]. Dada esta variabilidad y siendo la enfermedad potencialmente letal, es esencial determinar factores pronósticos predictores de la evolución

posterior y si fuera posible factores predictores de respuesta a los tratamientos actuales. La ausencia de remisión completa al primer tratamiento con o sin progresión posterior de la enfermedad se relaciona inversamente con las curvas de supervivencia para mortalidad por linfoma y mortalidad total en estos pacientes [19].

Tradicionalmente los criterios que han tratado de elucidar el pronóstico contenían estrictamente parámetros clínicos basados en el sistema de estadiaje descrito en 1979 por el MJ Cooperative Group of the American Joint Committee on Cancer (AJCC) (ANEXO 1 y 2) [20], este sistema reproducía la forma clásica de valorar el pronóstico tumoral mediante la clasificación T (tamaño o extensión tumoral), N (afectación ganglionar) y M (afectación visceral), y no fue revisado hasta el año 2005 en que algunos autores manifestaron la necesidad de hacer un mejor ajuste pronóstico y observaron que la presencia de afectación linfática y afectación sanguínea (no incluida en el estadiaje en la clasificación de 1979) eran mejores factores predictivos de la supervivencia que el porcentaje de piel afectada, la carga tumoral o la afectación visceral. Presentaron una nueva estratificación del riesgo con mayor valor predictivo individual y pusieron de manifiesto la necesidad de actualizar el sistema descrito en 1979 [21].

En el año 2007 la revisión de esta clasificación por los grupos ISCL/EORTC incluyó en los estadios iniciales, las categorías de “manchas solas” como T1a/T2a y manchas y placas como T1b/T2b, que se añadía al criterio de porcentaje de piel afectada. Además incorporó una clasificación molecular de la afectación de ganglios linfáticos y sangre periférica [22] y [23]. Pero este sistema aún no ha sido validado, y dentro de un mismo estadio la progresión de los pacientes es diferente [24]. Se está trabajando en desarrollar índices pronósticos que otorguen una mayor precisión en determinar el riesgo de supervivencia y progresión, se toman como ejemplo los modelos multivariantes que se han descrito para linfoma sistémicos como el “Índice Pronóstico del Linfoma Folicular” (FLIPi) con gran valor predictivo. Este índice tras analizar 20 variables de datos clínicos, patológicos y moleculares, fue confeccionado seleccionando solo 5 de ellas, lo que lo hace un índice sencillo capaz de guiar el tratamiento más adecuado a cada grupo pronóstico [25].

Siguiendo este ejemplo, recientemente ha sido publicado para linfomas primarios cutáneos, el llamado “Cutaneous Lymphoma International Prognostic index (CLIPi)” [26]. Deriva de un estudio retrospectivo con 1502 pacientes con MF y SS del cuál se extrajeron una serie de factores pronósticos fundamentalmente clínicos. Según este índice se consideran factores de mal pronóstico: edad mayor de 60 años, sexo masculino, presencia de placas al inicio y no solo manchas, variante foliculotrópica y afectación ganglionar, visceral o de sangre periférica. Los autores consiguieron estimar dos modelos: uno para estadios iniciales y otro para avanzados con diferencias en la supervivencia para cada una de sus tres categorías o estratos de riesgo. Sin embargo, el grupo de validación tenía diferencias en el pronóstico con el grupo inicial de derivación, no se sabe si esto ocurrió porque las poblaciones eran diferentes y habían recibido diferentes tratamientos o porque el índice tuvo algún error metodológico en su desarrollo.

En el momento actual, aún se está trabajando a nivel internacional para intentar desarrollar un índice pronóstico capaz de separar grupos de diferente evolución y permitir un abordaje terapéutico más adecuado para cada caso.

En esta línea nuestro grupo de investigación decidió participar en la búsqueda de un mejor sistema de estratificación del riesgo para estos pacientes, capaz de predecir el riesgo de progresión y supervivencia de un paciente concreto según su perfil inmunohistoquímico y las características morfológicas del tumor. Pocos de los estudios multicéntricos han utilizado factores inmunohistoquímicos. Los intentos de encontrar factores pronósticos inmunohistoquímicos solo han sido realizados en series cortas de pacientes y aún no han sido validados y aplicados a los índices pronósticos como el CLIPi .

Además, la respuesta a un tratamiento concreto podría venir determinada por la expresión de determinadas moléculas (proteínas) en el tumor, lo que facilitaría el establecimiento de protocolos de tratamiento uniformes para un paciente concreto con un perfil inmunohistoquímico preciso, ya que las modalidades de tratamiento aún no han sido del todo consensuadas [27]. Pese a la existencia de una gran variedad de estrategias terapéuticas (ver apartado de tratamientos a continuación en la sección V.3 de esta introducción) un porcentaje de pacientes acaban por progresar a pesar del tratamiento inicial elegido, lo que indica la necesidad de estudios adicionales en este campo.

#### V.2.2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

El modelo pronóstico AJCC modificado en el 2007 [9], aunque delimita tres grupos de riesgo, sigue siendo insuficiente para predecir la evolución de forma individual y no ayuda en la selección de tratamientos de entre todo el arsenal terapéutico disponible. Los tratamientos actualmente recomendados para la MF en fases de mancha/placa son los dirigidos a la piel: Mecloretamina tópica, BCNU tópico, radioterapia de electrones , fotoquimioterapia (PUVA), corticoides o bexaroteno a los que se asocia frecuentemente un modificador de respuesta biológica: Interferón, Il-2, DAB-Il-2 [11]. Recientemente el tratamiento con SAHA (suberoylanilide hydroxamic acid) parece tener un efecto prometedor [28]. Sin embargo aún no es posible predecir si van a ser efectivos o no en un paciente concreto y cual de las modalidades es la indicada para cada caso específico. La mayoría de estos tratamientos son costosos y tienen una morbilidad importante, por tanto predecir la respuesta terapéutica tendría beneficios sobre el gasto sanitario y mejoraría el beneficio otorgado a los pacientes disminuyendo la iatrogenia.

Determinar un perfil inmunohistoquímico de cada grupo pronóstico permitiría:

- Identificar factores pronósticos independientes del estadio
- Extraer subgrupos con más riesgo de los estadios iniciales
- Establecer estrategias de tratamiento adecuadas (más agresivas o más completas) a los grupos de peor pronóstico
- Facilitar el diagnóstico histopatológico en los estadios iniciales en que la biopsia puede ser dudosa

- Avanzar en el conocimiento de las posibles vías moleculares implicadas en la patogenia de la MF y los mecanismos que determinan la progresión tumoral.
- Sugerir nuevas dianas terapéuticas según las vías moleculares alteradas

### V.3. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.

La Organización Mundial de la salud (OMS) en su clasificación de las neoplasias hematopoyéticas y linfoides publicada en el año 2008 [8] recomienda utilizar el término micosis fungoide sólo en los casos en que el linfoma sigue el **curso clínico clásico** con evolución desde el *estadio de parches o máculas y manchas*, pasando por *placas a tumor*. Incluyendo sólo como variantes aquellas que siguen un curso clínico parecido aunque su presentación sea diferente. Reconoce las tres variantes: foliculotrópica, reticulosis pagetoide y piel laxa granulomatosa. Aún así siendo relativamente infrecuente y con estos criterios restringidos, es el más frecuente de los linfomas cutáneos y supone entre el 54-65% de los linfomas cutáneos de células T y 45-50% de los linfomas primarios cutáneos en conjunto [29] y [7]

#### V.3.1. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS

Los pacientes tienen una edad media de afectación de 57 años en las series publicadas , aunque se dan algunos casos pediátricos de forma infrecuente [30]. Se ha observado un mayor riesgo de progresión asociado a la edad [31]. Los hombres se afectan con casi el doble de frecuencia que las mujeres [5]. Según las razas estudiadas en Estados Unidos es más frecuente en afroamericanos, después en caucásicos y menos frecuentes en asiáticos e hispanoamericanos, con una incidencia respectiva por grupos: resumida tabla 2.

**Tabla 2 Distribución de incidencia anual de MF según razas**

Razas	Incidencia anual por millón de personas
Afroamericana	10 casos por millón anuales
Caucásica	8 casos por millón anuales
Hispanoamericana	5 casos por millón anuales
Asiática	5 casos por millón anuales

#### V.3.2. PRESENTACIÓN CLÍNICA

Clásicamente la MF progresa desde el estadio de parche (patch) a placa y luego a tumor, aunque puede saltarse alguno de ellos, sin embargo algunos pacientes manifiestan más de un estadio simultáneamente.

- En el **estadio de mancha-parche** ( Patch) los pacientes se presentan con una historia de años sufriendo unas lesiones rojo-asalmonadas, ligeramente descamativas que durante mucho tiempo han podido ser diagnosticadas y tratadas como una psoriasis o un (Figura 1 y 2)



**Figura 1 y 2 Fase de mancha-parche**

Imagen de la distribución troncular de las lesiones, con preferencia por las zonas fotoprotectidas (bajo los brazos) e imagen del detalle (izquierda) de una lesión en estadio de mancha-parche ligeramente rojiza-asalmonada.

- Con el transcurso de los años, las lesiones evolucionan con **placas induradas**, de bordes irregulares , que se distribuyen asimétricamente en el cuerpo en una disposición en “traje de baño” (Figura 3 y 4) como resultado de la protección que confiere la fotoexposición. Las lesiones pueden extenderse por región mamaria, cara interna de los brazos, flancos, región glútea y caderas [32]. Los colores de las lesiones son variables, pueden oscilar entre rojo marronáceo y anaranjado [5]. Puede existir atrofia de la epidermis en “papel de fumar” con aspecto arrugado, fino y delicado. Otras lesiones pueden ser poiquilodérmicas con un patrón reticulado de eritema, hiperpigmentación, hipopigmentación y telangiectasias



**Figura 3 y 4 Placas induradas**

Placas sobreelevadas o con aumento de consistencia, a veces de aspecto ligeramente descamativo (izquierda). A veces las lesiones muestran áreas telangiectásicas y otras de distinta pigmentación con aspecto poiquilodérmico (derecha)

- El final de las fases de progresión en piel es el **estadio de tumor**, en el cual se presentan nódulos de mayor tamaño (en nuestro estudio los definimos como mayores de 1cm) infiltrados por células tumorales en gran número (Figura 5) que a veces se ulceran (Figura 6).



**Figura 5 Fase de tumor con extensas lesiones en placa**

Imagen del hombro de un varón con extensas lesiones en placa y aparición de una lesión tumoral



**Figura 6 Fase de tumor con presencia de lesiones ulceradas**

- **Evolución agresiva:** aunque es poco frecuente (aproximadamente afecta al 4,7% de los pacientes), a veces la MF evoluciona a transformación de células grandes empeorando mucho el pronóstico [33] (ver características morfológicas). **La afectación visceral o de ganglios linfáticos** también puede ocurrir y aparece de forma tardía en la evolución. Los pacientes además pueden evolucionar con eritrodermia (Figura 7) que simula un síndrome de Sézary pero sin el grado de afectación de sangre periférica que definiría el síndrome de Sézary [34].



**Figura 7** Afectación eritrodérmica por MF en un varón de edad media

## V.4. CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS

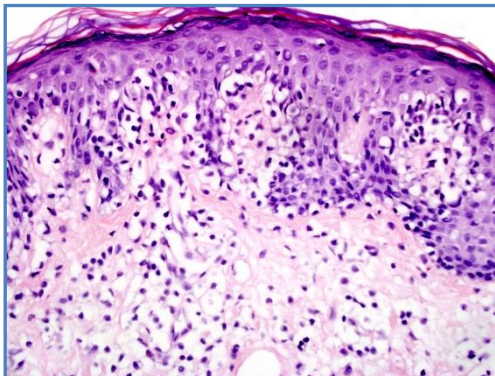
Las características histopatológicas de la MF difieren según la fase clínica en que se encuentre (mancha, placa o tumor o linfoma cutáneo T ). Los únicos subtipos reconocidos por la OMS son MF foliculotropa, MF tipo reticulosis pagetoide y piel laxa granulomatosa. Estas tres variantes especiales tienen su contrapartida histopatológica con rasgos morfológicos particulares que se detallaron en el apartado anterior al describir las variantes clinicopatológicas y los subtipos [5].

### V.4.1. SEGÚN LAS FASES EN LA EVOLUCIÓN

#### V.4.1.1. Mancha-parche (patch)

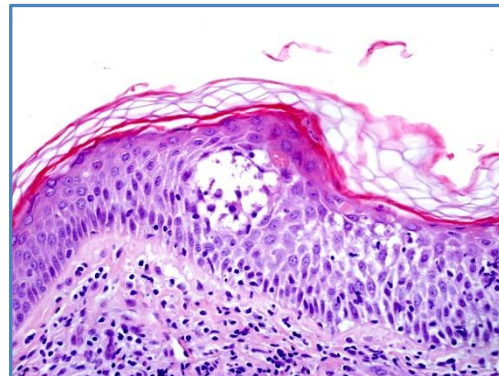
Las lesiones en manchas, son las más difíciles de diagnosticar. Característicamente presentan un infiltrado linfocitario superficial , que se dispone en banda o en cadenas afectando a la unión dermoepidérmica y que presenta marcado epidermotropismo (Imagen histológica 1) [5]. Las células T neoplásicas , son pequeñas a medianas y tienen un núcleo cerebriforme, muy irregular con marginación de la cromatina periférica. Es muy característica la afinidad por la capa basal de la epidermis de modo que las células neoplásicas se sitúan sueltas o en cadenas, a lo largo de la misma. Los linfocitos pueden presentar artefacto de retracción del citoplasma y del tejido circundante dando imágenes en **“halo claro”** (Imagen histológica 3).

Cuando permean la epidermis pueden formar agregados de células atípicas donde se entremezclan algunas células dendríticas y alguna otra aislada acompañante, estos grupos celulares se denominan **“microabcesos de Pautrier”** (Imagen histológica 2).



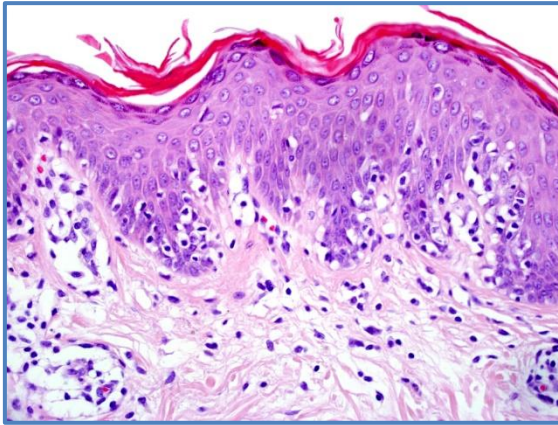
**Imagen histológica 1. Linfocitos neoplásicos con epidermotropismo.**

Presencia de linfocitos atípicos en la unión dermoepidérmica. HE 200x



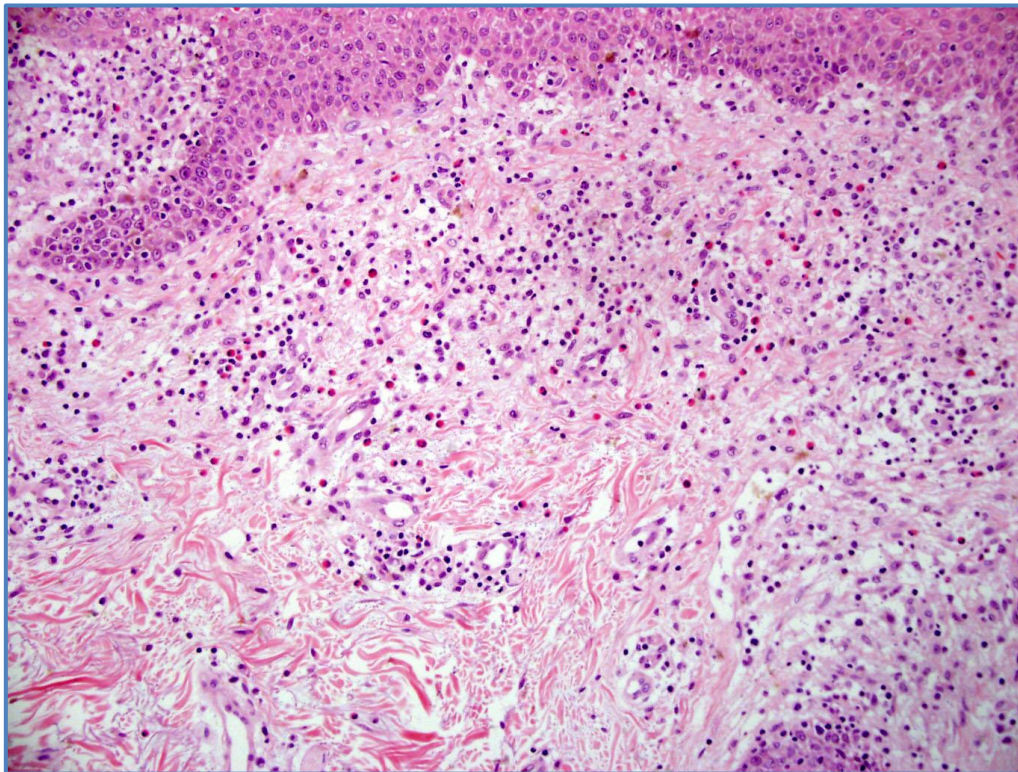
**Imagen histológica 2. Microabcesos de Pautrier**

Presencia de grupos de linfocitos neoplásicos infiltrando la epidermis, dan imágenes llamadas "microabcesos de Pautrier" HE 200x



**Imagen histológica 3. Linfocitos con halo claro en la unión dermoepidérmica.** Forman “cadenetas” o se disponen como células sueltas entre los queratinocitos basales. HE 200x

Habitualmente no se acompaña la lesión epidérmica de espongiosis. Puede acompañarse en la dermis de un infiltrado mixto reactivo (no neoplásico) que incluya linfocitos, eosinófilos y/o histocitos ( Imagen histológica 4).

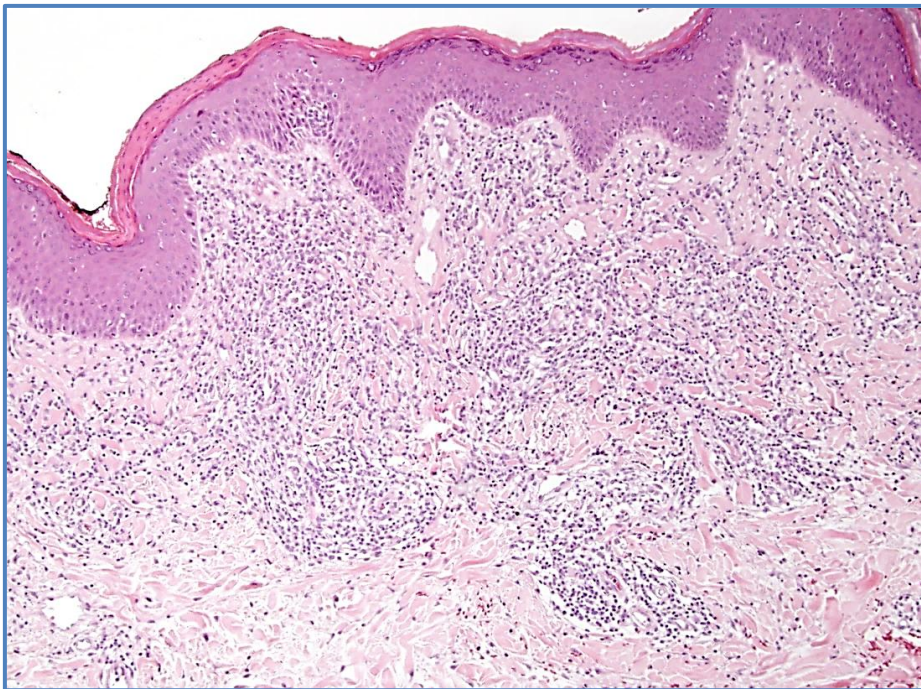


**Imagen histológica 4. Infiltrado acompañante mixto.** A veces incluye eosinófilos. HE 200x

Otros hallazgos acompañantes e inespecíficos son la acantosis, atrofia epidérmica, incontinencia de pigmento, hiperqueratosis o paraqueratosis leves o extravasación hemática.

#### V.4.1.2. Placa

En esta fase existe aún mayor afectación de la epidermis que en la anterior. Se manifiesta por la presencia de más abundantes micorabcesos de Pautrier y permeación de la epidermis sobre todo en su capa basal, que puede mostrar cambios degenerativos en los queratinocitos [35]. El infiltrado es característicamente en banda ( Imagen histológica 5 ), las células se distribuyen solas o en grupos y excepcionalmente, si el infiltrado es muy denso puede prácticamente reemplazar a la epidermis .

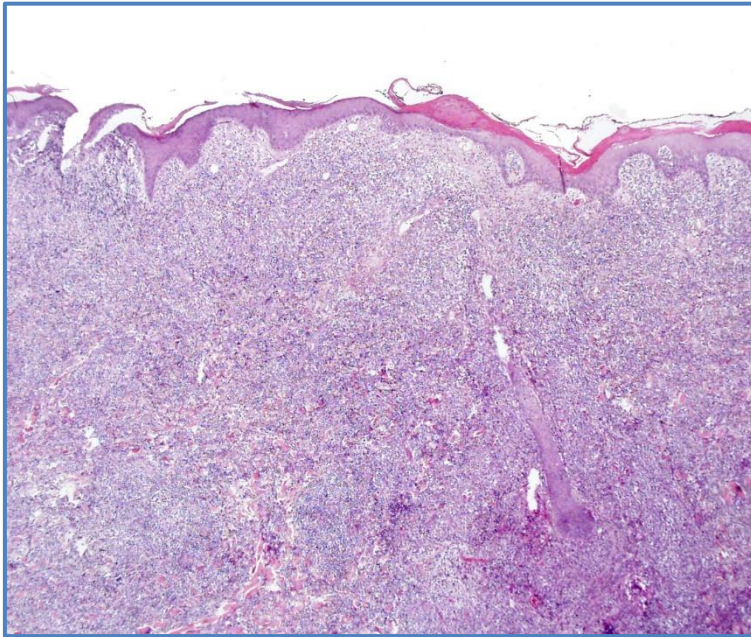


**Imagen histológica 5. Fase de placa.** Infiltrado linfocitario en banda en dermis superficial y afectando a la capa hasta epidérmica. Moderados cambios en epidermis con discreta paraqueratosis y acantosis (izquierda) . HE 200x

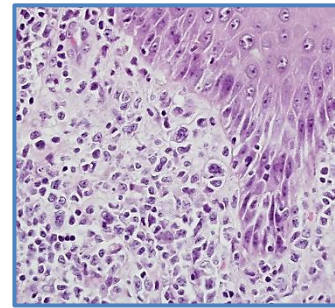
Igualmente la epidermis puede mostrar cambios reactivos inespecíficos como acantosis leve, paraqueratosis parcheada, hiperqueratosis o puede haber incontinencia pigmenti o fibrosis en dermis superficial ( Imagen histológica 5 ). Ocasionalmente existe un infiltrado acompañante de linfocitos, eosinófilos, plasmáticas, dendríticas y macrófagos.

**V.4.1.3. Tumor**

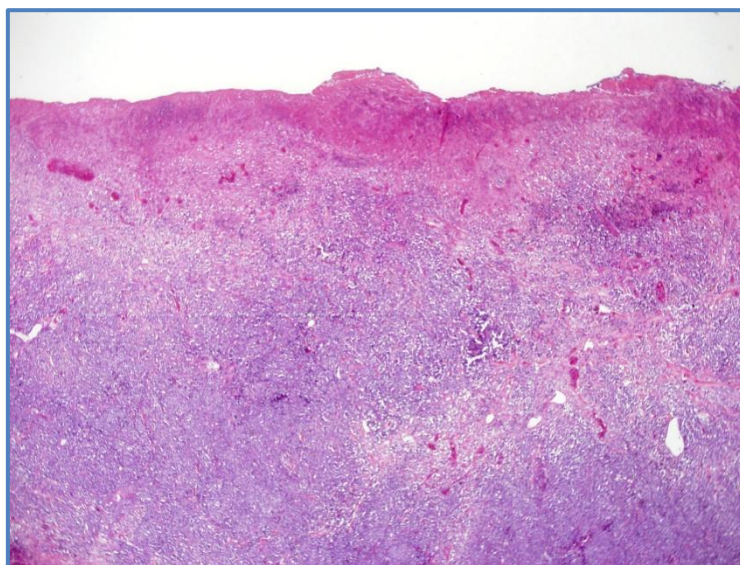
Se caracteriza por un infiltrado denso, nodular en dermis, compuesto de sábanas de células T atípicas, que ocasionalmente afectan al tejido celular subcutáneo [36]. Frecuentemente se ulceran (Figura 6), (Imagen histológica 8) Pueden tener o no epidermotropismo, aunque generalmente es menor que en la fase de placas. Las células en esta fase son más variables en morfología pudiendo mostrar mayor tamaño y atipia, sin embargo por definición el infiltrado debe ser menor del 25% de células grandes. Frecuentemente aparecen mitosis que pueden ser atípicas ( Imagen histológica 6 y 6).



**Imagen histológica 6. Fase tumor.** Infiltrado neoplásico denso en toda la dermis y tejido celular subcutáneo. HE 100x



**Imagen histológica 7. Fase tumor con atipia intensa.** Aproximación para mostrar la celularidad atípica. HE 400x

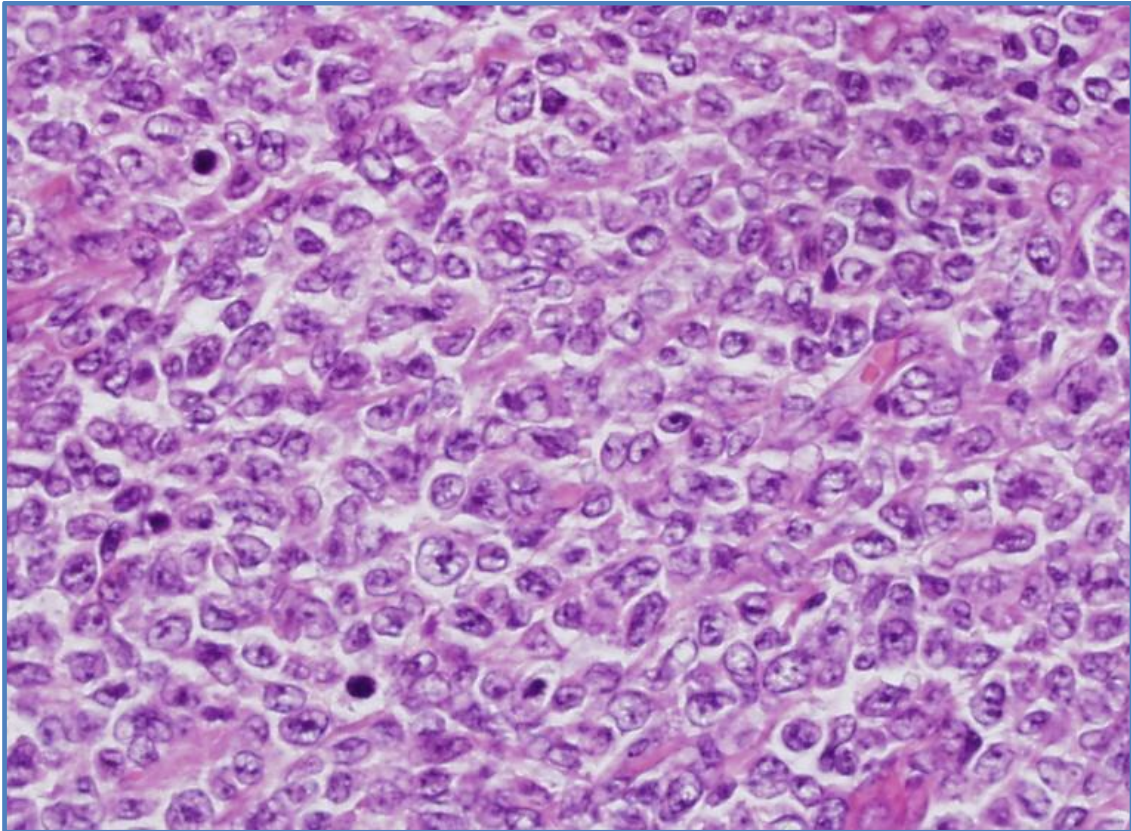


**Imagen histológica 8. Fase tumor con ulceración.** Celularidad linfocitaria neoplásica densa. Epidermis con ulceración y recubrimiento de fibrina y detritu. HE 100x

#### V.4.1.4. Transformación a células grandes

El rasgo morfológico principal que define la transformación a células es la presencia de linfocitos atípicos y grandes (más de 4 veces el diámetro de un linfocito normal y constituyendo más del 25% del total del infiltrado linfoide en dermis) ( Imagen histológica 9 ) . Las células tienen grandes núcleos que pueden ser irregulares y con nucléolo, además tienen amplios citoplasmas. Son característicamente ALK negativas y en el 30% de los casos expresan CD30 [33].

A veces se acompañan de una linfadenopatía clínicamente palpable que no siempre tiene afectación tumoral, ya que puede corresponder a linfadenitis dermatopática [5] .



**Imagen histológica 9. Fase de transformación a células grandes.** El infiltrado de células grandes y muy atípicas supera el 25% de la celularidad tumoral. HE 400x

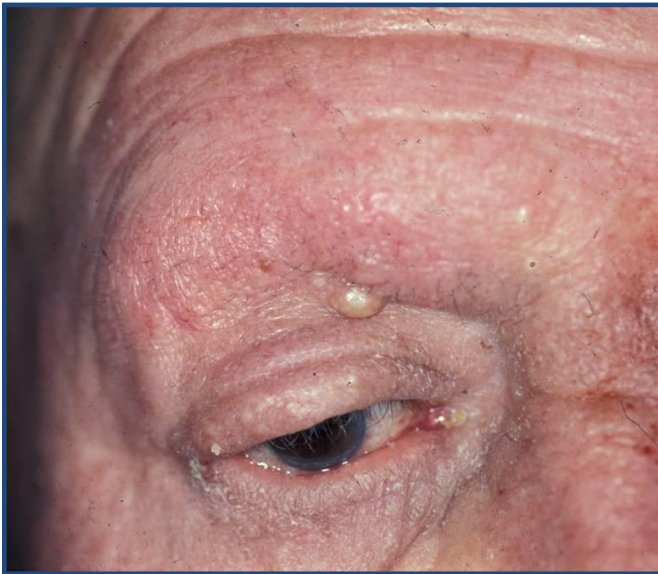
#### V.4.2. SUBTIPOS CLÍNICO PATOLÓGICOS RECONOCIDOS POR LA OMS

##### V.4.2.1. MF Foliculotrópica

También se la denomina foliculocéntrica o pilotrópica. Supone alrededor del 13% de todo los casos de MF [37]. La forma más frecuente de presentación es la presencia de pápulas agrupadas en cabeza y cuello (Figura 8). Puede manifestarse como alopecia, lesiones acneiformes, tapones tipo comedo, quistes epidérmicos, hiperqueratosis folicular o manchas y placas eritematosas con o sin prurito asociado. Está asociada a un peor pronóstico con una supervivencia específica por enfermedad de entre el 70-80% [37].

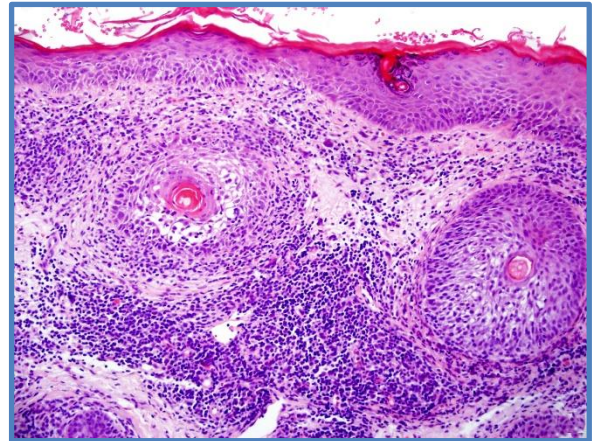
La histopatología demuestra un denso infiltrado de linfocitos neoplásicos rodeando los folículos o intrafolicular, suele respetar la dermis interfolicular y tiene poca afectación epidérmica (Imagen histológica 10 y 11 ).

Suele asociar degeneración mucinosa del folículo (Imagen histológica 10) pero no es imprescindible para el diagnóstico. La degeneración mucinosa puede oscilar entre focal depósito de mucina visible con hierro coloidal ( Imagen histológica 12 ), hasta degeneración mucinosa de los folículos con formación de lagos de mucina al destruir completamente los folículos. Cuando hay afectación marcada de los folículos suele haber también afectación de las glándulas ecrinas por lo que se superpone la entidad con la siringotrópica [36].



**Figura 8. MF Foliculotropa**

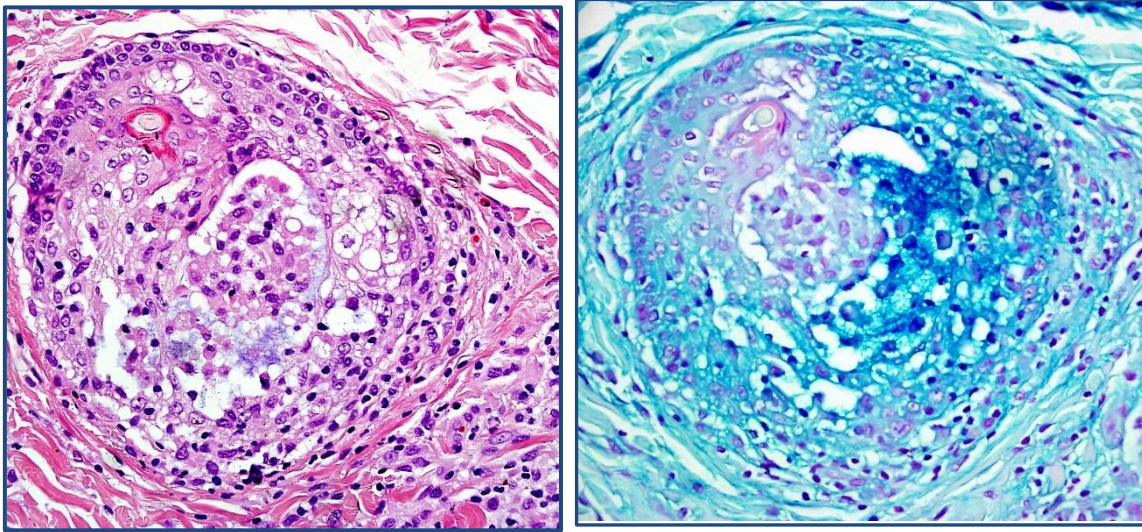
Lesiones papulares en región facial que han producido alopecia de la ceja.



**Imagen histológica 11. Variante foliculotrópica.** Afectación de predominio folicular. HE 200x



**Imagen histológica 10. variante foliculotrópica.** Dilatación folicular con abundante mucina en el interior de los folículos. HE 200x



**Imagen histológica 12. afectación folicular.** Permeación del epitelio del folículo por células neoplásicas que provoca degeneración folicular y depósito de mucina. **Izquierda:** técnica de tinción HE 400x. **Derecha:** técnica de tinción Hierro coloidal para visualizar la mucina en azul intenso.

#### V.4.2.2. Reticulosis Pagetoide

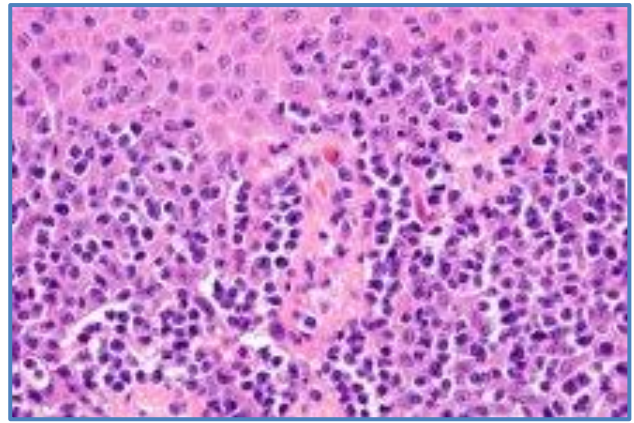
Es una forma muy rara de MF que se caracteriza por una sola lesión en parche o placa (**Figura 9**). Es más frecuente que afecte a zonas acrales, aunque a veces también se observan lesiones en las zonas fotoprotegidas. Por definición estas lesiones deben afectar a menos del 5% del total de la superficie corporal. Tiene muy buen pronóstico y nunca se ha encontrado afectación visceral [5]. Histológicamente las lesiones son muy características, están compuestas de un prominente infiltrado intraepidérmico, constituido por linfocitos de tamaños medianos a grandes, con núcleos irregulares, cerebriformes y marcada distribución “pagetoide” es decir con mucho epidermotropismo por capas más altas del epitelio a diferencia de la MF clásica cuya predilección es por la capa basal.

La reticulosis pagetoide tiene un fenotipo que puede ser CD4+ y CD8- o bien citotóxicos con fenotipo CD8+ y CD4-, frecuentemente expresan CD30 [5]

Los términos Enfermedad de Woringer-Kolopp (reticulosis pagetoide localizada) y Ketrón-Goodman (reticulosis pagetoide generalizada con fenotipo CD8+) ya no se utilizan, los incluyo aquí por motivos históricos y de aclaración de términos. El subtipo Woringer Kolopp se considera sinónimo de reticulosis pagetoide y el término Ketrón Goodman se considera ahora un linfoma T epidermotropo agresivo CD8 positivo [38].



**Figura 9 MF unilesional** con patrón de reticulosis pagetoide

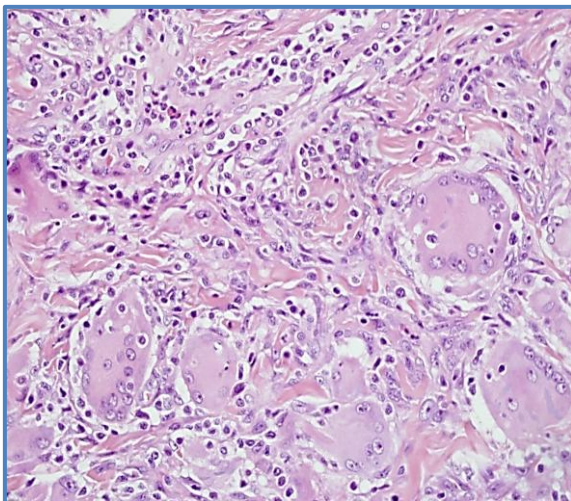


**Imagen histológica 13. Reticulosis pagetoide.** Presencia de linfocitos que permean la epidermis. HE 400x

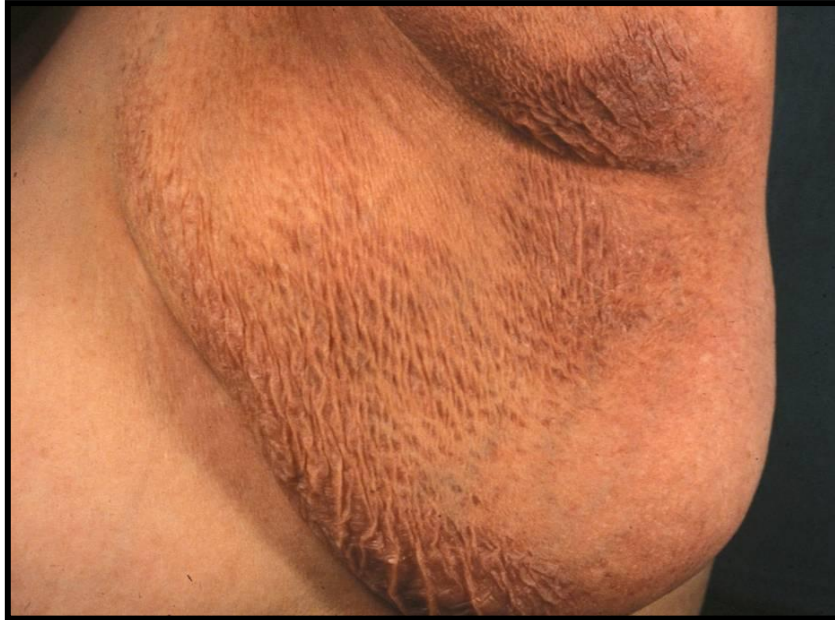
#### V.4.2.3. Piel laxa granulomatosa

El síndrome de la piel laxa granulomatosa es un subtipo infrecuente de MF con evolución lenta [5]. Existen menos de 50 casos descritos en la literatura [39].

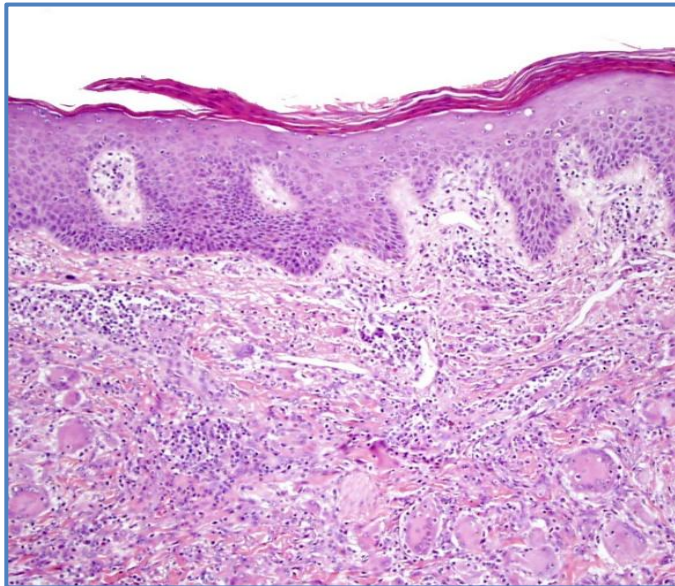
Clínicamente es muy característica ya que presenta crecimiento desproporcionado con grandes pliegues cutáneos en áreas intertriginosas (Figura 10) . Se hace más llamativo en las axilas e ingles. Puede acompañarse de cambios superficiales de tipo poiquilodérmico, parches o placas [39]. En el estudio histopatológico suele encontrarse un infiltrado característico en banda o difuso, que incluye además de los linfocitos de núcleo cerebriforme típicos, la presencia de un infiltrado mixto con histiocitos y células gigantes formando granulomas . Los histiocitos y las células gigantes pueden tener en el interior linfocitos ( linfocitosis) o fibras elásticas que sufren cambios degenerativos relacionados con el aspecto “redundante” de la piel. La histología no permite diferenciar esta entidad (subtipo reconocido por la OMS de MF) de la presentación de la MF clásica en forma granulomatosa que tiene peor pronóstico, para ello se requiere la correlación clínica (Figura 10).



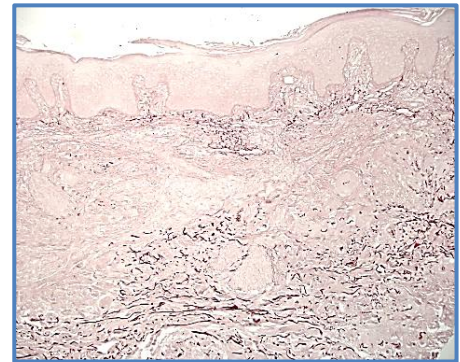
**Imagen histológica 14.** Imagen de gran aumento de las áreas granulomatosas. HE 400x



**Figura 10 Piel laxa granulomatosa (cutis laxa granulomatosa)** Se muestra un pliegue abdomino-inguinal redundante. Sobre la superficie epidérmica muestra aspecto reticular con áreas de distinta pigmentación.



**Imagen histológica 15. Piel laxa granulomatosa.** Infiltrado linfocitario neoplásico acompañado de abundantes histiocitos que forman células gigantes y ocupan la dermis, produciendo degeneración de fibras elásticas. HE 200x



**Imagen histológica 16. Piel Laxa granulomatosa.** Tinción de orceína. Piel Laxa granulomatosa que ha perdido el patrón normal de distribución de las fibras elásticas. 200x

#### V.4.2.4. Síndrome de Sézary (SS)

El síndrome de Sézary es una leucemia infrecuente con una mediana de supervivencia mucho peor que la de la MF, que ronda los tres años y una supervivencia específica por enfermedad a los 5 años que oscila entre el 10-33% según las series [40]. Los pacientes con SS abarcan menos del 5% del total con linfomas cutáneos. Característicamente los pacientes se presentan con la triada de síntomas: eritrodermia, linfadenopatías generalizadas y un clon neoplásico de células T con núcleos cerebriformes en sangre periférica (células de Sézary). Frecuentemente los pacientes presentan prurito y alteraciones en la inmunidad celular y humoral, lo que les provoca susceptibilidad a infecciones oportunistas. El diagnóstico se basa fundamentalmente en la forma de presentación clínica, análisis de citometría de flujo o conteo celular en sangre periférica e histopatología de la biopsia cutánea.

Tradicionalmente se ha mezclado el síndrome de Sézary con la "variante eritrodérmica de la MF", sin embargo recientemente se ha tratado de delimitar ambas entidades considerando incluso que su patogenia puede ser distinta. Se ha observado que biológicamente el síndrome de Sézary está causado por la presencia de células T neoplásicas de tipo "linfocitos memoria" cuyo fenotipo de interleuquinas es Th2; sin embargo las células de la MF derivan de linfocitos efectores de la piel y al menos en los estadios iniciales demuestran tener un fenotipo TH1 efector, aunque luego pueden evolucionar a Th2 [41]

Los hallazgos histopatológicos del SS pueden ser similares a los de la MF pero típicamente no son diagnósticos y a veces son poco característicos [42], el epidermotropismo tan característico de la MF, no siempre está presente. Suelen verse en dermis células atípicas linfocitarias con núcleo característico cerebriforme. En sangre periférica pueden verse células de Sézary con el núcleo irregular, polilobulado, e indentado. Las células expresan CD3, CD2, TCR Beta en su mayoría. Pueden expresar CD5, PD1, CD27, CLA y CCR4 [5], y suelen perder CD7 y CD26 lo que permite identificarlas entre los CD4 no neoplásicos (positivos para estos marcadores) en la citometría de flujo.

La definición de SS ha ido cambiando durante los últimos años de modo que al principio no se utilizaban criterios moleculares en el diagnóstico de rutina, en nuestro estudio que tiene pacientes diagnosticados antes de 1989, otros posteriores y los últimos de 2004, empleamos el criterio de "afectación leucémica por células de Sézary" lo que supone un recuento en los frotis de 1000 células por microlitro o en los casos en que estuviera disponible la evidencia molecular de clonalidad del receptor T (TCR) mediante PCR o Southern-Blot, tal y como ha sido definido después equivaldría al estadio T4N0-3M0-1B2 [23]

#### V.4.3. VARIANTES DE PRESENTACIÓN CLÍNICOPATOLÓGICA NO CONSIDERADAS POR LA OMS

La MF es una gran simuladora y puede manifestarse con un amplio abanico de formas clínicas, cada una de ellas tiene algunas peculiaridades histológicas. Vamos a comentar solo algunas de las más frecuentes que son además las variantes que ocasionalmente presentaron algunos de los pacientes de nuestra serie.

##### V.4.3.1. Hipopigmentada

Es una variante rara que supone sólo el 3% del total de MF [37]. Las manchas y placas tienen bordes irregulares, son descamativas y con ligero picor y característicamente se encuentran hipopigmentadas [36]. Pueden alternarse estas lesiones con las de placa y mancha de MF clásica. Suele tener curso lento y tan buen pronóstico como la MF clásica. Es más frecuente en pacientes de piel oscura, pero a veces se da en caucásicos aunque en éstos es más difícil el diagnóstico y puede que muchos casos no se diagnostiquen. Es una variante que afecta más frecuentemente a niños, (el 20% de las MF hipopigmentadas son niños, a pesar de lo raro que es la MF clásica en edad pediátrica). La histología es similar a la de MF clásica, excepto porque suelen ser CD8+ [43]. La hipopigmentación se cree que es secundaria a cambios en la producción de melanina más que a una destrucción de melanocitos. Tras el tratamiento a veces la piel alrededor de los folículos se repigmenta [43].

##### V.4.3.2. Hiperpigmentada

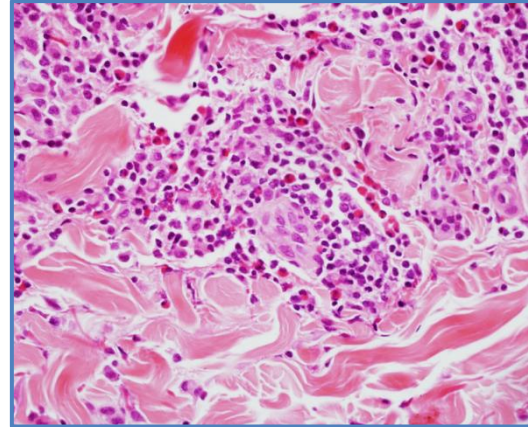
También existen casos de MF hiperpigmentada con presentación en estadios de mancha y placa. La mayoría de estos casos son también CD8+, aunque se han descrito casos CD8-CD4- y casos CD8- y CD4+ [44]. La mayor parte de pacientes suelen ser de raza negra (Figura 11). Histológicamente presenta lesiones de MF en la unión dermoepidérmica asociadas a presencia de melanófagos en dermis.

##### V.4.3.3. Siringotrópica

Es una forma rara de presentación de MF que a veces se ha llamado "MF siringotrópica con alopecia". Se caracteriza por parches rojo-parduzcos, placas ligeramente infiltradas con aspecto descamativo, o pequeñas pápulas del color de la piel o a veces eritematosas. Suelen tener alopecia y anhidrosis (en el 70% y en el 30% respectivamente) [37]. Suele afectar a hombres y a veces son lesiones solitarias que pueden encontrarse en cualquier localización. La histopatología muestra linfocitos atípicos de núcleos cerebriformes permeando alrededor de las glándulas ecrinas en dermis y en la salida de los ductos ecrinos en epidermis, de modo que producen a veces hiperplasia del conducto secretor ecrino. Aunque puede afectar también a los folículos, no suele presentar mucinosis folicular [35]) (Imagen histológica 17)



**Figura 11 Lesiones hiperpigmentadas.**  
Varón de raza negra



**Imagen histológica 17. Variante siringotrópica.**  
Afectación de un conducto ecrino

#### V.4.3.4. Poiquilodérmica

Afecta aproximadamente al 11% de los pacientes y se caracteriza clínicamente por áreas alternantes de hiperpigmentación, hipopigmentación y telangiectasias [36]. La presencia de piquilodermia focal puede verse en MF clásica sobre zonas de rozamiento o a veces parches y placas de larga evolución. La histopatología suele ser similar al a de la MF clásica en estadio de parche o placa.

A veces se encuentran imágenes de atrofia de la epidermis con pérdida de las crestas epidérmicas, vacuolización de la capa basal y en la dermis superficial fibrosis, melanófagos y telangiectasias superficiales. Existe una variante la llamada “poiquilodermia vascular atrófica” que reúne estas características de telangiectasias, despigmentación moteada, atrofia y ocurre típicamente en el tronco y flexuras. Suele relacionarse con la presencia en dermis de vasos capilares dilatados y macrófagos con melanina. Se observan abundantes linfocitos alrededor de los vasos y discreto epidermotropismo, pero no suele presentar microabcesos de Pautrier [45] Ver Figura 12.



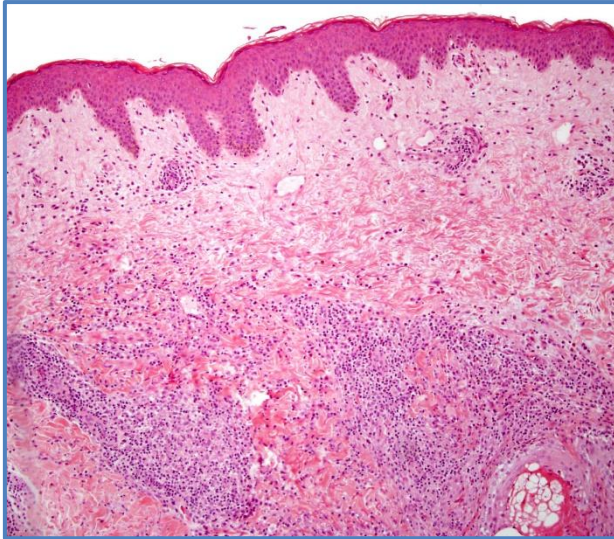
**Figura 12** Imagen de la región mamaria de una paciente con poikilodermia atrofia vascular

Se observan áreas hiperpigmentadas alternando en un patrón moteado con otras hipopigmentadas y con telangiectasias vasculares

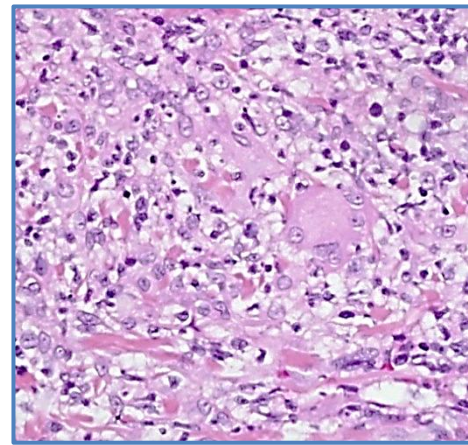
#### V.4.3.5. Granulomatosa

Se trata de una variante rara que a veces se parece a una dermatitis granulomatosa o al subtipo piel laxa granulomatosa. Sin embargo clínicamente los pacientes se presentan con parches o placas de MF clásica, a veces con piel algo atrófica.

Se caracteriza por presentar un infiltrado linfocitario que se mezcla con granulomas con células multinucleadas gigantes, se localiza predominantemente perivascular o perianexial en dermis y tejido celular subcutáneo, con mínimo epidermotropismo. Debe diferenciarse clínicamente de la piel laxa granulomatosa que tiene buen pronóstico mientras esta otra variante de MF es de peor pronóstico con una supervivencia a los 5 años del 66% [39]( Imagen histológica 18 ).



**Imagen histológica 18. MF granulomatosa.** El infiltrado se localiza característicamente perianexial y perivascular. Incluye, además de las células neoplásicas un infiltrado acompañante mixto con células gigantes. HE 100x



**Imagen histológica 18b. MF granulomatosa.** Aumento del infiltrado con presencia de granulomas y células gigantes. HE 400x

#### V.4.3.6. Micosis fungoide d'emblée

Fue nombrada por primera vez por Vidal y Brocq en 1885 [46]. El término se aplicaba al desarrollo rápido de tumores sin pasar por los estadios de mácula y placa. Hay muy escasas descripciones de casos que hayan progresado de forma extremadamente rápida desde placa a estadio tumoral, la mayoría de los casos descritos hasta ahora podrían ser en realidad linfomas de células grandes anaplásicos CD30 + o CD30 – . [47]. En la actualidad se considera que la MF démblée no es en realidad una MF , sino que se trata de casos de otro linfoma cutáneo más agresivo [47].

#### V.4.3.7. Micosis fungoide papular

Es una forma recientemente descrita de la que sólo existen una veintena de casos publicados hasta el momento en la literatura [48]. Corresponde a una forma de micosis fungoide incipiente que se presenta como pequeñas pápulas no pruriginosas, habitualmente en el tronco.

Se diferencia clínicamente de la micosis fungoide clásica en la que los primeros estadios corresponden a máculas o manchas levemente eritematosas. También se diferencia clínicamente de la papulosis linfomatoide en que las pápulas son persistentes en el tiempo y no tienden a desaparecer. Esta variante es por el momento CD30 negativa en los casos descritos y suele tener un buen pronóstico. Los casos descritos han respondido a corticoides con remisión completa con el primer tratamiento, aunque con recidiva de algunos de ellos que requirieron tratamiento con UVB [49].

#### V.4.3.8. Micosis fungoide solitaria

Se trata de una rara variante clínica descrita en el año 1981, pero con menos de 150 casos publicados en la literatura [50], [51], se caracteriza por presentar una única lesión con características clínicas e histológicas idénticas a las de la micosis fungoide clásica pero de forma muy localizada.

Habitualmente los casos descritos han tenido buen pronóstico, con remisión completa en casi todos ellos. De entre los casos descritos, alrededor de 15 de ellos son de tipo MF unilesional foliculotrópica, aún más infrecuente. La mayoría remisiones tuvieron remisión completa tras tratamiento, ya sea radioterapia localizada o excisión, salvo contadas excepciones como los dos casos publicados recientemente por Kempf et al, que evolucionaron a transformación en células grandes y estadio tumoral respectivamente [52].

### V.5. POSIBILIDADES DE TRATAMIENTO

En el momento actual hay una amplia gama de posibles tratamientos que se aplican según el estadio AJCC y que por el momento rara vez son curativos.

En **estadios iniciales** suele emplearse **terapias dirigidas directamente a la piel** [53]:

- Esteroides tópicos
- Mostaza nitrogenada (NH<sub>2</sub>, mecloretamina tópica)
- Retinoides tópicos (bexaroteno en gel)
- Carmustina (quimioterapia tópica con bichlorethylnitrosourea (BCNU))
- Radioterapia :
  - RDT : Radioterapia superficial localizada
  - TSEB ( Total skin Electron Beam Therapy). Irradiación corporal total
- Fototerapia:
  - PUVA (longitudes de onda de 320-400nm)
  - UVB (de banda ancha 290-320 nm o de banda estrecha 311nm)
- Nuevas terapias : imiquimod, Tazaroteno ( Tabla 4 )Tabla 4 Tratamientos tópicos adicionales no de uso habitual [53]:

En **estadios avanzados** suelen emplearse fármacos sistémicos [27]

- Fármacos modificadores de la respuesta biológica:
  - Interferón alfa (IFN alfa)
  - Retinoides sistémicos. Isotretinoína, acitrtino
  - Rexinoides : bexaroteno
  - Inhibidores de la Histona deacetilasa [54]
- Inmunoterapia
  - Denileukin-diftitox (proteína de fusión)
  - Alemtuzumab (anticuerpo anti CD52)
  - Brentuximan vedotina (anti CD30 inmunotoxina, en ensayos clínicos)

- Quimioterapia.
  - Metotrexate
  - Gemcitabina
  - CHOP (Ciclofosfamida, doxorubicina , vincristina y prednisona)
  - Doxorubicina liposomal pegilada
  - Clorambucil
  - Análogos de las purinas (fludarabina, 2-clorodeoxiadenosina, etc)
- Trasplante autólogo de progenitores hematopoiéticos de médula ósea (peor respuesta que en alogénicos)
- Transplante alogénico de progenitores hematopoiéticos de médula ósea (más efectos secundarios que el autólogo)
- Otros en ensayos clínicos

## V.6. CARACTERÍSTICAS MOLECULARES DE MF/SS

La patogenia y las vías moleculares de los mecanismos de oncogénesis de la MF y el SS aún no se conocen. Por ello tuvimos que hacer una búsqueda exhaustiva en la literatura de las posibles vías moleculares que pudieran tener implicación en el desarrollo de la MF y por tanto en su evolución. Las hipótesis más recientes apuntan a que un mecanismo inflamatorio inicial podría desregularse por un fallo en los mecanismos de apoptosis. Se han escrito algunos artículos muy recientes que describen como están alteradas las vías moleculares de apoptosis que incluyen bcl-2, Fas (CD95) , y p53 [55] [56] [57].

Sin embargo pocas alteraciones se han encontrado en las vías de proliferación que incluyen los oncogenes c-myc y ras (48). Para que la inflamación inicial actúe como precursor de la génesis de un tumor de linfocitos T deben darse condiciones de activación de los linfocitos, por lo que estudiamos también la expresión de marcadores de activación de linfocitos T (CD25) , así como marcadores de maduración y diferenciación (CD3, CD4, CD5, CD8, CD7, TIA 1). Finalmente algunas de las moléculas estudiadas corresponden a proteínas con función en la comunicación de los linfocitos T con su “microambiente” y mecanismos de activación celular en respuesta a la inflamación (FOXP3, PD1, CD54) [58] [59] [60] [61] [62]

### V.6.1. MARCADORES DE DIFERENCIACIÓN DE LOS LINFOCITOS T

El uso de marcadores inmunohistoquímicos para el diagnóstico de los subtipos de linfomas está ampliamente extendido. Se basa en el hecho de que los subtipos de linfomas expresan marcadores correspondientes a las distintas etapas de la diferenciación del linfocito. De aquí se postula que la pérdida de marcadores de diferenciación podría tener también asociación pronóstica [63].

Las células de la MF habitualmente expresan marcadores de linfocitos de estirpe T con fenotipo cooperador “helper”: **CD2, CD3, CD4, CD5, TCRβ y CD45RO**. La mayoría de las MF son CD4+ y solo una minoría muestran fenotipo citotóxico detectado por la presencia del marcador CD8+ y ausencia de CD4 (linfocitos maduros citotóxicos). Ambos son glicoproteínas de membrana expresadas en linfocitos maduros. Solo una minoría de las MF son CD4 y CD8 negativas [64]. Realizamos el análisis de estos marcadores en estudio multivariante y para ambos combinados en un análisis bivariante tratando de ver si la pérdida de los marcadores de diferenciación de linfocito maduro podían tener asociación pronóstica.

Entre las características de las células neoplásicas se encuentra la alteración de la expresión de determinadas proteínas de la estirpe T madura como CD2, CD3, CD5 y CD7, que pueden ser positivos o negativos al comienzo de la enfermedad y en algunos casos se ha visto que se negativizan durante el transcurso de la misma [5], [35] [65]. Esto puede ayudar a diferenciar en los infiltrados reactivos las células T acompañantes de la inflamación de una verdadera neoplasia tipo MF. La negativización de estos marcadores es variable y hasta el momento no ha habido muchos estudios de seguimiento a largo plazo de pacientes que relacionen el fenotipo de las células T con la evolución de los pacientes, por ello hemos incluido estos marcadores en nuestro estudio, con la esperanza de que la negativización tenga un significado biológico que se relacione con diferencias en la evolución (Gráfico 1).

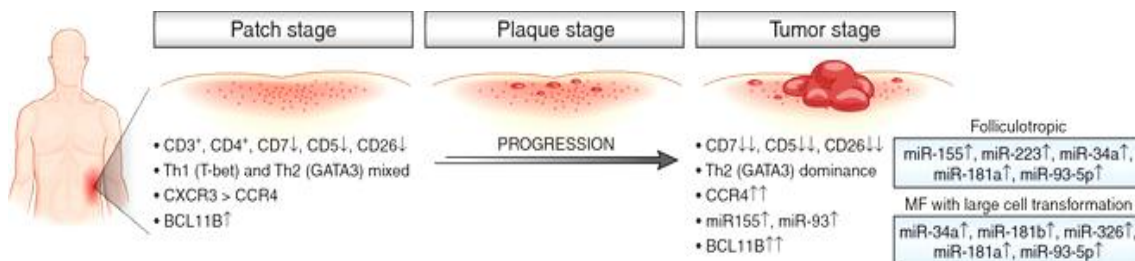


Gráfico 1. Expresión fenotípica de los linfocitos a lo largo de la evolución de la MF/SS Modificado de: M Furue et al *The Journal of Dermatology* 2015 Vol ( 42)10,pages 941-944

Las células neoplásicas expresan también el antígeno de superficie **TCL-1**. Se trata de una molécula normalmente expresada en linfocitos T inmaduros CD4-CD8, pero no en estados posteriores de diferenciación. Su función es favorecer la supervivencia celular, funciona como un coactivador de la quinasa de supervivencia celular AKT. En células T normales se expresa en células CD4-/CD8-, en estadios premadurativos pero no en células en estados posteriores de diferenciación. La sobreexpresión de este gen se ha relacionado con el desarrollo de leucemia de células T maduras, de ahí su nombre (T-cell leukemia 1) [66]. Tratamos de ver si la expresión de este antígeno puede tener relación con la aparición de clones especialmente agresivos que determinen más rápida progresión y por tanto peor supervivencia [67].

## V.6.2. RECEPTOR DE CÉLULAS T (TCR)

Casi siempre puede detectarse un reordenamiento clonal de los genes del receptor de las células T (TCR). Esto en sangre periférica conduce a una peor inmunidad ya que se pierde la diversidad normal del TCR. Si el mismo clon de TCR reordenado, se mantiene en biopsias sucesivas se asocia a mal pronóstico [68]. La presencia de un reordenamiento clonal por sí mismo es inespecífico, puede ser una ayuda al diagnóstico de MF pero también aparece en infiltrados linfocitarios no neoplásicos, aunque con menos frecuencia. Este reordenamiento clonal suele detectarse mediante técnicas de PCR en tejido tumoral. Nosotros no hemos incluido este análisis en nuestro estudio, hemos limitado nuestro campo de investigación a parámetros histológicos e inmunohistoquímicos valorables por un patólogo con un microscopio óptico sin técnicas adicionales. Nos pareció que añadir este factor pronóstico a nuestro estudio inicial tendría una limitación importante porque utilizamos muestras con escasa cantidad de tejido tumoral por ser la primera biopsia diagnóstica y estar la mayoría de los pacientes en fases muy iniciales de su enfermedad, además incrementaría los costes y la complejidad de la realización del proyecto ya que hemos utilizado muestras completas para hacer macromatrices.

Sin embargo tenemos la posibilidad de estudiar de otra forma el receptor de células T. Valoramos mediante inmunohistoquímica la expresión de TCRB1, una de las proteínas de membrana que se expresan cuando el receptor ha reordenado sus cadenas Beta y posiciona los subtipos alfa-beta de modo que somos capaces de detectar la proteína B1. La gran mayoría de las MF muestran reordenamiento Beta y subtipo de receptor  $\beta\alpha$  (beta-alfa). Sólo un pequeño porcentaje reordenan gamma y persisten con esta cadena gamma en la membrana, que en lugar de unirse a beta se une a delta, estableciendo el subtipo de receptor  $\delta\gamma$ . [69]. En el momento del estudio no disponíamos de anticuerpo contra el receptor TCR gamma (no comercializado), pero podíamos detectar cuales de nuestros casos no expresaban TCRB1 y ver si ese cambio en el subtipo de receptor podía asociarse al pronóstico (Gráfico 2).

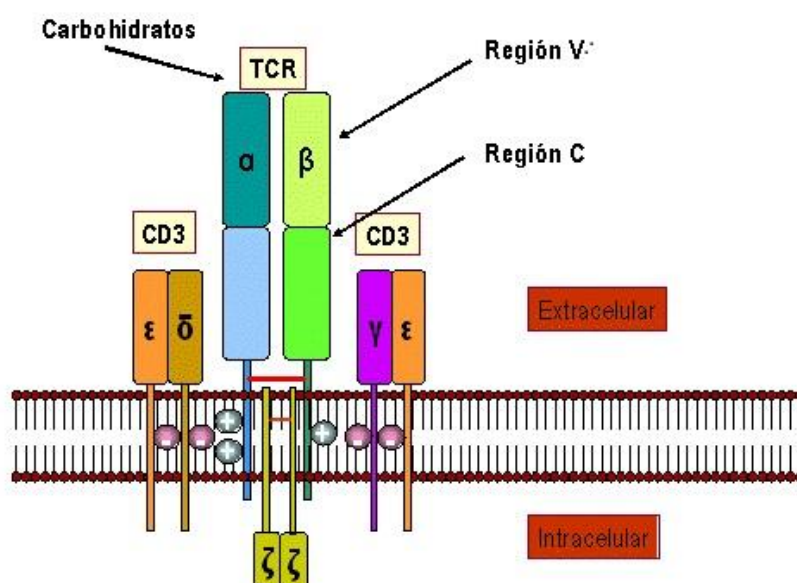


Gráfico 2. Estructura del complejo receptor TCR. Modificado de Kanehisa laboratorios. <http://www.kanehisa.jp/>

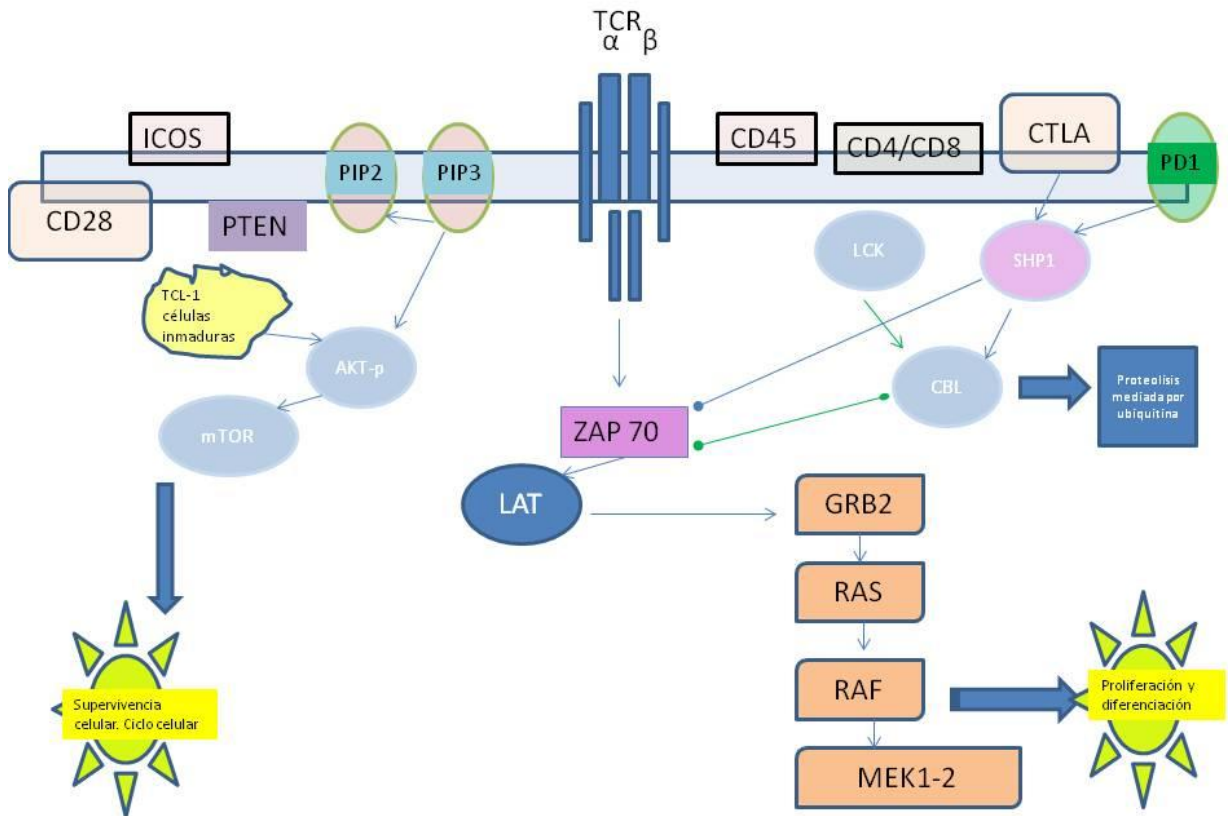


Gráfico 3. Vías de activación del complejo del receptor TCR-CD3. Modificado de Kanehisa laboratorios. <http://www.kanehisa.jp/>

### V.6.3. MARCADORES IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DE LAS VÍAS DE APOPTOSIS:

Elegimos las proteínas bcl2 y FAS (CD95) en función de la revisión de la literatura. A pesar de que el mecanismo de alteración en la regulación de la apoptosis se ha sugerido como una de las posibles vías patogénicas de la enfermedad, las moléculas que según estudios previos podían tener implicación en el pronóstico y estar alteradas en MF fueron las dos escogidas, ya que sobre otras proteínas como p53 no se ha demostrado asociación con el pronóstico [70]. Sin embargo en series cortas de pacientes se ha visto alteración en la expresión de bcl-2 en varios tipos de linfomas cutáneos [71] con asociación pronóstica. Siguiendo los criterios de seleccionar las variables [72] y no aumentar el estudio, lo que dificultaría su factibilidad, no escogimos todas las posibles moléculas implicadas en las vías de apoptosis, solo las más probablemente asociadas a variaciones en respuesta a tratamiento, progresión o supervivencia.

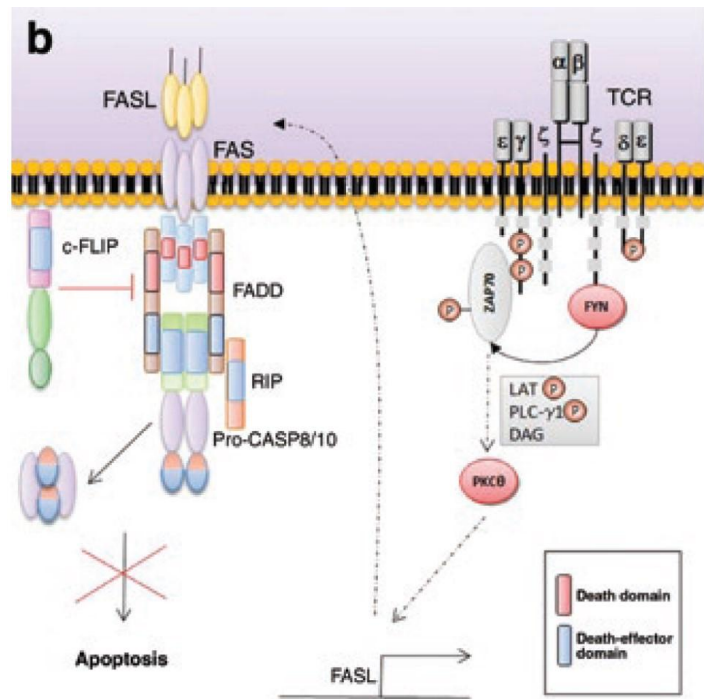
### V.6.3.1. Factor antiapoptosis bcl2

BCL2 es una proteína integral de la membrana interna de la mitocondria. Tradicionalmente se descubrió su función antiapoptótica, de modo que la sobreexpresión de este gen bloquea la muerte por apoptosis de la línea celular en que esté sobreexpresada. Este es el mecanismo de acción común a muchos linfomas B, cuya sobreexpresión de bcl2 viene dada por la translocación t(14;18) o a veces por una trisomía 18. Se están desarrollando fármacos que utilizan bcl2 como diana terapéutica para bloquear este proceso [73].

En los linfomas T cutáneos parece seguir otras vías [71]. Bcl2 se expresa constitucionalmente en los linfocitos T, como una molécula de superficie. Se ha visto que algunos linfomas de estirpe T pierden bcl-2 y aunque por el momento no se utiliza como factor pronóstico, es útil para apoyar el diagnóstico en casos dudosos de neoplasias T [71].

### V.6.3.2. CD95 (FAS)

Es un receptor de superficie llamado “de muerte celular” FAS, miembro 6 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral, antígeno de apoptosis APT1 y antígeno de superficie APO1. CD95 es una proteína transmembrana similar a otros receptores de superficie de la familia de receptores del factor de necrosis tumoral, que provocan la inducción de apoptosis y fenómenos de autoproteólisis mediados por caspasas. Se han descrito casos de micosis fungoide en que el gen FAS se encontraba mutado en las células tumorales aisladas desde la microdissección de los microabcesos de Pautrier, esta mutación podría dar lugar a una inactivación de la apoptosis que condujera a una supervivencia desmesurada que podría estar implicada en la patogenia de estos tumores [74]. Además estudios de linfomas cutáneos mediante técnicas de citometría de flujo tanto en sangre periférica como en muestras de piel, han demostrado un descenso de CD95 y su ligando, lo que postula que en la patogenia de la enfermedad pudiera estar implicado un déficit de actividad de los mecanismos normales de apoptosis [75].



**Gráfico 4. Vías de inducción de apoptosis e inhibición de la misma. Interacciones de Fas, Zap 70 y TCR.**  
Modificado de Piris et al Journal of Invest Dermatol 2010

#### V.6.4. MARCADORES IMPLICADOS EN LA REGULACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA Y LA ACTIVACIÓN DE LOS LINFOCITOS T EN RESPUESTA A ESTÍMULOS DEL "MICROAMBIENTE"

##### V.6.4.1. CD25 (receptor de Ile2)

(Cadena alfa del receptor de interleukina 2, IL2RA, receptor del factor de crecimiento de células T, TCGFR, antígeno TAC). Subunidad del receptor de Interleukina 2. El gen IL2RA codifica la subunidad alfa del receptor de superficie celular de la molécula que actúa como factor de crecimiento de células T (Ile2). Tiene un papel vital en el mantenimiento del sistema inmune. Se expresa constitutivamente en las células T reguladoras y está implicado en la expansión de células T y la tolerancia inmune. CD 25 contribuye solo a la afinidad de unión de IL2, no al reclutamiento de las moléculas de señalización. Además de en células T, CD25 se encuentra en células B activadas, en algunos timocitos, oligodendrocitos etc [76].

Su mecanismo de acción comienza cuando las células T maduras encuentran el antígeno lo unen a un complejo constituido por CD3 y el receptor TCR, en ese momento se activan a inmunoblastos T, que son células con mayor capacidad proliferativa y se consideran "activadas" morfológicamente, muestran núcleos de mayor tamaño, con nucléolos prominentes y comienzan a expresar el marcador CD25 [63], es por ello que hemos incluido el estudio de este marcador de activación de linfocitos T en el estudio como posible factor pronóstico, algunos autores lo han relacionado con estadios más avanzados de MF [77]. En MF se ha visto asociado como único factor pronóstico en análisis multivariante a la transformación en células grandes [78]. También se ha visto que se expresa más en las células de los linfomas

cutáneos procedentes de epidermis que si las células neoplásicas proceden de un ganglio infiltrado por lo que se postula que pueden tener relación con el epidermotropismo [79]

#### **V.6.4.2. PD1 (muerte celular programada 1, PDCD).**

El gen PDCD1 codifica un receptor de superficie celular miembro de la familia de receptores CTLA-1/CD28, de la superfamilia B7 y se encuentra implicada en inmunomodulación [80]. PD1 actúa inhibiendo la respuesta inmune tras interactuar con sus ligandos PDL1 y PDL2. Se ha visto que las células neoplásicas evaden las respuestas inmunes sobreexpresando este factor inhibidor y sus ligandos. Es conocido en la literatura la asociación de una mayor incidencia de tumores a la alteración de la inmunidad, esto se ha descrito tanto en transplantados [81] [82] [83] como en inmunosuprimidos de otras causas [84]. También se ha encontrado una mayor incidencia de enfermedades autoinmunes en los ratones con déficit de expresión de PD1 [85]. Hasta el momento apenas se ha estudiado la relación de las alteraciones de la respuesta inmune en las que participan las alteraciones de PD1 en relación a micosis fungoide aunque sí con otros tumores. Se ha visto sobreexpresado en las células neoplásicas y en las células reactivas del microambiente tumoral [86]. Ya se están desarrollando moléculas antiPD1 que están en ensayos clínicos en diversos tumores como melanoma, linfoma de Hodgkin, linfoma folicular y linfoma difuso de células grandes. Si consiguiéramos demostrar asociación con un peor pronóstico o sobreexpresión en MF y SS podría plantearse aplicar estos fármacos que bloquean selectivamente PD1 a estos pacientes también. En MF se ha visto que las células expresan PD1 en menor grado que en síndrome de Sèzary. Recientemente Samimi encontró que había una disminución de la expresión de PD1 tras el tratamiento de los SS, lo que plantea de la hipótesis de que tenga influencia en la respuesta a distintos tipos de tratamiento [87].

#### **V.6.4.3. FOXP3 (Forkhead box P3, Scurfin, JM2).**

FOXP3 es un miembro de la familia de factores transcripcionales “fork-winged helix” con un importante papel en el desarrollo y función de las células T reguladoras CD4+/CD25+. Estas células T están implicadas en la supresión activa de respuestas inmunitarias inapropiadas. La sobreexpresión de este gen se ha comprobado en determinados tumores relacionándose con una inhibición de la respuesta inmune antitumoral. Así mismo un déficit de actividad de FOXP3 podría estar relacionado con determinadas enfermedades autoinmunes como la enfermedad de Graves (tiroiditis autoinmune) [88].

Paralelamente, se ha observado en MF que según va evolucionando la enfermedad a estadios más avanzados los pacientes se hacen más inmunosuprimidos por un mecanismo aún no bien conocido. Se postula si la expresión de marcadores de inmunoregulación como FOXP3 podría estar implicada. Algunos autores han encontrado que FOXP3 se expresa en las células de la MF cuando estas adquieren un fenotipo más agresivo (T regulador), ya que originalmente se considera que las células T CD4 positivas de la MF muestran un fenotipo Th1 (efector) que según evolucionan a estadios más avanzados puede ser Th2 (efector) aunque parece que estos cambios de fenotipo son complejos y podrían ser reversibles [89](Véase Gráfico 1).

#### V.6.4.4. CD123 (receptor alfa de interleukina 3, IL3RA).

El receptor para la interleukina 3 (IL3) es una molécula característicamente expresada en las células dendríticas de estirpe linfoide. Son las que estimulan la respuesta de linfocitos TH2 y la secreción de IFN alfa. Estudios previos han encontrado que algunos casos de MF con evolución a síndrome de Sézary tenían disminución de esta molécula en sangre periférica reflejando una alteración de la respuesta inmune [90], esta alteración inmunitaria actúa mediante un mecanismo de restricción de la inmunidad celular que secundariamente da lugar a los déficits de IFN gamma y de Il-2 [91]. Nosotros tratamos de identificar si había una disminución en la expresión de CD123 o en el número de células dendríticas acompañantes marcadas con esta proteína.

#### V.6.4.5. CD54 (I-CAM1)

Molécula de adhesión intercelular 1, (ICAM1, antígeno de superficie de células activadas). CD54 es una molécula transmembrana de superficie, ligando para los antígenos asociados a la activación de los linfocitos y por tanto mediador de la activación de la respuesta inmune.

Su función es permitir la comunicación de la célula con la matriz extracelular. Además, estas moléculas están implicadas en procesos fisiológicos variados como la embriogénesis, hematopoyesis, homeostasis ,etc y es un receptor del rinovirus humano [92]. Tiene una función primordial para inicial la respuesta inmune en conjunción con otras moléculas de adhesión como ICAM-3 y el ligando LFA-1. Además se ha visto implicada en la regulación del tráfico de linfocitos desde la sangre hacia los órganos linfoides o hacia las zonas donde debe acudir la inflamación [91].

Estudios previos han visto que estas moléculas se expresan en los linfocitos dependiendo de su maduración y activación y son por tanto posibles candidatos a ser predictores de la evolución de los linfomas. La mayor parte de estos estudios se han hecho en linfomas de tipo B que suelen expresar esta molécula , aunque con diferencias entre los de bajo grado y alto grado [93].

Algunos autores han encontrado que en sangre periférica de pacientes con MF y otros linfomas T cutáneos había aun incremento de moléculas de adhesión, incluida ICAM-1 cuando se comparaba con dermatosis o sujetos sanos [94]. En MF y linfomas cutáneos esto es especialmente relevante ya que se trata de una neoplasia que se cree, comienza en base a una respuesta inmune alterada. Se manifiesta por un marcado epidermotropismo que podría estar en relación a las moléculas de adhesión [95]. Característicamente la MF en sus estadios más avanzados pierde ese epidermotropismo, es interesante analizar si esto tiene un correlato con la expresión de CD54 en las células neoplásicas. Además se ha descrito que los linfomas epidermotropos tienen una sobreexpresión de CD54 en la epidermis, se postula que este fuera un marcador de la fase epidermotropa de algunos linfomas como la MF [96].

## V.6.5. MOLÉCULAS DE ACTIVACIÓN LINFOIDE

### V.6.5.1. CD30

(Miembro número 8 de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral, TNFRSF8, antígeno de activación linfoide CD30). CD30 es una glicoproteína de cadena simple, procesada en el complejo de Golgi hasta quedar en forma de una glicoproteína madura de 105/120 kilodalton. En tinción inmunohistoquímica el antígeno CD30/Ki-1 se expresa tanto en membrana, como en gota paranuclear (en el Golgi) en los linfomas.

Su función es estimular la activación de la expresión de proteínas nucleares. En los linfocitos, mediante su unión a las proteínas receptoras del factor de necrosis tumoral (TRAF2 y TRAF5) y la posterior inducción del factor nuclear kappa-B [97].

CD30 se ha encontrado expresado en células tumorales linfoides en el linfoma anaplásico de células grandes. En el linfoma de Hodgkin se expresa en las células Reed-Sternberg y sirve para diagnóstico del linfoma de Hodgkin clásico. Además se ha encontrado en otros tumores no linfoides como el carcinoma embrionario, pero con un patrón sólo membranoso. Se encuentra expresado también en algunas células linfocitarias tanto B como T no neoplásicas.

CD30 es la diana para el tratamiento con el nuevo anticuerpo monoclonal antitumoral Brentuximab Vedotin (Adcetris), se está utilizando en numerosos linfomas tanto B como T, de momento en ensayos clínicos, pero que parecen muy alentadores. Es importante saber si en nuestros pacientes había una expresión relevante de esta molécula y si estaba en relación al pronóstico, su relevancia es especialmente importante si tenemos en cuenta que es una posible diana terapéutica.

### V.6.5.2. ZAP-70

(Proteína quinasa asociada a la cadena zeta, proteína tirosina quinasa ZAP70, SRK). La familia de proteínas tirosina quinasa juega un papel integral en la activación de las células T. La estimulación del receptor de las células T conduce a la fosforilación de varios sustratos celulares. Uno de estos sustratos es ZAP 70 que está en relación con la cadena zeta del TCR, que media la transducción de los estímulos extracelulares en funciones efectoras dentro de la célula. El mecanismo implica una cascada de activación desde el complejo receptor TCR-CD3 que es fosforilado. Posteriormente se fosforila ZAP70 (proteína tirosina quinasa de la familia Syk9), esto desencadena un serie de eventos “cascada abajo” que culminan en la regulación de la proliferación e interaccionan con los mecanismos de muerte celular programada [98] (ver gráfico 3) El gen ZAP70 se expresa en células T y en células “natural killer”. La expresión de ZAP70 se utiliza como factor de pronóstico en la identificación de distintas formas de leucemia linfocítica crónica [99].

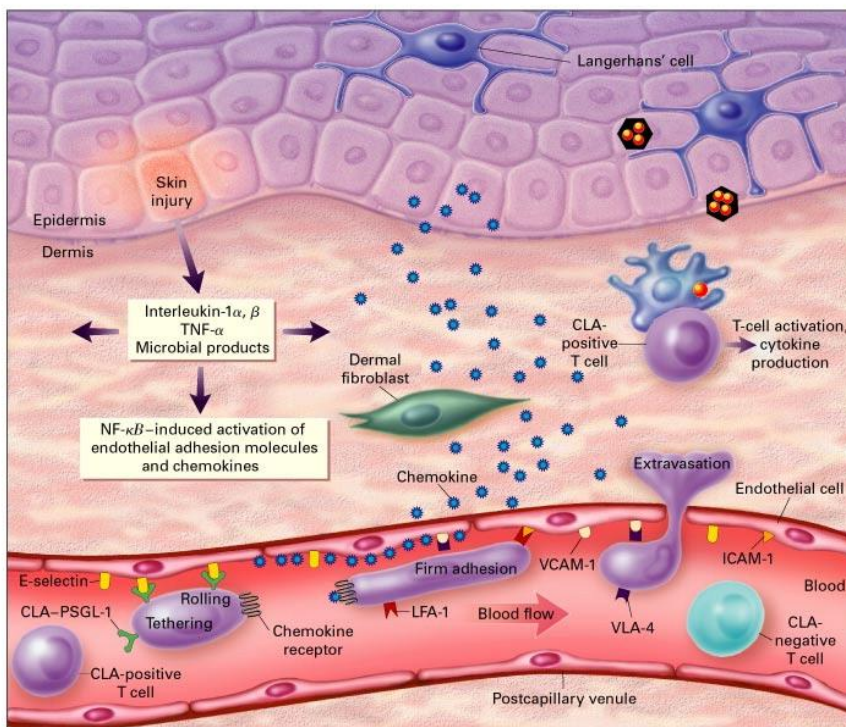
## V.6.6. ACTIVACIÓN NUCLEAR

### V.6.6.1. $\text{IK}\beta\alpha$

(Inhibidor del factor nuclear de la cadena ligera kappa, KB). El factor nuclear de la cadena ligera kappa se une a REL para formar el complejo NFKB. Este complejo está inhibido por las proteínas **I-kappa-B** que inactivan NFKB atrapándolo en el citoplasma.

En condiciones fisiológicas, IKB inhibe la activación de NFKB. Cuando la proteína I-kappa-B se fosforila, esto conduce a su degradación por la ruta de ubiquitinización, permitiendo la activación del complejo NFKB, su translocación al núcleo y su papel en la inducción génica y la activación celular. Esta inducción génica produce la activación de múltiples moléculas entre ellas las de adhesión (ICAM, VCAM y LFA) que permiten a los linfocitos circulantes ralentizar su velocidad y permear los capilares para acercarse al tejido cuando se produce el estímulo inflamatorio (Gráfico 5) La inflamación mediada por NF-KB en piel es muy importante en la inmunidad innata y facilita la respuesta inmune adaptativa [100]. Estudios previos en MF han encontrado que la inhibición de NF-KB conduce a apoptosis, por tanto la inhibición de esta proteína o la activación de IKB, su inhibidor constitucional podrían ser un posible tratamiento de los linfomas T cutáneos [101]. Se ha desarrollado el fármaco Bortezomib (anticuerpo monoclonal) que se está probando en ensayos clínicos de linfomas cutáneos T para inhibir la degradación de IKB e impedir actuar a NFKB.

**Gráfico 5 Mecanismos de activación y reclutamiento de los linfocitos CD4 durante la inflamación** Tomado de Kupper et al. *New Engl J Med* [87]



#### V.6.7. REGULADORES DEL CICLO CELULAR

##### V.6.7.1. p16.

(*Inhibidor 2A de la quinasa dependiente de ciclina CDKN2A, rinhibidor CDK4, supresor 1 de tumor multiple MTS1, TP16, INK4*). **p16 (gen CDKN2A)** el gen de esta proteína, codifica proteínas que regulan dos rutas reguladoras críticas en el ciclo celular, la ruta del p53 y la ruta del Retinoblastoma RB1. Usando marcos de lectura alternativos, el mismo gen CDKN2A produce dos proteínas, p16 que es un inhibidor de quinasa dependiente de ciclina y p14 (ARF) que se une a la proteína estabilizadora de p53 MDM2. Mutaciones en CDKN2A con alteración de la expresión de p16 se han identificado en numerosos cánceres [102] ; como el adenocarcinoma pancreático, melanoma, cáncer de pulmón, cáncer esofágico o carcinoma de células escamosas [103]. Silencios del gen mediante fenómenos de metilación del promotor también se asocian a la patología de tumores. Se utiliza como biomarcador pronóstico de numerosos tipos de cánceres mediante inmunohistoquímica. En MF nuestro grupo encontró que existían diferencias en la expresión de p16 entre los grupos de MF en situación estable en comparación con los pacientes que tenían MF agresivas , siendo mayor el porcentaje de silencios del gen en las MF agresivas [104]

#### V.6.8. REGULADOR DE LA SEÑALIZACIÓN

##### V.6.8.1. MAL

(Proteína de línea mieloide y linfocitos, proteína asociada a la maduración y diferenciación de células T). MAL es una proteína transmembrana asociada a microdominios de membrana en linfocitos T o “balsas de membrana” áreas de distinta composición que parecen “flotar” en la membrana celular. Es una molécula muy hidrófoba y liposoluble que se utiliza para la extracción de lípidos orgánicos. Se encuentra en células T maduras pero no se expresa en sus precursores, habiéndose sugerido que juega un papel modulando la función de esos microdominios durante la diferenciación de células T [105].

Estudios previos realizados por el presente grupo de investigación en cultivos de células tumorales derivadas de pacientes con Micosis Fungoide resistentes a tratamiento y comparados con líneas celulares sensibles han podido demostrar que tan solo 39 genes eran diferentes en ambas líneas (6 genes sobreexpresados y 33 genes reprimidos) , de entre ellos el gen sobreexpresado de manera más evidente fue el gen MAL. Este gen fue capaz de predecir in vivo la respuesta al tratamiento de un grupo de 20 pacientes que participaban en el ensayo clínico de Micosis Fungoide M99 [106]La serie más larga hasta el momento , en muestras humanas, es de 60 pacientes y ha sido realizada mediante el análisis con el ONCOCHIP CNIO en un trabajo de nuestro grupo . El presente estudio, continuando las investigaciones del grupo de trabajo [107], ha incluido el estudio inmunohistoquímico de la proteína correspondiente al gen MAL con el análisis novedoso de considerarlo un factor pronóstico predictor de supervivencia y progresión , además de ser factor predictor de respuesta al tratamiento.

#### V.6.9. FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN

##### V.6.9.1. STAT 1

(Transductor de señal y activador de la transcripción 1). La ruta JAK/STAT es una compleja vía de señalización aguas abajo de los receptores de citoquinas (ver Gráfico 6) . Los STATs son proteínas citosólicas que forman dímeros. Tienen un dominio que funciona como receptor de citoquinas y un dominio de unión a DNA. STAT1 es clave en la transducción de señal a partir de los interferones de tipo I : IFN $\alpha$  e IFN $\beta$  y del interferón de tipo II: IFN $\gamma$  . Después de la estimulación con IFN $\gamma$ , STAT1 se fosforila y homodimeriza, formando el factor de activación gamma (GAF) que se trasloca al núcleo e induce la transcripción de los genes regulados por IFN $\gamma$ .

La estimulación por IFN $\alpha$  o IFN $\beta$  produce varias moléculas activadoras , incluyendo GAF y un heterotrímero formado por STAT1, STAT2 y p48 denominado factor gamma 3 estimulado por interferón (ISGF3). Ver gráfico 6.

La alteración en la regulación de la vía STAT se ha visto implicada en la patogenia de diversos tipos de cancer , incluidos los linfomas cutáneos [108].

### V.6.9.2. STAT3

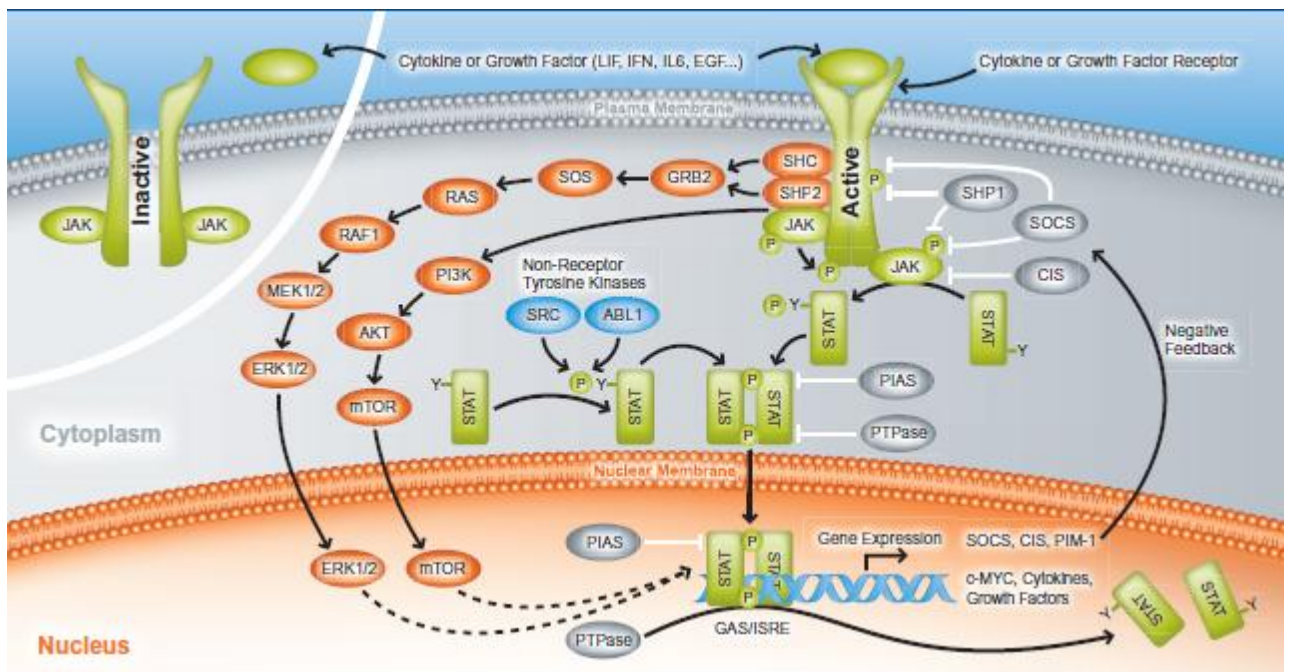
(Transductor de señal y activador de la transcripción 3, factor de respuesta de fase aguda APRF). STAT3 es un factor de transcripción citoplásmico latente que se activa rápidamente por fosforilación en respuesta a interleukina-5, interleukina-6, factor de crecimiento epidérmico, factor inhibitorio de leucemia, oncostatina M, interleukina-11 y factor neurotrófico ciliar. Una vez activado se dirige al núcleo donde genera la respuesta a estas interleukinas. La activación constitutiva de STAT3 se asocia a varios tipos de neoplasias. Tiene efectos proliferativos y antiapoptóticos. Con lo que se ha relacionado con un curso más agresivo. Estudios previos han encontrado asociación entre la expresión proteica y genética de determinados marcadores moleculares: Signal Transducer and activator of transcription 1 y 3 (STAT1) (STAT3), SOCS, IFN $\gamma$  y MAL y la resistencia al tratamiento con psoraleno e irradiación ultravioleta A (PUVA) o PUVA + Interferon- $\alpha$  en series cortas de pacientes [106]

### V.6.9.3. STAT4

(Transductor de señal y activador de la transcripción 4). STAT4 es otra proteína de señalización que se fosforila en respuesta a interleukina-12 y es esencial para la transducción de señal a partir de IL12. La inmunidad mediada por células depende de la producción de IL12 en macrófagos y células dendríticas, que provoca la secreción de IFN $\gamma$  en células “natural killer” y conduce a la activación de células Th1. Ver esquema de las vías JAK/STAT Gráfico 6. STAT4 es fundamental para la maduración de las células Th1, sin STAT4 se produce un cambio de fenotipo hacia Th2, al menos en células malignas ([109]

**Gráfico 6. Activación de la expresión nuclear desde la vía JAK/STAT**

Tomado de *abcam.com*



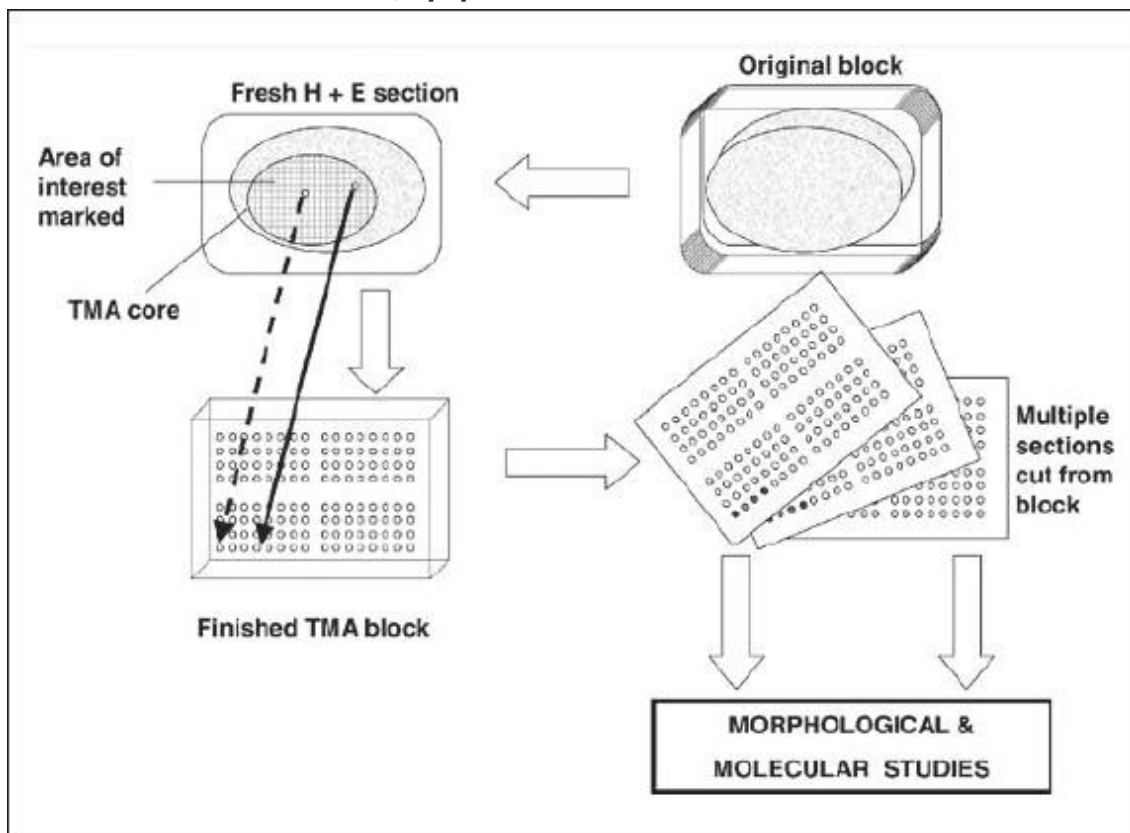
## V.7. POSIBILIDADES TÉCNICAS. MATRICES TISULARES “ARRAYS”

### V.7.1. MATRICES DE BIOPSIAS CUTÁNEAS COMPLETAS: MACROMATRICES DE PIEL (SKIN MACROARRAYS)

Para optimizar la eficiencia de los estudios con múltiples marcadores inmunohistoquímicos se han desarrollado métodos inteligentes de construcción de “matrices tisulares” con una técnica originalmente descrita por Battifora [110] y validada en múltiples estudios [111]. El procedimiento consiste en extraer un cilindro de tejido tumoral de cada espécimen a analizar, pudiendo incluir decenas de especímenes que se posicionarán geométricamente en un único nuevo bloque “matriz tisular (microarray)” (ver Gráfico 7)

#### Gráfico 7 issue Microarray: A rapidly evolving diagnostic and research tool

Tomado de Jawhar et al. Tissue Microarray: A rapidly evolving diagnostic and research tool. *Annals of Saudi Medicine*. 2009;29[89]:123-127



Este procedimiento tiene múltiples ventajas:

Abaratamiento de costes económicos, de tiempo y materiales: permite el estudio de 100 casos (100 cores) con un solo corte histológico, permite optimizar el gasto de tiempo y material.

Con una pequeña alícuota de anticuerpo primario y secundario se consigue realizar la técnica, con lo que se abaratan mucho los costes

Uniformidad experimental: Al cortar una única lámina donde van alojados los 100 casos permite que todos ellos se procesen de forma homogénea, tienen las mismas condiciones de incubación, desenmascaramiento antigénico y proceso para recibir al anticuerpo durante la inmunotinción y por tanto se disminuyen algunos posibles errores de la técnica.

También tiene algunas limitaciones descritas por los propios autores que han validado la técnica. La limitación más frecuente, que condiciona a la mayor parte de los tumores es la heterogeneidad tumoral. Existe la posibilidad de que el tumor muestre heterogeneidad tanto en su expresión proteica, cuando se trata de matrices tisulares para estudio de proteínas como en su expresión genética, ya que también se han utilizado para estudio de hibridación in situ [113]. Pero existe otra limitación, que resultaba muy importante para nuestro estudio, que es la escasez de células neoplásicas en algunos tumores. Esta dificultad es muy importante en los casos de micosis fungoide y afecta especialmente a nuestro estudio por tratarse de micosis fungoide en estadios iniciales la mayor parte de los casos. De hecho un gran número de casos contenían poca carga tumoral en las biopsias cutáneas, lo que hubiera hecho muy difícil el estudio mediante "microarrays, es decir seleccionando un cilindro (core) de 1mm para incluirlo en el nuevo bloque construido.

Por ello, para solventar esta dificultad hemos desarrollado una variante novedosa del método de "matrices tisulares" la hemos llamado "SKIN MACROARRAYS" o "macromatrices de piel". Se detalla en el apartado material y métodos.

Esencialmente consiste en optimizar la eficiencia construyendo "bloques receptores" con al menos muestras de piel, pero en lugar de utilizar sólo un core, utilizar la muestra entera de piel para tener suficiente representatividad del tumor y de su microambiente con posibilidad de estudio de epidermis y dermis. Es un método laborioso pero que un técnico instruido puede llevar a cabo sin demasiados costes. (Puede verse en material y métodos el detalle del proceso).

Con este procedimiento conseguimos ventajas en nuestro experimento:

1. *Abaratar los costes* de modo que para el estudio de 91 casos solo tuvimos que hacer seis laminillas para cada anticuerpo (solo consumimos una pequeña alícuota de cada anticuerpo), permite reducir el tiempo de corte y de procesamiento.
2. *Uniformidad experimental*. Nos aseguramos semejantes condiciones de preparación, incubación y revelado, al menos para cada una de las laminillas (teníamos al menos 20 casos en que sabíamos que había uniformidad experimental)

3. *Representatividad del tumor.* Este método tiene la gran ventaja de poder valorar la biopsia cutánea completa y valorar las zonas de epidermis y dermis de forma independiente. Disponer de todo el tejido para valorar el tumor y también su microambiente.

**Tabla 3 Resumen de marcadores implicados en el pronóstico de MF**

PROTEÍNA		FUNCIONES EN LA CÉLULA
<b>Marcadores de diferenciación linfocitaria</b>		
	CD3	Marcador del complejo de unión al receptor de células T ( TCR). Aparece en linfocitos T maduros e inmaduros
	CD4	Linfocitos T maduros con diferenciación “helper”
	CD8	Linfocitos T maduros citotóxicos
	CD2	Molécula de adhesión. Tiñe linfocitos T y células NK. Es el primer marcador T que se expresa en las T inmaduras. Ligando de CD 58
	CD5	Marcador de células T maduras. Se pierde en algunos linfomas y se expresa en linfomas B de bajo grado.
	CD7	Marcador de células T y Natural Killer, normales, se pierde en algunos linfomas, incluida MF
<b>Activación linfoide</b>		
	CD30	Llamado también Ki-1 Regula el crecimiento celular y la transformación en linfoblastos activados. Receptor de citocinas
	ZAP70	Tirosin kinasa asociada al receptor de células T que interviene en la cascada de activación de la células T
<b>Apoptosis</b>		
	Bcl_2	Inhibidor de la apoptosis. Se expresa para que no haya apoptosis en los linfocitos normales
	CD95	Receptor de superficie de células B y T activadas. Activador de la apoptosis
<b>Microambiente y regulación de la activación</b>		
	PD1	Miembro de la superfamilia de las rimmunoglobulin, que tiene un papel regulador de la respuesta inmune. Cuando se sobreexpresa junto con sus ligandos PDL1 y PDL2, baja la activación inmune
	CD25	Subunidad del receptor de interleukina 2. Regulación de la respuesta inmune
	FOXP-3	Regula la activacion de celulas T. Reprime la transcripción. Inmunomodulador. Se expresa en células T reguladoras
	CD123	Receptor de interleuquinas expresado en linfocitos B y células dendríticas y negativo en linfocitos T. Valorar la alteración de los reguladores de la inmunidad
	CD54	Glicoproteina de membrana implicada en la adhesión (I-CAM)
<b>Receptor de células T</b>		
	TCRβF1	Molécula que se une a la cadena beta del receptor de las celulas T. Recibe los antígenos que activarán las células T.
<b>Oncogen</b>		
	TCL-1	Protooncogen del cromosoma 14q Normalmente expresado en celulas T inmaduras, asociado a leucemias T.
<b>Ciclo celular</b>		
	p-16	Proteína supresor tumoral. Inhibe las ciclinas dependientes de kinasas, regula el ciclo de proliferación celular actuando sobre el núcleo.

PROTEÍNA		FUNCIONES EN LA CÉLULA
<b>Activación del núcleo</b>		
	IKBeta-alfa	Inhibidor del factor nuclear KB (NFkB) que tiene a su vez la función de regular la transcripción de genes en el núcleo que están implicados en la a respuesta inmune
<b>Señalización celular</b>		
	MAL	Regulador de las señales de trafico en la membrana celular. Presente en lineas T leucémicas
<b>Factores de transcripción</b>		
	STAT-1	Factor de transcripción . presente en citoplasma y núcleo de linfocitos y macrófagos. Se fosforila en respuesta a la estimulación por IFN y pasa al núcleo para activar transcripción
	STAT-4	Factor activador de la transcripción en respuesta a Interlekina 12
	STAT-3	Factor de transcripcion y activador de transcripción en rspuesta interleukinas (Ile5, Il6, EGFR)

**Tabla 4 Tratamientos tópicos adicionales no de uso habitual**

Tomado de *Nguyen CV, Bohjanen KA. Skin-Directed Therapies in Cutaneous T-Cell Lymphoma. Dermatol Clin. 2015 Oct; 33(4):683-96*

Tratamiento	Mecanismo de Acción	Evidencia de Uso	Efectos Adversos	Notas adicionales
<b>Methotrexate-laurocapram</b>	Disminuye la síntesis de ADN a través de la inhibición competitiva de la dihidrofolato reductasa. Laurocapram es un compuesto lipofílico	Un estudio retrospectivo publicado de 10 pacientes en estadio IA / IB con MF Nueve pacientes completaron el estudio 3 de 9 (33%) tenían Progresión. Ningún paciente tuvo Remisión completa	Prurito, sequedad, eritema	Los niveles séricos de metotrexato indetectable. Se ha demostrado ser eficaz en la psoriasis
<b>Inhibidores de la calcineurina</b>	Los inhibidores de Calcinerunina se une a ella y provocan la desfosforización del factor nuclear de las células T de activación, (NFκB) lo que lleva a una disminución de la activación de células T, disminución de la liberación de citoquinas, y regulación por disminución de los receptores de IgE	No hay estudios de evidencia. Un reporte de caso de un paciente de 29 años en fase parche MF que respondió a 0,1% pomada de tacrolimus	Ninguno conocido	El uso sistémico ha sido asociado con el aumento de incidencia de CTCL en pacientes inmunodeprimidos, aunque nunca documentado con la aplicación tópica
<b>Imiquimod</b>	Mediante la molécula TLR7 y por medio de mecanismos desconocidos conduce a la apoptosis celular	Un estudio abierto de 6 pacientes con estadio I bis-IIB MF, Progresaron 50% Reporte de un estudio de 4 pacientes con estadio I bis-IIB MF con RC (1 también en IFNα-2a) Estudio aislado (7 pacientes con estadio Ia-IIB MF) con RC	Reacciones cutáneas del eritema, prurito, disestesias y rara vez ulceración, sangrado, formación de costras	Estudio piloto no muestra RC clínica, pero tenía remisión histológica en el 50%. Cuando se utiliza en la región inguinal para las verrugas genitales pueden tener hasta 1% de absorción sistémica. MF como la histología después de tratar queratosis actínica con imiquimod

Abreviaturas: IFNα, interferón alfa; IgE, inmunoglobulina E; TLR7, Toll-like receptor 7; RC Remisión completa

***HIPÓTESIS***



## VI. HIPÓTESIS

### VI.1. HIPÓTESIS CONCEPTUAL:

Existen marcadores inmunohistoquímicos capaces de predecir la progresión de la enfermedad y la supervivencia de los pacientes con Micosis Fungoide.

### VI.2. HIPÓTESIS OPERATIVAS:

- Los pacientes con Micosis Fungoide que han presentado progresión de la enfermedad (definida como evolución de estadios iniciales: I, II, IIa; hacia estadios intermedios IIb, IIIa o avanzados IIIb, IVa,IVb) es previsible que tengan distinta expresión de proteínas en las muestras tomadas al inicio de la enfermedad que los pacientes que no han progresado .
- Los pacientes con Micosis Fungoide que tras al menos 5 años de seguimiento han evolucionado desfavorablemente y han muerto es previsible que tengan distinta expresión de proteínas en las muestras obtenidas al principio de su enfermedad e incluídas en parafina, con respecto a las muestras obtenidas e incluídas de igual forma de pacientes que, tras al menos 5 años de seguimiento, continúan vivos.



## ***OBJETIVOS***



## **VII. OBJETIVOS:**

### **VII.1. OBJETIVO PRINCIPAL :**

Determinar en muestras incluidas en parafina de pacientes con estadio inicial de Micosis Fungoide los marcadores capaces de predecir diferencias en la progresión de la enfermedad y la supervivencia.

Este objetivo se desarrolla en los siguientes objetivos concretos:

- Determinar las características histológicas y su relación con la progresión de la enfermedad y la supervivencia.
- Determinar las características inmunohistoquímicas y su relación con la progresión de la enfermedad y la supervivencia.

### **VII.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- Aportar conocimiento sobre posibles vías moleculares implicadas en la resistencia al tratamiento.
- Establecer una plataforma de matrices tisulares con material fijado en parafina para estudio inmunohistoquímico de micosis fungoide que permita estudiar nuevos marcadores inmunohistoquímicos en el futuro.



## ***MATERIAL Y MÉTODOS***



## VIII. MÉTODOS, PACIENTES Y MATERIALES

### VIII.1. DISEÑO DEL ESTUDIO:

Estudio de cohorte histórica (estudio retrospectivo) .

### VIII.2. SUJETOS DEL ESTUDIO:

Cohorte de 91 pacientes con MF establecida en el momento del estudio, con confirmación biopsica según criterios aceptados por la Internacional Society for Cutaneous Lymphoma [114] en cualquiera de los estadios (Tempranos : IA,IB, IIA; Intermedios: IIB, III, IVA; Avanzados: IVB). Deben cumplir los criterios de inclusión descritos a continuación.

Todos los pacientes han sido seleccionados del total de 270 pacientes con linfoma cutáneo T incluidos en la *Base de Datos de Linfomas cutáneos de células T* de la Unidad de Linfomas y Melanomas del Servicio de Dermatología del Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid, que recoge datos clínicos, histopatológicos, de tratamiento y evolución de los pacientes diagnosticados de linfoma cutáneo-T en los últimos 35 años. Una vez recogidos los datos fueron disociados para preservar el anonimato de los pacientes con un código numérico, solo posible de revertir por el investigador principal (doctorando).

#### VIII.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN DE PACIENTES:

- Pacientes diagnosticados de micosis fungoide con confirmación por los investigadores en el momento del estudio, según los criterios de la Internacional Society for Cutaneous Lymphoma, para lo cual se utilizó un algoritmo que incluye criterios clínicos, histopatológicos, inmunofenotípicos y moleculares (estudios de reordenamiento del receptor de células T) [114]
- Seguimiento de al menos 5 años desde el inicio de la enfermedad.
- La primera biopsia del paciente tras el inicio de los síntomas debe ser representativa. Debe disponerse de material en el biobanco. El diagnóstico inicialmente podía corresponder a Micosis Fungoide o bien tener un diagnóstico no concluyente, con lesiones sugestivas o sospechosas de Micosis Fungoide en estadios tempranos. Se incluyeron también as biopsias iniciales diagnosticadas de parapsoriasis, dermatitis psoriasiforme, dermatitis espongíptica, dermatitis liquenoide y lesiones inflamatorias inespecíficas que posteriormente fueron confirmadas como Micosis Fungoide durante el seguimiento, seleccionando la primera biopsia con rasgos histológicos suficientes para el diagnóstico de MF.

- Existencia de bloque de parafina de la biopsia inicial en el biobanco/archivo del departamento de Anatomía Patológica del Hospital 12 de Octubre, siendo todas las muestras anteriores al año 2007.

#### VIII.2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN DE PACIENTES:

- Ausencia de biopsia realizada en nuestro Hospital o de consentimiento adecuado a la legislación vigente
- Ausencia de seguimiento de al menos 5 años con conocimiento de la evolución, progresión de estadio, tratamiento y respuesta al mismo.
- Que no se disponga de material suficiente en el bloque de parafina de la biopsia inicial para realizar las matrices titulares.

### VIII.3. PROCEDIMIENTOS:

#### VIII.3.1. BASE DE DATOS CLÍNICOS:

Se utilizó el software FileMAkerPro8, con el diseño de una base de datos inicial, diseñada específicamente para los pacientes de MF. El acceso a la información dispone de un mecanismo de seguridad mediante contraseña, respetando la confidencialidad de los datos, la base de datos incluye el consentimiento informado de cada paciente. En esta base de datos se recogen la filiación, características clínicas incluyendo estadio en el momento del diagnóstico, fecha de progresión y de eventual muerte o parada del seguimiento, tratamientos y respuesta a los mismos y el diagnóstico histopatológico obtenido de los informes de biopsia. Esta parte del estudio precisó el trabajo en equipo multidisciplinar que incluía a las dermatólogas (Dra Leticia Ortiz e Isabel Polo Rodríguez) que colaboraron recogiendo las variables clínicas desde las historias de los pacientes, tanto de historias físicas en papel, como de las historias digitalizadas de la intranet.

Se precisó actualizar los datos del seguimiento según sucedían nuevas consultas y mediante datos indirectos o llamadas telefónicas, cuando fue necesario por no haber acudido a consulta el paciente en mucho tiempo. La mayor parte de pacientes correspondían al área 11 de las Áreas de Salud de la comunidad de Madrid (descritas en El Decreto 187/1998, de 5 de noviembre, (BOCM núm. 275, de 19 de noviembre) , por ser los pacientes seleccionados de entre los diagnosticados entre 1976 hasta 2007, previos a la ley de libertad de elección en la Sanidad de Madrid ( Ley 6/2009) que organiza el territorio de la comunidad de Madrid en un Área Sanitaria única. Sólo algunos pacientes procedían de otras comunidades autónomas por ser el Hospital Universitario Doce de Octubre un hospital de referencia (alta complejidad) y recibir los servicios de dermatología y Anatomía Patológica multitud de casos consulta o pacientes derivados desde otros hospitales.

La base de datos se encuentra en la Unidad de Linfomas y Melanomas del Servicio de Dermatología del hospital Doce de Octubre y solo es accesible para el personal médico autorizado que trata a estos pacientes de forma habitual. En el momento actual es una fuente de datos útiles que puede ser aprovechada además de en este estudio, en futuras investigaciones.

### VIII.3.2. CLASIFICACIÓN EN ESTADIO

Utilizamos la clasificación en estadios (Bunn 1979) [22] que divide las fases de evolución de la micosis fungoide en estadios: IA, IB, IIA, IIB, III, IVA, IVB e incluye la situación de afectación sanguínea (B) como una variable aparte pero también recogida en el estudio.

Bunn and lambert system	Clinical findings	Tumor-node-metastasis stage
IA	<10% BSA patch/plaque	T1 N0
IB	>10% BSA patch/plaque	T2 N0
IIA	Patch or plaque with palpable nodes without histological involvement	T1/2 N1
IIB	Cutaneous tumours with or without palpable nodes	T3 N0/1
III	Erythroderma with or without palpable nodes	T4 N0/1
IVA	Non-palpable or palpable nodes with histological involvement	T-any N2/3
IVB	Visceral involvement	T-any N-any M1

**Tabla 5. Esquema de la clasificación de Bunn (1979)**

Tomado de *Vijaya Sajjan, Manisha Chandela, Ashok Maharudrayya Pandit, Basavapurada Manjunathswamy. 2015 Our dermatology on line 2015 1-18. Más detallado en Anexo 1 y 2*

Cataloga:

- B0 =<5% de células malignas circulantes
- B1 <5% de células malignas circulantes

Posteriormente a esta clasificación han surgido algunas variaciones, la clasificación más actual data de 2007 (ver anexo 3 y 4). No varía la catalogación de las T en T1, T2, T3 y T4, pero propone subcatalogar **T1a** si solo manchas y **T1b** si también placas, y lo mismo para **T2**.

Respecto a la N, continúa con las categorías : N0,N1, N2, N3, pero subdivide **N1a** y **N1b** según exista o no clonalidad en un estudio molecular. Lo mismo ocurre con N2a y N2b (según clonalidad con técnicas de PCR o Southern Blot)

Respecto a la M , continúan las categorías M0, M1, Mx. Sin cambios relevantes.

En B; se mantienen las categorías B0, B1 y se añade la categoría **B2** cuando la afectación es por >1000 células de Sezary por microlitro. También se subdivide **B1a Y B1b** según se detecte o no un clon en sangre periférica con técnicas moleculares.

Los estadios que se añaden son :

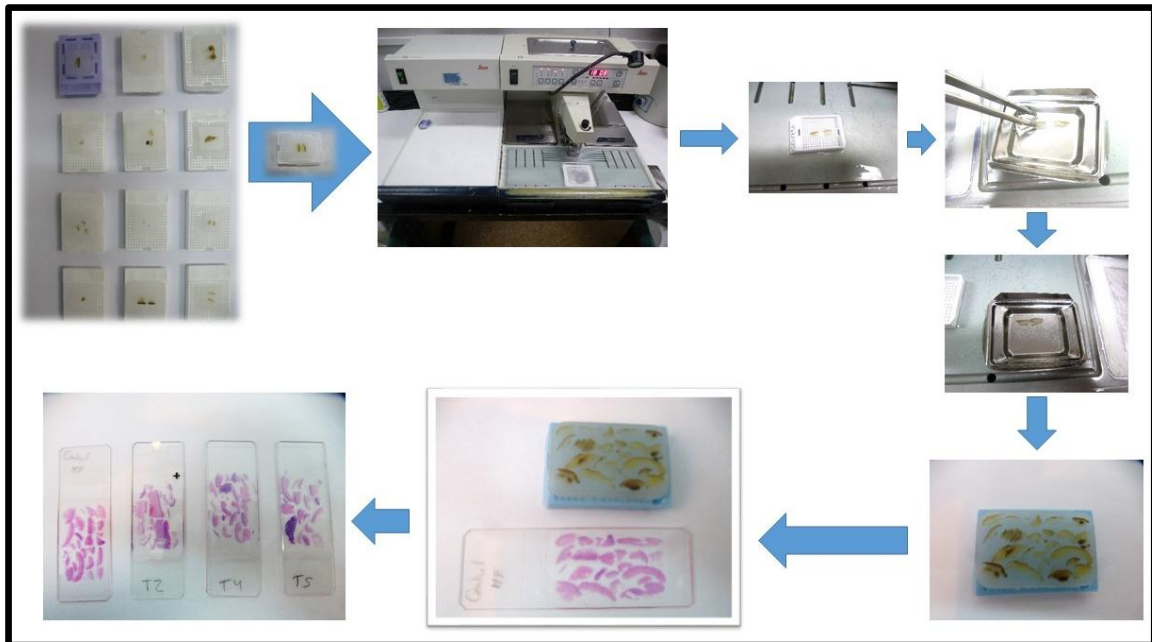
- Se subdivide III en IIIA y IIIB según la afectación de sangre periférica B0 o B1.
- Se subdivide IVA en IVA1 y IVA2 según la afectación ganglionar sea N1-2 o N3

Que es la que se aplicó a nuestros sujetos en el momento de su diagnóstico, ya que llevan un gran tiempo de evolución y su estadiaje se hizo en el momento del diagnóstico. (Ver anexos 1 y 2).

### VIII.3.3. SELECCIÓN DE MUESTRAS Y ELABORACIÓN DE MACROARRAYS

#### MATRICES DE BIOPSIAS CUTÁNEAS COMPLETAS: **MACROMATRICES DE PIEL** (skin macroarrays)

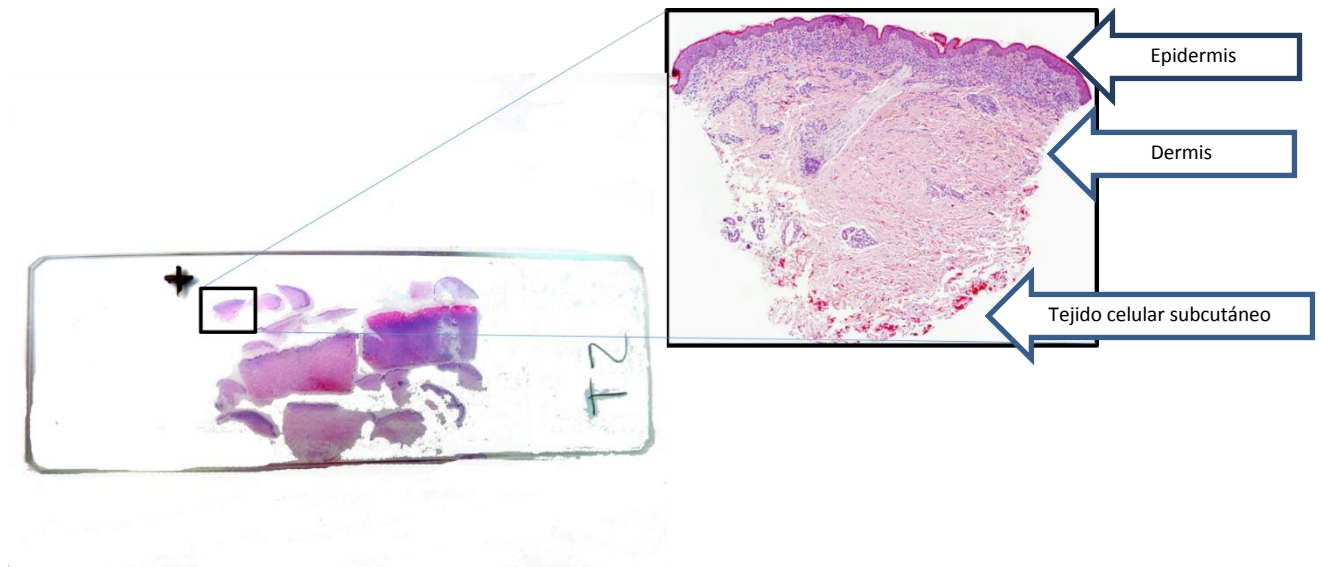
Para optimizar la eficiencia de los estudios con múltiples marcadores inmunohistoquímicos se han desarrollado métodos inteligentes de construcción de “matrices tisulares” con una técnica originalmente descrita por Battifora [115] y validada en múltiples estudios [116] [117]. Que como decíamos en la introducción hemos modificado para resolver las desventajas o limitaciones de los anteriores métodos de confección de “microarrays”.



**Figura 13. Procedimiento para realizar manualmente el montaje de las “macromatrices de piel” (macroarrays de piel).**

Se deshacen con calor los bloques seleccionados para constituir una macromatriz. Se colocan cuidadosamente en un molde ancho, teniendo la precaución de que la epidermis quede orientada hacia arriba y tratando de obtener una posición lineal, con la limitación de la distinta morfología de las muestras, para lo cual adaptamos el diseño de las posiciones tratando de optimizar el espacio. Los cortes histológicos obtenidos son como los que se muestran en la foto, al final de la cadena de flechas, cada uno contenía alrededor de 20 especímenes cutáneos completos.

Por ello, para solventar esta dificultad hemos desarrollado una variante novedosa del método de “matrices tisulares” lo hemos llamado “SKIN MACROARRAYS” o “macromatrices de piel”.



**Figura 14** Imagen del aspecto de las preparaciones histológicas que incluyen hasta 22 casos.

El método consiste en desmontar (con calor) el bloque de parafina donde se aloja la biopsia cutánea inicial (“punch” circular de 3-4mm o cuña de entre 5-9 mm). Colocar cuidadosamente la biopsia en un nuevo molde , e ir añadiendo a distancias de entre 0,5 y 0,8 mm , el resto casos, acoplándolos de forma lineal, tratando de hacer líneas homogéneas que incluyan el mayor número de casos posibles. Con nuestras biopsias conseguimos una media de entre 19 y 22 casos en cada “MACROMATRIZ DE PIEL” , además de incluir un control de tejido amigdalino y otro de ganglio linfático (obtenidos mediante core de 1-2mm según las técnicas descritas para microarrays [115], [118] ). Una vez alineadas las muestras se embeben en la parafina que soporta el nuevo bloque. Nuestro procedimiento consiguió que en solo 5 bloques de parafina estuvieran contenidas las 91 muestras de nuestra serie de pacientes.

Con este procedimiento conseguimos ventajas en nuestro experimento:

- *Abaratar los costes* de modo que para el estudio de 91 casos solo tuvimos que hacer seis laminillas para cada anticuerpo (solo consumimos una pequeña alícuota de cada anticuerpo), el tiempo de corte y procesamiento es menor.
- *Uniformidad experimental*. Nos aseguramos semejantes condiciones de preparación , incubación y revelado, al menos para cada una de las laminillas ( teníamos al menos 20 casos en que sabíamos que había uniformidad experimental)

- *Representatividad del tumor.* Aunque no se consigue tanta eficiencia en ahorro de costes, para nuestros casos esto se compensó con la gran ventaja de poder valorar la biopsia cutánea completa, valorar las zonas de epidermis y dermis de forma independiente. Disponer de todo el tejido para valorar el tumor y también su microambiente.

#### VIII.3.4. TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS

**TINCIONES** Se realizaron cortes histológicos de 3 micras de los nuevos bloques tipo matriz tisular (macroarrays) (cada uno de aproximadamente 20 casos más los controles), sobre las laminillas obtenidas se hicieron en primer lugar tinciones de hematoxilina-eosina para valorar la calidad de las preparaciones y del material. Estas laminillas iniciales se utilizaron posteriormente para valorar los parámetros histológicos (tabla 4).

Posteriormente se realizaron otras 25 secciones de 3 micras de cada una, de las seis matrices tisulares. Posteriormente se realizó la inmunotinción con los diferentes anticuerpos (tabla 5). Las secciones se colocaron sobre portaobjetos con capacidad adhesiva para tinción inmunohistoquímica (DAKO), se calentaron en estufa de calor seco a 56 grados durante una noche. Se desparafinaron en xilol 20 minutos y siguieron un proceso de rehidratación en concentraciones decrecientes de etanol (100%, 95%, 70%) y finalmente se lavaron en agua destilada.

El desenmascaramiento antigénico se realizó mediante calor (en olla a presión). Hirviendo las preparaciones durante dos minutos en un litro de tampón citrato sódico (10 mM, PH6,5) o EDTA 1mM ph 8.0. Posteriormente se bloqueó la actividad de la peroxidasa endógena con la solución específica para este enzima comercializada por Dako. Se estudiaron 25 anticuerpos primarios cuyos clones y diluciones se expresan en la tabla 8. Después de incubar el anticuerpo primario se utilizaron dos sistemas de visualización principales LSAB (Dako, Glostrup, Denmark) (un anticuerpo secundario biotinilado forma un complejo con moléculas de estreptavidina conjugada con peroxidasa) y Novolink (Novocastra) (utiliza el polímero Novolink en lugar del complejo estreptavidina-biotina, también se vale de la actividad de la peroxidasa para activar el cromógeno-sustrato). Ambos sistemas se valen del sustrato-cromógeno 3,3'-diaminobencidina(DAB) (tinción de color marrón en la zona de antígeno). Para los controles negativos se omitieron los anticuerpos primarios. La contratinción se realizó en todos los casos con hematoxilina (Figura 15).

**VISUALIZACIÓN** Las preparaciones fueron revisadas por el doctorando tras entrenamiento previo. Se realizó un control de calidad con la revisión por parte de un segundo patólogo (Dr Rodríguez Peralto) de una de las 6 preparaciones (que contenían aproximadamente 20 casos cada una) disponibles para cada anticuerpo, consiguiéndose un grado de concordancia del 95% entre los dos patólogos (índice kappa 0.95).

En las macromatrices de piel construídas, no era posible incluir casos duplicados como en otros procedimientos con microarrays, esta limitación se solventa con la ventaja de disponer de la biopsia completa.

El análisis fue semicuantitativo. Se valoró intensidad y porcentaje de células positivas (ausencia de tinción, tinción débil, normal o intensa comparando con el control interno de linfocitos no neoplásicos presentes en el tejido). Como criterio general los puntos de corte se seleccionaron considerando los datos publicados en estudios previos [119] , en aquellos casos en los que existían artículos con distintos puntos de corte , en aras de aumentar las posibilidades de encontrar un punto de corte óptimo, se estimaron al inicio tres niveles de respuesta que determinaron las tres categorías siguientes:

- 0. Negativo (las células positivas son menos o igual al 5% del total de células neoplásicas)
- 1. Positivo débil (entre 5 y 30% de células neoplásicas positivas)
- 2. Positivo intenso (mayor del 30% de células neoplásicas positivas)

Posteriormente según el significado biológico, la reproductibilidad y los resultados obtenidos, se realizó el análisis estadístico agrupando los valores en sólo dos categorías, para aumentar la potencia estadística. Lo cual supone sumar las categorías: bien 0+1 (negativo y positividad menor del 30%, lo que daría un punto de corte en 30% para definir positivo) o bien 1+2( positivo débil y positivo intenso, lo que daría un punto de corte en 5% , para definir positivo) , la agrupación de las categorías quedó definida para cada marcador tal y como se expone en la Tabla 8.

La mayor parte de marcadores presentaban expresión citoplásmica, con lo que se consideró positiva esta tinción, pero los marcadores como STAT-1 que presentan tinción nuclear cuando la proteína está activada, fueron valorados tanto en citoplasma como en núcleo y recogidos los datos como distintas variables. Otros marcadores como ki67, p16, TIA-1, FOXP-3 se valoraron en su expresión nuclear.

#### VIII.4. VARIABLES A CONSIDERAR

##### VIII.4.1. VARIABLES DEPENDIENTES (DETERMINADAS)

- **1. Supervivencia global (SG):** definida como el tiempo de seguimiento hasta la muerte por cualquier causa. Para ello se recogieron las fechas de muerte y pérdidas de seguimiento por otras causas. Se calculó el tiempo respecto a la fecha de diagnóstico y se hizo otro análisis calculando la supervivencia desde la fecha de inicio de los síntomas\*.

- **2. Supervivencia respecto a muerte por enfermedad (SE):** definida como el tiempo de seguimiento hasta la muerte por enfermedad. Se utilizó la fecha de muerte por enfermedad y las pérdidas de seguimiento o muerte por otras causas se consideraron otra categoría. Se hizo un doble análisis desde la fecha de diagnóstico y desde la fecha de inicio de los síntomas.
- **3. Progresión :** definida como el tiempo de seguimiento desde el diagnóstico hasta el momento en que ocurre la progresión que se considera cuando aparecen (criterios de consenso internacional [114])
  - Lesiones tumorales (T3)
  - Eritrodermia (T4)
  - Afectación ganglionar específica en adenopatías palpables (N3)
  - Metástasis/ afectación visceral (M1)
  - y/o se produce muerte por enfermedad (linfoma)

*\*La supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global fueron equivalentes para el grupo de riesgo de los estadios iniciales de micosis fungoide a la hora de determinar grupos pronósticos en los estudios previos publicados por Benton et al donde se determinó el Índice pronóstico Internacional para linfoma cutáneo (CLIPi)*

- **4. Remisión completa tras primer tratamiento: definida como la ausencia de lesiones tras el primer tratamiento fuera cual fuese.**

#### VIII.4.2.VARIABLES INDEPENDIENTES (DETERMINANTES)

##### A) Clínicas

##### 1. ESTADIO ( en el momento de diagnóstico)

**Pertinencia:** Imprescindible catalogar el estadio en el momento de diagnóstico para poderlo considerar como un factor pronóstico independiente y para estratificar a los pacientes , ya que estudios previos han encontrado diferencias significativas en los distintos estadios según la clasificación en estadios clásica [22] y posteriores como ISCL-EORTC [120]. Se utilizó además para realizar el análisis de los datos en función de grupos pronósticos.

**Tipo:** Cualitativa discreta:

- 1 Estadios temprano IA;
2. Estadio temprano IB;
- 3.Estadio temprano IIA;
4. Estadio avanzado IIB
5. Estadio avanzado III

6. Estadio avanzado IVA

7. Estadio Avanzado IV B

**Método** Se reevalúan las características clínicas recogidas en la Base de Datos del Servicio de Dermatología según los criterios aceptados en el momento de la inclusión de los pacientes en el estudio [121].

## 2. SEXO

**Pertinencia:** estudios previos han encontrado diferencias significativas en el pronóstico en función del sexo, siendo mayor el riesgo para los varones [20]. **Tipo:** Cualitativa dicotómica

## 3. EDAD

**Pertinencia:** parece bastante aceptado que la edad mayor de 60 años puede afectar al pronóstico de forma negativa. **Tipo:** cuantitativa

**Análisis:** para el análisis de los datos establecimos dos puntos de corte, uno en mayores de 60 años y otro en menores de 21 años, para ver diferencias el pronóstico en estos grupos de edad.

## 4. VARIANTES CLÍNICAS DE MF

**Pertinencia:** aunque se han descrito numerosos subtipos de MF, los únicos subtipos mencionados en las guías de la Organización Mundial de la Salud ([120]) son :

- Variante foliculotrópica
- Reticulosis pagetoide
- Piel laxa granulomatosa
- Síndrome de Sézary

## 5. TRATAMIENTO INICIAL

**Pertinencia:** existen estudios previos de resistencia a tratamientos determinados como el IFN, algunos de ellos llevados a cabo por nuestro grupo de investigación. Resulta interesante comprobar si el peor pronóstico asociado a uno de nuestros factores inmunohistoquímicos pudiera estar en relación a una peor respuesta a determinado tratamiento.

PRIMER TRATAMIENTO DESPUÉS DEL DIAGNÓSTICO	
1. Corticoides tópicos	7.BCNU
2. PUVA	8.Radioterapia
3. RePUVA	9.Quimioterapia
4. PUVA+ IFN- $\alpha$	10.Clorambucil + Prednisona
5. IFN- $\alpha$	11.Mostaza nitrogenada

**Tabla 6 Primer Tratamiento después del diagnóstico**

## B) Histopatológicas

**Pertinencia:** Clásicamente se han publicado variables histológicas con influencia tanto en el pronóstico (como índice proliferativo, transformación en células grandes , etc) [122] como utilidad diagnóstica, especialmente en estadios tempranos de micosis fungoide, cuando el diagnóstico diferencial con dermatitis atópica, parapsoriasis, reacciones a fármacos, etc, es más difícil de establecer.

**Tabla 7. Valoración de las variables histopatológicas**

VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS	Valoración
Linfocitos con halo perinuclear en la unión o en epidermis	0.Escasos; 1. Abundantes
Linfocitos en cadena en la unión dermo-epidérmica	0.Ausente; 1. Presentes
Epidermotropismo desproporcionado	0.Ausente; 1. Presente
Microabcesos de Pautrier	0.Ausente; 1. Presentes
Linfocitos atípicos en dermis de mayor tamaño que en epidermis	0.Ausente; 1. Presentes
Colágeno “en alambre” en dermis papilar	0.Ausente; 1. Presente
Atipia linfocitaria (menor de 25% de las células)	0.Leve; 1.Moderada; 2.intensa 3.TCG*
Actividad mitótica ( nº mitosis/10campos de gran aumento)	Bajo índice (menos de 5mitosis /10cga) Alto índice(>5mitosis/10 cga)
Espongiosis en epidermis	0.Ausente; 1. Presente
Afectación folicular focal	0.Ausente; 1. Presente
Foliculotropismo intenso (mayor que afectación en epidermis)	0.Ausente; 1. Presente
Infiltrado perivascular	0.Escaso; 1. Relevante
Densidad del infiltrado en dermis.	1.Leve; 2. Moderado; 3 intenso
Mucinosidad folicular	0.Ausente; 1. Presente

\*VALORACIÓN DE ATIPIA:

**Leve:** presencia de linfocitos con núcleos hipercrómicos de tamaño ligeramente mayor que los núcleos de los linfocitos normales y con cierta irregularidad (imagen 1)

**Moderada:** presencia de linfocitos de núcleos de tamaño entre el doble y cuatro veces el tamaño del núcleo de un linfocito normal , con irregularidad y/o aspecto cerebriforme (Imagen 2)

**Intensa:** linfocitos grandes, con núcleos también grandes más de 4 veces el tamaño del núcleo de un linfocito normal, con cromatina clara y nucléolo evidente o hipercrómicos, irregulares +/-aspecto anaplásico. Incluye TCG: Transformación a célula grande (>25% de células con tamaño grande y atipia marcada) (Imagen 3)

Imagen 1. Atipia leve

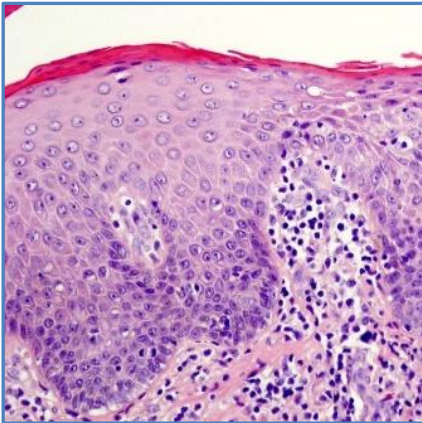


Imagen 2. Atipia moderada

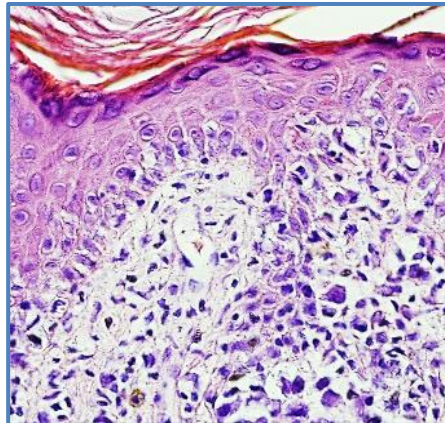
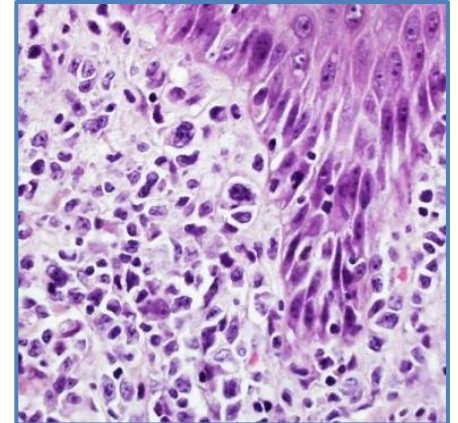


Imagen 3. Atipia Intensa



### C) INMUNOHISTOQUÍMICAS

**Pertinencia:** Existían estudios previos aún no corroborados de la posibilidad de que determinadas moléculas, ya sea su expresión o su negatividad puedan tener valor como predictores de pronóstico. Algunas habían sido descritas con valor en predecir supervivencia y progresión y otras como factores predictivos de respuesta a tratamiento, especialmente a Interferón [107] en estudios previos de nuestro grupo de investigación. Algunos de estos estudios preliminares se habían realizado en muestras de cultivos celulares, y ahora han sido valorados en muestras procedentes de pacientes.

**Tabla 8 Antisueros y categorías (puntos de corte)**

Antisuero	DILUCION	MARCA	Visualización	CLON	Reactividad	Punto de corte tras agrupar *
CD3	1:200	dako	LSAB	poliDako	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
Cd4	1:3	Master diagnostica	Novolink	4B12	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
CD8	1:25	Dako	LSAB	C8144B	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
CD2	1:300	Novocastra	Novolink	AB75	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
CD5	1:200	Novocastra	Novolink	4C7	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
CD7	1:25	Novocastra	Novolink	272	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
CD30	1:01	CNIO	Novolink	6DG5	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
CD54	1:25	Novocastra	LSAB	23G12	Pos/neg	>5% céls.positivas
FOXP3	1:1	CNIO	LSAB	206D7G7	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
TCRBF1	1:50	Endogen	LSAB	8ª3	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
TCL-1	1:100	Cell-Signaling	LSAB	4042	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
Bcl-2	1:25	Dako	LSAB	1214	Pos/neg	≥ 30% céls. positivas
TIA1	1:2	Master diagnostica	LSAB	2G9	Pos/neg	>5% céls.positivas
Ki-67	1:100	Dako	LSAB	MIB1	Alto/bajo	≥15% céls. positivas
Ikba	1:500	Cell signaling	LSAB	5	Pos/neg	>5% céls.positivas

Antisuero	DILUCION	MARCA	Visualización	CLON	Reactividad	Punto de corte tras agrupar *
ZAP-70	1:50	Lab vision. Thermo Fisher	Novolink	2F3.2	Pos/neg	$\geq 30\%$ céls. positivas
CD25	1:125	Novocastra	Novolink	C9	Pos/neg	$\geq 30\%$ céls. positivas
CD95	1:50	Novocastra	Novolink	M30	Pos/neg	$\geq 30\%$ céls. positivas
STAT-1	1:25	Santa Cruz	Novolink	C136	Pos/neg	>30% céls.positivas (se valoró tinción nuclea y citoplásmicar)
P 16	1:200	Santa cruz	LSAB	F12	Pos/neg	$\geq 30\%$ céls. positivas
MAL	1:500	Miguel A Alonso	LSAB	6D9	Pos/neg	$\geq 30\%$ céls. positivas
STAT4	1:50	Santa cruz	LSAB	policlonal	Pos/neg	$\geq 30\%$ céls. positivas (se valoró tinción nuclear y citoplásmica)
STAT3	1.250	Santa cruz	LSAB	F-2	Pos/neg	$\geq 30\%$ céls. positivas (se valoró tinción nuclear y citoplásmica)
CD123	1:25	Ebioscience	LSAB	6H6	Pos/neg	>5% céls.positivas valorado en acompañantes de epidermis
PD1	1:2	CNIO monoclonal	Novolink	NAT 105	Pos/neg	>10% céls. positivas

\* Inicialmente recogimos las variables con tres valores: 0=negativo ó  $\leq 5\%$ ; 1=positivo débil entre 5-30% o 15% para ki67; 2=positivo intenso  $\geq 30\%$  céls. positivas.

Posteriormente elegimos el punto de corte más adecuado en función de los datos previamente descritos en la literatura y de la posibilidad de resultar significativo.

### VIII.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Se realizó un estudio de **estadística descriptiva** y un **estudio de estadística analítica**. Ambos ayudados del programa STATA versión 10.1. Se realizó estudio descriptivo de parámetros de tendencia central (media, mediana...) y parámetros de dispersión (desviación típica, desviación Standard...). El estudio analítico consistió en detectar según las variables independientes (determinantes inmunohistoquímicos, histológicos y clínicos) diferencias en la supervivencia y en la progresión. El programa SPSS Base versión 10.0 (SPSS Inc Chicago, IL) se utilizó para realizar las pruebas de Chi cuadrado y Corrección de Yates en el estudio de asociación de variable: ESTADIO con los demás factores pronósticos.

### VIII.5.1. PARA TODOS LOS ESTADIOS. ANÁLISIS GENERAL

#### VIII.5.1.1. Análisis de supervivencia.

Con un doble análisis :

- **Supervivencia global (SG):** definida como el tiempo de seguimiento hasta la muerte por cualquier causa. Para ello se recogieron las fechas de muerte y pérdidas de seguimiento por otras causas.
- **Supervivencia respecto a muerte por enfermedad (SE):** definida como el tiempo de seguimiento hasta la muerte por enfermedad. Se utilizó la fecha de muerte por enfermedad y las pérdidas de seguimiento o muerte por otras causas se consideraron otra categoría.

Realizamos dos análisis de supervivencia para SG y otros dos para SE tanto considerando la enfermedad desde la fecha de inicio de los síntomas, como considerando la enfermedad desde el momento del diagnóstico (primera biopsia diagnóstica) utilizando el método de Kaplan-Meier.

Las curvas de supervivencia se compararon para cada posible factor pronóstico (variable determinante) con el test de long-rank para determinar diferencias estadísticamente significativas entre las distribuciones de supervivencia. Se consideró estadísticamente significativas las diferencias con  $p < 0,05$ . Posteriormente con los factores que fueron significativos se realizó análisis multivariante con modelo de regresión de Cox. Se obtendrá el hazard ratio, este índice valora las diferencias en la función de riesgo (función calculada para saber el riesgo de muerte por enfermedad en función del tiempo transcurrido), es equivalente al odds ratio, es decir mide incremento del riesgo pero lo hace en función del tiempo transcurrido (es decir comparando las funciones). Se calcula para cada variable la asociación estadísticamente significativa, la magnitud de la asociación y la precisión de la asociación (intervalo de confianza) . Para las variables con asociación estadística se realiza un análisis complementario utilizando modelos multivariantes.

#### VIII.5.1.2. Análisis de progresión

Se consideró progresión desde la fecha de inicio de la enfermedad hasta la fecha de progresión que para cada caso correspondería a un cambio en la clasificación del estadio (paso a T3, T4, N3 o M1) o bien muerte por enfermedad (linfoma) . este análisis se hizo teniendo en cuenta el tiempo hasta a la progresión desde el inicio de los síntomas y desde el momento del diagnóstico. Se realizó mediante un modelo de regresión de Cox, utilizado de forma univariante, o multivariante en un análisis posterior escogiendo los marcadores significativos. Se valoró la significación estadística empleando el test de Wald cuando se obtuvieron  $p < 0,05$ .

### VIII.5.2. ANÁLISIS ESPECÍFICO DE LOS CASOS DE MICOSIS FUNGOIDE EN ESTADIOS INICIALES

El mismo estudio descriptivo y analítico se realizó separando el grupo de pacientes con Micosis fungoide en estadios iniciales (estadio IA, IB, IIA). Del total de 91 pacientes, la mayoría correspondían a este grupo (estadios iniciales), exactamente 67 casos (73,6 %de la muestra) (ver tabla 10 en resultados) . El análisis de los distintos factores pronósticos y su influencia en la supervivencia (SG y SE) y en la progresión tiene especial interés en este grupo de pacientes hasta el momento candidatos a tratamientos tópicos dirigidos directamente a la piel, pero que en los casos de progresión podrían beneficiarse de terapias más agresivas si somos capaces de detectarlos precozmente. Por tanto realizamos el análisis y comparación de las curvas de supervivencia por el método de Kaplan Meier y regresión de Cox, con la metodología descrita anteriormente en este apartado para el grupo reducido de pacientes en estadios iniciales.

Se obtendrá el hazard ratio, este índice valora las diferencias en la función de riesgo (función calculada para saber el riesgo de muerte por enfermedad en función del tiempo transcurrido), es equivalente al ods ratio, es decir mide incremento del riesgo pero lo hace en función del tiempo transcurrido (es decir comparando las funciones). . Se calcula para cada variable la asociación estadísticamente significativa, la magnitud de la asociación y la precisión de la asociación (intervalo de confianza) . Para las variables con asociación estadística se realiza un análisis complementario utilizando modelos multivariantes.

Se emplea el modelo de regresión de Cox para análisis univariante y multivariante de las variables que podían ser predictoras de respuesta completa al primer tratamiento y el test de significación estadística de Wald.

El software empleado es el programa estadístico STATA, versión 10. Y el programa SPSS Base versión 10.0 (SPSS Inc Chicago, IL).

## ***RESULTADOS***



## IX. RESULTADOS

### IX.1. DESCRIPCIÓN DE LA SERIE DE PACIENTES

Nuestra serie de estudio incluyó 91 pacientes diagnosticados de MF de forma sucesiva en el Hospital 12 de Octubre, de los cuales 50 (54,95%) son hombres y 41 (45,05 %) son mujeres. Siendo ligeramente más frecuente la prevalencia en hombres 1,2:1.

La edad media al diagnóstico es de 53,7 años, la moda de la edad al diagnóstico es 59 años y el rango oscila entre 20 y 94 años. Sin embargo la edad de inicio de los síntomas es algo menor siendo la media 43,7 años, con un rango entre 20 y 91 años.

El seguimiento medio fue de 15,7 años (rango entre 1 año y 44 años) existiendo un decalaje entre el momento de inicio de los síntomas y el momento de diagnóstico que tiene como media 6,4 años; (Tabla 9).

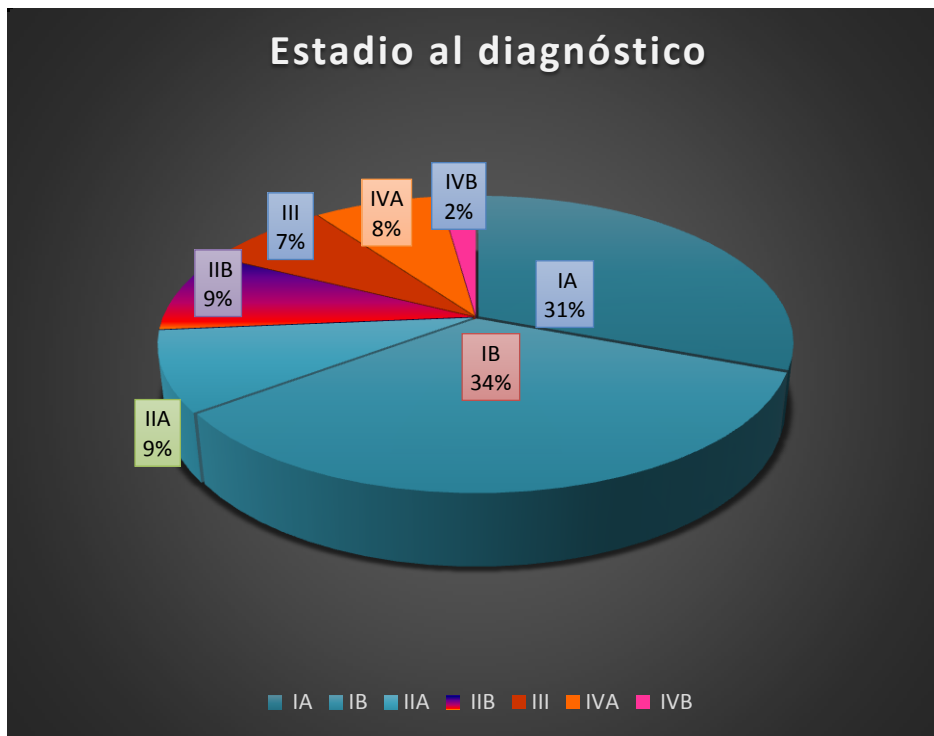
**Tabla 9 Tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas y el diagnóstico en función del estadio**

ESTADIO	PACIENTES N=91 (%)	Media de tiempo de decalaje hasta el diagnóstico según estadio (años)
IA	28 (30,8%)	5,7
IB	31 (34,1%)	7,4
IIA	8 (8,8%)	8,4
IIB	8 (8,8%)	9,5
III	7 (7,7%)	1,4
IVA	7 (7,7%)	5,5
IVB	2 (2,2%)	1,5

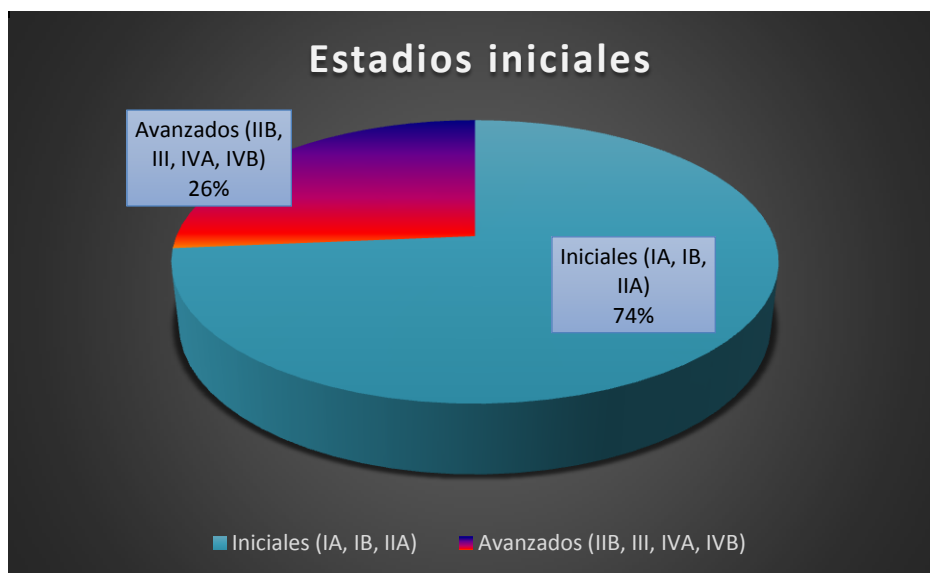
La mayor parte de los pacientes, 67 del total de 91 (73,6%) se encontraban en estadios iniciales de la enfermedad (Estadio IA,IB,IIA) (Gráfico 8 y Gráfico 9) y sólo el 26% corresponde a estadios avanzados, lo que permite hacer un estudio independiente del grupo de los pacientes en estadios iniciales.

Separar a estos pacientes para su estudio es de gran relevancia clínica ya que determinar los factores pronósticos al comienzo de su enfermedad es potencialmente un método que permitirá avanzar hacia establecer protocolos de manejo clínico y terapias adecuadas que aumenten sus posibilidades de no progresión y mejoren su pronóstico.

**Gráfico 8. Descripción de la serie de pacientes. Porcentaje de pacientes en cada estadio**



**Gráfico 9 Descripción de la serie de pacientes. Se observa que la mayor parte corresponde a estadios iniciales de evolución de MF.**



## IX.2. ANÁLISIS SEGÚN LAS VARIABLES QUE PUEDEN SER FACTOR PRONÓSTICO

## IX.2.1. VARIABLES CLÍNICAS

## IX.2.1.1. Distribución General de la Evolución de la Serie de Pacientes, Según las Variables Dependientes: Progresión y Mortalidad por Todas las Causas o por Enfermedad

Tabla 10 Descripción general de la evolución según los estadios en el momento del diagnóstico

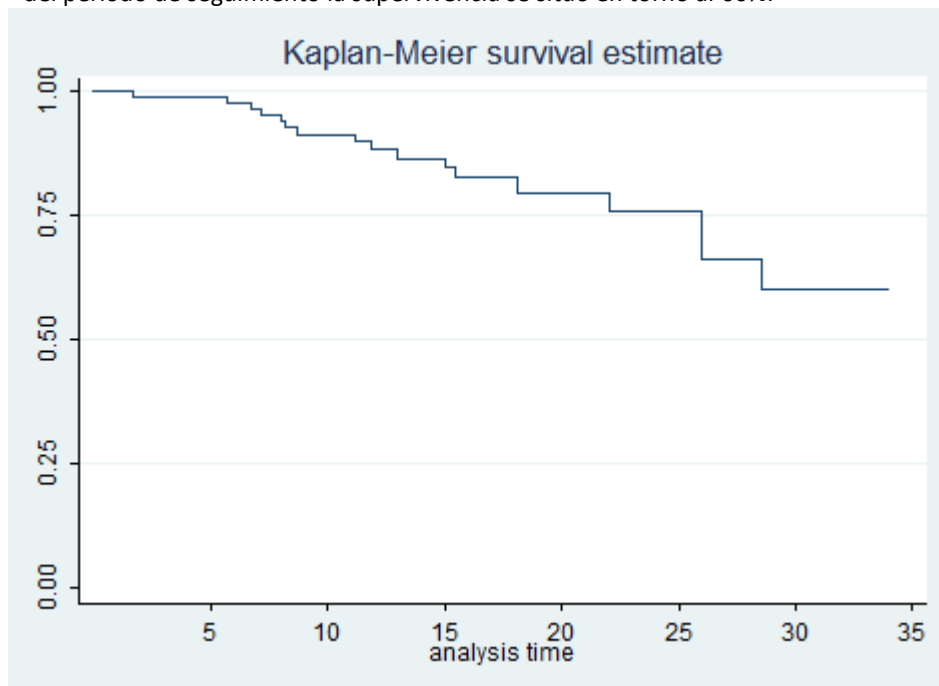
ESTADIO	ESTADIOS INICIALES N=67 (73,6%)			ESTADIOS AVANZADOS N= 24 (26,4%)				Total (%)	
	IA	IB	IIA	IIB	III	IVA	IVB		
<b>Pacientes (n=91)</b>	28 (30,8%)	31 (34,1%)	8 (8,8%)	8 (8,8%)	7 (7,7%)	7 (7,7%)	2 (2,2%)	91 (100%)	
<b>Progresión</b>	5/28(17,86%)	10/31(32,26%)	4/8(50,00%)	2/8(25,00%)	2/7(28,57%)	3/7(42,86%)	2/2 (100,00%)	28/91	(30,76%)
Progresión a T3	3	6	3	0	0	0	0	12	(13,2%)
Progresión a T4	0	0	1	0	0	0	0	1	(1,1%)
Progresión a N3	1	2	0	0	2	0	0	5	(5,5%)
Progresión a M1	0	1	0	1	0	0	0	2	(2,1%)
<b>Muerte específica por enfermedad: (linfoma/MF/SZ)</b>	1/28(3,57%)	1/31(3,23%)	0/8(0,00%)	1/8(12,50%)	0/7(0,00%)	3/7(42,86%)	2/2(100,00%)	8/91	(8,7%)
<b>Muerte por todas las causas</b>	3	3	1	0	2	0	0	9	(19,8%)
<b>Respuesta completa al primer tratamiento</b>	18/28(64,29%)	11/31(35,48%)	2/8(25,00%)	2/8(25,00%)	3/7(42,86%)	0/7(0,00%)	0/2(0,00%)	36/91	(40,0%)

La mortalidad total por todas las causas al final del seguimiento fue 19,78% (18/91 casos), con un porcentaje de supervivencia global a los 5 años: 98,89%; a los 10 años: 91,36%; a los 15 años: 86,54%; a los 20 años: 79,62%; a los 25 años: 75,83%; a los 30 años: 60,32%.

La mortalidad según muertes por enfermedad fue 8,79 % (8/91) con un porcentaje de supervivencia a los 5 años: 100%, a los 10 años: 96,01%; a los 15 años: 94,33%; a los 20 años: 90,13%; a los 25 años: 90,13%; a los 30 años: 76,81%. Con estas cifras no puede calcularse la mediana de supervivencia como tiempo cuando se alcanza el 50% de mortalidad. La mayor parte de los pacientes estaban vivos al final de su seguimiento, lo que nos alegra por nuestros pacientes pero supone una limitación para un estudio de supervivencia. (Gráfico 10 y Gráfico 11)

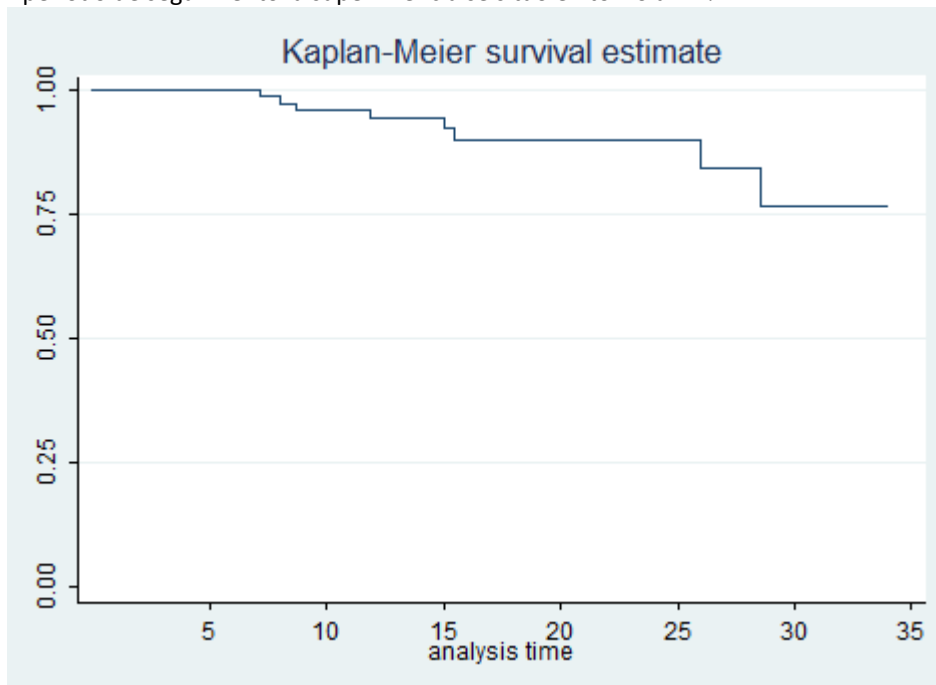
#### Gráfico 10 Curva de representación del tiempo de supervivencia global

Representada en intervalos de 5 años. Representa la proporción de pacientes vivos en cada periodo de tiempo. Siendo 1 el total de la muestra N=91 pacientes. Al final del periodo de seguimiento la supervivencia se situó en torno al 60%.



**Gráfico 11. Curva de representación del tiempo de supervivencia considerando solo las muertes específicas por enfermedad**

Se representa en intervalos de 5 años. Muestra la proporción de pacientes vivos en cada periodo de tiempo. Siendo 1 el total de la muestra N=91 pacientes. Al final del periodo de seguimiento la supervivencia se situó en torno al 77%.



Aún con esta limitación, observamos un porcentaje de mortalidad y progresión suficiente para tratar de buscar factores que nos permitieran discernir cuáles estarían en el grupo de buen pronóstico (vivos al final del seguimiento y sin progresión).

**IX.2.1.2. Estadio al Diagnóstico (Clasificación TNMB)**

La variable clínica con mayor impacto en la supervivencia y en la progresión fue el estadio diagnóstico.(Tabla 11 y Gráfico 12)

Afectaba tanto a la supervivencia global como a la supervivencia en muertes por enfermedad.

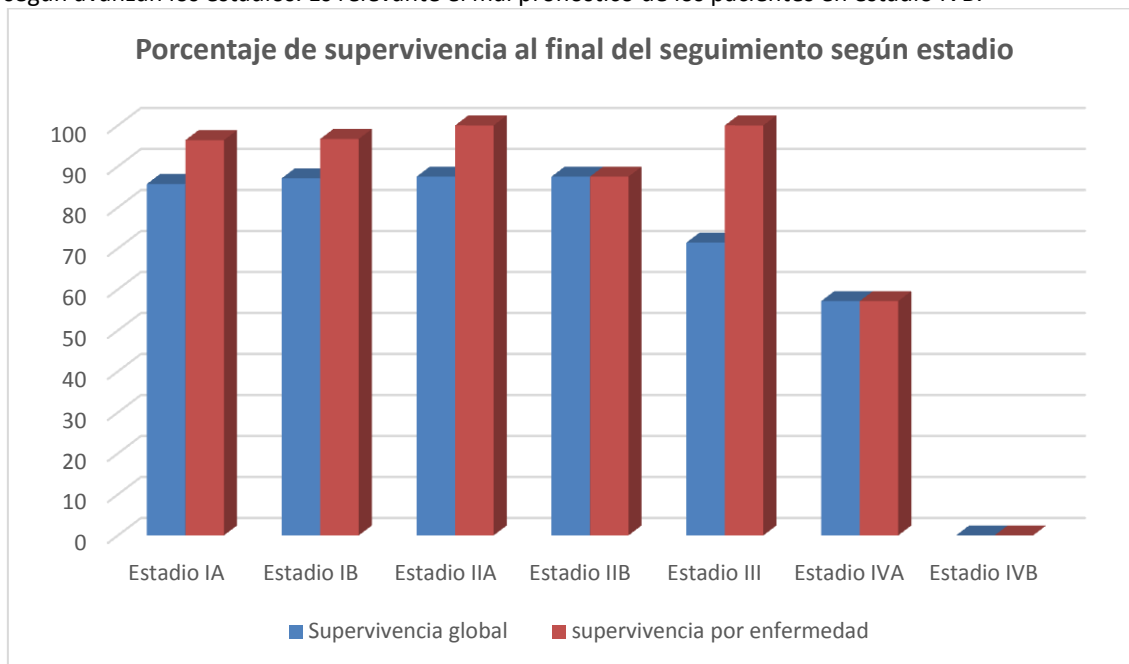
**Tabla 11. Porcentaje de mortalidad por estadios**

ESTADIO	PACIENTES N=91 (%)	Muertes por enfermedad	%	Probabilidad de supervivencia (%)				
				5 años	10 años	15 años	20 años	25 años
IA	28 (30,8%)	1/28	3,57	100	95,45	95,45	95,45	95,45
IB	31 (34,1%)	1/31	3,23	100	100	95,24	95,24	95,24
IIA	8 (8,8%)	0/8	0	100	100	100	100	100
IIB	8 (8,8%)	1/8	12,5	100	87,50	87,50	87,50	87,50
III	7 (7,7%)	0/7	0	100	100	100	100	100
IVA	7 (7,7%)	3/7	42,86	100	100	75	75	75

ESTADIO	PACIENTES N=91 (%)	Muertes por enfermedad	%	Probabilidad de supervivencia (%)				
				100	50	50	30	30
IVB	2 (2,2%)	2/2	100	100	50	50	30	30

### Gráfico 12. Porcentajes de supervivencia al final del seguimiento según estadios

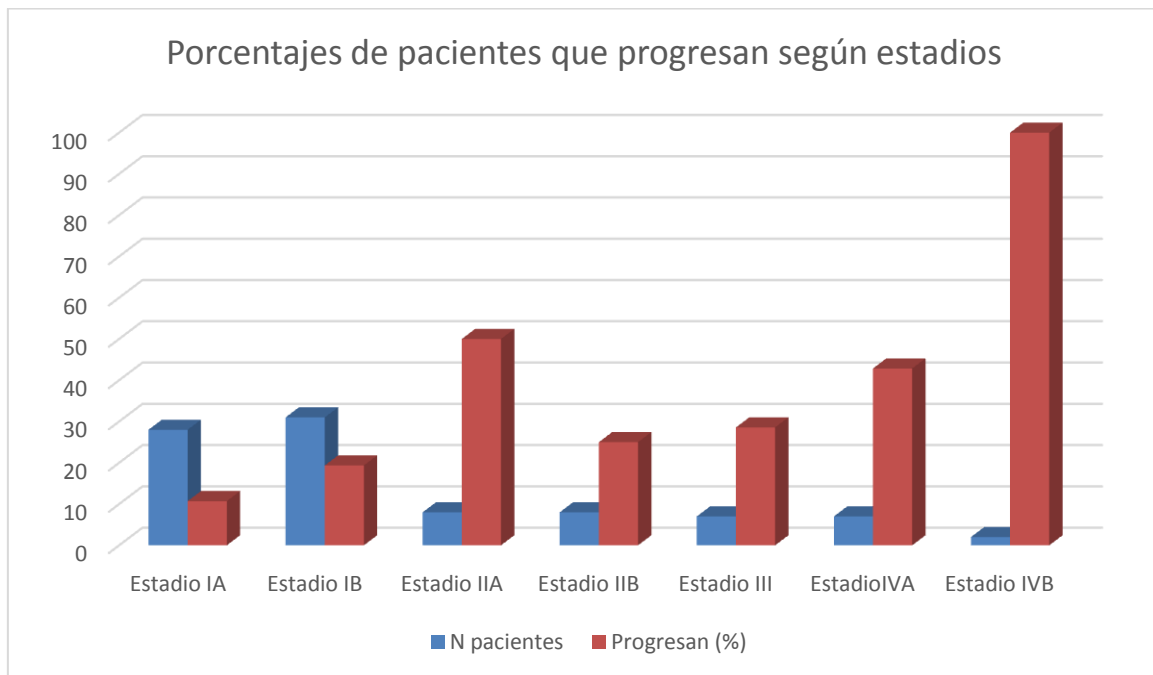
Aunque existen diferencias significativas  $p < 0,05$  en la comparación de las curvas de supervivencia en conjunto entre todos los estadios, siendo diferentes entre sí, no significa que la supervivencia sea peor según avanzan los estadios. Es relevante el mal pronóstico de los pacientes en estadio IVB.



También el estadio al diagnóstico fue significativamente relevante para determinar diferencias en la progresión. (Tabla 12 y Gráfico 13)

**Tabla 12. Porcentajes de pacientes que progresan según cada estadio**

ESTADIO	PACIENTES N=91 (%)	Progresan N (%)	Media de tiempo hasta la progresión en (años)	Error estándar (95%)	Probabilidad de progresar (%)			
					5 años	10 años	15años	20 años
IA	28 (30,8%)	3/28 (10,71%)	14,24	10,35	3,85%	12,63%	12,63%	12,63%
IB	31 (34,1%)	6/31 (19,35%)	15,94	9,57	3,33%	10,51%	21,70%	21,70%
IIA	8 (8,8%)	4/8 (50%)	15,01	10,97	14,29%	28,80%	28,80%	52,50%
IIB	8 (8,8%)	2/8 (25%)	17,67	10,89	12,50%	12,50%	25,00%	25,00%
III	7 (7,7%)	2/7 (28,57%)	5,58	3,67	14,29%	14,29%	25,00%	25,00%
IVA	7 (7,7%)	3/7 (42,86%)	15,21	9,79	0,00%	0,00%	0,00%	25,00%
IVB	2 (2,2%)	2/2 (100%)	12,09	4,82	0,00%	50,00%	50,00%	70,00%

**Gráfico 13. Pacientes en cada estadio y porcentaje que progresan**

Sin embargo las marcadas diferencias entre los grupos de estadios iniciales respecto a los grupos de estadios avanzados, no se parecen a las escasas diferencias que hay en el pronóstico entre los subgrupos de estadios iniciales entre sí. No había diferencias estadísticamente significativas entre los estadios IA, IB y IIA entre sí. No solo eso, sino que el estadio IIA parece incluso mejorar el pronóstico (ver curvas de supervivencia en Gráfico 14y fijarse en estadio IA,IB y IIA).

Sin embargo para la progresión, aunque hay correlación entre los primeros estadios entre sí (cuanto más avanzado el estadio más riesgo de progresión para IA, IB,IIA) . El estadio IIA es discordante ya que hay más progresión en IIA que en los estadios IIB y III, esto ocurre porque casi todos los pacientes en estadio IIA (en placa extensa) pasan a hacer T3 (tumor) y uno de ellos a eritrodermia (T4).

El método de clasificación en estadios no es del todo efectivo para discriminar diferencias pronósticas en estadios muy iniciales, los tres primeros estadios tienen una supervivencia mayor del 95% pero en el IA y IB, se sitúa aproximadamente en el 97% (en cada grupo 1 paciente muere por enfermedad) y en IIA sin embargo ningún paciente muere de enfermedad aunque sí presentaron progresión lenta.

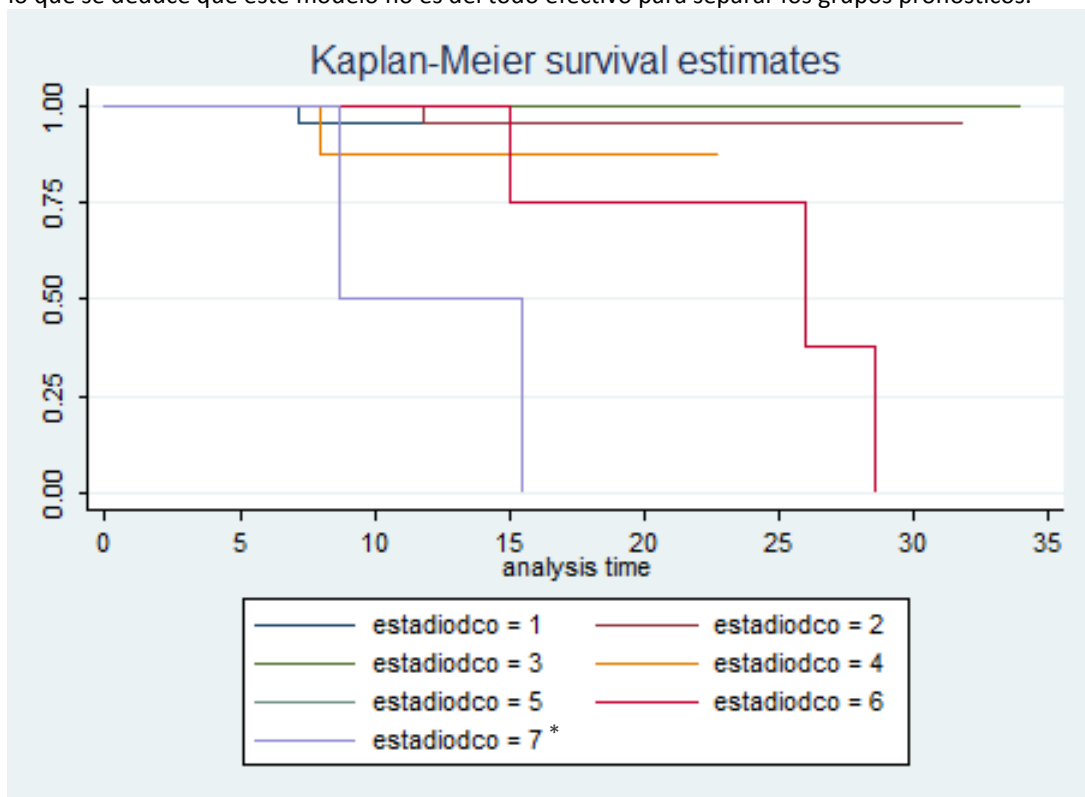
En los estadios avanzados la supervivencia para los estadios IIB y III es peor para IIB, ya que el estadio de (T3) tumor parece conferir peor pronóstico. El resto de estadios presentan mayor mortalidad y lo hacen aumentando ésta, correlativamente con el aumento del estadio (se cumple para IVA y IVB).

En definitiva , este sistema parece asociarse a grupos de riesgo con diferencias significativas en supervivencia y progresión en conjunto pero con dificultades en discriminar entre estadios dentro de los iniciales y con algunos estadios menos avanzados (IIB) que evolucionan peor que el estadio más avanzado siguiente (III).

Tratamos de determinar factores pronósticos nuevos o poco utilizados, que de forma independiente al estadio o añadiéndose a esta clasificación, permitan definir grupos de riesgo con mayor valor predictivo sobre la evolución.

#### Gráfico 14. Tiempo de supervivencia en años, respecto a muertes por enfermedad en cada estadio

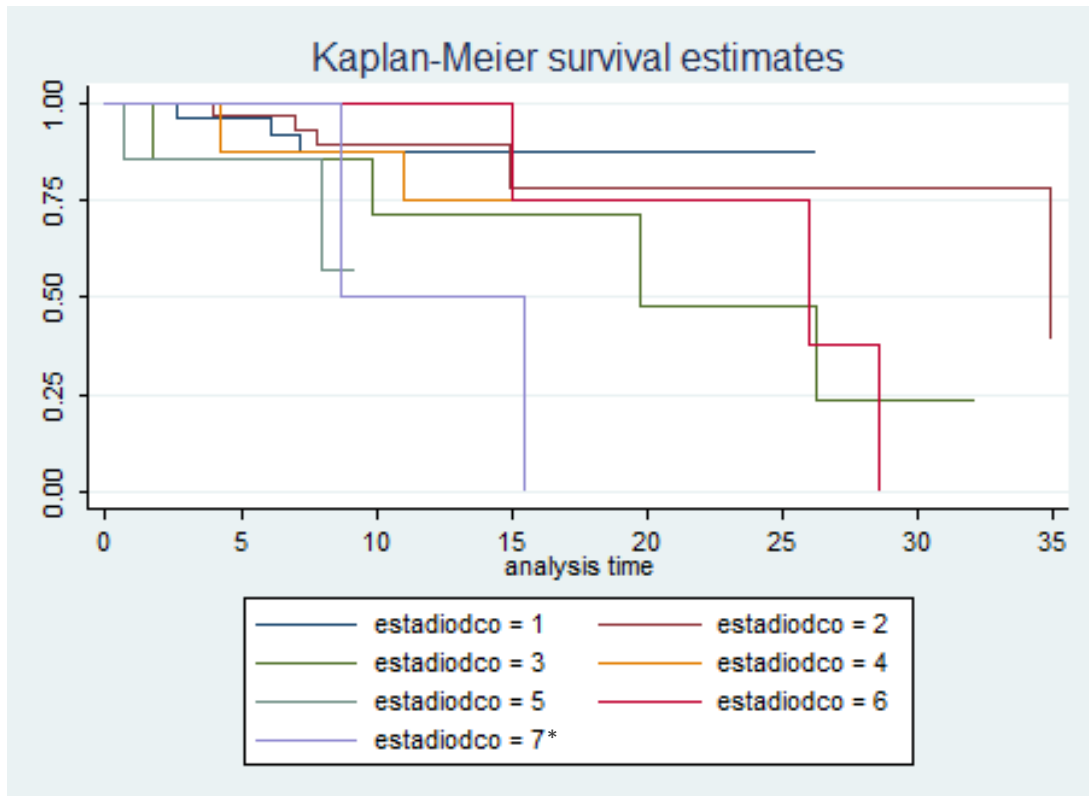
Se observa que las distribuciones de los estadios iniciales son similares, incluso se superponen con lo que se deduce que este modelo no es del todo efectivo para separar los grupos pronósticos.



\*Estadiodco 1: IA; Estadiodco 2: IB; Estadiodco 3: II; Estadiodco 4: IIB; Estadiodco 5: III; Estadiodco 6: IVA; Estadiodco 7: IVB (Clasificación de Bunn y lamberg 1979. Anexos 1 y 2)

### Gráfico 15. Curva de progresión según estadios.

Similares resultados se obtuvieron respecto a la progresión (Gráfico 8) . Aunque hubo diferencias significativas entre estadios iniciales frente al grupo de estadios avanzados para predecir progresión, existen pocas diferencias entre los estadios IA, IB y IIA entre sí. Además el estadio III (gráfica estadiodco 5) resultó tener un bajo riesgo de progresión



\*Estadiodco 1: IA; Estadiodco 2: IB; Estadiodco 3: II; Estadiodco 4: IIB; Estadiodco 5: III; Estadiodco 6: IVA; Estadiodco 7: IVB (Clasificación de Bunn y Lamberg 1979. Anexos 1 y 2)

#### IX.2.1.3. Análisis de Subtipos Reconocidos por la OMS, SS y Variantes de MF.

##### IX.2.1.3.1. Descripción de las variantes de MF encontradas en nuestra serie de casos

La mayor parte de nuestros pacientes se presentaron con MF clásica 81/91 (89,01%) aunque algunos de ellos tenían variantes clínicas como la presentación con clínica fundamental de dishidrosis en uno de ellos (variante siringotrópica), 4 de ellos presentaron pápulas linfomatoideas en algún momento de su evolución, diagnosticadas de papulosis linfomatoide, dos antes de presentar MF y dos después; 1 de ellos presentó rasgos de MF granulomatosa aunque no cutis laxa granulomatosa y su evolución fue favorable, sin progresión; un caso de buen pronóstico se presentó como una lesión única.

Respecto a los subtipos de MF aceptados por la OMS, hubo 3 casos que histológicamente presentaban afectación de predominio en folículos con menos afectación epidérmica, sin embargo de estos 3, solo uno de ellos presentaba también rasgos clínicos de foliculotropismo. Este caso no progresó aunque esta variante clínicopatológica hacía prever que así fuera.

A continuación se muestra el resumen de los casos que se presentaron como subtipos o variantes de MF (Tabla 13)

**Tabla 13 Variantes y Subtipos de MF**

Variante	N (%)	Estadio al diagnóstico	Progresión	Muerte por linfoma
Síndrome de Sézary	7 (7,69%)	III (4 casos) IVA (2 casos) IVB (1 caso)	2/7 28,57%	0
Foliculotropa	3 (3,30%)	IA (1 caso) IIB (1 caso) IA (1 caso)	1 /3 (33,3%)	1 (33,3%) Caso en estadio IIB (T3,N1,M0)
Granulomatosa	1 (1,10%)	IB	0	0
Poiquilodérmica	2 (2,20%)	IVB(1 caso) IB (1 caso)	1/2 (50%)	1 (50%)
Siringotropia (dishidrótica)	1 (1,10%)	IB	1/1 (100%)	1/1 (100%)
Papulosis linfomatoide	4 (4,40%)	IA	2/4(50%) a T3	0
Lesión única	1 (1,10%)	IA	0	0
<b>Total</b>	<b>19/91 (20,88%)</b>			

#### *Síndrome de Sézary*

Por la posible relevancia pronóstica, separamos para analizar aparte los pacientes con síndrome de Sézary. Entre nuestros 24 pacientes con estadios avanzados en el momento del diagnóstico se encontraron 7 casos con **Síndrome de Sézary** cuya evolución se describe en la siguiente tabla (Tabla 14). Se observa que hay diferencias significativas para el riesgo de muerte por enfermedad y riesgo de progresión en el grupo con síndrome de Sézary, si comparamos las distribuciones del tiempo de supervivencia, pero no en números absolutos. Es decir el tiempo de supervivencia y el tiempo hasta la progresión son menores para estos pacientes (Gráfico 16 y Gráfico 17). Sin embargo no resultó significativo el porcentaje de eventos (muertes o progresión) si no se tiene en cuenta el tiempo (Tabla 16).

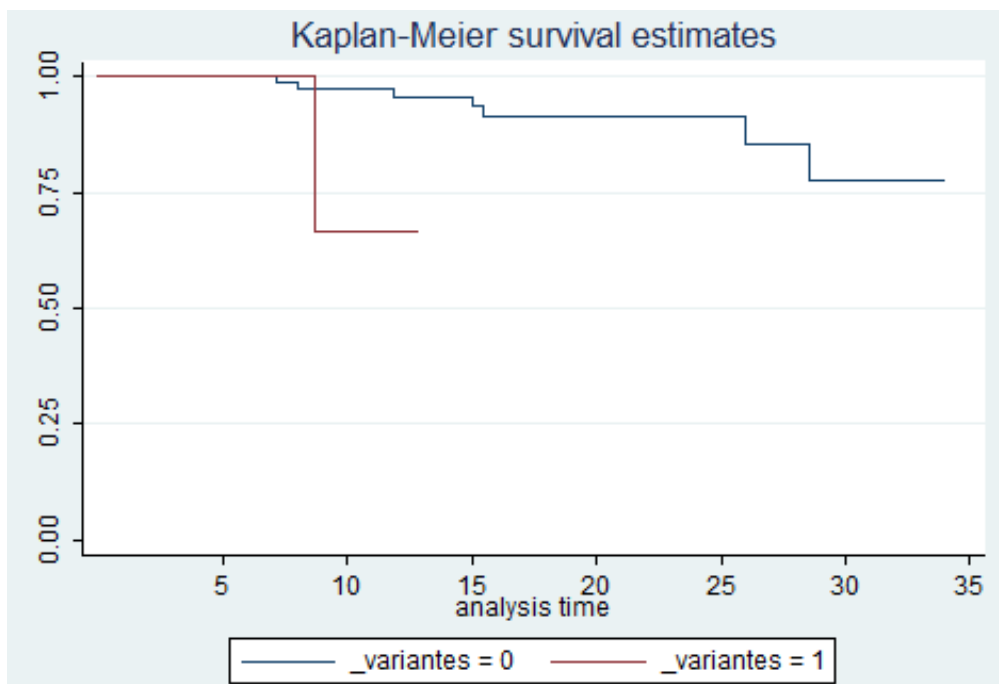
**Tabla 14. Evolución clínica de los pacientes con síndrome de Sézary**

SÍNDROME DE SÉZARY DESDE EL MOMENTO DE DIAGNÓSTICO				
EDAD (años)	SEXO (M/H)	ESTADIO AL DIAGNÓSTICO	PROGRESION ESTADIO	MUERTE POR LINFOMA
44	H	IVa (T4N3B2M0)	No	No
63	H	III (T4N0B2M0)	a IVa (T4N3B2M0)	No
56	M	IVa (T2N3B2M0)	a T4	No

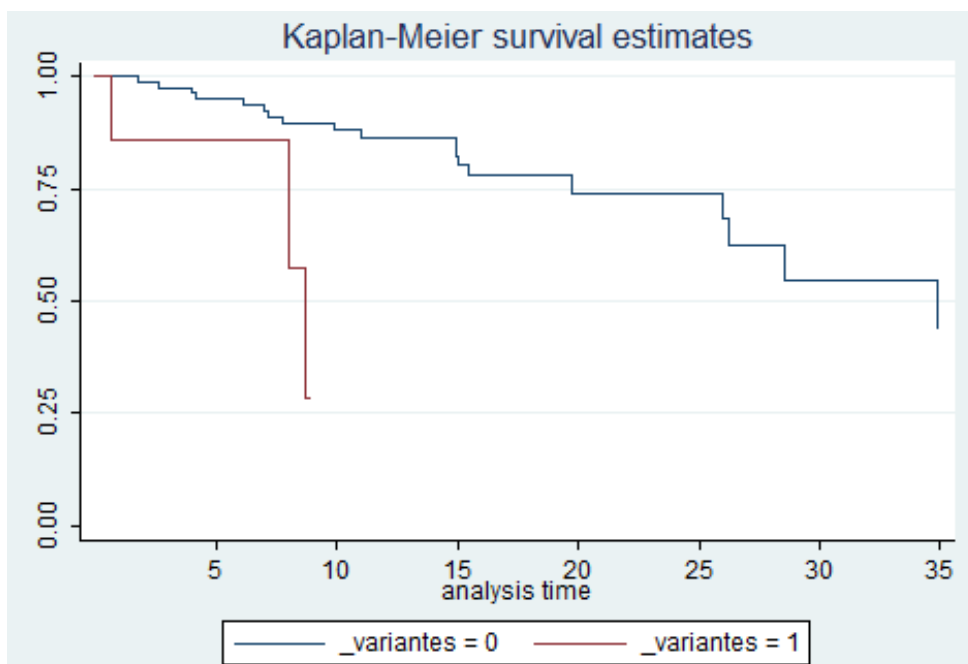
SÍNDROME DE SÉZARY DESDE EL MOMENTO DE DIAGNÓSTICO				
EDAD (años)	SEXO (M/H)	ESTADIO AL DIAGNÓSTICO	PROGRESION ESTADIO	MUERTE POR LINFOMA
78	H	III (T4N1B2M0)	a IVa	No
56	H	III (T4N2B2M0)	No	No
74	H	III (T4N1B2M0)	a IVa (T4N3B2M0)	No
29	M	IVb (T4N3B2M1)	-	Sí

**Tabla 15 Diferencias en el tiempo hasta la evolución desfavorable entre de los pacientes con síndrome de Sézary y su significación estadística**

SÍNDROME DE SÉZARY				
	N pacientes	PROGRESIÓN (Mediana) (Mediana del tiempo hasta progresión en años)	MUERTE POR LINFOMA (percentil 25) (Percentil 25 del tiempo hasta muerte causada por enfermedad)	
S. Sézary (B2)	7	9 años	9,2 años	
No Sézary (B0 o B1)	84	35 años	>35 años	
		P=0,008 (significativo p<0,05)	P= 0,0353 (significativo p<0,05)	Test de significación Long-rank



**Gráfico 16. Supervivencia en SS respecto al resto de pacientes.** Variante1: pacientes con síndrome de Sézary; Variante 0. Pacientes sin Síndrome de Sézary p=0,008



**Gráfico 17. Progresión en los pacientes con síndrome de Sézary (variante:1):** Se observa un menor tiempo hasta la progresión en los pacientes que presentaron SS

**Tabla 16 Diferencias en los porcentajes que evolucionan según estuvieran o no en Síndrome de Sézary al diagnóstico**

Ausencia de significación estadística aunque tanto como la evolución son más frecuentes en los pacientes con Síndrome de Sézary respecto a los otros estadios

SÍNDROME DE SÉZARY				
	N pacientes	PROGRESIÓN (%) (si-no)	MUERTE POR LINFOMA (si-no)	
<b>S. Sézary (B2)</b>	7	3/7 (42,86%)	1/7 (14,29%)	
<b>No (B0 o B1)</b>	84	19/84 (22,62%)	7/84(8,33%)	
		0,23 no significativo	0,593 no significativo	Test exacto de Fisher

#### IX.2.1.4. Análisis por Grupos de Edad

Así mismo, a la vista de la evolución más favorable de la MF descrita en la literatura, separamos los pacientes muy jóvenes.

Definimos muy joven como menor o igual a 21 años. En las primeras fases de la enfermedad (momento del inicio de los síntomas) se encontraron 9 pacientes muy jóvenes. Un 10% de la serie de pacientes tenían igual o menos de 21 años, todos ellos estaban en estadios iniciales al momento del diagnóstico. No identificamos pacientes menores de 21 años entre el grupo de pacientes en estadios avanzados.

Su evolución se describe en la Tabla 17. No hubo diferencias significativas entre el grupo de menores o iguales a 21 años y el de mayores, en su evolución en nuestra serie (Tabla 18), ni para progresión, ni para muertes por enfermedad, aunque sí fue significativa una menor mortalidad por todas las causas  $p=0,03$  en los menores de 21 años.

Respecto a la progresión se observa que progresan más los pacientes más mayores (21%) respecto a los menores de 21 años (progresan el 11%), pero las diferencias no fueron significativas. Tampoco en la mortalidad específica por enfermedad que resultó un poco más elevada en el grupo de menores de 21 años, sin significación estadística.

**Tabla 17. Descripción del estadio y evolución de los pacientes muy jóvenes (menores de 21 años en el momento de inicio de los síntomas)**

PACIENTES MUY JÓVENES ( edad menor o igual a 21 años al inicio de los síntomas)				
EDAD (años)	SEXO (M/H)	ESTADIO AL DIAGNÓSTICO	PROGRESION ESTADIO	MUERTE POR LINFOMA
20	M	IA	No	No
19	H	IB (T2,N0,B0,M0)	No	No
17	M	IIA (T2,N1;B0,M0)	No	No
19	M	IB (T2,N0,B0,M0)	No	No
21	H	IB (T2,N0,B0,M0)	No	No
21	M	IB (T2,N0,B0,M0)	a T3	Sí
21	M	IB (T2,N0,B0,M0)	No	No
14	M	IA (T1,N0,B0,M0)	No	No
10	M	IA(T1,N0,B0,M0)	No	No

**Tabla 18 Comparación de los porcentajes de progresión y mortalidad en pacientes muy jóvenes**

PACIENTES MUY JÓVENES ( edad menos o igual a 21 años) Al INICIO DE LOS SÍNTOMAS				
EDAD (años)	N pacientes	PROGRESIÓN	MUERTE POR LINFOMA	Significación estadística
≤ 21	9 ( 9,8%)	1/9 (11,1%)	1/9(11,1%)	
>21	82( 90,1%)	21/82 (25,6%)	7/82 ((8,53%)	
	91	p> 0,05 No significativo	p> 0,05 No significativo	Test de Fisher

No obtuvimos diferencias significativas entre los grupos si se establece el **punto de corte de la edad en 60 años**, tal y como aparece en estudios previos (cita CLIPi) el pronóstico no era significativamente distinto en mayores de 60 años , respecto a menores de 60 años, considerando solamente muertes por enfermedad y no el total de la mortalidad, tampoco era diferente respecto a progresión a estadios más avanzados (Tabla 19)

**Tabla 19 Comparación de los porcentajes de progresión y mortalidad en pacientes mayores**

PACIENTES MAYORES ( edad mayor de 60 años al inicio de los síntomas)				
EDAD (años)	N pacientes	PROGRESIÓN	MUERTE POR LINFOMA	Significación estadística
>60	35	5/35(14,29%)	3/35 (8,57%)	
≤ 60	56	17/56 (30,36%)	5/56 (8,93%)	
	91	p> 0,05 No significativo	p> 0,05 No significativo	Log Rank test y Pearson

**IX.2.1.5. Análisis por Sexo**

Analizamos otro de los factores descritos en el índice CLipi como de valor pronóstico: el sexo, obteniendo los siguientes resultados para la supervivencia y progresión (Tabla 20) , que como puede observarse no suponen un aumento del riesgo para los hombres de nuestra serie , respecto a las mujeres.

**Tabla 20 Porcentaje de pacientes que evolución en función del sexo**

SEGÚN EL SEXO (Varón-Mujer)				
SEXO	N pacientes	PROGRESIÓN (nº de eventos definidos como paso a T3, T4, N3 o M1)	MUERTE POR LINFOMA (nº de eventos definidos como muertes específicas por enfermedad )	Método de cálculo de la magnitud de las diferencias en las distribuciones del tiempo hasta el evento
<b>1.Varón</b>	46 (52,9%)	12/46 (26,02%)	5/46 (10,8%)	
<b>2.Mujer</b>	41 (47,1%)	8/41 (19,5%)	3/41 (7,31%)	
		p>0.05 (no significativo)	p>0.05 (no diferencias significativas)	Test de Fisher

**IX.2.2. VARIABLES HISTOLÓGICAS RELACIÓN CON SUPERVIVENCIA Y PROGRESIÓN A ESTADIOS MÁS AVANZADOS**

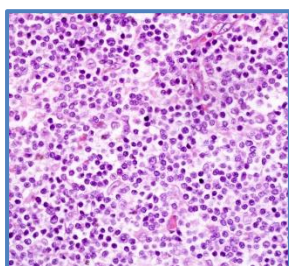
Realizamos el análisis de las variables histopatológicas tanto para la supervivencia como para la progresión desde el inicio.

No se encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros histopatológicos que se confirmaran en la supervivencia por enfermedad y en la supervivencia global.

Solamente la presencia de linfocitos con halo claro en la unión dermoepidérmica tuvo una asociación estadísticamente significativa con la supervivencia global. Este dato no se confirma al hacer el análisis por supervivencia solo por enfermedad, ni en la progresión, con lo que no nos parece que tenga significado biológico, aunque debe ser considerado en futuros estudios.

### TRANSFORMACIÓN A CÉLULAS GRANDES

Ninguno de los casos presentaba transformación a células grandes en el momento del diagnóstico, por lo que no pudimos utilizarlo como factor pronóstico en nuestro estudio. Sin embargo es de reseñar que uno de los casos correspondiente a un varón en estadio IA, desarrolló transformación a células grandes a los 6 años de su evolución, con progresión a T3 desde T1, y posterior desarrollo de un linfoma cutáneo primario de células T, muriendo como consecuencia de la quimioterapia, lo que se considera muerte por complicaciones derivadas de su enfermedad



**Imagen histológica 19.** Transformación a células grandes. HE 400x

#### IX.2.2.1. Supervivencia

Los resultados de supervivencia estudiada desde el inicio de los síntomas y la supervivencia considerada desde el momento del diagnóstico, fueron similares.

##### IX.2.2.1.1. Supervivencia global (considerando muertes por todas las causas)

Solo la variable histopatológica de presencia de un *halo claro alrededor del núcleo* en los linfocitos neoplásicos parece estar asociada a una peor supervivencia, siendo significativa estadísticamente. Pero al hacer el análisis de supervivencia considerando solo muertes específicas causadas por la enfermedad esta asociación no se demostró. Resultados en la Tabla 21

**Tabla 21** Variables histológicas y su asociación con la supervivencia considerando muerte por todas las causas

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
<b>Linfocitos con halo perinuclear</b>	Presente	73	17	1.00	
	Ausente	12	0		0.035
<b>Linfocitos en cadena</b>	Ausente	53	12	1.00	
	Presente	30	5	0.71	0.517

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
<b>Epidermotropismo desproporcionado</b>	Presente	52	12	1.00	0.227
	Ausente	32	5	0.52	
<b>Microrabcesos de Pautrier</b>	Presente	53	13	1.00	0.091
	Ausente	32	4	0.37	
<b>Linfocitos atípicos en dermis mayor tamaño que en epidermis</b>	No	59	12	1.00	0.961
	Si	26	5	1.03	
<b>Colágeno en alambre en dermis papilar</b>	Ausente	62	11	1.00	0.281
	Presente	23	6	1.73	
<b>Atipia linfocitaria</b>	Grado alto	45	9	1.00	0.848
	Grado bajo	40	8	0.91	
<b>Actividad mitótica (&lt;5 mitosis en 10 CGA)</b>	Grado bajo	47	7	1.00	0.428
	Grado alto	37	10	1.48	
<b>Espongiosis</b>	Presente	51	12	1.00	0.394
	Ausente	34	5	0.63	
<b>Afectación folicular</b>	Presente	19	4	1.00	0.254
	Ausente	42	9	0.47	
<b>Afectación perivascular</b>	Ausente	66	13	1.00	0.101
	Presente	14	4	2.70	
<b>Densidad del infiltrado en dermis</b>	Intenso	44	10	1.00	0.742
	Leve	42	7	0.85	
<b>Mucinosiis folicular</b>	Ausente	55	11	1.00	0.495
	Presente	5	2	1.70	

*Supervivencia respecto a muertes causadas por la enfermedad*

Ninguna variable histológica resultó estadísticamente asociada a una peor supervivencia cuando analizamos las muertes causadas solo por la enfermedad.

No se comprueba la asociación a peor pronóstico del “halo claro perinuclear” que encontramos al analizar las variables histopatológicas respecto a muertes por cualquier causa. La asociación con la presencia de linfocitos con halo claro perinuclear no se comprobó si analizamos solo las muertes por enfermedad.

**Tabla 22. Variables histológicas y su asociación con la supervivencia específica considerando muertes por enfermedad**

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
<b>Linfocitos con halo perinuclear</b>	Presente	73	8	1.00	0.121
	Ausente	12	0		
<b>Linfocitos en cadena</b>	Ausente	53	7	1.00	0.197
	Presente	30	1	0.25	
<b>Epidermotropismo desproporcionado</b>	Presente	52	4	1.00	0.786
	Ausente	32	4	1.22	
<b>Microrabcesos de Pautrier</b>	Presente	53	6	1.00	0.267
	Ausente	32	2	0.40	
<b>Linfocitos atípicos en dermis de mayor tamaño que en epidermis</b>	No	59	5	1.00	0.591
	Si	26	3	1.48	
<b>Colágeno en alambre en dermis papilar</b>	Ausente	62	4	1.00	0.106
	Presente	23	4	3.14	
<b>Atipia linfocitaria</b>	Grado alto	45	5	1.00	0.482
	Grado bajo	40	3	0.60	
<b>Actividad mitótica (&lt;5 mitosis en 10 CGA)</b>	Grado bajo	47	1	1.00	0.074
	Grado alto	37	7	6.79	
<b>Espongiosis</b>	Presente	51	6	1.00	0.400
	Ausente	34	2	0.50	
<b>Afectación folicular</b>	Presente	19	2	1.00	0.408
	Ausente	42	5	0.47	

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
<b>Afectación perivascular</b>	Ausente	66	6	1.00	0.212
	Presente	14	2	2.95	
<b>Densidad del infiltrado en dermis</b>	Intenso	44	6	1.00	0.305
	Leve	42	2	0.43	
<b>Mucinosiis folicular</b>	Ausente	55	6	1.00	0.687
	Presente	5	1	1.55	

#### IX.2.2.2. Progresión (Tabla 23)

Dos características histopatológicas presentaron asociación con el tiempo hasta la progresión y por tanto relación un aumento del riesgo (Hazard Ratio) de progresar:

- La presencia de **atipia linfocitaria** marcada, aunque ninguno de nuestros casos presentaba transformación a célula grande, ya que escogimos casos en su primera biopsia y la mayoría estaban en estadios muy iniciales. (**Gráfico 18**) En la evolución posterior, uno de los casos presentó transformación a células grandes.
- La presencia de **linfocitos en epidermis de mayor tamaño que los linfocitos de dermis** (Gráfico 19)

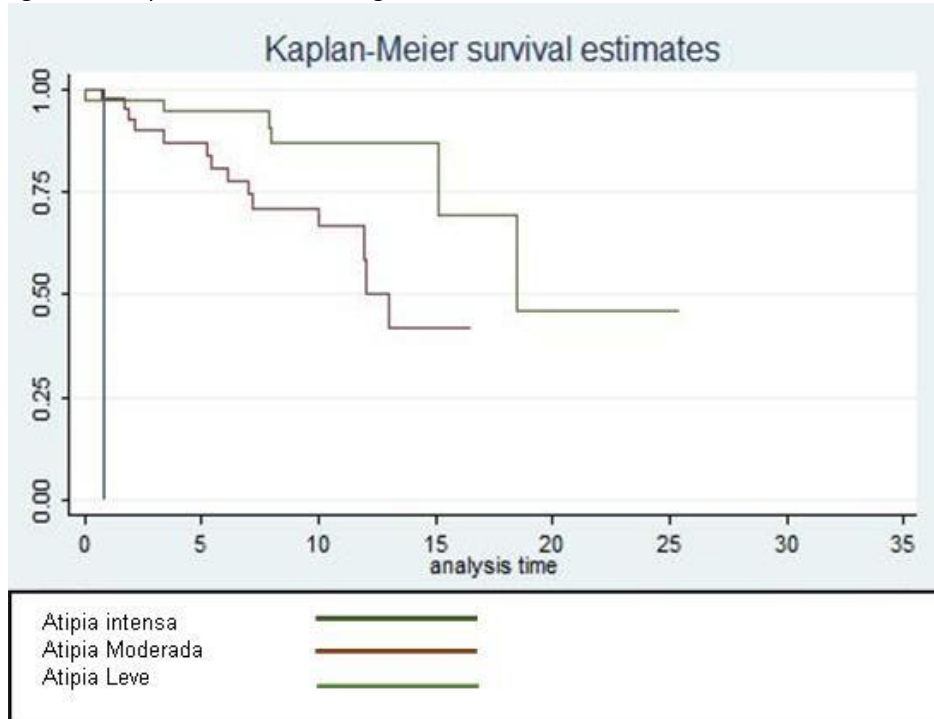
**Tabla 23 Características histopatológicas y su asociación con progresión**

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
<b>Linfocitos con halo perinuclear</b>	Presente	73	15	1.00	0.125
	Ausente	12	6	2.16	
<b>Linfocitos en cadena</b>	Ausente	53	16	1.00	0.227
	Presente	30	5	0.54	
<b>Epidermotropismo desproporcionado</b>	Presente	52	8	1.00	0.056
	Ausente	32	13	2.39	
<b>Microrabcesos de Pautrier</b>	Presente	53	12	1.00	0.908
	Ausente	32	9	0.95	
<b>Linfocitos atípicos en dermis mayor tamaño que en epidermis</b>	No	59	11	1.00	0.047
	Si	26	10	2.39	

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
<b>Colágeno en alambre en dermis papilar</b>	Ausente	62	16	1.00	0.733
	Presente	23	5	0.84	
<b>Atipia linfocitaria</b>	Grado alto	45	15	1.00	0.044
	Grado bajo	40	6	0.38	
<b>Actividad mitótica (&lt;5 mitosis en 10 CGA)</b>	Grado bajo	47	7	1.00	0.143
	Grado alto	37	13	2.00	
<b>Espongiosis</b>	Presente	51	14	1.00	0.434
	Ausente	34	7	0.70	
<b>Afectación folicular</b>	Presente	19	3	1.00	0.659
	Ausente	42	13	1.34	
<b>Variante Foliculotropa</b>	No	57	15	1,00	0,06
	Si	3	1	1,2	
<b>Afectación perivascular</b>	Ausente	66	16	1.00	0.812
	Presente	14	2	0.83	
<b>Densidad del infiltrado en dermis</b>	Intenso	44	14	1.00	0.191
	Leve	42	7	0.55	
<b>Mucinosiis folicular</b>	Ausente	55	13	1.00	0.706
	Presente	5	2	1.34	

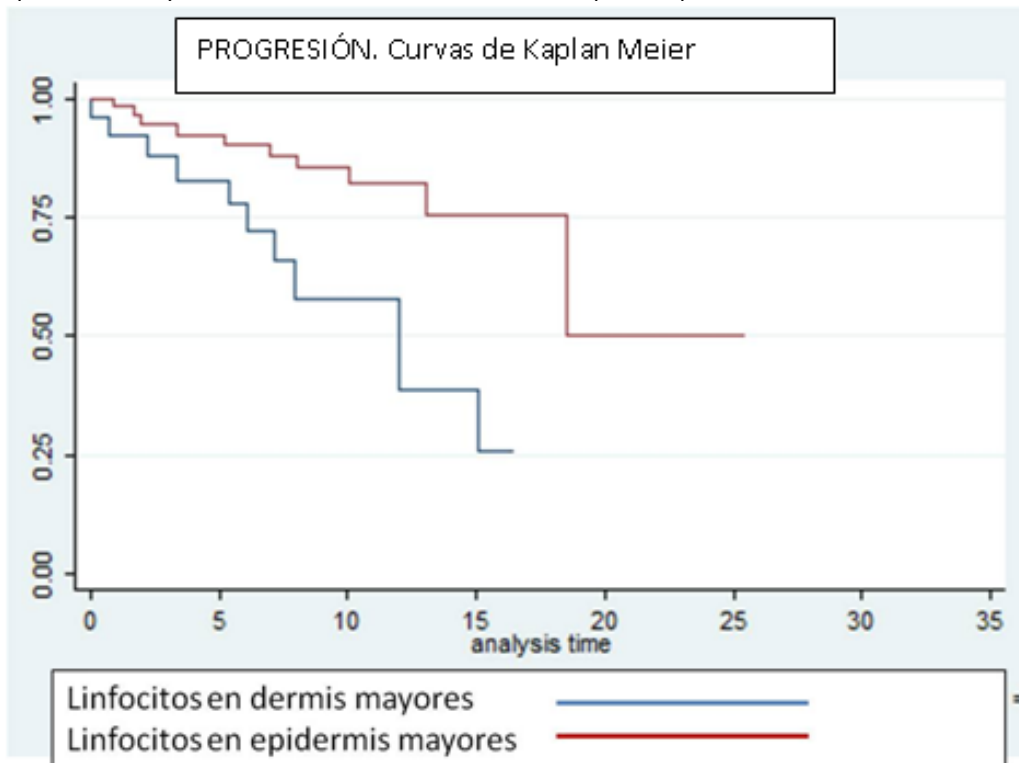
**Gráfico 18 Curvas de tiempo hasta la progresión estratificando según la variable histopatológica atipia en las células neoplásicas**

Para recoger los datos utilizamos tres grados de atipia, para el análisis de significación estadística comparando las curvas, agrupamos atipia leve y moderado en GRADO BAJO. Tal como se expresa en la tabla anterior y obtuvimos diferencias significativas  $p < 0,05$  mediante long-rank test



**Gráfico 19 Curvas de tiempo hasta la progresión estratificando según la variable histopatológica linfocitos en dermis mayor tamaño que en epidermis**

Resultó significativa la diferencia en la progresión siendo más frecuente que progresen los que tienen mayor tamaño de los linfocitos en dermis que en epidermis



**IX.2.3. VARIABLES INMUNOHISTOQUÍMICAS RELACIÓN CON SUPERVIVENCIA Y PROGRESIÓN A ESTADIOS MÁS AVANZADOS**

**IX.2.3.1. Supervivencia**

*IX.2.3.1.1. Supervivencia global (considerando muertes por todas las causas)*

Tres de las variables estudiadas resultaron estadísticamente significativas para detectar diferencias supervivencia de los pacientes:

1. La presencia de linfocitos CD4 en dermis, resultó factor protector
2. La expresión de **CD30 en los linfocitos neoplásicos de la epidermis** resultó afectar negativamente a la supervivencia
3. La **negatividad para bcl2 también disminuye** la supervivencia.

Sin embargo sólo los dos últimos factores resultaron también significativos cuando restringimos el análisis de supervivencia, estudiando los pacientes que habían muerto sólo por evolución de su enfermedad.

**Tabla 24. Factores pronósticos inmunohistoquímicos de supervivencia global considerando cualquier causa de muerte**

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
CD4 en epidermis	Escaso	40	8	1.00	0.951
	Abundante	34	7	1.03	
CD4 en dermis	Abundante	59	8	1.00	0.038
	Escaso	20	7	2.95	
CD8 en epidermis	Escaso	65	13	1.00	0.439
	Abundante	18	2	0.55	
CD8 en dermis	Escaso	56	11	1.00	0.811
	Abundante	29	5	1.14	
CD5 en epidermis	Escaso	41	7	1.00	0.697
	Abundante	38	9	1.22	
CD5 en dermis	Abundante	57	10	1.00	0.447
	Escaso	28	6	1.48	
CD7 en epidermis	Escaso	73	13	1.00	0.480
	Abundante	10	3	1.57	
CD7 en dermis	Abundante	25	6	1.00	0.532
	Escaso	62	10	0.71	
CD30 en epidermis	Escaso	69	10	1.00	0.028
	Abundante	15	7	3.04	
CD30 en dermis	Escaso	76	13	1.00	0.249
	Abundante	11	4	1.94	
CD 54 en epidermis	Escaso	54	8	1.00	0.102
	Abundante	23	7	2.37	
CD54 en dermis	Abundante	47	10	1.00	0.425
	Escaso	36	5	0.65	
FOXP-3 en epidermis	Escaso	66	11	1.00	0.765
	Abundante	16	4	1.19	

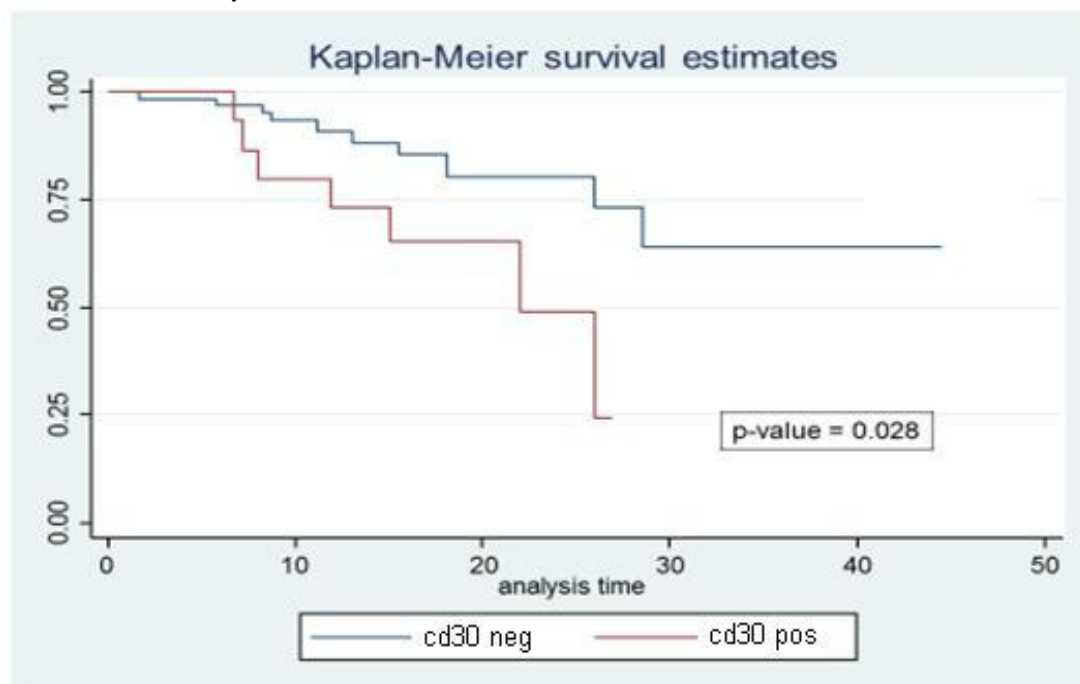
VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
FOXP-3 en dermis	Escaso	66	11	1.00	0.765
	Abundante	16	4	1.19	
TCR-BF1	Abundante	62	12	1.00	0.808
	Escaso	13	3	1.17	
Bcl-2 en linfocitos de epidermis	Abundante	53	8	1.00	0.041
	Escaso	30	8	2.87	
Bcl-2 en linfocitos de la dermis	Abundante	74	14	1.00	0.865
	Escaso	13	2	1.14	
CD123 en epidermis	Escaso	77	14	1.00	0.712
	Abundante	8	2	1.32	
TIA-1 en epidermis	Escaso	55	12	1.00	0.338
	Abundante	26	3	0.54	
TIA-1 en dermis	Abundante	50	10	1.00	0.335
	Escaso	35	5	0.59	
Cd25 en dermis	Abundante	76	12	1.00	0.852
	Escaso	6	1	0.82	
ki67 en epidermis	Escaso	50	5	1.00	0.181
	Abundante	13	4	2.59	
ki67en dermis	Escaso	61	8	1.00	0.078
	Abundante	23	7	2.50	
IKB en dermis	Escaso	7	3	1.00	0.194
	Abundante	59	12	0.42	
zap70 en epidermis	Escaso	19	2	1.00	0.239
	Abundante	55	13	2.48	
ZAp70 en dermis	Abundante	84	15	1.00	0.293
	Escaso	2	0		

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
CD95 en epidermis	Abundante	53	9	1.00	0.680
	Escaso	10	1	0.64	
STAT-1 nuclear epidermis	Escaso	39	7	1.00	0.939
	Abundante	39	6	0.96	
STAT-1 citoplásmico en epidermis	Escaso	36	7	1.00	0.779
	Abundante	42	6	0.86	
STAT-1 nuclear dermis	Abundante	63	10	1.00	0.588
	Escaso	23	6	1.33	
STAT-1 citoplásmico en dermis	Abundante	64	11	1.00	0.930
	Escaso	21	5	0.95	
P16 núcleos de epidermis	Abundante	61	12	1.00	0.831
	Escaso	9	2	0.85	
MAL epidermis	Escaso	53	9	1.00	0.346
	Abundante	23	6	1.65	
MAL dermis	Abundante	40	9	1.00	0.350
	Escaso	44	6	0.61	
STAT4 nuclear epidermis	Abundante	63	12	1.00	0.413
	Escaso	14	1	0.42	
STAT4 nuclear dermis	Abundante	71	13	1.00	0.157
	Escaso	12	0		
STAT 3 citoplásmico epidermis	Abundante	54	12	1.00	0.370
	Escaso	22	3	0.54	
STAT 3 nuclear en epidermis	Escaso	23	3	1.00	0.326
	Abundante	53	12	1.89	
STAT 3 citoplásmico en dermis	Abundante	72	11	1.00	0.110
	Escaso	14	5	2.38	
STAT 3 nuclear en dermis	Escaso	11	2	1.00	0.894
	Abundante	72	13	0.90	

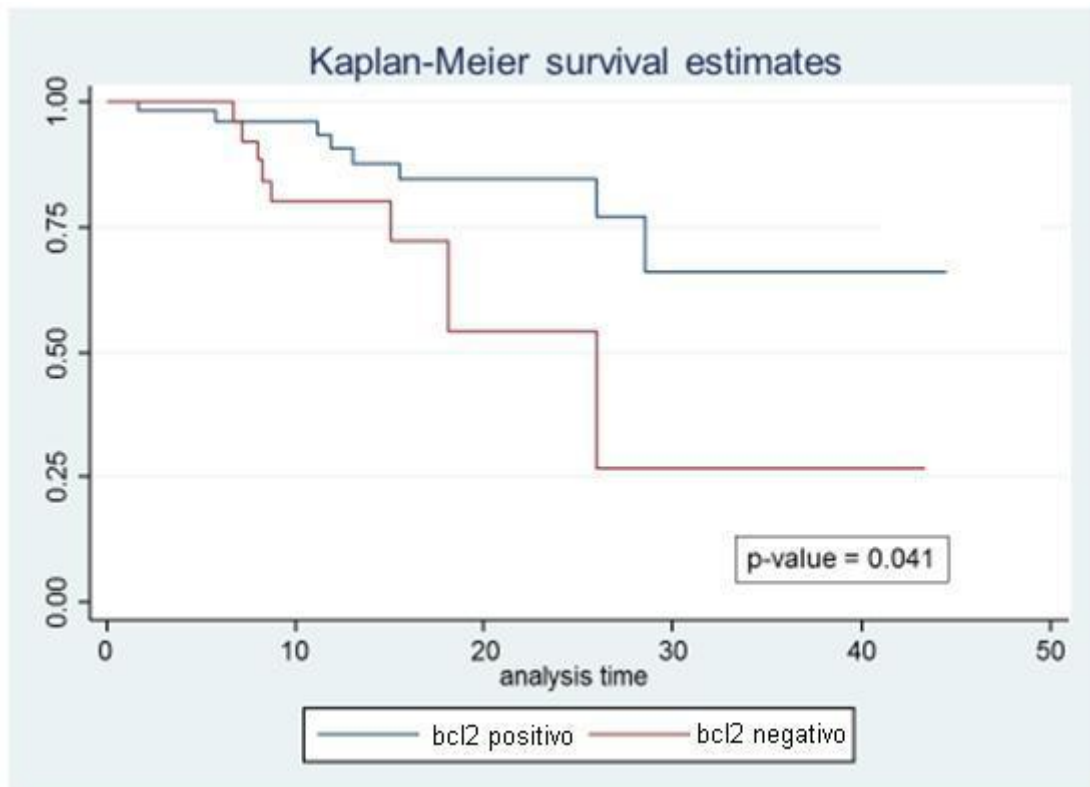
Tabla 25 Análisis bivariante de la supervivencia global

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
MAL y CD30 en epidermi	NegMAL-NegCD30	45	6	1.00	
	PosMAL-NegCD30	17	3	1.31	0.702
	NegatMAL-Pos CD30	8	3	2.09	0.299
	Positivo MAL +CD30	5	3	5.17	0.026
MAL y CD30 en dermis	NegMAL-NegCD30	48	8	1.00	
	PosMAL-NegCD30	18	3	0.93	0.910
	NegatMAL-Pos CD30	5	1	0.96	0.967
	Positivo MAL +CD30	5	3	5.88	0.014
CD30 y bcl-2 en epidermis	NegCD30-NegBcl2	17	4	1	
	PosCD30-Negbcl2	6	4	1,74	0,4
	NegatCD30-Pos bcl2	45	6	0,51	0,1
	PosCD30-Pos Bcl2	8	2	0,47	0,009

Gráfico 20. Distribución del tiempo de supervivencia por todas las causas respecto al factor pronóstico CD30

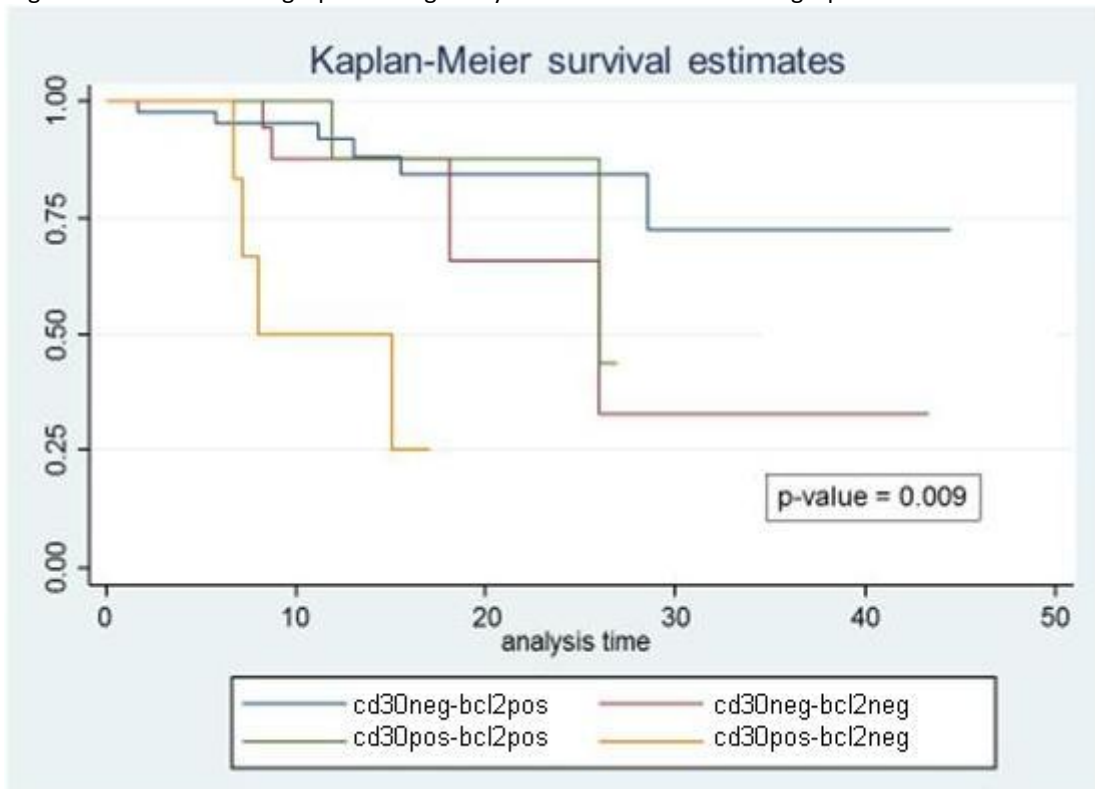


**Gráfico 21. Distribución del tiempo de supervivencia por todas las causas respecto al factor pronóstico bcl2 en epidermis**



**Gráfico 22. Distribución del tiempo de supervivencia estratificando con los dos posibles factores Bcl2 y CD30 en células neoplásicas de la epidermis.**

Se observa que la magnitud de la asociación es más fuerte para el grupo de CD30 positivo y bcl2 negativo. Se establece un grupo de riesgo muy bien diferenciado en este grupo



### IX.2.3.2. Supervivencia considerando muertes por enfermedad (Tabla 26)

Dado que existe un sesgo al realizar estudios de supervivencia si se considera la muerte por todas las causas, estudiamos los mismos factores considerando solo muertes debidas a la enfermedad.

- No existió asociación entre la expresión incrementada de CD4 en dermis como factor protector
- Existe un mayor riesgo de muerte por enfermedad (valorada como el tiempo hasta la muerte por enfermedad respecto al tiempo de seguimiento o de muerte por otras causas) en los casos en que los linfocitos intraepidérmicos son CD30 positivos (más de 30% de células positivas en epidermis)
- La **negatividad para bcl2** en las células neoplásicas de la epidermis, es un factor que se relaciona con un mayor riesgo de muerte por enfermedad
- El marcador **PD1** resulto asociado con un mal pronóstico. Fue significativo para predecir una peor supervivencia en muertes por enfermedad tanto cuando era muy positivo en epidermis como cuando era muy positivo en dermis, resultó ser de mal pronóstico, aunque la magnitud de la asociación fue débil (H.R 1,17 y H.R. 1,2 en epidermis y dermis respectivamente)

**Tabla 26 Análisis de los factores pronósticos inmunohistoquímicos según la supervivencia considerando sólo las muertes por enfermedad**

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
CD4 en epidermis	Escaso	40	12	1.00	0.406
	Abundante	34	8	0.68	
CD4 en dermis	Abundante	59	14	1.00	0.365
	Escaso	20	7	1.53	
CD8 en epidermis	Escaso	65	6	1.00	0.795
	Abundante	18	2	1.24	
CD8 en dermis	Escaso	56	4	1.00	0.167
	Abundante	29	4	2.67	
CD5 en epidermis	Escaso	41	3	1.00	0.521
	Abundante	38	5	1.60	
CD5 en dermis	Abundante	57	6	1.00	0.837
	Escaso	28	2	0.85	

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
CD7 en epidermis	Abundante	73	7	1.00	0.990
	Escaso	10	1	1.01	
CD7 en dermis	Escaso	25	8	1.00	0.050
	Abundante	62	4	0.6	
CD30 en epidermis	Escaso	69	4	1.00	0.028
	Abundante	15	4	5.39	
CD30 en dermis	Escaso	76	5	1.00	0.063
	Abundante	11	3	3.89	
CD 54 en epidermis	Escaso	54	5	1.00	0.501
	Abundante	23	3	1.64	
CD54 en dermis	Abundante	47	4	1.00	0.743
	Escaso	36	4	1.26	
FOXP-3 en epidermis	Escaso	66	6	1.00	0.376
	Abundante	16	2	2.96	
FOXP-3 en dermis	Escaso	66	6	1.00	0.915
	Abundante	16	2	1.09	
TCR-BF1	Abundante	62	6	1.00	0.569
	Escaso	13	2	1.60	
Bcl-2 en linfocitos de epidermis	Abundante	53	3	1.00	0.029
	Escaso	30	5	5.12	
Bcl-2 en linfocitos de la dermis	Abundante	74	7	1.00	0.863
	Escaso	13	1	1.20	
CD123 en epidermis	Escaso	77	6	1.00	0.160
	Abundante	8	2	3.16	
TIA-1 en epidermis	Escaso	55	6	1.00	0.759
	Abundante	26	2	0.78	
TIA-1 en dermis	Abundante	50	6	1.00	0.242
	Escaso	35	2	0.38	
Cd25 en dermis	Abundante	76	7	1.00	0.400
	Escaso	6	0		

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
ki67 en epidermis	Escaso	50	5	1.00	0.181
	Abundante	13	4	2.59	
ki67en dermis	Escaso	61	5	1.00	0.479
	Abundante	23	3	1.68	
IKB en dermis	Escaso	7	2	1.00	0.152
	Abundante	59	6	0.30	
ZAP70 en epidermis	Escaso	19	2	1.00	0.839
	Abundante	55	6	1.19	
ZAP70 en dermis	Abundante	84	8	1.00	0.411
	Escaso	2	0		
CD95 en epidermis	Abundante	53	5	1.00	0.382
	Escaso	10	0		
STAT-1 nuclear epidermis	Escaso	39	4	1.00	0.823
	Abundante	39	3	0.84	
STAT-1 citoplásmico en epidermis	Escaso	36	4	1.00	0.715
	Abundante	42	3	0.76	
STAT-1 nuclear dermis	Abundante	63	6	1.00	0.657
	Escaso	23	2	0.69	
STAT-1 citoplásmico en dermis	Abundante	64	6	1.00	0.583
	Escaso	21	2	0.63	
P16 núcleos de epidermis	Abundante	61	8	1.00	0.219
	Escaso	9	0		
MAL epidermis	Escaso	53	4	1.00	0.210
	Abundante	23	4	2.44	
MAL dermis	Abundante	40	5	1.00	0.404
	Escaso	44	3	0.54	

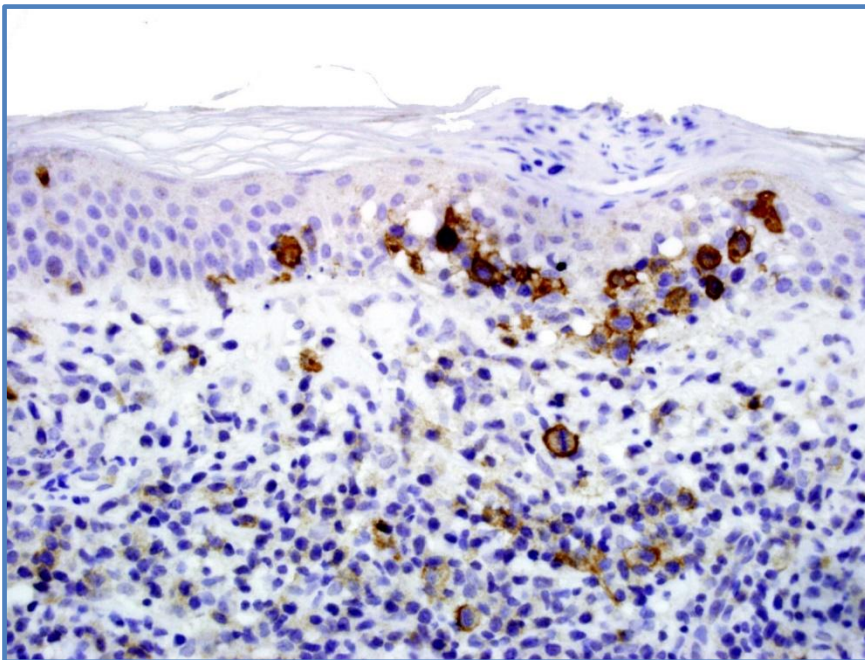
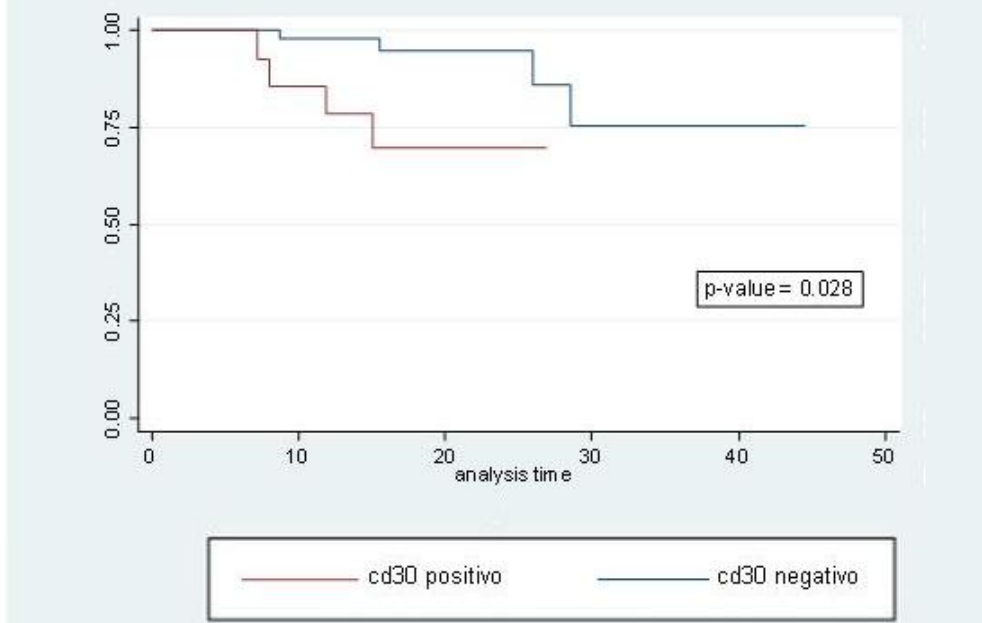
VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
STAT4 nuclear epidermis	Abundante	63	6	1.00	0.285
	Escaso	14	0		
STAT4 nuclear dermis	Abundante	71	6	1.00	0.340
	Escaso	12	0		
STAT 3 citoplásmico epidermis	Abundante	54	7	1.00	0.312
	Escaso	22	1	0.32	
STAT 3 nuclear en epidermis	Escaso	23	2	1.00	0.696
	Abundante	53	6	1.38	
STAT 3 citoplásmico en dermis	Abundante	72	6	1.00	0.523
	Escaso	14	2	1.69	
STAT 3 nuclear en dermis	Escaso	11	1	1.00	0.977
	Abundante	72	7	0.97	
PD1 epidermis	Escaso			1,00	0.17
	Abundante			No valorable	
PD1 dermis	Escaso			1,00	0.07
	Abundante			No valorable	

**Tabla 27 Análisis bivariante de la supervivencia global**

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
MAL y CD30 en epidermis	NegMAL-NegCD30	48	4	1.00	0.675
	PosMAL-NegCD30	18	1	0.62	
	NegatMAL-Pos CD30	5	0		
	PosMAL +CD30pos	5	1	7.53	
MAL y CD30 en dermis	NegMAL-NegCD30d	48	4	9	0,001
	NegatMAL-Pos CD30	5	0	No eventos	
	PosMAL-NegCD30	18	1	0,61	
	Positivo MAL +CD30	5	3	21,9	
CD30 y bcl-2 en epidermis	NegCD30-NegBcl2	23	2	1	0,02
	PosCD30-Negbcl2	7	3	9,5	
	NegatCD30-Pos bcl2	43	2	0,2	
	PosCD30-Pos Bcl2	8	1	0,8	

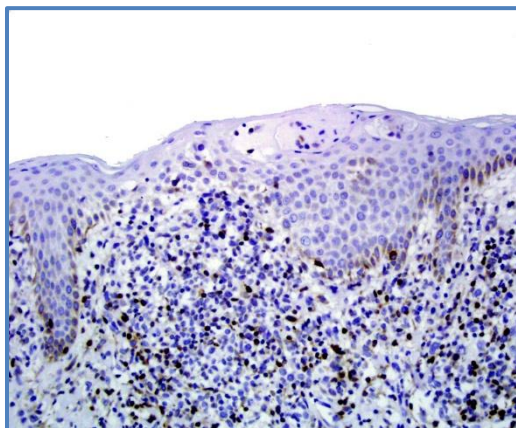
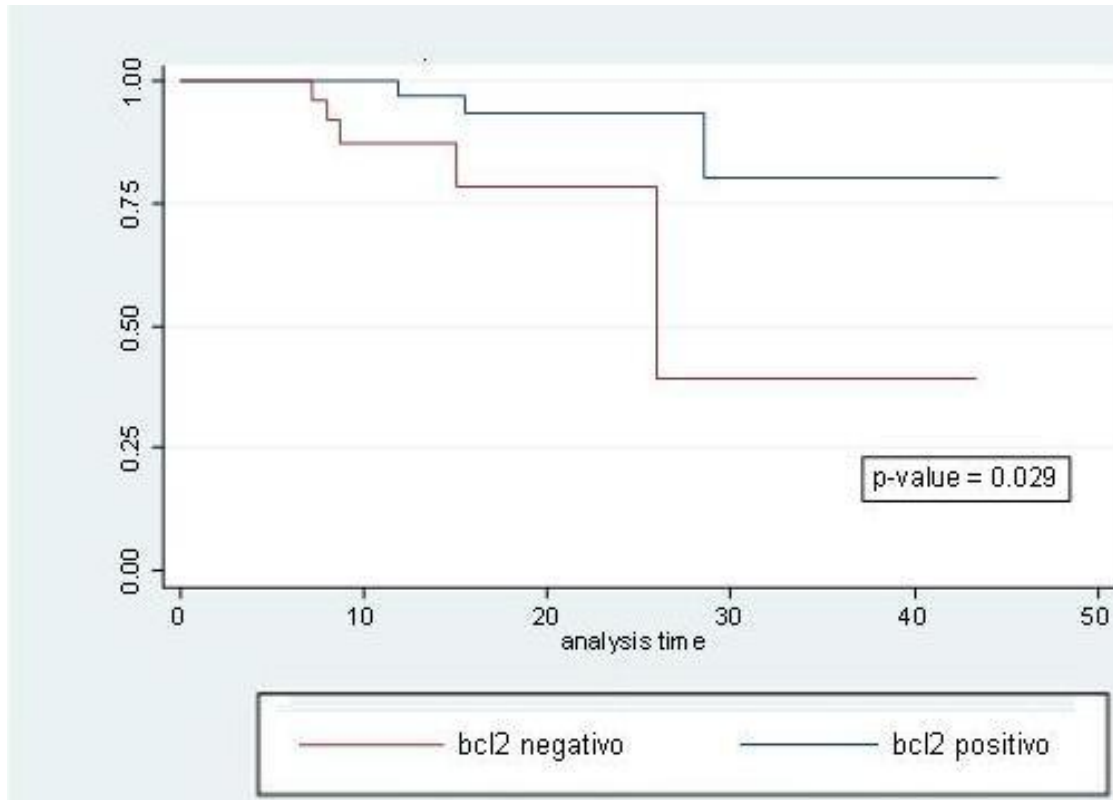
**Gráfico 23. Distribución de la supervivencia considerando muertes por enfermedad según el factor pronóstico CD30 expresado en epidermis**

Supervivencia por enfermedad según expresión de CD30 en epidermis. Kaplan Meier

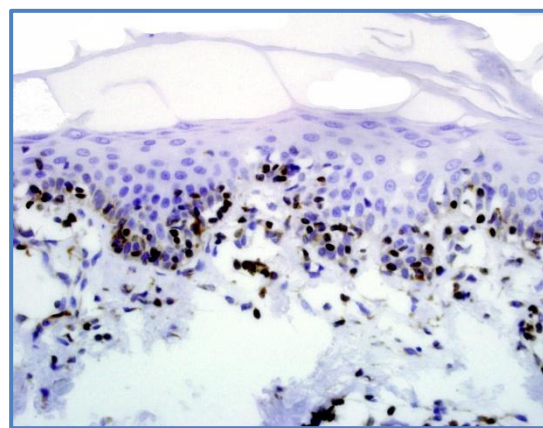


**Imagen histológica 20. Tinción IHQ CD30 epidermis.** Las células neoplásicas presentaron tinción membranosa en más del 30%. se asocia a mal pronóstico.

**Gráfico 24. Distribución de la supervivencia considerando muertes por enfermedad según el factor pronóstico Bcl-2** Supervivencia por enfermedad según expresión de Bcl2 en epidermis. Kaplan Meier



**Imagen histológica 21. Tinción IHQ para bcl2. Negativo** en microabcesos de Pautrier. Peor pronóstico  $p < 0,05$

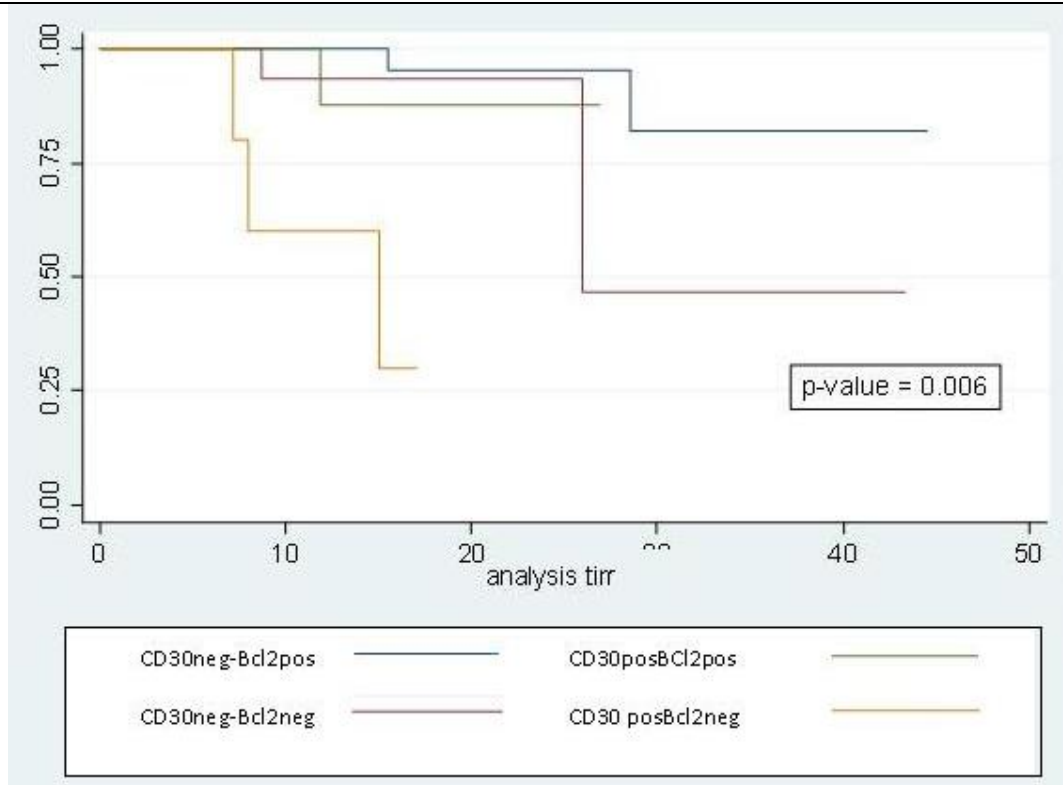


**Imagen histológica 22. Tinción IHQ para bcl2. Positivo** en epidermis. Mejor pronóstico  $p < 0,05$

### Gráfico 25. Distribución del tiempo de supervivencia para los grupos estratificados según sus factores de riesgo CD30 y Bcl2 en epidermis

Se observa que la curva amarilla que corresponde a CD30 positivo y bcl2 negativo (factor protector) diferencia un conjunto de pacientes con una supervivencia más corta.

Supervivencia por enfermedad según expresión de CD30 en epidermis. Kaplan Meier



#### IX.2.3.3. Análisis de la Progresión desde el Inicio (Tabla 28)

Hemos observado que la expresión de tres proteínas estudiadas mediante inmunohistoquímica predicen diferencias en la progresión de los pacientes:

- La expresión intensa de **CD30 en las células de la dermis** resultó significativa para determinar un mayor riesgo de progresión, aunque el incremento del riesgo (magnitud de la asociación) no fue muy elevado (Hazard Ratio 2,53)
- El valor de **Ki67** (valorado como expresión mayor del 15% en los núcleos de las células dérmicas) resultó estar asociada a un mayor riesgo de progresión. (Hazard ratio 3,33)
- La expresión intensa de **MAL en linfocitos neoplásicos de epidermis** se asoció a un mayor riesgo de progresión. (Hazard Ratio 3,1)
- El nuevo marcador **PD1 expresado en epidermis y en dermis** se asoció a mayor riesgo de progresión con un Hazard Ratio de 5,3 y 5,5 respectivamente y significación estadística  $p < 0,05$

**Tabla 28 Análisis de las variables inmunohistoquímicas y su relación con la progresión**

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
CD4 en epidermis	Escaso	40	12	1.00	0.406
	Abundante	34	8	0.68	
CD4 en dermis	Abundante	59	14	1.00	0.365
	Escaso	20	7	1.53	
CD8 en epidermis	Escaso	65	14	1.00	0.904
	Abundante	18	4	0.93	
CD8 en dermis	Escaso	56	13	1.00	0.659
	Abundante	29	7	1.23	
CD5 en epidermis	Escaso	41	10	1.00	0.901
	Abundante	38	10	1.06	
CD5 en dermis	Abundante	57	14	1.00	0.989
	Escaso	28	6	1.01	
CD7 en epidermis	Escaso	73	20	1.00	0.561
	Abundante	10	2	0.65	
CD7 en dermis	Abundante	25	6	1.00	0.516
	Escaso	62	16	1.39	
CD30 en epidermis	Escaso	69	17	1.00	0.653
	Abundante	15	5	1.26	
CD30 en dermis	Escaso	76	17	1.00	0.045
	Abundante	11	5	2.53	
CD 54 en epidermis	Escaso	54	15	1.00	0.419
	Abundante	23	4	0.63	
CD54 en dermis	Abundante	47	9	1.00	0.253
	Escaso	36	11	1.67	
FOXP-3 en epidermis	Escaso	65	17	1.00	0.797
	Abundante	16	4	0.85	
FOXP-3 en dermis	Escaso	66	17	1.00	0.649
	Abundante	16	4	0.78	

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
TCR-BF1	Abundante	62	16	1.00	0.948
	Escaso	13	3	0.96	
Bcl-2 en linfocitos de epidermis	Abundante	53	13	1.00	0.283
	Escaso	30	9	1.61	
Bcl-2 en linfocitos de la dermis	Abundante	74	19	1.00	0.973
	Escaso	13	3	1.02	
CD123 en epidermis	Escaso	77	18	1.00	0.492
	Abundante	8	3	1.54	
TIA-1 en epidermis	Escaso	55	14	1.00	0.727
	Abundante	26	5	0.83	
TIA-1 en dermis	Abundante	50	11	1.00	0.871
	Escaso	35	9	0.93	
CD25 en dermis	Abundante	76	16	1.00	0.342
	Escaso	6	2	2.07	
ki67 en epidermis	Escaso	50	8	1.00	0.383
	Abundante	13	4	1.81	
ki67en dermis	Escaso	61	10	1.00	0.007
	Abundante	23	10	3.33	
IKB en dermis	Escaso	7	2	1.00	0.776
	Abundante	59	13	0.80	
Zap70 en epidermis	Escaso	19	3	1.00	0.177
	Abundante	55	14	2.45	
Zap70 en dermis	Abundante	84	21	1.00	0.158
	Escaso	2	0		
CD95 en epidermis	Abundante	53	11	1.00	0.688
	Escaso	10	2	1.37	
STAT-1 nuclear epidermis	Escaso	39	11	1.00	0.528
	Abundante	39	7	0.74	

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
STAT-1 citoplásmico en epidermis	Escaso	36	10	1.00	0.707
	Abundante	42	8	0.84	
STAT-1 nuclear dermis	Abundante	63	17	1.00	0.414
	Escaso	23	5	0.66	
STAT-1 citoplásmico en dermis	Abundante	64	17	1.00	0.352
	Escaso	21	5	0.62	
P16 núcleos de epidermis	Abundante	61	15	1.00	0.519
	Escaso	9	2	0.61	
MAL epidermis	Escaso	53	9	1.00	0.011
	Abundante	23	10	3.35	
MAL dermis	Abundante	40	12	1.00	0.287
	Escaso	44	9	0.62	
STAT4 nuclear epidermis	Abundante	63	17	1.00	0.253
	Escaso	14	1	0.31	
STAT4 nuclear dermis	Abundante	71	19	1.00	0.306
	Escaso	12	1	0.35	
STAT 3 citoplásmico epidermis	Abundante	34	8	1.00	0.835
	Escaso	42	12	0.89	
STAT 3 nuclear en epidermis	Escaso	23	7	1.00	0.861
	Abundante	53	13	0.92	
STAT 3 citoplásmico en dermis	Abundante	72	19	1.00	0.644
	Escaso	14	3	0.75	
STAT 3 nuclear en dermis	Abundante	11	2	1.00	0.494
	Escaso	72	19	1.67	
PD1 epidermis	Escaso	50	6	1,00	0,007
	Abundante	12	4	5,1	

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
PD1 dermis	Escaso	53	7	1,00	
	Abundante	9	3	5,7	0.0352

**Tabla 29 Análisis bivariante de la progresión**

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
MAL y CD30 en epidermis	NegMAL-NegCD30	45	8	1.00	
	PosMAL-NegCD30	17	6	2.44	0.110
	NegatMAL-Pos CD30	8	1	0.54	0.569
	Positivo MAL -posCD30	5	4	6.60	0.004
MAL y CD30 en dermis	NegMAL-NegCD30	48	9	1.00	
	PosMAL-NegCD30	18	6	2.04	0.189
	NegatMAL-Pos CD30	5	0		0.287
	Positivo MAL- PosCD30	5	4 1	0.61	0.0004
PD1 epidermis y Ki67 en dermis	NegCD30-BajoKi67	52	9	1	
	PosCD30-BajoKi67	7	1	0,94	0,9
	NegCD30-Alto Ki67	9	7	5,68	0,001
	PosCD30-AltoKi67	3	3	3,97	0,01
Ki67 en dermis y PD1 epidermis	Bajo Ki67 y negPD1	41	5	1	
	Alto Ki67y PosPD1	9	1	1,33	0,79
	Bajo Ki67 y Neg PD1	6	1	1,85	0,58
	Alto Ki67 y pos PD1	6	3	16,3	0,001
Cd30 epidermis y PD1d en dermis	NegCD30-Neg PD1	28	2	1	
	PosCD30-NegPD1	5	1	4,2	
	NegCD30-PosPD1	23	2	0,8	
	PosCD30-PosPD1	4	1	2,8	0,61
Cd30 epidermis y PD1 en epidermis	NegCD30-Neg PD1	42	5	1	
	PosCD30-NegPD1	6	1	2,3	
	NegCD30-PosPD1	9	3	6,3	
	PosCD30-PosPD1	3	1	4,0	0,14
Cd30 dermis y PD1 en dermis	NegCD30-Neg PD1	31	2	1	
	PosCD30-NegPD1	3	1	3,8	
	NegCD30-PosPD1	23	5	4,6	
	PosCD30-PosPD1	8	2	8,4	0,09

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
CD30 dermis y PD1 epidermis	NegCD30-Neg PD1	45	5	1	0,16
	PosCD30-NegPD1	4	1	10,4	
	NegCD30-PosPD1	9	2	2,7	
	PosCD30-PosPD1	5	2	6,9	
CD30 dermis y Ki67 dermis	NegCD30-Bajo Ki67	59	9		0,0069
	PosCD30-Bajo ki67	17	6	5,4	
	NegCD30-AltoKi67	4	1	2,3	
	PosCD30-Altoki67	11	4	6,2	

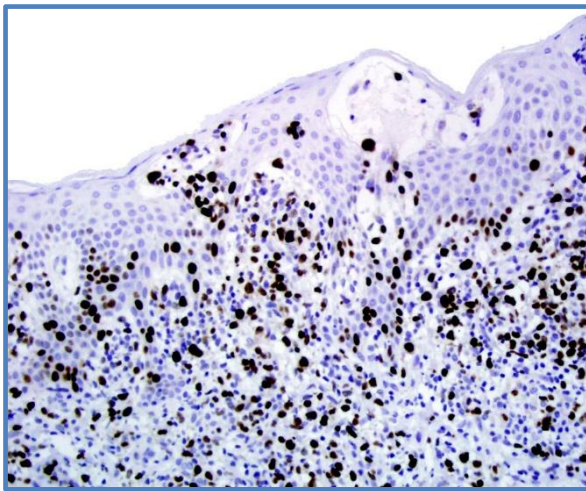


Imagen histológica 24. Tinción IHQ para Ki67. Positividad de más del 15% de las células de la dermis. Aumenta el riesgo de progresión.

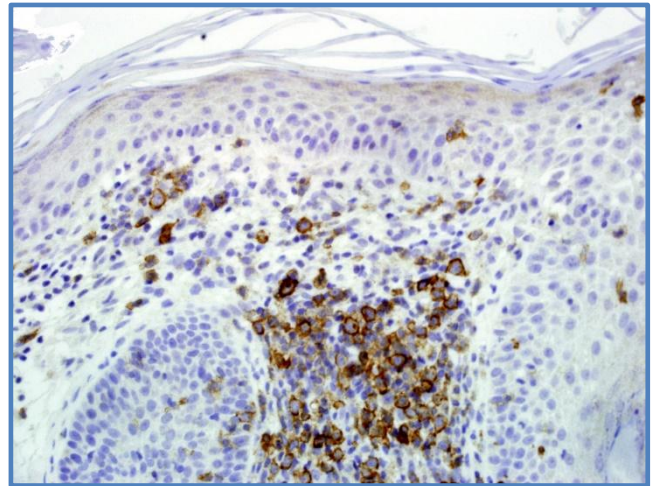
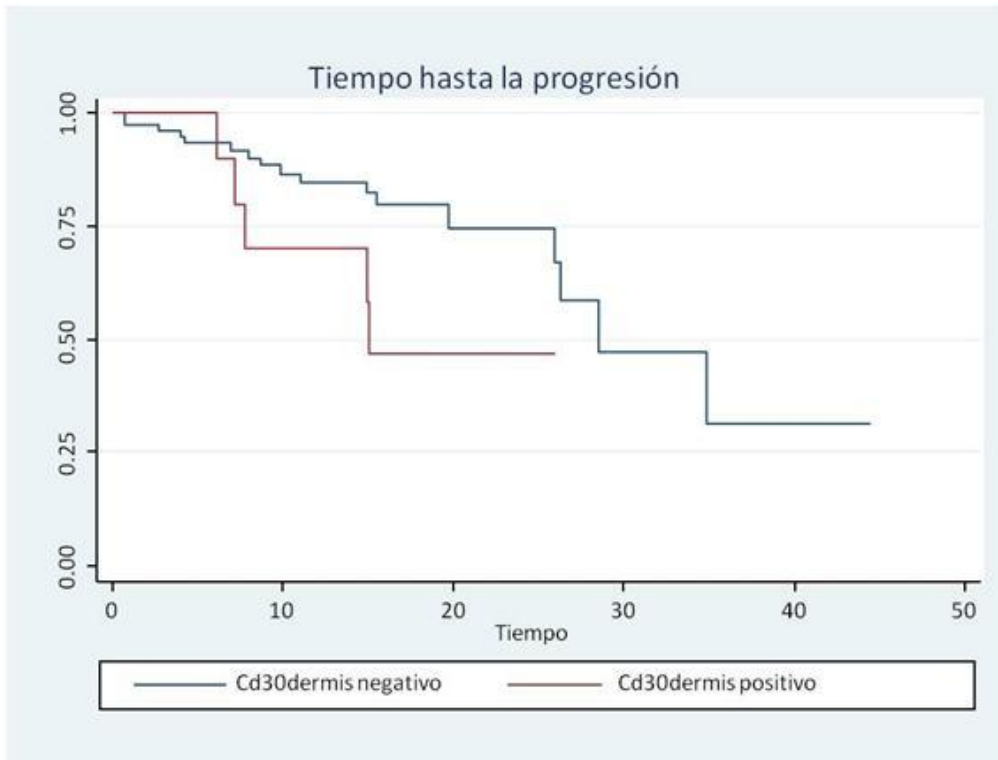


Imagen histológica 23. tinción IHQ para CD30. Positividad membranosa en más del 30% de células . Aumenta el riesgo de progresión.

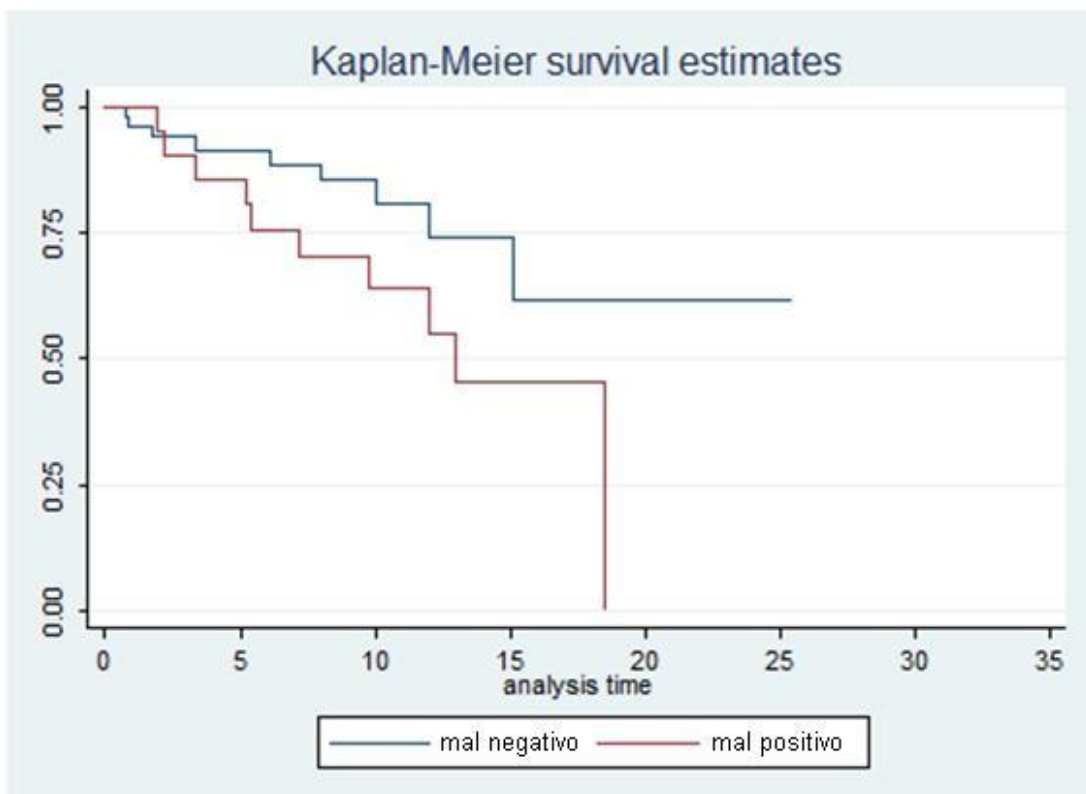
### Gráfico 26 Distribución de la progresión según la positividad a CD30 en dermis. Este parámetro es un factor predictor de mal pronóstico

Cuando es positivo en células , la mayoría neoplásicas de la dermis, los pacientes progresa más rápidamente.



**Gráfico 27 Distribución de la progresión según la positividad a Mal que resulta un factor predictor de mal pronóstico**

Cuando es positivo en células neoplásicas de la epidermis, los pacientes tardan menos tiempo hasta la progresión



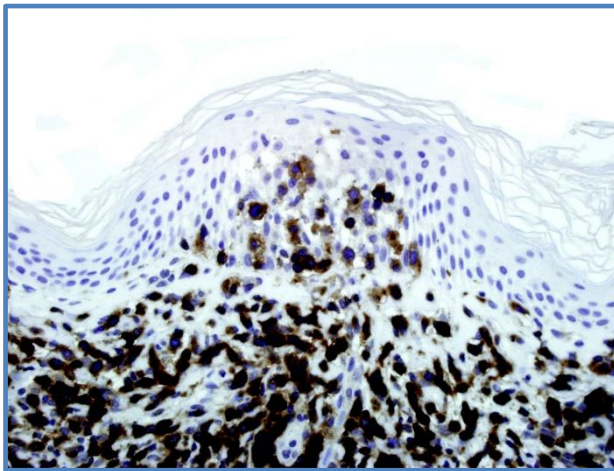


Imagen Histológica 28. Inmunotinción para la proteína MAL. Positivo en epidermis.

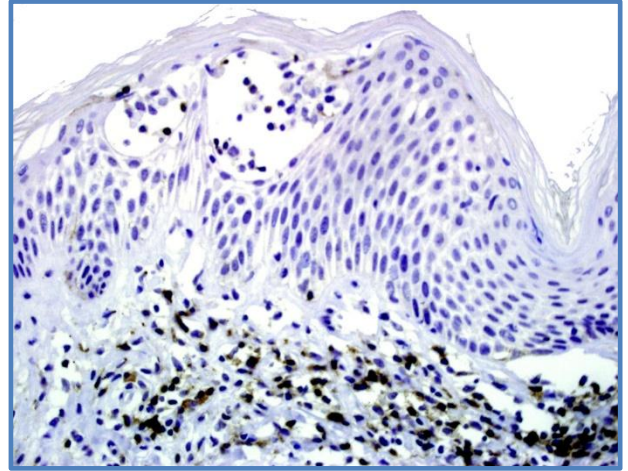
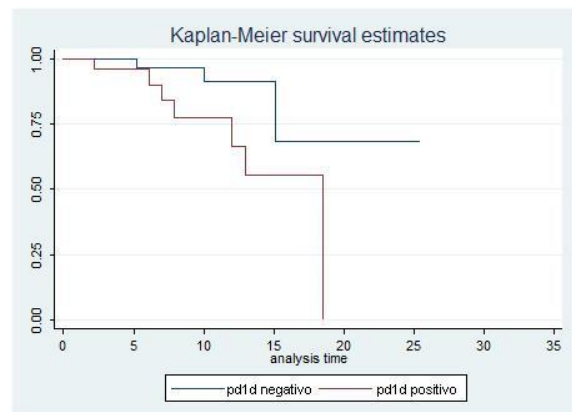
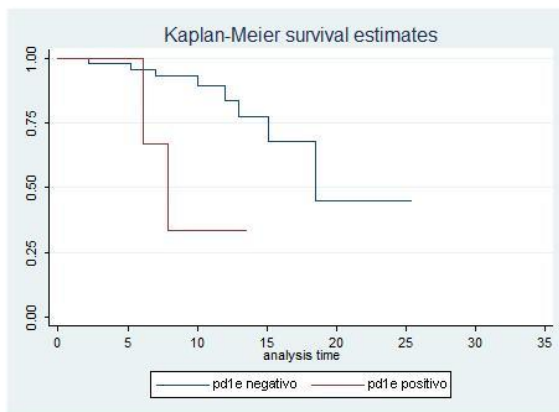
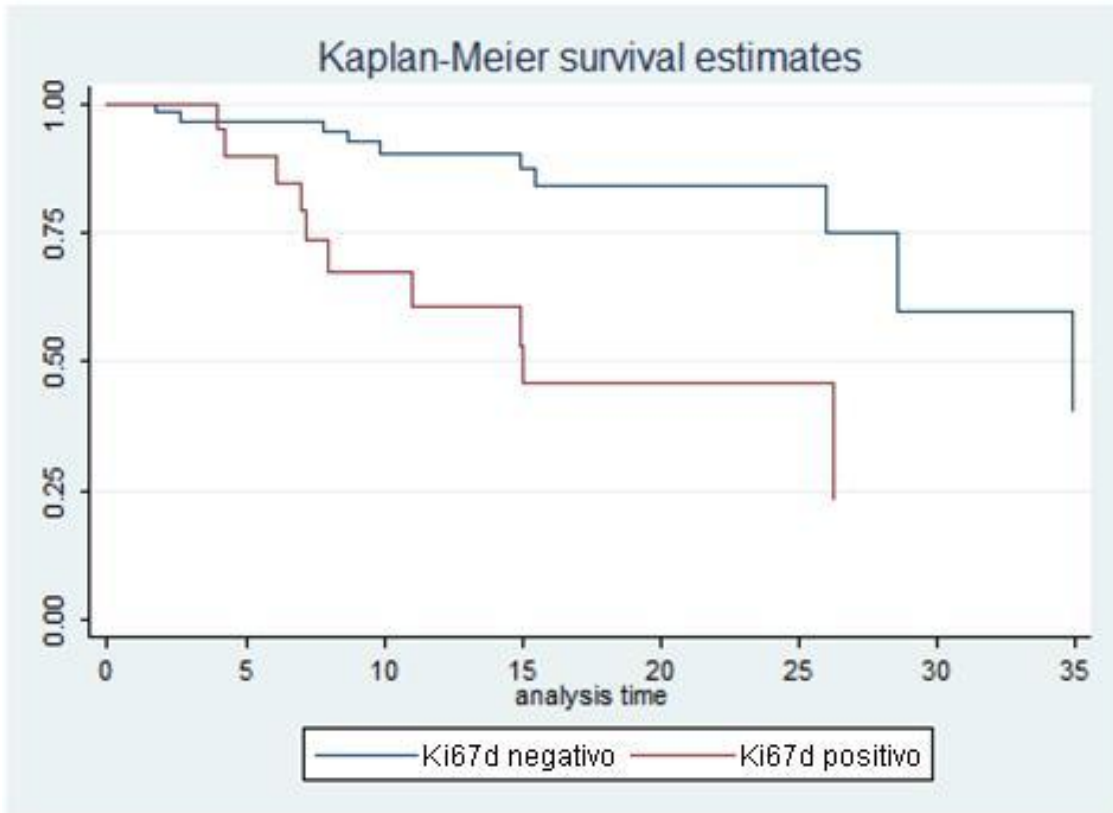


Imagen Histológica 28. Inmunotinción para la proteína MAL. Negativo en epidermis.

**Gráfico 28 y Gráfico 29. Distribución de la progresión según la positividad a PD1 ya sea valorada en las células neoplásicas localizadas en la epidermis o en la dermis**  
 Cuando es positivo intenso (>30% de células positivas) en cualquiera de las localizaciones, los pacientes progresan más rápidamente.

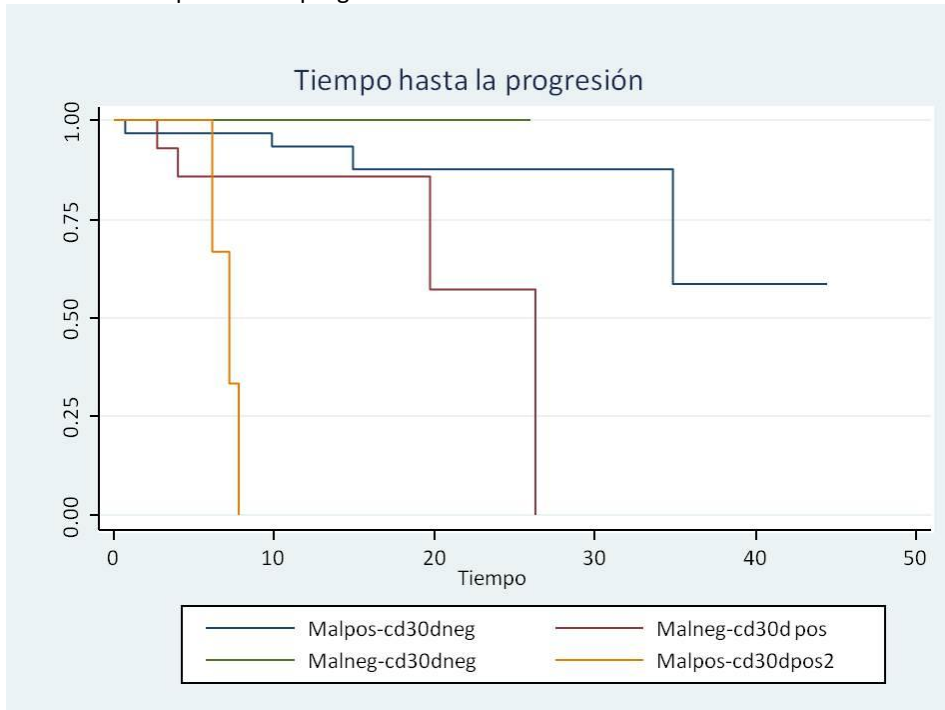


**Gráfico 30. Distribución del tiempo de progresión según la presencia de células positivas para Ki67 (>30%) localizadas en dermis**



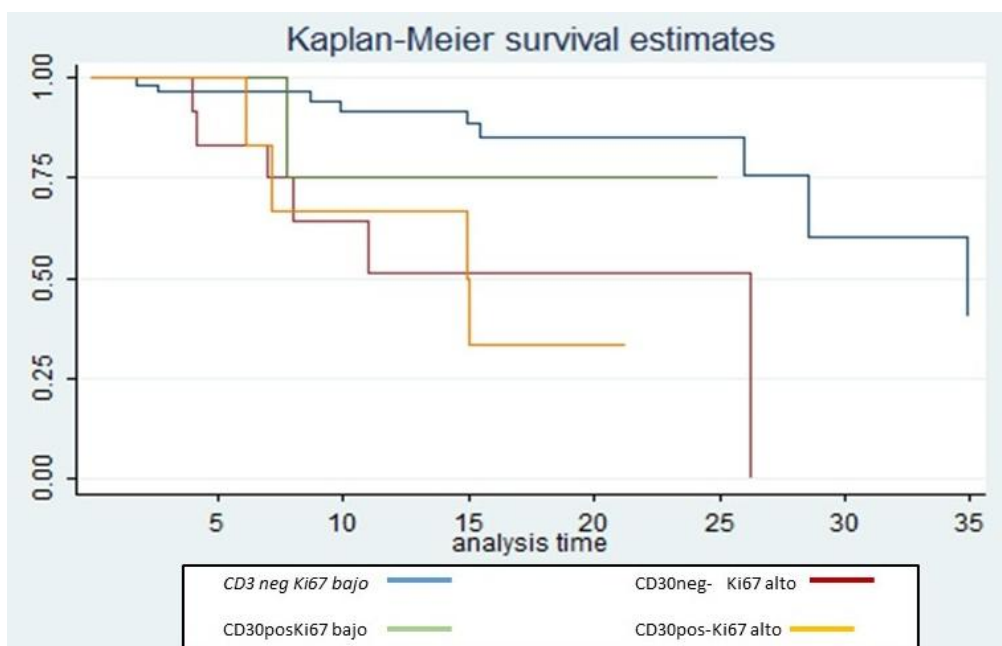
**Gráfico 31. Distribución del tiempo de progresión estratificando por dos de los factores con mayor asociación, MAL y CD30**

Se observa que cuando ambos son muy positivos (Mal en células neoplásicas de epidermis y CD30 en células neoplásicas de dermis) se puede discriminar un subgrupo con menor tiempo hasta la progresión



**Gráfico 32 Tiempo de supervivencia por enfermedad en todo los estadios cuando se agrupan los pacientes según las dos variables CD30 en dermis y Ki67 en dermis.**

Se observa que el grupo de CD30 negativo y Ki67 bajo tiene mejor pronóstico. El grupo de peor pronóstico es el de CD30 positivo en dermis y Ki67 alto  $p < 0,05$



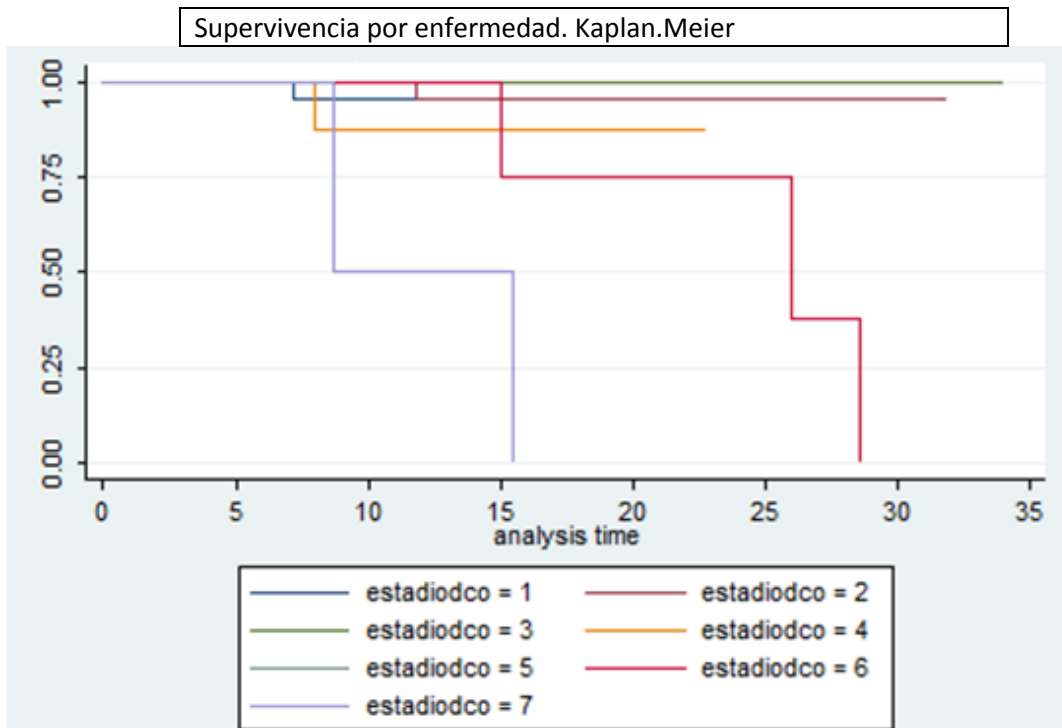
### IX.3. ANÁLISIS INDEPENDIENTE DEL GRUPO EN ESTADIOS INICIALES (IA,IB,IIA)

#### IX.3.1. ESTADIO AL DIAGNÓSTICO

La supervivencia específica en muertes por enfermedad y la progresión para cada uno de los estadios fue diferente con  $p < 0,05$  en el test de Long-rank, como se muestra en el Gráfico 33

#### Gráfico 33. Distribuciones de supervivencia para cada estadio

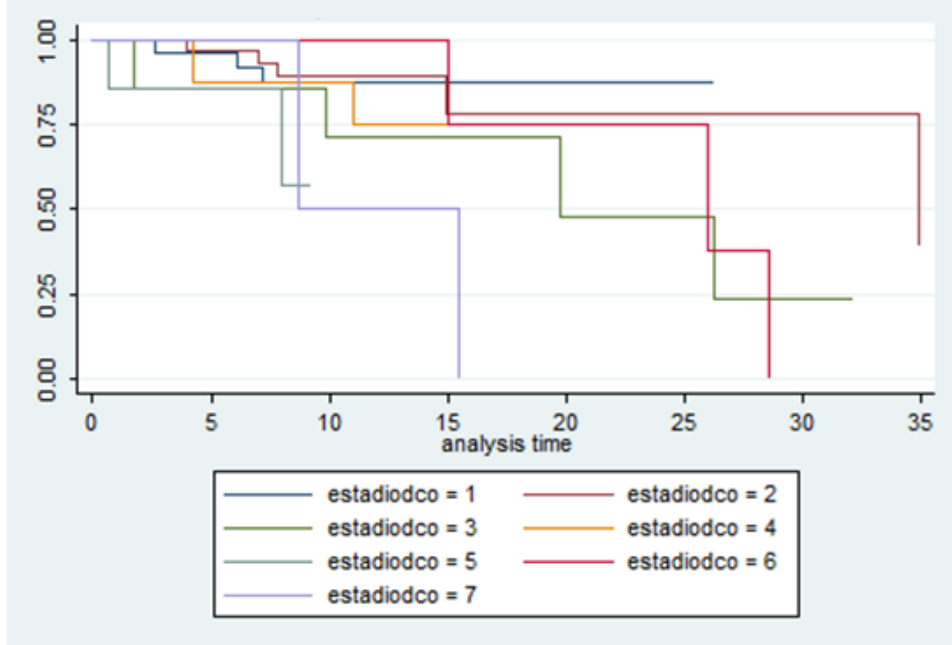
Se observa la proximidad de las distribuciones de estadios iniciales, lo que indica un pronóstico similar que no se discrimina con el método de estadios.



**Gráfico 34. Distribuciones del tiempo hasta la progresión para cada estadio**

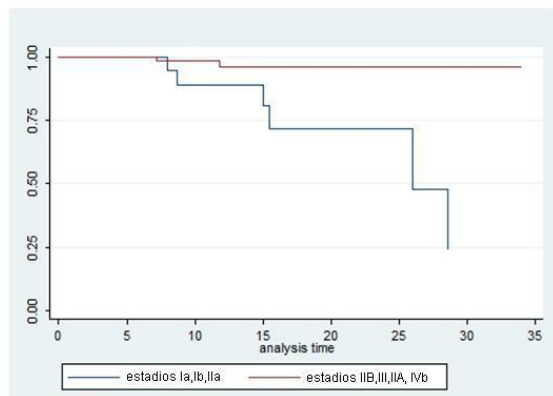
Se observa la proximidad de las distribuciones de estadios iniciales, lo que indica un pronóstico similar que no se discrimina con el método de estadios

Progresión. Curvas de pacientes que se mantienen sin progresar. Kaplan Meier

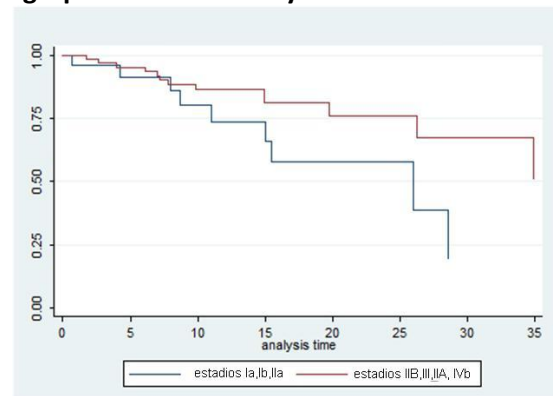


Observamos que los primeros estadios tienen mucho mejor pronóstico y que se comportan de forma similar los de los grupos IA, IB y IIA. A estos tres los consideramos “grupos iniciales” y observamos que su pronóstico era significativamente diferente del de los estadios “avanzados”.

**Gráfico 35 Supervivencia por enfermedad separando estadios iniciales (IA; IB, IIA) y estadios avanzados**



**Gráfico 36 Progresión. Distribución del tiempo hasta la progresión según estadios agrupados en iniciales y avanzados.**



Sin embargo a pesar de su mejor pronóstico, el grupo “estadios iniciales” contiene un porcentaje de pacientes que progresan e incluso engloba un porcentaje de pacientes que mueren de la enfermedad. Para tratar de discriminar este subgrupo de mal pronóstico dentro del grupo de “estadios iniciales” hicimos un análisis independiente de los pacientes solo en estadios iniciales.

Los pacientes en estadios iniciales en nuestra muestra son la mayoría 74% (67 pacientes del total de 91 pacientes), (Gráfico 8 y Gráfico 9 en la parte de estadística descriptiva al principio del apartado resultados).

### IX.3.2. VARIABLES HISTOLÓGICAS EN RELACIÓN CON SUPERVIVENCIA Y PROGRESIÓN DEL SUBGRUPO DE ESTADIOS INICIALES

No obtuvimos ninguna variable histopatológica capaz de predecir cambios en la supervivencia o en la progresión para este grupo. Las variables estudiadas son las que se muestran en la Tabla 30.

Un caso de un varón de 62 años, comenzó en estadio IA y desarrolló transformación a células grandes (TCG), con posterior evolución a T3 y muerte por enfermedad, pero la TCG no apareció en ninguno de nuestros pacientes en el momento del primer diagnóstico sino en este único caso a lo largo de su evolución

**Tabla 30 Resultados para cada variable histopatológica de la comparación entre las distribuciones de supervivencia considerando muertes por enfermedad . No mostraron diferencias significativas ninguna de ellas**

VARIABLE	Categorías	Agrupación	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
<b>Linfocitos con halo perinuclear</b>	Presente	1+1	54	2	1.00	0.569
	Ausente	0+0	8	0		
<b>Linfocitos en cadena</b>	Ausente	0+0	37	2	1.00	0.260
	Presente	1+1	23	0		
<b>Epidermotropismo desproporcionado</b>	Presente	1+1	38	1	1.00	0.696
	Ausente	0+0	23	1	1.74	
<b>Microrabcesos de Pautrier</b>	Presente	1+2	41	2	1.00	0.314
	Ausente	0+0	21	0		
<b>Linfocitos atípicos en dermis mayor tamaño que en epidermis</b>	No	1+1	48	1	1.00	0.332
	Si	0+0	14	1	3.95	

VARIABLE	Categorías	Agrupación	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
<b>Colágeno en alambre en dermis papilar</b>	Ausente	0+0	48	1	1.00	0.312
	Presente	1+1	14	1	4.18	
<b>Atipia linfocitaria</b>	Grado bajo	0+1	36	2	1.00	0.215
	Grado alto	2+2	26	0		
<b>Actividad mitótica (&lt;5 mitosis en 10 CGA)</b>	Grado bajo	0+0	39	0	1.00	1.000
	Grado alto	1+3	23	2	3.3e+15	
<b>Espongiosis</b>	Presente	1+2	38	1	1.00	0.782
	Ausente	0+0	24	1	1.48	
<b>Afectación folicular</b>	Presente	1+2	14	1	1.00	0.520
	Ausente	0+0	30	1	0.40	
<b>Afectación perivascular</b>	Ausente	0+1	49	1	1.00	0.149
	Presente	2+3	9	1	7.69	
<b>Densidad del infiltrado en dermis</b>	Intenso	2+3	31	2	1.00	0.165
	Leve	1+1	32	0		
<b>Mucinosiis folicular</b>	Ausente	0+0	41	2	1.00	0.687
	Presente	1+1	3	0		

### IX.3.3. VARIABLES INMUNOHISTOQUÍMICAS EN RELACIÓN CON SUPERVIVENCIA Y PROGRESIÓN DEL SUBGRUPO DE ESTADIOS INICIALES

#### IX.3.3.1. Supervivencia en los Estadios Iniciales

En el análisis de las variables inmunohistoquímicas como factores capaces de predecir supervivencia, solamente **CD30 resultó significativo** en supervivencia global (muerte por todas las causas). Para el análisis de supervivencia respecto a muertes por enfermedad, no fue posible obtener significación estadística debido a que el número de eventos (muertes por enfermedad) en los estadios iniciales es muy escaso y no teníamos suficientes eventos para obtener significación estadística; especialmente, como puede verse en la Tabla 33, en los grupos en que CD30 era negativo. Sin embargo, analizando los eventos y los grupos de comparación, se observa que todas las muertes por enfermedad aparecen en el subgrupo CD30 positivo. Aunque no se haya podido obtener significación estadística, consideramos

valiosa esta información. Sugerimos que sea tomada en cuenta en futuros estudios multicéntricos con un mayor número de casos disponibles.

*IX.3.3.1.1. Supervivencia global considerando muerte por todas las causas en estadios iniciales. Tabla 31*

- Hemos observado que el valor de **CD30** es significativo y permite en los casos en que CD30 es muy positivo (>30% de células de epidermis positivas) predecir una menor supervivencia global.
- El análisis bivalente agrupando según la expresión de proteínas CD30 y (significativo en los análisis de progresión) resultó aumentar mucho la magnitud de la asociación con un Hazard ratio de 14,45 cuando ambos eran positivos. Lo que significa que cuando CD30 y MAL son ambos positivos en epidermis la supervivencia global es menor.

**Tabla 31** Análisis de las variables inmunohistoquímicas candidatas a ser factor predictor de supervivencia considerando muertes por todas las causas

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
CD4 en epidermis	Escaso	30	3	1.00	0.338
	Abundante	25	5	2.02	
CD4 en dermis	Abundante	46	6	1.00	0.802
	Escaso	13	2	1.23	
CD8 en epidermis	Escaso	49	8	1.00	0.161
	Abundante	13	0		
CD8 en dermis	Escaso	42	6	1.00	0.969
	Abundante	21	2	0.97	
CD5 en epidermis	Escaso	26	3	1.00	0.677
	Abundante	31	5	1.36	
CD5 en dermis	Abundante	42	5	1.00	0.655
	Escaso	19	3	1.39	
CD7 en epidermis	Escaso	54	6	1.00	0.214
	Abundante	6	2	2.77	
CD7 en dermis	Abundante	18	4	1.00	0.138
	Escaso	45	4	0.27	

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
CD30 en epidermis	Escaso	49	4	1.00	0.047
	Abundante	13	5	3.81	
CD30 en dermis	Escaso	56	6	1.00	0.160
	Abundante	8	3	2.72	
CD 54 en epidermis	Escaso	40	4	1.00	0.168
	Abundante	17	4	2.69	
CD54 en dermis	Abundante	35	6	1.00	0.271
	Escaso	26	2	0.41	
FOXP-3 en epidermis	Escaso	38	6	1.00	0.598
	Abundante	27	4	1.58	
FOXP-3 en dermis	Escaso	49	6	1.00	0.859
	Abundante	11	2	1.16	
TCR-BF1	Abundante	47	8	1.00	0.186
	Escaso	8	0		
Bcl-2 en linfocitos de epidermis	Abundante	42	5	1.00	0.350
	Escaso	19	3	2.01	
Bcl-2 en linfocitos de la dermis	Abundante	55	7	1.00	0.998
	Escaso	9	1	1.00	
CD123 en epidermis	Escaso	56	8	1.00	0.383
	Abundante	6	0		
TIA-1 en epidermis	Escaso	40	7	1.00	0.233
	Abundante	19	1	0.28	
TIA-1 en dermis	Abundante	36	6	1.00	0.239
	Escaso	26	2	0.38	
Cd25 en dermis	Abundante	56	6	1.00	0.573
	Escaso	4	1	1.84	
ki67 en epidermis	Escaso	22	3	1.00	0.487
	Abundante	25	2	0.53	

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
ki67en dermis	Escaso	47	4	1.00	0.076
	Abundante	14	4	3.53	
IKB en dermis	Escaso	4	1	1.00	0.721
	Abundante	45	7	0.68	
zap70 en epidermis	Escaso	13	0	1.00	1.000
	Abundante	42	8	7.7e+15	
Zap70 en dermis	Abundante	61	8	1.00	0.437
	Escaso	2	0		
CD95 en epidermis	Abundante	38	4	1.00	0.911
	Escaso	7	1	1.13	
STAT-1 nuclear epidermis	Escaso	28	2	1.00	0.338
	Abundante	30	5	2.23	
STAT-1 citoplásmico en epidermis	Escaso	26	2	1.00	0.401
	Abundante	32	5	2.02	
STAT-1 nuclear dermis	Abundante	49	5	1.00	0.556
	Escaso	15	3	1.55	
STAT-1 citoplásmico en dermis	Abundante	48	6	1.00	0.772
	Escaso	15	2	0.79	
P16 núcleos de epidermis	Abundante	43	6	1.00	0.642
	Escaso	8	1	0.60	
MAL epidermis	Escaso	38	4	1.00	0.146
	Abundante	18	4	2.86	
MAL dermis	Abundante	28	6	1.00	0.082
	Escaso	34	2	0.24	
STAT4 nuclear epidermis	Abundante	49	7	1.00	0.727
	Escaso	10	1	0.69	
STAT4 nuclear dermis	Abundante	54	8	1.00	0.247
	Escaso	9	0		

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
STAT 3 citoplásmico epidermis	Abundante	24	4	1.00	0.784
	Escaso	35	4	0.79	
STAT 3 nuclear en epidermis	Escaso	19	1	1.00	0.219
	Abundante	40	7	3.72	
STAT 3 citoplásmico en dermis	Abundante	51	5	1.00	0.184
	Escaso	12	3	2.68	
STAT 3 nuclear en dermis	Escaso	5	1	1.00	0.483
	Abundante	57	7	0.47	

**Tabla 32 Análisis bivariante de la supervivencia global (muerte por todas las causas)**

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
MAL y CD30 en epidermis	NegMAL-NegCD30	31	2	1.00	0.264
	PosMAL-NegCD30	13	2	3.07	
	NegatMAL-Pos CD30	7	2	3.29	
	Positivo MAL +CD30	4	2	7.13	
MAL y CD30 en dermis	NegMAL-NegCD30	34	3	1.00	0.609
	PosMAL-NegCD30	15	2	1.60	
	NegatMAL-Pos CD30	4	1	2.05	
	Positivo MAL +CD30	3	2	14.45	

*IX.3.3.1.2. Supervivencia específica por enfermedad en estadios iniciales.*

La escasez de evento: muerte por enfermedad en este subgrupo de pacientes que se encontraban en estadios muy iniciales de enfermedad hace difícil obtener significación estadística. Sin embargo observando CD30 (que fue significativo en el análisis anterior, cuando se estudiaron los pacientes en todos los estadios), se observa que todas las muertes por enfermedad ocurren en el subgrupo CD30 positivo en células de la epidermis.

**Tabla 33 Análisis de las variables inmunohistoquímicas candidatas a ser factor predictor de supervivencia considerando solo las muertes específicas debido a la enfermedad de estudio**

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
CD4 en epidermis	Escaso	30	1	1.00	0.840
	Abundante	25	1	1.33	
CD4 en dermis	Abundante	46	1	1.00	0.423
	Escaso	13	1	3.11	
CD8 en epidermis	Escaso	49	2	1.00	0.491
	Abundante	13	0		
CD8 en dermis	Escaso	42	1	1.00	0.488
	Abundante	21	1	2.67	
CD5 en epidermis	Escaso	26	0	1.00	No valorable
	Abundante	31	2	4.0e+15	
CD5 en dermis	Abundante	42	2	1.00	0.372
	Escaso	19	0		
CD7 en epidermis	Escaso	54	2	1.00	0.634
	Abundante	6	0		
CD7 en dermis	Abundante	18	2	1.00	0,09
	Escaso	45	0		
CD30 en epidermis	Escaso	49	0	1.00	No valorable. Pocos eventos
	Abundante	13	2	1.3e+16	
CD30 en dermis	Escaso	56	0	1.00	1.000
	Abundante	8	2	3.0e+16	
CD 54 en epidermis	Escaso	40	1	1.00	0.524
	Abundante	17	1	2.46	
CD54 en dermis	Abundante	35	1	1.00	0.891
	Escaso	26	1	1.21	
FOXP-3 en epidermis	Escaso	49	2	1.00	No valorable. Pocos eventos
	Abundante	11	0	1.6e+15	

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
FOXP-3 en dermis	Escaso	49	2	1.00	0.479
	Abundante	11	0		
TCR-BF1	Abundante	47	2	1.00	0.538
	Escaso	8	0		
Bcl-2 en linfocitos de epidermis	Abundante	42	1	1.00	0.485
	Escaso	19	1	2.69	
Bcl-2 en linfocitos de la dermis	Abundante	55	2	1.00	0.578
	Escaso	9	0		
CD123 en epidermis	Escaso	56	2	1.00	0.625
	Abundante	6	0		
TIA-1 en epidermis	Escaso	40	2	1.00	0.331
	Abundante	19	0		
TIA-1 en dermis	Abundante	36	2	1.00	0.188
	Escaso	26	0		
Cd25 en dermis	Abundante	56	2	1.00	0.679
	Escaso	4	0		
ki67 en epidermis	Escaso	38	0	3.9e+15	No valorable. Pocos eventos
	Abundante	9	1		
ki67en dermis	Escaso	47	1	1.00	0.366
	Abundante	14	1	3.59	
IKB en dermis	Escaso	4	0	1.00	1.000
	Abundante	45	2	7.1e+14	
Zap70 en epidermis	Escaso	13	0	1.00	1.000
	Abundante	42	2	8.2e+14	
Zap70 en dermis	Abundante	61	2	1.00	0.765
	Escaso	2	0		
CD95 en epidermis	Abundante	38	1	1.00	0.610
	Escaso	7	0		

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
STAT-1 nuclear epidermis	Escaso	28	0	1.00	1.000
	Abundante	30	2	4.9e+15	
STAT-1 citoplásmico en epidermis	Escaso	26	0	1.00	1.000
	Abundante	32	2	1.6e+15	
STAT-1 nuclear dermis	Abundante	49	2	1.00	0.422
	Escaso	15	0		
STAT-1 citoplásmico en dermis	Abundante	48	2	1.00	0.404
	Escaso	15	0		
P16 núcleos de epidermis	Abundante	43	2	1.00	0.483
	Escaso	8	0		
MAL epidermis	Escaso	38	0	1.00	1.000
	Abundante	18	2	1.8e+16	
MAL dermis	Abundante	28	2	1.00	0.094
	Escaso	34	0		
STAT4 nuclear epidermis	Abundante	49	2	1.00	0.497
	Escaso	10	0		
STAT4 nuclear dermis	Abundante	54	2	1.00	0.534
	Escaso	9	0		
STAT 3 citoplásmico epidermis	Abundante	24	1	1.54	0.760
	Escaso	35	1	1,00	
STAT 3nuclear en epidermis	Escaso	19	0	1.00	1.000
	Abundante	40	2	1.2e+15	
STAT 3 citoplásmico en dermis	Abundante	51	1	1.00	0.364
	Escaso	12	1	3.63	
STAT 3 nuclear en dermis	Escaso	5	0	1.00	
	Abundante	5	0	1.00	

**Tabla 34 Análisis bivariante de la supervivencia respecto a muertes por enfermedad**

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
MAL y CD30 en epidermis	NegMAL-NegCD30	31	0	1.00	1.000
	PosMAL-NegCD30	13	0	.	
	NegatMAL-Pos CD30	7	0	.	
	Positivo MAL +CD30	4	2	1.8e+16	
MAL y CD30 en dermis	NegMAL-NegCD30	34	0	1.00	1.000
	PosMAL-NegCD30	15	0	.	
	NegatMAL-Pos CD30	4	0	.	
	Positivo MAL +CD30	3	2	3.9e+16	
<b>CD30e-Ki67d</b>	NegCD30-Bajo Ki67	36	0	No valorable	0,046
	PosCD30-Bajo ki67	7	0	No valorable	
	NegCD30-AltoKi67	8	1	No valorable	
	PosCD30-Altoki67	5	1	No valorable	

### IX.3.3.2. Progresión en los Estadios Iniciales

Fueron relevantes para predecir progresión los mismos marcadores inmunohistoquímicos que resultaron significativos en el estudio del total de los pacientes:

- Al igual que en los análisis de supervivencia, la presencia de **CD30 positivo** (en este caso en dermis) se asoció a un peor pronóstico, valorado en este análisis como mayor riesgo de progresión desde estadios iniciales a estadios avanzados , según explicamos en el apartado material y métodos.
- **EL factor de proliferación Ki67** valorado en dermis , cuando tenía valor alto (más de un 15%de células positivas) predice que es más probable la progresión, elevando el riesgo (Hazard ratio) 4,9 y con una p<0,009
- El marcador inmunohistoquímico **MAL** en epidermis predice un mayor riesgo de progresión hacia estadios más avanzados con un hazard ratio de 6,5 ( incremento del riesgo) y p<0,007
- Realizando el análisis **bivariante para MAL y CD30** obtuvimos que los casos con MAL positivo en las células epidérmicas y CD30 positivo en dermis tenían más riesgo de progresión con un relevante incremento del riesgo , **hazard ratio 43,47**. Con esto se corrobora la importancia de CD30 y Mal como predictores de progresión tanto en todos los pacientes como más específicamente en los que estaban en estadios iniciales

**Tabla 35 Análisis de las variables inmunohistoquímicas en relación a su asociación con la progresión de la enfermedad considerando solo el grupo de pacientes en estadios iniciales.**

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
CD4 en epidermis	Escaso	30	7	1.00	0.580
	Abundante	25	5	0.72	
CD4 en dermis	Abundante	46	11	1.00	0.549
	Escaso	13	2	0.63	
CD8 en epidermis	0+1	49	10	1.00	0.363
	2+2	13	1	0.38	
CD8 en dermis	0+1	42	9	1.00	0.863
	2+2	21	3	0.89	
CD5 en epidermis	0+1	26	5	1.00	0.900
	2+2	31	6	1.08	
CD5 en dermis	2+2	42	9	1.00	0.344
	0+1	19	2	0.48	
CD7 en epidermis	Escaso	54	13	1.00	0.243
	Abundante	6	0		
CD7 en dermis	Abundante	18	3	1.00	0.647
	Escaso	45	10	1.38	
CD30 en epidermis	0+1	49	10	1.00	0.910
	2+2	13	3	1.08	
CD30 en dermis	0+1	56	9	1.00	0.037
	2+2	8	4	3.71	
CD 54 en epidermis	0+0	40	10	1.00	0.152
	1+2	17	1	0.22	
CD54 en dermis	1+2	35	4	1.00	0.093
	0+0	26	8	2.81	
FOXP-3 en epidermis	0+0	22	6	1.00	0.764
	2+2	38	7	0.84	

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
FOXP-3 en dermis	0+2	49	12	1.00	0.196
	1+2	11	1	0.26	
TCR-BF1	2+2	47	10	1.00	0.584
	0+1	8	1	0.56	
Bcl-2 en linfocitos de epidermis	2+2	42	8	1.00	0.312
	0+1	19	5	1.80	
Bcl-2 en linfocitos de la dermis	2+2	55	11	1.00	0.927
	1+1	9	2	1.07	
CD123 en epidermis	0+0	56	11	1.00	0.968
	1+2	6	1	1.04	
TIA-1 en epidermis	0+0	40	9	1.00	0.342
	1+2	19	2	0.47	
TIA-1 en dermis	1+2	36	6	1.00	0.818
	0+0	26	6	1.14	
Cd25 en dermis	2+2	56	10	1.00	0.668
	1+1	4	1	1.58	
ki67 en epidermis	0+0	22	4	1.00	0.399
	2+2	25	4	0.52	
ki67en dermis	0+1	47	6	1.00	0.009
	2+2	14	6	4.93	
IKB en dermis	0+0	4	0	1.00	1.000
	1+2	45	7	1.9e+15	
Zap70 en epidermis	0+1	13	1	1.00	0.170
	2+2	42	8	4.55	
Zap70 en dermis	1+2	61	13	1.00	0.222
	0+0	2	0		
CD95 en epidermis	2+2	38	5	1.00	0.170
	0+1	7	2	3.51	

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
STAT-1 nuclear epidermis	0+0	28	6	1.00	0.616
	1+2	30	5	0.73	
STAT-1 citoplásmico en epidermis	0+0	26	6	1.00	0.497
	1+2	32	5	0.66	
STAT-1 nuclear dermis	2+2	49	10	1.00	0.759
	0+1	15	3	0.82	
STAT-1 citoplásmico en dermis	2+2	48	10	1.00	0.587
	0+1	15	3	0.69	
P16 núcleos de epidermis	2+2	43	8	1.00	0.761
	0+1	8	2	0.78	
MAL epidermis	0+1	38	4	1.00	0.007
	2+2	18	7	6.50	
MAL dermis	2+2	28	7	1.00	0.244
	0+1	34	6	0.50	
STAT4 nuclear epidermis	2+2	49	11	1.00	0.554
	0+1	10	1	0.54	
STAT4 nuclear dermis	2+2	54	12	1.00	0.626
	1+1	9	1	0.60	
STAT 3 citoplásmico epidermis	Abundante	40	7	1,00	0.584
	Escaso	19	5	1.45	
STAT 3nuclear en epidermis	0+0	19	5	1.00	0.573
	1+2	40	7	0.72	
STAT 3 citoplásmico en dermis	2+2	51	12	1.00	0.289
	0+1	12	1	0.33	
STAT 3 nuclear en dermis	0+1	5	1	1.00	0.847
	2+2	57	12	0.82	

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
PD1 epidermis	Escaso	40	4	1	0,06
	Abundante	7	3	5.04	
PD1 dermis	Escaso	43	4	1	0,1
	Abundante	5	2	4,03	

**Tabla 36 Análisis bivariante de la progresión en estadios iniciales**

VARIABLE	Categorías	N Pacientes	N Eventos categorías	Hazard ratio	p-val
MAL y CD30 en epidermis	NegMAL-NegCD30	31	4	1.00	0.073
	PosMAL-NegCD30	13	4	3.94	
	NegatMAL-Pos CD30	7	0		
	Positivo MAL +CD30	4	3	8.92	
MAL y CD30 en dermis	NegMAL-NegCD30	34	4	1.00	0.095
	PosMAL-NegCD30	15	4	3.62	
	NegatMAL-Pos CD30	4	0		
	Positivo MAL +CD30	3	3	43.47	
CD30d-Ki67d	NegCD30-Bajo Ki67	36	0	No valorable	0,046
	PosCD30-Bajo ki67	7	0	No valorable	
	NegCD30-AltoKi67	8	1	No valorable	
	PosCD30-Altoki67	5	1	No valorable	
CD30d-PD1e	NegCD30d-Neg PD1	31	2		0,19
	PosCD30d-NegPD1	4	1	6,2	
	NegCD30d-PosPD1	7	1	3,1	
	PosCD30d-PosPD1	3	1	8,3	
CD30d-PD1d	NegCD30d-Neg PD1d	23	0	1	0,054
	PosCD30d-NegPD1d	3	1	2,4	
	NegCD30d-PosPD1d	15	1	1,37	
	PosCD30d-PosPD1d	4	3	9,3	
MAL-Ki67d	NegCD30-Bajo Ki67	34	4		0,0025
	PosCD30-Bajo ki67	5	0	3,52	
	NegCD30-AltoKi67	9	2	2,7	
	PosCD30-Altoki67	10	4	10	

**Gráfico 37** Distribuciones de tiempo hasta la progresión, según las variables inmunohistoquímicas que resultaron tener asociación con un mayor riesgo de progresión para estadios iniciales

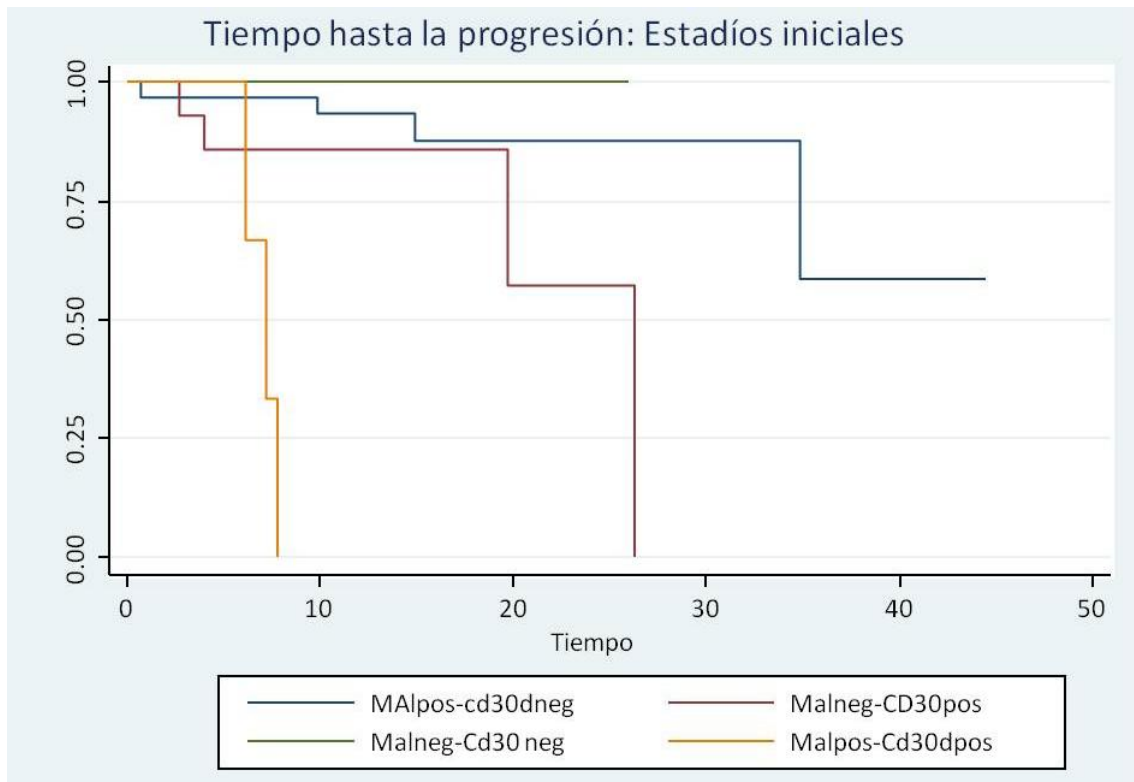




TABLA 38 RESUMEN DE BIVARIANTES

TODOS LOS ESTADIOS				ESTADIOS INICIALES (IA,IB,IIA)			
Variable combinada dos factores	Categorías valoración	H.R	p-val	Variable combinada	Categorías	H.R.	p-val
<b>Supervivencia global</b>							
MAL y CD30 en epidermis	NegMAL-NegCD30	1.00	0.702	MAL y CD30 en epidermis	NegMAL-NegCD30	1.00	0.264
	PosMAL-NegCD30	1.31			PosMAL-NegCD30	3.07	
	NegatMAL-Pos CD30	2.09	0.299		NegatMAL-Pos CD30	3.29	0.234
	<b>Positivo MAL +CD30</b>	<b>5.17</b>	<b>0.026</b>		<b>Positivo MAL +CD30</b>	<b>7.13</b>	<b>0.050</b>
MAL y CD30 en dermis	NegMAL-NegCD30	1.00	0.910	MAL y CD30 en dermis	NegMAL-NegCD30	1.00	0.609
	PosMAL-NegCD30	0.93			PosMAL-NegCD30	1.60	
	NegatMAL-Pos CD30	0.96	0.967		NegatMAL-Pos CD30	2.05	0.535
	<b>Positivo MAL +CD30</b>	<b>5.88</b>	<b>0.014</b>		<b>Positivo MAL +CD30</b>	<b>14.45</b>	<b>0.009</b>
CD30 y bcl-2 en epidermis	NegCD30-NegBcl2	1	0,4	CD30 y bcl-2 en epidermis			
	<b>PosCD30-Negbcl2</b>	<b>1,74</b>			0,1		
	NegatCD30-Pos bcl2	0,51			0,009		
	PosCD30-Pos Bcl2	0,47					
<b>Supervivencia específica (muertes por enfermedad)</b>							
MAL y CD30 en epidermis	NegMAL-NegCD30	1.00	0.675	PosMAL +CD30pos	1.8e+16	No val	
	PosMAL-NegCD30	0.62					0.465
	NegatMAL-Pos CD30		0.002				
	<b>PosMAL +CD30pos</b>	<b>7.53</b>					
MAL y CD30 en dermis	NegMAL-NegCD30d	9	Sin ev	Positivo MAL +CD30	3.9e+16	No val	
	NegatMAL-Pos CD30	0,61					
	<b>Positivo MAL +CD30</b>	<b>21,9</b>					<b>0,001</b>
CD30 y bcl-2 en epidermis	NegCD30-NegBcl2	1	0,2	CD30-Ki67d	NegCD30-Bajo Ki67 PosCD30-Bajo ki67 NegCD30-AltoKi67 <b>PosCD30-Altoki67</b>	0,046	
	<b>PosCD30-Negbcl2</b>	<b>9,5</b>					
	NegatCD30-Pos bcl2	0,2					
	PosCD30-Pos Bcl2	0,8					0,87

TODOS LOS ESTADIOS				ESTADIOS INICIALES (IA,IB,IIA)			
Variable combinada dos factores	Categorías valoración	H.R	p-val	Variable combinada	Categorías	H.R.	p-val
<b>Progresión (paso a T3, T4, N3 o M1 o exitus por enfermedad)</b>							
<b>MAL y CD30 en epidermis</b>	NegMAL-NegCD30	1.00		<b>MAL y CD30 en epidermis</b>	NegMAL-NegCD30	1.00	
	PosMAL-NegCD30	2.44	0.110		PosMAL-NegCD30	3.94	0.073
	NegatMAL-Pos CD30	0.54	0.569		NegatMAL-PosCD30		0.350
	Positivo MAL - posCD30	<b>6.60</b>	<b>0.004</b>		Positivo MAL +CD30	8.92	0.008
<b>MAL y CD30 en dermis</b>	NegMAL-NegCD30	1.00		<b>MAL y CD30 en dermis</b>	NegMAL-NegCD30	1.00	
	PosMAL-NegCD30	2.04	0.189		PosMAL-NegCD30	3.62	0.095
	NegatMAL-Pos CD30		0.287		NegatMAL-Pos CD30		0.477
	Positivo MAL- PosCD30	<b>17,51</b>	<b>0.0004</b>		Positivo MAL +CD30	<b>43.47</b>	<b>0.001</b>
<b>CD30 dermis y Ki67 dermis</b>	NegCD30-Bajo Ki67			<b>CD30 dermis y Ki67 dermis</b>	NegCD30-Bajo Ki67		
	PosCD30-Bajo ki67	<b>5,4</b>			PosCD30-Bajo ki67		
	NegCD30-AltoKi67	2,3			NegCD30-AltoKi67		
	PosCD30-Altoki67	<b>6,2</b>	<b>0,0069</b>		PosCD30-Altoki67		<b>0.046</b>
<b>PD1 epidermis y Ki67 en dermis</b>	NegPD1-BajoKi67	1		<b>MAL-ki67</b>	NegCD30-Bajo Ki67	3,52	
	PosPD1-BajoKi67	0,94	0,9		PosCD30-Bajo ki67	2,7	
	NegPD1-Alto Ki67	<b>5,68</b>	<b>0,001</b>		NegCD30-AltoKi67	<b>10</b>	<b>0,0025</b>
	PosPD1-AltoKi67	<b>3,97</b>	<b>0,01</b>		PosCD30-Altoki67	3,52	
<b>Ki67 en dermis y PD1 dermis</b>	Bajo Ki67 y negPD1	1					
	Alto Ki67y PosPD1	1,33	0,79				
	Bajo Ki67 y Neg PD1	1,85	0,58				
	Alto Ki67 y pos PD1	<b>16,3</b>	<b>0,001</b>				

***DISCUSIÓN***



## X.DISCUSIÓN

La Micosis Fungoide también llamada síndrome de Alibert-Bazin [123] y [124] por los autores que la describieron en el siglo XIX [125] suele presentarse en estadios iniciales y evolucionar lentamente, pero con riesgo de afectación visceral en fases avanzadas y muerte por enfermedad.

Nuestra serie de casos presentó la evolución descrita en la literatura [126] con una mediana de supervivencia mayor de 35 años, un porcentaje de mortalidad por la enfermedad del 8,7% y un porcentaje de progresión del 30,76% al final del seguimiento (Gráfico 10, Gráfico 11 y Tabla 12). Sin embargo, la mediana de supervivencia para el grupo que presentó progresión es mucho menor, se sitúa en torno a 4 años, según el estadio al cual progresen. Lo que coincide con los datos publicados en la literatura [39].

Hemos encontrado **dos marcadores inmunohistoquímicos** capaces de detectar el grupo de pacientes con peor supervivencia y **cuatro marcadores inmunohistoquímicos** capaces de detectar el grupo de pacientes que progresa a fases más evolucionadas de la enfermedad en menor tiempo. La ventaja de poder detectar en estadios iniciales estos grupos de peor pronóstico, es que nos permitirá estudiar si se podrán beneficiar de tratamientos más agresivos o de terapias específicas dirigidas según su fenotipo.

### X.1. NECESIDAD DE MEJORAR LA CLASIFICACIÓN EN GRUPOS DE DISTINTO PRONÓSTICO: ANÁLISIS DE LA VARIABLE ESTADIO

El sistema de clasificación en estadios de Bunn y Lamberg [22] se asocia con diferencias pronósticas como se demuestra en el estudio comparado de las curvas de supervivencia de nuestra muestra Gráfico 15, se observan diferencias más evidentes cuando se agrupan los casos en sólo dos grupos: iniciales y avanzados Gráfico 33, sin embargo en el análisis desglosado por estadios se observa que en los estadios iniciales las diferencias son pequeñas, incluso las curvas se entrecruzan a lo largo de la evolución (tanto para supervivencia como para progresión). Obtenemos a los 10 años mejor tasa de supervivencia en estadio IVA (*estadiodco 6*) que para los primeros estadios. La supervivencia para el estadio IIB es peor que para el estadio III, hallazgo que también se ha encontrado en la literatura previa [22] Esto ratifica la necesidad de nuevos estudios de investigación para mejorar la agudeza diagnóstica del sistema de estadiaje.

Diversos grupos están trabajando en ello, y de aquí ha surgido la nueva clasificación ISCL/EORTC del año 2007 (anexos 3 y 4). Este sistema aún no ha sido validado y diversas publicaciones posteriores han descrito que dentro del mismo estadio sigue habiendo variaciones pronósticas [20] [127] [128] [122]

Dentro de los índices pronósticos desarrollados más recientemente el más preciso es el del “Cutaneous Lymphoma International Prognostic Index (CLIPi)” [20] , que se realizó en un estudio retrospectivo con 1502 pacientes, pero que cuando trató de aplicarse a otra serie de forma prospectiva tenía diferencias pronósticas importantes [20, 37]. Este índice utiliza criterios clínicos: sexo, edad mayor de 60 y presencia de placas; y como criterios morfológicos sólo el foliculotropismo, las otras variables son la afectación de ganglios en estadios iniciales y la afectación sanguínea y visceral en estadios avanzados.

En el momento actual se está trabajando a nivel internacional para tratar de desarrollar un método de estratificar grupos de riesgo y de predecir la evolución en cada caso, aún más eficaz. Nuestro grupo acaba de publicar en Octubre del año 2015, una propuesta de nuevo método de estratificación para micosis fungoide en estadios avanzados, que incluye también criterios clínicos: estadio IV, Lactato deshidrogenasa elevada, edad por encima de 60 años y un criterio morfológico: transformación a células grandes, pero este índice ha sido especialmente desarrollado para buscar los factores más relevantes en estadios avanzados [129]. Aún está por desarrollar el índice equivalente enfocado a buscar factores que influyan sobre todo en estadios iniciales.

En línea con esta necesidad se ha desarrollado este estudio. Proponemos buscar qué factores inmunohistoquímicos o histológicos podríamos aportar desde la anatomía patológica a estas clasificaciones actuales aún en desarrollo.

## X.2. RESUMEN DE RESULTADOS

Analizamos dos grupos principales de variables independientes (determinantes o posibles factores pronóstico) que incluyen 12 variables histológicas y 52 variables inmunohistoquímicas (expresión de 23 proteínas detectadas mediante inmunohistoquímica, de las cuales desglosamos dos variables de cada una, según su expresión en dermis y en epidermis; además, de los factores de transcripción STAT1 , STAT3 y STAT4 , obtuvimos el doble de variables por valorar su expresión nuclear y citoplásmica de forma independiente).

Los resultados son:

- SUPERVIVENCIA: Del estudio de la expresión de todas estas proteínas obtuvimos dos factores estadísticamente significativos para detectar un **mayor riesgo de muerte por enfermedad tanto en estadios iniciales analizados independientemente , como para el conjunto de pacientes en todos los estadios**. Estos dos factores de riesgo fueron: **positividad**

para CD30 valorada en las células neoplásicas de epidermis y negatividad para bcl2 (pérdida de la expresión que es constitutiva en linfocitos T) considerada también en las células neoplásicas de epidermis.

- PROGRESIÓN: En relación con la progresión de la enfermedad detectamos 4 factores asociados estadísticamente a mayor riesgo de progresión tanto en estadios iniciales como en el conjunto de pacientes en todos los estadios :

- Positividad para **CD30** ( de más de 30% de las células de la dermis )
- Positividad nuclear para Ki67 (en más del 30% de las células de la dermis)
- Positividad en células neoplásicas de epidermis para MAL
- Positividad para **PD1** tanto en dermis como en epidermis

Este último marcador inmunohistoquímico no salió significativo en los paciente en estadios iniciales , pero sí en el total de los pacientes. El resto de marcadores resultaron predictores para ambos grupos, inicales y el conjunto de pacientes en todos los estadios. Una posible explicación deriva de las características técnicas del estudio de PD1, se trata de un marcador novedoso, del que se tiene poca experiencia y se realizaron pruebas antes de utilizarlo, las tinciones inmunohistoquímicas se realizaron al final del estudio ( se obtuvo el marcador no comercializado por cortesía del CNIO al final de este trabajo) se utilizaron los últimos cortes de nuestras matrices de tejido, estando estos más desgastados, con lo que hubo más pérdidas de casos siendo valorables sólo 62 de 91 casos (68%) , esto sumado a que dentro del subgrupo de estadios inicales hay menos casos de progresión y menos mortalidad, resultó en un el tamaño muestral más pequeño que dificulta la detección de diferencias estadísticamente significativas en este grupo de estadios iniciales , para ese marcador.

### X.3. LIMITACIONES Y COMENTARIOS A LAS DECISIONES ADOPTADAS SOBRE LA METODOLOGÍA

La predeterminación del tamaño muestral se hizo considerando los datos conocidos en la literatura de mortalidad y progresión [25] y teniendo en cuenta la limitación de lo infrecuente que es la enfermedad. Utilizamos el contenido de la base de datos del servicio de dermatología del Hospital Universitario 12 de Octubre, que es centro de referencia y recibe casoas de otros hospitales de Madrid y de otras Comunicades Autónomas.

Los grupos de investigación que tratan de desarrollar índices pronósticos , realizan estudios multicéntricos para solventar la limitación del número de casos,( [22], [129])pero esto conlleva mayor heterogeneidad en el seguimiento, tanto en el diagnóstico, como en el tratamiento. Como ejemplo, en el último estudio [129] multicéntrico se trató de incluir CD30 entre los factores pronósticos y solo se obtuvieron una tasa de respuestas por parte de los patólogos a esta variable del 35% , ya que CD30 por el momento no está reconocido en los índices pronósticos, y por tanto no se realiza de rutina. Nuestro estudio fue homogéneo en el método y estudio de todos los casos, realizándose revisión centralizada de todas las variables, por dos patólogos.

Del total de 56 variables inmunohistoquímicas, finalmente hicimos el análisis estadístico de sólo 45 de ellas, ya que algunas proteínas como CD123 apenas se expresaban en dermis en células neoplásicas y se confundían con el infiltrado acompañante, otras eran abundantes en todos los casos y no había posibilidad de análisis por grupos (como CD25 en epidermis) .

Otra limitación derivada de las características de la propia enfermedad y que les ocurre a todos los estudios de micosis fungoide, es la escasa mortalidad (8,7%) y la lenta evolución [24] lo que dificulta los estudios de supervivencia [9] , que en primer lugar requieren estudios de seguimiento muy largos, y en segundo lugar tiene poca potencia estadística cuando se trata de estudiar las muertes por enfermedad, a esto atribuimos los resultados negativos de algunas de las variables descritas en la literatura como asociadas al pronóstico (ver análisis pormenorizado de supervivencia y progresión), sin embargo , las variables que resultaron significativas tienen muchas posibilidades de ser realmente factores que están asociadas al pronóstico por esta misma razón. Nuestro estudio tiene poca sensibilidad pero una alta especificidad basado en esta limitación.

#### **X.4. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES Y COMPARACIÓN CON LAS PUBLICACIONES CIENTÍFICAS PREVIAS**

##### **X.4.1. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES CLÍNICAS**

###### **X.4.1.1. Estadio (Ver apartado 1 )**

###### **X.4.1.2. Edad**

Nuestra serie presentó una media de edad similar a la de la literatura 53,7 años, siendo la mayoría menores de 60 años (61,54%).

Realizamos un análisis por grupos de edad,. En los menores de 21 años , que suponen el 10% de la serie, observamos que no había diferencias respecto a la mortalidad por enfermedad, pero sí tenían un mejor pronóstico en cuanto a menor mortalidad global considerando todas las causas. No encontramos diferencias en cuanto a la progresión.

En los pacientes de más edad seleccionamos el del índice CLIPi [20] que considera el grupo de los mayores de 60 años como de peor pronóstico.

Aunque hicimos las curva de supervivencia para los grupos independientes de mayores y menores de 60 años, no obtuvimos diferencias significativas en la progresión , ni en la supervivencia por enfermedad. Es llamativo que la mayoría de los autores han encontrado que los pacientes de mayor edad tienen peor pronóstico [12], [130], [31] , [37].

No sabemos si las diferencias con nuestro estudio se deben a diferencias en la metodología; por ejemplo, Kim et al en su artículo de 2005 pusieron el punto de corte en 57 años, un poco diferente del nuestro; y la serie de Talpur en 2012 comparó los grupos de menores de 42 años y mayores de 60 años entre sí para obtener estas diferencias. O quizá sea el efecto de una diferente distribución por edades y estadios en nuestra serie de pacientes respecto a la suya, de tal modo que un factor pronóstico de más asociación como pudiera ser el estadio , estuviera distribuído de forma diferente y dificultara el obtener diferencias en los grupos de edad.

En cualquier caso , no todos los autores describen diferencias en el pronóstico en función de la edad la serie de 1999 en que se describe el índice para calcular la carga tumoral, revisó 116 pacientes y tampoco encontró diferencias significativas en el pronóstico ni respecto a la edad ni respecto al sexo [131].

#### **X.4.1.3. Sexo**

La micosis fungoides es más frecuente en varones, con una predominancia que llega a ser de 2:1 en las grandes series de casos descritas en la literatura. Sin embargo se ha observado que esta mayor prevalencia en varones está asociada a mayor edad [29], [31] siendo máximo el predominio masculino entre los mayores de 60 años.

En nuestra serie los mayores de 60 años eran sólo el 34% de la muestra, por tanto una minoría, con esta distribución de edad, la predominancia masculina se ajusta a lo descrito en la literatura y se sitúa en torno al 1,2:1 a favor de los varones.

En cuanto a la relación del sexo masculino con un peor pronóstico, en nuestra serie no encontramos asociación, ni con la progresión, ni con peor supervivencia. La literatura científica cuando se revisa en profundidad muestra que la asociación es controvertida y no está del todo demostrada. Algunos autores describen en sus series un peor pronóstico para los hombres, con un menor tiempo hasta la progresión y más cortas medianas de supervivencia [130], [132]. Otros autores no han encontrado estas diferencias [131], [133].

Es posible que haya diferencias entre las poblaciones de los estudios que expliquen este resultado tan dispar. En el estudio de la clínica Mayo en 2007, para estudiar el pronóstico de la serie más larga publicada hasta ese momento de Síndrome de Sézary (176 pacientes) aunque hubo un Hazard Ratio en la supervivencia respecto a muertes por enfermedad de 1.21 para el sexo masculino, el intervalo de confianza fue (0.87-1.68) y por tanto tampoco ellos encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos sexos ( $p= 0,2$ ) aunque igualmente la tendencia era a peor evolución en los pacientes masculinos [134], como en nuestro estudio.

Es posible que haya cierta tendencia a peor pronóstico en los pacientes masculinos pero la asociación del riesgo no es muy alta y nos parece discutible que sea uno de los factores incluidos en las determinaciones del tratamiento de estos pacientes. Otros factores presentan Hazard Ratio mayores y por tanto con más asociación a una verdadera predicción de la evolución.

#### **X.4.1.4. Variantes aceptadas por la OMS**

En nuestra serie de 91 pacientes se incluyeron algunos casos de variantes clínicas tal y como se exponen en los resultados: 1 variante granulomatosa, 2 casos de presentación con poiquilodermia, 1 caso de siringotropismo, 4 casos asociados a papulosis linfomatoide, un caso de lesión única, 3 casos de foliculotropismo y 7 casos de Síndrome de Sézary. Pasamos a comentar las dos formas de presentación reconocidas por la OMS [5] como variantes: SS y folículotropismo por su especial relevancia pronóstica.

##### *X.4.1.4.1. Síndrome de Sézary*

El SS es una variante infrecuente de linfoma T cutáneo con presentación leucémica, que recientemente se considera aparte de la MF clásica [34]. Tradicionalmente se ha estudiado en series que incluían ambas enfermedades.

Nosotros hicimos un subgrupo con estos pacientes para comprobar algunas de sus peculiaridades. Estudiamos 7 pacientes (7,69%) siguiendo los criterios de diagnóstico descritos en la introducción. La mayoría fueron varones, tal y como se describe en la literatura ( 5/7) , proporción de 2,5 varones:1 mujer. Con una media de edad de 57,14 ,ligeramente mayor que la del total de pacientes (4 años mayor).

Encontramos diferencias significativas en el pronóstico, peor el de los pacientes con síndrome de Sèzary. Fue significativamente más corto el tiempo hasta la progresión con  $p=0,008$  y menor el tiempo de supervivencia  $p=0,035$ , aunque sólo uno de nuestros casos evolucionó a muerte por enfermedad. Respecto a la progresión 77,7% progresaron, esto es 5 de los 7 pacientes con SS.

Estos hallazgos muestran medianas más bajas de supervivencia y tiempo hasta la progresión en SS cuando se comparan con MF en estadios iniciales, como ya han descrito otros autores. Las diferentes series de SS describen una mediana de supervivencia alrededor de los 4 -5 años para los pacientes con SS [134], [37] pero con oscilaciones según las series hasta los 11 años [128]. La mediana de nuestra serie no pudo alcanzarse porque solo tuvimos un caso de muerte por enfermedad, sin embargo, se puede deducir que estaría en el grupo de las supervivencias más altas ya que el percentil 25 se sitúa en 9 años.

#### *X.4.1.4.2. Folliculotropismo*

La variante foliculotrópica de MF es una variante rara, en nuestra serie hay 3 casos de foliculotropismo (3,91%), lo que supone una frecuencia aún más baja que la descrita en la literatura en general para MF [120], [5], [36]. Sin embargo esto pudo deberse a que escogimos casos en estadios muy iniciales de MF , estudiando sus primeras biopsias.

Nuestros casos presentaron una mortalidad por enfermedad del 33%, (1/3 casos) . Aunque la escasez de casos de fallecimiento po enfermedad, no permite alcanzar significación estadística, parece que comparado con la mortalidad total por MF (8,9%) estos casos con foliculotropismo tienen una mortalidad muy aumentada. La mayor parte de las series analizadas en la literatura, aunque no todas [130], coinciden en otorgar peor pronóstico a la variante foliculotrópica [135] [136] [37]. Ahora bien, los estudios de pronóstico de esta variante tienen dificultades metodológicas , primero porque es una variante muy infrecuente con series muy cortas de pacientes, y segundo por las diferencias en definir foliculotropismo.

Los siguientes estudios resumen las series en que se otorga peor pronóstico a la variante foliculotrópica:

- El estudio de van Doorn R [135] encontró peor respuesta a tratamiento y peor supervivencia en los casos con foliculotropismo, ya fuera asociado o no a mucinosis.

Estudiaron 51 pacientes con MF foliculotrópica y 158 pacientes con MF clásica epidermotrópica.

- La serie de la clínica Mayo publicada por Lehman en 2010, revisó 50 pacientes con foliculotropismo , de los cuales el 69% tenían también mucinosis folicular , y los comparó con 186 pacitentes con MF epidermotrópica. Encontró que tenían características clínicas especiales: eran más frecuentes en los hombres, frecuentemente asociaban prurito, y afectaban más a cabeza y cuello. Además la supervivencia a los 5 años fue de 62%, mucho peor que en la MF en estadios similares sin afectación ganglionar que está en torno al 85-90% [136]
- En Reino Unido la serie publicada por Agar de 1502 pacientes incluía 44 pacientes con MF variante foliculotrópica [37]. Al compararlos con el resto de la serie existía mayor riesgo de progresión , pero la supervivencia fue similar.
- Sin embargo el estudio prospectivo del MD Anderson [130] publicado por Talpur et al , que incluyó también 44 pacientes con variante foliculotrópica , en una serie de 1263 pacientes (3%) , presenta una frecuencia de foliculotropismo escasa, similar a la que tenemos en nuestra serie y no encontró diferencias en la supervivencia en los casos de esta variante foliculotrópica.

En definitiva parece que hay evidencias que indican que esta variante tiene una presentación clínica característica y se asocia a peor pronóstico en la mayoría de las series , incluida la nuestra. Pero debe definirse bien el criterio para diagnosticar esta variante y poder hacer estudios comparativos homogéneos que aclaren estas discordancias en la literatura [137]

#### X.4.2. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES HISTOLÓGICAS

En general, las variables histológicas han presentado poco valor predictivo en nuestra serie. Esto concuerda con lo publicado previamente [138], donde los diferentes autores expresan poca reproductibilidad de las variables histológicas y poca asociación a largo plazo con la progresión o la supervivencia. Esto se explica porque la valoración de algunas de estas variables (atipia, presencia de fibrosis, epidermotropismo desproporcionado con el grado de espongiosis...etc) tienen un mayor **componente subjetivo** que otras variables que pueden medirse con métodos semicuantitativos (matemáticos) y no cualitativos.

Tenemos que considerar además las limitaciones de nuestro estudio descritas al inicio de esta discusión , como es la dificultad que supone un estudio pronóstico de una enfermedad que tiene baja mortalidad. A esto se añade la limitación inherente a la enfermedad causada por la poca celularidad tumoral que dificulta la valoración, especialmente en dermis donde se mezclan células tumorales y reactivas que incluyen linfocitos, eosinófilos, histiocitos y células dendríticas.

Por último queremos reseñar la dificultad añadida que ocurre cuando se quiere estudiar lesiones extensas cutáneas. En estos casos, puede aparecer el error de muestreo respecto al lugar de toma de la muestra. Los dermatólogos se esmeran en biopsiar la zona de máxima infiltración macroscópica pero esto puede no ser tan obvio a simple vista, De acuerdo con T. Mc Calmont, la MF en parche puede dar la falsa imagen de placa cuando existe fibrosis en dermis papilar o marcada celularidad en dermis papilar o edema; en estos casos, la valoración es discordante entre la clínica y la histopatología en un 18% [139], [140].

Además el estudio de las lesiones en fase de tumor requiere un estudio complementado con el de lesiones en placa o mancha, para determinar un adecuado diagnóstico de MF y no confundirla con un linfoma T cutáneo de otro subtipo. Por ello es obligado enviar en esos casos dos muestras que deben proceder, una de la zona de tumor de máximo tamaño y otra de una placa (o si no hubiera, de una mancha) con la máxima infiltración. Errores derivados de la zona de elección de la muestra por tratar de hacerlo en zonas no muy visibles o poco molestas para el paciente, podrían dificultar la valoración de variables histológicas con una buena asociación al pronóstico.

#### **X.4.2.1. Linfocitos con halo claro**

En nuestra serie hemos observado que la presencia de linfocitos con halo claro se asocia a peor supervivencia total de los pacientes, que no resultó significativa si revisamos la supervivencia en muertes por enfermedad. Este parámetro histológico corresponde a la presencia de linfocitos atípicos, que por tener un citoplasma más amplio que los linfocitos normales, sufren retracción de su citoplasma en las muestras fijadas en parafina (no se ve en las procesadas en congelación) [141].

Es un criterio descrito en la literatura como de gran utilidad en el diagnóstico de MF respecto a dermatosis, ya que este artefacto es típico de los linfocitos neoplásicos que presentan un tamaño aumentado [141]. Para nosotros fue una manera de medir la carga tumoral. En las biopsias con escasa celularidad tumoral, es una manera de “encontrar” las células neoplásicas y poder hacer una valoración semicuantitativa. Sin embargo la literatura describe que sólo el 50% de las MF tienen un número relevante de estos linfocitos, con lo que podría ser un discriminador pronóstico [142]. De hecho, encontramos una asociación estadística con la supervivencia global, por todas las causas de muerte. Sin embargo, esta asociación no se comprobó para la supervivencia respecto a muertes por enfermedad, ni respecto a progresión.

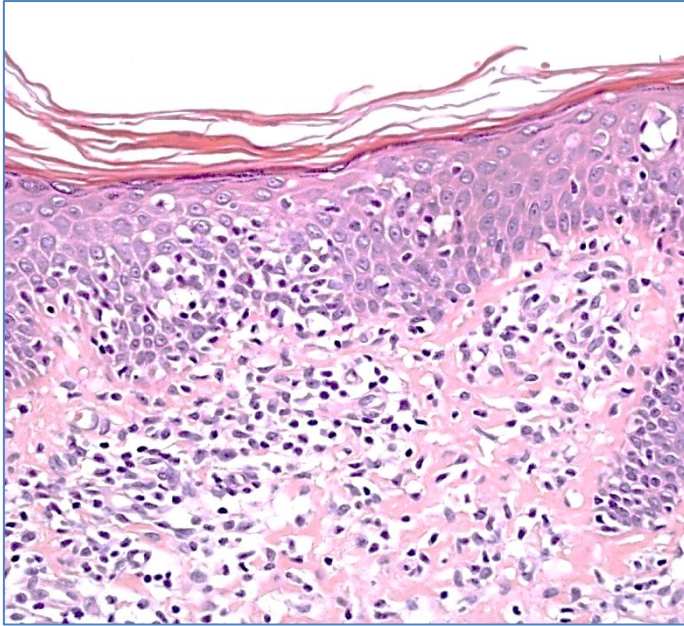


Imagen histológica 25. Linfocitos con halo claro.

#### X.4.2.2. Atipia

Encontramos diferencias significativas al considerar el grado de atipia *alto o moderado* respecto al *grado leve*. Este grado de *atipia leve* corresponde a un grupo de pacientes con menor riesgo de progresar que el grupo de pacientes con grado mayor de atipia ( $p=0,04$ ).

En el análisis de supervivencia se observa un mayor riesgo de mortalidad con incremento del Hazard Ratio para los grados altos de atipia pero las diferencias no son estadísticamente significativas.

Inicialmente valoramos la variable en 3 niveles, de acuerdo con la literatura, aunque esta atipia en estadios iniciales puede no ser evidente [27]:

- *Atipia leve* (tamaño nuclear menor de 2 veces el de un linfocito maduro y discreta irregularidad de los núcleos)
- *Atipia moderada* (tamaño de los núcleos entre 2 y 4 veces el de los núcleos del linfocito maduro y aspecto cerebriforme convolucionado)
- *Atipia intensa* (más de 4 veces el tamaño de los núcleos de un linfocito no neoplásico y/o nucléolos)

En el análisis posterior encontramos que al ser una variable que puede medirse en grados cualitativos (leve, moderado, intenso) resulta mucho más práctico simplificar estos grados en dos (alto, bajo). Agrupamos atipia leve y moderada como grado bajo; el grado alto corresponde a atipia intensa. De este modo se aumenta la reproductibilidad y la concordancia intraobservador e interobservador. Esta categorización en dos ya ha sido utilizada en otros

tumores, que presentaban también dificultades con este mismo aspecto de la subjetividad, como ocurrió por ejemplo en la clasificación Bethesda. Estos autores concluyeron al revisar la clasificación de la neoplasia epitelial intracervical (CIN I, CIN II, CIN III) que la reclasificación en dos grados (SIL de alto grado o SIL de bajo grado), aumenta la concordancia y la eficiencia [143].

Resulta biológicamente comprensible que el grado de atipia se asocie a mayor progresión, ya que la atipia intensa es similar a la transformación de células grandes, con la salvedad de que el criterio de diagnóstico de TCG actual es que el porcentaje de células grandes supere el 25% de las células [144] [145], mientras que nosotros hemos considerado si había o no algunas células neoplásicas con atipia marcada. La TCG es un criterio reconocido de mal pronóstico [146] y acorta el tiempo hasta la progresión [147]. La atipia podría ir en la misma línea aunque la asociación pronóstica puede no ser tan útil y significativa porque está sujeta a cierto grado de variabilidad en el muestreo al no exigir el criterio de >25% de células positivas. Vonderheild et al, han publicado recientemente una revisión de 103 casos con estudio inmunohistoquímico de 33 de ellos e histológico en todos ellos, han encontrado también asociación de la atipia valorada en tres grados con la progresión  $p=0,002$  y con la supervivencia  $p=0,005$  [122]

#### X.4.2.3. Mitosis

El índice mitótico valorado en tinciones de hematoxilina-eosina, considerando el conjunto de células neoplásicas, no resultó estadísticamente significativo para predecir el riesgo de muerte por cualquier causa o de progresión. Sin embargo, se establece un hazard-ratio de aproximadamente 6 respecto al riesgo de muerte por enfermedad con una significación estadística cercana a la significación  $p=0,06$ , por lo que parece que hay cierta asociación.

Esto se confirma al valorar el índice proliferativo con ki 67 en dermis (mib-1) , que está claramente asociado a un mayor riesgo de progresión con una buena significación estadística.

Estas diferencias en los resultados se pueden explicar por las dos maneras de cuantificar las mitosis: la hematoxilina –eosina es menos sensible y menos específica para valorar las mitosis en las células neoplásicas, especialmente cuando están inmersas en un infiltrado inflamatorio mixto y son escasas. El factor de proliferación ki67 permite encontrar mitosis con más facilidad y cuantificarlas más exactamente respecto al total de células.

Estudios previos han encontrado también asociación del índice proliferativo o del número de mitosis con un peor pronóstico [138]. Es explicable su relación con un peor pronóstico, ya que indica una mayor proliferación celular de la neoplasia y es biológicamente factible que esto se asocie a más tasa de replicación celular, con más riesgo de segundas mutaciones y aberraciones fenotípicas y con una mayor agresividad del tumor y un mayor riesgo de diseminación.

#### **X.4.2.4. El tamaño de las células en dermis es mayor que el de las células en epidermis**

Tradicionalmente se ha utilizado el criterio opuesto “tamaño de las células en epidermis mayor que el de las células de la dermis” para diagnosticar MF [148]. Nosotros hemos aplicado esta variable al estudio pronóstico y hemos detectado que los linfocitos en epidermis de mayor tamaño que en dermis no se asocian a peor pronóstico, sino por el contrario tienen peor evolución los casos en que el infiltrado de la dermis presenta linfocitos mayores que los que tienen epidermotropismo.

Esto podría tener relación con una mayor atipia en las células de la dermis, las cuales han perdido su epidermotropismo, o con la pérdida misma del epidermotropismo de las células de Lutzner [149], la cual está relacionada con un peor pronóstico. [145]

#### **X.4.2.5. Transformación a células grandes(TCG)**

Utilizamos el criterio de Salhani [146] para definir la transformación en células grandes: presencia de linfocitos más de 4 veces el tamaño de 1 linfocito maduro en >25% de las células del infiltrado, o si se forman micronódulos de linfocitos con esa atipia). Ninguno de nuestros casos presentó transformación a células grandes en el momento del diagnóstico, pero encontramos un caso que en su evolución a corto plazo (menos de un año) evolucionó a TCG. En el resto de casos no recogimos los datos histológicos de transformación a largo plazo, ya que nuestro estudio tiene como objetivo determinar factores pronósticos en estadios iniciales y no utilizamos la TCG como una variable de progresión.

El caso que presentó rápida transformación a células grandes sorprendentemente se encontraba en estadio IA en el momento del diagnóstico. Otros autores describen en sus series que la mayoría de casos con TCG están en estadio tumor (T3) ( IIB,IVA, IVB) [147]. Nuestro caso también evolucionó a fase tumoral, pero esto ocurrió después de la evolución a TCG mientras aún estaba en fase de placa.

La literatura recoge que la tasa de transformación entre los que se encuentran en estadio I-IIA es 14% [147]. Y recientemente se ha publicado un riesgo de TCG aún menor para estadios iniciales (1,4%) [128]. Nuestro caso estaría en este grupo. Como era de suponer según se describe en la literatura, la supervivencia de este paciente (6 años) fue mucho más baja que la supervivencia del resto del grupo de MF (mediana >30 años). El hecho de haber sufrido transformación a células grandes en un periodo tan corto de tiempo (menos de dos años) le confiere peor pronóstico que si hubiera ocurrido en un plazo más largo [147].

#### X.4.3. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES INMUNOHISTOQUÍMICAS

Las variables inmunohistoquímicas en general se valoran con métodos semicuantitativos lo que les otorga mayor reproducibilidad que los métodos cualitativos que pueden estar sujetos a mayor subjetividad [150]. Las variables inmunohistoquímicas pueden recogerse en porcentaje de células positivas (variable cuantitativa) y luego hacerse puntos de corte para convertirlo en una variable semicuantitativa, más manejable en las comparaciones.

En nuestra serie disponemos de sólo 91 casos lo que supone una limitación para detectar diferencias pequeñas de riesgo entre grupos, pero sí podemos detectar las variables que presenten un mayor grado de asociación al pronóstico. Esto puede explicar que del total de 23 marcadores potencialmente útiles, implicados en diferentes vías moleculares recogidas en la literatura como candidatos a ser factor pronóstico, hemos detectado diferencias en sólo 5 de ellos, lo que confiere a estos factores una mayor magnitud de la asociación con el pronóstico.

Las vías estudiadas son:

- La activación linfocitaria de la transducción (mediante ZAP 70, CD30)
- La regulación de las vías de apoptosis (bcl2, FAS)
- La transcripción nuclear (STAT1, STAT3, STAT4, NFkB y su factor inhibidor IKB)
- Las proteínas de regulación del ciclo celular como p16
- Los marcadores de diferenciación de células T que pueden perderse durante la evolución de las neoplasias a fenotipos más agresivos (CD5, CD7, CD2, CD3, CD4, CD8) (D26)
- Las moléculas implicadas en las relaciones entre células de la inflamación y el microambiente que acompaña a la neoplasia (CD123, CD25, FOXP3, PD1)
- Las moléculas de adhesión celular que permiten el epidermotropismo (CD54)
- Las moléculas implicadas en la señalización y el tráfico de membrana como (MAL)
- Los factores implicados en la cascada AKT de estímulo del ciclo celular de linfocitos T que se comportan como protooncogenes como TCL.1

Las vías con resultados significativos son:

#### X.4.3.1. Activación linfocitaria:

##### CD30

Hemos encontrado que la expresión de CD30 en más del 30% de las células neoplásicas encontradas en la epidermis en casos de MF estudiados en la primera biopsia disponible (momento del diagnóstico o primera biopsia con presencia de células de aspecto neoplásico) se asocia a una menor supervivencia (considerando muertes por enfermedad: H.R. 5,39 e incluso muertes por todas las causas, H.R. 3,04). Esto es válido tanto para el estudio del grupo completo de MF de nuestra serie, de los cuales el 24% estaban en estadios avanzados, como en el estudio desglosado sólo para los casos en estadios iniciales (67 pacientes que suponen el 76% de nuestra serie). **Todos los grupos presentaron disminución del tiempo de supervivencia** cuando expresaban CD30 en las condiciones antes expuestas, con  $p < 0,05$ .

Así mismo, la expresión de **C D30 en más del 30% de las células neoplásicas en dermis**, se asocia a un **mayor riesgo de progresión a estadios más avanzados**. Esto es estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ), tanto si consideramos todo el grupo de pacientes con MF como si seleccionamos solo a los que se encuentran en **estadios iniciales**.

Es bien conocido el incremento de expresión de CD30 en la MF cuando se produce la transformación a células grandes [128]. Sin embargo hay pocos estudios sobre la expresión de CD30 en MF no transformada que se encuentre aún en estadios iniciales. En el año 2009 se publicó una serie de 47 pacientes procedentes de Pittsburgh, en la que hallaron un incremento de la expresión de CD30 en las células de la dermis relacionado con peor supervivencia [132], hallazgo en consonancia con nuestro estudio, y el único artículo que ha estudiado CD30 separadamente en epidermis y en dermis y lo ha relacionado con peor pronóstico para MF en estadios iniciales antes de la transformación

En nuestro estudio hemos conseguido además relacionar CD30 con **mayor riesgo de progresión**. La valoración en epidermis fue estadísticamente más significativa que en dermis para el análisis de supervivencia, no así en el análisis de progresión donde la expresión de CD30 en dermis se asoció a la progresión. Nos explicamos esta mayor asociación de la presencia de células CD30 positivas en dermis a la progresión porque podría estar relacionada con los casos que tienen pérdida del epidermotropismo y por eso una mayor expresión en dermis. De cualquier forma, en la mayoría de los casos la expresión en epidermis y en dermis era concordante y los casos discordantes solo variaban en un grado su cantidad de expresión.

Las diferencias con el estudio de Pittsburgh [132] podrían deberse a que ellos utilizaron otro punto de corte para considerar positiva la expresión de CD30; mientras nosotros utilizamos 30% de células neoplásicas positivas, ellos utilizaron un método semicuantitativo, (sin tinción, células escasas, células aisladas positivas, grupos de células positivas).

Así mismo el trabajo de Vonderheid en el año 2014, trató de valorar CD30 como factor pronóstico en una serie de 68 pacientes en estadios iniciales pero no encuentra significación estadística, sin embargo en el estudio analizan también CD30 en suero de los pacientes y encuentran correlación con peor supervivencia, ellos mismos reconocen el posible valor de CD30 incluso aunque no pudieron encontrar diferencias significativas. No explican en qué porcentaje de positividad tomaron el corte para valorar, positivo, negativo o parcialmente expresado, esta delimitación en tres categorías puede explicar sus diferencias en encontrar asociación respecto al estudio de Edinger y al nuestro [122]

Recientemente el estudio de MF en estadios avanzados realizado por el grupo Internacional para el estudio de linfomas cutáneos EORTC/ISCL [129] trató de aplicar la variable CD30 para determinar un índice pronóstico en MF en estadios avanzados, sin embargo no obtuvieron resultados significativos. Este hecho podría explicarse porque su estudio era una revisión multicéntrica, retrospectiva, recogiendo la información del momento del diagnóstico, en la cual había gran heterogeneidad en el estudio de los casos y en sólo un 37,5% de los casos habían realizado CD30. Además su punto de corte de positividad fue el 10% [129], diferente al 30% que hemos utilizado en nuestro estudio .

El estudio reciente ( junio de este mismo año, 2015) publicado por Wenrham et al del equipo de Birmingham [151] ha utilizado la misma valoración que nosotros para CD30, poniendo el punto de corte en 15%, sus resultados coinciden con los resultados de nuestro trabajo, han encontrado asociación a peor pronóstico. En su artículo no explican si la valoración se ha realizado en epidermis, dermis o ambos y sumado positivities. Pero parecen confirmar el significado pronóstico de CD30 respecto a progresión. Esta asociación de CD30 positivo en inmunohistoquímica de tejido, se apoya en el hallazgo por parte de otros autores de también asociación a peor pronóstico cuando se valora en sangre circulante. [152].

CD30 es una molécula implicada en la activación de los linfocitos, tanto en los T memoria como en algunas células B y T relacionadas con la transformación producida por los virus o en células neoplásicas como las del linfoma Hodgkin [153]. Está implicado en la transducción de señales y participa en diferentes vías de activación celular (Gráfico 38). Pertenece a la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral (TNF) que incluye TNFR1 y 2, CD40, Fas (Apo1/CD95) , linfoxina 3 , el receptor de crecimiento neural de baja afinidad y CD30.

Se han encontrado mutaciones en estas moléculas en gran número de tumores [153]. Se identificó por primera vez en el linfoma de Hodgkin como un marcador inmunológico [154]. Recientemente se han relacionado los niveles de CD30 en sangre con una peor evolución del linfoma anaplásico cutáneo y ha sido en este tumor en el que se han descrito sus implicaciones oncogénicas con más detalle [155]. Una de las vías es el incremento directo en la **proliferación celular** que se ha visto asociado a la interacción de CD30 con su ligando específico o con

anticuerpos de reactividad cruzada que lo estimulen [156]. Esto explicaría su relación con la supervivencia y con la progresión en nuestros casos. Pero la función de CD30 en la activación celular es compleja y está implicado a la vez en varias vías que incluyen desde esta proliferación hasta la apoptosis, dependiendo del tipo celular [97]. Por la vía de IKK y los receptores del factor de necrosis tumoral TRAF, CD30 está implicado **en activar NFkB**, a través de p50 y Rel A e inducir la transducción de señales al núcleo celular. Esto le implica en favorecer la **progresión tumoral** aunque no se conoce bien el mecanismo exacto [156] ver Gráfico 38.

La implicación en estas vías de oncogénesis ha dado lugar a que CD30 haya sido candidato al desarrollo de un nuevo tratamiento con un anticuerpo monoclonal específico antiCD30 brentuximab Vedotina [157].

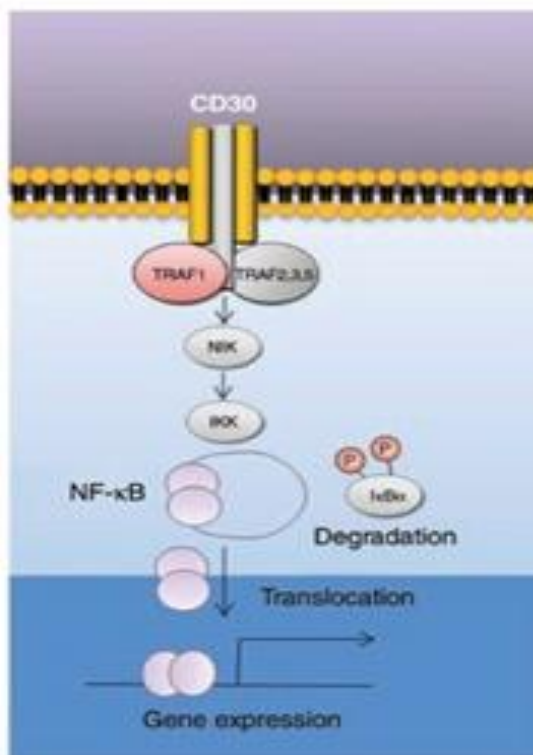


Gráfico 38 Activación de la transducción de señales al núcleo mediada por la activación de CD30 receptor de la superfamilia del receptor de necrosis tumoral

#### X.4.3.2. Regulación de la apoptosis:

##### Bcl2

Nuestra serie presentó una menor supervivencia respecto tanto a muertes por enfermedad como a muertes por todas las causas en los pacientes que perdieron la expresión de bcl-2 en las células neoplásicas de epidermis. Esto fue significativo estadísticamente para el análisis en todos los grupos ( $p < 0,05$ ), pero en el estudio de solo los casos iniciales, aunque se observa una tendencia a peor pronóstico en los casos bcl2 negativos, no resultó valorable ya que la muestra

era más pequeña y al disminuir el número de eventos, siendo cero en algunos grupos no permitía obtener significación estadística.

Sin embargo, la negatividad para bcl2 no resultó asociarse al riesgo de progresión de forma estadísticamente significativa.

Cuando realizamos un análisis de supervivencia categorizado para las dos variables CD30 y bcl2 conjuntamente en las células neoplásicas de la epidermis, el incremento de riesgo es mucho mayor, el Hazard Ratio asciende a 9.5 con  $p=0,02$ .

Existen pocas publicaciones que hayan analizado bcl2 en una serie de MF tan larga como la nuestra. Los estudios previos no resultaron significativos en detectar diferencias pronósticas respecto a bcl2 en linfomas cutáneos [158] y [159], pero estos estudios estaban realizados en series más cortas de pacientes y mezclaban casos de MF/SS con otros linfomas. El estudio de Benner solo contiene 11 casos de MF y son todos ellos de MF con transformación a células grandes. No encontraron en estos casos asociación pronóstica porque otros factores más relevantes podían estar enmascarando el efecto de bcl2 en una muestra tan pequeña y de MF tan avanzada [159].

En el estudio de Mal en 2013 solo se estudian 27 pacientes con MF pero se compara la expresión de bcl2 mediante PCR en voluntarios sanos y MF. La expresión molecular y no inmunohistoquímica, no permite discernir si se trata de expresión en linfocitos T normales o en células tumorales con lo que los estudios de pronóstico mezclan la detección de "infiltrado inflamatorio bcl2 positivo" con células neoplásicas bcl2 positivas, siendo esta una posible explicación a que no les resulte posible obtener conclusiones positivas.

Sin embargo el trabajo de Mao en 2004 relaciona la sobreexpresión de JUNB y la falta de expresión de bcl2 con alteraciones en la regulación de vías de apoptosis, proliferación y transformación celular [71] encontrando una disminución de la expresión de bcl2 tanto mediante PCR como mediante inmunohistoquímica en los pacientes con MF. Esta disminución de bcl2 era más frecuente aún en los que tienen Síndrome de Sézary [71]. Esto es concordante con nuestros hallazgos y con el trabajo publicado por nuestro grupo en 2003, que consiguió en una serie de 29 casos de MF encontrar un panel de 6 genes sobreexpresados, genes que están en las vías de apoptosis e inhibidores de apoptosis incluyen: Jun Kinasa (JNK), los factores asociados a los receptores de TNF (TRAF1 y TRAF 2) y otros miembros de la familia de receptores de TNF como CD40 y la vía NF $\kappa$ B de supervivencia celular (antiapoptosis) [160] implicando estas vías en la patogénesis de la MF/SS. Esta vía es la que se postula que tiene relación con bcl2 en linfomas T cutáneos.

Ya se expuso que las vías de patogenia de los linfomas T cutáneos en los cuales se negativiza bcl2 son diferentes de la vía patogénica de los linfomas B, que sobreexpresan bcl2 por translocación t(14,18) [161]. Los mecanismos en que está implicado bcl2 en los linfomas T cutáneos aún no son bien conocidos pero parece que son distintos mecanismos a los de JUNB, aunque relacionados.

Se conoce además que la sobreexpresión de JUNB es capaz de inducir la expresión de CD30 y de inhibir la apoptosis mediada por Fas (CD95) que puede estar disminuído en MF, lo que se relaciona con el hallazgo de CD30 elevado en casos de peor pronóstico de nuestra serie. Sin embargo no hemos encontrado diferencias significativas de pronóstico para CD [71], pero sí ha sido significativa la disminución de bcl2.

En el momento actual, la evidencia científica es controvertida y se necesitan nuevos estudios que corroboren la asociación pronóstica que hemos encontrado cuando bcl-2 es negativo en MF y Síndrome de Sézary. Es relevante su posible utilidad en un posible índice de pronóstico [162]

#### **X.4.3.3. Proliferación celular:**

##### **Ki67**

El índice proliferativo resultó relacionado con el riesgo de progresión, cuando se mide en las células dérmicas. Establecimos el punto de corte en más de 15% de células positivas, ya que la positividad no era abundante. La asociación a un mayor riesgo de progresión se corroboró también en la muestra de casos correspondiente de MF en estadios iniciales.

No obtuvimos significación estadística para detectar un aumento del riesgo de muerte por linfoma, a diferencia del estudio de Edinger en 2009 que consiguió determinar un grupo con menor supervivencia analizando CD30 y ki67 (en dermis y epidermis) [132]. Varios estudios relacionan el incremento de ki67 con diferencias significativas en el pronóstico, la mayor parte de ellos lo relacionan con la supervivencia y supervivencia libre de enfermedad en lugar de con la progresión, pero todos coinciden en que es relevante cuando ki67 valorado en dermis está elevado, ya que los pacientes presentan un peor pronóstico [133].

Ya se ha explicado anteriormente el significado biológico de ki67 como marcador de la proliferación celular (en el apartado de mitosis) y por tanto puede entenderse que esté relacionado directamente con la agresividad del linfoma.

#### X.4.3.4. Regulación del tráfico a través de la membrana celular:

##### MAL

Hemos encontrado que cuando las células neoplásicas de la epidermis expresan la proteína Mal en más de un 30% existe más riesgo de progresión. Esto se observa tanto en el conjunto de casos de MF en todos los estadios como en el conjunto limitado de MF en estadios iniciales.

La proteína Mal es un componente de las “balsas de membrana” o microdominios en la membrana celular que intervienen en la recepción de señales extracelulares y su comunicación con la cascada de señales internas para la transducción de la señal. Fue clonado en 1987 por un investigador español , durante una investigación sobre nuevos genes expresados de forma selectiva en linfocitos T [163] .

En estas “balsas de membrana” en las que participa MAL, están incluidos los clásicos receptores unidos a tirosín kinasa para transmitir señales, así como gp130 y receptores de IFNalfa.

Una alteración consistente en la sobreexpresión del gen MAL detectada por nuestro grupo en 2002, se vio asociada a la presencia de líneas celulares resistentes a tratamiento con IFNalfa durante un ensayo clínico [160]. Estudios posteriores del grupo han tratado de determinar las vías moleculares asociadas a peor respuesta a los tratamientos que incluyen IFN [161] . Es posible que nuestro hallazgo de un mayor riesgo de progresión esté asociado a esta resistencia al tratamiento con IFN previamente descrita [122]. El hecho de que en nuestros casos no haya asociación estadística entre Mal y la supervivencia final puede deberse a que los pacientes que progresan tras el primer tratamiento y expresan Mal , pueden haber respondido a tratamientos posteriores que no utilizan la vía del IFN, con lo que es posible que no afecte a la supervivencia por enfermedad pero sí a la progresión, la cual depende directament de la remisión tras primer tratamiento [122].

#### X.4.3.5. Factores de regulación de la inflamación y relación con el “micorambiente celular”:

##### PD1

Encontramos un incremento del riesgo de progresión cuando las células neoplásicas expresan PD1 con Hazard Ratio de 5,7 y 5,1 para expresión en epidermis y dermis respectivamente, con  $p < 0,05$ . No encontramos asociación estadísticamente significativa con la supervivencia.

PD1 es un miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas que funciona como regulador de la respuesta inmunitaria [80]. Se ha identificado previamente en células del linfoma angioinmunoblástico [164] y frecuentemente en el Síndrome de Sézary en células circulantes [87]. Sin embargo, hay pocos estudios respecto a MF en tejido. Algunos autores han comparado la expresión de PD1 en MF respecto a SS y han encontrado diferencias muy relevantes (13% respecto a 87% respectivamente) [165], siendo mucho mayor la expresión en el SS [166].

Aunque se ha observado también, que cuando el SS se hace más avanzado, los linfocitos de sangre periférica pueden dejar de expresar PD1, como concluye en su estudio Samimi [87] ya que encuentran más PD1 en SS con carga tumoral intermedia que en SS con carga tumoral alta.

Hay pocos estudios todavía de PD1 en el pronóstico en los estadios iniciales de MF, pero dada la mayor expresión en MF cuando evoluciona a SS, es factible pensar que está asociada a un peor pronóstico cuando se expresa en estadios iniciales. La explicación biológica podría estar en sus funciones inhibitorias de la respuesta inmune fisiológica que podría resultar en un efecto inhibitorio también de la respuesta inmune antitumoral.

La unión de PD1 a sus ligandos PD1-L1 y PD1-L2 provoca inhibición de la activación y proliferación de las células T periféricas. Se relaciona con que el sistema inmune no reconozca a las células neoplásicas como tales y ocurra un fallo en la respuesta inmune antitumoral, lo que algunos autores han denominado fase de escape [167] [168]. La sobreexpresión de PD1 también podría estar relacionada con la profunda inmunosupresión que sufren los pacientes con SS y que es a veces la causa última de muerte [169]. Es además una posible diana terapéutica utilizada en múltiples ensayos clínicos en este momento [170] [171] [172].

## **X.5. IMPLICACIONES EN LA PRÁCTICA MÉDICA**

Un sistema de pronóstico más exacto es vital porque podría determinar diferencias en el tratamiento [173], [174]. Los pacientes con estadios iniciales, en el momento actual, se tratan con terapias dirigidas a la piel, pero existen al menos 10 modalidades (ver introducción) que no han conseguido bajar la frecuencia de progresión de forma significativa, a pesar de tratamiento se sitúa entre el 25-35% [126].

Cuando la enfermedad va progresando se establece una secuencia de aplicación de las distintas modalidades de tratamiento sin conseguir acabar con la enfermedad. Los pacientes en estadios avanzados requieren tratamientos más agresivos para conseguir la remisión completa, incluyendo inmunoterapia, quimioterapia y en los casos de enfermedad avanzada trasplante alogénico de médula ósea, que aunque tiene algunas buenas respuestas, también tiene una alta incidencia de complicaciones derivadas del trasplante y una mortalidad del 34% [175].

Por el momento el manejo de los pacientes no es homogéneo en los distintos centros porque no existen algoritmos para consensuar las líneas de tratamiento y los diferentes factores pronósticos se utilizan de forma diferente en cada centro, con único consenso en lo relativo al estadiaje.

Un reciente meta-análisis ha considerado la eficacia de las distintas modalidades de tratamiento expuestas en la literatura médica y ha concluido que de los datos que hay en la actualidad no puede extraerse un protocolo para tratar a los pacientes, porque los datos son insuficientes y no hay ensayos clínicos con la metodología adecuada, la evidencia científica es en su mayoría de nivel 4, los estudios tenían menos de 50 sujetos, no tenían una adecuada cohorte de control y casi ninguno considera la calidad de vida [176].

Si consiguiésemos un índice pronóstico que estratifique a los de más riesgo de no responder a los tratamientos habituales y con peor pronóstico podremos establecer una buena base para la indicación de trasplante alogénico o para diseñar ensayos clínicos que determinen un adecuado algoritmo en el uso de los tratamientos agresivos [126].

En el momento actual se está desarrollando un nuevo índice pronóstico en un estudio multicéntrico observacional prospectivo a través del grupo Cutaneous Lymphoma International Consortium (CLIC). Al que pertenecen los directores de esta tesis doctoral. Es una alianza entre: The International Society of Cutaneous Lymphoma, EORTC Cutaneous Lymphoma Task Force y U.S. Cutaneous Lymphoma Group, con el objetivo de unir a la comunidad internacional para poder estudiar una enfermedad que tiene en general baja incidencia en la población general y baja mortalidad, con especial dificultad de estudio por su lenta evolución.

Nuestro estudio es un preludeo realizado en el Hospital Doce de Octubre para determinar si sería útil añadir al desarrollo de un nuevo índice pronóstico algunas variables inmunohistoquímicas o histológicas a las ya conocidas de foliculotropismo y transformación a células grandes [24].

Hemos obtenido significación en dos variables en el análisis por supervivencia y en cuatro variables en el análisis por progresión, proponemos al Cutaneous Lymphoma International Consortium (CLIC) considerar aplicar, en el desarrollo de su nuevo índice, a su larga serie de pacientes las variables:

- **CD30** en células neoplásicas de **dermis y epidermis**, valorados de forma independiente y después probar a sumar los positivos en cualquiera de las localizaciones para obtener una tercera variable
- **Bcl2** en **epidermis** y considerarlo factor de riesgo cuando es negativo
- **PD1** en **dermis y epidermis** y proceder como con CD30
- **Mal** en **epidermis**
- **Ki67** en **dermis**

Con estos cinco factores analizados de nuevo en una larga serie de pacientes es posible que se puedan mejorar los grupos pronósticos e incluso tener una más individualizada caracterización del pronóstico para cada paciente. Proponemos aplicar estos factores, además de considerar el estadio (con modernización de las diferencias mancha, placa e índice mSWAT [177] y las variables que ya han demostrado largamente su valor pronóstico en la literatura: foliculotropismo, transformación a células grandes y presencia de afectación de sangre periférica y/o Síndrome de Sézary [129]

## X.6. PERSPECTIVAS DE FUTURO Y PREGUNTAS PARA RESOLVER

Por el momento y probablemente en el futuro, las variables T, N, M y B, que se estudian en la clasificación de estadio seguirán siendo útiles en el manejo de los pacientes con MF y SS. Así lo ratifican nuestros resultados que presentaron buena asociación estadística entre las diferencias entre estadios, aunque con la salvedad de no diferenciar demasiado dentro de los estadios iniciales y que el grupo IIB (tumor) suele presentar peor pronóstico que el III [126]

Para solventar esto con las variables que han demostrado influencia en el pronóstico podría realizarse un índice de puntos "score". Nosotros sugerimos 5 variables inmunohistoquímicas para incluir en este índice, que debería dar puntos según un factor de corrección basado en la asociación de cada variable con más aportación o menos de riesgo, esto viene determinado por el Hazard Ratio para cada variable. A éstas nuevas variables, pueden añadirse las ya descritas en la literatura: transformación a células grandes, foliculotropismo, elevación de LDH, edad y por supuesto estadio TNMB incluyendo detección molecular de clones en sangre periférica y en piel [129] Una vez recogidas estas variables para cada paciente y establecido su valor según su Hazard Ratio, los grupos de pronóstico se pueden hacer según las posibilidades de tratamiento, teniendo en cuenta que la sencillez mejora la aplicabilidad.

***CONCLUSIONES***



## XI. CONCLUSIONES

1. La actual clasificación en estadios (ISCL/EORTC) resulta útil aunque *insuficiente* para delimitar grupos de distinto pronóstico y predecir la evolución de los pacientes con MF y su respuesta a tratamiento, especialmente en los estadios iniciales, por lo que se requiere considerar factores pronósticos adicionales.
2. Las **variables histológicas** (exceptuando la variante foliculotropa y transformación a células grandes) o no mostraron asociación pronóstica significativa o la magnitud de la asociación (hazard ratio) es baja.
3. La expresión del marcador de activación celular **CD30** y la **negatividad** de la inmunotinción para la proteína inhibidora de la apoptosis **bcl2** (en células neoplásicas linfocitarias T de la epidermis) se asocian a **peor supervivencia** tanto por enfermedad, como global en los pacientes con MF.
4. La expresión de los marcadores inmunohistoquímicos: **CD30** en dermis , **Ki 67** en dermis , **MAL** en epidermis y **PD1** en cualquier localización, se asoció a **mayor riesgo de progresión** en MF, de forma independiente para cada factor, en el análisis multivariante y univariante.
5. Los marcadores inmunohistoquímicos **CD30, bcl2, ki67, MAL y PD1** se asocian a menor tiempo de supervivencia y mayor riesgo de progresión , estando su expresión alterada en MF respecto a células normales, lo que supone que podrían estar **implicados en la patogenia** o en la resistencia a tratamiento de la enfermedad. Son pues **candidatos a ser diana terapéutica**.
6. Hemos diseñado un método modificado de construir matrices de tejido, que hemos llamado **“método de macromatrices tisulares”** para muestras de piel y con este nuevo método hemos preparado seis macromatrices con muestras de micosis fungoide que pueden utilizarse en futuras investigaciones.



## ***REFERENCIAS***



## REFERENCIAS

- [1] Lennert K, Feller AC. Histopathology of Non-Hodgkin's Lymphomas (Based on the Updated Kiel Classification), 2nd edition. New York, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag 1992.
- [2] National Cancer Institute sponsored study of classification of non-Hodgkin's Lymphomas: summary and description of a working formulation for clinical usage. *Cancer* 1982;49:2112-35.
- [3] Willenze R, Kerl H, Sterry W, Berti E, Cerroni L, Chimenti S et al. EORTC Classification for primary cutaneous lymphomas: a proposal from the Cutaneous Lymphoma Study Group of the European organization for Research and Treatment of Cancer. *Blood* 1997; Jul 1;90(1):354-71
- [4] Harris N, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML et al. A revised European American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma study group. *Blood* 1994; 84:1361-92.
- [5] Ralfkiaer E, Cerroni L, Sander CA, Smoller BR, Willenze R. Mycosis Fungoides . In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H et al editors., *WHO Classification of tumours of haematopoietic and Lymphoid tissues*. 4th ed. Lyon: International Agency for research on Cancer;2008 p296-8.
- [6] Carter JB, Goyal A, Mc Divitt Duncan . *Atlas of cutaneous Lymphomas classification and differential diagnosis*. Springer 2015 : 1-3.
- [7] Willemze R, Jaffe ES, Burg G, Cerroni L, Berti E, Swerdlow SH, Ralfkiaer E, Chimenti S, Diaz-Perez JL, Duncan LM, Grange F, Harris NL, Kempf W, Kerl H, Kurrer M, Knobler R, Pimpinelli N, Sander C, Santucci M, Sterry W, Vermeer MH, Wechsler J, Whittaker S. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood*. 2005 May 15;105(10):3768-85
- [8] World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Swerdlow SH, Campo E, Harris NL (Eds), IARC Press, Lyon 2008.
- [9] Olsen E, Vonderheid E, Pimpinelli N et al. Revisions to the staging Olsen E, Vonderheid E, Pimpinelli N, Willemze R, Kim Y, Knobler R, Zackheim H, Duvic M, Estrach T, Lamberg S, Wood G, Dummer R, Ranki A, Burg G, Heald P, Pittelkow M, Bernengo MG, Sterry W, Laroche L, Trautinger F, Whittaker S; ISCL/EORTC. Revisions to the staging and classification of mycosis fungoides and Sezary syndrome: a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the cutaneous lymphoma task force, *of the European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC)*. *Blood*. 2007 Sep 15;110(6):1713-22. Epub 2007 May 31. Review. Erratum in: *Blood*. 2008 May 1;111(9):4830.
- [10] Weinstock MA, Gardstein B. Twenty-year trends in the reported incidence of mycosis fungoides and associated mortality. *Am J Public Health*. 1999; 89(8):1240-4.
- [11] Diamandidou et al.; Mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Blood* 1996;88:2385-2409..
- [12] Weinstock MA: Epidemiology of Mycosis Fungoides. *SemDermatol* 1994; 13:154-9.
- [13] Criscione VD, Weinstock MA. Incidence of cutaneous T-cell lymphoma in the United States, 1973-2002. *Arch Dermatol*. 2007 Jul;143(7):854-9.
- [14] Morales Suárez-Varela MM, Llopis González A, Marquina Vila A, Bell J. Mycosis fungoides: review of epidemiological observations. *Dermatology*. 2000;201(1):21-8.
- [15] Korgavkar K, Xiong M, Weinstock M. Changing incidence trends of cutaneous T-cell lymphoma. *JAMA*

- Dermatol. 2013 Nov;149(11):1295-9.
- [16] Weinstock MA, Reynes JF. The changing survival of patients with mycosis fungoides: a population-based assessment of trends in the United States. *Cancer*. 1999 Jan 1;85(1):208-12.
- [17] Toro JR, Stoll HL Jr, Stomper PC, Oseroff AR. Prognostic factors and evaluation of mycosis fungoides and Sézary syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1997; 37:58-67.
- [18] Weiss et al.: Clonal rearrangements of T-cell receptor genes in mycosis fungoides and dermatopathic lymphadenopathy. *N.Eng.J.Med.* 1985;313:539-544..
- [19] Enrique Gómez de la Fuente (Directores de tesis: L. Iglesias Diez y P. Ortiz Romero). Factores clínicos de progresión tumoral y supervivencia en linfomas cutáneos de células T (micosis fungoides/Síndrome de Sézary). Tesis doctoral. Universidad Complutense. Madrid, 2002..
- [20] Benton EC, Crichton S, Talpur R, Agar NS, Fields PA, Wedgeworth E, Mitchell TJ, Cox M, Ferreira S, Liu P, Robson A, Calonje E, Stefanato CM, Wilkins B, Scarisbrick J, Wain EM, Child F, Morris S, Duvic M, Whittaker SJ. A cutaneous lymphoma international prognostic index (CLIPi) for mycosis fungoides and Sezary syndrome. *Eur J Cancer*. 2013 Sep;49(13):2859-68.
- [21] Klemke CD, Mansmann U, Poenitz N, Dippel E, Goerdts S. Prognostic factors and prediction of prognosis by the CTCL Severity Index in mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Br J Dermatol*. 2005 Jul;153(1):118-24.
- [22] Bunn PA, Lamberg SI, Report of the committee on staging and classification of cutaneous T-cell lymphomas. *Cancer Treat Rep* 1979;63:725-728.
- [23] Olsen E, Vonderheid E, Pimpinelli N et al. Revisions to the staging Olsen E, Vonderheid E, Pimpinelli N, Willemze R, Kim Y, Knobler R, Zackheim H, Duvic M, Estrach T, Lamberg S, Wood G, Dummer R, Ranki A, Burg G, Heald P, Pittelkow M, Bernengo MG, Sterry W, W, Laroche L, Trautinger F, Whittaker S; ISCL/EORTC. Revisions to the staging and classification of mycosis fungoides and Sezary syndrome: a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the cutaneous lymphoma task force of the European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Blood*. 2007 Sep 15;110(6):1713-22. Epub 2007 May 31. Review. Erratum in: *Blood*. 2008 May 1;111(9):4830.
- [24] Hughes CF, Newland K, McCormack C, Lade S, Prince HM. Mycosis fungoides and Sézary syndrome: Current challenges in assessment, management and prognostic markers. *Australas J Dermatol*. 2015 May 18. doi: 10.1111/ajd.12349. [Epub ahead of print] PubMed PMID: «25988337».
- [25] Solal-Celigny P. Follicular Lymphoma International Prognostic Index. *Curr Treat Options Oncol*. 2006 Jul;7(4):270-5.
- [26] Benton EC, Crichton S, Talpur R, Agar NS, Fields PA, Wedgeworth E, Mitchell TJ, Cox M, Ferreira S, Liu P, Robson A, Calonje E, Stefanato CM, Wilkins B, Scarisbrick J, Wain EM, Child F, Morris S, Duvic M, Whittaker SJ.
- [27] Hughes CF, Khot A, McCormack C, Lade S, Westerman DA, Twigger R, Buelens O, Newland K, Tam C, Dickinson M, Ryan G, Ritchie D, Wood C, Prince HM. Lack of durable disease control with chemotherapy for mycosis fungoides and Sézary syndrome: a comparative study of systemic therapy. *Blood*. 2015 Jan 1;125(1):71-81..
- [28] Zhang C, Richon V, Ni X, Talpur R, Duvic M. Selective induction of apoptosis by histone deacetylase inhibitor SAHA in cutaneous T-cell lymphoma cells: relevance to mechanism of therapeutic action. *J Invest Dermatol*. 2005 Nov;125(5):1045-52..
- [29] Bradford PT, Devesa SS, Anderson WF, Toro JR. Cutaneous Lymphoma incidence patterns in the United States:

- a population based study of 3884 cass. *Blood* 2009;113:5064-73.
- [30] Yazganoglu KD, Topkarci Z Yazganoglu KD, Topkarci Z, Buyukbabani N, Baykal C. Childhood mycosis fungoides: a report of 20 cases from Turkey. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013 Mar;27(3):295-300.
- [31] Kim YH, Liu HL, Mraz-Gernhard S, Varghese A, Hoppe RT. Long-term outcome of 525 patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome: clinical prognostic factors and risk for disease progression. *Arch Dermatol*. 2003 Jul;139(7):857-66.
- [32] Marks JG, Miller JJ, In: Marks JG, MillerJJ editors. Scaling papulas, plaques and patches. Lookingbill and Marks principles of dermatology. 4th edition Philadelphia: Saunders elsevier p 134-5.
- [33] Vergier B, De Muret A, Beylot-Barry M, Vaillart L, Ekouevi D, Chene G, et al. Transformation of mycosis fungoides: clinicopathological and prognostic features of 45 cases. *Blood* 2000;95:2212-8.
- [34] Olsen EA, Whittaker S, Kim YH, Duvic M, Prince HM, Lessin SR, Wood GS, Willemze R, Demierre MF, Pimpinelli N, Bernengo MG, Ortiz-Romero PL, Bagot M, Estrach T, Guitart J, Knobler R, Sanches JA, Iwatsuki K, Sugaya M, Dummer R, Pittelkow M, Hoppe R, Parker S, Geskin L, Pinter-Brown L, Girardi M, Burg G, Ranki A, Vermeer M, Horwitz S, Heald P, Rosen S, Cerroni L, Dreno B, Vonderheid EC; International Society for Cutaneous Lymphomas; United States Cutaneous Lymphoma Consortium; Cutaneous Lymphoma Task Force,» of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer. Clinical end points and response criteria in mycosis fungoides and Sézary syndrome: a consensus statement of the International Society for Cutaneous Lymphomas, the United States Cutaneous Lymphomas, the United States Cutaneous Lymphoma Consortium, and the Cutaneous Lymphoma Task Force of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer. *J Clin Oncol*. 2011 Jun 20;29(18):2598-607.
- [35] Hwang S, Janik J, Jaffe E, Wilson W. Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome. *Lancet* 2008 :371:945-57.
- [36] Kazakov DV, Burg G, Kempf W. Clinicopathological spectrum of mycosis fungoides. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2004 Jul;18(4):397-415.
- [37] Agar NS, Wedgeworth E, Crichton S, Mitchell TJ, Cox M, Ferreira S, Robson A, Calonje E, Stefanato CM, Wain EM, Wilkins B, Fields PA, Dean A, Webb K, Scarisbrick J, Morris S, Whittaker SJ., Survival outcomes and prognostic factors in mycosis fungoides/Sézary syndrome: validation of the revised International Society for Cutaneous Lymphomas/European Organisation for Research and Treatment of Cancer staging proposal. *J Clin Oncol*. 2010 Nov 1;28(31) 4730-9.
- [38] Haghghi B, Smoller BR, Leboit PE, Warnke RA, Sander CA, Kholer S. Pagetoid reticulosis (Woringer Kolopp disease): an immunophenotypic , molecular , clinicopathologic study. *Mod Pathol* 2000; 13:502-10.
- [39] Kempf W, Ostheeren-Michaelis S, Paulli M, Lucioni M, Wechsler J, Audring H, Assaf C, Rüdiger T, Willemze R, Meijer CJ, Berti E, Cerroni L, Santucci M, Hallermann C, Berneburg M, Chimenti S, Robson A, Marschalko M, Kazakov DV, Petrella T, Fraitag S, Carlotti A, Courville P, Laeng H, Knobler R, Golling P, Dummer R, Burg G; Cutaneous Lymphoma Histopathology Task Force Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. Granulomatous mycosis fungoides and granulomatous, slack skin: a multicenter study of the Cutaneous Lymphoma Histopathology Task Force Group of the European Organization For Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Arch Dermatol*. 2008 Dec;144(12):1609-17.
- [40] Oshima K, Jaffe ES, Kikuchi et. Adult T cell Leukemia/Lymphoma. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al editors. *WHO Classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues*; 40th ed Lyon: International Agency for Research on Cancer. 2008;281-4.

- [41] Saed G, Fivenson D. Mycosis fungoides exhibits a Th1 type cell mediated cytokine profile whereas Sézary Syndrome expresses a Th2 type profile. *J Invest Dermatol* 1994; 103:29-33.
- [42] Trotter MJ, Whittaker SJ, Orchard GE et al. Cutaneous histopathology of Sézary syndrome: a study of 41 cases with a proven circulating T cell clone. *J Cutan Pathol.* 1997;24:286-91.
- [43] Ardigó M, Borroni G, Muscardin L, Kerl H, Cerroni L. Hypopigmented mycosis fungoides in Caucasian patients: a clinicopathologic study of 7 cases. *J Am Acad Dermatol.* 2003 Aug;49(2):264-70.
- [44] Pavlovsky L, Mimouni D, Amitay-Laish I, Feinmesser M, David M, Hodak E. Hyperpigmented mycosis fungoides: an unusual variant of cutaneous T-cell lymphoma with a frequent CD8+ phenotype. *J Am Acad Dermatol.* 2012 Jul;67(1):69-75.
- [45] Dougherty J. Poikilodermatous atrophicans vasculare. *Arch Dermatol* 103:550, 1971.
- [46] Roder H, Engel S, Ziegenbalg H. [On the differential diagnosis of mycosis fungoides d'emblée (Vidal-Brocq) and the reticulosarcoma of the skin]. *Z Haut Geschlechtskr.* 1968 Sep 15;43(18):749-55.
- [47] Blasik LG, Newkirk RE, Dimond RL, Clendenning WE. Mycosis fungoides d'emblée: a rare presentation of cutaneous T-cell lymphoma. *Cancer.* 1982 Feb 15;49(4):742-7.
- [48] Martorell-Calatayud A, Botella-Estrada R, Sanmartín-Jimenez O, Requena C, Guillén-Barona C, Sangüeza OP. Papular mycosis fungoides: two new cases of a recently described clinicopathological variant of early mycosis fungoides. *J Cutan Pathol.* 2010 Mar;37(3):3, ):330-5.
- [49] Brajon D, Bonnet N, Dales JP, Berbis P. [Papular mycosis fungoides]. *Ann Dermatol Venereol.* 2013 Jun-Jul;140(6-7):455-8.
- [50] Ally MS, Pawade J, Tanaka M, Morris S, Mitchell T, Child F, Wain M, Whittaker S, Robson A. Solitary mycosis fungoides: a distinct clinicopathologic entity with a good prognosis: a series of 15 cases and literature review. *J Am Acad Dermatol.* 2012 Oct;67(4):, 736-44.
- [51] Pileri A, Agostinelli C, Grandi V, Raone B, Delfino C, Patrizi A, Pileri SA, Pimpinelli N. Unilesional folliculotropic mycosis fungoides: a true rarity in the clinico-pathologic spectrum? *G Ital Dermatol Venereol.* 2014 Dec;149(6):639-42 .
- [52] Kempf W, Kazakov DV, Schermesser M, Buechner SA, Parmentier L, Wysocki A, Palmedo G, Häusermann P. Unilesional follicular mycosis fungoides: report of two cases with progression to tumor stage and review of the literature. *J Cutan Pathol.* 2012 Sep;39(9):, 853-60.
- [53] Nguyen CV, Bohjanen KA. Skin-Directed Therapies in Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Dermatol Clin.* 2015 Oct;33(4):683-96.
- [54] EA Olsen , YH Kim , TM Kuzel et al. Phase IIb multicenter trial of vorinostat in patients with persistent , progressive or treatment refractory T-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2007 ; 25:3109-3115.
- [55] Stutz N, Johnson RD, Wood GS. The Fas apoptotic pathway in cutaneous T-cell lymphomas: frequent expression of phenotypes associated with resistance to apoptosis. *J Am Acad Dermatol.* 2012 Dec;67(6):1327.
- [56] Aydin F, Levent Y, Nilgun S, Pancar YE, Yasar TA. Implications of bax, fas, and p53 in the pathogenesis of early-stage mycosis fungoides and alterations in expression following photochemotherapy. *Indian J Dermatol.* 2011 Sep-Oct;56(5):501-4.

- [57] Wu J, Nihal M, Siddiqui J, Vonderheid EC, Wood GS. Low FAS/CD95 expression by CTCL correlates with reduced sensitivity to apoptosis that can be restored by FAS upregulation. *J Invest Dermatol.* 2009 May;129(5):1165-73.
- [58] Gjerdrum LM, Woetmann A, Odum N, Hother C, Henrik-Nielsen R, Gniadecki R, Ralfkiaer E. FOXP3 positive regulatory T-cells in cutaneous and systemic CD30 positive T-cell lymphoproliferations. *Eur J Haematol.* 2008 Jun;80(6):483-9.
- [59] López-Lerma I, Estrach MT. [Comparative analysis of the expression of celladhesion molecules in cutaneous T-cell lymphomas (mycosis fungoides/Sézary syndrome) and inflammatory skin diseases]. *Actas Dermosifiliogr.* 2010Dec;101(10):866-77.
- [60] Sigurdsson V, de Vries IJ, Toonstra J, Bihari IC, et al. Expression of VCAM-1, ICAM-1, E-selectin, and P-selectin on endothelium in situ in patients with erythroderma, mycosis fungoides and atopic dermatitis. *J Cutan Pathol.* 2000 Oct;27(9):436-40.
- [61] Uccini S, Ruco LP, Monardo F, La Parola IL, Cerimele D, Baroni CD. Molecular mechanisms involved in intraepithelial lymphocyte migration: a comparative study in skin and tonsil. *J Pathol.* 1993 Apr;169(4):413-9.
- [62] Ogunrinade O, Ahn CS, Gergis U, Yassin AH, Magro C. Cutaneous lymphocyte antigen expression loss and PD1 positivity in early cutaneous lesions of rapidly progressive mycosis fungoides. *Clin Case Rep.* 2014 Oct;2(5):209-18.
- [63] Jaffe E.S, Harris N. L, Vardiman JW, Campos E, Arber D A, Normal Lymphoid Organs and Tissues in : Hematopathology Ed Saunders Elsevier (St Louis) 2011 p115-119 .
- [64] Nasu K, Said J, Vonderheid E, Olerud J, Sako D, Kadin M. Immunopathology of cutaneous T-cell lymphomas. *Am J Pathol* 1985;119:436-47.
- [65] Furue M, Kadono T. New aspects of the clinicopathological features and treatment of mycosis fungoides and Sézary syndrome. *J Dermatol.* 2015Oct;42(10):941-4.
- [66] Kunstle G, Laine J, Pierron G, et al. Identification of Akt association and oligomerization domains of the Akt kinase coactivator TCL1. *Mol Cell Biol.* 2002;22: 1513-1525..
- [67] Magro C.M, Morrison C D, Heerema N et al. T-cell prolymphocytic leukemia: An aggressive T cell malignancy with frequent cutaneous tropism. *J Am Acad Dermatol* 2006; 55:467-77.
- [68] Vega F, Luthra R, Medeiros LJ, Dunmire V, Lee SJ, Duvic M, Jones D. Clonal heterogeneity in mycosis fungoides and its relationship to clinical course. *Blood.* 2002 Nov 1;100(9):3369-73.
- [69] Rodríguez-Pinilla SM, Ortiz-Romero PL, Monsalvez V, Tomás IE, Almagro M, Sevilla A, Camacho G, Longo MI, Pulpillo Á, Diaz-Pérez JA, Montes-Moreno S, Castro Y, Echevarría B, Trébol I, Gonzalez C, Sánchez L, Otín AP, Requena L, Rodríguez-Peralto JL, Cerroni L, Piris MÁ. TCR- $\gamma$  expression in primary cutaneous T-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol.* 2013 Mar;37(3):375-84.
- [70] van Haselen CW, Vermeer MH, Toonstra J, van der Putte SC, Mulder PG, van. p53 and bcl-2 expression do not correlate with prognosis in primary cutaneous large T-cell lymphomas. *J Cutan Pathol.* 1997 Sep;24(8):462-5
- [71] Mao X, Orchard G, Lillington DM, Child FJ, Vonderheid EC, Nowell PC, Bagot M, Bensussan A, Russell-Jones R, Young BD, Whittaker SJ. BCL2 and JUNB abnormalities in primary cutaneous lymphomas. *Br J Dermatol.* 2004 Sep;151(3):546-56.

- [72] Gomez de la Cámara A, López-Encuentra A, Ferrando P; Bronchogenic Carcinoma Cooperative Group of the Spanish Society of Pneumology and Thoracic Surgery (GCCB-S). Heterogeneity of prognostic profiles in non-small cell lung cancer: too many variables but a , few relevant. *Eur J Epidemiol.* 2005;20(11):907-14.
- [73] Klanova M, Andera L, Soukup J, Svadlenka J, Benesova S, Brazina J, Prukova D, Nagasawa T, Takakuwa T, Takayama H, Dong Z, Miyagawa S, Itami S, Yoshikawa K, Aozasa K. Fas gene mutations in mycosis fungoides: analysis of laser capture-microdissected specimens from cutaneous lesions. *Oncology.*2004;67(2):130-4
- [74] Nagasawa T, Takakuwa T, Takayama H, Dong Z, Miyagawa S, Itami S, Yoshikawa K, Aozasa K. Fas gene mutations in mycosis fungoides: analysis of laser capture-microdissected specimens from cutaneous lesions. *Oncology.*2004;67(2):130-4.
- [75] Dereure O, Portales P, Clot J, Guilhou JJ. Decreased expression of fas(APO-1/CD95) on lesional CD4+ T lymphocytes in cutaneous T cell lymphomas: correlations with blood data. *Br J Dermatol.* 2001 Dec;145(6):1031-2.
- [76] Suto A, Nakajima H, Ikeda K, Kubo S, Nakayama T, Taniguchi M, Saito Y, Iwamoto. Jang MS, Kang DY, Han SH, Park JB, Kim ST, Suh KS. CD25+ folliculotropic Sézary syndrome with CD30+ large cell transformation. *Australas J Dermatol.* 2014 Feb;55(1):e4-8.
- [77] Jang MS, Kang DY, Han SH, Park JB, Kim ST, Suh KS. CD25+ folliculotropic Sézary syndrome with CD30+ large cell transformation. *Australas J Dermatol.* 2014 Feb;55(1):e4-8.
- [78] Vergier B, de Muret A, Beylot-Barry M, Vaillant L, Ekouevi D, Chene G, Carlotti A, Franck N, Dechelotte P, Souteyrand P, Courville P, Joly P, Delaunay M, Bagot M, Grange F, Fraitag S, Bosq J, Petrella T, Durlach A, De Mascarel A, Merlio JP, Wechsler J., Transformation of mycosis fungoides: clinicopathological and prognostic features of 45 cases. French Study Group of Cutaneous Lymphomas. *Blood.* 2000 Apr 1;95(7):2212-8.
- [79] Jones D, Ibrahim S, Patel K, Luthra R, Duvic M, Medeiros LJ. Degree of CD25 expression in T-cell lymphoma is dependent on tissue site: implications for targeted therapy. *Clin Cancer Res.* 2004 Aug 15;10(16):5587-94.
- [80] Fife, B. T., and K. E. Pauken. 2011. The role of the PD-1 pathway in autoimmunity and peripheral tolerance. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1217:45–59.
- [81] Lok C, Viseux V, Denoeux JP, Bagot M. Post-transplant cutaneous T-cell lymphomas. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2005 Oct;56(1):137-45.
- [82] Rodríguez-Gil Y, Palencia SI, López-Ríos F, Ortiz PL, Rodríguez-Peralto JL. Mycosis fungoides after solid-organ transplantation: report of 2 new cases. *Am J Dermatopathol.* 2008 Apr;30(2):150-5.
- [83] Seçkin D. Cutaneous lymphoproliferative disorders in organ transplant recipients: update 2014. *G Ital Dermatol Venereol.* 2014 Aug;149(4):401-8.
- [84] Wong HK. Immunopathogenesis of mycosis fungoides/Sézary syndrome (cutaneous T-cell lymphoma). *G Ital Dermatol Venereol.* 2008 Dec;143(6):375-83.
- [85] Nishimura H, Nose M, Hiai H, Minato N et al. "Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor," *Immunity*, 1999 : (11), 2, 141–151.
- [86] Xia Y, Jeffrey Medeiros L, Young KH. Signaling pathway and dysregulation of PD1 and its ligands in lymphoid malignancies. *Biochim Biophys Acta.* 2015 Oct 7. En prensa
- [87] Samimi S, Benoit B, Evans K, Wherry EJ, Showe L, Wysocka M, et al. Increased programmed death-1 expression on CD41 T cells in cutaneous T-cell lymphoma: implications for immunosuppression. *Arch Dermatol*

- 2010;146:1382-8..
- [88] Pignata C, Romano R. In this issue: FOX genes and the immune response. *Int Rev Immunol*. 2014 Mar;33(2):81-2.
- [89] Hallermann C, Nierman C, Schultze HJ. Regulatory Tcell Phenotype in association with large cell transformation of mycosis fungoides. *Eur J Immunol* 2005; 35:1681-1691.
- [90] Wysocka M, Zaki MH, French LE, Chehimi J, Shapiro M, Everetts SE, McGinnis KS, Montaner L, Rook AH. Sézary syndrome patients demonstrate a defect in dendritic cell populations: effects of CD40 ligand and treatment with GM-CSF on dendritic cell numbers and, *the production of cytokines*. *Blood*. 2002 Nov 1;100(9):3287-94..
- [91] Schwingshackl P, Obermoser G, Nguyen VA, Fritsch P, Sepp N, Romani N. Distribution and maturation of skin dendritic cell subsets in two forms of cutaneous T-cell lymphoma: mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Acta Derm Venereol*. 2012 May;92(3):269-75.
- [92] Yaris N, Büyükpamukçu M, Kansu E et al. Expression of adhesion molecules LFA-1, IACM-1, CD44 and L-Selectin in childhood non-Hodgkin lymphomas. *Med Ped Oncol* 36;359-364.
- [93] Maio M, Pinto A, Carbone A, Zagonel V, Gloghini A, Marotta G, Cirillo D, Colombatti A, Ferrara F, Del Vecchio L, et al. Differential expression of CD54/intercellular adhesion molecule-1 in myeloid leukemias and in lymphoproliferative disorders. *Blood*. 1990, Aug 15;76(4):783-90.
- [94] López-Lerma I, Estrach MT. A distinct profile of serum levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-3 in mycosis fungoides and Sézary syndrome. *J Am Acad Dermatol*. 2009 Aug;61(2):263-70.
- [95] Gómez de la Fuente E, Barrientos Pérez N, Ortiz Romero PL et al. Etiopathogenesis of cutaneous T-cell lymphomas (mycosis fungoides/Sézary syndrome) *Actas Dermosifiliogr*. 2000;91 (11) :477-83.
- [96] Sterry W, Mielke V, Konter U, Kellner I, Boehncke WH. Role of beta 1-integrins in epidermotropism of malignant T cells. *Am J Pathol*. 1992 Oct;141(4):855-60.
- [97] Duckett CS, Gedrich RW, Gilfillan MC et al. (1997) Induction of nuclear factor kappaB by the CD30 receptor is mediated by TRAF1 and TRAF2. *Mol Cell Biol* 17:1535-42 .
- [98] Kong G, Dalton M, Wandenburg JB et al. Distinct tyrosine Phosphorylation sites in ZAP 70 mediate activation and negative regulation of antigen receptor function . *Mol Cell Biol* 1996; 16:5026-5032.
- [99] Admirand JH, Rassidakis GZ, Abruzzo LV, Valbuena JR, Jones D, Medeiros LJ. Immunohistochemical detection of ZAP-70 in 341 cases of non-Hodgkin and Hodgkin lymphoma. *Mod Pathol*. 2004 Aug;17(8):954-61.
- [100] Robert C, Kupper TS. Inflammatory skin diseases, T cells, and immune surveillance. *N Engl J Med*. 1999 Dec 9;341(24):1817-28.
- [101] Sors A, Jean-Louis F, Pellet C, Laroche L, Dubertret L, Courtois G, Bachelez H, Michel L. Down-regulating constitutive activation of the NF-kappaB canonical pathway overcomes the resistance of cutaneous T-cell lymphoma to apoptosis. *Blood*. 2006 Mar 15; 107(6):2354-63.
- [102] Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, Liu Q, Harshman K, Tavtigian SV, Stockert E, Day RS 3rd, Johnson BE, Skolnick MH. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. *Science*. 1994 Apr 15;264(5157):436-40.

- [103] Nobori T, Miura K, Wu DJ, Lois A, Takabayashi K, Carson DA. Deletions of the Nobori T, Miura K, Wu DJ, Lois A, Takabayashi K, Carson DA. Deletions of the Apr 21;368(6473):753-6.
- [104] Navas IC, Algara P, Mateo M, Martínez P, García C, Rodríguez JL, Vanaclocha F, Barrientos N, Iglesias L, Sánchez L, Piris MA, Ortiz-Romero P. p16(INK4a) is selectively silenced in the tumoral progression of mycosis fungoides. *Lab Invest*. 2002 Feb; (2):123-32.
- [105] Millan J, Puertollano R, Fan L, Alonso MA. Caveolin and MAL , two protein components of internal detergent insoluble membranes are in distinct lipid microenviroments in MDCK cells. *Biochem Biophys res Commun* 1997; 223:707-712.
- [106] Tracey L, Spiteri I, Ortiz P, Lawler M, Piris MA, Villuendas R. Transcriptional Response of T-cells to Interferon alpha: Changes induced in IFNalpha sensitive and resistant cutaneous T-cell lymphoma. *J Interf Cytok Research*. 2004;24:185-95.
- [107] L Tracey, R Villuendas , P Ortiz, A Dopazo , I Spiteri, L Lombardia JL, Rodríguez-Peralto, et al. Identification of genes involved in resistance to interferon-alpha in cutaneous T-cell lymphoma. *Am J Pathol*. 2002 Nov;161(5):1825-37.
- [108] Netchiporouk E, Litvinov IV, Moreau L, Gilbert M, Sasseville D, Duvic M. Deregulation in STAT signaling is important for cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) pathogenesis and cancer progression. *Cell Cycle*. 2014;13(21):3331-5.
- [109] Litvinov IV, Cordeiro B, Fredholm S, Ødum N, Zargham H, Huang Y, Zhou Y, Pehr K, Kupper TS, Woetmann A, Sasseville D. Analysis of STAT4 expression in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) patients and patient-derived cell lines. *Cell Cycle*. 2014;13(18):2975-82.
- [110] Battifora H. The multitumor (sausage) tissue block: novel method for immunohistochemical antibody testing. *Lab Invest*. 1986;55:244-248.
- [111] Jawhar NMT. Tissue Microarray: A rapidly evolving diagnostic and research tool. *Annals of Saudi Medicine*. 2009;29(2):123-127.
- [112] Rimm DL, Camp RL, Charette LA, Olsen DA, Provost E. Amplification of tissue by construction of tissue microarrays. *Exp Mol Pathol*. 2001 Jun;70(3):255-64.
- [113] Van de Rijn M, Gilks CB. Applications of microarrays to histopathology. *Histopathology*. 2004 Feb;44(2):97-108.
- [114] Pimpineli N, Olsen EA, Santucci M, Vonderheid E, Haeflner AC, Stevens S et al. International Society for Cutaneous Lymphoma. Related Articles. Defining early mycosis fungoides. *J AM Acad Dermatol*. 2005 Dec ; 53(69):1053-63.
- [115] Battifora H. The multitumor (sausage) tissue block: novel method for immunohistochemical antibody testing. *Lab Invest*. 1986;55:244-248.
- [116] Fernández PL, Nayach I, Fernández E, Fresno L, Palacín A, Farré X, Campo E, Cardesa A. Tissue microarrays ("microchops") for gene expression analysis. *Virchows Arch*. 2001 Jun;438(6):591-4.
- [117] Jawhar NMT. Tissue Microarray: A rapidly evolving diagnostic and research tool. *Annals of Saudi Medicine*. 2009;29(2):123-127.
- [118] Rimm DL, Camp RL, Charette LA, Olsen DA, Provost E. Amplification of tissue by construction of tissue

- microarrays. *Exp Mol Pathol*. 2001 Jun;70(3):255-64..
- [119] E.Ralfkiaer et al. Controversies and discussion on early diagnosis of cutaneous T-cell lymphoma: phenotyping. *Dermatol Clin*. 1994;12: 329-334.
- [120] Willemze R, Jaffe ES, Burg G, Cerroni L et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood*. 2005 May 15;105(10):3768-85.
- [121] PA Bunn ,SI Lamberg . Report of the Committee on Staging and Classification of Cutaneous T-Cell Lymphomas. *Cancer Treat Rep*. 1979 Apr;63(4):725-8 .
- [122] Vonderheid EC, Pavlov I, Delgado JC, Martins TB, Telang GH, Hess AD, Kadin ME. Prognostic factors and risk stratification in early mycosis fungoides. *Leuk Lymphoma*. 2014 Jan;55(1):44-50.
- [123] J. L. Alibert:Description des maladies de la peau observées à l'Hôpital Saint-Louis et exposition des meilleures méthodes suivies pour leur traitement. Paris, Barrois l'aîné et fils, 1806. Page 157.
- [124] A. Bazin:Affections cutanées artificielles. Paris, 1852.
- [125] H. Auspitz:Ein Fall von Granuloma fungoides (Mycosis fungoides Alibert). *Vierteljahresschrift für Dermatologie und Syphilis*, Wien, 1885, 12: 123-143.
- [126] Scarisbrick JJ, Kim YH, Whittaker SJ, Wood GS, Vermeer MH, Prince HM, Quaglino P. Prognostic factors, prognostic indices and staging in mycosis fungoides and Sézary syndrome:where are we now? *Br J Dermatol*. 2014 Jun;170(6):1226-36.
- [127] M F BennerM F, PM Jansen , MH Vermeer , R Willemze. Prognostic factors in transformed mycosis fungoides: a retrospective analysis of 100 cases. *Blood*. 2012 Feb 16;119(7):1643-9.
- [128] Arulogun SO, Prince HM, Ng J, Lade S, Ryan GF, Blewitt O, McCormack C.Long-term outcomes of patients with advanced-stage cutaneous T-cell lymphoma and large cell transformation. *Blood*. 2008 Oct 15;112(8):3082-7.
- [129] Scarisbrick JJ, Prince HM, Vermeer MH, Quaglino P, Horwitz S, Porcu P, Stadler R, Wood GS, Beylot-Barry M, Pham-Ledard A, Foss F, Girardi M, Bagot M, Michel L, Battistella M, Guitart J, Kuzel TM, Martinez-Escala ME, Estrach T, Papadavid E,Antoniou C, Rigopoulos D, Nikolaou V, Sugaya M, Miyagaki T, Gniadecki R, Sanches JA, Cury-Martins J, Miyashiro D, Servitje O, Muniesa C, Berti E, Onida F, Corti L, Hodak E, Amitay-Laish I, Ortiz-Romero PL, Rodríguez-Peralto JL, Knobler R,Porkert S, Bauer W,, Pimpinelli N, Grandi V, Cowan R, Rook A, Kim E, Pileri A,Patrizi A, Pujol RM, Wong H, Tyler K, Stranzenbach R, Querfeld C, Fava P, Maule , Willemze R, Evison F, Morris S, Twigger R, Talpur R, Kim J, Ognibene G, Li S, Tavallaee M, Hoppe RT, Duvic M,, Whittaker SJ, Kim YH. Cutaneous Lymphoma International Consortium Study of Outcome in Advanced Stages of Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome: Effect of Specific Prognostic Markers on Survival and Development of a Prognostic Model. *J Clin Oncol*. 2015.
- [130] Talpur R, Singh L, Daulat S, Liu P, Seyfer S, Trynosky T, Wei W, Duvic M.Long-term outcomes of 1,263 patients with mycosis fungoides and Sézary syndromefrom 1982 to 2009. *Clin Cancer Res*. 2012 Sep 15;18(18):5051-60.
- [131] Schmid MH, Bird P, Dummer R, Kempf W, Burg G. Tumor burden index as a prognostic tool for cutaneous T-cell lymphoma: a new concept. *Arch Dermatol*. 1999 Oct;135(10):1204-8.
- [132] Edinger JT; Beth ZC, Brian E; Pucevich et al. CD30 expression and proliferative fraction in nontransformed Mycosis Fungoides. *Am J Surg Pathol*. 2009 Dec, 33(12): 1860-1864.

- [133] Tobisawa S, Honma M, Ishida-Yamamoto A, Saijo Y, Iizuka H. Prognostic factors in 105 Japanese cases of mycosis fungoides and Sézary syndrome: clusterin expression as a novel prognostic factor. *J Dermatol Sci*. 2013 Sep;71(3):160-6.
- [134] Kubica AW, Davis MD, Weaver AL, Killian JM, Pittelkow MR. Sézary syndrome: a study of 176 patients at Mayo Clinic. *J Am Acad Dermatol*. 2012 Dec;67(6):1189-99.
- [135] Van Doorn R, Scheffer E, Willemze R. Follicular mycosis fungoides, a distinct disease entity with or without associated follicular mucinosis: a clinicopathologic and follow-up study of 51 patients. *Arch Dermatol*. 2002;138(2):191.
- [136] Lehman JS, Cook-Norris RH, Weed BR, Weenig RH, Gibson LE, Weaver AL, Pittelkow. Folliculotropic mycosis fungoides: single-center study and systematic review. *Arch Dermatol*. 2010;146(6):607.
- [137] Gerami P, Guitart J. The spectrum of histopathologic and immunohistochemical findings in folliculotropic mycosis fungoides. *Am J Surg Pathol*. 2007 Sep;31(9):1430-8.
- [138] Olerud JE, Kulin PA, Chew DE, Carlsen RA, Hammar SP, Weir TW, Patterson SD, Bolen JW, Kadin ME, Barker E, et al. Cutaneous T-cell lymphoma. Evaluation of pretreatment skin biopsy specimens by a panel of pathologists. *Arch Dermatol*. 1992 Apr;128(4):501-7.
- [139] Zackheim HS, Kashani-Sabet M, Amin S. Topical corticosteroids for mycosis fungoides. Experience in 79 patients. *Arch Dermatol*. 1998 Aug;134(8):949-54.
- [140] LeBoit PEM, Calmont TH, Elder DE, Elenitsas R, Jaworsky C, Johnson B, Jred. Cutaneous lymphomas and leukemia. *Lever's Histopathology of the Skin*. Philadelphia, Pa: Lippincott-Raven; 1997; 805-846.
- [141] Smoller BR, Bishop K, Glusac E, Kim YH, Hendrickson M. Reassessment of histologic parameters in the diagnosis of mycosis fungoides. *Am J Surg Pathol*. 1995 Dec;19(12):1423-30.
- [142] Smith NP. Histologic criteria for early diagnosis of cutaneous T-cell Lymphoma. *Dermatol Clin* 1994; 12:315-22.
- [143] Syrjänen K, Kataja V, Yliskoski M, Chang F, Syrjänen S, Saarikoski S. Natural history of cervical human papillomavirus lesions does not substantiate the biologic relevance of the Bethesda System. *Obstet Gynecol*. 1992 May;79(5):675-82.
- [144] Dmitrovsky E, Matthews MJ, Bunn PA, et al. Cytologic transformation in cutaneous T cell lymphoma: a clinicopathologic entity associated with poor prognosis. *J Clin Oncol* 1987; 5: 208-15.
- [145] Pulitzer M, Myskowski PL, Horwitz SM, Querfeld C, Connolly B, Li J, Murali R. Mycosis fungoides with large cell transformation: clinicopathological features and prognostic factors. *Pathology*. 2014 Dec;46(7):610-6.
- [146] Salhany KE, Cousar JB, Greer JP, Casey TT, Fields JP, Collins RD. Transformation of cutaneous T cell lymphoma to large cell lymphoma. A clinicopathologic and immunologic study. *Am J Pathol*. 1988 Aug;132(2):265-77.
- [147] Diamandidou E, Colome-Grimmer M, Fayad L, Duvic M, Kurzrock R. Transformation of mycosis fungoides/Sézary syndrome: clinical characteristics and prognosis. *Blood*. 1998 Aug 15;92(4):1150-9.
- [148] King-Ismael D, Ackerman AB. Guttate parapsoriasis/digitate dermatosis (small plaque parapsoriasis) is mycosis fungoides. *Am J Dermatopathol*. 1992 Dec;14(6):518-30; discussion 531-5.
- [149] Lennert K. histopathology of Non-Hodgkin 's Lymphomas (Based on the kiel Classification) . Ed Springer-

- Velarg. Berlin Heilderberg . 1981. pp 25-71.
- [150] MacGrogan G, Jollet I, Huet S, Sierankowski G, Picot V, Bonichon F, Coindre JM. Comparison of quantitative and semiquantitative methods of assessing MIB-1 with the S-phase fraction in breast carcinoma. *Mod athol.* 1997 Aug;10(8):769-76.
- [151] Wernham AG, Shah F, Amel-Kashipaz R, Cobbold M, Scarisbrick J. Stage I mycosis fungoides: frequent association with a favourable prognosis but disease progression and disease-specific mortality may occur. *Br J Dermatol.* 2015 Jun 4 . En prensa
- [152] Marshall E, Kadin, Igor Pavlov, Julio C. Delgado, Eric C. Vonderheid . High soluble CD30, CD25 and IL-6 may identify patients with worse survival in CD30+ cutaneous lymphomas and early mycosis fungoides *J Invest Dermatol.* 2012 March; 132(3): 703–710.
- [153] Gedrich RW, Gilfillan MC, Duckett CS, Van Dongen JL, Thompson CB. CD30 contains two binding sites with different specificities for members of the tumor necrosis factor receptor-associated factor family of signal transducing proteins. *J Biol Chem.*, 1996 May 31;271(22):12852-8.
- [154] Falini, B., S. Pileri, G. Pizzolo, H. Durkop, L. Flenghi, F. Stirpe, M. F. Martelli, and H. Stein. 1995. CD30 (Ki-1) molecule: a new cytokine receptor of the tumor necrosis factor receptor superfamily as a tool for diagnosis and immunotherapy. *Blood* 85:1–14.
- [155] Wozniak M, Piris MA, Cutaneous T-Cell Lymphoma: Two Faces of the Same Coin. *Journal of Investigative Dermatology* (2010) 130, 348–351.
- [156] Perkins ND (2004) NF-kappaB: tumor promoter or suppressor? *Trends Cell Biol* 14:64–9.
- [157] Christos Vaklavas, Andres Forero-Torres *Ther Adv Hematol.* 2012 August; 3(4): 209–225.
- [158] Maj J, Jankowska-Konsur A, Plomer-Niezgoda E, Sadakierska-Chudy A, Reich A. Altered expression of Bcl-2, c-Myc, H-Ras, K-Ras, and N-Ras does not influence the course of mycosis fungoides. *Arch Med Sci.* 2013 Oct 31;9(5):895-8.
- [159] Benner MF, Ballabio E, van Kester MS, Saunders NJ, Vermeer MH, Willemze R, Lawrie CH, Tensen CP. Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma shows a distinct miRNA expression profile and reveals differences from tumor-stage mycosis fungoides. *Exp Dermatol.* 2012 Aug;21(8):632-4.
- [160] Tracey L, Villuendas R, Dotor Am, Ortil P, Garcia JF, Rodríguez Peralto J Let al. Mycosis fungoides shows concurrent deregulation of multiple genes involved in the TNF signaling pathway: an expression profile study. *Blood*, 2003;102:1042-1050.
- [161] Wozniak MB, Tracey L, Ortiz-Romero PL, Montes S, Alvarez M, Fraga J, Fernández-Herrera J, Vidal S, Rodríguez-Peralto JL, Piris MA, Villuendas R. Psoralen plus ultraviolet A +/- interferon-alpha treatment resistance in mycosis fungoides: the role of tumour microenvironment, nuclear transcription factor-kappaB and T-cell receptor pathways. *Br J Dermatol.* 2009 Jan;160(1):92-102.
- [162] Weshahy H, Mahgoub D, El-Eishy N, El-Tawdy AM, Bassiouny DA, Hunter N, Hindawi A. Bcl-2 expression in mycosis fungoides before and after PUVA therapy. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2010 Apr;26(2):107-9.
- [163] Antón OM, Andrés-Delgado L, Reglero-Real N, Batista A, Alonso MA. MAL protein controls protein sorting at the supramolecular activation cluster of human T lymphocytes. *J Immunol.* 2011 Jun 1;186(11):6345-56.

- [164] Rodríguez-Pinilla SM, Atienza L, Murillo C, Pérez-Rodríguez A, Montes-Moreno S, Roncador G, Pérez-Seoane C, Domínguez P, Camacho FI, Piris MA. Peripheral T-cell lymphoma with follicular T-cell markers. *Am J Surg Pathol*. 2008 Dec;32(12):1787-99.
- [165] Cetinözman F, Jansen PM, Vermeer MH, Willemze R. Differential expression of programmed death-1 (PD-1) in Sézary syndrome and mycosis fungoides. *Arch Dermatol*. 2012 Dec;148(12):1379-85.
- [166] Wada DA, Wilcox RA, Harrington SM, Kwon ED, Ansell SM, Comfere NI. Programmed death 1 is expressed in cutaneous infiltrates of mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Am J Hematol*. 2011 Mar;86(3):325-7.
- [167] J. L. Riley, "PD-1 signaling in primary T cells," *Immunological Reviews*, 2009 vol. 229, no. 1, pp. 114–125.
- [168] Vesely, MD, Kershaw RH, Schreiber RD, Smyt MJ, "Natural innate and adaptive immunity to cancer," *Annual Review of Immunology*, 2011; (29): 235–271
- [169] Jawed SI, Busam K, Wang X, Horwitz S, Querfeld C. Cutaneous hemophagocytosis after alemtuzumab injection in a patient with Sézary syndrome. *JAMA Dermatol*. 2014 Sep;150(9):1021-3.
- [170] Jawed SI, Myskowski PL, Horwitz S, Moskowitz A, Querfeld C. Primary cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides and Sézary syndrome): part II. Prognosis, management, and future directions. *J Am Acad Dermatol*. 2014 Feb;70(2):223.e1-17.
- [171] Guenova E, Hoetzenecker W, Rozati S, Levesque MP, Dummer R, Cozzio A. Novel therapies for cutaneous T-cell lymphoma: what does the future hold? *Expert Opin Investig Drugs*. 2014 Apr;23(4):457-67.
- [172] Storz U. Intellectual property issues of immune checkpoint inhibitors. *MAbs*. 2015 Oct 14:0. [Epub ahead of print] En prensa. .
- [173] Whittaker SJ, Marsden JR, Spittle M, Russell Jones R; British Association of Dermatologists; U.K. Cutaneous Lymphoma Group. Joint British Association of Dermatologists and U.K. Cutaneous Lymphoma Group guidelines for the management of primary cutaneous , T-cell lymphomas. *Br J Dermatol*. 2003 Dec;149(6):1095-1107.
- [174] Trautinger F, Knobler R, Willemze R, Peris K, Stadler R, Laroche L, D'Incan M, Ranki A, Pimpinelli N, Ortiz-Romero P, Dummer R, Estrach T, Whittaker S. EORTC consensus recommendations for the treatment of mycosis fungoides/Sézary syndrome. *Eur J Cancer*. 2006, May;42(8):1014-30.
- [175] Duarte RF, Canals C, Onida F et al. Allogenic haematologic cell transplantation for patients with mycosis fungoides and Sézary Syndrome. *J Clin Oncol* 2010 ; 28: 4492-9.
- [176] Li JY, Horwitz S, Moskowitz A, Myskowski PL, Pulitzer M, Querfeld C. Management of cutaneous T cell lymphoma: new and emerging targets and treatment options. *Cancer Manag Res*. 2012;4:75-89.
- [177] Stevens SR, Ke MS, Parry EJ, Mark J, Cooper KD. Quantifying skin disease burden in mycosis fungoides-type cutaneous T-cell lymphomas: the severity-weighted assessment tool (SWAT). *Arch Dermatol*. 2002 Jan;138(1):42-8.
- [178] Swrdlow SH, Campo E, Harris NL, World Health Organization of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues, Lyon: IARC Press, 2008.





## ***APÉNDICES***



## XIII.1 ANEXO TABLAS ADICIONALES

## XIII.1. ANEXO 1 (1979)

Estadios TNMB	Clasificación TNM de LCCT (Original Mycosis Fungoides Cooperative Group)
<b>T: PIEL*</b>	
<b>T0</b>	Lesiones sospechosas clínica o histopatológicamente .
<b>T1</b>	Lesiones limitadas a <10% de la superficie: tipo placa limitada, pápulas o manchas ( <i>patches</i> ) eczematosas que afectan a una escasa superficie cutánea.
<b>T2</b>	Placas generalizadas, pápulas o manchas eritematosas que afectan a $\geq 10\%$ de la superficie cutánea.
<b>T3</b>	Una o más lesiones tumorales.
<b>T4</b>	Eritrodermia generalizada.
<b>GANGLIO LINFÁTICO‡</b>	
<b>N0</b>	No ganglios linfáticos periféricos clínicamente anormales; histopatología negativa para LCCT.
<b>N1</b>	Ganglios linfáticos periféricos clínicamente anormales grandes o de consistencia aumentada ; histopatología negativa para LCCT.
<b>N2</b>	No ganglios linfáticos periféricos clínicamente anormales ; histopatología positiva para LCCT.
<b>N3</b>	Ganglios linfáticos periféricos clínicamente anormales; histopatología positiva para LCCT.
<b>VÍSCERA</b>	
<b>M0</b>	No afectación visceral.
<b>M1</b>	Afectación visceral (necesaria confirmación histológica $\Sigma$ o afectación específica del órgano)
<b>SANGRE</b>	
<b>B0</b>	Ausencia de células atípicas circulantes (< 5%).
<b>B1</b>	Presencia de células atípicas circulantes (> 5%); (necesario hacer recuento total de leucocitos y linfocitos y calcular las células atípicas/ 100 linfocitos).

\*En piel, *patch* se define como una lesión cutánea de cualquier tamaño sin elevación o induración relevante. Se debe observar si existe presencia/ausencia de hipo o hiperpigmentación, escama, costra y/o poiquilodermia

‡ En piel, placa se define como una lesión cutánea de cualquier tamaño elevada o indurada. Se debe observar si existe presencia/ausencia de escama, costra y/o poiquilodermia. Es importante documentar hallazgos clínicos como ulceración o histopatológicos como foliculotropismo, transformación a célula grande (> 25% de células grandes) o CD30<sup>+</sup> / CD30<sup>-</sup>.

$\Sigma$  En las vísceras, la afectación esplénica y hepática puede diagnosticarse por criterios de imagen.

**XIII. ANEXO 2 (1979)**

Sistema de estadiaje de LCCT (Original Mycosis Fungoides Cooperative Group), 1979÷

Clasificación en estadios de Linfomas Cutáneos de células T				
	T	N	M	Supervivencia a 5 años (%)
<b>IA</b>	1	0	0	96-100
<b>IB</b>	2	0	0	73-86
<b>IIA</b>	1, 2	1	0	49-73
<b>IIB</b>	3	0, 1	0	40-65
<b>III</b>	4	0, 1	0	40-57
<b>IVA</b>	1-4	2, 3	0	15-40
<b>IVB</b>	1-4	0-3	1	0-15

÷No se incluyó la situación de afectación de sangre periférica (B) por no tenerse certeza de que fuera un factor pronóstico independiente pero se recomienda que se recoja el dato para cada paciente.

## XIII. ANEXO 3 (2007)

Estadios TNMB	Clasificación TNMB de MF/SS (ISCL/EORTC) 2007 <sup>©</sup>
<b>PIEL</b>	
<b>T1</b>	Manchas ( <i>patches</i> )* limitadas, pápulas y/o placas <sup>†</sup> que afectan a <10% superficie cutánea. Se puede subdividir en T1a (sólo manchas) y T1b (placas ± manchas).
<b>T2</b>	Manchas, pápulas o placas que afectan a ≥ 10% de la superficie cutánea. Se puede subdividir en T2a (sólo manchas) y T2b (placas ± manchas).
<b>T3</b>	
<b>T4</b>	Uno o más tumores <sup>‡</sup> (≥ 1 cm de diámetro). Eritema confluyente que afecta a ≥ 80% de la superficie cutánea.
<b>GANGLIO LINFÁTICO</b>	
<b>N0</b>	No ganglios linfáticos periféricos <sup>§</sup> clínicamente anormales; no precisa biopsia.
<b>N1</b>	Ganglios linfáticos periféricos clínicamente anormales; grado histopatológico holandés 1 o NCI LN0-2. Clonalidad negativa#.
<b>N1a</b> <b>N1b</b>	
<b>N2</b>	Ganglios linfáticos periféricos clínicamente anormales; grado histopatológico holandés 2 o NCI LN3. Clonalidad negativa#.
<b>N2a</b> <b>N2b</b>	
<b>N3</b>	Ganglios linfáticos periféricos clínicamente anormales; grado histopatológico holandés 3-4 o NCI LN4; clonalidad positiva o negativa.
<b>Nx</b>	Ganglios linfáticos periféricos clínicamente anormales; no confirmación histológica.
<b>VÍSCERAL</b>	
<b>M0</b>	Sin afectación visceral.
<b>M1</b>	Afectación visceral (necesaria confirmación histológica <sup>¶</sup> o afectación específica del órgano)
<b>SANGRE</b>	
<b>B0</b>	Ausencia de afectación significativa hematológica: ≤ 5% de linfocitos en sangre periférica son atípicos (células de Sézary) <sup>©</sup> Clonalidad negativa#.
<b>B0a</b> <b>B0b</b>	
<b>B1</b>	Afectación hematológica leve: > 5% de linfocitos en sangre periférica son atípicos (células de Sézary) pero sin cumplir criterios de B2. Clonalidad negativa#.
<b>B1a</b> <b>B1b</b>	
<b>B2</b>	Afectación hematológica severa: ≥ 1000 células de Sézary $\mu$ l <sup>©</sup> con clonalidad positiva#.

\*En piel, *patch* se define como una lesión cutánea de cualquier tamaño sin elevación o induración significativa. Se debe observar si existe presencia/ausencia de hipo o hiperpigmentación, escama, costra y/o poiquilodermia.

†En piel, placa se define como una lesión cutánea de cualquier tamaño elevada o indurada. Se debe observar si existe presencia/ausencia de escama, costra y/o poiquilodermia. Es importante documentar hallazgos clínicos como ulceración o histopatológicos como foliculotropismo, transformación a célula grande (> 25% de células grandes) o CD30<sup>+</sup> / CD30<sup>-</sup>.

‡En piel, tumor se define como lesión nodular o sólida de al menos 1 cm de diámetro con evidencia de crecimiento vertical o en profundidad. Hay que considerar el número total de lesiones, el volumen total de lesiones, la lesión de mayor tamaño y las regiones corporales afectadas. También hay que tener en cuenta si hay evidencia histológica de transformación a célula grande. Se recomienda estudio de CD30<sup>+</sup>.

§Ganglios linfáticos periféricos anormales se definen como cualquier ganglio periférico palpable que resulta firme, irregular, conglomerado, fijo o mayor de 1.5 cm de diámetro en exploración física. Los grupos ganglionares examinados en la exploración física incluyen las cadenas cervicales, supraclaviculares, epitrocleares, axilares e inguinales. Los ganglios “centrales”, que generalmente no son accesibles para el estudio histológico, no se consideran actualmente en la clasificación ganglionar salvo si sirven para establecer el grado histopatológico N3.

¶En las vísceras, la afectación esplénica y hepática puede diagnosticarse por criterios de imagen.

© En la sangre, las células de Sézary se definen como linfocitos con núcleo cerebriforme, convolucionado. Si no se pueden utilizar las células de Sézary para determinar la afectación hematológica para B2, entonces se pueden utilizar los siguientes criterios modificados de la ISCL junto con el reordenamiento monoclonal positivo para el receptor TCR: 1. Aumento de células CD4<sup>+</sup> o CD3<sup>+</sup> con un ratio CD4/CD8 igual o mayor de 10; 2. Aumento de las células CD4<sup>+</sup> con alteraciones en el inmunofenotipo, incluyendo pérdida de CD7 (≥40%) o CD26 (≥30%).

#Un clon de células T se define por un análisis del reordenamiento del genoma del receptor de la célula T (TCR) mediante PCR o Southern Blot.

© (Originalmente publicado en Olsen et al. *Blood* 2007 (16) y modificado en Olsen et al *J Clin Oncol* 2011 (20)

## XIII. ANEXO 4 (2207)

Tabla Estadaje revisado ISCL/EORTC en MF/SS clasificación actual (modificado Olsen et al Clin Oncol 2011 (20))

ESTADIO	T (extensión en piel)	N (ganglios)	M (visceral)	B (sangre)
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

## ANEXO FIGURAS ADICIONALES

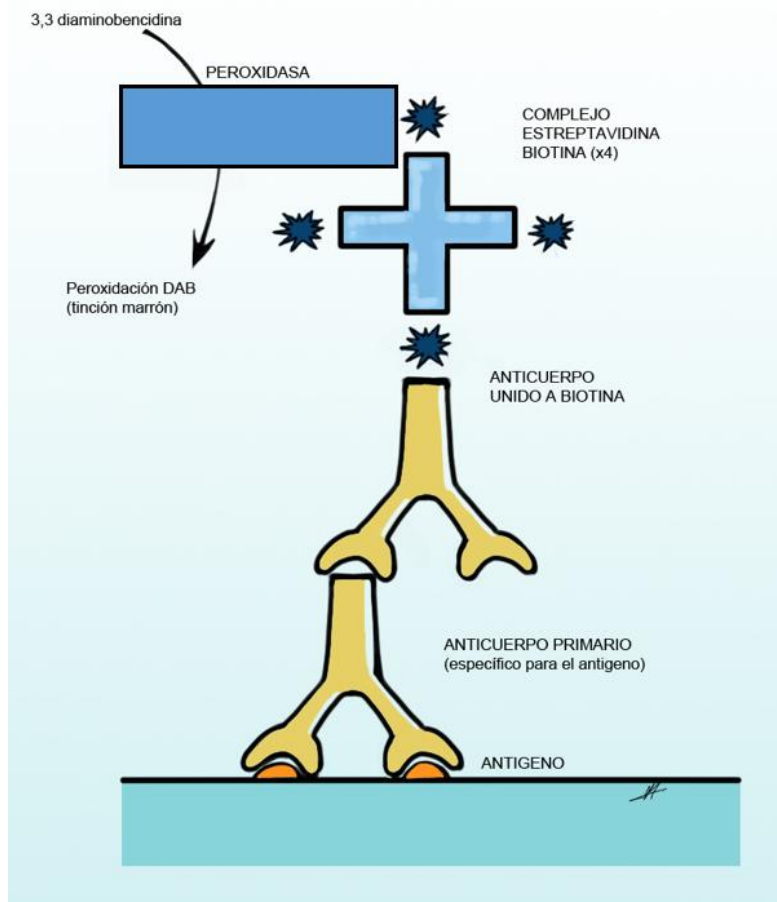


Figura 15. Esquema que explica el mecanismo base de la tinción inmunohistoquímica. Un anticuerpo primario contra el antígeno diana, se marca con un anticuerpo unido a un complejo estreptavidina-biotina. Este complejo es el que lleva unida la peroxidasa para dar lugar a la reacción que cambia la diaminobencidina y produce el color marrón (peroxidación).