JANYANA MARCELA DORO DEONIZIO

**Micose fungóide foliculotrópica: descrição clínico-
epidemiológica, análise histológica e investigação do colapso do
imunoprivilégio do folículo piloso**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Dermatologia

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Sanches Junior

São Paulo

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Deonizio, Janyana Marcela Doro

Micose fungo foliculotrópica : descrição clínico-epidemiológica, análise histológica e investigação do colapso do imunoprivilégio do folículo piloso / Janyana Marcela Doro Deonizio. -- São Paulo, 2015.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Dermatologia.

Orientador: José Antonio Sanches Junior.

Descritores: 1.Micose fungóide 2.Linfoma cutâneo de células T 3.Folículo piloso
4.Imunofenotipagem

USP/FM/DBD-120/15

*Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo,
qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim. (Chico Xavier)*

*À minha família, pelo amor incondicional com o qual me incentivam em todos
os meus projetos.*

À Deus, que está sempre guiando nossos passos para o melhor caminho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Antonio Sanches Junior por toda a dedicação em orientar esse trabalho. Um grande exemplo de pessoa e profissional.

Ao Prof. Joan Guitart por todo o entusiasmo com o qual me recebeu. Simplesmente brilhante.

À médica patologista Dra Mirian Nacagami Sotto, pela inestimável contribuição na realização do trabalho.

À médica Dra Fabiane Mullinari Brenner pelo apoio e contribuição na realização do trabalho.

À bióloga Fernanda Guedes, pelo auxílio técnico.

Ao aluno Rogers Ascef de graduação da Faculdade de Medicina - USP pela importante contribuição na coleta de dados.

A todos os funcionários do laboratório de Patologia da Northwestern University, por toda a contribuição técnica nos testes histológicos.

À Lea, assistente do Departamento de Dermatopatologia da Northwestern University, minha grande amiga, que me recebeu com tanto carinho num país distante.

LISTA DE ABREVIATURAS

α -MSH	hormônio estimulante de melanócito α
AA	alopecia areata
CCL	ligante de quimiocina
CCR	receptor de quimiocina
CD117	<i>cluster of differentiation 117</i>
CD4	<i>cluster of differentiation 4</i>
CD56	<i>cluster of differentiation 56</i>
CD8	<i>cluster of differentiation 8</i>
CEP	Comissão de ética e pesquisa
CLA	antígeno cutâneo linfocitário
et al	e outros
FasL	ligante Fas
fig	figura
GM-CSF	fator de estimulação de colônia de granulócitos-macrófagos
HLA	<i>human leukocyte antigen</i>
IDO	indolamina 2,3 dioxigenase
IL	interleucina
INF γ	interferon gama

IP	imunoprivilégio
LCCT	linfoma cutâneo de células T
LDH	desidrogenase láctica
MF	micose fungóide
MFC	micose fungóide clássica
MFF	micose fungóide foliculotrópica
MHC	complexo maior de imunocompatibilidade
MIF	fator inibitório de migração de macrófagos
MIF	inibidor de células <i>natural killer</i>
nbUVB	fototerapia com radiação UVB de banda estreita
NK	<i>natural killer</i>
PDGF	fator de crescimento derivado de plaquetas
RT-PCR	reação de cadeia de polimerase por transcriptase reversa
TCR	receptor de células T
TGF- β 1	fator de crescimento transformador β 1
TIA-1	antígeno intracitoplasmático de células T
TNF α	fator de necrose tumoral alfa
VEGF	fator de crescimento endotelial vascular

LISTA DE SIGLAS

EORTC	Organização Européia de Pesquisa e Tratamento do Câncer
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
ISCL	Sociedade Internacional de Linfomas Cutâneos
USP	Universidade de São Paulo

RESUMO

Deonizio JMD. *Micose Fungóide Folículotrópica: descrição clínico-epidemiológica, análise histológica e investigação do colapso do imunoprivilégio do folículo piloso* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2015.

Introdução: A micose fungóide folículotrópica (MFF) é subtipo de linfoma cutâneo de células T que atinge especialmente o folículo piloso e parece ter prognóstico mais reservado. Informações clínicas sobre a população acometida por linfomas cutâneos no Brasil são escassas. O fenômeno de imunoprivilégio (IP) diz respeito à habilidade de alguns órgãos em permanecer protegidos contra reações inflamatórias. Tem sido sugerido que o folículo piloso normal represente um local de IP. Nesse estudo aventou-se a possibilidade de haver uma quebra no equilíbrio desse fenômeno na MFF, com alteração na expressão de moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) e na expressão de MHC não-clássicos (HLA-G), com algum papel no mecanismo do foliculotropismo. Os objetivos foram: descrever o perfil clínico-epidemiológico de paciente com MFF, descrever a histologia e imunofenótipo dos casos de MFF e investigar os mecanismos envolvidos na predileção dos linfócitos atípicos pelo folículo piloso. **Metodologia:** Os prontuários de pacientes com diagnóstico de MFF provenientes do ambulatório de Linfomas Cutâneos da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) foram revisados (n=33). O material histológico de biópsias de pele dos pacientes com MFF provenientes dos ambulatórios de Linfomas Cutâneos da FMUSP e da Northwestern University foi analisado por meio de escala semi-quantitativa (n=43). Na coloração de hematoxilina-eosina foram avaliados os seguintes parâmetros: infiltrado neoplásico epidérmico, infiltrado neoplásico dérmico, presença de acantose/espongiose, de mucinose folicular, de fibroplasia do tecido conjuntivo, de eosinófilos, de plasmócitos, o tamanho celular e o grau de dano folicular. Analisou-se a positividade do infiltrado neoplásico para os seguintes marcadores celulares: CD1a, CD56, TIA-1 e CD117. As expressões do complexo de histocompatibilidade HLA-G e do MHCII no infiltrado celular e no epitélio folicular foram investigadas no grupo de pacientes com MFF e comparadas com o grupo de pacientes com micose fungóide clássica (MFC) e pele normal. A expressão do complexo de histocompatibilidade MHCII também foi investigada na epiderme. **Resultados:** A mediana das idades ao diagnóstico foi de 46 anos com 61% dos pacientes classificados como portadores de estágio avançado. A proporção entre homens e mulheres foi de 1,54 e a mediana de duração de doença antes do diagnóstico foi de três anos. Ao final de três anos de acompanhamento, 67% dos casos estavam vivos com a doença. O prurido foi relatado em 82% dos casos. Histologicamente, encontrou-se associação entre a presença de eosinófilos e de plasmócitos com fibroplasia do tecido conjuntivo.

Observou-se diminuição da expressão do HLA-G no epitélio folicular nos grupos MFF e MFC em relação à pele normal. Observou-se aumento da expressão do MHCII no epitélio folicular na MFF em comparação à pele normal e na epiderme na MFC quando comparada à MFF. **Conclusões:** Dados clínicos da população estudada assemelharam-se aos dados da literatura como estágio avançado ao diagnóstico e prognóstico reservado. Cerca de metade dos casos de MFF foi positiva para o marcador citotóxico TIA-1. Demonstrou-se haver um provável colapso do imunoprivilégio folicular nos linfomas cutâneos com expressão diminuída de moléculas HLA-G em comparação à pele normal. O aumento da expressão do MHCII poderia relaciona-se com o foliculotropismo na MFF e com o epidermotropismo na MFC.

Descritores: Micose fungóide; Linfoma cutâneo de células T; Folículo piloso; Imunofenotipagem.

ABSTRACT

Deonizio JMD. *Folliculotropic mycosis fungoides: clinical and epidemiological description, histological analysis and investigation of hair follicle immune privilege collapse* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2015.

Introduction: Folliculotropic mycosis fungoides (FMF) is a subtype of cutaneous T cells lymphoma affecting mainly the hair follicle and seems to have a less favorable prognosis. Clinical information on the population affected by cutaneous lymphomas in Brazil is scarce. The immune privilege (IP) phenomenon involves the ability of some body sites remaining protected from inflammatory reactions. It has been suggested that normal hair follicle represents an IP location. We hypothesized that a collapse of this phenomenon would occur in FMF, with changes in the expression of classical major histocompatibility molecules (MHC) and in the expression of nonclassical MHC molecules (HLA-G) with a role in folliculotropism mechanism. The objectives of this study were to describe the clinical and epidemiological profile of patients with MFF, describe the histology and immunophenotype of cases of MFF and investigate the expression of MHC molecules. **Methods:** The medical records of patients from the outpatient Cutaneous Lymphoma Clinic of the University of Sao Paulo Medical School (FMUSP) diagnosed with MFF were reviewed (n = 33). The histological material from skin biopsies of patients with MFF from the Cutaneous Lymphomas Clinic of FMUSP and Northwestern University was stained and evaluated by semi-quantitative scale. In hematoxylin-eosin staining the following parameters were evaluated: epidermal neoplastic infiltrate, dermal neoplastic infiltrate, acanthosis/spongiosis, follicular mucinosis, connective tissue fibroplasia, presence of eosinophils and plasma cells, cell size and degree of follicular damage. We analyzed the positivity of the neoplastic infiltrate for the following cellular markers: CD1a, CD56, TIA-1, and CD117. Finally, the expression of histocompatibility complex HLA-G and MHC II in the neoplastic infiltrate and the follicular epithelium was investigated in MFF group and compared to patients with classical mycosis fungoides (CMF) and to normal skin. MHCII expression in the epidermis was also investigated. **Results:** The median age at diagnosis was 46 years, with 61% classified as advanced stage disease. The ratio between men and women was 1.54, the median disease duration before diagnosis was three years. After a median time of follow-up of three years, 67% of the cases were alive with disease. Pruritus was reported in 82% of the cases. Histologically, an association between the presence of eosinophils and plasma cells with fibroplasia of collagen was found. There was a decrease of HLA-G expression in the follicular epithelium in MFF and CMF groups compared to normal skin. There was an increase of MHCII expression in

the follicular epithelium in FMF group compared to normal skin. There was an increased MHCII expression in the epidermis in CMF compared to FMF. **Conclusions:** Clinical data from the studied population were similar to the previous literature in relation to advanced stage at diagnosis and prognosis. There was a relationship between the presence of eosinophils and plasma cells in neoplastic infiltrate and the connective tissue fibrosis. Near half of the cases of FMF was positive for the cytotoxic marker TIA-1. A possible hair follicle immune privilege collapse was suggested by a decreased expression of HLA-G molecules in FMF and CMF compared to normal skin. Increased MHCII expression appears to be involved in the folliculotropism of FMF and epidermotropism of CMF.

Descriptors: Mycosis fungoides; Lymphoma, T-cell, cutaneous; Hair follicle; Immunophenotyping.

Esta dissertação ou tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Aspectos clínico-epidemiológicos da MFF	4
2.2 Aspectos histológicos e imunofenotípicos da MFF.....	7
2.3 Imunopatogênese da micose fungóide	11
2.4 Complexo de histocompatibilidade maior e HLA-G	13
2.5 Expressão do HLA-G.....	16
2.6 Relação HLA-G, pele e doenças dermatológicas	17
2.7 HLA-G e câncer	19
2.8 Imunoprivilégio	21
2.9 Imunoprivilégio e folículo piloso	22
2.10 Imunoprivilégio, folículo piloso e alopecias	23
3. OBJETIVOS.....	25
4. MÉTODOS	26
4.1 Análise clínico-epidemiológica	26
4.2 Análise histológica e imunofenotípica	28
4.3 Método imunohistoquímico	33
4.4 Metodologia estatística.....	35
5. RESULTADOS	36
5.1 Análise clínico-epidemiológica	36
5.2 Análise histológica e imunofenotípica	43
5.3 Análise da expressão do complexo de histocompatibilidade	46
6. DISCUSSÃO	50
6.1 Análise clínico-epidemiológica	50
6.2 Análise histológica e imunofenotípica	53
6.3 Expressão complexo de histocompatibilidade	58
7. CONCLUSÕES	61
8. ANEXOS.....	63
Anexo A - Classificação revisada de micose fungóide e Síndrome de Sézary da ISCL/EORT^Y	63

Anexo B - Classificação de Fitzpatrick	64
Anexo C - Tabelas com dados originais.....	65
9. REFERÊNCIAS.....	69

1. INTRODUÇÃO

A micose fungóide (MF) é o tipo mais comum de linfoma cutâneo de células T. A micose fungóide foliculotrópica (MFF) é um subtipo de MF que atinge especialmente o folículo piloso e parece ter um prognóstico mais reservado. Informações clínicas sobre a população acometida por linfomas cutâneos no Brasil são escassas. A pesquisa nessa área torna-se, portanto, relevante para conhecermos as características da doença em nossa população e comparamos com os dados de outras populações do mundo. Os mecanismos pelos quais essa predileção pelo folículo ocorre ainda não foram esclarecidos na literatura. O conceito de imunoprivilégio em áreas específicas do corpo que permanecem protegidas contra ataques imunes vem sendo debatido. O folículo piloso poderia ser uma área de imunoprivilégio e o colapso desse equilíbrio poderia ser uma possível explicação para o tropismo de células inflamatórias e/ou neoplásicas. Considerando esses fatos, aventou-se a hipótese de que o mecanismo de imunoprivilégio possa estar envolvido no foliculotropismo da MFF. Outra hipótese para explicar o foliculotropismo seria um fenótipo celular peculiar na MFF.

Os objetivos do presente trabalho foram: descrever o perfil clínico-epidemiológico de pacientes com MFF, descrever a histologia e imunofenótipo dos casos de MFF e investigar a possibilidade de colapso do imunoprivilégio do folículo piloso.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos clínico-epidemiológicos da MFF

A micose fungóide foliculotrópica (MFF) é uma variante rara de linfoma de célula T cutâneo na qual os linfócitos neoplásicos apresentam um tropismo pelo epitélio folicular.^{1, 2}

A classificação em separado da MFF tem sido feita em virtude de suas peculiaridades de achados clínicos e histológicos, sua refratariedade aos tratamentos convencionais e pior prognóstico quando comparada à micose fungóide clássica (MFC), a despeito de representar menos de 10% dos pacientes com micose fungóide.¹⁻³ É mais comum em homens, mas na mulher a idade de aparecimento é maior, coincidindo com o período pós menopausa. A cabeça e pescoço são os locais mais frequentemente acometidos, os quais são habitualmente poupados na MFC.⁴

Clinicamente as lesões podem ser muito variadas incluindo placas pruriginosas e lesões foliculocêntricas como milia, cistos e alopecia.⁵ Muitas lesões cutâneas atípicas foram descritas na MFF incluindo alopecia, eritema difuso, dermatite liquenificada, fascies leonina, lesões acneiformes, placas psoriasiformes, ulceração purulenta com crosta e lesões semelhantes à carcinoma basocelular na face. Considerando-se esses achados, os pacientes MFF podem ser classificados em três diferentes padrões clínicos ⁶: pacientes com lesões típicas da MF, pacientes com lesões MF típicas associadas a lesões atípicas, pacientes com lesões exclusivamente atípicas. No que diz respeito à aparência de lesões, na maioria dos pacientes com MFF, placas infiltradas com base folicular e de aparência intumescida são geralmente encontradas. Lesões semelhantes a comedos, pequenos cistos semelhantes a mília e pequenas pústulas são muito comuns, compreendendo o padrão acneiforme considerado muito característico da MFF. Pápulas foliculares queratósicas e placas que

lembram hiperqueratose folicular ou queratose espinulosa foram também descritas.² A presença de placa em sobrancelha com destaque folicular, com ou sem alopecia, parece ser muito sugestiva da MFF.⁷

Em um estudo com 1550 pacientes com micose fungóide e Síndrome de Sezary, cerca de 2,5% dos casos apresentam alopecia. O espectro de perda capilar pode ser dividido em dois padrões: clínica idêntica à alopecia areata (34% dos casos) e alopecia nas áreas de lesão da MF (66% dos casos). No primeiro grupo, apesar da ausência de lesões compatíveis com MF, na biópsia de pele da área de alopecia, geralmente no couro cabeludo, há alterações histológicas próprias da MF. No segundo grupo, os pacientes apresentam alopecia nas lesões de MF ou alopecia generalizada associada à síndrome de Sézary/eritrodermia.⁸ O mecanismo pelo qual os linfócitos atípicos contribuem para a perda dos pêlos permanece desconhecido. O efeito direto inflamatório aos queratinócitos das células T, células *natural killer* (células NK) e citocinas tem sido especulado. Tanto na alopecia areata quanto na MF há a associação a alelos HLA- DR e DQB que restringiriam a apresentação de antígenos. Nessas duas condições os linfócitos poderiam ser ativados por antígenos peptídicos comuns derivados de agentes próprios ou estranhos.⁸

O prurido é um queixa frequente entre os pacientes com micose fungóide foliculotrópica e outros linfomas cutâneos de células T com impacto importante na qualidade de vida dos pacientes.⁹ Sabe-se que a variante foliculotrópica da micose fungóide apresenta frequentemente prurido acentuado em 68% dos casos.⁷ Os mecanismos do prurido nos linfomas cutâneos têm sido bastante estudados. Algumas fibras não mielinizadas tipo C seriam as responsáveis pela sensação de prurido na pele. Essas fibras podem ser dependentes ou não de histamina para a transmissão do estímulo nervoso. No entanto, a resposta aos anti-histamínicos frequentemente não é satisfatória nos casos de prurido, o que incentiva a busca por novas explicações para o mecanismo desse sintoma. Recentemente, os níveis de expressão de mRNA (RNA mensageiro) da IL-31 foram positivamente correlacionados à presença de prurido em pacientes com linfomas cutâneos. Além disso, algumas células do infiltrado produzem IL-31 e a resolução clínica do prurido se correlaciona com a diminuição dos níveis séricos dessa IL.¹⁰

Neuropeptídeos como a substância P são liberados nas terminações nervosas sensoriais da pele e estão implicados nos mecanismos independentes de histamina na fisiopatogênese do prurido. A substância P ativa os receptores neurocinina-1 localizados do queratinócitos. O uso de substâncias como a aprepitante está baseado no bloqueio do receptor da neurocinina-1, com melhora do prurido em pacientes com linfomas cutâneos.^{11, 12} É provável que o prurido esteja também relacionado a mediadores periféricos como interleucinas IL-4, IL-2, INF γ . Os pacientes com síndrome de Sezary, em que o perfil de citocinas está mais voltado ao padrão Th2, têm uma queixa de prurido mais intensa do que pacientes em estágios clínicos mais baixos. Esse padrão Th2 de citocinas favorece o recrutamento de eosinófilos, os quais geram uma inflamação na pele mais intensa.¹³ Foi demonstrado recentemente que os níveis séricos de fator de crescimento neural é maior nos pacientes com Síndrome de Sezary quando comparados àqueles com micose fungóide e controles sadios.¹⁴

A MFF é menos responsiva aos tratamentos do que a MFC. A extensão profunda do infiltrado limita a resposta a terapias superficiais como UVB *narrow band* e corticóides tópicos.⁵ Alguns autores acreditam que as características biológicas que determinam o foliculotropismo também contribuiriam para essa resistência à terapêutica.⁴

2.2 Aspectos histológicos e imunofenotípicos da MFF

Histologicamente, os linfócitos atípicos na MFF apresentam um tropismo pelo epitélio do folículo piloso, resultando em um envolvimento folicular seletivo predominante.² Essa proliferação pode causar diferentes graus de dano aos folículos pilosos.¹⁵

Cinco padrões histológicos são definidos para a classificação da MFF^{7, 16}:

1. Hiperplasia basalóide folículo-linfóide;
2. Dermatite granulomatosa associada a processo degenerativo da unidade folicular;
3. Cistos foliculares dilatados com foliculotropismo;
4. Folliculite eosinofílica símile;
5. MFF típica com foliculotropismo, com ou sem mucinose folicular.

O padrão de hiperplasia basalóide folículo-linfóide pode ser muito útil para o diagnóstico de MFF. Encontra-se foliculotropismo dos linfócitos dentro das áreas basalóides as quais podem ocorrer de duas maneiras: em forma de ilhas nos folículos pilosos ou em forma difusa na derme, lembrando carcinoma basocelular ou tricoepitelioma. Ao contrário do carcinoma basocelular, as ilhas de células basalóides não apresentam a fenda artefactual, mas apresentam em comum os achados de paliçada e depósitos mucinóides. Além disso, na MFF as ilhas basalóides estão conjugadas ao folículo piloso com queratinização central, o que auxilia nessa diferenciação. A indução basalóide no interior de hiperplasia epitelial é um fenômeno reconhecido em várias neoplasias cutâneas, mais notadamente no dermatofibroma. No entanto, acredita-se que a associação de indução basalóide e infiltrado linfocitário atípico só ocorra na MFF.¹⁷

A ruptura do folículo, secundária à mucinose folicular, alterações císticas ou infiltração por linfócitos atípicos podem resultar em um padrão granulomatoso do infiltrado. Muitas vezes a área do folículo não é visualizada e o que se tem é um infiltrado misto intersticial ofuscando o infiltrado original

de células T neoplásicas. Acredita-se que muitos dos casos classificados como micose fungóide granulomatosa, na verdade, sejam casos de MFF.

Nos casos com cistos foliculares, não encontra-se mucinose folicular nem epidermotropismo do epitélio ao redor do folículo.¹⁶ Nesses casos há uma diminuição proeminente da quantidade de células de Langerhans no epitélio folicular.

No subtipo foliculite eosinofílica nota-se, além do infiltrado eosinofílico, linfócitos epidermotrópicos. Em alguns casos a foliculite eosinofílica pode ser um padrão reacional devido à supressão da imunidade.

Relacionando os aspectos histológicos aos clínicos, lesões da hiperplasia basalóide foliculo-linfóide são mais freqüentes nas áreas periorbitais e na fronte. O subtipo foliculite eosinofílica também é comum na face e geralmente apresenta nódulos grandes acompanhados por lesões pustulares. Em todos os casos o padrão clínico característico é de placas e pápulas com proeminência folicular, com ou sem alopecia.¹⁶

Com relação à localização do infiltrado, em geral, quando as porções do istmo e infundíbulo são analisadas no espécime histológico, ambas estão acometidas pelo infiltrado, enquanto que a porção do bulbo raramente é acometida.¹⁶

Pústulas neutrofílicas e dermatite de interface são alterações inespecíficas e sua presença não deve excluir o diagnóstico de MFF.¹⁶ Por fim, nos casos de MFF típicos, a minoria dos casos (25%) apresenta epidermotropismo do epitélio não folicular e, em cerca da metade, há mucinose folicular.⁷

A mucina depositada nos folículos na MFF não tem sua origem bem definida. É composta por ácido hialurônico e mucopolissacarídeos ácidos. Na ocorrência de mucinose folicular, há retenção de água e edema intercelular, o que poderia lesar o epitélio folicular. A distinção entre MFF e mucinose folicular (alopecia mucinosa) é um grande desafio histológico. Alguns autores consideram um espectro da mesma doença. É fundamental que se estabeleça o diagnóstico correto, uma vez que a mucinose folicular não associada à MF em pacientes jovens tende a ser persistente, porém benigna. Lehman et al, 2010 defendem que a deposição de mucina dentro do folículo seria resultado

de um fenômeno secundário não específico, que pode ocorrer tanto em infiltrações linfocitárias benignas como neoplásicas do epitélio folicular. Historicamente os casos de MFF foram divididos em dois grupos: com e sem mucinose folicular. Mas, para evitar confusões de terminologia, parece ser mais adequado o uso do termo MFF para definir os dois grupos.^{1, 2} A presença de mucinose folicular está descrita na literatura entre 60%-96% dos casos de MFF.^{2, 4, 5}

A transformação em grandes células é definida como a presença de células grandes (≥ 4 tamanho de um pequeno linfócito) em 25% ou mais do infiltrado inflamatório microscópico ou a presença de nódulos com células grandes.¹⁸ Em aproximadamente um terço dos casos de MFF observa-se dados histopatológicos compatíveis com transformação para linfoma de grandes células.⁷ A transformação em grandes células está implicada em pior prognóstico com menor sobrevida e aumento de risco de progressão da doença.¹⁹

Normalmente MF tem um fenótipo T helper (CD3 +, CD4 +, CD8-, CD30- e CD56-). Aproximadamente 5% dos MF têm fenótipo citotóxico (CD3 +, CD4-, CD8+, CD56-, TIA-1+), com destaque para os casos com início na infância.^(20, 21) Um fenótipo incomum de MF com células CD4 + CD8- CD56+ TIA+ também foi descrito.²² A expressão de marcadores CD8+ e/ou CD56+ na MF não está implicada com mau prognóstico.²³⁻²⁵

A proporção linfócitos CD4+ e linfócitos CD8+ na MF é tipicamente 3 a 5 e é maior do que nos processos inflamatórios. Na MFF encontra-se uma proporção intrafolicular de pelo menos 10:1 na maioria dos casos estudados. O mecanismo desse achado ainda não é conhecido. É possível que isso ocorra pela expressão de CD4 pelas células de Langerhans, encontradas em grande quantidade no epitélio folicular, ou por se tratar de casos mais avançados devido à dificuldade diagnóstica.¹⁶ Observa-se uma densidade de células CD1a positivas no epitélio folicular bastante aumentada em relação à epiderme não folicular, na proporção de 10:1. É provável que o aumento do número de células CD1a no folículo na maioria dos casos de MFF possa também ser visto nas condições inflamatórias focadas ao redor do folículo como líquen plano pilar e lupus eritematoso discóide. Poucas células de Langerhans foram

identificadas no epitélio folicular nos cinco casos controle de MF clássica. Assim, é possível que a imunohistoquímica para CD1a possa ser útil na determinação da tendência ao padrão foliculotrópico.^{7, 16}

Funcionalmente os linfócitos neoplásicos na MF expressam um padrão de citocinas tipo Th2 ^{3, 7}, com produção de citocinas específicas: interleucinas (IL) 4, 5 e 10. Nos estágios mais precoces da doença observa-se, uma população de células tipo TH1 que produzem IL-2 e interferon γ (INF γ).^{3, 26}

2.3 Imunopatogênese da micose fungóide

A compreensão das interações moleculares e fisiologia da imunovigilância permite entender a capacidade das células neoplásicas dos linfomas cutâneos de células T (LCCT) em migrar e residir na pele. As células T que encontraram seu antígeno complementar, ao qual foram previamente sensibilizadas, passam repetidamente do sangue para o linfonodo para inspecionar as células apresentadoras de antígeno quanto aos peptídeos complementares aos seus receptores de células T. Os principais guias para essa navegação são as moléculas de superfície como a L-selectina (CD62L) e o receptor de quimiocina 7 (CCR7) nas células *naive*. Uma vez ativadas, há uma mudança do perfil da superfície celular. Nos linfonodos que drenam a pele, a expressão de antígeno cutâneo linfocitário (CLA) e receptor 4 de quimiocina (CCR4) é facilitada. Após a injúria tecidual, os queratinócitos liberam citocinas que levam ao recrutamento leucocitário. As primeiras citocinas aumentam a expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais dérmicas. As células T, que transitam pelos vasos sanguíneos e que têm moléculas complementares a essas moléculas de adesão, vão aderir e rolar, guiados pela interação entre o CLA na superfície das células T e a E-selectina endotelial. Os leucócitos se aderem firmemente ao endotélio e extravasam para dentro da derme. Esses fenômenos são intensificados pelas quimiocinas associadas à pele como CCL17 e CCL22, ambas ligantes para o CCR4 das células T direcionadas a pele (*skin-homing T cells*).²⁷

Os clones malignos na MFC tipo placa/patch apresentam características de endereçamento à pele, positividade do antígeno leucocitário cutâneo e perfil CCR4 positivo. Além disso, nas lesões há alta concentração de CCL17 e CCL22. As células nessa doença podem expressar moléculas de adesão tipo integrinas (α E β 7) e receptor de quimiocinas (CCR4 e CXCR3 receptores de quimiocina 3 e 4).²⁷

Um resumo das moléculas envolvidas na imunopatogênese da MF e doenças inflamatórias cutâneas está representado no **Quadro 1**.

QUADRO 1 - Células T na Micose fungóide e nas doenças inflamatórias cutâneas

Molécula de superfície da Célula T	Ligante	Célula cutânea carreadora
CLA	e-selectina	Endotélio
CCR4	CCL17	Queratinócitos basais e endotélio
CCR4	CCL22	Células de Langerhans (CL)
CXCR3	INF gama-proteína 10 induzível	Queratinócitos basais
Integrina α EB7	E-caderina	Queratinócitos, CL
LFA-1	ICAM-1	Endotélio, CL

FONTE: Adaptado de. Girardi M et al. N England J Med 2004; 350:1978-88.²⁷

** CLA: antígeno leucocitário cutâneo; CCR4: receptor 4 de quimiocina CC; CXCR3: receptor 3 da quimiocina CXC; LFA-1: antígeno 1 associado a função linfocitária; CCL17 e CCL22: ligantes 17 e 22 da quimiocina CC; CL: células de Langerhans; ICAM-1 molécula 1 de adesão intercelular.

O mecanismo do foliculotropismo ainda não foi elucidado na literatura. Não se sabe se o foliculotropismo ocorre por especificidade de antígenos da superfície celular das células T ou por anormalidades do próprio epitélio folicular, ou ambos.⁷ A expressão da molécula de adesão intercelular tipo 1 (ICAM-1) nos queratinócitos perifoliculares poderia induzir a obstrução do orifício folicular pelas células neoplásicas. A presença de superantígenos de *Staphylococcus aureus* proporcionaria a estimulação dos linfócitos neoplásicos pelos linfócitos não neoplásicos por *cross-talk*.^{5, 28-31}

2.4 Complexo de histocompatibilidade maior e HLA-G

O processo de apresentação antigênica para as células T envolve a expressão de moléculas codificadas no locus complexo maior de histocompatibilidade (MHC). Existem duas classes de moléculas MHC: classe I (HLA-A, -B, -C) e classe II (HLA-DP, DQ, DR). Linfócitos T CD4⁺ reconhecem antígenos em associação com MHC classe II (MHCII), enquanto linfócitos CD8⁺ reconhecem antígenos associados com moléculas de MHC classe I.³² A grande maioria das células nucleadas expressa as moléculas classe I. Em contrapartida, a apresentação de antígenos MHCII é dependente de células B, monócitos/macrófagos e células dendríticas incluindo células de Langerhans.³³ A expressão de antígenos de MHC por células epiteliais pode ser induzida por uma variedade de estímulos não específicos como infecções virais.³⁴

As regiões de ligação de peptídeos das moléculas MHC clássicas (classe Ia) apresentam extenso polimorfismo de aminoácidos e, portanto, criando um diversificado repertório para ligação de peptídeos e reconhecimento de células T. O gene do HLA-G está localizado na região de HLA de classe I do cromossoma seis e pertence ao grupo de moléculas de MHC não clássicas (classe Ib). Diferentemente das moléculas MHC clássicas, contêm um polimorfismo limitado de aminoácidos e um número limitado de peptídeos capazes de ligação. A estrutura de HLA-G é de uma cadeia pesada ligada à membrana contendo três domínios semelhantes à imunoglobulina ($\alpha 1$ - $\alpha 3$) em que os domínios $\alpha 1$ e $\alpha 2$ constituem a fenda de ligação ao peptídeo.³⁵

O HLA-G pode ser expresso em sete isoformas: quatro ligadas à membrana (HLA G1-G4) e três formas solúveis (HLA G5-G7). Além disso, HLA-G solúvel chamado shed HLA-G (sHLA-G) pode ser gerado pela liberação proteolítica de formas ligadas à membrana. As formas ligadas à membrana G1 e G5, as duas mais estudadas, têm uma estrutura molecular semelhante ao HLA de classe Ia: uma cadeia pesada de três domínios globulares associados à $\beta 2$ -microglobulina e a um fragmento não peptídico.³⁶ Elas representam as moléculas de comprimento extracelular completo e capacidade de ligação

peptídica. As outras isoformas são truncadas, com falta de um ou dois domínios α , não associadas à $\beta 2$ -microglobulina e, portanto, não capazes de ligação a peptídeos.³⁷

Existem três receptores para o HLA-G³⁸:

1. ILT2: expresso em linfócitos B, T, células NK, monócitos/células dendríticas
2. ILT4: expresso somente em células mielóides (monócitos/células dendríticas)
3. KIR2DL4: expresso em células NK CD56+

ILT2 e ILT4 são receptores inibitórios. Por outro lado os receptores KIR2DL4 são capazes de enviar tanto sinais de inibição quanto de ativação.³⁸

Quando o HLA-G liga-se aos receptores ILT2 e ILT4 expressos em células T, células B, monócitos, células dendríticas mielóides e células NK, esses efetores imunitários são inativados. A interação com células dendríticas, que têm um papel central regulação de respostas imunes e de tolerância periférica, resulta na inativação da via de apresentação MHCII.³⁵

O HLA-G tem funções inibitórias diretas sobre as células NK, células dendríticas e linfócitos T citotóxicos.³⁹ Além disso, o HLA-G induz a diferenciação linfocitária em células T supressoras e expressão temporária do HLA-G nessas células. A sua expressão é influenciada por fatores do microambiente, tais como a hipoxia, a indolamina 2,3 dioxigenase (IDO) e fator de necrose tumoral α (TNF α).⁴⁰ HLA-G5 solúvel pode induzir apoptose de linfócitos T CD8+ ativados e células NK mediada por mecanismos de apoptose via Fas / Fas-L.⁴¹

As funções do HLA-G podem ser resumidas como segue³⁷:

1. Inibição de células T citotóxicas e células NK se as células alvo expressam HLA-G;
2. As células apresentadoras de antígenos positivas para HLA-G inibem a proliferação de linfócitos T CD4+ em situações alogênicas e induzem anergia

dessas células, bem como estimula a sua diferenciação em células T reguladoras;

3. A ligação do HLA-G a células dendríticas inibe a apresentação de antígenos, diminui a maturação das células dendríticas e induz células T imunossupressoras.

Na maioria dos estudos a expressão da proteína HLA-G foi detectada por análise de imunohistoquímica de espécimes congelados e/ou embebidos em parafina, utilizando o anticorpo monoclonal 4H84, que é específico para um peptídeo localizado no domínio extracelular α comum a todas as isoformas de HLA-G. Em 2000, esse anticorpo foi validado durante a conferência internacional HLA-G/E em Paris.⁴²

2.5 Expressão do HLA-G

O HLA-G protege as células alvo contra a citólise por células NK e células T, induz as células T supressoras e inibe a alo-proliferação de células T CD4⁺ e inibe a maturação de células apresentadoras de antígenos. Em resumo, a função é imuno-inibidora, o que em algumas situações parece ser benéfico e, por vezes, prejudicial.³⁹ Embora o papel benéfico de modulação da resposta imune na gravidez, no transplante e nas doenças auto-imunes, o HLA-G pode desempenhar um papel deletério no câncer por permitir a evasão de células malignas a respostas antitumorais.³⁶

Em indivíduos saudáveis, embora um nível basal de transcrição do gene HLA-G seja encontrado na maioria das células e tecidos, a transcrição proteica é restrita às células trofoblásticas, timo, córnea, pâncreas, matriz ungueal e precursores endoteliais e eritróides. A negatividade da expressão de moléculas de HLA-G em amostras de pele de indivíduos saudáveis foi consistentemente documentada.⁴³⁻⁴⁵ A expressão do HLA-G pode ser induzida em queratinócitos em culturas celulares.⁴⁶

2.6 Relação HLA-G, pele e doenças dermatológicas

A expressão de HLA-G na superfície celular pode ser induzida em várias condições patológicas, tais como transplantes, tumores, infecções virais e doenças auto-imunes.^{36, 38, 47}

Com relação à pele, os dados disponíveis apoiam a dualidade da função do HLA-G, desencadeando imunossupressão em cânceres e estimulação imunológica excessiva em doenças inflamatórias.⁴⁸

As evidências apontam para um papel tolerogênico dos antígenos HLA-G, diminuindo a resposta imunitária na pele em doenças reumáticas e gastrointestinais. O HLA-G pode interagir diretamente com as células imunes ou controlar o equilíbrio entre citocinas padrão Th1 e Th2.⁴⁷

Na **psoríase**, o INF γ é uma citocina importante e capaz de induzir a expressão do HLA-G. A proteína HLA-G em macrófagos foi encontrada em todos os casos de psoríase, mas nunca em controle normais. A expressão do HLA-G e seu receptor ILT2 nas células T CD4⁺ sugere que essa via pode atuar como um mecanismo de *feedback* negativo destinado a modular os efeitos deletérios do infiltrado de célula T nessa doença.⁴³ A avaliação imuno-histoquímica em amostras fixadas em parafina de biópsias cutâneas demonstrou a expressão de HLA-G em 90% dos casos de pacientes com psoríase. A principal área de expressão é a epiderme, apesar das células do infiltrado linfomonuclear da derme exibirem positividade para HLA-G. A expressão do HLA-G também foi observada em 27% das amostras de pele não afetada nos pacientes com psoríase.⁴⁹ Outro estudo na psoríase usando RT-PCR (reação de transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase) não conseguiu demonstrar uma correlação confiável entre a expressão do HLA-G e a doença.⁴⁶ Níveis plasmáticos significativamente inferiores de sHLA-G e IL-10 em pacientes com psoríase, em comparação com

indivíduos saudáveis, sugerem uma condição propícia para o desenvolvimento da inflamação.⁵⁰

A presença de moléculas de HLA-G em biópsias de **dermatite atópica**⁴⁴ está associada a um prognóstico favorável na maioria dos casos. A modulação de moléculas HLA-G em níveis de transcrição e tradução também foi observada em células epidérmicas de pacientes com **pênfigo vulgar**, uma doença auto-imune bolhosa da pele e membranas mucosas.⁵¹

2.7 HLA-G e câncer

Com relação ao seu papel no câncer, o HLA-G parece atuar como um promotor do escape imune.⁵² Um dos mecanismos mais comuns é a diminuição parcial ou total da expressão de moléculas de MHC classe I por células cancerosas que impedem ataque de linfócitos T CD8+. Essas células eventualmente sofrem o ataque de células NK, mas isso pode ser superado pela expressão da molécula MHC classe I não clássica como o HLA-G.^{37, 53} Curiosamente, o HLA-G não é específico das células malignas, mas pode estender-se a células do sistema imunológico.⁴²

Tem se demonstrado que, em lesões melanocíticas, a expressão do antígeno HLA-G nos melanócitos é significativamente maior no melanoma (28%) do que nos nevos benignos (1,4%), sugerindo que o HLA-G esteja relacionado à transformação maligna. Em 16 controles saudáveis nenhuma expressão foi encontrada.⁵⁴ O HLA-G é expresso no melanoma primário e metastático, mas não nos locais de pele saudável e de regressão tumoral.^{55, 56}

A atividade de transcrição do gene HLA-G pode ser controlada pelo mecanismo epigenético, tais como a metilação do DNA e a acetilação de histonas, fato que pode ser importante como uma possível estratégia terapêutica no futuro. Um ambiente rico em citocinas liberadas pelos linfócitos que infiltram o tumor pode regular a expressão do HLA-G. O INF γ , secretado pelas células citotóxicas, e a IL-10, secretada por células tumorais, podem aumentar a expressão do HLA-G. Por outro lado, o HLA-G modula a expressão de citocinas em direção a um perfil de citocinas padrão Th2, especialmente aumentando a secreção de IL-10, associada à deficiência de imunidade antitumoral.³⁵

A relação do estadiamento e prognóstico com a expressão de HLA-G tem sido investigada e, provavelmente, os estágios mais avançados estão associados a uma maior positividade do HLA-G em células tumorais. Alguns estudos com câncer de ovário, carcinoma de células escamosas do esôfago e

câncer de mama têm demonstrado associação da expressão do HLA-G com um prognóstico reservado. Considerando a função imunoinibitória, o bloqueio nos tumores que expressam o HLA-G continua a ser uma estratégia terapêutica promissora contra o câncer.⁵⁷ Em linfomas cutâneos, a molécula de HLA-G é expressa em estágios avançados com histologia de alto grau, envolvimento hematológico e linfomas de células T CD8+. Em tais casos, há um aumento da expressão local de IL-10.^{58, 59}

2.8 Imunoprivilégio

Sempre houve muita curiosidade sobre a habilidade de alguns órgãos em permanecer protegidos contra reações inflamatórias e invasões externas. O fenômeno de imunoprivilégio (IP) foi descrito em áreas definidas do corpo nas quais tecidos de enxerto heterólogo podem sobreviver por longos períodos. Esse fenômeno é crucial na sobrevivência de três órgãos: cérebro, olho e útero gravídico. Vários mecanismos estão envolvidos na manutenção do IP como a expressão muito baixa ou ausência da expressão das moléculas MHC classe I, além da expressão de moléculas MHC classe I não clássicas, como o HLA-G.⁶⁰ Além disso, há uma alteração funcional nas células apresentadoras de antígeno, ausência de vasos linfáticos e produção local de imunossupressores como fator transformador de crescimento $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), IL-10 e hormônio estimulador de melanócitos α (α -MSH). A expressão do ligante Fas (FasL), nesse contexto, também contribui com o IP, uma vez que suprime a autoreatividade. Por fim, barreiras de matriz extracelular são formadas com o objetivo de dificultar o tráfego de células imunes.⁶¹

Na realidade, nem todos os mecanismos envolvidos no IP estão presentes em cada local que apresenta esse fenômeno, ocorrendo uma variabilidade de importância entre eles.⁶¹

2.9 Imunoprivilégio e folículo piloso

Tem sido sugerido que o folículo piloso normal também represente um local de IP com pouca ou nenhuma expressão de moléculas MHC classe I e II.⁶¹⁻⁶³ As poucas células de Langerhans presentes ao redor e dentro dos folículos teriam sua função comprometida devido à falta de expressão de MHCII.⁶² Além disso, citocinas imunossupressoras α -MSH, IL-10 e TGF- β 1⁶¹ são expressas no folículo piloso e acredita-se que sejam capazes de manter o IP nesse local.⁶⁴ Há ainda expressão de potentes inibidores de células NK (MIF), o que previne o acúmulo dessas células ao redor e no interior dos folículos pilosos.⁶³

Um esquema sobre a anatomia folicular está representado na **Figura 1**.

Figura 1 - Estrutura anatômica do folículo piloso. Infundíbulo: porção superior entre a abertura do folículo até a entrada do ducto sebáceo; istmo: porção intermediária entre o ducto sebáceo e a inserção do músculo eretor do pelo; bulbo: porção mais profunda do folículo piloso contendo células da matriz folicular. A área do bulge corresponde ao nível de inserção do músculo eretor do pelo e contém células tronco foliculares. O folículo distal compreende a porção superior mais próxima da epiderme e o folículo proximal a porção inferior.

2.10 Imunoprivilégio, folículo piloso e alopecias

Em um estudo de três casos de **alopecia cicatricial primária**, a investigação imunohistoquímica evidenciou um aumento da expressão de MHC I e II na região bulbo de folículos das áreas de lesão em relação aos folículos não envolvidos.⁶⁵

Propõe-se que haja um possível colapso no IP folicular responsável pela patogênese da **alopecia areata**. Acredita-se que, após um estímulo, haja a secreção ectópica de INF- γ no folículo, o que resultaria na *upregulation* do MHC classe Ia no epitélio proximal folicular, na apresentação de antígenos anteriormente ocultos e no desencadeamento da resposta inflamatória. Um fenômeno imune secundário ocorre, com aumento da expressão do MHCII pelos queratinócitos do bulbo capilar, ativação de macrófagos e expressão do FasL.^{61,62,66} Além disso, propõe-se uma alteração na atividade gênica, envolvendo tanto a imunidade inata quanto a adquirida. Há associação com genes *ULBP3*, que codificam ligantes para receptores de células NK (NKG2D). Em folículos normais o gene *ULBP3* não está expresso, mas demonstra-se grande quantidade nos folículos afetados na alopecia areata.^{62,67} Em um estudo com alopecia areata utilizando a técnica de PCR quantitativo, verificou-se que há uma diminuição do FasL (molécula que induz a apoptose de células T ativadas e neutrófilos) nos folículos lesionados e um aumento significativo no mRNA do CD80 (receptor envolvido nos sinais co-estimulatórios) quando comparados com o couro cabeludo normal. A red/IK é uma citocina antagonista da expressão do MHCII induzida pelo INF- γ que está diminuída no folículo piloso perilesional quando comparado aos folículos normais, o que facilitaria a expressão de MHCII.⁶⁸

O **liquen plano pilar** é uma doença inflamatória crônica que leva a perda permante dos fios de cabelo. Parece que a destruição das células tronco localizadas no bulge, uma área de IP, seja um fator decisivo na patogênese dessa doença. Em um estudo com 42 casos de liquen plano pilar,

evidenciou-se uma quebra no IP da região do bulge, tanto em termos de expressão de proteínas quanto de transcrição, com aumento da expressão de moléculas MHC classe I e II.⁶⁹

Considerando esses conceitos de imunoprivilégio, aventamos, para esse trabalho, a hipótese de que o colapso desse equilíbrio imune na unidade folicular possa estar envolvido com o foliculotropismo na MFF.

3. OBJETIVOS

Os objetivos do presente trabalho foram:

- A. Descrever os aspectos clínico-epidemiológicos dos pacientes com MFF de um hospital terciário para:
 - A1. Verificar possíveis semelhanças ou diferenças a casuísticas previamente descritas na literatura.
- B. Descrever a histopatologia e o perfil celular das lesões de MFF para:
 - B1. Investigar se há relação entre o perfil celular no infiltrado neoplásico e a presença de prurido.
 - B2. Investigar se há relação entre o perfil celular no infiltrado neoplásico com as variáveis histológicas: grau de dano folicular, mucinose e fibrose.
 - B3. Investigar se há um perfil citotóxico das células na MFF com possível relação ao dano folicular e fibrose.
- C. Descrever a expressão do complexo de histocompatibilidade maior HLA-G e MHCII nos casos de MFF e compará-la à MFC e à pele normal para:
 - C1. Investigar um possível colapso do imunoprivilégio na MFF.

4. MÉTODOS

4.1 Análise clínico-epidemiológica

Trata-se de um estudo retrospectivo analítico observacional de pacientes com diagnóstico confirmado de MFF atendidos no ambulatório de Linfomas Cutâneos da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Uma análise clínico-epidemiológica foi realizada baseada na revisão de prontuários do pacientes. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do Hospital das Clínicas da FMUSP protocolo nº 0615/11.

Critérios de inclusão

- Pacientes com diagnóstico confirmado de micose fungóide variante foliculotrópica (MFF) que estão ou estiveram em acompanhamento no Ambulatório de Linfomas Cutâneos da FMUSP.

Critérios de exclusão

- Pacientes com diagnóstico não confirmado de MFF ou sem o prontuário disponível para análise.

Um total de 33 pacientes (n=33) foram incluídos e os seguintes dados coletados por meio de revisão de prontuários e base de dados:

- Dados epidemiológicos como idade ao diagnóstico histopatológico, raça, sexo;
- Dados sobre aspectos clínicos da doença como tempo de evolução antes do diagnóstico histopatológico, tipo de lesões, extensão, distribuição, estadiamento clínico, progressão da doença, tratamentos realizados;
- Dados de acompanhamento como tempo de seguimento e estado do paciente na última consulta ou óbito;

- Dados laboratoriais como eosinofilia (contagem de eosinófilos $\geq 0,5 \times 10^3/\text{mm}^3$), leucocitose (contagem de leucócitos $\geq 11 \times 10^3/\text{mm}^3$), linfocitose (contagem de linfócitos $> 3,4 \times 10^3/\text{mm}^3$), linfopenia (contagem de linfócitos $< 0,9 \times 10^3/\text{mm}^3$) e níveis de desidrogenase láctica sérica (LDH).

4.2 Análise histológica e imunofenotípica

O material histológico foi obtido por meio de biópsias de pele previamente colhidas dos pacientes com o diagnóstico de MFF dos ambulatórios de Linfomas Cutâneos da FMUSP e da Northwestern University em Chicago-EUA. Para comparação do perfil de expressão do complexo maior de histocompatibilidade 13 pacientes com MFC e 12 pacientes sadios foram incluídos.

Critérios de inclusão:

- **Grupo 1:** Pacientes com diagnóstico confirmado de MFF que estão ou estiveram em acompanhamento no Ambulatório de Linfomas Cutâneos da FMUSP e da Northwestern University em Chicago-EUA (n=43);
- **Grupo 2:** Pacientes com diagnóstico confirmado de micose fungóide clássica (MFC) que estão ou estiveram em acompanhamento no Ambulatório de Linfomas Cutâneos da Northwestern University em Chicago-EUA (n=13). Nesse grupo oito pacientes apresentavam estágio clínico precoce (Ia, Ib, IIa) e cinco estágio tumoral da doença (IIb) seguindo a classificação TNM de estadiamento ISCL/EORTC (ANEXO A).
- **Grupo 3 (grupo controle):** Amostras de pele coletadas do couro cabeludo de pacientes recém-falecidos, emblocadas em parafina. Esse material foi utilizado previamente em estudo de tese de mestrado da Universidade Federal do Paraná (n=12).⁷⁰

Critérios de exclusão:

- Pacientes que tinham material histológico fixado em parafina em mal estado de conservação do qual não se podiam confeccionar lâminas para o estudo.

Os blocos de parafina foram cortados para confecção de novas lâminas para avaliação histológica e imunofenotípica.

O estudo imunohistoquímico foi realizado no Laboratório de Dermatopatologia da Northwestern University, Chicago, EUA, em sistema de cooperação com a Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em ambas as instituições (protocolos CAPPesq nº 0615/11 e nº IRB STU65821). Os custos operacionais foram financiados pela Northwestern University, Chicago, EUA.

Realizaram-se as colorações de hematoxilina eosina (H&E) e de ferro coloidal para análise dos seguintes parâmetros:

- Partes do folículo analisadas (bulbo, istmo, infundíbulo);
- Intensidade do infiltrado neoplásico epidérmico;
- Intensidade do infiltrado neoplásico dérmico;
- Acantose (aumento da espessura da epiderme) e espongiose (edema intercelular) da epiderme;
- Presença de mucinose folicular;
- Fibroplasia do tecido conjuntivo;
- Quantidade de eosinófilos no infiltrado neoplásico;
- Quantidade de plasmócitos no infiltrado neoplásico;
- Tamanho das células;
- Dano da estrutura folicular.

Com a técnica de imunohistoquímica, foram analisadas a expressão dos seguintes marcadores no infiltrado celular neoplásico:

- CD4;
- CD8;
- CD1a;
- CD56;
- TIA-1;
- CD117/c-kit.

Ainda com a técnica de imunohistoquímica, para comparação do perfil de expressão do complexo maior de histocompatibilidade, os Grupos 1 (MFF), 2

(MFC) e Grupo 3 (pele normal) avaliou-se a expressão dos marcadores HLA-G e MHCII segundo o esquema descrito no **Quadro 2**.

Quadro 2 - Esquema da avaliação da expressão das moléculas de MHC

Expressão da molécula avaliada	Grupo 1 (MFF*)	Grupo 2 (MFC**)	Grupo 3 (pele normal)
HLA-G no epitélio folicular	sim	sim	sim
MHCII no epitélio folicular	sim	sim	sim
MHCII na epiderme	sim	sim	não
HLA-G no infiltrado neoplásico	sim	sim	não
MHCII no infiltrado neoplásico	sim	sim	não

*MFF: micose fungóide foliculotrópica, **MFC: micose fungóide clássica.

Segue um resumo dos anticorpos utilizados com suas respectivas afinidades:

1. CD4: é um anticorpo monoclonal que se liga a uma glicoproteína transmembrana expressa em linfócitos T auxiliares e indutores.
2. CD8: é um anticorpo monoclonal que se liga à glicoproteína transmembrana expressa em linfócitos T supressores e citotóxicos.
3. CD1: é um anticorpo monoclonal que se liga à proteína expressa em células dendríticas e timócitos corticais. É útil para a identificação de células de Langerhans.
4. CD56: é um anticorpo monoclonal que reconhece duas moléculas de adesão neuronal expressas nos tecidos derivados da neuroectoderme e neoplasias como retinoblastoma, neuroblastoma, astrocitoma e carcinoma de células pequenas. Identifica células NK.
5. TIA-1: é um anticorpo monoclonal contra antígeno intracitoplasmático de células T que reage com uma proteína citoplasmática expressa em linfócitos com potencial citolítico.
6. CD117/ c-kit: é um anticorpo monoclonal que se liga ao domínio extracelular da família dos receptores tirosina-quinase. Nas células

normais o CD117 marca epitélio mamário, células germinativas, melanócitos e mastócitos.

7. HLA-G: é um anticorpo monoclonal que se liga às moléculas do complexo maior de histocompatibilidade de classe I (MHCI). que são receptores de superfície celular envolvidos na apresentação de antígenos.
8. HLA-DP,DQ,DR é um anticorpo monoclonal que se liga às moléculas do complexo maior de histocompatibilidade de classe II (MHCII). que são receptores de superfície celular envolvidos na apresentação de antígenos.

Os reagentes e suas especificações estão resumidos no **Quadro 3**.

Quadro 3: Reagentes e suas especificações

Anticorpos	Referência	Fornecedor	Controles positivos
CD4	VP-C318	Vector	Amígdala
CD8	M7103	Dako	Amígdala
CD1a	PM034AA	BioCare	Pele normal
CD56	123C3.D5	BioCare	Pele normal
TIA-1	PM 130 AA	BioCare	Amígdala
CD117	PME 296 AA	BioCare	Seminoma
HLA-G	4H84	Santa Cruz	Placenta
HLA-DP,DQ,DR	M0775	Dako	Linfoma B

Para o grupo 1 (MFF) foram realizadas todas as colorações. Os grupos 2 (MFC) e 3 (pele normal) foram corados apenas para o complexo maior de histocompatibilidade (HLA-G e MHCII).

As lâminas foram avaliadas por dois dermatopatologistas em momentos distintos, e as variáveis graduadas em escala semi-quantitativa.

As variáveis *infiltrado dérmico* e *quantidade de eosinófilos* receberam escala de 0-3 como segue:

- 0: negativo
- 1: positividade discreta
- 2: positividade moderada
- 3: positividade intensa

As variáveis *infiltrado epidérmico*, *presença de mucinose folicular*, *plasmócitos*, *CD1a*, *CD56*, *TIA-1*, *CD117*, *ferro coloidal*, *HLA-G no epitélio folicular*, *HLA-G no infiltrado* e *MHCII no epitélio folicular* receberam escala 0-2 como segue:

- 0: negativo
- 1: positividade discreta
- 2: positividade moderada

As variáveis *acantose/espongiose*, *fibroplasia do tecido conjuntivo*, *dano da estrutura folicular*, *MHCII na epiderme*, *MHCII no infiltrado* receberam escala 0-1 como segue:

- 0: negativo
- 1: positivo

A variável *tamanho das células* recebeu escala 1-2 como segue:

- 1: pequenas e médias células
- 2: grandes células

As lâminas com a marcação de linfócitos CD4 e CD8 foram avaliadas em conjunto para estabelecer uma razão entre linfócitos CD4⁺ e CD8⁺ (razão CD4:CD8) presentes no infiltrado neoplásico em cada caso avaliado.

4.3 Método imunohistoquímico

Os blocos de parafina foram submetidos a cortes de 4-6 μm para a confecção das lâminas e foram coradas pelo sistema DakoCytomation Autostainer seguindo protocolo já utilizado pelo serviço de Dermatopatologia da Universidade Northwestern. As lâminas foram submetidas ao processo de confecção utilizando os seguintes procedimentos:

- 3 banhos de Sub X (Leica®) de 5 minutos cada;
- 3 banhos em álcool isopropílico de 3 minutos cada;
- 2 banhos em álcool 95% de 1 minuto cada;
- 1 banho em álcool 80% de 1 minuto;
- 2 banhos em água destilada;
- Banho em água oxigenada 10ml e metanol 300ml por 10 minutos;
- 30 minutos em solução de recuperação antigênica (S1700 Dako®) a 95°C;
- Bloqueador de proteína por cinco minutos Dako X0909 (0,25% caseína);
- Anticorpo primário por 60 minutos;
- Reagente secundário Envision Mouse (CD4, CD8, CD56, MHCII) por 50 minutos ou EDL (TIA-1, CD117, CD1a) por 30 minutos;
- Revelação da cor o sistema DAB durante 10 minutos;
- Coloração com hematoxilina eosina (Dako®S3301) durante 10 minutos.

As reações para o HLA-G foram realizadas manualmente utilizando o sistema Envision G2 da Dako. Os espécimes foram submetidos à seguinte sequência:

1. 3 banhos de Sub X (Leica®) de 5 minutos cada;
2. 3 banhos em álcool isopropílico de 3 minutos cada;
3. 2 banhos em álcool 95% de 1 minuto cada;
4. 1 banho em álcool 80% de 1 minuto;

5. 2 banhos em água destilada;
6. 30 minutos em solução de recuperação antigênica (S1700 Dako®) a 95 °C;
7. Resfriamento por 15 minutos em temperatura ambiente;
8. Bloqueador de proteína por cinco minutos Dako X0909 (0,25% caseína);
9. Anticorpo primário HLA-G na concentração 1:200 por 12 horas a 4 °C;
10. Deixado em temperatura ambiente por 30 minutos;
11. Enxágue e banho por 5 minutos em solução tampão TRIS (1:10);
12. Anticorpo secundário Rabbit/mouse (LINK) incubado por 30 minutos;
13. Enxágue e banho por 5 minutos em solução tampão TRIS;
14. Anticorpo terciário Vial 2 enzima AP (ENHANCER) incubado por 30 minutos;
15. Enxágue e banho por 5 minutos em solução tampão TRIS;
16. Solução de trabalho com permanent Red por 20 minutos em diluição de 1ml de tampão (vial 4) para 14 microlitros de permanent red (vial 3);
17. Enxágue e banho em água destilada 5 minutos;
18. Hematoxilina eosina (Dako®S3301) por 10 minutos;
19. Enxágue em água destilada;
20. Banho em solução tampão TRIS;
21. Enxágue em água destilada e colocação em forno a 59 °C por 5 minutos;
22. 2 banhos com SUB X de um 1 minuto cada;
23. Montagem da lâmina em sistema automatizado.

4.4 Metodologia estatística

As análises estatísticas foram realizadas no software SPSS 14.0 e no Statistica versão 7. A análise descritiva dos dados do estudo foi realizada com a construção de tabelas de contingência das variáveis categóricas. Para a análise de concordância entre os avaliadores, foi obtido o coeficiente de Kappa. Para verificar a associação entre as variáveis aplicou-se o teste Qui-quadrado sempre que o tamanho da amostra era suficiente. Em alguns casos, foi necessário agrupar categorias para atender as condições do teste. Quando a amostra era pequena, aplicou-se o Teste Exato de Fischer. Na comparação dos grupos com relação à expressão do complexo de histocompatibilidade (HLA-G e MHCII), aplicou-se o teste de Qui-quadrado. Em todos os testes, utilizou-se o nível de significância de 5%.

5. RESULTADOS

5.1 Análise clínico-epidemiológica

Trinta e três pacientes provenientes do ambulatório de Linfomas Cutâneos da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) foram incluídos nesse estudo para análise clínico-epidemiológica. A relação masculino: feminino foi de 1,54. A distribuição de cor foi: branco 27 pacientes (82%) e não-brancos 6 pacientes (18%).

A mediana da duração da doença antes do diagnóstico foi de 3 anos (0,4-20 anos) **Gráfico 1**. A mediana das idades no momento do diagnóstico foi de 46 anos (17-84 anos) **Gráfico 2**.

Gráfico 1 - Tempo de evolução da doença antes do diagnóstico

Gráfico 2 - Mediana das idades no momento do diagnóstico

Em relação ao estadiamento da doença no momento do diagnóstico, 39% (13/33) tinham doença em fase inicial (Ia, Ib, IIa) e 61% (20/33) tinham doença em estágio avançado ($\geq$ IIb). Quatro pacientes apresentavam eritrodermia no momento do diagnóstico (T4), mas nenhum com envolvimento sanguíneo (todos classificados como estágio IIIa). Apenas um paciente foi classificado como estágio IVa devido ao envolvimento linfonodal. A classificação do estadiamento foi baseada na revisão de classificação e estadiamento da Sociedade Internacional de Linfomas Cutâneos (ISCL) e Organização Européia de Pesquisa e Tratamento de Câncer (EORTC) vide **ANEXO A.**⁷¹

Na consulta inicial, todos os pacientes apresentavam lesões descritas como pápulas e/ou placas. Pápulas foliculares foram relatadas em 66% (21/32) e alopecia em 59% (17/29) dos casos. A maioria dos casos apresentava lesões na cabeça 76% (25/33). As regiões mais envolvidas foram: membros (31/33), seguidos de tronco (27/33) e cabeça (25/33). Prurido estava presente em 81% (26/32) dos pacientes. A **Figura 2** exemplifica as lesões encontradas nos pacientes.

Figura 2 - Espectro clínico das lesões de micose fungóide foliculotrópica. A: Placa infiltrada na região de sobrancelhas com alopecia associada; B: proeminência folicular; C: alopecia em forma de patch no couro cabeludo; D: Lesões pustulares acneiformes na face. E: Placa de alopecia no antebraço evidenciando hiperqueratose folicular.

A mediana dos tempos de seguimento dos pacientes foi de 38 meses (1-264 meses) **Gráfico 3**. Quanto ao estado dos pacientes na última visita de acompanhamento/óbito, 67% dos pacientes (22/33) estavam vivos com resposta parcial ou doença estável; 6% dos pacientes (2/33) estavam em remissão completa e 27% (9/33) estavam mortos com a doença. Quatro pacientes evoluíram para linfoma de grandes células, dois deles evoluíram à óbito. Entre os 13 pacientes com doença em fase precoce, cinco (38%)

evoluíram com progressão da doença, e dois deles morreram com a doença. A curva Kaplan-Meier de sobrevida está representada no **Gráfico 4**.

Gráfico 3 - Tempo de seguimento dos pacientes.

Gráfico 4 - Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier

*Estadiamento precoce (Ia, Ib, IIa) e estadiamento tardio ($\geq$ IIb) segundo Classificação revisada de micose fungóide e Síndrome de Sézary da ISCL/EORT (Anexo A)

Um paciente foi tratado apenas com cuidados paliativos devido à doença muito avançada. Fototerapia foi a escolha terapêutica mais comum entre os pacientes tratados (69%: 22/32), seguida de radioterapia (40%: 13/32) e quimioterapia (37,5%: 12/32). Entre os pacientes tratados com fototerapia, 17 pacientes receberam PUVA (psoraleno mais luz ultravioleta A), dois receberam nbUVB (luz ultravioleta B de banda estreita) e três receberam PUVA e nbUVB. Três doentes receberam Metotrexato e outros três retinóides orais (Acitretin). Mostarda nitrogenada tópica foi indicada para nove pacientes.

Com relação às alterações laboratoriais no momento do diagnóstico, cinco pacientes apresentaram leucocitose (5/32: 16%), seis pacientes apresentaram linfopenia leve (6/32: 19%), oito pacientes apresentaram eosinofilia (8/32: 25%) e quatro pacientes apresentaram valores elevados de LDH sérico (27/04: 15%).

Com relação às características histológicas, segundo dados de revisão de prontuários, a presença de mucina na avaliação histológica foi encontrada em 72% dos casos (23/32).

Os dados clínico-epidemiológicos estão resumidos no **Quadro 4**.

Quadro 4 - Resumo dos dados clínico-epidemiológicos

Sumário dos dados Clínicos (n=33)	
Dados clínicos	
Razão Homens:Mulheres	1,54
Distribuição racial	Branca: 27 (82%) Não-branca: 6 (18%)
Duração antes do diagnóstico (mediana)	3 anos (0.4-20)
Idade ao diagnóstico (mediana)	46 anos (17-84)
Estadiamento*	Precoce (Ia, Ib, IIa): 14/33 (42%) Avançado ($\geq$ IIb): 19/33 (58%)
Seguimento (mediana)	38 meses (1-264)
Situação na última visita ou óbito	Vivo com doença: 22/33 (67%) Vivo sem doença: 2/33 (6%) Morto com doença: 9/33 (27%)
Proeminência folicular nas lesões	21/32 (66%)
Alopecia	21/29 (59%)
Localização das lesões	Membros: 31/33 (94%) Tronco: 27/33 (82%) Cabeça e pescoço: 25/33 (76%)
Prurido	26/32 (81%)
Opção terapêutica	Fototerapia: 22/32 (69%) Radioterapia: 13/32 (40%) Quimioterapia: 12/32 (37,5%)
Dados laboratoriais	
Leucocitose	5/32 (16%)
Eosinofilia	8/32 (25%)
Linfopenia	5/32 (19%)
LDH, nível sérico elevado	4/27 (15%)
Dados histológicos	
Transformação para linfoma de grandes células	4/44 (9%)
Presença de mucina folicular	23/32 (72%)

*Estadiamento precoce (Ia, Ib, IIa) e estadiamento avançado (IIb) segundo a classificação Internacional de Linfomas cutâneos vide ANEXO A.

5.2 Análise histológica e imunofenotípica

Em relação às análises histológica e imunofenotípica, foram analisados casos provenientes dos ambulatórios de Linfomas Cutâneos da FMUSP e da Northwestern University em Chicago-EUA.

Com relação à coloração de H&E, as partes do folículo analisadas estão descritas na **Tabela 1**.

Tabela 1- Partes do folículo analisadas

	Número de casos	Porcentagem(n=43)
Todos os segmentos	28	65%
Infundíbulo* e istmo [#]	4	9%
Istmo e bulbo [†]	6	14%
Somente infundíbulo	2	5%
Somente istmo	2	5%
Somente bulbo	1	2%

*Infundíbulo: porção superior entre a abertura do folículo até a entrada do ducto sebáceo;

[#]istmo: porção intermediária entre o ducto sebáceo e a inserção do músculo eretor do pelo;

[†] bulbo: porção mais profunda do folículo piloso contendo células da matriz folicular.

Não se observou infiltrado neoplásico epidérmico em 44% dos casos. Acantose/espongiose esteve presente em cerca da metade dos casos (53%). Depósitos de mucina intrafolicular foram encontrados em 35% dos casos e fibroplasia do tecido conjuntivo em 26%. Algum grau de dano folicular foi encontrado em 26% dos casos. Plasmócitos e eosinófilos estiveram presentes no infiltrado em 51% dos casos. O marcador CD1a foi positivo em 88% (38/43) dos casos; CD56 em 30% (13/43) e TIA-1 em 51% (22/43). A média da razão CD4:CD8 foi de $6 \pm 2,4$. O resumo dos achados histológicos e imunofenotípicos estão incluídos na **Tabela 2**.

Tabela 2 - Resumo dos achados histológicos e imunofenotípicos

Variável	Negativo	Positivo	n
Infiltrado epidérmico	19	24	43
Infiltrado dérmico	1	42	43
Acantose/espongiose	20	23	43
Mucínose folicular (H&E)	28	15	43
Mucínose folicular (Ferro coloidal ¹)	28	15	43
Fibroplasia do tecido conjuntivo	32	11	43
Dano da estrutura folicular	32	11	43
Plasmócitos	21	22	43
Eosinófilos	21	22	43
CD1a ¹	5	38	43
CD56 ²	31	12	43
TIA-1 ³	21	22	43
CD117 ⁴	25	18	43

¹CD1a (marcador de células de Langerhans);

² CD56 (marcador para células NK);

³TIA-1 (antígeno intracelular restrito a células T);

⁴CD117 (marcador para mastócitos);

Encontrou-se uma correlação positiva entre o grau de fibroplasia do tecido conjuntivo e a presença de eosinófilos ($p=0,0026$) e de plasmócitos ($p=0,0087$) no infiltrado celular. O grau de fibroplasia não apresentou correlação com a presença de células CD1a+, CD56+, TIA-1+ ou CD117+. Quanto maior o grau de fibroplasia do tecido conjuntivo maior também o nível de dano folicular observado ($p=0,00015$).

A presença de dano folicular não apresentou correlação com a presença de mucínose folicular, de células CD56+, TIA-1+ ou CD1a+, de eosinófilos ou plasmócitos.

Com relação à presença de mucina, houve correlação positiva entre os dois métodos de avaliação: escala semi-quantitativa na coloração ferro coloidal e mucínose folicular na coloração H&E ($p=0,0001$). A presença de

mucinose folicular não apresentou correlação com presença de células CD56+, TIA-1+ e CD117+ no infiltrado celular.

A presença de mastócitos (CD117+) não apresentou correlação com acantose e espongiose ($p=0,10$).

Não houve relação entre a razão CD4:CD8 e a presença de células TIA-1+.

A queixa clínica de prurido não mostrou associação com variáveis histológicas como: presença de acantose/espongiose, presença de eosinófilos, de plasmócitos, de mastócitos, presença de fibroplasia do tecido conjuntivo ou de dano folicular.

5.3 Análise da expressão do complexo de histocompatibilidade

Os resultados da expressão do complexo de histocompatibilidade HLA-G e MHCII entre os grupos MFF e MFC estão resumidos na **Tabela 3**.

Tabela 3 - Positividade para marcadores do complexo de histocompatibilidade

	MFF	MFC	<i>p</i>
HLA-G no epitélio folicular	14/41 (34%)	2/11 (18%)	0,57
HLA-G no infiltrado celular	17/43 (40%)	6/13 (46%)	0,65
MHCII no epitélio folicular	18/42 (43%)	3/11 (27%)	0,56
MHCII no infiltrado celular	41/43 (95%)	13/13 (100%)	0,43
MHCII na epiderme	14/43 (33%)	11/13 (85%)	0,00094

Comparação entre os grupos MFF e MFC. *MFF (micose fungóide foliculotrópica)*, *MFC (micose fungóide clássica)*.

A expressão do HLA-G e MHCII nos infiltrados celulares e no epitélio folicular não apresentou diferença entre os grupos (MFF e MFC).

A expressão do HLA-G no epitélio folicular foi positiva em 34% dos casos do grupo MFF e 18% do grupo MFC como demonstra a **Tabela 4**. Não houve diferença entre os grupos MFF e MFC e ambos foram significativamente diferentes em relação ao controle (pele normal) ($p < 0,05$).

Tabela 4 - Expressão do HLA-G no epitélio folicular

HLA-G folicular	MFF	MFC	Controle
Negativo	27	9	0
Discreto	13	2	12
Moderado	1	0	0
n	41	11	12

Comparação da expressão do HLA-G no epitélio folicular nos grupos MFF, MFC e controle. Grupo MFF comparado ao controle ($p = 0,00017$); grupo MFC comparado ao controle ($p = 0,00007$); grupo MFF comparado ao MFC ($p = 0,57$). *MFF (micose fungóide foliculotrópica)*, *MFC (micose fungóide clássica)*, *Controle (pele normal)*.

Com relação à expressão do MHCII no epitélio folicular, houve diferença significativa entre o grupo MFF e grupo controle ($p=0,02$) (Tabela 5).

Tabela 5: Expressão do MHCII no epitélio folicular

MHCII	MFF	MFC	Controle
Negativo	24	8	12
Positivo	18	3	0
n	42	11	12

Positividade para MHCII no epitélio folicular. Comparação entre os grupos: MFF e controle ($p=0,02$); MFC e controle ($p=0,09$); MFF e MFC ($p=0,56$). *MHCII* (complexo maior de histocompatibilidade classe II), *MFF* (micose fungóide foliculotrópica), *MFC* (micose fungóide clássica), *Controle* (pele normal).

Não houve diferença significativa na expressão do MHCII no infiltrado celular entre os grupos analisados. (Tabela 6)

Tabela 6: Expressão do MHCII no infiltrado celular

MHCII	MFF	MFC	Total
Negativo	2	0	2
Positivo	41	13	54
n	43	13	56

Positividade para MHCII no infiltrado celular neoplásico. Comparação entre os grupos MFF e MFC ($p=0,43$). *MHCII* (complexo maior de histocompatibilidade classe II), *MFF* (micose fungóide foliculotrópica), *MFC* (micose fungóide clássica).

A expressão do MHCII na epiderme foi maior no grupo MFC (84,62%) quando comparado ao grupo MFF (32,56%) com $p=0,00094$. (Tabela 7)

Tabela 7 - Expressão do MHCII na epiderme

MHCII	MFF	MFC	Total
Negativo	29	2	43
Positivo	14	11	25
n	43	13	68

Comparação entre os grupos MFF e MFC ($p=0,00094$). *MHCII* (complexo maior de histocompatibilidade classe II), *MFF* (micose fungóide foliculotrópica), *MFC* (micose fungóide clássica).

Não houve correlação entre a positividade do HLA-G no epitélio folicular/infiltrado celular e a presença de células CD56+ ou TIA-1+.

No grupo MFC, não houve diferença na expressão do HLA-G e MHC classe II, tanto no epitélio folicular quanto no infiltrado celular quando comparados os grupos de estadiamento clínico precoce e estadiamento avançado.

A **Figura 3** exemplifica os resultados da expressão do complexo maior de histocompatibilidade na MFF.

Figura 3 - Posividade do complexo maior de histocompatibilidade HLA-G e MHCII na MFF. **A.** Hematoxilina eosina. Note o intenso foliculotropismo. **B:** Imunoreatividade para HLA-G. Note a positividade do infiltrado neoplásico e do epitélio folicular, ambos classificados como grau 2 na escala semi-quantitativa. **C:** Imunoreatividade para HLA-G. Note a positividade do infiltrado celular e o intenso foliculotropismo. **D:** Imunoreatividade para MHCII. Nesse caso a epiderme, o infiltrado celular e o epitélio folicular foram positivos. *MFF: micose fungóide foliculotrópica; HLA-G: molécula de MHC classe I atípica; MHCII: molécula de MHC classe II.*

6. DISCUSSÃO

6.1 Análise clínico-epidemiológica

Entre os pacientes com MFF observou-se uma mediana das idades ao diagnóstico de 46 anos (17-84 anos), demonstrando-se uma população relativamente mais jovem do que a observada na MFC (55 a 60 anos)⁷² e em outros estudos com MFF (57 a 65 anos).⁴⁻⁶ Sabe-se que o diagnóstico de micose fungóide é, por vezes, um desafio. O intervalo entre os primeiros sintomas e o diagnóstico é cerca de 4 anos.^{4, 5} Um intervalo semelhante (3 anos) entre os primeiros sintomas e o diagnóstico final foi encontrado no presente estudo.

A MFF parece ser mais prevalente no sexo masculino, com uma relação homem-mulher documentada que varia de 1,7⁵ a 4,7.⁴ Em nossa população a relação foi de 1,54. Temos uma extensa miscigenação no Brasil, o que torna a aplicação da classificação de Fitzpatrick (**Anexo B**) desafiadora. Levando isso em conta, a grande maioria dos pacientes foi classificada como branca (27/33: 82%). O grupo de não-brancos correspondeu aos pacientes classificados como Fitzpatrick tipo V e VI (6/33: 18%).

De acordo com a literatura, as áreas mais acometidas nos casos de MFF são cabeça e pescoço, seguidas das extremidades e tronco.^{2, 4-7, 16} De fato a região de cabeça e pescoço foi acometida em 76% (25/33) dos casos, mas as extremidades apareceram como o local mais acometido seguido pelo tronco. Na população juvenil da MFF, extremidades e tronco são descritos como os locais mais comuns de acometimento.⁷³ Combinando os dados clínicos de trabalhos anteriores, encontrou-se que a região mais comum de acometimento é o tronco.⁵ Nossos achados podem ter sido influenciados por estágios mais avançados em 61% dos casos estudados em que, geralmente, a porcentagem da superfície corporal afetada é maior e as extremidades e tronco são geralmente envolvidos. A característica mais relevante, nesse

contexto, parece ser o acometimento da cabeça e pescoço, área geralmente poupada na MFC, principalmente se houver áreas de alopecia.

As lesões na MFF são muito variadas e a maioria dos pacientes apresenta placas infiltradas com proeminência folicular e de aparência intumescida. Pápulas foliculares queratósicas e placas que lembram hiperqueratose folicular ou queratose espinulosa foram também descritas.² A presença de placa em sobrancelha com destaque folicular, com ou sem alopecia, é muito sugestiva da MFF.⁷ Entre os nossos casos, a proeminência folicular foi descrita em 66% (21/32) e hiperqueratose folicular em 17% (5/29) dos casos. Alopecia foi encontrada em 59% (17/29) dos pacientes e, na grande maioria dos casos (79%), localizada dentro das lesões do couro cabeludo e da face. Considerando-se os grupos de micose fungoide em geral e síndrome de Sézary, alopecia é descrita em 2,5% dos casos, com padrão semelhante à alopecia areata em placas em 34% dos casos e alopecia dentro das lesões de micose fungoide em 66%.⁸ Nessa casuística, como esperado, um grande percentual de alopecia foi encontrado (59% dos casos), uma vez que a MFF é focada na unidade folicular. Esse achado está em conformidade com a prevalência de entre 43 e 50% relatada por outros autores.^{5, 7}

O prurido é muito comum na MFF, como descrito anteriormente, em uma taxa de até 74% dos pacientes.⁵ Às vezes, esse achado clínico pode estar associado a nódulos de prurigo e escoriações.² Em algumas séries, 68% dos pacientes apresentavam prurido grave, necessitando de tratamento específico para o sintoma.⁷ No presente estudo, essa queixa foi relatada em 81% dos pacientes, o que reforça a relevância dessa característica clínica na MFF. O mecanismo de prurido em linfomas cutâneos ainda não foi elucidado, mas acredita-se que os mediadores periféricos como as interleucinas, proteinases e neuropeptídeos como a substância P possam estar envolvidos.¹³

A maioria dos pacientes com MF não apresenta alterações nos exames laboratoriais.⁷⁴ Com relação às alterações laboratoriais no momento do diagnóstico, a maioria dos pacientes avaliados no presente estudo não teve alterações importantes. O achado mais comum foi eosinofilia, observada em

25% dos casos (8/32). Leucocitose e linfopenia também foram encontradas numa minoria dos casos, 16% e 19%, respectivamente. Apenas 15% dos pacientes apresentavam valores elevados de LDH sérico.

A variante foliculotrópica está associada a um maior risco de progressão da doença.¹⁹ Pacientes com diagnóstico de MFF parecem ter estágios mais avançados no momento do diagnóstico e a progressão da doença é vista com mais frequência entre estes pacientes.⁶ De fato, no presente estudo a maioria dos pacientes foi classificada como estágio avançado ($\geq$ IIb) no momento do diagnóstico. Taxas de sobrevida global de 62% em 5 anos⁵, de sobrevida específica para a doença de 68% em 5 anos e 26% em 10 anos⁴ são relatadas na literatura. Esses dados estão de acordo com nossos achados, com a maioria dos nossos pacientes (67%) estando viva com a doença, considerando o tempo médio de acompanhamento de 38 meses (aproximadamente 3 anos). Por outro lado, observou-se uma baixa taxa de remissão completa entre os pacientes (6%). Um recente estudo norueguês com 15 pacientes com MFF não conseguiu demonstrar uma diferença estatisticamente significativa na sobrevida em comparação à MFC, embora tenha havido uma tendência para menor sobrevida livre de progressão no grupo de MFF.⁶

Em nossa série, quatro pacientes evoluíram com transformação para linfoma de grandes células durante o acompanhamento e dois deles morreram com a doença. É bem estabelecido que a transformação para linfomas de grandes células está implicada em mau prognóstico com redução de sobrevida e o aumento do risco de progressão da doença.¹⁹

Uma vez que esse estudo foi retrospectivo, muitos pacientes perderam seguimento e muitas informações não estavam disponíveis nos prontuários. Infelizmente, a causa de morte é desconhecida na maioria dos casos. Apesar dessas limitações, os dados colhidos nesse trabalho são bastante relevantes, pois a literatura sobre MFF é esparsa e esse é o primeiro estudo da América Latina sobre esse tema específico.

6.2 Análise histológica e imunofenotípica

Na MFF o infiltrado neoplásico é centrado no folículo e o epidermotropismo proeminente do epitélio não-folicular é relatado em cerca de 15% dos casos de MFF em algumas séries.¹⁶ No presente estudo foi encontrado infiltrado epidérmico em 56% dos casos, mas apenas 5% foi descrito como sendo intenso. Nossos achados corroboram com a descrição de epidermotropismo em cerca de 54% dos casos de MFF relatada por outros autores.⁵

A presença de mucina folicular foi avaliada de duas maneiras: por meio das colorações hematoxilina eosina e ferro coloidal. Como esperado, houve uma correlação positiva dessas duas colorações demonstrando uma coerência interna nas avaliações dos observadores ($p=0,0001$). Na coloração de ferro coloidal a presença de mucina folicular foi encontrada em 35% dos casos estudados, o que corrobora com dados previamente encontrados de 45% na MFF.⁷ A presença de mucina folicular não apresentou relação com outras variáveis como a presença de eosinófilos, de plasmócitos, de mastócitos, células CD1a+, CD56+ ou TIA-1+, presença de dano folicular e a queixa de prurido.

Embora o infiltrado neoplásico esteja direcionado ao folículo piloso, o dano da estrutura folicular não está sempre presente na MFF. Foi encontrada uma correlação positiva entre o grau de dano da estrutura folicular e o grau de fibrose do tecido conjuntivo. Os fatores que determinam o maior ou menor grau de dano tecidual na MFF ainda não foram elucidados. Avaliou-se a possibilidade do dano folicular estar relacionado a um perfil citotóxico das células (positividade para marcadores CD56 e TIA-1), mas isso não se confirmou. Buscou-se alguma correlação com o perfil celular presente no infiltrado neoplásico e encontrou-se uma correlação positiva entre fibroplasia do tecido conjuntivo e presença de eosinófilos ($p=0,0026$) e plasmócitos ($p=0,0087$).

A inflamação crônica eosinofílica está associada à remodelação tecidual e fibrose em várias doenças como a síndrome hipereosinofílica, asma e esofagite eosinofílica. Uma série de fatores pro-fibróticos e angiogênicos produzidos pelos eosinófilos e mastócitos estão aumentados na esofagite eosinofílica. Na síndrome hipereosinofílica, a fibrose tecidual associada aos eosinófilos pode ter consequências sérias como a fibrose endomiocárdica e insuficiência cardíaca.⁷⁵ A presença de eosinófilos é descrita como ausente ou discreta (<5 células por campo) em 55% dos casos de MFF⁷ o que corrobora com nosso achados (49% dos casos negativos). Os eosinófilos são leucócitos teciduais que são recrutados nos sítios de inflamação alérgica e reparação tecidual ativa. Na resposta ao dano tecidual, essas células estão envolvidas no desencadeamento da resposta inflamatória, regeneração tecidual e cicatrização de feridas. Essas funções são mediadas por citocinas, pré-sintetizadas, armazenadas em grânulos intracelulares, rapidamente secretados após estímulo.⁷⁶ A visão de células diferenciadas citotóxicas efetoras tem sido muito ampliada com os novos estudos, mostrando que os eosinófilos estão envolvidos com funções imunomodulatórias muito mais complexas. Há uma interação importante com linfócitos e eles respondem claramente a sinais como a IL-5 fornecidos por essas células.⁷⁷ Há uma correlação muito intensa entre eosinófilos e mastócitos, ambos derivados de precursores pluripotentes CD34+. O fator estimulador de colônia para granulócito-macrófago (GM-CSF), IL-3 e IL-5 são fatores de crescimento para eosinófilos, os dois últimos sendo produzidos por mastócitos.⁷⁸

Outro achado interessante é a correlação positiva entre fibroplasia e plasmócitos ($p=0,0087$). Os plasmócitos são células que estão presentes em situações específicas da resposta imune. Plasmócitos no infiltrado inflamatório podem ser vistos adjacentes à área de trauma, ulceração ou cicatriz, observando-se também em casos de rosácea, sífilis secundária e de eritema crônico migratório da doença de Lyme. Ocasionalmente, doenças do tecido conjuntivo cutâneo em fase precoce podem ser associadas a um aumento da população de plasmócitos teciduais.⁷⁹ O papel dos plasmócitos não está completamente estabelecido mas pode ter um papel na fibrose na

MFF. É possível inferir que a presença maior de plasmócitos possa contribuir para uma maior resposta inflamatória local e consequente fibrose tecidual.

Utilizou-se o marcador CD117 para evidenciar a positividade de mastócitos no infiltrado neoplásico. Embora a correlação entre a presença de mastócitos e fibrose esteja bem documentada na literatura, no presente trabalho essa correlação não pode ser demonstrada. Os mastócitos são células inflamatórias presentes na pele em grande quantidade e muitas evidências sugerem a influência dessas células na formação de cicatrizes e fibrose. Vários mecanismos são propostos para entender essa ação dos mastócitos. Um deles é a secreção de moléculas pró-fibróticas como a TGF- β 1 e também mediadores como a histamina, que atuam na migração, proliferação e diferenciação de fibroblastos. A triptase tem efeitos quimiotáticos e mitogênicos aos fibroblastos além de estimular a síntese de colágeno. Além disso, mediadores como PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas), prostaglandina E2 e VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) também promovem fibrose em feridas. Em experimentos com fetos, no período gestacional em que a reparação tecidual não gera cicatrizes, não há inflamação no processo de cicatriz. Indiretamente, os mastócitos estimulam a cicatrização ao induzir inflamação.⁸⁰ Além disso, existem evidências que os mastócitos estejam envolvidos na formação de comunicação intercelular com fibroblastos, permitindo interação direta entre essas duas células.⁸¹ Em doenças como a rosácea, o desenvolvimento de alterações fibróticas como a rinoftima tem sido correlacionado ao número de mastócitos.⁸²

O prurido é uma queixa frequente entre os pacientes com micose fungóide foliculotrópica e outros linfomas cutâneos de células T com impacto importante na qualidade de vida dos pacientes.⁹ Os mecanismos do prurido nos linfomas cutâneos têm sido bastante estudados. Sabe-se a variante foliculotrópica da micose fungóide apresenta frequentemente prurido acentuado em 68% dos casos.⁷ Considerando os dados clínicos disponíveis dos casos analisados histologicamente, a presença de prurido foi relatado em 71% dos casos (29/41).

O papel dos mastócitos no prurido tem sido estudado há muitos anos. Em um estudo com dois pacientes com micose fungóide com estágios tumorais, sugere-se que os mastócitos tenham participação na indução do prurido, hiperpigmentação das lesões e desenvolvimento de acantose da epiderme. Além disso, o fator de crescimento de células-tronco (fator de crescimento para mastócitos) estava aumentado no soro desses dois pacientes quando comparados a controles sadios.⁸³ Além da relação com mastócitos, a presença de infiltrado eosinofílico proeminente também teria uma relação específica com o prurido.⁵ Alguns indícios histológicos associados ao prurido como extravazamento de eritrócitos, acantose e espongiose são descritos na literatura. Apesar das hipóteses de correlação entre mastócitos e eosinófilos com prurido possam ser aventadas, no presente trabalho não foi possível demonstrar a relação entre essas variáveis. Além disso, as outras variáveis testadas também falharam em demonstrar uma correlação positiva com o prurido (acantose/espongiose, fibroplasia do tecido conjuntivo, dano folicular, presença de plasmócitos). Não foi possível, portanto, correlacionar esse sintoma tão comum com alguma característica histológica específica do infiltrado.

A proporção linfócitos CD4+ e linfócitos CD8+ na MF é tipicamente 3 a 5 e é maior do que nos processos inflamatórios. Na MFF encontra-se uma proporção intrafolicular de pelo menos 10:1 na maioria dos casos estudados.¹⁶ Observa-se uma densidade de células CD1a positivas no epitélio folicular bastante aumentada em relação à epiderme não folicular, na proporção de 10:1. Uma exceção a esse fenômeno ocorre nos casos de lesões císticas em que há depleção de células CD1a. É provável que o aumento do número de células CD1a no folículo, na maioria dos casos de MFF, possa também ser visto nas condições inflamatórias focadas ao redor do folículo como líquen plano pilar e lupus eritematoso discóide. Poucas células de Langerhans foram identificadas no epitélio folicular nos cinco casos controle de MFC. Assim, é possível que a imunohistoquímica para CD1a possa ser útil na determinação da tendência ao padrão foliculotrópico.^{7, 16} No presente estudo, verificou-se que a grande maioria dos casos teve positividade ao marcador CD1a (88%).

A razão pela qual o foliculotropismo ocorre na MFF não está bem esclarecido e aventou-se a hipótese de que um fenótipo citotóxico poderia estar envolvido nesse mecanismo. O anticorpo CD56 marca uma isoforma da molécula de adesão celular neural e pode ser expressa por células NK e células T citotóxicas. As células NK são células exterminadoras profissionais com base na sua maquinaria citolítica envolvendo perforina e granzimas. A expressão de CD56 é raramente descrita em associação com MF, mas normalmente associada ao linfoma extranodal de células T/NK, tipo nasal, ao linfoma de células NK blásticas e aos linfomas de células T subcutâneo paniculite-símile.²⁰ De fato, a positividade para o marcador CD56 foi encontrada em apenas 28% (12/43) dos casos. O marcador TIA-1, antígeno intracelular restrito de células T, é uma proteína citotóxica expressa por células T citotóxicas e células NK. O marcador TIA-1 foi positivo em 51% (22/43) dos casos, com a grande maioria tendo positividade discreta (72%: 16/22). Essa descoberta está de acordo com a expressão relatada anteriormente de expressão de TIA-1 em pelo menos 10% das células neoplásicas em 45% (33/74) dos casos de MF e está aumentada com a progressão da doença para o estágio tumoral, mas sem impacto no prognóstico.⁸⁴ Como o marcador TIA-1 é expresso por linfócitos T citotóxicos, aventou-se a hipótese de haver uma correlação da positividade desse marcador com a razão CD4:CD8, mas não foi possível demonstrar correlação significativa. A razão entre linfócitos CD4:CD8 foi de 6 no presente estudo, mais baixa do que a relação anteriormente descrita na MFF (10:1) mas ainda muito superior aos processos inflamatórios.¹⁶ Provavelmente haja proporcionalmente mais células CD8+ TIA1+ no infiltrado celular na variante MFF.

6.3 Expressão complexo de histocompatibilidade

O processo de imunoprivilégio parece ser dinâmico com influência de muitos fatores estimulatórios e inibitórios. A maioria dos estudos que investiga esse processo tem utilizado técnicas de cultura de células e estudado o envolvimento de citocinas, tais como fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), IFN- γ , GM-CSF⁸⁵ e IL-10.⁸⁶ Na verdade, os padrões de expressão de HLA induzidos por citocinas observadas *in vitro*, em folículos cultivados, diferiram significativamente daqueles observados *in vivo* em cortes de pele com alopecia areata.⁸⁵ Além disso, muitos estudos sobre a expressão do complexo de histocompatibilidade especificam a porção do folículo analisada (região proximal, bulge e região distal).^{65, 87, 88} No presente estudo, na maioria dos casos, todas as partes do folículo foram analisadas (28/43: 65%), sem distinção anatômica.

No mecanismo de imunoprivilégio preservado, os folículos pilosos normais devem expressar as moléculas de HLA-G e não devem expressar as moléculas de MHCII. Nesse trabalho, observamos a expressão significativamente menor da molécula de HLA-G no epitélio folicular na MFF (34%) e no epitélio folicular na MFC (18%), em comparação com o epitélio folicular do grupo controle/pele normal (100%), embora não tenha sido demonstrada diferença entre os dois grupos MFF e MFC ($p=0,57$). Interpretamos esses dados como uma possível evidência de um colapso do imunoprivilégio no epitélio folicular nos linfomas cutâneos. No entanto, a expressão do HLA-G não justificaria o foliculotropismo na MFF, uma vez que não houve diferença quando comparada à expressão do HLA-G no folículo piloso na MFC. Além disso, observamos um aumento significativo da expressão de MHCII no epitélio folicular da MFF em comparação ao grupo controle/pele normal ($p=0,02$), o que reforça a possibilidade de quebra do imunoprivilégio. Considerando esses achados, interrogamos se a expressão do MHCII poderia estar relacionada com o tropismo de células neoplásicas pelo folículo na MFF.

O fato de ter havido aumento da expressão de MHCII no epitélio folicular no grupo MFC poderia ser justificado pela visão de espectro da doença. Na casuística desse estudo, entre os casos MFC, poderiam existir casos com possível evolução para MFF. Apesar da MFF ser classificada como variante da MFC⁸⁹, na prática clínica, observam-se além de formas puras foliculotrópicas, também formas mistas com lesões típicas das formas clássica e foliculotrópica. Provavelmente existam formas puras, classificadas como variantes da MF, e formas espectrais da doença. Baseado nesse conceito, é possível propor que a expressão do HLA-G e do MHCII não seja diferente, no folículo piloso, entre os dois grupos (MFF e MFC), como foi demonstrado em nossos achados (**Tabela 3**). Na MFC, as lesões não são centradas no folículo piloso. O aumento significativo da expressão do MHCII nos queratinócitos da epiderme na MFC em relação aos queratinócitos da epiderme na MFF, observado nesse estudo ($p=0,00094$), poderia sugerir seu envolvimento nos mecanismos do epidermotropismo na MFC.

No grupo MFC, não houve diferença na expressão do HLA-G comparando o grupo com estágio precoce (Ia, Ib, IIa) e grupo com estágio avançado ($\geq$ IIb). Um estudo anterior descreve que a positividade do HLA-G está associada a estágios mais avançados da MF, mas foram incluídos apenas dois casos cujos estágios eram III e IV.⁵⁹ Em nosso estudo, deve-se considerar o pequeno número de pacientes no grupo de MFC ($n=13$) para estabelecer uma conclusão mais definitiva sobre esse tema e mais estudos são necessários para confirmar essa associação da positividade do HLA-G e estadiamento.

O CD56 é um marcador de células NK e o TIA-1 é expresso em linfócitos T citotóxicos, associados à transcrição do FasL e apoptose. Uma vez que o HLA-G tem efeitos inibitórios diretos sobre células NK e linfócitos T citotóxicos³⁹, poderia-se supor que houvesse uma correlação inversa da expressão de HLA-G e a presença de células CD56+ e TIA-1+. Não foi possível demonstrar essa associação no presente estudo. Uma possível explicação é de que o efeito inibitório de HLA-G poderia não estar necessariamente associado à quantidade dessas células no infiltrado, mas sim a um efeito inibitório na função dessas células.

Com relação à positividade no infiltrado celular, os resultados mostraram uma constante positividade para o MHCII entre os grupos (MFF: 95,3% e MFC:100%) e para HLA-G (MFF:40% e MFC: 46%) sem diferença entre eles. A transformação maligna é frequentemente associada com alterações na expressão de antígenos HLA de classe I (clássica e não clássica) e de classe II. Essas alterações são responsáveis por interações entre as células tumorais e componentes do sistema imune inato e adaptativo. Os resultados da literatura são divergentes quanto a essas alterações. O consenso geral é que a transformação maligna de células pode ser associada com o aparecimento de HLA-G, mas a frequência varia entre os tumores. Embora a expressão de moléculas de MHCII por células tumorais seja relatada, em alguns casos as células displásicas e malignas podem perder a capacidade de expressá-las.⁵³ Considerando todos esses fatos ainda pouco explicados na literatura, de certo modo ainda controversos, a investigação da expressão dessas moléculas, nos linfócitos neoplásicos da micose fungóide, adquire maior relevância.

7. CONCLUSÕES

De acordo com os objetivos propostos para o trabalho, podemos concluir que:

- A. Com relação aos aspectos clínico-epidemiológicos dos pacientes com MFF de um hospital terciário:
 - A1. O perfil clínico epidemiológico dos pacientes de MFF provenientes de um hospital terciário no Brasil assemelha-se às populações descritas previamente na literatura, com exceção da idade mais jovem ao diagnóstico encontrada em nossa casuística.
- B. Com relação à histopatologia e ao perfil celular das lesões de MFF:
 - B1. Não houve relação entre o perfil celular no infiltrado neoplásico e a presença de prurido.
 - B2. Houve relação entre a variável fibrose do tecido conjuntivo com a presença de eosinófilos e plasmócitos no infiltrado celular. As variáveis grau de dano folicular e mucinose não apresentaram relação com o perfil celular no infiltrado.
 - B3. Cerca da metade dos casos de MFF apresenta positividade para TIA-1. Não houve relação da positividade para TIA-1 com dano folicular e fibrose.
- C. Com relação à expressão do complexo maior de histocompatibilidade:
 - A expressão do complexo de histocompatibilidade HLA-G no epitélio folicular está diminuída nos casos de MFF e MFC, comparada à pele normal. A expressão do complexo de histocompatibilidade HLA-G no epitélio folicular na MFF não difere da expressão na MFC.
 - A expressão do complexo de histocompatibilidade MHCII está aumentada no epitélio folicular nos casos de MFF comparada à pele normal.

- A expressão do complexo de histocompatibilidade MHCII está aumentada na epiderme nos casos de MFC comparada à MFF.

C1. Demonstrou-se haver um provável colapso do imunoprivilégio folicular na MFF e na MFC, com expressão diminuída de moléculas HLA-G em comparação à pele normal. A expressão do HLA-G no folículo não esteve relacionada ao foliculotropismo na MFF. No entanto, o aumento da expressão do MHCII poderia relacionar-se com o foliculotropismo na MFF e com o epidermotropismo na MFC.

8. ANEXOS

Anexo A - Classificação revisada de micose fungóide e Síndrome de Sézary da ISCL/EORT[¥]

TNMB	
Pele	
T1	Patch*, pápulas e/ou placas† limitadas cobrindo <10% da superfície corporal. Pode ser estratificado em T1a (somente patch) e T1b (placas± patch)
T2	Patch, placas ou pápulas limitadas cobrindo ≥10% da superfície corporal. Pode ser estratificado em T2a (somente patch) e T2b (placas± patch)
T3	Um ou mais tumores‡ (≥ 1cm de diâmetro)
T4	Eritema confluyente cobrindo ≥80 da superfície corporal total
Linfonodo	
No	Sem linfonodos clinicamente anormais§
N1	Clinicamente linfonodo anormal, histopatologia com grau Dutch 1
N _{1a}	Clone negativo#
N _{1b}	Clone positivo#
N2	Clinicamente linfonodo anormal, histopatologia com grau Dutch 2
N _{2a}	Clone negativo#
N _{2b}	Clone positivo#
N3	Clinicamente linfonodo anormal, histopatologia com grau Dutch 3-4
Nx	Linfonodo periférico clinicamente anormal; sem confirmação histológica
Visceral	
Mo	Sem órgão visceral envolvido
M1	Envolvimento visceral (com confirmação histológica e órgão acometido especificado) ¶
Sangue	
Bo	Sem envolvimento sanguíneo significativo: ≤5% dos linfócitos de sangue periférico são atípicos (células de Sézary) !!
B _{0a}	Clone negativo#
B _{0b}	Clone positivo#
B1	Baixa carga tumoral sanguínea: > 5% dos linfócitos de sangue periférico são atípicos mas não preenche critérios para B2
B _{1a}	Clone negativo#
B _{1b}	Clone positivo#
B2	Alta carga tumoral sanguínea: ≥1000/μL de células de Sézary com clone positivo

¥ ISCL (Sociedade Internacional de Linfomas Cutâneos) e EORTC (Organização Europeia de Pesquisa e Tratamento do Câncer)

*Patch indica lesões de qualquer tamanho sem significante induração ou elevação.

†Placa indica lesões de qualquer tamanho com induração ou elevação.

‡Tumor indica pelo menos uma lesão maior que 1cm sólida ou nodular com evidência de crescimento profundo e/ou vertical.

§Para linfonodos, linfonodo periférico anormal indica qualquer linfonodo palpável que ao exame físico seja firme, irregular, agrupado, fixo ou maior que 1,5cm de diâmetro. Grupos de linfonodos examinados incluem cervical, supraclavicular, epitroclear, axilar e inguinal.

¶Para órgãos viscerais, pâncreas e fígado podem ser diagnosticados por exames de imagem.

!!Para o sangue, células de Sézary são definidas como linfócitos de núcleo cerebriforme hiperconvoluto.

#Clone de células T é definido pelos métodos PCR ou Southern blot para o gene receptor de células T.

Anexo B - Classificação de Fitzpatrick

Fototipo	Cor da pele	Eritema	Bronzeamento	Sensibilidade ao sol
I	Branca	Sempre queima	Nunca bronzeia	Muito sensível ao Sol
II	Branca	Sempre queima	Às vezes bronzeia	Sensível ao Sol
III	Morena clara	Queima (moderadamente)	Bronzeia moderadamente	Sensibilidade normal ao Sol
IV	Morena moderada	Queima (pouco)	- Sempre bronzeia	Sensibilidade normal ao Sol
V	Morena escura	Queima (raramente)	Sempre bronzeia	Pouco sensível ao Sol
VI	Negra	Nunca queima	Totalmente pigmentada	Insensível ao Sol

Anexo C - Tabelas com dados originais

Casos	Raça	Sexo	Duração antes do diagnóstico (anos)	Idade na primeira consulta	Data do diagnóstico histopatológico	Data da última consulta ou óbito	Tempo de seguimento (meses)	Distribuição das lesões**	Tipo das lesões#	T	N	M	B	Estadiamento inicial	Progressão †	Pior estadiamento	Transformação de linfomas de grandes células †	Tratamento								Resposta ao tratamento‡	Estado na última visita¶	Proeminência folicular†	Hiperqueratose	Alopecia †	Prurido †	Mucrose folicular†	LDH inicial	Leucócitos (x103/mm3)	Linfócitos (%)	Linfócitos (x103/mm3)	Eosinófilos (%)	Eosinófilos absolutos (x10 ³ /mm ³)		
																		PUVA	nbUVB	Radioterapia	Adtretin	Banhode elétrons	Corticóide tópico	Interferon	Mostarda	Metotrexate	Quimioterapia													
MFF1	Branca	M	0,5	43	dez/87	abr/88	4	0,1,2,3,4,5	1,3,4	3	0	0	0	0	0	0	0			1			1		1			RP	VCD	1	0	1	1	1	250	22,8	0,52	11,856	0,04	0,912
MFF2	Branca	M	0,5	60	jul/89	out/90	15	1,2,3,4,5	1,3,4	3	0	0	0	0	0	0	0			1		1					1	DP	MCD	1	0	1	1	1	260	11,2	0,16	1,792	0,04	0,448
MFF3	Negra	M	3	60	mai/92	jun/94	25	0,1,2,3,4,5	3,4	3	0	0	0	0	0	0	0	1		1							DE	VCD	1	1	0	1	1	257	4	0,18	0,72	0,055	0,22	
MFF4	Branca	F	4	23	jul/92	mai/14	264	1,2,3,4	1,3	3	0	0	0	0	0	0	0								1	1	CR	VSD	0	0	1	1	1	218	7,4	0,09	0,666	0,02	0,148	
MFF5	Branca	M	1,5	68	out/92	nov/93	13	1,2, 3,4	3,4	3	0	0	0	0	0	0	0	1		1				1			RP	VCD	1	1	1	1	1		9,5	0,18	1,71	0,03	0,285	
MFF6	Branca	F	8	45	nov/92	jul/14	260	1,2,3,4	3	2	0	0	0	0	0	0	1	1		1			1	1	1		DE	VCD	0	0	0	1	1	124	6,6	0,35	2,31	0	0	
MFF7	Branca	F	5	37	nov/92	out/94	1	1	1,4	3	0	0	0	0	0	0	0			1							1	DP	MCD	1	0	1	1	1		12,6	0,07	0,882	0,03	0,378
MFF8	Negra	F	2	50	jan/93	ago/94	19	0,2,4	1,3,4	3	0	0	0	0	0	0	0	1								1	DE	VCD	1		1	1	1	155	25,8	0,1	2,58	0	0	
MFF9	Branca	F	8	27	jan/93	set/93	8	1,2,3,4	1,3,4	3	0	0	0	0	0	0	0	1		1					1		1	DP	MCD	1	0		1	1	216	10,7	0,28	2,996	0,08	0,856
MFF10	Branca	M	10	43	abr/93	jul/14	255	2,3,4	1,3	3	0	0	0	0	0	0	0	1					1		1		RP	VCD	1	0	1	0	1	172	6	0,18	1,08	0%	0,0006	
MFF11	Branca	M	0,4	36	fev/94	dez/00	82	1,2,3,4	1,2,3	3	0	0	0	0	0	0	0	1					1		1		CR	VSD	1	0	1	1	1		4,1	0,27	1,107	0,05	0,205	
MFF12	Branca	F	3	59	set/94	jun/05	130	2,3,4	1,3,4	3	0	0	0	0	0	0	0	1								1	RP	VCD	1	0		1	1	225	8,7	0,22	1,914	0,06	0,522	
MFF13	Branca	F	6	37	dez/94	fev/98	38	0,1,2,3,4,5	3,4	3	0	0	0	0	0	0	0			1				1	1	1	1	DP	MCD	1		1	1	1	297	12,4	0,28	3,472	0	0
MFF14	Negra	M	20	51	mar/95	mai/12	203	0,1,2,3,4	3	2	0	0	0	0	0	0	0	1									RP	VCD	1	0	0	1	0	147	4,2	0,22	0,924	0	0	
MFF15	Branca	M	7	32	mar/96	mar/08	168	1,2,3,4	1,3,4	3	0	0	0	0	0	0	0	1		1							1	DP	MCD	1	0	1	1	1	171	7,76	0,165	1,2804	0,0633	0,491208
MFF16	Branca	M	6	56	out/96	mar/14	209	0,1,2,3,4	1,3,6	4	0	0	0	0	0	0	0									1	RP	VCD	0	0	1	1	1	374	4,44	0,15	0,666	0,016	0,07104	
MFF17	pardo	M	3	36	jun/97	dez/98	18	0,1,2,3,4	3,4	4	0	0	0	0	0	0	0							1		1	DP	MCD	0	1	1	1	1		10	0,3	3	0,016	0,16	
MFF18	Branca	F	6	22	nov/97	jan/05	86	2,3,4	3	2	0	0	0	0	0	0	0	1						1			1	DP	MCD	0	0	0	1	1						
MFF19	branca	F	5	46	ago/99	set/99	1	0,1,2,3,4	1,3,4	3	0	0	0	0	0	0	0			1							RP	VCD	1	0		1	0	389	10,5	0,231	2,4255	0,082	0,861	
MFF20	Branca	M	0,5	38	dez/00	nov/11	131	0,1,2,3,4	3,4	4	0	0	0	0	0	0	0	1					1	1		1	1	DE	VCD	0	0	0	1	0	648	9,81	0,057	0,6	0,001	0
MFF21	Negra	M	2	55	nov/02	abr/14	137	3,4,5	2,3	2	0	0	0	0	0	0	0										RP	VCD	0	0	0	0	0	1	318	4	0,35	1,4	0,22	0,88
MFF22	Branca	M	18	61	abr/06	ago/14	100	0,1	1,3	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1						DP	MCD	0	0	1	1			8,02	0,34	2,7268	0,011	0,08822	
MFF23	Branca	F	2	24	jun/06	ago/14	178	0,1,2,3,4	1,3	2	0	0	0	0	0	0	0	1						1	1		RP	VCD	0	0	0	1	0	440	6,28	0,16	1,0048	0,019	0,11932	
MFF24	Branca	M	0,7	17	ago/08	set/13	61	1,2,3,4	2,3	2	0	0	0	0	0	0	0	1		1							RP	VCD	1	0	1	0	1	471	5,73	0,27	1,5471	0,059	0,33807	
MFF25	Branca	M	0,4	60	nov/08	jun/14	67	2,3,5	3	1	0	0	0	0	0	0	0	1									RP	VCD	1	1	0	0	1	330	4,42	0,31	1,3702	0,061	0,26962	
MFF26	Branca	F	0,4	53	dez/08	jul/14	66	3,4	1,3	2	0	0	0	0	0	0	0		1				1				RP	VCD	1	1	1	1	0	422	5,59	0,26	1,4534	0,016	0,08944	
MFF27	Branca	M	0,4	62	mar/11	nov/13	32	2,3,4	1,3	2	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1				1		1	RP	VCD	1	0	0	1	0	418	5,01	0,15	0,7515	0,164	0,82164	
MFF28	Branca	M	2	77	ago/11	jun/14	34	3,4	2,3,4	3	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1							RP	VCD	0	0	0	0	1	366	9,45	0,254	2,4003	0,036	0,3	
MFF29	Branca	M	6	21	out/11	out/14	36	1,3,4	1,3,5	2	0	0	0	0	0	0	0	1			1						RP	VCD	1	0	1	0	0	423	4,71	0,208	0,97968	0,059	0,27789	
MFF30	Negra	F	4	73	nov/11	mai/12	6	1,2,4,5	3	4	0	0	0	0	0	0	0	1						1			RP	VCD				1	1	689	6,59	0,252	1,66068	0,076	0,50084	
MFF31	Branca	M	1	84	jan/12	ago/12	8	1,2,3,4	3,4	3	x	0	0	0	0	0	0						1				DP	MCD	0	0	0	1	0	481	10,12	0,14	1,4168	0,06	0,6072	
MFF32	Branca	F		41	jun/12	jun/14	24	1,2,3,4	1,2	1	0	0	0	0	0	0	0										DE	VCD	1		0		1	226	5,56	0,196	1,08976	0,02	0,1112	
MFF33	Branca	M	12	54	jul/13	ago/14	13	0,1,2,3,4	1,3,5	2	0	0	0	0	0	0	0	1			1						RP	VCD	1	0	1	1	0	382	12	0,163	1,956	0,039	0,468	

† 0: não; 1: sim

**Couro cabeludo 0/ Face 1/ Tronco 2/ Membros superiores 3/ membros inferiores 4

Pápulas1, Patches 2, Placas 3, Cistos 5

§ RP: resposta parcial; DP: doença progressiva; DE: doença estável

¶ VCD: vivo com doença; VSD: vivo sem doença; MCD: morto com doença

Casos	Partes do folículo analisadas*			Infiltrado epidérmico [†]	Infiltrado dérmico [§]	Acantose/espongiose [‡]	Mucinosse folicular [‡]	Fibroplasia do tecido conjuntivo [‡]	Eosinófilos [§]	Plasmócitos [‡]	Tamanho celular [#]	Dano folicular [‡]
	Bulbo	Istmo	Infundíbulo									
FMF 01	1	1	0	0	2	1	0	1	2	1	1	1
FMF 02	1	1	1	0	1	1	0	0	2	1	1	0
FMF 03	1	1	0	0	1	1	2	0	1	0	1	0
FMF 04	0	1	1	2	2	0	0	1	0	0	1	1
FMF 06	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0
FMF 07	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
FMF 08	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
FMF 09	1	1	1	1	3	0	0	1	0	1	1	1
FMF 11	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0
FMF 12	1	1	1	1	2	1	2	0	0	0	1	0
FMF 13	1	1	1	1	3	1	0	0	1	0	2	1
FMF 15	1	1	0	0	2	1	1	0	1	1	1	0
FMF 16	1	1	1	1	2	1	1	0	1	1	1	0
FMF 17	0	1	1	0	2	0	0	0	1	1	1	0
FMF 18	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0
FMF 19	1	1	1	1	2	1	1	0	3	2	1	0
FMF 20	1	1	0	0	2	1	0	1	2	1	1	1
FMF 21	1	1	1	0	2	0	2	0	0	0	1	0
FMF 22	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0
FMF 23	1	1	1	0	2	0	2	0	2	2	1	0
FMF 24	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0
FMF 25	1	1	1	1	2	1	0	0	0	2	2	1
FMF 26	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0
FMF 29	1	1	1	1	0	1	0	1	2	1	1	0
FMF 30	1	1	1	2	2	1	0	0	0	2	1	0
FMF 31	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0
FMF 32	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	0
FMF 33	1	1	1	0	3	0	0	0	0	1	1	1
FMF 34	1	1	1	1	3	0	2	1	2	1	1	1
FMF 35	1	1	1	0	3	0	0	1	1	2	1	1
FMF 36	1	1	1	1	1	0	2	0	1	0	1	0
FMF 37	1	1	1	1	1	0	2	0	0	0	1	0
FMF 38	1	1	1	1	1	0	2	0	1	1	1	0
FMF 39	0	1	0	1	2	1	1	0	0	0	1	0
FMF 40	0	1	0	0	1	0	0	1	3	1	1	0
FMF 41	1	1	1	1	2	1	0	1	2	2	1	1
FMF 42	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0
FMF 43	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0
FMF 44	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0
FMF 45	1	1	1	1	2	1	0	1	1	2	1	0
FMF 46	1	1	1	0	2	0	1	0	0	0	1	0
FMF 47	1	1	1	1	2	1	0	1	2	2	1	1
FMF 48	1	1	1	1	2	1	0	0	0	1	1	0

FMF: micose fungóide foliculotrópica

*Partes do folículo analisadas: 0:não; 1:sim.

‡Variável avaliada por escala semi-quantitativa: 0:negativo; 1: positividade discreta; 2: positividade moderada

§Variável avaliada por escala semi-quantitativa: 0:negativo; 1: positividade discreta; 2: positividade moderada; 3: positividade intensa

†Variável avaliada por escala semi-quantitativa: 0:negativo; 1: positivo.

#Variável avaliada por escala semi-quantitativa: 1:pequenas e médias células; 2: grandes células

Casos	Razão CD4:CD8	CD56 [‡]	TIA-1 [‡]	CD117	CD1a [‡]	Ferro coloidal [‡]	HLA-DR infiltrado celular [‡]	HLA-DR epitélio folicular [‡]	MHCII infiltrado celular [‡]	MHCII epitélio folicular [‡]	MHCII epiderme [†]
FMF 01	3	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0
FMF 02	10	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0
FMF 03	3	0	0	0	2	2	1	0	1	0	0
FMF 04	6	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1
FMF 06	6	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
FMF 07	4	0	1	1	2	1	0	0	1	1	0
FMF 08	3	0	1	1	0	0	0	1	1	1	0
FMF 09	3	0	0	1	2	0	0	0	0	1	1
FMF 11	4	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0
FMF 12	8	0	1	1	1	2	1	1	1	0	0
FMF 13	10	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1
FMF 15	8	2	2	0	2	1	0	0	1	0	0
FMF 16	5	2	2	1	1	1	0	0	1	0	0
FMF 17	10	0	0	1	2	2	1	0	1	0	0
FMF 18	5	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0
FMF 19	8	0	0	0	2	2	0	0	1	1	1
FMF 20	5	1	2	0	2	1	1	1	1	0	0
FMF 21	5	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0
FMF 22	6	0	0	0	2	0	0	0	1	2	0
FMF 23	8	0	1	1	1	2	1	0	1	1	0
FMF 24	5	0	1	0	2	1	0	0	1	1	1
FMF 25	5	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
FMF 26	8	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1
FMF 29	6	2	1	0	1	0	0	0	1	0	0
FMF 30	6	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0
FMF 31	7	0	0	0	2	2	1	0	1	0	1
FMF 32	10	0	0	0	2	1	0	0	1	0	0
FMF 33	8	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
FMF 34	6	1	2	1	2	2	2	1	1	1	0
FMF 35	8	0	1	1	2	0	0	0	1	0	0
FMF 36	4	0	0	0	2	1	0	0	1	0	0
FMF 37	4	0	1	1	2	2	1	1	1	0	0
FMF 38	6	0	0	0	2	2	1	1	1	0	0
FMF 39	8	0	0	0	2	1	0	0	1	0	1
FMF 40		0	0	0	2	0	1		1		0
FMF 41	8	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0
FMF 42	1	0	1	0	2	1	0	1	1	0	1
FMF 43	4	0	0	0	2	1	0	1	1	1	0
FMF 44	2	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0
FMF 45	5	2	2	1	1	0	0	0	1	1	0
FMF 46	10	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1
FMF 47	4	1	1	0	2	1	2		1	1	1
FMF 48	9	2	2	0	1	1	2	2	1	2	1
CMF 01						0	0	1	0	1	
CMF 02						0	0	1	1	1	
CMF 03						1	0	1	0	1	
CMF 04						1		1		1	
CMF 05						0	0	1	1	1	
CMF 06						1		1		1	
CMF 07						0	0	1	0	1	
CMF 08						0	0	1	0	1	
CMF 09						2	0	1	0	0	
CMF 10						2	0	1	0	0	
CMF 11						0	0	1	0	1	
CMF 12						0	1	1	0	1	
CMF 13						1	1	1	1	1	
N 1								1		0	
N 2								1		0	
N 3								1		0	
N 4								1		0	
N 5								1		0	
N 6								1		0	
N 7								1		0	
N 8								1		0	
N 9								1		0	
N 10								1		0	
N 11								1		0	
N 12								1		0	

*Partes do foliculo analisadas: 0:não; 1:sim.

‡Variáveis avaliadas por escala semi-quantitativa: 0:negativo; 1: positividade discreta; 2: positividade moderada

§Variáveis avaliadas por escala semi-quantitativa: 0:negativo; 1: positividade discreta; 2: positividade moderada; 3: positividade intensa

†Variáveis avaliadas por escala semi-quantitativa: 0:negativo; 1: positivo.

#Variável avaliada por escala semi-quantitativa: 1:pequenas e médias células; 2: grandes células

9. REFERÊNCIAS

1. van Doorn R, Van Haselen CW, van Voorst Vader PC, Geerts ML, Heule F, de Rie M, et al. Mycosis fungoides: disease evolution and prognosis of 309 Dutch patients. *Arch Dermatol*. 2000;136(4):504-10.
2. Muniesa C, Estrach T, Pujol RM, Gallardo F, Garcia-Muret P, Climent J, et al. Folliculotropic mycosis fungoides: clinicopathological features and outcome in a series of 20 cases. *J Am Acad Dermatol*. 2010;62(3):418-26.
3. Kazakov DV, Burg G, Kempf W. Clinicopathological spectrum of mycosis fungoides. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2004;18(4):397-415.
4. 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):191-8.
5. Lehman JS, Cook-Norris RH, Weed BR, Weenig RH, Gibson LE, Weaver AL, et al. Folliculotropic mycosis fungoides: single-center study and systematic review. *Arch Dermatol*. 2010;146(6):607-13.
6. Mantaka P, Helsing P, Gjersvik P, Bassarova A, Clausen OP, Delabie J. Clinical and histopathological features of folliculotropic mycosis fungoides: a norwegian patient series. *Acta Derm Venereol*. 2013;93(3):325-9.
7. Gerami P, Rosen S, Kuzel T, Boone SL, Guitart J. Folliculotropic mycosis fungoides: an aggressive variant of cutaneous T-cell lymphoma. *Arch Dermatol*. 2008;144(6):738-46.
8. Bi MY, Curry JL, Christiano AM, Hordinsky MK, Norris DA, Price VH, et al. The spectrum of hair loss in patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome. *J Am Acad Dermatol*. 2011;64(1):53-63.
9. Wright A, Wijeratne A, Hung T, Gao W, Whittaker S, Morris S, et al. Prevalence and severity of pruritus and quality of life in patients with cutaneous T-cell lymphoma. *J Pain Symptom Manage*. 2013;45(1):114-9.
10. Singer EM, Shin DB, Nattkemper LA, Benoit BM, Klein RS, Didigu CA, et al. IL-31 is produced by the malignant T-cell population in cutaneous T-Cell lymphoma and correlates with CTCL pruritus. *J Invest Dermatol*. 2013;133(12):2783-5.
11. Duval A, Dubertret L. Aprepitant as an antipruritic agent? *N Engl J Med*. 2009;361(14):1415-6.
12. Booken N, Heck M, Nicolay JP, Klemke CD, Goerdts S, Utikal J. Oral aprepitant in the therapy of refractory pruritus in erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma. *Br J Dermatol*. 2011;164(3):665-7.
13. Ahern K, Gilmore ES, Poligone B. Pruritus in cutaneous T-cell lymphoma: a review. *J Am Acad Dermatol*. 2012;67(4):760-8.
14. Suga H, Sugaya M, Miyagaki T, Ohmatsu H, Fujita H, Kagami S, et al. Association of nerve growth factor, chemokine (C-C motif) ligands and immunoglobulin E with pruritus in cutaneous T-cell lymphoma. *Acta Derm Venereol*. 2013;93(2):144-9.
15. Flaig MJ, Cerroni L, Schuhmann K, Bertsch HP, Kind P, Kaudewitz P, et al. Follicular mycosis fungoides. A histopathologic analysis of nine cases. *J Cutan Pathol*. 2001;28(10):525-30.
16. Gerami P, Guitart J. The spectrum of histopathologic and immunohistochemical findings in folliculotropic mycosis fungoides. *Am J Surg Pathol*. 2007;31(9):1430-8.
17. Gerami P, Guitart J. Basaloid folliculolymphoid hyperplasia: a distinctive finding in follicular mycosis fungoides. *J Cutan Pathol*. 2007;34 Suppl 1:29-32.

18. Kadin ME, Hughey LC, Wood GS. Large-cell transformation of mycosis fungoides-differential diagnosis with implications for clinical management: a consensus statement of the US Cutaneous Lymphoma Consortium. *J Am Acad Dermatol*. 2014;70(2):374-6.
19. Agar NS, Wedgeworth E, Crichton S, Mitchell TJ, Cox M, Ferreira S, et al. 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;28(31):4730-9.
20. Wain EM, Orchard GE, Mayou S, Atherton DJ, Misch KJ, Russell-Jones R. Mycosis fungoides with a CD56+ immunophenotype. *J Am Acad Dermatol*. 2005;53(1):158-63.
21. Wang L, Gao T, Wang G. Primary cutaneous CD8+ cytotoxic T-cell lymphoma involving the epidermis and subcutis in a young child. *J Cutan Pathol*. 2014.
22. Horst BA, Kasper R, LeBoit PE. CD4+, CD56+ mycosis fungoides: case report and review of the literature. *Am J Dermatopathol*. 2009;31(1):74-6.
23. Massone C, Crisman G, Kerl H, Cerroni L. The prognosis of early mycosis fungoides is not influenced by phenotype and T-cell clonality. *Br J Dermatol*. 2008;159(4):881-6.
24. Sawada Y, Sugita K, Kabashima R, Hino R, Nakamura M, Koga C, et al. CD8+ CD56+ mycosis fungoides with an indolent clinical behaviour: case report and literature review. *Acta Derm Venereol*. 2010;90(5):525-6.
25. Kim M, Park MI, Lim M, Kim J. Cytotoxic Variant of Mycosis Fungoides with CD8+ CD56+ Phenotype: A Case Report and Review of Literature. *Korean J Pathol*. 2014;48(5):390-3.
26. Lessin SR, Vowels BR, Rook AH. Th2 cytokine profile in cutaneous T-cell lymphoma. *J Invest Dermatol*. 1995;105(6):855-6.
27. Girardi M, Heald PW, Wilson LD. The pathogenesis of mycosis fungoides. *N Engl J Med*. 2004;350(19):1978-88.
28. Lacour JP, Castanet J, Perrin C, Ortonne JP. Follicular mycosis fungoides. A clinical and histologic variant of cutaneous T-cell lymphoma: report of two cases. *J Am Acad Dermatol*. 1993;29(2 Pt 2):330-4.
29. Vejlsgaard GL, Ralfkiaer E, Avnstorp C, Czajkowski M, Marlin SD, Rothlein R. Kinetics and characterization of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression on keratinocytes in various inflammatory skin lesions and malignant cutaneous lymphomas. *J Am Acad Dermatol*. 1989;20(5 Pt 1):782-90.
30. Vergier B, Beylot-Barry M, Beylot C, de Mascarel A, Delaunay M, de Muret A, et al. Pilotropic cutaneous T-cell lymphoma without mucinosis. A variant of mycosis fungoides? French Study Group of Cutaneous Lymphomas. *Arch Dermatol*. 1996;132(6):683-7.
31. Pereyo NG, Requena L, Galloway J, Sangüeza OP. Follicular mycosis fungoides: a clinicohistopathologic study. *J Am Acad Dermatol*. 1997;36(4):563-8.
32. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. First of two parts. *N Engl J Med*. 2000;343(1):37-49.
33. Schwarz T. Immunology. In: Bologna J, Joseph-Rapini, Ronald, editor. *Dermatology*. 1. Second ed. Spain: Mosby; 2008. p. 63-79.
34. Bottazzo GF, Pujol-Borrell R, Hanafusa T, Feldmann M. Role of aberrant HLA-DR expression and antigen presentation in induction of endocrine autoimmunity. *Lancet*. 1983;2(8359):1115-9.
35. Sheu J, Shih IM. HLA-G and immune evasion in cancer cells. *J Formos Med Assoc*. 2010;109(4):248-57.
36. Carosella ED, Moreau P, Lemaoult J, Rouas-Freiss N. HLA-G: from biology to clinical benefits. *Trends Immunol*. 2008;29(3):125-32.
37. Rebmann V, Wagner S, Grosse-Wilde H. HLA-G expression in malignant melanoma. *Semin Cancer Biol*. 2007;17(6):422-9.
38. Carosella ED, Favier B, Rouas-Freiss N, Moreau P, Lemaoult J. Beyond the increasing complexity of the immunomodulatory HLA-G molecule. *Blood*. 2008;111(10):4862-70.
39. LeMaoult J, Rouas-Freiss N, Carosella ED. Immuno-tolerogenic functions of HLA-G: relevance in transplantation and oncology. *Autoimmun Rev*. 2005;4(8):503-9.

40. Rouas-Freiss N, Moreau P, Menier C, LeMaoult J, Carosella ED. Expression of tolerogenic HLA-G molecules in cancer prevents antitumor responses. *Semin Cancer Biol.* 2007;17(6):413-21.
41. Amiot L, Ferrone S, Grosse-Wilde H, Seliger B. Biology of HLA-G in cancer: a candidate molecule for therapeutic intervention? *Cell Mol Life Sci.* 2011;68(3):417-31.
42. Rouas-Freiss N, Moreau P, Menier C, Carosella ED. HLA-G in cancer: a way to turn off the immune system. *Semin Cancer Biol.* 2003;13(5):325-36.
43. Aractingi S, Briand N, Le Danff C, Viguier M, Bachelez H, Michel L, et al. HLA-G and NK receptor are expressed in psoriatic skin: a possible pathway for regulating infiltrating T cells? *Am J Pathol.* 2001;159(1):71-7.
44. Khosrotehrani K, Le Danff C, Reynaud-Mendel B, Dubertret L, Carosella ED, Aractingi S. HLA-G expression in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol.* 2001;117(3):750-2.
45. Wastowski IJ, Sampaio-Barros PD, Amstalden EM, Palomino GM, Marques-Neto JF, Crispim JC, et al. HLA-G expression in the skin of patients with systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2009;36(6):1230-4.
46. Ulbrecht M, Rehberger B, Strobel I, Messer G, Kind P, Degitz K, et al. HLA-G: expression in human keratinocytes in vitro and in human skin in vivo. *Eur J Immunol.* 1994;24(1):176-80.
47. Fainardi E, Castellazzi M, Stignani M, Morandi F, Sana G, Gonzalez R, et al. Emerging topics and new perspectives on HLA-G. *Cell Mol Life Sci.* 2011;68(3):433-51.
48. Urošević M. HLA-G in the skin--friend or foe? *Semin Cancer Biol.* 2007;17(6):480-4.
49. Cardili RN, Alves TG, Freitas JC, Soares CP, Mendes-Junior CT, Soares EG, et al. Expression of human leucocyte antigen-G primarily targets affected skin of patients with psoriasis. *Br J Dermatol.* 2010;163(4):769-75.
50. Borghi A, Fogli E, Stignani M, Melchiorri L, Altieri E, Baricordi O, et al. Soluble human leukocyte antigen-G and interleukin-10 levels in plasma of psoriatic patients: preliminary study on a possible correlation between generalized immune status, treatments and disease. *Arch Dermatol Res.* 2008;300(10):551-9.
51. Yari F, Zavarán Hosseini A, Nemat Gorgani M, Khorramizadeh MR, Mansouri P, Kazemnejad A. Expression of HLA-G in the skin of patients with pemphigus vulgaris. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2008;7(1):7-12.
52. Urošević M, Dummer R. HLA-G and IL-10 expression in human cancer--different stories with the same message. *Semin Cancer Biol.* 2003;13(5):337-42.
53. Campoli M, Ferrone S. HLA antigen and NK cell activating ligand expression in malignant cells: a story of loss or acquisition. *Semin Immunopathol.* 2011;33(4):321-34.
54. Ibrahim EC, Aractingi S, Allory Y, Borriani F, Dupuy A, Duvillard P, et al. Analysis of HLA antigen expression in benign and malignant melanocytic lesions reveals that upregulation of HLA-G expression correlates with malignant transformation, high inflammatory infiltration and HLA-A1 genotype. *Int J Cancer.* 2004;108(2):243-50.
55. Paul P, Cabestré FA, Le Gal FA, Khalil-Daher I, Le Danff C, Schmid M, et al. Heterogeneity of HLA-G gene transcription and protein expression in malignant melanoma biopsies. *Cancer Res.* 1999;59(8):1954-60.
56. Urošević M, Kamarashev J, Burg G, Dummer R. Primary cutaneous CD8+ and CD56+ T-cell lymphomas express HLA-G and killer-cell inhibitory ligand, ILT2. *Blood.* 2004;103(5):1796-8.
57. González A, Rebmann V, LeMaoult J, Horn PA, Carosella ED, Alegre E. The immunosuppressive molecule HLA-G and its clinical implications. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2012;49(3):63-84.
58. Urošević M, Kamarashev J, Burg G, Dummer R. Primary cutaneous CD8+ and CD56+ T-cell lymphomas express HLA-G and killer-cell inhibitory ligand, ILT2. *Blood.* 2004;103(5):1796-8.
59. Urošević M, Willers J, Mueller B, Kempf W, Burg G, Dummer R. HLA-G protein up-regulation in primary cutaneous lymphomas is associated with interleukin-10 expression in large cell T-cell lymphomas and indolent B-cell lymphomas. *Blood.* 2002;99(2):609-17.
60. Apps R, Gardner L, Moffett A. A critical look at HLA-G. *Trends Immunol.* 2008;29(7):313-21.

61. Paus R, Ito N, Takigawa M, Ito T. The hair follicle and immune privilege. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 2003;8(2):188-94.
62. Gilhar A. Collapse of immune privilege in alopecia areata: coincidental or substantial? *J Invest Dermatol.* 2010;130(11):2535-7.
63. Ito T, Ito N, Saatoff M, Hashizume H, Fukamizu H, Nickoloff BJ, et al. Maintenance of hair follicle immune privilege is linked to prevention of NK cell attack. *J Invest Dermatol.* 2008;128(5):1196-206.
64. Gilhar A, Paus R, Kalish RS. Lymphocytes, neuropeptides, and genes involved in alopecia areata. *J Clin Invest.* 2007;117(8):2019-27.
65. Harries MJ, Meyer KC, Chaudhry IH, Griffiths CE, Paus R. Does collapse of immune privilege in the hair-follicle bulge play a role in the pathogenesis of primary cicatricial alopecia? *Clin Exp Dermatol.* 2010;35(6):637-44.
66. Paus R, Slominski A, Czarnecki BM. Is alopecia areata an autoimmune-response against melanogenesis-related proteins, exposed by abnormal MHC class I expression in the anagen hair bulb? *Yale J Biol Med.* 1993;66(6):541-54.
67. Petukhova L, Duvic M, Hordinsky M, Norris D, Price V, Shimomura Y, et al. Genome-wide association study in alopecia areata implicates both innate and adaptive immunity. *Nature.* 2010;466(7302):113-7.
68. Kang H, Wu WY, Lo BK, Yu M, Leung G, Shapiro J, et al. Hair follicles from alopecia areata patients exhibit alterations in immune privilege-associated gene expression in advance of hair loss. *J Invest Dermatol.* 2010;130(11):2677-80.
69. Harries MJ, Meyer K, Chaudhry I, E Kloepper J, Poblet E, Griffiths CE, et al. Lichen planopilaris is characterized by immune privilege collapse of the hair follicle's epithelial stem cell niche. *J Pathol.* 2013;231(2):236-47.
70. Mulinari-Brenner F. Análise quantitativa e morfométrica dos folículos pilosos do couro cabeludo: Universidade Federal do Paraná; 2000.
71. Olsen E, Vonderheid E, Pimpinelli N, Willemze R, Kim Y, Knobler R, et al. 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;110(6):1713-22.
72. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, Cerroni L, Berti E, Swerdlow SH, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood.* 2005;105(10):3768-85.
73. Hodak E, Amitay-Laish I, Feinmesser M, Davidovici B, David M, Zvulunov A, et al. Juvenile mycosis fungoides: cutaneous T-cell lymphoma with frequent follicular involvement. *J Am Acad Dermatol.* 2014;70(6):993-1001.
74. Talpur R, Singh L, Daulat S, Liu P, Seyfer S, Trynosky T, et al. Long-term outcomes of 1,263 patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome from 1982 to 2009. *Clin Cancer Res.* 2012;18(18):5051-60.
75. Aceves SS. Remodeling and fibrosis in chronic eosinophil inflammation. *Dig Dis.* 2014;32(1-2):15-21.
76. Spencer LA, Bonjour K, Melo RC, Weller PF. Eosinophil secretion of granule-derived cytokines. *Front Immunol.* 2014;5:496.
77. Rosenberg HF, Dyer KD, Foster PS. Eosinophils: changing perspectives in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(1):9-22.
78. Kovalszki A, Weller PF. Eosinophilia in mast cell disease. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2014;34(2):357-64.
79. Alsaad KO, Ghazarian D. My approach to superficial inflammatory dermatoses. *J Clin Pathol.* 2005;58(12):1233-41.
80. Wilgus TA, Wulff BC. The Importance of Mast Cells in Dermal Scarring. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2014;3(4):356-65.

81. Ehrlich HP. A Snapshot of Direct Cell-Cell Communications in Wound Healing and Scarring. *Adv Wound Care* (New Rochelle). 2013;2(4):113-21.
82. Hermes B, Welker P, Feldmann-Böddeker I, Krüger-Krasagakis S, Hartmann K, Zuberbier T, et al. Expression of mast cell growth modulating and chemotactic factors and their receptors in human cutaneous scars. *J Invest Dermatol*. 2001;116(3):387-93.
83. Yamamoto T, Katayama I, Nishioka K. Role of mast cell and stem cell factor in hyperpigmented mycosis fungoides. *Blood*. 1997;90(3):1338-40.
84. Vermeer MH, Geelen FA, Kummer JA, Meijer CJ, Willemze R. Expression of cytotoxic proteins by neoplastic T cells in mycosis fungoides increases with progression from plaque stage to tumor stage disease. *Am J Pathol*. 1999;154(4):1203-10.
85. Mcdonagh AJ, Snowden JA, Stierle C, Elliott K, Messenger AG. HLA and ICAM-1 expression in alopecia areata in vivo and in vitro: the role of cytokines. *Br J Dermatol*. 1993;129(3):250-6.
86. Urosevic M, Willers J, Mueller B, Kempf W, Burg G, Dummer R. HLA-G protein up-regulation in primary cutaneous lymphomas is associated with interleukin-10 expression in large cell T-cell lymphomas and indolent B-cell lymphomas. *Blood*. 2002;99(2):609-17.
87. Meyer KC, Klatte JE, Dinh HV, Harries MJ, Reithmayer K, Meyer W, et al. Evidence that the bulge region is a site of relative immune privilege in human hair follicles. *Br J Dermatol*. 2008;159(5):1077-85.
88. Christoph T, Müller-Röver S, Audring H, Tobin DJ, Hermes B, Cotsarelis G, et al. The human hair follicle immune system: cellular composition and immune privilege. *Br J Dermatol*. 2000;142(5):862-73.
89. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, Cerroni L, Berti E, Swerdlow SH, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood*. 2005;105(10):3768-85.