





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL CENTRAL  
DR. IGNACIO MORONES PRIETO

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA  
ESPECIALIDAD DE ANATOMIA PATOLOGICA

**EXPRESIÓN DE K1-67 Y FL1-1 EN MICOSIS FUNGOIDE Y EN DERMATOSIS  
BENIGNAS CON INFILTRADOS LINFOIDES DE CÉLULAS T. UN ANÁLISIS  
COMPARATIVO EN EL HOSPITAL CENTRAL “DR. IGNACIO MORONES  
PRIETO”**

**AUGUSTO DARIO SOSA AGUILAR**

ASESOR  
CUAUHTEMOC OROS OVALLE

ASESOR ESTADISTICO  
M. EN C. MA. DEL PILAR FONSECA LEAL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESPECIALIDAD EN ANATOMIA PATOLOGICA

TÍTULO DE TESIS

**EXPRESIÓN DE K1-67 Y FL1-1 EN MICOSIS FUNGOIDE Y EN DERMATOSIS  
BENIGNAS CON INFILTRADOS LINFOIDES DE CÉLULAS T. UN ANÁLISIS  
COMPARATIVO EN EL HOSPITAL CENTRAL “DR. IGNACIO MORONES  
PRIETO”**

PRESENTA  
AUGUSTO DARIO SOSA AGUILAR

Firmas

Asesor Académico Cuauhtémoc Oros Ovalle Jefe del Departamento de Anatomía Patológica	
Asesor Metodológico M. en C. Ma. del Pilar Fonseca Leal Jefe de Investigación y Posgrado Clínico de la Facultad de Medicina	

Sinodales	
<b>PRESIDENTE</b> Dr. Reynaldo Falcón Escobedo	
<b>SINODAL</b> Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil	
<b>SINODAL</b> Dra. Nadia Judith Gómez Hernández	
<b>COORDINADOR DE LA ESPECIALIDAD EN ANATOMIA PATOLOGICA</b> Dr. Cuauhtémoc Oros Ovalle	

**AUTORIZO**

JEFE DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO CLÍNICO DE LA FACULTAD DE  
MEDICINA M. en C. Ma. del Pilar Fonseca Leal

JEFE DIVISION PARACLINICOS  
Dr. Jorge Martinez Bañuelos



## RESUMEN

En el departamento de anatomía patológica del hospital central “Dr. Ignacio Morones Prieto”. Se realizó estudio comparativo de marcadores de proliferación celular mediante método de inmunohistoquímica entre micosis fungoide y dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T. Se emplearon los marcadores FLI-1 y KI-67 en 60 casos con diagnóstico de micosis fungoide y 120 biopsias de piel con infiltrado linfóide benigno de células T que correspondieron al grupo control que incluyen psoriasis, liquen simple crónico, liquen estriado, pitiriasis liquenoide crónica y liquen plano con la finalidad de comparar la frecuencia de expresión de KI-67 y FLI-1 en ambos grupos, determinar su coexpresión, conocer si existe relación entre éstos parámetros con la etapa clínica de la micosis fungoide. En los resultados obtenidos, La edad y sexo en ambos grupos no fue de diferencia estadísticamente significativa. La frecuencia de expresión de ambos marcadores fue mayor en la micosis fungoide que en el grupo control  $p < 0.001$ . La co-expresión de KI-67 y FLI-1 resultó más frecuente en la micosis fungoide comparado con los controles con  $p < 0.001$ . Así mismo se observó la tendencia a expresarse con mayor frecuencia en etapas más avanzadas de micosis fungoide. La intensidad de expresión positiva de ambos marcadores es mayor y estadísticamente significativa en la micosis fungoide sobre las dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T. La co-expresión de estos marcadores resultó ser de alta sensibilidad en la micosis fungoide, lo que sugiere su utilidad en la discriminación de los infiltrados linfoides reactivos, cuando se emplea con los anticuerpos convencionales en el diagnóstico de micosis fungoide, incluso abre la posibilidad de utilizar la co-expresión de FLI-1 y KI-67 como área de oportunidad en futuras terapias blanco en esta patología.



Universidad Autónoma de San Luis Potosí  
Facultad de Medicina  
Tesis para obtener el Diploma de la Especialidad en Anatomía Patológica

## **DEDICATORIAS**

Dedico este trabajo a mis padres y hermanos que siempre me han motivado para seguir superándome todos los días.



## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a todos mis profesores por otorgarme conocimientos sobre esta especialidad y sobre todo a mi familia por contar con el apoyo en todas las decisiones que he tenido.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	I
DEDICATORIAS .....	II
AGRADECIMIENTOS .....	III
ANTECEDENTES. ....	1
JUSTIFICACIÓN. ....	25
HIPÓTESIS. ....	26
OBJETIVOS. ....	27
SUJETOS Y MÉTODOS. ....	28
ANÁLISIS ESTADÍSTICO. ....	32
METODOLOGÍA ESTADÍSTICA .....	32
ÉTICA.....	33
RESULTADOS.....	34
DISCUSIÓN. ....	45
LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN. ....	49
CONCLUSIONES.....	50
BIBLIOGRAFÍA. ....	52

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación WHO-EORTC linfomas cutáneos .....	4
Tabla 2. Edad promedio y sexo de todas las muestras estudiadas.....	34
Tabla 3. Número de casos y porcentaje por etapa de Micosis fungoide. ....	34
Tabla 4. . Porcentaje mediana de expresión de KI-67, intensidad de expresión de KI-67 y expresión positiva de KI-67 de todas las muestras estudiadas.....	35
Tabla 5. . Porcentaje mediana de expresión de FLI-1, intensidad de expresión de FLI-1, expresión positiva de FLI-1 y co-expresión KI-67/FLI-1 de todas las muestras estudiadas. ....	36
Tabla 6. Edad promedio y sexo en casos y controles. ....	36
Tabla 7. Porcentaje mediana de expresión de KI-67, intensidad de expresión de KI-67 y expresión positiva de KI-67 en casos y controles. ....	37
Tabla 8. Porcentaje mediana de expresión de FLI-1, intensidad de expresión de FLI-1, expresión positiva de FLI-1 y co-expresión de KI-67/FLI-1 en casos y controles.....	38
Tabla 9. Modelo final de regresión logística en expresión de FLI-1, KI-67 y coexpresión de KI-67/FLI-1 .....	40
Tabla 10. Sensibilidad y especificidad de expresión de FLI-1 .....	41
Tabla 11. Sensibilidad y especificidad de co- expresión de KI-67/FLI-1 .....	43
Tabla 12. Modelo final de regresión logística de intensidad de expresión KI-67 y FLI-1 y co-expresión en casos .....	44

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Grafica 1. Co-expresión de KI-67/FLI-1 en casos y controles -----	37
Grafica 2. Especificidad y sensibilidad de co-expresión KI-67/FLI-1 -----	41

## LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

MF: Micosis fungoide.

KI-67: Kiel 67.

FLI-1: Friend leukemia integration-1.

EORTC: European Organization for Research and Treatment of Cancer.

WHO: World Health Organization.



## **ANTECEDENTES.**

### GENERALIDADES

El FLI-1 (Friend leukemia integration-1) es un factor de transcripción nuclear tipo ETS que se ha utilizado como herramienta útil para el diagnóstico de sarcomas de células pequeñas redondas y azules. Un estudio de C. Matthew Quick y colaboradores demuestra asociación entre el aumento de la expresión de FLI-1 y la progresión a estadio tumoral de la micosis fungoide.

La familia de factores de transcripción ETS está formada por un número elevado de proteínas que han sido implicadas en el control de la proliferación celular, la diferenciación, Hematopoyesis, apoptosis, metástasis, angiogénesis y la transformación tumoral.

FLI1 es una proteína de localización nuclear, que durante el desarrollo embrionario temprano se expresa en células de la cresta neural; más tardíamente, se expresa además en el endotelio vascular y en los precursores de las células sanguíneas.<sup>1-2</sup>

El antígeno ki-67 es una de varias proteínas que regula el ciclo celular y se puede determinar por inmunohistoquímica. El anticuerpo ki-67 reacciona con una proteína no histona nuclear de 395kD el cual se expresa en todas las fases activas del ciclo celular, excepto en la fase G0. El Ki-67 es utilizado para valorar



el grado de proliferación células de las neoplasias, por lo tanto este anticuerpo es valioso como indicador pronostico.<sup>3-4</sup>

Los linfomas cutáneos primarios de células T constituyen un grupo heterogéneo de procesos caracterizados por la infiltración y proliferación de una población linfoide maligna de células T en la piel, sin evidencia de afectación extracutánea. Los linfomas cutáneos ocupan el segundo lugar en frecuencia, entre los linfomas no Hodgkin extra ganglionar, su incidencia anual a nivel mundial es de 0,5 a 1 por 100.000 habitantes y sólo son precedidos en este grupo por los linfomas gastrointestinales. El 65% de los casos corresponden a linfomas T, el 25% a linfomas B y el resto a otros linfomas (NK y precursores). Estas neoplasias aparecen fundamentalmente entre los 40 y los 60 años y son 2,2 veces más frecuentes en el sexo masculino que en el femenino. Las presentaciones más comunes son la micosis fungoide y el síndrome de Sézary.<sup>5-6</sup>

Existen varios mecanismos patogénicos para el desarrollo de linfomas cutáneos que incluyen translocaciones cromosómicas, alteraciones de los genes de supresión tumoral (bcl2), alteraciones inmunológicas y factores externos como infecciones víricas. La piel contiene unas características idóneas para el desarrollo de linfomas, se calcula que la piel normal contiene aproximadamente 1 millón de células T por centímetro cúbico, consecuentemente la piel es un órgano linfoide importante ya que contiene el doble de células T que la sangre periférica. La piel, al igual que el ganglio linfático tiene varios compartimentos en las cuales se distribuyen los linfocitos T y B. Por lo general los linfocitos T se distribuyen preferentemente en la epidermis, dermis papilar, plexo vascular superficial, dermis perianexial y en la porción profunda del tejido graso subcutáneo (en el ganglio se distribuyen en la región paracortical y médula).



Los linfocitos B se encuentran en la dermis media y profunda, plexo vascular profundo y tejido graso (en el ganglio se distribuyen en la corteza y médula), esta compartimentación está acompañada de un patrón de secreción de citocinas característica. Esta distribución de las subpoblaciones linfocitarias confiere un patrón histológico para las diferentes formas de linfomas cutáneos primarios.<sup>7</sup>

El reconocimiento de que los linfomas que se desarrollan primariamente en la piel tienen un comportamiento más indolente que sus contrapartes ganglionares junto con la existencia de algunas formas particulares que sólo afectan a este órgano durante una buena parte de su evolución, ha llevado al desarrollo de clasificaciones específicas para este grupo de lesiones. Los dos esquemas de clasificación empleados habitualmente son el de la Organización Mundial de la Salud y el de la European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). (Tabla 1)<sup>8</sup>

#### NEOPLASIAS DE CELULAS T MADURAS Y CELULAS NK

Micosis fungoide

Síndrome de Sézary

Leucemia de células T adulto

Desordenes linfoproliferativos de células T cutáneos primarios CD30+

    Linfoma cutáneo primario anaplásico de células grandes

    Papulosis linfomatoide

Linfoma de células T subcutáneo

Linfoma cutáneo de células T cutáneo primario citotóxico CD8 +

Linfoma cutáneo primario de células T de pequeño/mediano tamaño CD4 +

Linfoma cutáneo primario de células T gamma/delta

Linfoma de células T periférico, no especificado



### NEOPLASIAS DE CELULAS B MADURAS

- Linfoma extraganglionar de la zona marginal
- Linfoma cutáneo primario centro folicular
- Linfoma cutáneo primario de células B grandes
- Linfoma de células B grandes intra vascular

### NEOPLASIAS PRECURSORAS

- Neoplasia de células dendríticas blástica plasmocitoide.

Tabla 1 Clasificación WHO-EORTC linfomas cutáneos

El diagnóstico se realiza en función de la clínica, la histopatología y el estudio de inmunohistoquímica. La técnica de inmunohistoquímica Corresponde a un grupo de técnicas de inmuno reacción que permiten demostrar una variedad de antígenos presentes en las células o tejidos utilizando anticuerpos marcados. Estas técnicas se basan en la capacidad de los anticuerpos de unirse específicamente a los correspondientes antígenos

En general el inmunofenotipo para el diagnóstico de linfomas cutáneos de células T en muestras de parafina debe incluir los marcadores T (CD2, CD3, CD4, CD8) marcador de activación CD30, marcadores citotóxicos (TIA-1) y de células NK (CD56).<sup>9</sup>

### MICOSIS FUNGOIDE

La micosis fungoide es un linfoma cutáneo derivado de la proliferación neoplásica de linfocitos T cooperadores. Aunque el proceso se origina en la piel y permanece



como un proceso sólo cutáneo durante periodos prolongados de tiempo, en fases avanzadas de su evolución puede extenderse a ganglios linfáticos y órganos internos.

No se sabe la causa de la micosis fungoide. En algunas familias se ha observado que más de un miembro ha desarrollado una micosis fungoide, pero se desconocen si existen factores genéticos implicados. También existen algunos estudios que han postulado la importancia de contaminantes ambientales, como hidrocarburos o metales pesados, en la génesis de la micosis fungoide. Existen numerosos estudios recientes que hablan de la posible influencia de superantígenos, citoquinas, anomalías cromosómicas y oncogenes en el origen de la proliferación monoclonal de linfocitos T colaboradores que se observa en la micosis fungoide, pero en la actualidad no se ha identificado aún un agente etiológico específico concreto.

Desde el punto de vista clínico, las lesiones cutáneas de la micosis fungoide evolucionan a través de tres estadios: mácula, placa y tumoral. Las manifestaciones iniciales son bastante inespecíficas y en estas fases es difícil establecer el diagnóstico con seguridad. Clásicamente, se ha denominado a estas fases iniciales de la micosis fungoide como “estadios premicóticos”, pero seguramente se trata ya de auténticos casos de micosis fungoide en los que los métodos diagnósticos actuales no son lo suficientemente sensibles como para establecer el diagnóstico con seguridad. Las lesiones cutáneas en estas fases iniciales de maculas consisten en máculas eritematosas, de superficie lisa o finamente descamativa, con límites irregulares no muy bien definidos, que confluyen afectando grandes áreas corporales, pero dejando en su interior islotes de piel sana respetada y que se distribuyen por cualquier área de la superficie corporal. Estas lesiones habitualmente son pruriginosas, pero en algunos casos pueden ser asintomáticas. En estas fases iniciales, las lesiones pueden regresar,



por efecto del tratamiento o incluso espontáneamente, sin dejar ninguna lesión residual o sólo una discreta hiperpigmentación.

En fases evolutivas más avanzadas, las lesiones se transforman en placas más infiltradas, en las que los límites son más netos con respecto a la piel sana no afectada. Estas placas son ligeramente elevadas, eritematosas o violáceas, de superficie descamativa y generalmente ocasionan prurito intenso. Pueden confluir unas con otras, afectando una gran superficie corporal y a veces muestran aclaramiento central, lo que determina una morfología anular de las lesiones. En esta fase de placa las lesiones no muestran tendencia a la regresión espontánea, aunque todavía puede considerarse como una fase indolente y de buen pronóstico de la enfermedad y habitualmente se necesitan varios años para que estas lesiones progresen a la tercera fase o fase tumoral de la enfermedad. La fase tumoral de la micosis fungoide es la fase más agresiva y avanzada de la enfermedad y el pronóstico es peor. Aparecen lesiones tuberosas que en general se desarrollan sobre placas preexistentes de muchos años de evolución. Se trata de tumoraciones de color pardo-rojizo o rojo-violáceo, con una morfología de hongo (de ahí el calificativo clásico de “fungoide”) y que con frecuencia muestran una superficie ulcerada. Estas lesiones tumorales tienen predilección por localizarse en la cara, donde ocasionan una facies leonina, y los grandes pliegues cutáneos, pero pueden desarrollarse en cualquier área de la superficie corporal. Habitualmente son asintomáticas y el prurito intenso de las placas preexistentes tiende a desaparecer a medida que se transforman en lesiones tumorales.

A veces una eritrodermia puede ser también una manifestación de micosis fungoide, bien por confluencia y extensión de lesiones preexistentes o bien como primera manifestación de la enfermedad. Este último caso constituye el clásicamente denominado “hombre rojo de Hallopeau”. En la fase eritrodérmica de la micosis fungoide, las lesiones cutáneas son indistinguibles de las del síndrome



de Sézary, que es una variante leucémica de linfoma cutáneo de células T cooperadores y se caracteriza clínicamente por eritrodermia, linfadenopatías periféricas con infiltración específica y presencia de los linfocitos neoplásicos circulando en la sangre periférica. De todas formas, la micosis fungoide eritrodérmica carece de los trastornos ganglionares y hematológicos descritos en el síndrome de Sézary y tiene mejor pronóstico. Existen también casos de micosis fungoide con unas características clínicas diferentes a las descritas con anterioridad.

La micosis fungoide folículotropía se suele acompañar de una importante mucinosis folicular y este depósito de mucina en el epitelio del folículo piloso determina la aparición de alopecia y pápulas foliculares. La micosis fungoide con mucinosis folicular se localiza preferentemente en la cara y el cuero cabelludo. Otra variante de micosis fungoide es la reticulosis pagetoide, que es una micosis fungoide de lesión única localizada preferentemente en las extremidades, en forma de una placa eritematosa o eritemato escamosa que recuerda a una placa de psoriasis y en la que el estudio histopatológico demuestra un marcado epidermotropismo de los linfocitos tumorales. Clásicamente se distinguía entre reticulosis pagetoide tipo Woringer-Kolopp, en la que la lesión es una única placa, y la reticulosis pagetoide tipo Ketrón-Goodman, en la que las lesiones se diseminan. Sin embargo hoy se considera que la auténtica reticulosis pagetoide es la de Woringer-Kolopp, ya que la variante de Ketrón-Goodman se comporta como una variante clásica de micosis fungoide. Otras formas clínicas poco frecuentes de micosis fungoide son:

1. La variante poiquilodérmica, en la que las áreas afectadas muestran una piel atrófica con abundantes telangiectasias y pigmentación irregular, en la que alterna áreas hiper crómicas con otras hipo crómicas. Esta forma tiene especial predilección por desarrollarse en las mamas en las mujeres y en la región glútea.



2. Síndrome de la piel laxa granulomatosa, que se caracteriza por la aparición de una piel laxa y colgante en los grandes pliegues cutáneos y que se debe a que, además de los linfocitos neoplásicos, la dermis está infiltrada por abundantes granulomas con numerosas células gigantes multinucleadas que fagocitan y destruyen fibras elásticas.

3. Otras formas raras de micosis fungoide incluyen variantes vesículo-ampollosa, pustulosa, hiper o hipo pigmentada, liquenoide y verrugosa. En etapas tardías y avanzadas de la enfermedad el proceso puede tener también afectación extracutánea. Las adenopatías generalizadas o localizadas sólo en algunas cadenas ganglionares son frecuentes en estas etapas avanzadas de la enfermedad y especialmente frecuentes en las formas eritrodérmicas. En fases avanzadas también puede aparecer afectación hepática y esplénica con mal pronóstico y habitualmente con una corta supervivencia del paciente a pesar de una quimioterapia agresiva.

Las características histopatológicas en las lesiones cutáneas de la micosis fungoide también varían de acuerdo con el estadio evolutivo de la enfermedad. En fases iniciales de maculas las lesiones muestran un infiltrado linfocitario parcheado en la dermis superficial, que se distribuye preferentemente de manera perivascular, aunque focalmente puede ser liquenoide. La mayoría de estos linfocitos son de pequeño tamaño y no muestran atipia nuclear. Lo que si suele observarse, al menos focalmente, es la tendencia de estos linfocitos a emigrar hacia la epidermis supra yacente y aparecen linfocitos salpicados entre los queratinocitos basales. En contraste con la exocitosis de las dermatosis inflamatorias, en las lesiones iniciales de micosis fungoide no suele observarse espongirosis acompañando esta exocitosis linfocitaria y los linfocitos aparecen



rodeados de un halo claro. También focalmente puede observarse la tendencia de estos linfocitos neoplásicos a alinearse a lo largo de la unión dermo-epidérmica. En cualquier caso, estas características histopatológicas de las lesiones iniciales de micosis fungoide son bastante sutiles y es difícil establecer un diagnóstico con seguridad, porque además en estas fases los estudios inmunohistoquímicos y de reordenamiento genético tampoco suelen ser concluyentes. En la mayoría de los casos se requiere el seguimiento del paciente durante algunos años, con biopsias repetidas, antes de que el diagnóstico pueda establecerse con seguridad. En la segunda fase o fase de placa los hallazgos histopatológicos suelen ser más concluyentes, ya que se observa un infiltrado linfocitario más denso, dispuesto en banda a lo largo de la dermis papilar (Imagen 1) , con mayor grado de epidermotropismo ( Imagen 2) y con tendencia de estos linfocitos intraepidérmicos a agruparse constituyendo los denominados microabscesos de Pautrier. Estos linfocitos intraepidérmicos muestran un núcleo más grande y más hipercromático que los linfocitos que permanecen en la dermis y no es raro observar núcleos atípicos, grandes, convolucionados y cerebriformes. En fase tumoral el infiltrado es aún más denso, pudiendo ser nodular o difuso, pero muestra menor grado de epidermotropismo que en las fases anteriores. Este infiltrado afecta a todo el espesor de la dermis y con frecuencia se extiende a la hipodermis.

En la mayoría de los casos se observan con facilidad células de núcleo muy grande, anaplásico y atípico, que recuerdan a inmunoblastos. Esta transformación del infiltrado en células grandes implica un mal pronóstico de la enfermedad. Desde el punto inmunohistoquímico los linfocitos neoplásicos de la micosis fungoide son linfocitos T, expresando marcadores pan-T, como CD2, CD3 y CD5 y la mayoría de ellos corresponden a linfocitos T cooperadores, por lo que también expresan CD4 y CD45RO. Más raro es que la mayoría de las células neoplásicas de la micosis fungoide expresen marcadores de linfocitos T citotóxicos (CD8). En la fase tumoral, el cambio morfológico hacia células grandes y anaplásicas suele ir acompañado de un cambio en el inmunofenotipo, con pérdida de algunos de los

marcadores de linfocitos T y la aparición de marcadores aberrantes, así como un elevado índice proliferativo.<sup>10</sup>

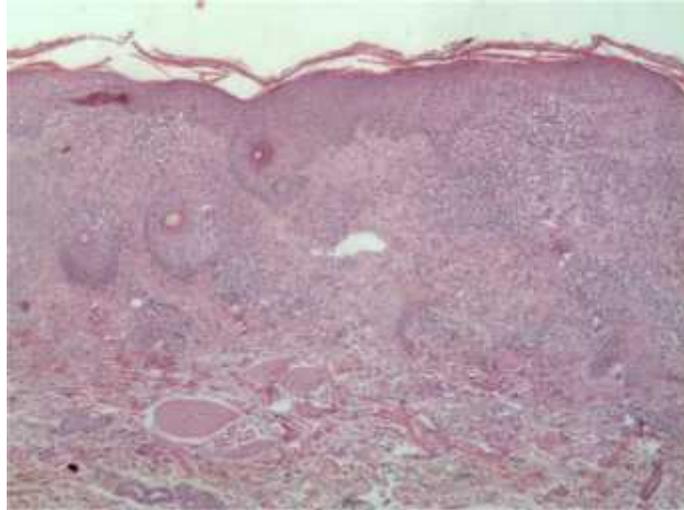


Imagen 1. Imagen histopatológica de una micosis fungoide en placas, mostrando un denso infiltrado en banda en la dermis superficial y media.

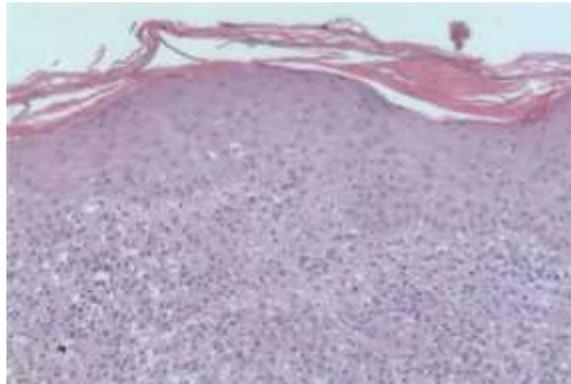


Imagen 2. Epidermotropismo del infiltrado que se acompaña de escasa espongirosis.



Las estrategias de tratamiento durante fases tempranas incluyen principalmente: PUVA (fotoquimioterapia), interferón alfa-2a, retinoides solos o en combinación (retinoides nuevos, como es el bexarotene), quimioterapia local, esteroides locales y fototerapia UVB de banda estrecha. Los estados avanzados de la enfermedad pueden tratarse con quimioterapia sistémica

Los tratamientos sistémicos incluyen diversas pautas de poliquimioterapia, fármacos citotóxicos y fármacos modificadores de la respuesta inmunitaria.

Se han propuesto otras muchas opciones de tratamiento, pero sólo han sido puestas en práctica en un número limitado de pacientes. La enfermedad tiene una progresión lenta (puede evolucionar durante 10-30 años después de su presentación inicial). El pronóstico depende del estado de la enfermedad en el momento del diagnóstico.<sup>11-12</sup>

## ENFERMEDAD INFLAMATORIA DE LA PIEL

El primer paso en el proceso del diagnóstico histopatológico de las dermatitis consiste en observar la preparación “a ciegas”, es decir sin ningún dato clínico que haga prejuzgar un diagnóstico y buscar sólo los hallazgos histopatológicos que confirmen el diagnóstico clínico propuesto. La preparación deberá estudiarse primero con el mínimo aumento del microscopio y así determinamos si existen o no anomalías acompañantes de la epidermis y la distribución del infiltrado



inflamatorio con respecto a los plexos vasculares superficial y profundo de la dermis, es decir el patrón histopatológico.

El paso siguiente en el proceso diagnóstico consiste en determinar la naturaleza de las células que componen el infiltrado inflamatorio, es decir, si son linfocitos, histiocitos, células plasmáticas, mastocitos, neutrófilos, o eosinófilos, y analizar si este infiltrado está compuesto por un único tipo de estas células o por una mezcla de varias de ellas. Posteriormente se utiliza la información clínica, cuanto más completa y más detallada mejor, y mediante el análisis conjunto de los datos clínicos e histopatológicos, se puede establecer el diagnóstico específico en la mayoría de los casos. A veces, hay que reconocer que, a pesar de una adecuada correlación clínico patológica, el estudio histopatológico de una biopsia de una dermatitis no permite establecer un diagnóstico específico con absoluta certeza. En estos casos el informe histopatológico deberá contener el patrón histopatológico del que se trata. Por lo tanto el informe es descriptivo.<sup>13</sup>

## PSORIASIS

La psoriasis es una enfermedad crónica, determinada genéticamente, caracterizada por sucesivos brotes de placas eritematosas descamativas en las superficies extensoras de la piel y cuero cabelludo, siendo la artropatía la única manifestación extracutánea.

Aunque la etiología es desconocida, existe una clara agregación familiar que apoya la implicación de factores genéticos. Además, factores ambientales conocidos como los traumatismos, diálisis, la hipocalcemia, algunas infecciones como la faringitis estreptocócica o el VIH, fármacos como el litio, betabloqueantes,



antipalúdicos, interferón, interleucina 2, la retirada de corticoides sistémicos, algunos antiinflamatorios (Indometacina) y, por último, las situaciones de estrés, pueden ser desencadenantes de la enfermedad. La psoriasis se produce como consecuencia de la interacción de 3 fenómenos que concurren simultáneamente: 1. aumento de la velocidad de crecimiento epidérmica; 2. proliferación venular pos capilar en las papilas dérmicas; y 3. reacción inmune mediada por linfocitos T. La consecuencia de esta interacción es el fenómeno de la exudación cíclica papilar, que caracteriza microscópicamente a la enfermedad.

Es una enfermedad universal con una prevalencia de alrededor del 2% de la población europea, y con una incidencia de 150.000 casos nuevos/año. Puede debutar a cualquier edad, aunque cuando existen antecedentes familiares aparece de forma más temprana. Existen dos picos de incidencia: a los 16-22 años y a los 57-60 años, sin diferencia entre sexos, aunque las mujeres desarrollan antes la enfermedad.

La lesión elemental es una placa eritematosa, de bordes bien definidos y superficie irregular descamativa, que tras el raspado metódico deja una superficie eritematosa con pequeños puntos sangrantes, “rocío hemorrágico de Auspitz”. Se disponen simétricamente en superficies extensoras y en cuero cabelludo. Hasta un tercio de los enfermos presentan lesiones en zonas previamente traumatizadas (fenómeno de Koebner o isomorfismo).

El patrón típico histopatológico de la psoriasis es el de la exudación cíclica papilar, por lo que los neutrófilos y linfocitos salen de los capilares dilatados de las puntas de las papilas y permean las capas basales supra papilares (Imagen 3), produciendo atrofia supra papilar, pústulas espongiformes de Kogoj, micro abscesos de Pautrier, acantosis, papilomatosis regular y paraqueratosis

confluente. La exocitosis neutrofílica en las puntas de las papilas o la presencia de capilares dilatados en las mismas, son dos claves importantes en el diagnóstico de esta enfermedad.

En las formas especiales, como en la Psoriasis invertida, y en la eritrodérmica, la paraqueratosis es escasa, puesto que son formas poco descamativas, pero siempre se puede identificar la exocitosis neutrofílica supra papilar. Lo mismo ocurre en otras formas como en la ungueal o en la gutata, donde la paraqueratosis es muy focal. En las formas pustulosas, a veces es necesario el uso de PAS para descartar una candidiasis o de inmunofluorescencia directa para descartar un pénfigo Ig A.

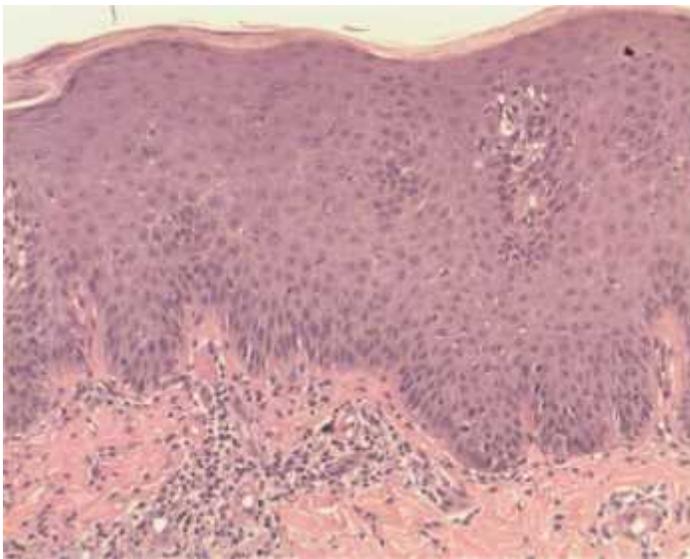


Imagen 3. Placa bien establecida de psoriasis: Destaca la hiperplasia epidérmica regular con fusión de las crestas inter papilares en su porción basal y una marcada exocitosis neutrofílica supra papilar.

Microscópicamente, uno de los diagnósticos diferenciales más frecuentes es con el eccema, especialmente en las formas palmo plantares. La ausencia de espongiosis franca, así como la presencia de fenómenos de exudación cíclica



papilar son claves para establecer el diagnóstico de psoriasis. Estos mismos criterios son básicos para diferenciar la psoriasis de la micosis fungoide, donde además se observan linfocitos atípicos epidermotropos. En los casos de psoriasis pustulosa, los diagnósticos diferenciales más importantes se deben establecer con la candidiasis, pénfigo Ig A y con la pustulosis exantemática medicamentosa.

La elección del tratamiento se realiza en función de la extensión y localización de las lesiones de psoriasis, así como de los tratamientos previos y la edad del paciente. Entre los tratamientos tópicos destacan los corticoides, en cura abierta u oclusiva y los derivados de la vitamina D (tacalcitol y calcipotriol). Estos fármacos se utilizan conjuntamente con emolientes y breas o alquitranes, así como con queratolíticos como el ácido salicílico.<sup>14-15</sup>

## PITIRIASIS LIQUENOIDE

La pitiriasis liquenoide es una dermatosis caracterizada por la aparición de brotes recurrentes de pápulas liquenoides de superficie queratósica, entremezcladas con vesículas y pústulas que se desecan en costra y que curan dejando cicatrices atróficas varioliformes. Existe una forma aguda y otra crónica del proceso que pueden considerarse como los dos extremos clínicos dentro del espectro de una misma enfermedad.

La etiología de la pitiriasis liquenoide es desconocida. Se ha postulado la influencia de virus, como el VIH, medicamentos y hormonas, pero ninguno de estos factores ha podido ser demostrado como agente etiológico. Tanto la pitiriasis



liquenoide aguda como la crónica muestran un infiltrado que está constituido predominantemente por linfocitos T y en muchos de los casos, sobre todo de la forma aguda, se puede demostrar mono clonalidad de este infiltrado por reordenamiento genético, lo que indica que la pitiriasis liquenoide puede ser un proceso linfoproliferativo con un comportamiento clínico benigno. De hecho, la morfología clínica de las lesiones de la pitiriasis liquenoide es muy similar a la de la papulosis linfomatoide.

En general, la enfermedad afecta únicamente a la piel, pero en casos muy intensos pueden existir manifestaciones sistémicas de malestar general, fiebre, linfadenopatías y artralgias. Las lesiones consisten en pápulas liquenoide de color rojo oscuro cubiertas de escamas adherentes que muestran menos tendencia a la necrosis superficial. El curso de esta forma crónica es más indolente y las lesiones pueden persistir semanas o meses. No se observan vesículas ni pústulas y cuando las lesiones regresan pueden dejar hiperpigmentación residual, pero no cicatrices varioliformes como en la forma aguda.

Las lesiones completamente desarrolladas de pitiriasis liquenoide muestran un patrón de dermatitis perivascular superficial y profunda, con una morfología en V abierta hacia la epidermis. Existe además una dermatitis de la interfase de tipo degeneración vacuolar e hiperplasia epidérmica de tipo psoriasiforme, con algún queratinocito necrótico y cubierta por una capa córnea hiperqueratósica con paraqueratosis elongada. El infiltrado está mayoritariamente constituido por linfocitos, aunque también puede existir algún neutrófilo y eosinófilo

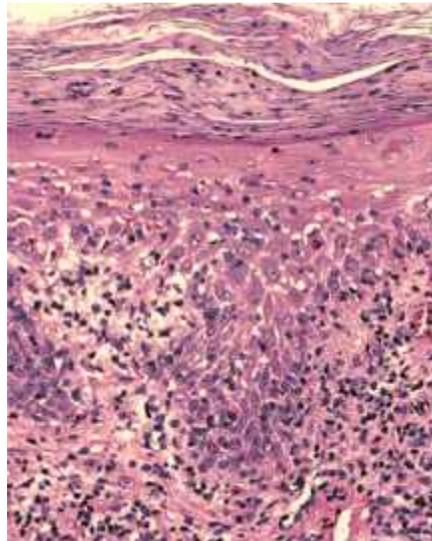


Imagen 4. Degeneración vacuolar de la hilera basal, queratinocitos necróticos y paraqueratosis.

La pitiriasis liquenoide debe diferenciarse pitiriasis rosea, parapsoriasis de placas pequeñas, exantema viral, papulosis linfomatoide, sífilis secundaria y enfermedades de tejido conectivo

Es difícil valorar la eficacia de los distintos tratamientos ensayados en la pitiriasis liquenoide, porque el proceso suele ser autoinvolutivo, aunque con tendencia a recurrir. Se han empleado corticoides tópicos, tetraciclina y eritromicina por vía oral y diversos tipos de fototerapia.<sup>16-17</sup>



## LIQUEN PLANO

El liquen plano es una dermatosis crónica frecuente de etiología aún desconocida, caracterizada clínicamente por la presencia de pápulas poligonales, violáceas, pruriginosas, de alivio espontáneo en la mayoría de los casos y en otros con tendencia a la cronicidad.

Hasta el momento se desconoce la etiología de la enfermedad, sin embargo se han planteado varias hipótesis, sin saber hasta el momento si existe una predisposición o factor desencadenante o bien sea el resultado de una interacción de varios factores. La teoría inmunológica se basa en los cambios encontrados histológicamente con daño en la membrana basal ya que existe formación difusa y discontinua de la proteína alfa-6 beta-4 integrina que es la principal proteína de adhesión de los hemidesmosomas, así como la calinita que es un componente de las fibras de anclaje que sirve como ligando para la integrina alfa-6 beta-4 e incremento de la colágena tipo VII, todo esto asociado a la expresión de un HLA extraño en la superficie del queratinocito ya que éste es reconocido como extraño con la destrucción subsecuente mediada por linfocitos T citotóxicos por una respuesta de hipersensibilidad retardada.

La lesión elemental en piel es una pápula firme, poligonal, brillante, de coloración roja rosada que posteriormente se torna violácea. En su superficie se observan líneas de color blanco grisáceo características denominadas estrías de Wickham

acompañadas de prurito, las lesiones por lo general se distribuyen de manera simétrica y bilateral de predominio en las extremidades, la topografía predilecta es áreas de flexión de las muñecas, brazos y piernas de predominio en la cara interna.

Las características de una pápula de liquen plano consisten en una hiperplasia epidérmica (Imagen 5) constituida por hiperqueratosis ortoqueratósica compacta, focos de hipergranulosis triangular de base superior centrados en los trayectos intraepidérmicos de los anexos y queratinocitos eosinófilos de citoplasma amplio. La unión dermoepidérmica muestra degeneración vacuolar de la hilera basal de la epidermis, que está constituida por queratinocitos con una apariencia más escamosa de la que corresponde a estos estratos basales de la epidermis. Con frecuencia, se observan queratinocitos necróticos aislados o en grupos (cuerpos coloides o cuerpos de Civatte) a lo largo de la unión dermo-epidérmica.

Los diagnósticos diferenciales histopatológicos incluye la erupción liquenoide por medicamentos, queratosis liquenoide, micosis fungoide en etapa inicial, queratosis actínica liquenoide e incluso lupus eritematoso.<sup>18-19</sup>

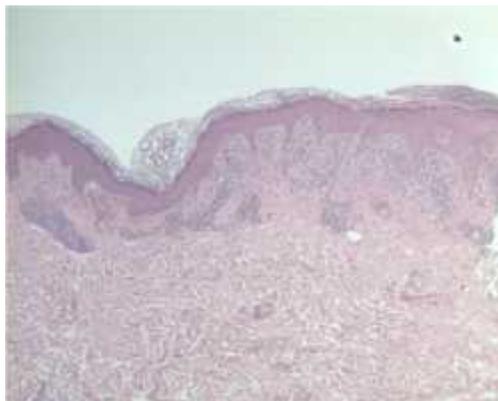


Imagen 5. Liger a hiperplasia de la epidermis e infiltrado en banda en la dermis superficial.



## LIQUEN ESTRIADO

Liquen estriado es una dermatosis infrecuente, generalmente autolimitada, que afecta principalmente a los niños, siendo informes raros en adultos. Su incidencia es ligeramente mayor en las mujeres. Su etiología es desconocida, pero es considerado, como una manifestación de mosaicismo, caracterizado por la presencia de clones de células epiteliales genéticamente anormal que a través de un evento precipitante puede ser reconocido por el sistema inmunológico e inducir la piel afectada para generar una respuesta inflamatoria mediada por células T.

Clínicamente se caracteriza por la presencia de numerosas pápulas pequeñas, blanquecinas o eritematosas, de superficie plana y de aspecto liquenoide (pero sin estrías de Wickham) que se agrupan de forma lineal siguiendo las líneas de Blaschko.

Se trata de una dermatosis liquenoide, con un infiltrado inflamatorio dispuesto en banda a lo largo de la unión dermo-epidérmica (Imagen 6). Este infiltrado está compuesto por linfocitos e histiocitos y focalmente se observa epidermotropismo del infiltrado, que se acompaña de focos de espongirosis. A menudo, existen grados variables de acantosis, pero a diferencia del liquen plano, los queratinocitos no son más grandes de lo habitual y no existen los focos de hipergranulosis coincidiendo con la porción intraepidérmica de los anexos, que caracterizan las lesiones de liquen plano. No es raro, que la capa córnea que cubre los focos de espongirosis y exocitosis muestre paraqueratosis y en algunas áreas con menor densidad de infiltrado se observa vacuolización de la hilera basal de la epidermis. En estas capas bajas de la epidermis y a lo largo de la unión dermo-epidérmica no es raro



observar algún queratinocito necrótico en forma de disqueratosis o cuerpo de Civatte.

Una de las características del liquen estriado es que el infiltrado en banda de la dermis papilar que se extiende en profundidad rodeando el epitelio del folículo piloso, los conductos y ovillos de las glándulas ecrinas y se distribuye también de manera perivascular alrededor del plexo dérmico profundo.

El tratamiento más común son los corticoesteroides tópicos.<sup>20</sup>

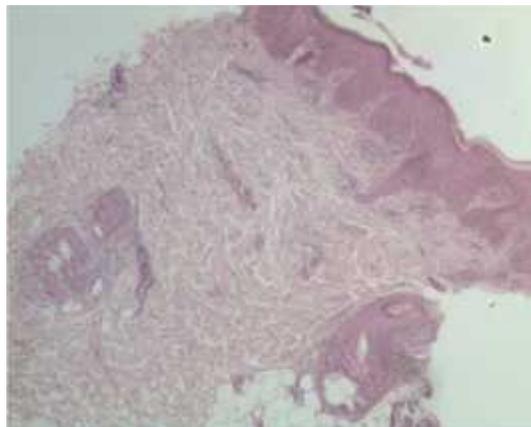


Imagen 6. Infiltrado liquenoide en la dermis superficial y perivascular alrededor del plexo dérmico profundo.

## LIQUEN SIMPLE CRONICO

Se conoce como liquen simple crónico o liquen de Vidal, a la alteración crónica pruriginosa localizada, que se caracteriza por una placa circunscrita bien demarcada con engrosamiento y liquenificación. La piel se engruesa, hiperpigmenta y



liquenifica. Las áreas habituales son la nuca, caras de extensión de los antebrazos y de las piernas, escroto y vulva. También es conocida como neurodermatitis y se relaciona con el roce y el rascado.<sup>21</sup>

No hay ninguna duda de que la liquenificación es el resultado del rascado crónico. Algunos autores distinguen entre liquen simple crónico, cuando se desarrollan placas de liquenificación por un rascado crónico sin que exista ninguna patología de base conocida y liquenificación secundaria cuando el proceso se desarrolla como consecuencia del rascado crónico debido a una dermatosis pruriginosa preexistente, como dermatitis atópica, liquen plano, etc.

En todas las formas clínicas de liquenificación, el prurito es el síntoma principal. Muchas veces no parece existir una relación entre la extensión de las lesiones y el grado de prurito descrito por el paciente.

Durante las fases iniciales del proceso de liquenificación la superficie de la piel afectada aparece roja, edematosa y con una exageración de los pliegues normales de su superficie. A medida que el proceso se perpetúa y el rascado se mantiene, la piel se va engrosando, aumentando su consistencia y su superficie se torna descamativa. El eritema inicial es sustituido por grados variables de hiperpigmentación.

Aunque cualquier área de la superficie corporal puede estar afectada, existen algunos sitios de liquenificación más frecuente, que coinciden con las áreas de piel más accesibles al rascado. Por eso, la cara posterior del cuello y la cara anterior de las piernas son los lugares preferentes para el desarrollo de placas de liquenificación. De todas formas, en pacientes con rascado crónico por el motivo

que sea no es raro que también desarrollen placas de liqenificación en las caras laterales del cuello, el cuero cabelludo, los hombros, la parte baja de la espalda, los tobillos, la superficie extensora de antebrazos, la ingle y la región genital.

Los características histopatológicos de las placas de liqenificación varían dependiendo de la duración y la localización de las lesiones. En general, la epidermis muestra algún grado de hiperplasia con acantosis e hiperqueratosis (Imagen 7). Las crestas de la epidermis aparecen alargadas y tienden a afilarse en su extremo inferior, mientras que en la epidermis no es raro encontrar focos de espongirosis con exocitosis linfocitaria. La capa córnea engrosada muestra una apariencia compacta que contrasta con el patrón hojaldrado de la córnea de la piel sana adyacente y se observan focos de paraqueratosis cubriendo las áreas de espongirosis. Uno de los signos más característicos y constantes de las placas de liqenificación es la presencia de fibras de colágeno ligeramente escleróticas dispuestas en estrías verticales en las papilas de la dermis.

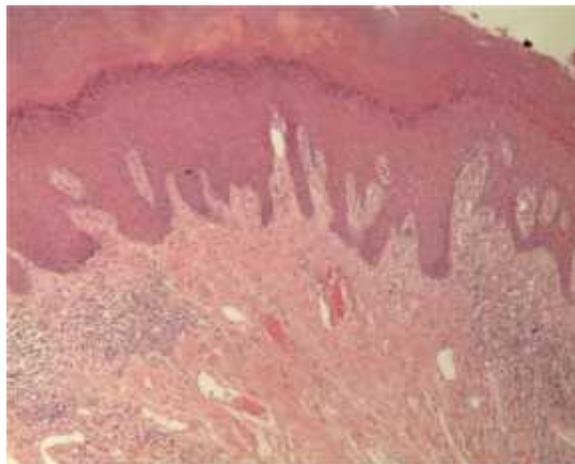


Imagen 7. Hiperplasia epidérmica irregular cubierta de hiperqueratosis compacta.



Si la liquenificación se desarrolla secundariamente a una dermatosis pruriginosa preexistente, el tratamiento inicial deberá ir dirigido a esta dermatosis. Se debe intentar romper el círculo vicioso de prurito-rascado-liquenificación, y para ello los antihistamínicos con efecto sedante como la hidroxicina son los más útiles.<sup>22</sup>



## **JUSTIFICACIÓN.**

En ciertas ocasiones es muy difícil establecer el diagnóstico histológico diferencial de enfermedades que presenten infiltrados linfoides benignos de células T de la piel con la micosis fungoide tanto en fase de maculas como en placas incluso aplicando los marcadores convencionales que habitualmente se usa para su diagnóstico. El KI-67 es un marcador de proliferación celular el cual se ha identificado en la mayoría de neoplasias malignas y su expresión se relaciona con la agresividad, por lo que actualmente es un importante marcador de pronóstico. El FLI-1 (Friend leukemia integration-1) es un marcador que se ha identificado en ciertas neoplasias malignas específicas y actualmente se sabe que es un marcador que también está presente en la proliferación celular. Existen pocos informes donde el uso de la expresión de FLI-1 lo relacionen con la agresividad de ciertas neoplasias y solo existe un informe en la literatura de su uso en la micosis fungoide y su posible relación con el estadio clínico o comportamiento.

También cabe mencionar que no hay estudios que identifique la expresión de ambos marcadores entre micosis fungoide y en dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T. Por lo que se espera que la co-expresión correlacione positivamente solo en la micosis fungoide comparado con las lesiones de infiltrados linfoides de células T benignos de la piel, Por lo tanto, éste estudio puede ser de inicio en la utilidad de ambos marcadores para diagnóstico junto con los marcadores convencionales y posiblemente para pronóstico de esta patología.



## **HIPÓTESIS.**

La frecuencia de expresión de KI-67 y FLI-1 en Micosis fungoide es mayor comparado con dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T.



## **OBJETIVOS.**

### **OBJETIVO PRIMARIO.**

- ) Comparar la frecuencia de expresión de KI-67 y FLI-1 de micosis fungoide con dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T

### **OBJETIVO SECUNDARIO**

- ) Determinar una probable asociación en la expresión de KI-67 y FLI-1 en la micosis fungoide.
- ) Evaluar si la expresión de KI-67 y FLI-1 se asocia con la etapa de la micosis fungoide.



## **SUJETOS Y MÉTODOS.**

### **DISEÑO DEL ESTUDIO.**

Estudio de casos y controles

### **METODOLOGIA.**

### **LUGAR Y DURACIÓN.**

El estudio se llevó a cabo en el Hospital Central “Ignacio Morones Prieto

Estaba conformado por el material presente en el archivo del Laboratorio de Patología del Hospital Central “Ignacio Morones Prieto”

Se realizó selección de casos con diagnóstico de Micosis Fungoide y de dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T.

Se realizó 3 cortes a cada bloque de parafina para los anticuerpos FLI-1, KI-67 y para el testigo negativo.

Se evaluó como reacción positiva cuando las células expresaron más del 5% para el KI-67 y más del 10% para el FLI-1.



## **UNIVERSO, UNIDADES DE OBSERVACION, METODOS DE MUESTREO, Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.**

El tamaño de la muestra se calculó de acuerdo a lo descrito para estudios de casos y controles, un mínimo de 60 casos (Micosis fungoide) y dos controles (Dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T) por caso (120).

### **CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION.**

#### CRITERIOS DE INCLUSION:

MF: Bloques de parafina con diagnóstico de micosis fungoide

Dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T:

-Bloques de parafina de biopsias con los siguientes diagnósticos:

Liquen simple crónico, Psoriasis, pitiriasis liquenoide crónica, liquen estriado y liquen plano

#### CRITERIOS DE EXCLUSION:

- ) Que no se cuente con bloques de parafina
- ) Que el material sea inadecuado para estudio e interpretación
- ) Linfomas B cutáneos

### **Variable Independiente**

Grupo casos: Micosis fungoide

Grupo controles: Dermatitis benignas con infiltrados linfoides de células T



## VARIABLES EN EL ESTUDIO.

<b>Variable</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Valores posibles</b>	<b>Tipo de variable</b>
<b>KI-67</b>	Reacción del Anticuerpo en los núcleos de células linfoides	1- Positivo 2- Negativo	Dicótoma
<b>FLI-1</b>	Reacción del Anticuerpo en los núcleos de células linfoides	1- Positivo 2- Negativo	Dicótoma
<b>Intensidad de expresión de FLI-1</b>	Intensidad de coloración de la reacción en los núcleos	1. Leve 2. Moderado 3. Intenso 4. Sin inmunorreacción	Politoma
<b>Intensidad de expresión de KI-67</b>	Intensidad de coloración de la reacción en los núcleos	1. Leve 2. Moderado 3. Intenso 4. Sin inmunorreacción	Politoma
<b>Co-expresión KI-67/FLI-1</b>	Reacción para ambos anticuerpos en la misma biopsia	1-Si 2-No	Dicótoma
<b>Edad</b>	Años cumplidos por el paciente	18 – 90	Continua
<b>Sexo</b>	Sexo biológico del paciente	1 = mujer 2 = hombre	Dicótoma
<b>Gravedad o etapa de la enfermedad</b>	Fase de micosis fungoide en que se encuentra el paciente cuando se tomó la biopsia	1. Máculas 2. Placas 3. Tumoral	Politoma



## **RECOLECCION DE DATOS.**

Se revisarán los diarios de registro escrito y electrónico del departamento de Patología y dermatología en búsqueda de los casos con diagnóstico de Micosis fungoide y de dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T, específicamente Liquen simple crónico, Psoriasis, pitiriasis liquenoide crónica, liquen estriado y liquen plano.



## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

### **METODOLOGÍA ESTADÍSTICA**

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete Rcmdr versión 2.1-4 (Fox, J. (2005). The R Commander: A Basic Statistics Graphical User Interface to R. Journal of Statistical Software, 14(9): 1--42.), con el del software R version 3.1.2 (R Core Team (2014)).<sup>23</sup>

La exactitud de las pruebas diagnósticas (sensibilidad, especificidad, curva roc) y el análisis multivariable de regresión logística se calcularon utilizando el plugin EZR (Kanda, Y. (2013). Investigation of the freely available easy-to-use software {EZR} for medical statistics.<sup>24</sup>



## ÉTICA.

En este estudio se revisó únicamente las biopsias en el departamento de patología. No presenta conflicto o riesgo ético y cuenta con autorización del comité de ética en investigación **No. 37-15**. Se guardó la confidencialidad de todos los datos del paciente.



## RESULTADOS.

	n = 180 (%)
Micosis fungoide	60 (33.3)
Dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T.	120 (66.7)
Edad (años)	45.5 ± 19 (3 – 87)
<b>Sexo</b>	
Hombre	71 (39)
Mujer	109 (61)

Tabla 2. Edad promedio y sexo de todas las muestras estudiadas

En todas las muestras estudiadas la edad promedio es de 45.5 ± 19 años. El género es de 71 hombres y 109 mujeres con 39% y 61% respectivamente. (Tabla 2)

	n=60 (%)
<b>ETAPA DE MICOSIS FUNGOIDE</b>	
Macula	15 (25)
Placas	44 (73)
Tumoral	1 (2)

Tabla 3. Número de casos y porcentaje por etapa de Micosis fungoide.



En los casos estudiados se encontraron 15 biopsias en etapa de mácula, 44 en etapa de placas y 1 en etapa tumoral el cual corresponde el 25%, 44% y 2 % respectivamente. (Tabla 3)

	n= 180(%)
EXPRESION DE KI -67 (%)	5 [3, 15] (0 – 80)
INTENSIDAD DE EXPRESION DE KI-67	
Leve	73 (41)
Moderado	57 (32)
Intenso	17 (9)
Sin inmunorreacción	33 (18)
EXPRESION POSITIVA DE KI-67	87 (49)

Tabla 4. . Porcentaje mediana de expresión de KI-67, intensidad de expresión de KI-67 y expresión positiva de KI-67 de todas las muestras estudiadas.

En todas las muestras estudiadas el porcentaje de expresión de KI-67 se obtuvo como resultado una mediana de 5%. La intensidad de expresión de KI-67 fue leve en 73 biopsias, moderado en 57 biopsias, intenso en 17 biopsias y sin inmunorreacción en 33 biopsias el cual corresponde el 41%, 32%, 9% y 18% respectivamente. La expresión positiva de KI-67 fue de 87 biopsias el cual corresponde el 49%.(Tabla 4)

	n=180(%)
EXPRESION DEL FLI-1 (%)	20 [5, 40] (0 – 90)
INTENSIDAD DE EXPRESION DE FLI-1	
Leve	57 (32)
Moderado	57 (32)
Intenso	33 (18)
Sin inmunorreacción	33 (18)
EXPRESION POSITIVA DE FLI-1	116 (64)
Co-expresión KI-67/FLI-1	81 (45)

Tabla 5. . Porcentaje mediana de expresión de FLI-1, intensidad de expresión de FLI-1, expresión positiva de FLI-1 y co-expresión KI-67/FLI-1 de todas las muestras estudiadas.

En todas las muestras estudiadas el porcentaje de expresión de FLI-1 se obtuvo como resultado una mediana de 20%. La intensidad de expresión de FLI-1 fue leve en 57 biopsias, moderado en 57 biopsias, intenso en 33 biopsias y sin inmunorreacción en 33 biopsias el cual corresponde el 32%, 32%, 18% y 18% respectivamente. La expresión positiva de FLI-1 fue en 116 biopsias el cual corresponde el 64%. La coexpresión KI-67/FLI-1 se presentó en 81 biopsias con porcentaje de 45%.(Tabla 5)

VARIABLES	CASOS n = 60	CONTROLES n = 120	p
Edad	52 ± 20 (11 – 87)	42 ± 18 (3 – 86)	0.002
Sexo			NS
Hombre	21 (35)	50 (42)	
Mujer	39 (65)	70 (58)	

Tabla 6. Edad promedio y sexo en casos y controles.



La edad promedio en los casos fue de  $52 \pm 20$  años en contraste de controles que fue de  $42 \pm 18$  años con  $p = 0.002$ . El género que se encontró en los casos fue de 21 hombres y 39 mujeres el cual es el 35% y 65%, en contraste el género encontrado en controles fue de 50 hombres y 70 mujeres con 42% y 58% respectivamente, sin embargo esto no fue estadísticamente significativo. (Tabla 6).

	CASOS n = 60	CONTROLES n = 120	P
EXPRESION DE KI -67 (%)	20 [10, 26] (0 – 80)	4 [0, 10] (0 – 50)	< 0.001
INTENSIDAD DE EXPRESION DE KI-67			
Leve	17 (28)	56 (47)	< 0.001
Moderado	29 (48)	28 (23)	
Intenso	13 (22)	4 (3)	
Sin inmunorreacción	1 (2)	32 (27)	
EXPRESION POSITIVA DE KI-67	54 (90)	33 (28)	< 0.001

Tabla 7. Porcentaje mediana de expresión de KI-67, intensidad de expresión de KI-67 y expresión positiva de KI-67 en casos y controles.

En el grupo de los casos el porcentaje de expresión de KI-67 se obtuvo como resultado una mediana de 20% en contraste al grupo de controles fue de 4%. La intensidad de expresión de KI-67 en el grupo de los casos fue leve en 17 biopsias, moderado en 29 biopsias, intenso en 13 biopsias y sin inmunorreacción en 1 biopsia el cual corresponde el 28%, 48%, 22% y 2% respectivamente. En contraste el grupo de controles fue leve en 56 biopsias, moderado en 28 biopsias,



intenso en 4 biopsias y sin inmunorreacción en 32 el cual corresponde el 47%,23%, 3% y 27 % con  $p < 0.001$ . (Tabla 7)

La expresión positiva de KI-67 en el grupo de los casos fue de 54 y de controles fue de 33 el cual corresponde el 90% y 28% con  $p < 0.001$ , por ende, fue estadísticamente significativo. (Tabla 7)

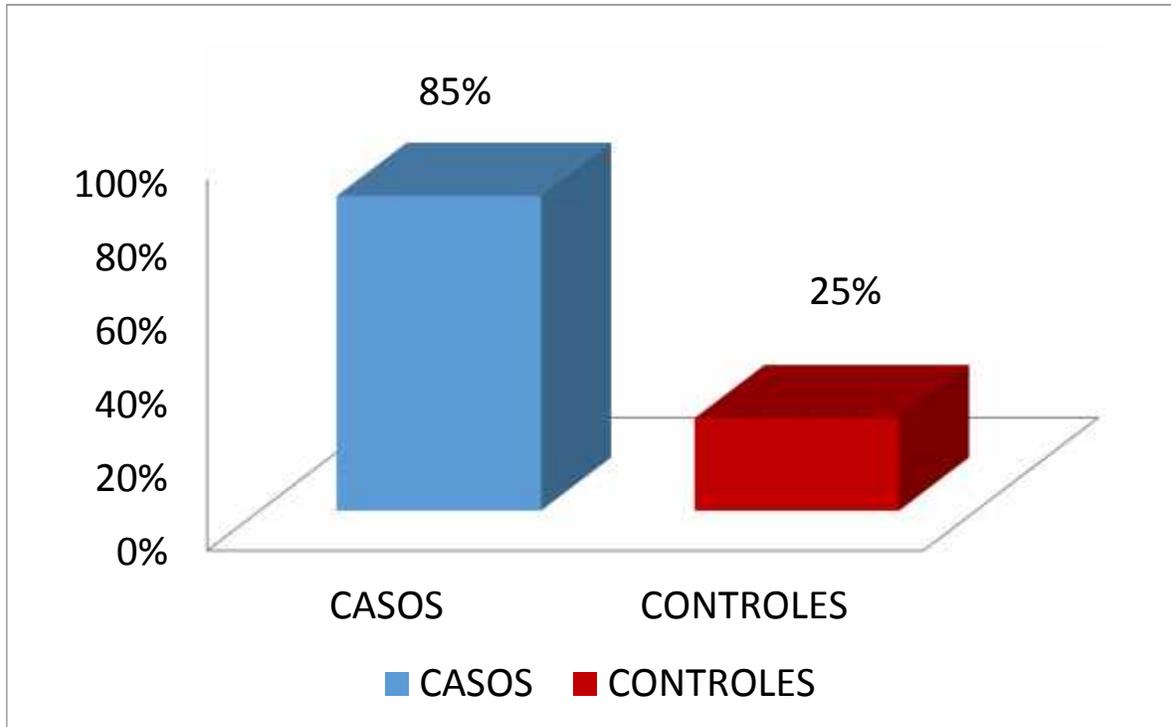
	CASOS n = 60	CONTROLES n = 120	p
EXPRESION DEL FLI-1 (%)	22.5 [10, 40] (0 – 90)	12.5 [1.5, 40] (0 – 90)	0.02
INTENSIDAD DE EXPRESION DE FLI-1			
Leve	16 (27)	41 (34)	< 0.001
Moderado	23 (38)	34 (28)	
Intenso	18 (30)	15 (13)	
No reactivo	3 (5)	30 (25)	
EXPRESION POSITIVA DE FLI-1	52 (87)	64 (53)	< 0.001
CO-EXPRESION KI-67/FLI-1	51 (85)	30 (25)	< 0.001

Tabla 8. Porcentaje mediana de expresión de FLI-1, intensidad de expresión de FLI-1, expresión positiva de FLI-1 y co-expresión de KI-67/FLI-1 en casos y controles.



En el grupo de los casos el porcentaje de expresión de FLI-1 se obtuvo como resultado una mediana de 22.5% en contraste al grupo de controles fue de 12.5%. La intensidad de expresión de FLI-1 en el grupo de los casos fue leve en 16 biopsias, moderado en 23 biopsias, intenso en 18 biopsias y sin inmunorreacción en 3 biopsias el cual corresponde el 27%, 23%, 18% y 5% respectivamente. En contraste el grupo de controles fue leve en 41 biopsias, moderado en 34 biopsias, intenso en 15 biopsias y sin inmunorreacción en 30 el cual corresponde el 34%, 28%, 13% y 25 % con  $p < 0.001$ . (Tabla 8)

La expresión positiva de KI-67 en el grupo de los casos fue de 54 y en el grupo de controles fue de 33 el cual corresponde el 90% y 28% con  $p < 0.001$ , por ende, fue estadísticamente significativo. La coexpresión de KI-67 /FLI-1 es estadísticamente significativo ya que se encontró en 51 biopsias en el grupo de los casos y en 30 biopsias en el grupo de controles con 85% y 25% respectivamente con  $p < 0.001$ . (Tabla 8 y Grafica 1)



Grafica 1. Co-expresión de KI-67/FLI-1 en casos y controles.

	OR	INTERVALO DE CONFIANZA (95%) BAJO	INTERVALO DE CONFIANZA (95%) ALTO	VALOR P
(Intercepto)	0.0467	0.0174	0.126	1.36E-09
EXPRESION DE FLI1 X100	0.963	0.938	0.988	3.64E-03
EXPRESION DE KI-67X100	1.11	1.06	1.16	6.70E-06
COEXPRESION DE KI-67/FLI-1[T.1]	39.5	11.3	139	9.77E-09

Tabla 9. Modelo final de regresión logística en expresión de FLI-1, KI-67 y coexpresión de KI-67/FLI-1



El modelo final de regresión logística se puede observar que la co-expresión KI-67/FLI-1 presenta el valor del OR muy significativo ya que fue de 39.5 en contraste la solo expresión de FLI-1 y KI-67 es bajo.(Tabla 9)

	ESTIMACION	INTERVALO DE CONFIANZA BAJO	INTERVALO DE CONFIANZA ALTO
Prevalencia aparente	0.644	0.570	0.714
Prevalencia verdadera	0.333	0.265	0.407
Sensibilidad	0.867	0.754	0.941
Especificidad	0.467	0.375	0.560
Valor predictivo positivo	0.448	0.356	0.543
Valor predictivo negativo	0.875	0.768	0.944
Exactitud diagnostica	0.600	0.524	0.672
Cociente de probabilidad de prueba positiva	1.625	1.338	1.974
Cociente de probabilidad de prueba negativa	0.286	0.146	0.560

Tabla 10. Sensibilidad y especificidad de expresión de FLI-1



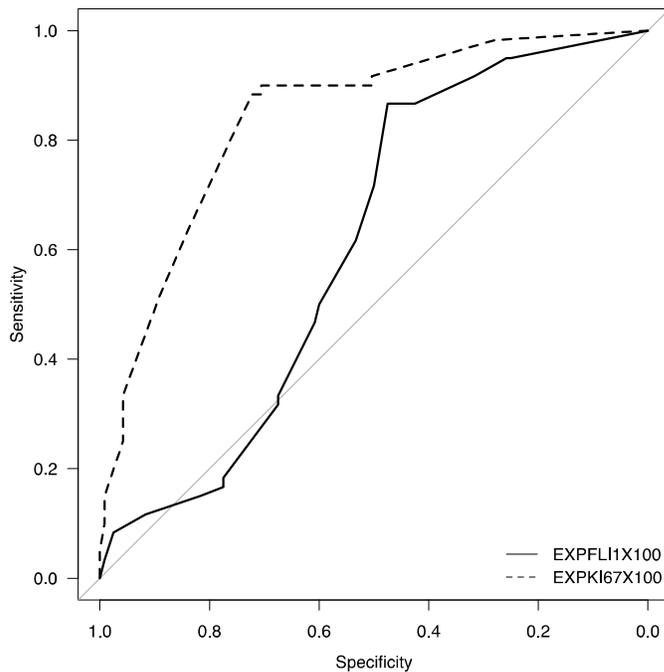
La expresión únicamente de FLI-1 presenta una sensibilidad del 86%, y la especificidad del 46% con un valor predictivo positivo de 44% y un valor predictivo negativo del 87%. (Tabla 10)

	ESTIMACION	INTERVALO DE CONFIANZA BAJO	INTERVALO DE CONFIANZA ALTO
Prevalencia aparente	0.450	0.376	0.526
Prevalencia verdadera	0.333	0.265	0.407
Sensibilidad	0.850	0.734	0.929
Especificidad	0.750	0.663	0.825
Valor predictivo positivo	0.630	0.515	0.734
Valor predictivo negativo	0.909	0.834	0.958
Exactitud diagnostica	0.783	0.716	0.841
Cociente de probabilidad de	3.400	2.450	4.718

prueba positiva			
Cociente de probabilidad de prueba negativa	0.200	0.109	0.369

Tabla 11. Sensibilidad y especificidad de co- expresión de KI-67/FLI-1

En la tabla 11 se observa que la sensibilidad de coexpresión KI-67/FLI-1 es muy significativo ya que es de 85% y 75%. (Grafica 2) respectivamente con intervalos de confianzas altos en ambos grupos con un valor predictivo positivo de 63% y con un valor predictivo negativo del 90%.



Gráfica 2. Especificidad y sensibilidad de co-expresión KI-67/FLI-1.



	OR	INTERVALO DE CONFIANZA (95%) BAJO	INTERVALO DE CONFIANZA (95%) ALTO	P
Expresión leve de FLI-1	2.91	0.725	11.7	0.132
Expresión moderada de FLI-1	4.87	1.23	19.2	0.02
Expresión intensa de FLI-1	7.07	1.61	31.1	0.009
Expresión leve de KI-67	9.48	1.18	76	0.03
Expresión moderada de KI-67	30	3.77	239	0.001
Expresión intensa de KI-67	69.6	6.91	701	0.0003
Coexpresion KI-67/FLI-1	17.0	7.4 9	38.6	1.29e-11

Tabla 12. Modelo final de regresión logística de intensidad de expresión KI-67 y FLI-1 y co-expresión en grupo de los casos.



## DISCUSIÓN.

La micosis fungoide actualmente corresponde al linfoma de células T cutáneo más frecuente. Es una enfermedad que puede presentar diferentes fases durante su presentación y el diagnóstico se realiza con la relación clínico-patológica siendo esta última la más importante por lo que el diagnóstico definitivo es por las características histopatológicas sobre todo en base al estudio de inmunohistoquímica correspondiente como el CD2, CD3, CD 5, CD8 y sobre todo CD 4.

En el panorama actual muchas veces es muy difícil establecer el diagnóstico histopatológico de esta enfermedad sobre todo en las fases iniciales aun realizando los métodos diagnósticos que se mencionó anteriormente, por lo que no son muy sensibles para establecer el diagnóstico con seguridad, por lo tanto, es común confundirlos con enfermedades cutáneas que presenten infiltrados benignos de células T ya que microscópicamente pueden ser muy parecido a la micosis fungoide en fases tempranas.

Actualmente hay pocos estudios sobre nuevos métodos diagnósticos histopatológicos y de inmunohistoquímica de esta enfermedad por lo que el estudio de inmunohistoquímica en base a la expresión del FIL-1 en la micosis fungoide que se llevó a cabo en el presente trabajo parece ser una buena alternativa y mejor aún co-expresado con el KI-67 que como se ha mencionado antes, es un anticuerpo que está presente en la mayoría de las neoplasias malignas y representa por lo general el pronóstico. En la literatura actual solo hay un estudio de la expresión de FIL-1 en esta enfermedad según lo mencionado en el trabajo de "Fli-1 expression in mycosis fungoides" por Bruce R. Smoller y



colaboradores de la universidad de Arkansas de estados unidos de américa en el cual la expresión de FLI-1 se observó en los 18/19 pacientes con micosis fungoide estudiados mencionando que de los 4 pacientes con MF en etapa tumoral expresaron el Fli-1 el 100% en forma intensa, 6 de los 12 pacientes con MF en etapa de placas y uno de tres pacientes con MF en etapa de maculas variando de intensidad de los restantes pero aun siendo positivos excepto en uno que no presento reacción correspondiendo la biopsia de un paciente en etapa de maculas,<sup>1</sup> sin embargo el estudio no es estadísticamente significativa por el número pequeño de casos estudiados.

En el presente trabajo se enfoca básicamente en determinar la frecuencia de expresión del KI-67 y FLI-1 en la micosis fungoide y en enfermedades cutáneas que presenten infiltrados linfoides de células T benignos que se tomaron como grupos de “control” así como determinar si existe una co-expresión entre estos dos anticuerpos en la MF y saber si hay una asociación en cuanto la expresión de estos anticuerpos según en la etapa que se encuentre en la MF.

En el estudio se observó que la mayor parte de los casos con MF son en mujeres con 65% comparado con hombres que fue de 35% el cual difiere con la literatura. Al igual que en la MF los casos con dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T que corresponde al grupo “control” se observó más en mujeres con 70%, por ende si tomamos en cuenta entre estos dos grupos realmente no hay diferencia significativa en cuanto el sexo.

La expresión de Ki-67 fue mayor en la MF con 90% comparado con el 28% de los “controles” ( $p < 0.001$ ) y la expresión de FLI-1 también fue mayor en la MF con un 87% comparado con los “controles” que fueron positivos en el 53% ( $p < 0.001$ ) además la intensidad de expresión del KI-67 y FLI-1 fue moderada en la mayoría



de los casos de MF y leve en la mayoría de los “controles”. Por lo tanto se puede observar que si existe una diferencia significativa en la expresión y la intensidad de estos marcadores entre los “casos” y “controles”.

La co-expresión de KI-67 y FLI-1 que se encontró es de mucho valor ya que se presentó en el 85% de los casos con MF comparado con el 25% de los “controles” ( $p < 0.001$ ) La sensibilidad de co-expresión de KI-67 Y FLI-1 fue de 85% con especificidad de 75%.

En base la etapa o fase de la enfermedad de la MF se obtuvo que el porcentaje de la expresión de ambos marcadores es mayor mientras más avanzado se encuentre esta enfermedad. La expresión de FLI-1 en la etapa de maculas presento una media de 23%, de 32% en la etapa de placas y 90% en etapa tumoral que solo fue de un caso. Con respecto a la expresión de KI-67 se encontró la misma relación encontrando mayor expresión mientras más avanzado este la enfermedad ya que en etapa de máculas se expresó con una media de 12%, de 24% en etapa de placas y 70% en etapa tumoral.

El resultado del modelo final de regresión logística muestra que la co-expresión de ambos marcadores es 39.5 veces más probable cuando se establece diagnóstico de MF. Es superior a la expresión individual de FLI-1 con 0.9 OR o KI-67 con 1.1 OR. Es importante mencionar también que la intensidad alta de co-expresión de KI-67 y FLI-1, es mayor (17.07OR) que la expresión intensa de FLI-1 (7.07) pero menor que la expresión intensa de Ki-67 (69.6OR) comparándolos con la intensidad de expresión leve de FLI-1 de 2.99OR y KI-67 9.48OR. Y la expresión moderada que obtuvieron un valor de FLI-1 de 4.87OR y Ki-67 DE 30.0 OR.



Este trabajo demuestra que la expresión de KI-67 y FLI-1 en la MF es mayor comparada con dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T. El porcentaje de expresión es mayor en la MF y la intensidad de expresión según la etapa de la enfermedad es directamente proporcional. De los resultados más importantes que se obtuvieron fue que la sensibilidad de la co expresión de Fli-1 y Ki-67 es de 85% con una especificidad de 75% en las biopsias con MF, por lo tanto, de forma general sugiere ser de utilidad para el pronóstico de MF.

Lo que se puede ver claramente gracias a la alta sensibilidad y especificidad así como el valor alto de OR del modelo de regresión logística que se obtuvo de la coexpresión de estos marcadores, es que puede ser utilizado junto con los marcadores convencionales para poder establecer con más confianza el diagnóstico histopatológico de MF ya que estadísticamente fue muy significativo y quizás aún mejor la coexpresión se pueda utilizar como área de oportunidad en futuras terapias blanco en esta patología.



## **LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.**

Las limitaciones de este estudio incluyen que para valorar el valor pronóstico con seguridad de la micosis fungoide con estos marcadores, se necesita dar seguimiento a estos pacientes el cual incluyen varios años. Otro limitante fue haber contado únicamente con un caso de micosis fungoide en etapa tumoral.

Las perspectivas interesantes sería realizar en un futuro un estudio enfocado en la posible terapia dirigida contra el FLI-1 de los pacientes con MF y dar un seguimiento adecuado de estos pacientes para valorar la respuesta así como también sería interesante un estudio de seguimiento de los pacientes para ver el pronóstico según por intensidad de expresión de estos marcadores de inmunohistoquímica.



## CONCLUSIONES.

- 1- La frecuencia de expresión positivo de ki-67 y FLI-1 es mayor en las biopsias con MF comparado con dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T con  $p$  de  $< 0.001$ .
- 2- La co-expresión de KI-67/FLI-1 es mayor en las biopsias con MF comparado con dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T con  $p < 0.001$ .
- 3- Se observó que a mayor etapa de la MF mayor será el porcentaje de expresión de KI-67 Y FLI-1.
- 4- La intensidad de expresión de FLI-1 y KI-67 es más prominente en la MF comparado con dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T.
- 5- El resultado de modelo de regresión logística (OR de 39.5) que se obtuvo en la co-expresión KI-67/FLI-1 así como la alta sensibilidad y especificidad es de utilidad junto con los marcadores convencionales para poder establecer el diagnóstico de esta patología ya que fue de 85% y 75% respectivamente.
- 6- El género entre la MF y dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T no es estadísticamente significativo.



- 7- La edad entre MF y dermatosis benignas con infiltrados linfoides de células T es estadísticamente significativo con  $p = 0.002$ .



## BIBLIOGRAFÍA.

1. Diego Navarro Vera. Efecto de la proteína EWS/FLI1 sobre la expresión del gen DICKKOPF-1 y la vía Wnt/ -catenina en sarcoma de Ewing, Universidad Autónoma de Madrid Departamento de Bioquímica, 2014: 131p.
2. C. Matthew Quick, Bruce R.Smoller and Kim M. Hiatt. Fli-1 expression in mycosis fungoides, Journal of Cutaneous Pathology 2006: 33: 642–645
3. Eramah Ermiah, Abdelbaset Buhmeida<sup>3</sup>, Fathi Abdalla<sup>4</sup>, Ben Romdhane Khaled<sup>5</sup>, Nada Salem<sup>6</sup>, Seppo Pyrhönen<sup>1</sup> and Yrjö Collan. Prognostic Value of Proliferation Markers: Immunohistochemical Ki-67 Expression and Cytometric S-Phase Fraction of Women with Breast Cancer in Libya, Journal of Cancer 2012:56: 422-423
4. S.carlos DelBuano, David Zembo, Veronica Runyan, Mark Corl, Paul Ardi. Immunohistochemuistry reference guide 2001: 10: 141
5. Eros N, Karolyi Z, Matolcsy A. Complex histologic, immunophenotypic and molecular genetic investigation in cutaneous T-cell lymphoproliferative diseases. Orv Hetil 2004:1452:75-80
6. Fung MA, Murphy MJ, Hoss DM, Grant-Kels JM. Practical evaluation and management of cutaneous lymphoma. J Am Acad Dermat 2002; 46: 325-60.
7. Wilcox RA.Cutaneous T-cell lymphoma: 2011 update on diagnosis, risk-stratification, and management.Am J Hematol. 2011 Nov; 86:928-48.



8. Ralfkiaer E, Delsol G, Willemze R, Jaffe ES. Primary cutaneous CD30-positive T-cell lymphoproliferative disorders,. 1.<sup>a</sup> ed. Lyon: IARC Press., 2001; 221-224
9. L. Fuertes<sup>a</sup>, C. Santonja<sup>b</sup>, H. Kutzner<sup>c</sup>, L. Requena Inmunohistoquímica en dermatopatología: revisión de los anticuerpos utilizados con mayor frecuencia Actas Dermosifiliogr. 2013; 104:181-203.
- 10.L. Requena, Micosis fungoide., menarini,(en linea) , 2008: 380-383 disponible en: <https://www.menarini.es/images/dermatopatologia/Derma092>.
- 11.Gómez S, Pérez N, Micosis fungoide y síndrome de Sézary, Actas Dermosifiliogr 2001; 92:193-206.
- 12.Fung M, Murphy M, Hoss D, et al. Practical evaluation and management of cutaneous lymphoma, J Am Acad Dermatol 2002; 46:325-57.
13. Ackerman AB, Chongchitnant N, Sanchez J, Guo Y, Bennin B, Reichel M, Randall MB. Histologic Diagnosis of Inflammatory Skin Diseases. An Algorithmic Method Based on Pattern Analysis. Second Edition. Baltimore, 1997; 2892 p
- 14.Christopher E.M. Griffiths, MD. Psoriasis: future research needs and goals for de twenty-first century, Dermatol Clin 2004; 22:493-499.
15. J.L. Rodríguez Peralto, L. Calzado y F. Vanaclocha, Psoriasis ,menarini( en línea), 2010;124-126 disponible en: <https://www.menarini.es/images/dermatopatologia/Derma124>.



16. L. Requena. Pitiriasis liquenoide, menarini(en linea), 2010; 34-36 disponible en <https://www.menarini.es/images/dermatopatologia/Derma114>.
17. Raymond Barnill, A. Neil Crowson. Pityriasis lichenoides. Dermatopathology second edition, Mac Graw 2010; 85-86
18. Rodríguez AM, Carbajal PP Liquen plano., Rev Cent Dermatol Pascua 2006; 15
19. Raymond Barnill, A. Neil Crowson. Liquen planus. Dermatopathology second edition, Mac Graw 2010; 1543 p
20. Taieb A, El Youbi A, Grosshans E, Maleville J. Lichen Striatus: A Blaschko linear acquired inflammatory skin eruption. J Am Acad Dermatol, 1991; 25; 637-642.
21. Cooper SM, Wojnarowska F. Influence of treatment of erosive lichen planus of the vulva on its prognosis. Arch Dermatol 2006;142(3):289-94
22. L. Requena. Liquenificación y prurigo nodular. menarini(en linea), 2008; 67-69, disponible en : <https://www.menarini.es/images/dermatopatologia/Derma085>.
23. R development core team, A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2011; 23: 77-91
24. D. Hallberg, Bone Marrow Transplantation, advance online publication, December 3, 2013; 48:452-458