

ANA CRISTINA DA SILVA COTTA

**AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA COM ÊNFASE
PARA CD7 NO DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE
INFILTRAÇÕES LINFOCITÁRIAS CUTÂNEAS
BENIGNAS E MICOSE FUNGÓIDE**

CAMPINAS

2005

ANA CRISTINA DA SILVA COTTA

**AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA COM ÊNFASE
PARA CD7 NO DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE
INFILTRAÇÕES LINFOCITÁRIAS CUTÂNEAS
BENIGNAS E MICOSE FUNGÓIDE**

*Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas para obtenção
do título de Doutora em Ciências Médicas, área de
concentração Anatomia Patológica.*

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ VASSALLO

CAMPINAS

2005

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

C827a Cotta, Ana Cristina da Silva
Avaliação imuno-histoquímica com ênfase para CD7 no diagnóstico diferencial entre infiltrações linfocitárias cutâneas benignas e micose fungóide. / Ana Cristina da Silva Cotta. Campinas, SP: [s.n.], 2005.

Orientador: José Vassallo
Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Linfoma. 2. Pele. 3. Patologia. 4. Histopatologia. 5. Diagnostico. I. José Vassallo. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

SLP

Banca examinadora da Tese de Doutorado

Orientador: Prof. Dr. José Vassallo

Membros:

1. Prof. Dr. Roberto Antônio Pinto Paes

2. Prof. Dr. Fernando Augusto Soares

3. Profa. Dra. Kátia Borgia Barbosa Pagnano

4. Prof. Dra. Carmen Sílvia Passos Lima

5. Prof. Dr. José Vassallo

Curso de pós-graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 04/03/2005

DEDICATÓRIA

A Deus e à minha família, com amor.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos a todos os pacientes envolvidos no estudo.

Agradecemos a todos os amigos, residentes, docentes e funcionários dos Departamentos de: Anatomia Patológica (DAP), Dermatologia, Genética e Bioestatística, LAPE, RCBPC, Biblioteca, DADCC e CAISM da UNICAMP. Departamentos de Patologia e Dermatologia da PUCCAMP e do ILSL em Bauru, pela ajuda inestimável e pelo apoio, fundamentais para a realização deste trabalho.

Agradeço ao Dr. Aloysio Campos da Paz Júnior, Dra. Lúcia Willadino Braga e Dr. Ricardo Karam Kalil, do Hospital Sarah, em Brasília, pela autorização para adaptação dos horários de trabalho, possibilitando a conclusão deste projeto. Aos colegas, agradeço as palavras de apoio e incentivo.

Agradecimento especial para Profa. Dra. Maria Letícia Cintra, Professora de Patologia, preceptora da residência de Anatomia Patológica do Departamento de Anatomia Patológica da FCM - UNICAMP, responsável pela área de Dermatopatologia, presente em todas as etapas do desenvolvimento da tese. A realização da mesma, somente foi possível devido à integração harmoniosa entre as áreas de Dermatopatologia, Dermatologia e Hematopatologia, coordenadas, respectivamente, pelos professores doutores, Maria Letícia Cintra, Elemir Macedo de Souza e José Vassallo.

	<i>Pág.</i>
RESUMO.....	<i>xii</i>
ABSTRACT.....	<i>xiv</i>
1- INTRODUÇÃO.....	16
1.1- Arquitetura funcional da pele.....	17
1.2- Linfomas cutâneos primários.....	18
1.2.1- Considerações diagnósticas.....	18
1.2.2- Classificações dos linfomas cutâneos.....	19
1.2.3- Micose Fungóide.....	23
1.3- Infiltrações linfocitárias da pele.....	27
2- JUSTIFICATIVA.....	29
3- OBJETIVOS.....	31
3.1- Objetivos gerais.....	32
3.2- Objetivos específicos.....	32
3.2.1- Avaliação imuno-histoquímica.....	32
4- CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	33
4.1- Tipo de estudo.....	34

4.2- Casuística: critérios de inclusão e exclusão no estudo.....	34
4.3- Avaliação imuno-histoquímica.....	37
4.4- Análise estatística.....	39
5- RESULTADOS.....	40
5.1- Casuística.....	41
5.2- Avaliação imuno-histoquímica.....	41
6- DISCUSSÃO.....	50
7- CONCLUSÃO.....	58
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS

CAISM	Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher
CD	Designação de Agrupamento ("cluster designation")
DADCC	Diretoria de Apoio Didático, Científico e Computacional
DAP	Departamento de Anatomia Patológica
EORTC	Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento do Câncer - "European Organization for Research and Treatment of Cancer"
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
ILSL	Instituto Lauro de Souza Lima
LAPE	Laboratório de Patologia Experimental
LCCT	Linfomas Cutâneos de Células T
LNH	Linfoma não-Hodgkin
MF	Micose Fungóide
8-MOP	oito-metoxipsoralen
OMS	Organização Mundial de Saúde
PUCCAMP	Pontifícia Universidade Católica de Campinas
PUVA	psoraleno e ultra-violeta A
RCBPC	Registro de Câncer de Base Populacional de Campinas
SALT	Tecido linfóide associado à pele ("skin-associated lymphoid tissue")
SS	Síndrome de Sézary
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas

LISTA DE TABELAS

	<i>Pág.</i>
Tabela 1- Micose Fungóide: avaliação semiquantitativa imuno-histoquímica.....	43
Tabela 2- Dermatites crônicas: avaliação semiquantitativa imuno-histoquímica...	44
Tabela 3- Análise estatística: "teste t de Student" para amostras independentes, casos versus controles.....	45
Tabela 4- Análise estatística: "teste t de Student" para amostras correlacionadas, reação imuno-histoquímica por CD3 e CD7.....	45

LISTA DE QUADROS

	<i>Pág.</i>
Quadro 1- Classificação modificada da Organização Mundial de Saúde para neoplasia do Sistema Linfóide e Hematopoiético (2001): neoplasias linfóides T e NK(*) (*)Não incluídas: Neoplasias do Sistema Hematopoiético, Neoplasias de Células Linfóides B, Linfoma de Hodgkin, Neoplasias de Células Histiocíticas e Dendríticas, Mastocitose.....	20
Quadro 2- Classificação modificada EORTC (1997), para linfomas cutâneos primários - linfomas cutâneos de células T (*) (*)Não incluídos linfomas cutâneos de células B.....	21
Quadro 3- Classificação TNM para linfomas cutâneos primários.....	22
Quadro 4- Estágio clínico e sobrevida para linfomas cutâneos primários.....	23
Quadro 5- Correlação clínico-patológica e critérios diagnósticos para Micose Fungóide.....	26
Quadro 6- Critérios de seleção da casuística.....	36
Quadro 7- Painel imuno-histoquímico.....	37

LISTA DE FIGURAS

	<i>Pág.</i>
Figura 1- Micose Fungóide: hematoxilina e eosina (200x).....	46
Figura 2- Micose Fungóide: reação imuno-histoquímicaCD3 (200x).....	46
Figura 3- Micose Fungóide: reação imuno-histoquímicaCD4 (200x).....	47
Figura 4- Micose Fungóide: reação imuno-histoquímicaCD7 (200x).....	47
Figura 5- Micose Fungóide: reação imuno-histoquímicaCD4 (400x).....	48
Figura 6- Dermatite crônica: hematoxilina e eosina (200x).....	48
Figura 7- Dermatite crônica: reação imuno-histoquímicaCD3 (200x).....	49
Figura 8- Dermatite crônica: reação imuno-histoquímicaCD7 (200x).....	49

RESUMO

Micose fungóide (MF) é a forma mais comum de linfoma cutâneo de células T. Nos estágios iniciais, pode mimetizar dermatites crônicas. MF é, geralmente, CD3+ e CD4+. CD7 é expresso em cerca de 90% dos linfócitos T CD4+ e está, freqüentemente, ausente nas células T malignas. O objetivo deste estudo foi avaliar a utilidade da detecção imuno-histoquímica de CD3 e CD7 (clone CBC.37) no diagnóstico diferencial de MF e dermatites benignas. Todos os casos foram submetidos a um painel imuno-histoquímico constituído pelos anticorpos CD3, CD7, CD20, CD4, CD8 e CD30. Foram selecionados 42 pacientes. Correlação clínico-patológica havia estabelecido o diagnóstico de MF em 31 e, infiltrações linfocitárias cutâneas benignas, em 11. Foi realizada avaliação semi-quantitativa da porcentagem de células coradas às reações imuno-histoquímicas para todos os anticorpos avaliados, tanto em visão panorâmica de menor aumento, quanto em 10 campos consecutivos em maior aumento. Para análise estatística, foi utilizado o teste t de Student. As médias das porcentagens de células CD3 positivas foram similares em pacientes com MF e dermatites benignas, respectivamente, 86 (+/-9)% versus 79 (+/-26)% ($p=0,807$). Já a média das porcentagens de células CD7 positivas foi de 54 (+/-32)% nos pacientes com MF e de 74 (+/-22)% nas dermatites benignas ($p=0,048$). A avaliação semi-quantitativa revelou perda considerável do CD7 em relação ao CD3 nos pacientes com MF. A média de células coradas na MF foi de 86 (+/-9)% para CD3 e 54 (+/-32)% para CD7 ($p<0,001$), e, nas dermatites benignas, 79 (+/-26)% para CD3 e 74 (+/-22)% para CD7 ($p=0,669$). Concluímos que o estudo do CD7 pode ser ferramenta valiosa para a distinção entre inflamação e neoplasia, nas desordens linfoproliferativas da pele.

ABSTRACT

Mycosis fungoides (MF) is the most common form of primary cutaneous T-cell lymphoma. In early stage, it may mimic benign dermatoses both, on clinical and histological basis. MF usually expresses CD3 and CD4 (T-cell) markers. CD7 is expressed on about 90% of CD4+ T cells and is often deficient on malignant T cells. Thus, CD7 is of potential aid in the evaluation of the nature of dermal lymphoid infiltrates. The aim of this study was to evaluate the usefulness of immunohistochemical detection of T-cell markers on paraffin-embedded sections, CD3 and CD7 (clone CBC.37) in the differential diagnosis of MF and benign dermatoses. All cases were submitted to CD3, CD7, CD20, CD4, CD8, and CD30 panel of antibodies. Forty-two patients with diffuse dermal T-lymphocytic infiltrates were selected. Previous clinicopathologic correlation and follow-up had established the diagnosis of MF in 31 patients and benign dermatoses in 11. A semiquantitative evaluation for the percentage of stained cells on immunohistochemistry was performed for all antibodies in low power and 10 consecutive high power fields. Student t test was used for statistical analysis. The mean percentage of CD3 stained cells was similar in MF and benign dermatoses patients, respectively 86 (+/-9)% versus 79 (+/-26)% ($p=0.807$). On the other hand, the mean percentage of CD7 stained cells was 54 (+/-32)% in patients with MF, and 74 (+/-22)% in patients with benign dermatoses ($p=0.048$). A semiquantitative evaluation revealed a considerable loss of CD7 immunolabeling in comparison with CD3 in patients with MF. Mean value of stained cells in MF was 86 (+/-9)% for CD3 and 54 (+/-32)% for CD7 ($p< 0.001$) while in benign dermatoses it was 79 (+/-26)% for CD3 and 74 (+/-22)% for CD7 ($p= 0.669$). We concluded that CD7 study may represent a valuable tool in the distinction between inflammation and neoplasia in T lymphoproliferative skin disorders.

1- INTRODUÇÃO

1.1- Arquitetura funcional da pele

Na pele normal, observam-se linfócitos T, linfócitos B e células de Langerhans, na proporção de 70.000 células de Langerhans para aproximadamente 20 linfócitos por cm³ de epiderme (ISAACSON e NORTON, 1994). O tecido linfóide associado à pele (SALT – “skin-associated lymphoid tissue”) é constituído por: células de Langerhans, linfócitos com epidermotropismo (“homing”), queratinócitos secretores de moléculas imuno-regulatórias para as células linfo-reticulares e uma rede angio-linfática contendo receptores para captura dos linfócitos circulantes (STREILEIN, 1983; STREILEIN et al., 1999).

As células de Langerhans são membros do sistema mononuclear fagocitário, especializadas na apresentação de antígenos. Localizam-se acima da membrana basal da epiderme, têm numerosos dendritos, expressam os antígenos CD1a e proteína S-100. Na ultra-estrutura, contém grânulos de Birbeck, em forma de raquete (ISAACSON e NORTON, 1994; STREILEIN, 1983; STREILEIN et al., 1999). A apresentação dos antígenos, para ativação dos linfócitos T, requer a “ligação antígeno-HLA” ou “antígeno-complexo CD1” ao receptor antigênico das células T e sinais co-estimulatórios das células de Langerhans (ROBERT e KUPPER, 1999).

À semelhança da arquitetura funcional do linfonodo, a pele tem camadas específicas em que as células T ou B se alojam, preferencialmente. Na população linfóide permanente, os linfócitos T se localizam, predominantemente, em pequeno número, na epiderme, em uma faixa subepidérmica na derme papilar e na derme perianexial, bem como na tela subcutânea, com padrão de crescimento em duas dimensões. O alojamento preferencial dos linfócitos na pele, bem como, seus padrões de expansão são regulados por citocinas e fatores quimiotáticos (ISAACSON e NORTON, 1994).

As células T de memória, com capacidade de circular preferencialmente pela pele, são identificadas pelo antígeno linfocitário cutâneo (CLA – “cutaneous lymphocyte antigen”) (ROBERT e KUPPER, 1999). Essas células T participam da vigilância imunológica fisiológica e, também, de processos inflamatórios e neoplásicos (GIRARDI et al., 2004). Estudos sobre danos à resposta imune, induzidos pela radiação

ultra-violeta B, ampliaram o conceito de tecido linfóide associado à pele. Acredita-se que mastócitos sirvam como reservatórios de citocinas imuno-modulatórias e que os neuro-peptídeos das terminações nervosas sejam reguladores da resposta imune (STREILEIN et al., 1999).

1.2- Linfomas cutâneos primários

1.2.1- Considerações diagnósticas

Os linfomas cutâneos primários constituem, aproximadamente, 8% dos linfomas extranodais. A pele é, também, freqüente local de disseminação de linfomas não-Hodgkin nodais (ISAACSON e NORTON, 1994).

A distinção entre neoplasias benignas e malignas, historicamente, tem se baseado em uma combinação de achados clínicos e histopatológicos. A certeza diagnóstica de malignidade reside na observação de um comportamento biológico agressivo. Apesar disso, vários parâmetros histopatológicos têm sido utilizados para indicar malignidade. As características arquiteturais e citológicas (densidade e extensão do infiltrado, pleomorfismo, hipercromasia nuclear e mitoses) são úteis, na maior parte dos casos. Entretanto, em algumas situações, esses critérios não se aplicam, como acontece, por exemplo, nos pseudo-linfomas, sejam induzidos por medicamentos, dermatites de contato, radiação solar (reticulóide actínico) ou picadas de insetos, dentre outros (PLOYSANGAM et al., 1998).

Algumas infiltrações linfocitárias histologicamente malignas apresentam evolução clínica favorável, incluindo regressão espontânea ou sob aplicação de métodos terapêuticos menos agressivos. Dentre esses: corticosteróides, 8-MOP (8-metoxipsoralen) e associação de psoralênicos com radiação ultra-violeta A (PUVA). Esse fenômeno já foi associado ao uso de anticonvulsivantes (fenitoína, carbamazepina), anti-hipertensivos (nifedipina, hidroclorotiazida), anti-inflamatórios (indometacina) e de ocorrência idiopática (RIJLAARSDAM et al., 1992). A correlação clínico-histológica é fundamental para o diagnóstico definitivo, sendo considerada o "padrão-ouro".

1.2.2- Classificações dos linfomas cutâneos

A classificação adotada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), e proposta pelo grupo de hematopatologia da Sociedade Brasileira de Patologia (PAES et al., 2002), inclui as seguintes entidades clínicas, no grupo dos linfomas cutâneos de células T: Micose Fungóide (MF)/Síndrome de Sézary (SS), linfoma cutâneo primário de grandes células anaplásicas e LCCT, do tipo paniculite subcutânea (Quadro 1).

Os LCCT são um grupo heterogêneo de entidades, com apresentação primária na pele, dos quais MF e SS constituem aproximadamente 70% (KOH et al., 1995; WILLEMZE et al., 1994, 1997). Entidades mais raras, associadas aos LCCT, incluem: papuloeritroderma de Ofuji, Linfoma/ Leucemia T do adulto associado ao HTLV-I/II, mucinose folicular, pele frouxa granulomatosa, LCCT epidermolítico, LCCT folicular, linfoma T subcutâneo (paniculítico) e LCCT angiotrópico (BURG et al., 1995). Os LNH T de alto grau incluem: MF “d’emblée” (do francês, na primeira apresentação ou circunstância), caracterizada por início em forma tumoral; linfoma cutâneo primário de grandes células anaplásicas e linfoma pleomórfico de células pequenas e médias cutâneo primário (BURG et al., 1995).

A classificação EORTC (Organização Européia para Pesquisa e Tratamento do Cancer - “European Organization for Research and Treatment of Cancer”), para as neoplasias primárias da pele, destaca o comportamento clínico distinto dos linfomas nodais de mesmo subtipo histológico (Quadro 2). A classificação TNM considera a extensão do tumor na pele, o comprometimento de linfonodos e órgãos (Quadro 3) e está relacionada às probabilidades de sobrevivência (Quadro 4) (WILLEMZE et al., 1994, 1997; RUSSEL-JONES, 1998; WECHSLER, 1998; CERRONI et al., 1998; DIAMANDIDOU et al., 1996).

Segundo ACKERMAN (1997), o termo parapsoríase, utilizado isoladamente, deveria ser excluído da literatura médica, por ser impreciso. A expressão “parapsoríase em grandes placas”, entretanto, tem sido amplamente empregada por outros autores, e em nosso meio, para condição caracterizada por lesões eczematosas maculares, ligeiramente descamativas, de tamanho, localização e formas variadas, com curso indolente (SIMON et al., 2000, SAMPAIO e RIVITTI, 2001).

QUADRO 1- Classificação modificada da Organização Mundial de Saúde para neoplasia do Sistema Linfóide e Hematopoiético (2001): neoplasias linfóides T e NK(*).

(*)Não incluídas: Neoplasias do Sistema Hematopoiético, Neoplasias de Células Linfóides B, Linfoma de Hodgkin, Neoplasias de Células Histiocíticas e Dendríticas, Mastocitose.

<i>Neoplasias de células linfóides T e NK</i>
• Neoplasias de células T precursoras – Linfoma/leucemia linfoblástica de precursor T – Linfoma de células NK blásticas • Neoplasias de células T e NK maduras – Leucemia prolinfocítica T – Leucemia linfocítica de grandes células T granulares – Leucemia agressiva de células NK – Leucemia/linfoma de células T do adulto (HTLV1 +) – Linfoma de células NK/T extranodal, do tipo nasal – Linfoma de células T do tipo enteropatia – Linfoma de células T hepatoesplênico – LCCT, do tipo paniculite subcutânea – Micose Fungóide – Síndrome de Sézary – Linfoma cutâneo primário de grandes células anaplásicas – Linfoma de células T periféricas não-especificado – Linfoma de células T angioimunoblástico – Linfoma de grandes células anaplásicas • Proliferações de células T de potencial maligno incerto – Papulose linfomatóide

Modificado da Proposta de padronização terminológica em língua portuguesa do grupo de hematopatologia da Sociedade Brasileira de Patologia, PAES et al., 2002

QUADRO 2-Classificação modificada EORTC (1997), para linfomas cutâneos primários - linfomas cutâneos de células T (*).

(*)Não incluídos linfomas cutâneos de células B.

<i>Linfomas cutâneos de células T (LCCT)</i>
• Comportamento clínico indolente – Micose fungóide – MF com mucinose folicular – Reticulose pagetóide – Linfoma Cutâneo de Grandes Células CD30 (+) - Anaplásico - Imunoblástico - Pleomórfico – Papulose linfomatóide • Comportamento clínico agressivo – Síndrome de Sézary – Linfoma Cutâneo de Grandes Células CD30 (-) - Imunoblástico - Pleomórfico • Entidades provisórias – Pele frouxa granulomatosa – LCCT, pleomórfico de células pequenas e médias – Linfoma de células T subcutâneo semelhante à paniculite

EORTC: Organização Européia para Pesquisa e Tratamento do Câncer

Modificado de WILLEMZE et al.,1997; CERRONI et al., 1998

QUADRO 3- Classificação TNM para linfomas cutâneos primários

<i>PELE (T)</i>
T1: Lesões em menos de 10% da superfície corporal
T2: Lesões recobrando mais de 10% da superfície corporal
T3: Tumores cutâneos (um ou mais)
T4: Eritrodermia
<i>LINFONODOS (N)</i>
N0: Não envolvidos
N1: Adenomegalia. Ausência de envolvimento histológico.
N2: Ausência de adenomegalia. Envolvimento histológico.
N3: Adenomegalia e envolvimento histológico.
<i>ÓRGÃOS VISCERAIS (M)</i>
M0: Não envolvidos
M1: Acometidos

Modificado de WILLEMZE et al.,1997; CERRONI et al., 1998

QUADRO 4- Estágio clínico (TNM) e sobrevida para linfomas cutâneos primários

<i>Estágio</i>	<i>T</i>	<i>N</i>	<i>M</i>	<i>5 anos</i>	<i>10 anos</i>
Ia	1	0	0	91%	80%
Ib	2	0	0		
IIa	1-2	1	0	72%	50%
IIb	3	0-1	0		
IIIa	4	0	0	35%	20%
IIIb	4	1	0		
IVa	1-4	3	0	46%	30%
IVb	1-4	0-3	1		

Modificado de DIAMANDIDOU et al.,1996

1.2.3- Micose Fungóide

O primeiro relato de caso de MF foi realizado por Alibert em 1806. O paciente desenvolveu lesões cutâneas que progrediram para tumores em forma de cogumelos. O nome da entidade nosológica foi atribuído devido à configuração fungiforme das lesões tumorais nas fases avançadas. Em 1870, Bazin descreveu estágios clínicos iniciais, denominados fases "pré-micóticas" (KOH et al., 1995; ACKERMAN, 1997).

Outras denominações para MF incluem: doença de Alibert-Bazin, fibroma fungóide, framboesia fungóide de Alibert, granuloma fungóide de Auspitz, granuloma sarcomatoso, hematodermia fungóide, hemorreticulose cutânea fungóide, linfodermia pernicioso de Kaposi, micose fungóide de Bazin, reticulogranulomatose cutânea maligna, reticulose granulomatosa fungóide, reticulossarcoma fungóide, sarcoma fungóide, síndrome fungóide de Tilbury-Fox. Muitos termos foram abandonados após a demonstração do papel dos linfócitos na patogênese dessa entidade, surgindo o termo LCCT (FONSECA e SOUZA, 1984; ACKERMAN, 1997).

A incidência da MF é estimada em 0,5 por 100.000 habitantes no mundo ocidental. É menor na China que na Europa e Austrália. A maior incidência é relatada nos Estados Unidos, estimando-se 1000 novos casos de MF por ano (WEINSTOCK e HORM, 1988; DOORN et al., 2000; KOH et al., 1995).

A etiologia dos LCCT é desconhecida. Várias teorias têm sido aventadas, incluindo agentes infecciosos, fatores ambientais e genéticos. Dentre os agentes infecciosos, destacam-se o vírus linfotrópico humano I-II, HTLV I-II (PANKAKE et al., 1995) e o vírus de Epstein-Barr (EBV) (DRENO et al., 1994). Dentre os fatores ambientais e industriais estudados estão mercúrio, cromo, hidrocarbonetos halogenados aromáticos, plásticos, cosméticos (FISCHMANN et al., 1979; GREENE et al., 1979, COHEN et al., 1980; WHITTEMORE et al., 1989; TUYP et al., 1987). Há poucos estudos citogenéticos, mostrando, em geral, uma variedade de anomalias cromossômicas, sendo mais comum, a perda do cromossomo 10 (LIMON et al., 1995). O oncogene p53 apresenta expressão da forma mutante nos estágios avançados, à semelhança do que ocorre em outras neoplasias (LAURITZEN et al., 1995).

As lesões da MF evoluem, geralmente, através das fases de mancha, placa e tumor. Apesar disso, essas três podem ocorrer simultaneamente.

As lesões iniciais são planas, medindo, geralmente, em torno de 20 cm, ocorrendo, predominantemente, no tronco, nas nádegas e na extremidade proximal das coxas. As lesões são, em geral, ovaladas, podendo tender a ser serpiginosas. A cor das lesões iniciais é semelhante à pele adjacente, mas pode ser discretamente eritematosa ou hiperocrômica, exceto pela forma hipocrômica da MF, mais rara. A superfície pode ser francamente descamativa ou apresentar leve aspereza à palpação. Pode haver atrofia, representada por enrugamento com aspecto em "papel de cigarro". Em alguns casos, pequenos vasos telangiectásicos podem estar interpostos às manchas hipo e hiperpigmentadas, resultando em um aspecto poiquilodérmico. Nessa fase, pode haver leve prurido.

Na fase de placa que, geralmente, ocorre 2 a 20 anos após o início do quadro, as lesões tornam-se mais espessas e com brilho eritematoso, caracterizando a infiltração. Algumas lesões ovaladas persistem, enquanto surgem outras denteadas, acompanhadas por diminuição da descamação. Algumas placas confluem, originando ilhas de tecido normal.

Na fase tumoral, que ocorre, geralmente, de meses a vários anos após o aparecimento das placas, estas iniciam processo de ulceração e nodulação.

Além da sequência clássica acima descrita, outras formas, menos comuns, de apresentação clínica foram descritas. Dentre elas destacam-se, a queratodermia palmo-plantar, máculas hipopigmentadas, placas eczematosas, placas em áreas expostas ao sol, lesões foliculares e eritrodermia (eritema esfoliativo generalizado).

Existe correlação entre o aspecto clínico observado e o padrão histológico das lesões da MF. Observa-se, em geral, infiltrado com características mistas do padrão de distribuição entre espongiótico, liquenóide e psoriasiforme. Existem alguns critérios histológicos, às colorações de rotina, que podem ser úteis na distinção entre MF (critérios de malignidade) e afecções benignas (critérios de benignidade nas infiltrações linfocitárias cutâneas (Quadro 5) (ACKERMAN, 1997).

QUADRO 5- Correlação clínico-patológica e critérios diagnósticos para Micoose Fungóide

APRESENTAÇÃO CLÍNICA	CRITÉRIOS HISTOPATOLÓGICOS DE
• EXPRESSÃO MORFOLÓGICA HISTOLÓGICA	MALIGNIDADE NAS INFILTRAÇÕES LINFOCITÁRIAS
<i>Manchas e lesões não infiltradas</i>	<i>Linfócitos isolados na epiderme</i>
• Infiltrações linfocitárias superficiais perivasculares	• Alinhados na camada basal
<i>Lesões em placas infiltradas</i>	• Migrando isoladamente na epiderme
• Infiltrados linfocitários liquenóides	• Associados a espongiose mínima, restrita à área de infiltração linfocitária
• Alterações nos feixes colágenos da derme alta, alguns mais espessos	• Formação de microabscessos de Pautrier-Darier
<i>Máculas hipocrômicas após regressão de placas</i>	• Em número aumentado na camada espinhosa
• Perda de cones epiteliais e papilas dérmicas	<i>Migração de linfócitos até às camadas granular e córnea</i>
• Feixes colágenos espessos em arranjo aleatório	<i>Atipias de linfócitos com contornos nucleares variados</i>
• Esparso infiltrado linfocitário	• Linfócitos intraepidérmicos maiores que os intradérmicos
<i>Lesões nodulares e tumorais</i>	• Irregulares cerebriformes
• Densos infiltrados linfóides atípicos ocupando toda a derme	• Polilobados, reniformes, serpiginosos, “bolhas nucleares”
• Alguns linfócitos cerebriformes	<i>Feixes colágenos da derme alta em disposição grosseira</i>
• Certa perda de epidermotropismo com concomitante tropismo por vasos dérmicos.	<i>Paraceratose confluyente</i>
PADRÕES MAIS COMUNS DE DISPOSIÇÃO DO INFILTRADO LINFOCITÁRIO NA MICOSE FUNGÓIDE	CRITÉRIOS HISTOPATOLÓGICOS DE BENIGNIDADE NAS INFILTRAÇÕES LINFOCITÁRIAS
• Liquenóide espongíotico	• Espongiose não associada à área de infiltração linfocitária
• Liquenóide psoriasiforme	• Edema na derme alta
• Liquenóide psoriasiforme-espongíotico	

Modificado de ACKERMAN, 1997; WILLEMZE et al.,1994; ISAACSON e NORTON ,1994

1.3- Infiltrações linfocitárias da pele

Várias entidades clínicas podem apresentar-se, histologicamente, como infiltrações linfocitárias superficiais e profundas. Dentre elas, destacam-se: linfoma, lúpus eritematoso, erupção polimorfa à luz, linfocitoma cútis e infiltração linfocitária de Jessner e Kanof, hanseníase, líquen estriado, necrobiose lipoídica, reações a picadas de insetos, lesões urticariformes de penfigóide bolhoso, eritemas migratórios, esclerodermia generalizada, reações a drogas, púrpura liquenóide crônica, líquen escleroso e atrófico, eritema multiforme e psoríase (ELDER,1997; WEEDON,1999; MING e LeBOIT, 2000; SANTUCCI et al., 2000).

Nos casos em que a apresentação clínica não é característica, o diagnóstico definitivo, geralmente, é obtido apenas após acompanhamento clínico, algumas vezes com biópsias seriadas. Pacientes apresentando dermatopatias disseminadas, com diagnóstico clínico prévio bem estabelecido, tais como: psoríase, dermatite seborréica e dermatite atópica, bem como portadores de linfomas primários nodais e leucemias com infiltração secundária da pele, não constituem problema diagnóstico. Algumas collagenoses como lúpus eritematoso, podem apresentar infiltrações linfocitárias persistentes da pele.

O principal dilema diagnóstico reside na diferenciação dos grupos de pacientes a serem submetidos a abordagens terapêuticas completamente distintas como: linfomas, collagenoses, processos infecciosos e farmacodermias. Pacientes portadores de condições malignas como linfoma são, a princípio, candidatos à inclusão em esquemas terapêuticos mais agressivos, com uso de quimioterápicos tópicos como mostarda nitrogenada e carmustine, banho de elétrons e, em fases mais avançadas, quimioterapia sistêmica.

Os linfomas englobados sob o termo "linfoma de células T de baixo grau, não epidermotrópico" (3%), constituem problemas diagnósticos com dermatoses profundas contendo infiltrados monomorfos de pequenas células T, como a erupção polimorfa à luz, infiltração linfocitária de Jessner e Kanof, formas profundas do lúpus eritematoso e erupções associadas a drogas. Nesse último, destacam-se quadros associados ao uso de anticonvulsivantes (fenitoína, difenil-hidantoína e carbamazepina), anti-hipertensivos, antidepressivos e anti-histamínicos.

O diagnóstico da MF, no estágio de placa, com lesão infiltrada bem estabelecida, raramente, causa problemas diagnósticos. As fases iniciais caracterizadas por manchas, ou seja, lesões não infiltradas, representam o limite dos conhecimentos atuais para o diagnóstico preciso. Várias dermatites crônicas podem ser consideradas no diagnóstico diferencial de lesões eritematosas descamativas, algumas vezes com aspectos poiquilodérmicos (SMITH, 1994).

Existe controvérsia na literatura, considerando MF uma doença linfoproliferativa desde o início ou precedida por fases iniciais com processos inflamatórios crônicos (SMITH, 1994). Acredita-se na existência de uma gama de lesões linfoproliferativas cutâneas intercambiáveis baseados em relatos de pacientes com evoluções progressivas. Alguns autores defendem uma classificação nas seguintes categorias: pré e pseudo-lymfoma, lymfoma abortivo, lymfoma latente, lymfoma estabelecido e lymfoma de alto grau de malignidade (BURG et al., 1995).

Há controvérsias quanto ao papel da subtipagem imuno-histoquímica de linfócitos T, CD4 e CD8, no diagnóstico diferencial entre infiltrações linfocitárias benignas e malignas (HUDSON e SMOLLER, 1999; IZBAN et al., 1998; GLUSAC et al., 1999). Estudos prévios, utilizando marcadores disponíveis para rotina diagnóstica, em nosso meio, não favoreceram o papel da proporção CD4:CD8 para o diagnóstico diferencial dessas entidades nosológicas (COTTA et al., 2004).

A molécula humana do CD7 é uma glicoproteína expressa pela maior parte dos linfócitos T no sangue periférico. As células CD7 negativas podem ser resistentes à apoptose e têm sido demonstradas em lymfomas cutâneos. A maior parte dos estudos deste marcador, foi realizada em cortes congelados. Isso torna o procedimento impraticável na rotina da maior parte dos laboratórios (ORMSBY et al., 2001; MURPHY et al., 2002; HARMON et al., 1996; WOOD et al., 1990). Recentemente, foi possível obter um anticorpo anti-CD7 para uso rotineiro em cortes de parafina. O mesmo foi devidamente validado por estudos de imuno-precipitação cruzada, em linhagens celulares de células linfoblastóides, demonstrando tratar-se de proteína de 40-kDa, correspondente à molécula de CD7 (AL SAATI, 2001).

2- JUSTIFICATIVA

A determinação da natureza benigna ou maligna de uma infiltração linfocitária da pele é de crucial importância para a condução clínica. Não existem, até o momento, critérios diagnósticos isolados patognomônicos clínicos, histopatológicos, citológicos, imuno-fenotípicos ou genotípicos para predição do comportamento biológico benigno ou maligno das infiltrações linfocitárias cutâneas (NICKOLOFF, 1988; YOSHINO et al., 1989; WOOD et al., 1990; KNOWLES, 1993; SHAPIRO e PINTO, 1994; SMOLLER et al., 1995; HAEFFNER et al., 1995; HARMON et al., 1996; BAKELS et al., 1997; IZBAN et al., 1998; HUDSON e SMOLLER, 1999; NUCKOLS et al., 1999; GLUSAC et al., 1999; DUMMER et al., 1999; SANTUCCI et al., 2000; MURPHY et al., 2000; AL SAATI et al., 2001; ORMSBY et al., 2001; WASHINGTON et al., 2002; ALAIBAC et al., 2003; SMOLLER et al., 2003).

3- OBJETIVOS

3.1- Objetivos gerais

Avaliar o papel do perfil imuno-histoquímico no diagnóstico da MF.

3.2- Objetivos específicos

3.2.1. Avaliação imuno-histoquímica

Definir o valor do anticorpo anti-CD7 no diagnóstico diferencial das infiltrações linfocitárias cutâneas benignas e malignas.

4- CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1- Tipo de estudo

Estudo retrospectivo caso-controle.

4.2- Casuística: critérios de inclusão e exclusão no estudo

Os pacientes incluídos nesse estudo foram atendidos em três instituições: UNICAMP e PUCCAMP em Campinas, São Paulo e, em Bauru, São Paulo, ILSL.

As histórias clínicas e descrições dos exames dermatológicos, de todos os pacientes atendidos na UNICAMP, cujos diagnósticos foram realizados no período de 1989 a 2003, foram obtidas através da consulta aos prontuários clínicos do Serviço de Arquivo Médico do Hospital das Clínicas da UNICAMP e, retificadas, sob orientação do Prof. Dr. Elemir Macedo de Souza, professor do Departamento de Dermatologia – UNICAMP. Lâminas e blocos de parafina correspondentes foram levantados dos arquivos.

Os pacientes selecionados, para o estudo na PUCCAMP, foram localizados através da consulta aos livros de registro das reuniões anátomo-clínicas, realizadas sob coordenação dos professores Dr. João de Castro Pupo Nogueira Neto (Preceptor da Residência de Dermatologia - PUCCAMP) e Profa. Dra. Maria Letícia Cintra (Preceptora da Residência de Anatomia Patológica), com subsequente localização dos prontuários médicos correspondentes no Setor de Arquivo Médico da PUCCAMP. As lâminas das biópsias realizadas no processo diagnóstico foram levantadas e, depois, foram levantados os blocos de parafina. Os pacientes selecionados para o estudo no ILSL foram localizados através dos arquivos de registro organizados pelo Dr. Raul Negrão Fleury (ILSL), com subsequente consulta aos prontuários médicos. As lâminas relativas às biópsias realizadas no processo diagnóstico foram levantadas dos arquivos e, depois, os blocos de parafina correspondentes.

Dentre 114 prontuários médicos revisados na UNICAMP, havia 33 neoplasias hematológicas malignas nodais ou sistêmicas, com invasão secundária da pele, 33 LCCT, treze dermatites crônicas, 23 infiltrações linfocitárias da pele que não preenchiam critérios clínicos para micose fungóide e têm sido acompanhados, em exames periódicos, com biópsias e correlação clínico-patológica, sempre que apropriado. Os doze casos restantes foram perdidos no seguimento.

Dos 33 LCCT, 26 preenchiam critérios diagnósticos para MF ou para SS, conforme definições da Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento do Câncer (EORTC – WILLEMZE et al., 1997) e apresentavam material, incluído em parafina, disponível para estudos imuno-histoquímicos. Cinco pacientes adicionais com diagnóstico de MF foram incluídos, três do ILSL e dois da PUCCAMP.

Os pacientes receberam diagnóstico de MF, de acordo com correlação clínico-patológica prévia e critérios diagnósticos consagrados na literatura (Quadro 5). O procedimento de correlação entre os achados clínicos e patológicos para definição diagnóstica é realizado, rotineiramente, em reuniões semanais realizadas no Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, sob coordenação dos professores doutores Maria Letícia Cintra e Elemir Macedo de Souza. Para os pacientes submetidos a várias biópsias, todas as lâminas correspondentes são levantadas para revisão e estudadas considerando informações clínicas adicionais, relacionadas a resposta ou não aos tratamentos instituídos. Os critérios de inclusão e exclusão dos pacientes no estudo estão descritos no Quadro 6.

O diagnóstico histopatológico da MF foi realizado de acordo com os critérios consagrados na literatura para as formas não-infiltrativas ("patch stage"), placas infiltrativas (ACKERMAN, 1997) e variantes previamente descritas (LeBOIT, 1991).

QUADRO 6 -Critérios de seleção da casuística

<i>Critérios de inclusão</i>
1. Prontuários clínicos disponíveis contendo evolução até a definição diagnóstica. 2. Infiltrações linfocitárias, nas biópsias cutâneas. 3. Blocos de parafina disponíveis para estudos imuno-histoquímicos.
<i>Critérios de exclusão</i>
1. Histórias clínicas inconclusivas, perda de seguimento, abandono ao tratamento ou transferência para outro serviço após realização da biópsia. 2. Blocos de parafina não localizados. 3. Linfomas cutâneos sistêmicos, com invasão secundária da pele em estágios avançados. Doença sistêmica nos primeiros seis meses após o diagnóstico, não sendo possível determinar origem primária na pele (WILLEMZE <i>et al.</i>, 1997). 4. Linfomas cutâneos primários de alto grau de malignidade com diagnóstico conclusivo para LNH de alto grau de malignidade às colorações de rotina, não constituindo problema diagnóstico com infiltrações linfocitárias. 5. Infiltrações linfóides com formação de centros germinativos, no espectro maligno, englobando os linfomas foliculares e, no benigno, o linfocitoma cutis.

QUADRO 7- Pannel imuno-histoquímico

Anticorpo	Clone	Origem	Diluição	Estrutura evidenciada
CD3	policlonal	DAKO	1:50	Linfócitos T ("pan-T")
CD7	CBC.37	Universidade de Toulouse	1:20	Linfócitos T
CD4	CD45RO OPD4	DAKO	1:50	Linfócitos T auxiliares
CD8	C8 144B	DAKO	1:50	Linfócitos T supressores/citotóxicos
CD30	BerH2	DAKO	1:20	Blastos linfóides
CD20	L26	DAKO	1:100	Linfócitos B ("pan-B")

4.3- Avaliação imuno-histoquímica

Fragmentos de pele incluídos em blocos de parafina foram recuperados dos arquivos e submetidos a estudos imuno-histoquímicos. Cortes histológicos com espessura de 5 µm foram desparafinizados em xilol e re-hidratados em soluções alcoólicas. Os anticorpos utilizados foram CD3, CD4, CD8, CD30 e CD20, obtidos de DAKO, Carpinteria, California (Estados Unidos da América) e anti-CD7, obtido em colaboração com a Universidade de Toulouse (AL SAATI et al.,2001; Quadro 7).

A imuno-marcação dos linfócitos CD4 e CD8 foi realizada utilizando-se para CD4, o clone CD45RO/OPD4, conforme descrição prévia (ALTEMANI et al., 2000; COTTA et al., 2004). A recuperação antigênica foi realizada em panela a vapor, por

30 minutos a 95 °C, com tampão de citrato a 10 mM, pH 6. Para amplificação do sinal foi utilizado o polímero EnVision (DAKO), exceto para o anticorpo anti-CD7, para o qual foi utilizado o sistema CSA (Catalysed Signal Amplification - DAKO). Todas as reações foram realizadas utilizando-se controles negativos e positivos, reveladas com 3,3-tetracloroeto de diamino-benzidina (SIGMA D5637) e contra-coradas com hematoxilina de Mayer. Os controles negativos consistiram na retirada do anticorpo.

Os cortes imuno-histoquímicos foram analisados quanto à porcentagem de células coradas, sem conhecimento prévio do diagnóstico. As contagens das células coradas pelos anticorpos CD4 e CD8 foram realizadas em conjunto, exceto para um paciente em que não havia material suficiente para repetição da técnica.

A avaliação semiquantitativa consistiu em três etapas. Na primeira, uma objetiva, contendo retículo de pontos e linhas, foi adaptada ao microscópio e realizada a contagem, em dez campos sucessivos de maior aumento, do número de células coradas e do número de células, com aspecto morfológico compatível com linfócitos, ou seja, núcleos contra-corados pela hematoxilina de Mayer, negativos para os marcadores CD4, CD8, CD3 e CD7. Na segunda etapa, foi realizada avaliação subjetiva da porcentagem de células positivas no menor aumento e em dez campos sucessivos de maior aumento. Em um pequeno número de casos, o infiltrado linfocitário não era extenso, ocupando menos de dez campos sucessivos de maior aumento, tendo sido considerado o número máximo de campos contáveis, para cálculo da porcentagem de células coradas nos mesmos. Não houve variação significativa nos valores obtidos em cada caso para a porcentagem de células coradas nos dois métodos: contagem individual do número de células positivas e análise subjetiva da porcentagem de células coradas. Na terceira etapa, foi realizada avaliação subjetiva da porcentagem de células coradas em menor e maior aumento, simultaneamente, por dois observadores (ACSC e JV), em microscópio de co-observação. Nesta terceira etapa, não foi também detectada diferença significativa no percentual de células coradas contadas individualmente ou pela avaliação subjetiva.

4.4- Análise estatística

Foi realizada comparação de médias por meio do "teste t de Student" para amostras independentes com distribuição normal e variâncias homogêneas. Quando os requisitos do teste estatístico paramétrico não foram satisfeitos, optou-se pela comparação de médias de amostras independentes pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney. As porcentagens de linfócitos corados CD3 versus CD7 e CD4 versus CD8 foram comparadas, em cada grupo, pelo "teste t de Student" para amostras correlacionadas. Em todos os casos adotou-se o nível de 5% ($p < 0,05$) para declaração de diferença significativa.

5- RESULTADOS

5.1- Casuística

Foram incluídos no estudo, 31 pacientes com LCCT, 29 com diagnóstico de MF e dois, com Síndrome de Sézary (SS) e onze "controles". Os "controles" consistiam em infiltrações linfocitárias de evolução clínica benigna, cujos diagnósticos incluíram: farmacodermias (seis pacientes, um com proeminente foto-sensibilidade), infiltração linfocitária de Jessner, neurodermite, lúpus eritematoso, pseudolinfoma e eritema anular centrífugo (um paciente cada).

5.2- Avaliação imuno-histoquímica

Estudos imuno-histoquímicos demonstraram um predomínio da população de linfócitos de imunofenótipo T em todos os casos selecionados, com menos de 30% de células B coradas (Tabelas 1 e 2).

Houve uma proeminente predominância de linfócitos T CD4 auxiliares/indutores em relação aos supressores/citotóxicos (positivos para CD8), na maior parte dos casos. A proporção de células coradas para CD4 e para CD8 (CD4:CD8) foi de aproximadamente quatro vezes tanto no grupo de pacientes com linfomas cutâneos, quanto no grupo de pacientes com dermatites crônicas. A diferença entre a porcentagem de células coradas não foi estatisticamente significativa: $p=0,378$ para CD4 e $p=0,376$ para CD8 (Tabela 3). Esses resultados estão de acordo com resultados prévios de nosso grupo, que demonstraram não haver diferença estatisticamente significativa para CD4 ($p=0,99$) e CD8 ($p=0,24$) (COTTA et al., 2004).

A diferença na porcentagem de células coradas para CD3 e CD7 foi calculada. A média de células coradas na micose fungóide (MF) foi de 86% para CD3 e 53% para CD7 ($p<0,001$), enquanto para dermatites crônicas, foi de 79% para CD3 e 74% para CD7 ($p=0,669$). A imuno-marcação para CD7 foi significativamente mais baixa no grupo de pacientes com MF quando comparado ao grupo de pacientes com dermatites crônicas ($p=0,048$) (Tabelas 1 a 4).

A avaliação dos cortes histológicos, corados em hematoxilina e eosina, revelou diversos padrões de infiltração linfocitária, como liquenóide-espongiótico, liquenóide-psoriasiforme e liquenóide-espongiótico-psoriasiforme. Na Figura 1, podemos observar uma biópsia de paciente com micose fungóide apresentando padrão de infiltração liquenóide-espongiótico, com migração de linfócitos isolados para os estratos mais altos da epiderme, incluindo linfócitos na camada córnea, além de numerosos microabscessos de Pautrier-Darier.

A avaliação imuno-histoquímica revelou, na maior parte dos casos de MF, infiltrado linfocitário constituído por linfócitos T maduros, de imunofenótipo positivo para os marcadores linfóides T, como CD3 (Figura 2), CD4 (Figura 3) e negatividade para os marcadores para linfócitos B (CD20), células blásticas linfóides CD30 e uma expressiva redução na imuno-marcação pelo CD7 (Figura 4).

A marcação imuno-histoquímica pelo anticorpo CD4, denotando um fenótipo de linfócito T auxiliar ("helper") foi observada na maior parte dos linfócitos avaliados dos pacientes com micose fungóide (Figura 5).

Quanto às dermatites crônicas, os linfócitos que compõe o infiltrado inflamatório exibiram, na maior parte dos casos, perfil imuno-histoquímico foi semelhante ao observado nos pacientes com MF, com à exceção da imuno-marcação pelo CD7 (Figura 8). Nesses casos, a intensidade da imuno-marcação por CD7 foi aproximadamente semelhante à coloração pelo CD3 (Figura 7).

Tabela 1- Micose Fungóide: avaliação semiquantitativa imuno-histoquímica

BIOPSIA	CD3 (%)	CD7 (%)	CD4 (%)	CD8 (%)	CD30(%)	CD20(%)
B1160/95	60	40	90	10	0	30
B6096/95	90	10	80	20	10	20
B9385/95	90	0	30	70	0	10
B10832/95	70	10	90	10	0	10
B8120/96	90	40	80	20	0	10
B8250/97	80	10	40	60	0	0
B10501/97	100	90	60	40	50	10
RV421/99	80	0	60	40	0	0
B24407(B)	90	90	60	40	0	0
B35120(A)	90	20	60	40	0	0
B61115(B)	90	80	40	60	0	0
B71210	100	40	40	60	0	0
B9188/93	90	70	NA	NA	10	0
B8716/99	100	10	95	5	0	0
B3862/00	80	50	70	30	0	0
B6896/00(2)	90	40	90	10	0	0
B10621/00	90	90	60	40	0	10
B5033/01	80	10	80	20	10	0
B5562/02	100	90	40	60	0	0
B5563/02	100	80	90	10	0	0
B10071/02	90	70	30	70	0	0
B3720/03(2)	90	100	70	30	0	10
B4161/03(1)	70	80	60	40	10	10
B166-00	70	70	60	40	0	0
B5167A-00	90	90	60	40	0	10
B97-1107	90	80	90	10	10	0
B98-1183	90	40	80	20	10	10
B00-2424	80	70	70	30	10	0
B12360/02	80	80	60	40	10	0
B2128/93	80	70	70	30	10	10
B9202/03	90	50	60	40	0	10
Mediana	90	70	60	40	0	0
Média	86	54	65	34	4	5
DP	9	32	18	18	9	7
Mínimo	60	0	30	5	0	0
Máximo	100	100	95	70	50	30

DP: desvio padrão

Tabela 2- Dermatites crônicas: avaliação semiquantitativa imuno-histoquímica

BIOPSIA	CD3 (%)	CD7 (%)	CD4 (%)	CD8 (%)	CD30(%)	CD20(%)
B12122/95	100	90	60	40	0	10
B11315/96	90	80	70	30	0	10
B4785/97	30	90	50	50	0	20
B7070/97	90	40	70	30	0	20
B11980/97	60	70	70	30	0	10
B1413/98	100	90	80	20	0	0
B1562/98	30	100	50	50	0	0
B5217/98	90	70	60	40	0	0
B7334/98	90	70	80	20	0	0
B8175/98	90	80	80	20	0	10
B10344/98	100	30	90	10	0	10
Mediana	90	80	70	30	0	10
Média	79	74	69	31	0	8
DP	26	22	13	13	0	7
Mínimo	30	30	50	10	0	0
Máximo	100	100	90	50	0	20

DP: desvio padrão

Tabela 3- Análise estatística: "teste t de Student" para amostras independentes, casos versus controles

Anticorpo	CD3 (%)	CD7 (%)	CD4 (%)	CD8 (%)	CD30(%)	CD20(%)
valor de "p"	0,807	0,048	0,378	0,376	-	-

Tabela 4- Análise estatística: "teste t de Student" para amostras correlacionadas, reação imuno-histoquímica por CD3 e CD7

	CD3 (%)	CD7 (%)	valor de "p"
Micose Fungóide	86 ($\pm$ 9)*	54 ($\pm$ 32)*	0,0001
Dermatites crônicas	79 ($\pm$ 26)*	74 ($\pm$ 22)*	0,669
valor de "p"	0,807	0,048	-

* Média ($\pm$ ou +/- desvio padrão)

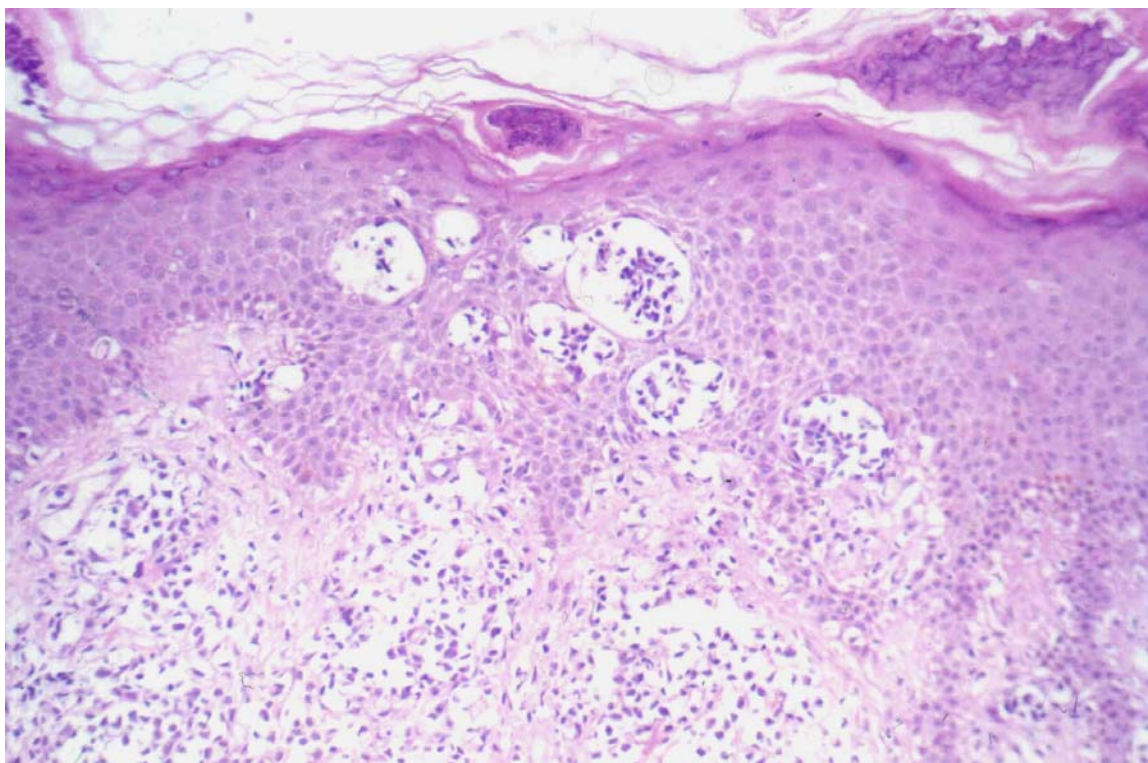


Figura 1- Micose fungóide: hematoxilina e eosina (200x).

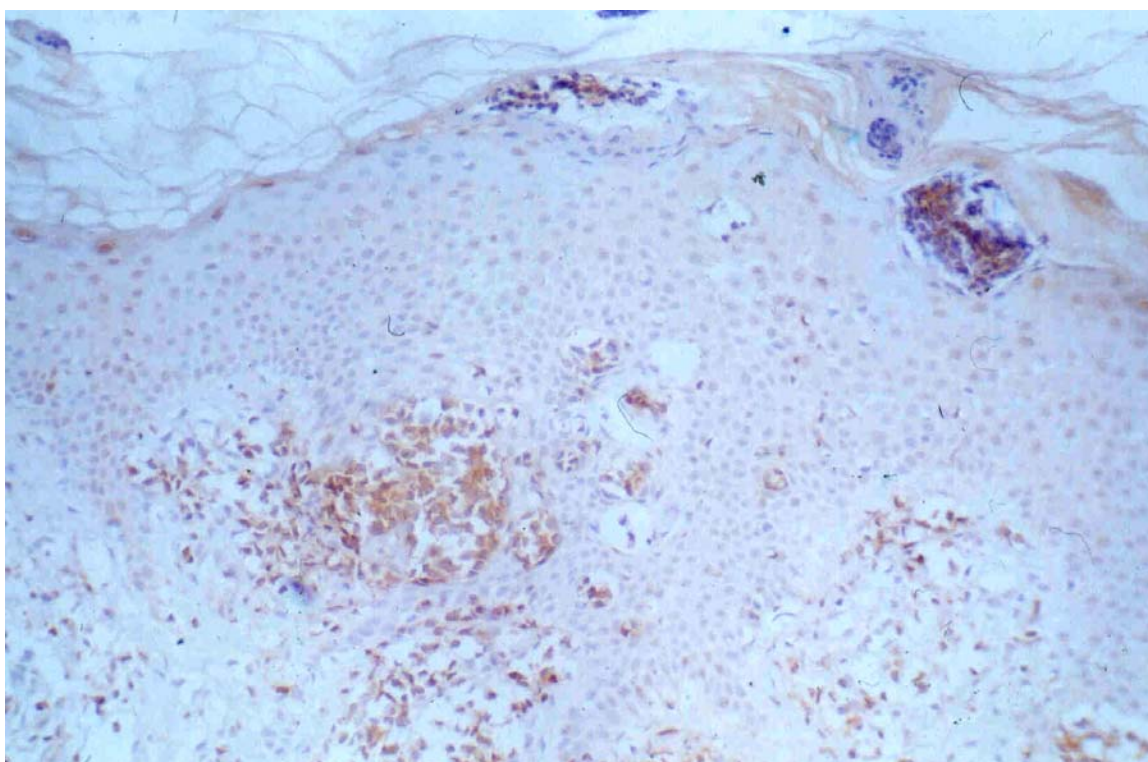


Figura 2- Micose fungóide: reação imuno-histoquímica CD3 (200x).

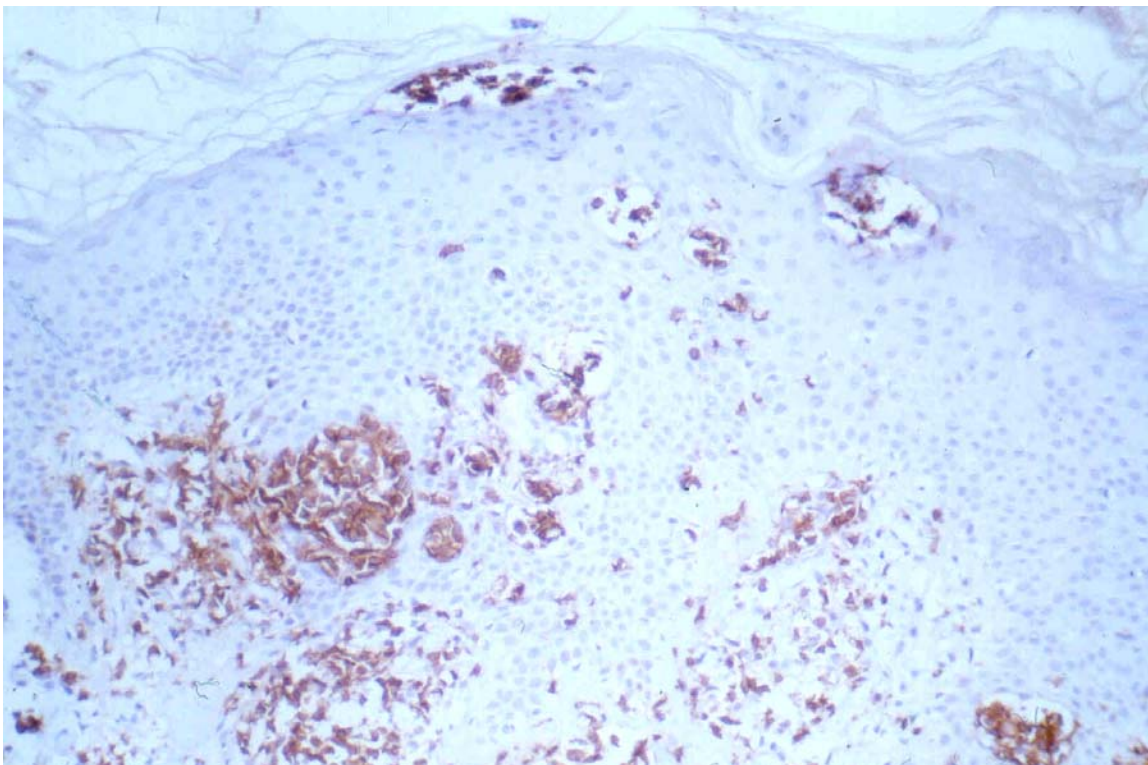


Figura 3- Micose fungóide: reação imuno-histoquímica CD4 (200x).

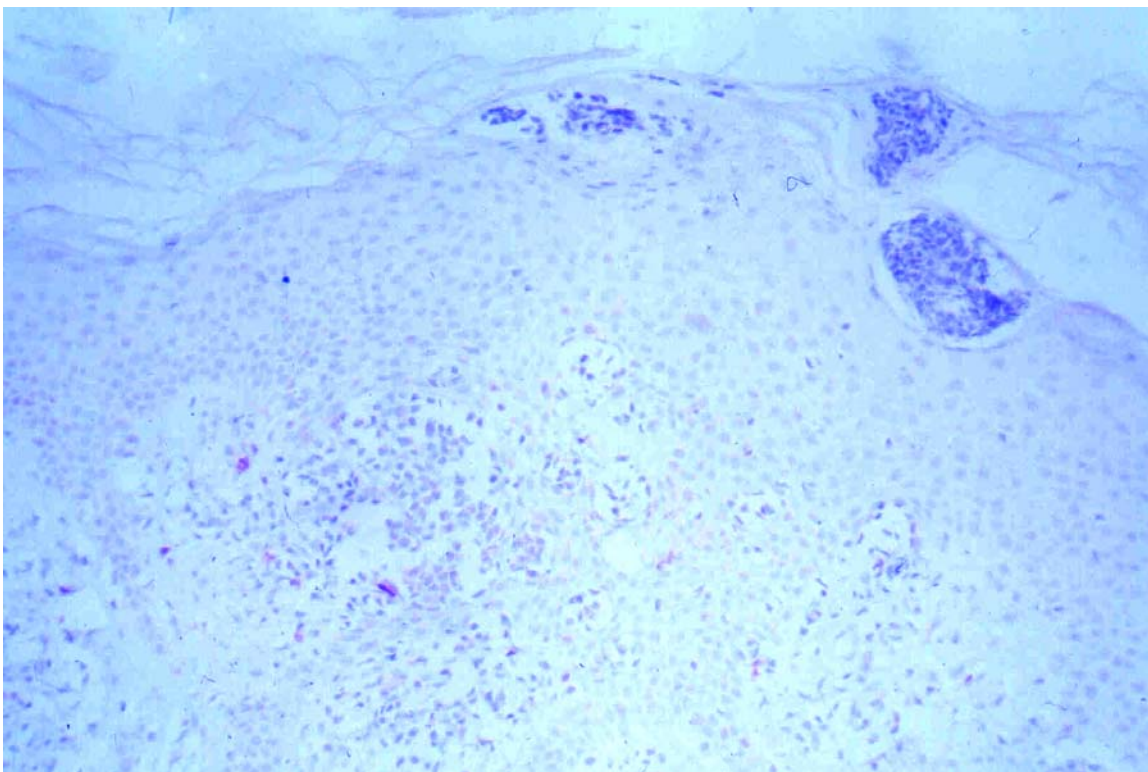


Figura 4- Micose fungóide: reação imuno-histoquímica CD7 (200x).

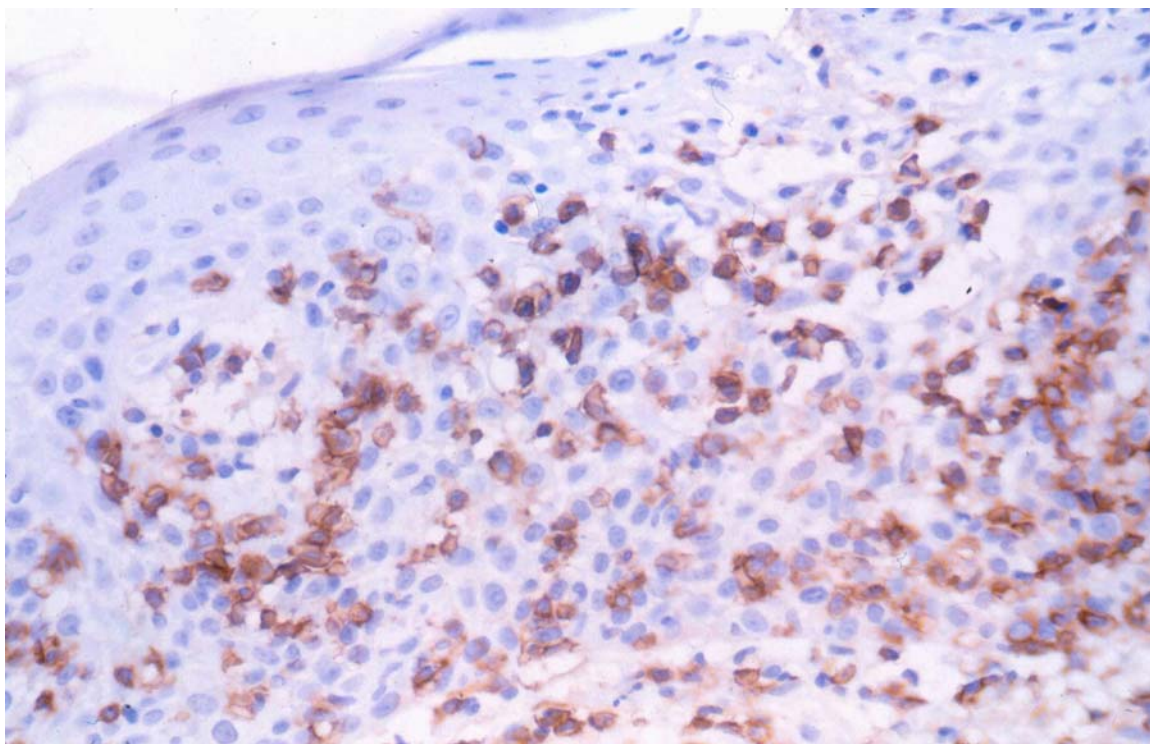


Figura 5- Micose fungóide: reação imuno-histoquímica CD4 (400x).

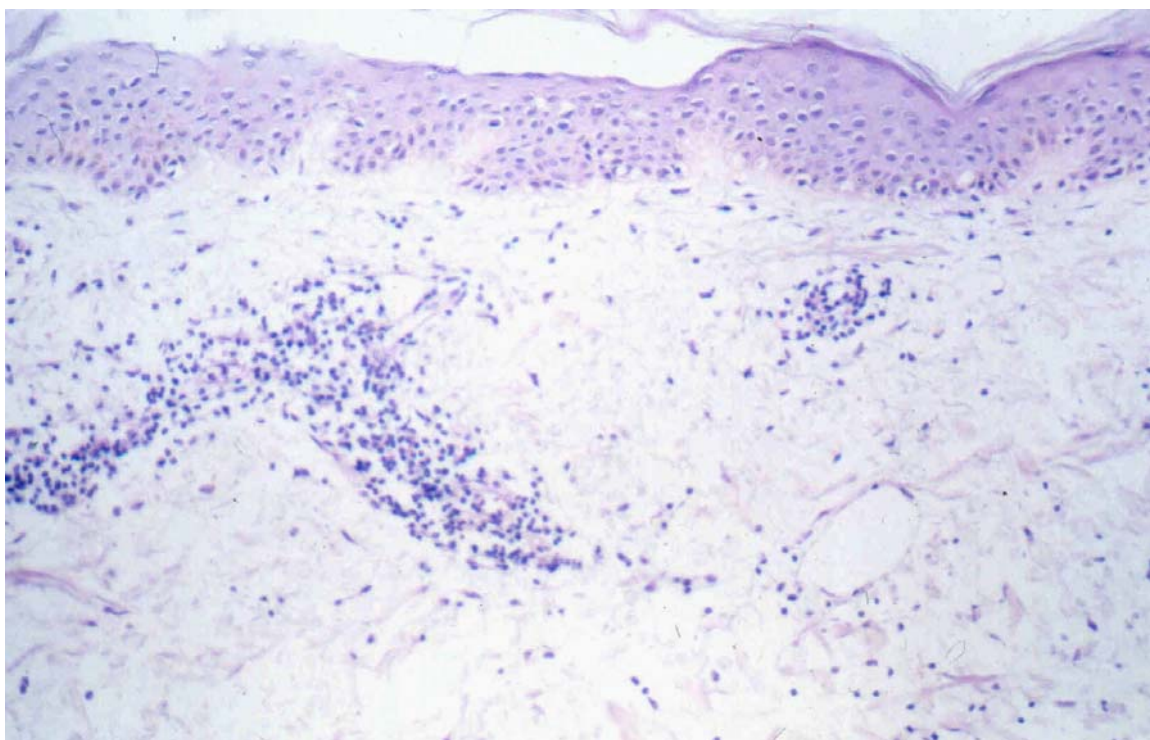


Figura 6- Dermatite crônica: hematoxilina e eosina (200x).

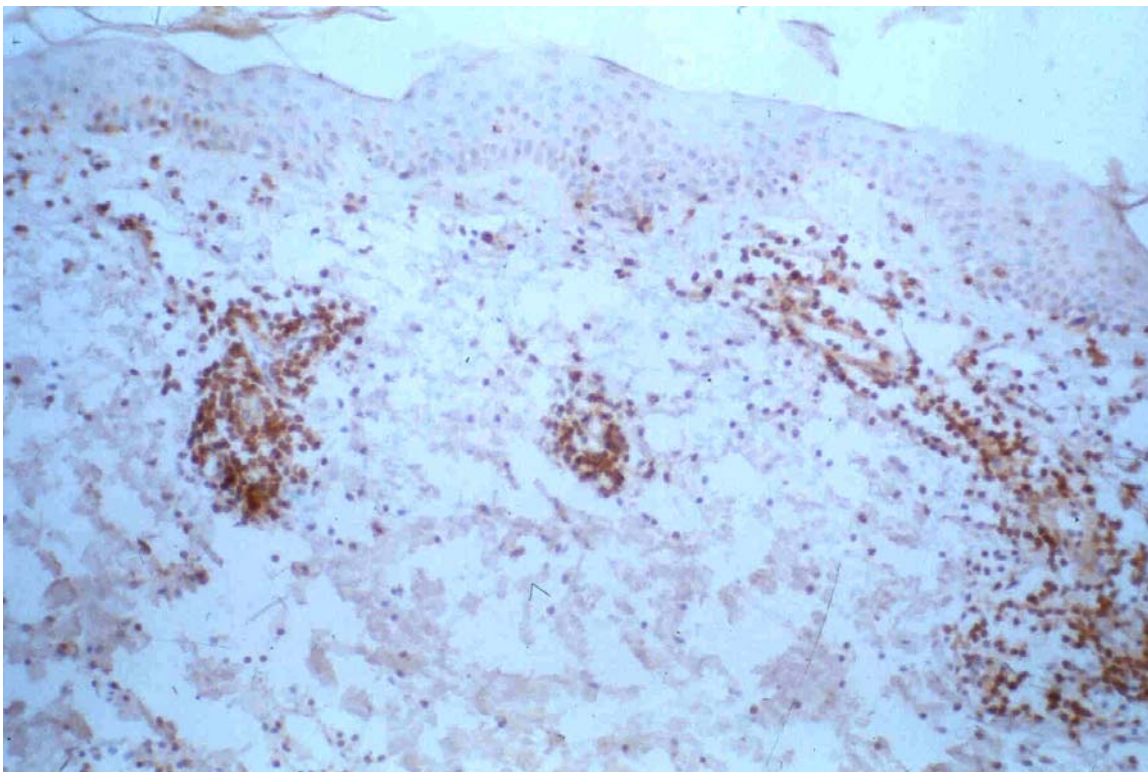


Figura 7- Dermatite crônica: reação imuno-histoquímica CD3 (200x).

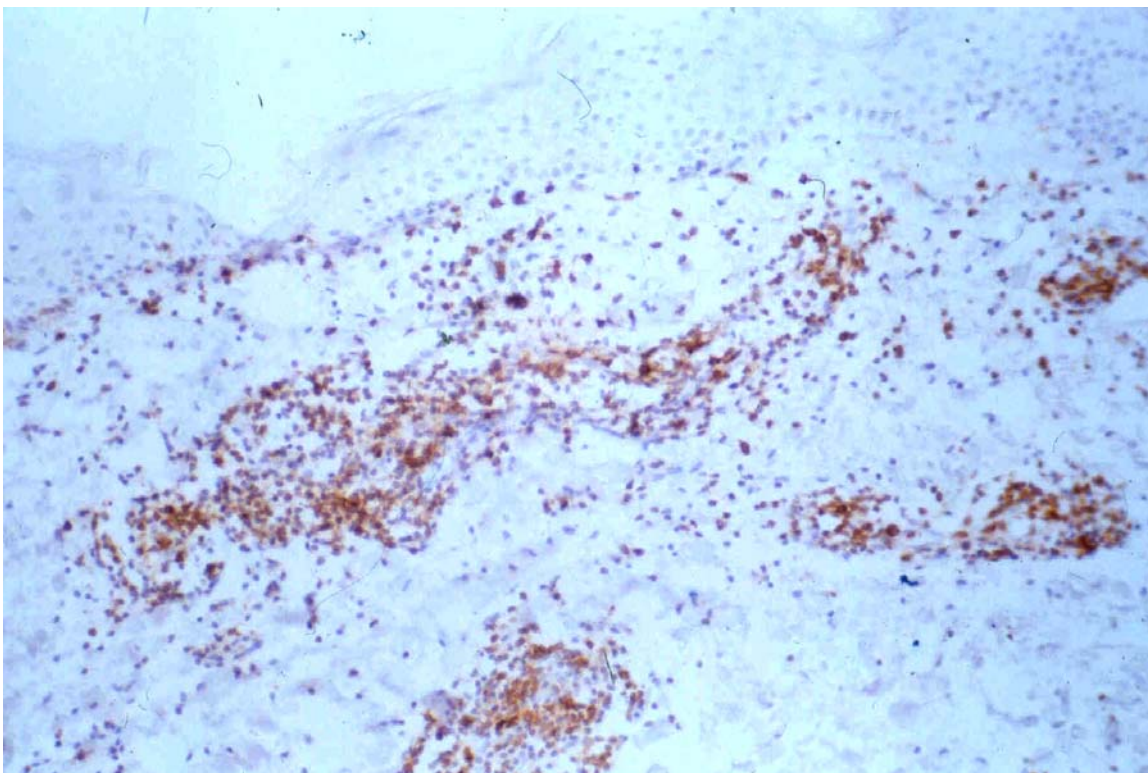


Figura 8- Dermatite crônica: reação imuno-histoquímica CD7 (200x).

6- DISCUSSÃO

O diagnóstico diferencial das infiltrações linfocitárias da pele constitui um dos problemas mais difíceis de se solucionar em patologia cirúrgica. Há enormes repercussões no tratamento dos pacientes com infiltrações de natureza maligna e de comportamento clínico benigno.

Há um grande grupo de doenças da pele caracterizadas pelo aumento da população de células linfóides. A hiperplasia benigna deve ser distinguida de condições neoplásicas para o adequado tratamento. No nosso material, MF e farmacodermia foram os diagnósticos mais freqüentes. Ambas são mais comuns em pacientes idosos, geralmente submetidos a tratamentos farmacológicos prolongados, principalmente com anti-hipertensivos, sabidamente associados ao aparecimento de pseudolinfomas (RIJLAARSDAM et al., 1992).

Outro aspecto importante, com relação às farmacodermias, refere-se à sua possível apresentação clínica sob forma de eritrodermia, caracterizada por eritema e descamação generalizados. Nesses casos, a farmacodermia pode simular a Síndrome de Sézary, ou seja, a expressão eritrodérmica correspondente aos Linfomas Cutâneos de Células T (LCCT). O diagnóstico diferencial das eritrodermias é, em geral, muito difícil. Há relatos de não esclarecimento etiológico em 30% a 40% dos pacientes (SAMS e LYNCH, 1996).

Outras causas de eritrodermia, além das farmacodermias e os linfomas cutâneos primários de células T, incluem a generalização de dermatoses como dermatite atópica, psoríase, pitiríase rubra pilar, dermatite de contato, dermatite seborréica, pênfigo foleáceo, além das leucemias e outras neoplasias malignas (SAMS e LYNCH, 1996). Várias biópsias podem ser necessárias até que um diagnóstico definitivo seja estabelecido.

Não há consenso na literatura quanto ao papel da imunofenotipagem dos subtipos de linfócitos T no diagnóstico diferencial entre MF e afecções benignas mimetizadoras (HUDSON e SMOLLER, 1999; GLUSAC et al., 1999). Uma alta proporção CD4:CD8 foi considerada tanto sensível quanto específica para o diagnóstico de MF (IZBAN et al., 1998; HUDSON e SMOLLER, 1999). Nos estudos de IZBAN et al. (1998), 35 biópsias, de 29 pacientes com MF, foram avaliadas. Foi encontrada uma proporção

CD4:CD8 acima de 2:1 em 31 dentre 35 lâminas, mas não foi relatado nenhum grupo controle naquele estudo. Uma estimativa semiquantitativa de células CD8 positivas em cortes congelados mostrou uma maior mistura de pequenos linfócitos CD8 positivos em 11 pseudolinfomas em comparação a nove pacientes com MF e não foi observada nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos (BACKELS et al., 1997).

Uma abordagem diferente foi utilizada no relato da utilidade da proporção CD4:CD8 no diagnóstico diferencial entre MF e condições benignas por NUCKOLS et al., (1999). O grupo controle era constituído por dermatites liquenóides e espongíóticas. Seus resultados indicaram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos apenas para os linfócitos intraepidérmicos. A proporção CD4:CD8 na derme não mostrou nenhuma diferença ($p=0,18$) e aproximadamente 95% das células contadas estavam localizadas na derme. Isso incluiu aproximadamente 9,6 células CD4+ e 5,3 células CD8+ na epiderme contra 250,2 células CD4+ e 124,8 células CD8+ na derme. Logo, pode-se considerar os achados observados mais relacionados ao subgrupo de linfócitos que contribuem para o epidermotropismo do que à própria proporção CD4:CD8. A média foi aumentada principalmente devido a dois pacientes com MF apresentando acentuado epidermotropismo. A estimativa da proporção de linfócitos intraepidérmicos foi realizada em nossos dados, mas o número de células detectadas foi muito pequeno para permitir adequada avaliação estatística e não diferiu significativamente da proporção de linfócitos CD4:CD8 encontrada na derme (dados não publicados).

GLUSAC et al.(1999), acredita que a predominância de células CD4 positivas é observada em uma grande variedade de condições não neoplásicas e não pode ser utilizada como parâmetro discriminatório entre linfomas cutâneos de células T (LCCT) e dermatopatias inflamatórias. Alguns autores consideram a proporção CD4:CD8 um achado inespecífico, dada a existência de MF predominantemente CD8 positiva. Nossos dados corroboram resultados prévios de que uma alta proporção CD4:CD8 deve ser considerada com cautela, devido à possibilidade de predomínio de linfócitos T, CD4 positivos, em espécimes cirúrgicos tanto de infiltrações linfocitárias benignas quanto na parapsoríase em pequenas placas (GLUSAC et al., 1999; RIJLAARSDAM et al.,1992; ORMSBY et al., 2001; HAEFFNER et al.,1995, COTTA et al., 2004).

Em nosso estudo, um paciente com MF mostrou uma porcentagem de 50% de linfócitos CD30 positivos, mas esse achado não modifica o diagnóstico para Linfoma de Grandes Células Anaplásicas T, CD30 positivas. Para ser incluído nesse grupo, CD30 deveria ser detectado na maior parte das células neoplásicas (>75%), em um contexto morfológico apropriado (WILLEMZE et al., 1997; BELJAARDS et al., 1993). A ausência de positividade para CD30, no outro grupo, não caracteriza este anticorpo como marcador de malignidade, pois, o mesmo pode ser encontrado em doenças linfoproliferativas benignas e até associado a entidades nosológicas não linfoproliferativas (DIAZ-CASCAJO et al., 2001; BELJAARDS. et al., 1993; SEGAL et al., 1994; CESPEDES et al., 2000).

A glicoproteína CD7, de 40-kDa é um dos primeiros antígenos expressados na linhagem de desenvolvimento das células T e NK e sua perda têm sido utilizada por muitos autores como ferramenta diagnóstica para neoplasias maduras da linhagem T (AL SAATI et al., 2001). A maior parte desses estudos foi realizada em tecido congelado a fresco, o que é dispendioso, difícil e impraticável na rotina diagnóstica de laboratórios de patologia.

Os resultados de estudos em cortes congelados são controversos. ALAIBAC et al. (2003) estudaram 45 pacientes, dentre os quais, sete com MF, cinco com parapsoríase e 33 com dermatites crônicas. A positividade para CD7 utilizando os clones DK24 e 8H8 foi muito baixa, não permitindo a discriminação entre amostras de pacientes com micose fungóide e condições benignas (ALAIBAC et al., 2003).

Alguns estudos têm sido realizados estudando a expressão antigênica em amostras de sangue de pacientes com MF e SS através da citometria de fluxo (WASHINGTON et al., 2002; DUMMER et al., 1999; RAPPL et al., 2001).

Em amostras de 44 pacientes com diagnóstico de MF/SS, a expressão de CD7 foi extremamente variável em 38%, negativa em 39% e positiva em 23% dos pacientes e indistinguíveis dos valores obtidos em células T normais (WASHINGTON et al., 2002). Apesar disso, após o tratamento com deoxi-coformicina (pentostatina), aqueles autores observaram considerável diminuição da população de células com depleção de CD7, podendo indicar resposta terapêutica (WASHINGTON et al., 2002).

Talvez a variabilidade da expressão de CD7 reflita o perfil antigênico da população de linfócitos circulantes e esse seja diferente daquele observado nas lesões cutâneas, ou seja, na população de linfócitos T com epidermotropismo.

Os estudos de DUMMER et al. (1999) e RAPPL et al. (2001), utilizando citometria de fluxo em pacientes com Síndrome de Sézary (SS) revelaram aumento consistente da porcentagem de células CD4⁺ e CD7⁻ em comparação aos controles. Com relação aos estudos do receptor de células T por reação em cadeia da polimerase, por outro lado, os resultados foram conflitantes. Para DUMMER et al. (1999) o clone dominante pode expressar CD7, enquanto essa expressão não foi confirmada por RAPPL et al. (2001), utilizando metodologia semelhante.

Em nosso estudo, a avaliação semiquantitativa da proporção de linfócitos T corados por CD7, mostrou considerável perda desse marcador em comparação com CD3 nos pacientes com MF, na população de linfócitos infiltrantes na pele. O valor médio de células coradas na MF foi 86% para CD3 e 53% para CD7 ($p < 0,001$), enquanto para infiltrações benignas foi 79% para CD3 e 73% para CD7 ($p = 0,669$). A marcação para CD7 foi significativamente menor no grupo de pacientes com MF ($p = 0,048$).

Os resultados acima descritos estão de acordo com estudos prévios, utilizando o anticorpo CBC.37 que mostrou perda freqüente da expressão de CD7 em 110 linfomas, exceto para linfomas linfoblásticos, em que a positividade foi de 100% (AL SAATI et al., 2001). Naquele estudo, apenas 6 dentre 24 (25%) pacientes com MF/SS foram positivos para CD7. Nos dados apresentados em nosso estudo, 8 dentre 31 (25,8%) MF/SS apresentaram menos de 20% de células CD7 positivas.

Um estudo comparativo, entre cortes a fresco de amostras congeladas e espécimes cirúrgicos em tecido incluído em blocos de parafina, foi realizado por ORMSBY et al. (2001) em 17 pacientes, revelando resultados equivalentes, utilizando o clone CD7-272. Naquele estudo, foram avaliados 17 pacientes com MF, 10 em fase de placa e 7 em estágio tumoral. Foi demonstrada perda de CD7 em 13 dentre 16 pacientes (81%), considerando-se como critério de perda, diferença de duas categorias entre CD3 e CD7 em um sistema de quatro categorias. Os resultados obtidos em nosso estudo estão em acordo com os acima descritos no que concerne à diferença estatisticamente significativa comparando-se a coloração por CD7 nos pacientes com MF e infiltrações benignas.

Embora nossos dados tenham conduzido a conclusão semelhante aos dados de ORMSBY et al. (2001), se tivéssemos adotado um sistema semelhante de quatro categorias, teríamos perdido quantidade significativa de dados. As quatro categorias correspondiam, respectivamente a menos de 25%, 25% a 50%, 51% a 74% e acima de 75% de células coradas (ORMSBY et al., 2001). Em nosso estudo, utilizando aquela metodologia, apenas 14 dentre 31 pacientes (45,2%) teriam sido considerados como apresentando perda de CD7, definida como diferença de duas categorias entre as colorações por CD3 e por CD7. Por isso, acredita-se que a análise dos dados “brutos”, sem divisão em categorias, pode fornecer resultados mais valiosos. A divisão em quatro categorias impede a detecção de diferenças na faixa de coloração abaixo de 75% para CD3 e acima de 25% para CD7, pois estas corresponderiam, respectivamente, às categorias 3 e 2 e teriam sido excluídas da análise.

As lesões da MF são, geralmente, constituídas por manchas ou placas redondas, arciformes, anulares ou serpiginosas, freqüentemente disseminadas, que progridem para nódulos e tumores. Há também variedades clínicas como a SS, caracterizada por eritrodermia esfoliativa, e outras como reticulose pagetóide, pele frouxa granulomatosa, MF folicular e hipopigmentada. A maior parte dos pacientes incluídos neste estudo, apresentava MF em fase de mancha não infiltrada (“patch stage”) ou lesão infiltrada em estágio de placa, exceto por dois pacientes incluídos que apresentavam SS. O grupo controle, incluído em nosso estudo, foi constituído por pacientes que desenvolveram infiltrações linfocitárias benignas, mas que, durante a investigação diagnóstica, simulavam MF, na avaliação clínica ou histológica.

O grupo controle descrito por ORMSBY et al. (2001) foi constituído por pacientes com diagnóstico de líquen plano, sem qualquer história de suspeita de MF durante a investigação diagnóstica. Essa escolha deveu-se ao fato de aqueles autores terem optado por obter um grupo homogêneo, em que a marcação por CD7 fosse consistente. Por outro lado, o grupo controle escolhido em nosso estudo, foi obtido de um universo de pacientes que apresentaram dificuldades no diagnóstico diferencial com MF, mas que, na evolução clínica mostraram um curso benigno. Essa situação visava à seleção de um grupo de pacientes que pudesse ser mais fidedigno às situações difíceis vivenciadas na rotina diagnóstica.

Outra diferença entre nosso estudo e aquele desenvolvido por ORMSBY et al. (2001) foi o clone de CD7 utilizado. Apesar dos clones diferentes, os processos de validação dos mesmos foram muito semelhantes, incluindo comparações com padrões de coloração em cortes congelados e correlação com resultados de estudos de biologia molecular (ORMSBY et al., 2001; AL SAATI et al., 2001).

O conceito de perda da expressão de CD7 deve ser considerado mais uma sub-regulação (“down-regulation”) da expressão gênica, do que sua total ausência. Tal fato foi observado em estudos quantitativos de citometria de fluxo (WEISBERGER et al., 2003).

Outro estudo utilizando anticorpo anti-CD7 reativo em parafina, clone 272, demonstrou porcentagens significativamente menores de CD7 em 22 pacientes com MF comparados a dermatites crônicas (MURPHY et al., 2002). Naquele estudo, evidenciou-se que CD7 é um marcador da expressão deficiente de antígenos, pelas células T. CD7 foi considerado mais sensível, e mais específico do que CD5. Um achado digno de nota, naquele estudo, foi uma tendência de queda nas porcentagens médias de CD7 em 25 dermatites espongíóticas do quadro mais agudo para o subagudo e o crônico. Isso pode refletir uma expansão do clone de células CD4+CD7- na pele lesionada (MURPHY et al., 2002). Os resultados aqui apresentados mostraram redução na expressão de CD7 abaixo de 40% em dois dentre onze casos benignos (18,2%), que apresentavam diagnósticos de farmacodermia e pseudolinfoma.

Embora haja algumas entidades clínicas que apresentem, consistentemente, coloração por CD7, ou seja, uma persistência da expressão de CD7, como líquen plano (ORMSBY et al., 2001), a redução acentuada da expressão de CD7 não é exclusiva de condições malignas. Tal redução foi observada em 7 dentre 60 (12%) casos de infiltrações benignas (AL SAATI et al., 2001) e 25 dentre 25 pacientes com mononucleose infecciosa aguda, em comparação a 14 controles negativos (WEISBERGER et al., 2003). Com relação à mononucleose infecciosa aguda, tanto os achados clínicos quanto a análise imunofenotípica podem ser valiosos no diagnóstico diferencial com proliferações linfóides clonais malignas. Todos os pacientes descritos por WEISBERGER et al. (2003) eram sintomáticos e apresentavam, simultaneamente, um predomínio da população de linfócitos CD8, com inversão da relação CD4:CD8.

Estudos de citometria de fluxo, a partir de cultura de linfócitos infiltrantes da pele, demonstraram células CD4+CD7- em 16 pacientes com dermatites crônicas, incluindo sete com diagnóstico de psoríase vulgar, cinco com dermatite atópica, dois com líquen plano, os demais com pitiríase rubra pilar e pitiríase liquenóide aguda (MOLL et al., 1994).

A demonstração da expansão do clone CD4+CD7- pode ser observada mesmo em amostras de doadores de sangue sãos, como demonstrado por citometria de fluxo em aproximadamente 5,8% a 8% das células T (HARMON et al., 1996; REINHOLD et al., 1993). Como foi observada uma coloração fraca em células T de memória CD45RO, foi sugerido que a expressão do antígeno CD7 possa diminuir nos estágios subseqüentes do desenvolvimento das células T (REINHOLD et al., 1993). Estudos comparativos de amostras de sangue e de linfócitos cultivados, a partir de biópsias cutâneas, demonstraram, também, que a diminuição da expressão de CD7 é característica dos clones de linfócitos com capacidade de alojamento (“homing”) e, não, uma anormalidade antigênica generalizada (MOLL et al., 1994; WOOD et al., 1990).

7- CONCLUSÃO

A avaliação do CD7 pode ser realizada no material de rotina, em cortes de parafina, na investigação diagnóstica dos linfomas cutâneos de células T. A avaliação semiquantitativa dos linfócitos corados por CD3 e CD7 pode mostrar perda de CD7 em comparação a CD3 nos pacientes com MF. Condições benignas associadas a uma reduzida expressão de CD7 devem ser consideradas no diagnóstico diferencial. Logo, a marcação para CD7, em material incluído em parafina pode ser uma valiosa ferramenta no diagnóstico diferencial entre MF e infiltrações linfocitárias T benignas.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKERMAN, A.B. **Histologic Diagnosis of Inflammatory skin Diseases** 2nd edition. Baltimore: Williams & Wilkins, 1997. 944p.

ALAIBAC, M.; PIGOZZI B.; BELLONI-FORTINA, A.; MICHELOTTO, A.; SAPONERI, A.; PESERICO, A. CD7 expression in reactive and malignant human skin T-lymphocytes. **Anticancer Res**, 23: 2707-2710, 2003.

AL SAATI, T.; ALIBAUD, L.; LAMANT, L.; BOYES, J.; MARCH, M.; DELSOL, G. A new monoclonal anti-CD7 antibody reactive on paraffin sections. **Appl Immunohistochem Mol Morphol**, 9: 289-96, 2001.

ALTEMANI, A.M.; BITTENCOURT, A.L.; LANA, A.M.A. Immunohistochemical characterization of the inflammatory infiltrates in placental Chagas' disease: a qualitative and quantitative analysis. **Am J Trop Med Hyg**, 62: 319-24, 2000.

BAKELS, V.; VAN OOSTVEEN, J.W.; VAN DER PUTTE, S.C.J.; MEIJER, C.J.L.M.; WILLEMZE, R. Immunophenotyping and Gene Rearrangement Analysis Provide Additional Criteria to Differentiate Between Cutaneous T-Cell Lymphomas and Pseudo-T-Cell Lymphomas. **Am J Pathol**, 150: 1941-9, 1997.

BELJAARDS, R.C.; KAUDEWITZ, P.; BERTI, E., GIANOTTI, R.; NEUMANN, C.; ROSSO, R.; PAULLI, M.; MEIJER, C.J.; WILLEMZE, R. Primary cutaneous CD30+ large cell lymphoma: definition of a new type of cutaneous lymphoma with a favorable prognosis. A European Multicenter Study of 47 patients. **Cancer**, 71: 2097-104, 1993.

BURG, G.; DUMMER, R.; DOMMANN, S.; NESTLE, F.; NICKOLOFF, B. Pathology of Cutaneous T-Cell Lymphoma. **Hemat Oncol Clin North Am**, 9: 961-95, 1995.

CERRONI, L.; KERL, H.; GATTER, K. **An Illustrated Guide to Skin Lymphoma**. London: Blackwell Science, 1998. 123p.

CEPPEDES, Y.P.; ROCKLEY, P.F.; FLORES, F.; RUIZ, P.; KAISER, M.R.; ELGART, G.W. Is there a special relationship between CD30-positive lymphoproliferative disorders and epidermal proliferation? **J Cutan Pathol**, 27: 271-5, 2000.

COHEN, S.R.; STENN, K.S.; BRAVERMAN, I.M.; BECK, G.J. – Clinicopathologic Relationships, Survival, and Therapy in 59 Patients With Observations on Occupation as a New Prognostic Factor. **Cancer**, 46: 2654-66, 1980.

COTTA, A.C.; CINTRA, M.L.; DE SOUZA, E.M.; MAGNA, L.A.; VASSALLO, J. Reassessment of diagnostic criteria in cutaneous lymphocytic infiltrates. **Sao Paulo Med J**, 122: 161-5, 2004.

DIAMANDIDOU, E.; COHEN, P.R.; KURZROCK R. Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome. **Blood**, 88: 2385-409, 1996.

DIAZ-CASCAJO, C. Strong immunoexpression of the monoclonal antibody CD-30 in lymphocytic intilrates of the skin not by itself evidence for diagnosing malignant lymphoma. **Am J Dermatopathol**; 23: 79-83, 2001.

DRENO, B.; CELERIER, P.; FLEISCHMANN, M.; BUREAU, B.; LITOUX, P. Presence of Epstein-Barr virus in cutaneous lesions of mycosis fungoides and Sézary Syndrome. **Acta Derm Venereol (Stockh)**; 74: 355-7, 1994.

DUMMER, R.; NESTLE, F.O.; NIEDERER, E.; LUDWIG, E.; LAINE, E.; GRUNDMANN, H.; GROB, P.; BURG, G. Genotypic, phenotypic and functional analysis of CD4+CD7+ and CD4+CD7- T lymphocyte subsets in Sézary syndrome. **Arch Dermatol Res**; 291: 307-11, 1999.

ELDER, D. **Lever's Histopathology of the Skin** 8th edition. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997. p.268.

FISCHMANN, A.B.; BUNN, P.A.Jr.; GUCCION, J.G.; MATTHEWS, M.J.; MINNA, J.D. Exposure to chemicals, physical agents, and biologic agents in mycosis fungoides and the Sézary Syndrome. **Cancer Treat Rep**, 63: 591-6, 1979.

FONSECA, A.; SOUZA, E.M. Linfomas. In: FONSECA, A.; SOUZA, E.M. **Dermatologia Clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. p.531-40.

GIRARDI, M.; HEALD, P.W.; WILSON, L.D. The pathogenesis of mycosis fungoides. **N Engl J Med**, 350: 1978-88, 2004.

GLUSAC, E.J., SHAPIRO, P.E., MCNIFF, J.M. Cutaneous T-cell lymphoma. refinement in the application of controversial histologic criteria. **Dermatol Clin**, 17: 601-14, 1999.

GREENE, M.H.; DALAGER, N.A.; LAMBERG, S.I.; ARGYROPOULOS, C.E.; FRAUMENI, J.F. Jr. Mycosis Fungoides: Epidemiologic Observations. **Cancer Treat Rep**, 63: 597-606, 1979.

HAEFFNER, A.C.; SMOLLER, B.R.; ZEPTER, K.; WOOD, G.S. Differentiation and Clonality of Lesional Lymphocytes in Small Plaque Parapsoriasis. **Arch Dermatol**, 131: 321-4, 1995.

HARMON, C.B.; WITZIG, T.E.; KATZMANN, J.A.; PITTELKOW, M.R. Detection of circulating T cells with CD4+CD7- immunophenotype in patients with benign and malignant lymphoproliferative dermatoses. **J Am Acad Dermatol**, 35: 404-10, 1996.

HUDSON, A.R.; SMOLLER, B.R. Immunohistochemistry in Diagnostic Dermatopathology. **Dermatol. Clin.**, 17: 667-89, 1999.

ISAACSON, P.G.; NORTON, A J. Cutaneous Lymphoma. In: ISAACSON, P.G.; NORTON, A J. **Extranodal Lymphomas**. London: Churchill Livingstone, 1994. p.131-91.

IZBAN, K.F.; HSI, E.D.; ALKAN, S. Immunohistochemical Analysis of Mycosis Fungoides on Paraffin-Embedded Tissue Sections. **Mod Pathol**, 11: 978-82, 1998.

KNOWLES, D.M. Immunophenotypic and Immunogenotypic Approaches Useful in Distinguishing Benign and Malignant Lymphoid Proliferations. **Semin Oncol**, 20: 583-610, 1993.

KOH, H.K.; CHARIF, M.; WEINSTOCK, M.A. Epidemiology and clinical Manifestations of Cutaneous T-cell Lymphoma. **Hematol Oncol Clin North Am**, 9: 943-60, 1995.

LAURITZEN, A.F.; VEJLSGAARD, G.L.; HOU-JENSEN, K.; RALFKIAER, E. p53 protein expression in cutaneous T-cell lymphomas. **Br J Dermatol**, 133: 32-6, 1995.

LeBOIT, P. Variants of Mycosis Fungoides and Related Cutaneous T-Cell Lymphoma. **Semin Diagn Pathol**, 8: 73-81, 1991.

LIMON, J.; NEDOSZYTKO, B.; BROZEK, I.; HELLMANN, A.; ZAJACZEK, S.; LUBINSKI, J.; MROZEK, K. Chromosome aberrations, spontaneous SCE, and growth kinetics in PHA-stimulated lymphocytes of five cases with Sézary Syndrome. **Cancer Genet Cytogenet**, 83: 75-81, 1995.

MCGREGOR J.M.; DUBLIN, E.A.; LEVISON, D.A.; MACDONALD, D.M.; SMITH, N.P; WHITTAKER, S. p53 immunoreactivity is uncommon in primary cutaneous lymphoma. **Br J Dermatol**, 132: 353-8, 1995.

MING, M.; LeBOIT, P. Can Dermatopathologists Reliably Make the Diagnosis of Mycosis Fungoides? If Not, Who Can? **Arch Dermatol**, 136: 543-6, 2000.

MOLL, M.; REINHOLD, U.; KUKEL, S.; ABKEN, H.; MÜLLER, R.; OLTERMANN, I.; KREYSEL, H-W. CD7-negative helper T cells accumulate in inflammatory skin lesions. **J Invest Dermatol**, 102: 328-32, 1994.

MURPHY, M.; FULLEN, D.; CARLSON, A. Low CD7 expression in benign and malignant cutaneous lymphocytic infiltrates. Experience with an antibody reactive with paraffin-embedded tissue. **Am J Dermatopathol**, 1: 6-16, 2002.

NICKOLOFF, B.J. Light-Microscopic Assessment of 100 Patients with Patch/ Plaque-Stage Mycosis Fungoides. **Am J Dermatopathol**, 10: 469-77, 1988.

NUCKOLS, J.D.; SHEA, C.R.; HORENSTEIN, M.G.; BURCHETTE, J.L.; PRIETO, V.G. Quantitation of intraepidermal T-cell subsets in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue helps in the diagnosis of mycosis fungoides. **J Cutan Pathol**, 26:169-75, 1999.

PAES, R.A.P.; VASSALLO, J.; ALVES, R.A.; MENEZES, Y. ; SIQUEIRA, S.A.C.; ALDRED, V.L.; SOARES, F.; MORAES, J.C. Classificação da Organização Mundial de Saúde para as neoplasias dos tecidos hematopoiético e linfóide: proposta de padronização terminológica em língua portuguesa do grupo de hematopatologia da Sociedade Brasileira de Patologia. **J Bras Patol Med Lab**, 38:237-9,2002.

PANKAKE, B.A.; ZUCKER-FRANKLING, D.; COUTAVAS, E.E. The cutaneous T cell lymphoma, mycosis fungoides, is a human T cell lymphotropic virus-associated disease. **J Clin Invest**, 95:547-554, 1995.

PLOYSANGAM, T.; BRENNEMAN, D.L.; MUTASIM, D.F. Cutaneous pseudolymphomas. **J Am Acad Dermatol**, 38: 877-905, 1998.

ORMSBY, A.; BERGFELD, W.F.; TUBBS, R.R.; HIS, E.D. Evaluation of a new paraffin-reactive CD7 T-cell deletion marker and a polymerase chain reaction-based T-cell receptor gene rearrangement assay: Implications for diagnosis of mycosis fungoides in community clinical practice. **J Am Acad Dermatol**, 45: 405-13, 2001.

RAPPL, G.; MUCHE, J.M.; ABKEN, H.; STERRY, W.; TILGEN, W.; UGUREL, S.; REINHOLD, U. CD4+CD7-T cells compose the dominant T-cell clone in the peripheral blood of patients with Sézary syndrome. **J Am Acad Dermatol**, 44: 456-61, 2001.

REINHOLD, U.; ABKEN, H.; KUKEL, S.; MOLL, M.; MÜLLER, R.; OLTERMANN, I.; KREYSEL, H-W. CD7-T cells represent a subset of normal human blood lymphocytes. **J Immunol**, 150: 2081-9, 1993.

RIJLAARSDAM, J.U.; SCHEFFER, E.; MEIJER, J.L.M.; WILLEMZE, R. Cutaneous Pseudo-T-cell Lymphomas: a clinicopathologic study of 20 patients. **Cancer**, 69: 717-24, 1992.

ROBERT, C.; KUPPER, T.S. Inflammatory skin diseases, T cells, and immune surveillance. **N Engl J Med**, 341: 1817-28, 1999.

RUSSELL-JONES, R. Primary cutaneous B-cell lymphoma: how useful is the new European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) classification? **Br J Dermatol**, 139: 945-49, 1998.

SAMPAIO, A.P.S; RIVITTI, E.A. **Dermatologia**. 2^a edição. São Paulo: Artes Médicas, 2001. p. 887-913.

SAMS, W.M.; LYNCH, P.J. **Principles and Practice of Dermatology**. 2nd edition. Singapore: Churchill Livingstone, 1996. p.437.

SANTUCCI , M.; BIGGERI, A.; FELLER, A.C.; MASSI, D.; BURG, G. Efficacy of Histologic Criteria for Diagnosing Early Mycosis Fungoides. An EORTC Cutaneous Lymphoma Study Group Investigation. **Am J Surg Pathol**, 24: 40-50, 2000.

SEGAL, G.H.; KJELDSBERG, C.R.; SMITH, G.P.; PERKINS, S.L. CD30 Antigen Expression in Florid Immunoblastic Proliferations. A Clinicopathologic Study of 14 Cases. **Am J Clin Pathol**, 102:292-8, 1994.

SHAPIRO, P.E.; PINTO, F.J. The Histologic Spectrum of Mycosis Fingoides/ Sézary Syndrome (Cutaneous T-Cell Lymphoma). A Review of 222 Biopsies, Including Newly Described Patterns and The Earliest Pathologic Changes. **Am J Surg Pathol**, 18: 645-67, 1994.

SIMON, M., FLAIG, M.J., KIND, P., SANDER, C.A., KAUDEWITZ, P. Large Plaque parapsoriasis: clinical and genotypic correlations. **J Cutan Pathol**, 27: 57-60, 2000.

SMITH, N.P. Histologic criteria for early diagnosis of cutaneous T-cell lymphoma. **Dermatol Clin**, 12:315-322, 1994.

SMOLLER, B.R.; BISHOP, K.; GLUSAC, E.; KIM, Y.H.; HENDRICKSON, M. Reassessment of Histologic Parameters in the Diagnosis of Mycosis Fungoides. **Am J Surg Pathol**, 19: 1423-30, 1995.

SMOLLER, B.R.; SANTUCCI, M.; WOOD, G.S.; WHITTAKER, S.J. Histopathology and genetic of cutaneous T-cell lymphoma. **Hematol Oncol Clin North Am**, 17: 1277-1311, 2003.

STREILEIN, J.W. Skin-Associated Lymphoid Tissue (SALT): Origins and Functions. **J Invest Dermatol**, 80: 12s-16s, 1983.

STREILEIN, J.W.; ALARD, P.; NIIZEKI, H. A New Concept of Skin-associated Lymphoid Tissue (SALT): UVB Light Impaired Cutaneous Immunity Reveals a Prominent Role for Cutaneous Nerves. **Keio J Med**, 48: 22-27, 1999.

TUYP, E.; BURGOYNE, A.; AITCHISON, T.; MACKIE, R. A Case-Control Study of Possible Causative Factors in Mycosis Fungoides. **Arch Dermatol**, 123: 196-200, 1987.

VAN DOORN R.V.; VAN HASELEN, C.W.; VAN VOORST VADER, P.C.; GEERTS M.L.; HEULE F.; DE RIE, M.; STEIJLEN P.M.; DEKKER S.K.; VAN VLOTEN, W.A.; WILLEMZE, R. Mycosis fungoides: disease evolution and prognosis of 309 Dutch patients. **Arch Dermatol**; 136: 504-10, 2000.

WASHINGTON, L.T.; HUH, Y.O.; POWERS, L.C.; DUVIC, M.; JONES, D. A stable aberrant immunophenotype characterizes nearly all cases of cutaneous T-cell lymphoma in blood and can be used to monitor response to therapy. **BMC Clinical Pathology**, 2:5, 2002. Disponível em <<http://www.biomedcentral.com/1472-6890/2/5>>. Acesso em: 17 jan. 2005.

WECHSLER, J. Intérêt de la nouvelle classification des lymphomes cutanés primitifs élaborée par le groupe de l'EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer). **Ann Pathol**, 18:315-23,1998.

WEEDON, D. **Skin Pathology**. Hong Kong: Churchill Livingstone, 1999. 953p.

WEINSTOCK, M.A.; HORM, J.W. Population-Based Estimate of Survival and Determinants of Prognosis in Patients with Mycosis Fungoides. **Cancer**, 62: 1658-61, 1988.

WEISBERGER, J.; CORNFELD, D.; GORCZYCA, W, LIU, Z. Down-regulation of pan-T-cell antigens, particularly CD7, in Acute Infectious Mononucleosis. **Am J Clin Pathol**, 120: 49-55, 2003.

WHITTEMORE, A.S.; HOLLY, E.A.; LEE, I.M.; ABEL, E.A.; ADAMS, R.M.; NICKOLOFF, B.J.; BLEY, L.; PETERS, J.M.; GIBNEY, C. Mycosis Fungoides in Relation to Environmental Exposures and Immune Response: A Case-Control Study. **J Natl Cancer Inst**, 81: 1560-7, 1989.

WILLEMZE, R.; BELJAARDS, R.C.; MEIJER, C.J.L.M. Classification of primary cutaneous T-cell lymphomas. **Histopathology**, 24:405-15,1994.

WILLEMZE, R.; KERL, H.; STERRY, W.; BERTI, E.; CERRONI, L.; CHIMENTI,S.; DIAZ-PERÉZ J.L. ; GEERTS, M.L.; GOOS, M.; KNOBLER, R.; RALFKIAER, E.; SANTUCCI, M.; SMITH N. ; WECHSLER, J.; VAN VLOTEN, W.A.; MEIJER, C.J.L.M. EORTC Classification for Primary Cutaneous Lymphomas: A Proposal From the Cutaneous Lymphoma Study Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. **Blood**, 90:354-71,1997.

WOOD, G.S.; HONG, S.R.; SASAKI, D.T.; ABEL, E.A.; HOPPE, R.T.; WARNKE, R.A.; MORHENN, V.B. Leu-8/CD7 antigen expression by CD3+ T cells: comparative analysis of skin and blood in mycosis fungoides/ Sézary syndrome relative to normal blood values. **J Am Acad Dermatol**, 22:602-7,1990.

YOSHINO, T.; MUKUZONO, H.; AOKI, H., TAKAHASHI, K.; TAKEUCHI, T.; KUBONISHI, I.; OHTSUKI, Y.; MOTOI, M.; AKAGI, T. A novel monoclonal antibody (OPD4) recognizing a helper/ inducer T cell subset. its application to paraffin-embedded tissues. **Am J Pathol**, 134:1339-46, 1989.