

**PERFIL Th1/Th2 E EXPRESSÃO DO ANTÍGENO LINFOCITÁRIO CUTÂNEO
(CLA) EM PACIENTES COM MICOSE FUNGÓIDE TRATADOS COM PUVA**

Jorge Ricardo da Silva Machado

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Dermatologia).

Orientadores: Prof. Dr. Absalom Lima Filgueira
Prof^a. Dr^a Adriana Bonomo
Prof^a. Dr^a. Tullia Cuzzi

Rio de Janeiro

2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**PERFIL Th1/Th2 E EXPRESSÃO DO ANTÍGENO LINFOCITÁRIO CUTÂNEO
(CLA) EM PACIENTES COM MICOSE FUNGÓIDE TRATADOS COM PUVA**

Jorge Ricardo da Silva Machado

Orientadores: Prof. Dr. Absalom Lima Filgueira
Prof^a. Dr^a. Adriana Bonomo
Prof^a. Dr^a. Tullia Cuzzi

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Dermatologia).

Aprovada por:

Presidente, Prof^a. Dr^a. Nurimar Conceição Fernandes

Prof^a. Dr^a. Claudia de Alencar Santos Lage

Prof. Dr. Jose Marcos Telles da Cunha

Prof^a. Dr^a. Mayra Carrijo Rochael

Prof^a. Dr^a. Neide Kalil Gaspar

Machado, Jorge Ricardo da Silva

Perfil Th1/Th2 e expressão do antígeno linfocitário cutâneo (CLA) em pacientes com micose fungóide tratados com PUVA/ Jorge Ricardo da Silva Machado. – Rio de Janeiro: UFRJ / Faculdade de Medicina, 2007.

xxv, 136 p., il., 29,5 cm.

Orientadores: Absalom Lima Filgueira, Adriana Bonomo, Tullia Cuzzi

Tese (Doutorado) – UFRJ / Faculdade de Medicina / Dermatologia, 2007.

Referências Bibliográficas: p. 97-133.

1. Micose fungóide. 2. Imunofenotipagem de linfócito. 3. Células Th1. 4. Células Th2. 5. Fotoquimioterapia. – Tese. I. Filgueira, Absalom Lima. II. Bonomo, Adriana. III. Cuzzi, Tullia. IV. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Dermatologia. V. Título.

*A minha mulher, Sandra, e
aos nossos filhos
Giovanni, Stefano e Isabella*

Agradecimentos

Ao Professor Absalom Lima Filgueira, Professor Titular de Dermatologia e coordenador do Curso de Pós-Graduação em Dermatologia da UFRJ, pela oportunidade de ter conhecido um pouco do fascinante campo da Fotodermatologia, por suas valiosas orientações, amizade e respeito.

À Professora Adriana Bonomo, Professora Associada do Departamento de Imunologia do Instituto de Microbiologia da UFRJ, orientadora e idealizadora desse projeto, por ter acreditado que poderíamos chegar até aqui, por não ter poupado esforços para a realização desse trabalho, por suas orientações sempre precisas e por todo carinho.

À Professora Tullia Cuzzi, Professora Adjunta do Departamento de Patologia, por suas imensuráveis contribuições e orientações na análise dos exames histopatológicos e imunohistoquímicos desse trabalho.

Ao Pesquisador Assistente do Instituto Fernandes Figueira - FIOCRUZ, Ziltom Vasconcelos, pela realização da citometria de fluxo e por suas valiosas contribuições.

Ao Curador do Banco de Células do Rio de Janeiro Antonio M. Monteiro, pela grande ajuda na separação, congelamento e armazenamento das células do sangue periférico.

Ao Professor Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerda, Professor Titular e chefe do Departamento de Anatomia da UERJ, por sua generosidade em compartilhar seus conhecimento em morfometria.

Às Dr^{as}. Alba Palermo Neves, Daniela Pereira Antelo, Luciana O. Lima e Márcia Mattos e Silva, pela amizade e gentileza ao compartilharem conhecimentos,

Resumo

PERFIL Th1/Th2 E EXPRESSÃO DO ANTÍGENO LINFOCITÁRIO CUTÂNEO (CLA) EM PACIENTES COM MICOSE FUNGÓIDE TRATADOS COM PUVA

Jorge Ricardo da Silva Machado

Orientadores: Prof. Dr. Absalom Lima Filgueira
Prof^a. Dr^a. Adriana Bonomo
Prof^a. Dr^a. Tullia Cuzzi

Resumo da Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Dermatologia).

A micose fungóide (MF), forma mais comum de linfoma cutâneo de células T (LCCT), caracteriza-se pela proliferação de linfócitos T neoplásicos, cuja análise fenotípica geralmente revela a presença de células CD4+CD8-CD7-. Seu prognóstico parece sofrer influência importante por parte das citocinas, visto que a perda da imunidade celular (Th1) está diretamente relacionada à progressão da doença. Estudos antagônicos têm sido publicados sobre o perfil das citocinas na MF, principalmente nos estágios iniciais da doença. Além disso, o comportamento dessas citocinas diante das diversas opções terapêuticas foi avaliado por apenas um estudo clínico que utilizou como forma de tratamento a fotoférese extracorpórea (ECP). O antígeno linfocitário cutâneo (CLA) também tem sido implicado como

marcador prognóstico. Seu comportamento na pele de pacientes portadores de MF após tratamento com PUVA ainda não é conhecido.

Decidiu-se, portanto, realizar o presente estudo com os objetivos de avaliar o efeito da terapia PUVA sobre a população de linfócitos T presentes na pele, através da imunofenotipagem dos marcadores CD4, CD8 e CD7, e no sangue periférico, através da imunofenotipagem dos marcadores CD4 e CD8; avaliar o perfil Th1/Th2 na pele e no sangue periférico antes da terapia PUVA, através da imunofenotipagem das células produtoras de IFN- γ (Th1) e IL-4 (Th2); avaliar o efeito da terapia PUVA sobre as células Th1 e Th2; e avaliar a presença das células CLA+ na pele antes e após a terapia PUVA;

Como metodologia utilizou-se a citometria de fluxo para quantificar CD4, CD8, IFN- γ e IL-4 no sangue periférico e a imunohistoquímica para quantificar CD4, CD8, CD7, CLA, IFN- γ e IL-4 na pele de sete pacientes portadores de MF, estágios IA e IB. Um grupo de seis indivíduos saudáveis foi utilizado como controle para as avaliações do sangue periférico.

A análise dos resultados permitiu concluir que houve uma redução importante das células CD4 e CD7 na pele, mas não das células CD8 na pele e CD4 e CD8 no sangue periférico após as 60 sessões de PUVA, que houve o predomínio das células Th1 na pele e no sangue periférico dos pacientes antes do tratamento, assim como no sangue periférico do grupo controle, que houve uma redução importante dessas células na pele, mas não no sangue periférico, com o uso da terapia PUVA, e que a maioria dos pacientes apresentavam células CLA+ na pele, as quais regrediram de forma significativa com o tratamento.

Este trabalho faz parte da linha de pesquisa em Fotodermatologia do HUCFF-UFRJ, em cooperação com o Serviço de Anatomia Patológica do HUCFF-UFRJ.

Palavras-chave: Micose fungóide, imunofenotipagem de linfócito, células Th1, células Th2, fotoquimioterapia.

Abstract

PERFIL Th1/Th2 E EXPRESSÃO DO ANTÍGENO LINFOCITÁRIO CUTÂNEO (CLA) EM PACIENTES COM MICOSE FUNGÓIDE TRATADOS COM PUVA

Jorge Ricardo da Silva Machado

Orientadores: Prof. Dr. Absalom Lima Filgueira
Prof^a. Dr^a. Adriana Bonomo
Prof^a. Dr^a. Tullia Cuzzi

Abstract da Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina (Dermatologia), Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Medicina (Dermatologia).

Mycosis fungoides, the most common form of cutaneous T cell Lymphoma, is characterized by the presence of neoplastic T cells which generally show a CD4+CD8-CD7- phenotype. Cytokines play an important role in the prognosis of MF, since the loss of cellular immunity is directly related to disease progression. Controversial studies have been published concerning cytokine profile, mainly in the early stages of the disease. Moreover, the behavior of these cytokines after treatment has only been evaluated after ECP. The loss of the cutaneous lymphocyte antigen (CLA) in the skin of MF patients has also been considered a marker of poor prognosis. Its behavior in patients treated with PUVA is not known.

It was decided, therefore, to evaluate the effects of PUVA on the T cell population present in the skin and blood, by quantifying the CD4, CD8 and CD7 cells in the skin and the CD4 and CD8 cells in the blood; to evaluate the Th1 and Th2 profile in the skin and blood before treatment, by quantifying the IFN- γ and IL-4

producing cells; to evaluate the effects of PUVA on Th1 and Th2 cells; and to evaluate the presence of the CLA⁺ cells in the skin before and after treatment.

Fluorescence cytometry and immunohistochemistry were used to quantify the CD4, CD8, IFN- γ and IL-4 producing cells in the peripheral blood and the CD4, CD8, CD7, CLA, IFN- γ and IL-4 producing cells in the skin, respectively, of seven patients with MF, stages IA and IB. The peripheral blood of six volunteers was used as control.

After the analysis of the results, it was concluded that there was an important reduction of the CD4 and CD7 cells in the skin, but not of the CD8 cells in the skin and the CD4 and CD8 cells in the blood; that a Th1 profile was present in the skin and blood of the patients before treatment as well as in the blood of the control group; that there was an important reduction of the Th1 cells in the skin, but not in the blood of the patients after treatment; and that most of the patients showed CLA⁺ cells in the skin, which also decreased with PUVA.

Key-words: Mycosis fungoides, lymphocyte immunophenotype, Th1 cells, Th2 cells, photochemotherapy.

Sumário

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	1
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	3
2.1 Linfomas cutâneos de células T	3
2.1.1 Definição	3
2.1.2 Epidemiologia	3
2.1.3 Etiologia	4
2.1.4 Classificação	5
2.1.5 O epidermotropismo	9
2.2 Micose fungóide	12
2.2.1 Definição	12
2.2.2 Manifestações clínicas	12
2.2.3 Diagnóstico	16
2.2.4 Estadiamento	19
2.2.5 Tratamento	22
2.2.5.1 Considerações gerais	22
2.2.5.2 PUVA	26
2.2.5.2.1 Histórico	26
2.2.5.2.2 Os psoralenos	27
2.2.5.2.3 As radiações ultravioleta	28
2.2.5.2.4 Alterações da resposta imune	33
2.2.5.2.5 Apoptose	35
2.2.5.2.6 Aspectos práticos	40
2.2.6 Prognóstico	42
2.2.7 O perfil Th1/Th2	44
3 METODOLOGIA	48
3.1 Casuística	48

3.1.1 Determinação do tamanho da amostra	48
3.2 Método	48
3.2.1 Seleção dos pacientes	48
3.2.1.1 Critérios de Inclusão	48
3.2.1.2 Critérios de exclusão	48
3.2.2 Ficha cadastral	49
3.2.3 Administração da terapia PUVA	49
3.2.4 Avaliação dos pacientes	49
3.2.4.1 Avaliação clínica	50
3.2.4.2 Coleta e armazenamento das biópsias de pele e do sangue periférico	51
3.2.4.3 Citometria de fluxo	51
3.2.4.4 Grupo controle	52
3.2.4.5 Imunohistoquímica	53
3.2.5 Anticorpos	54
3.2.6 Análise qualitativa das células da pele	54
3.2.7 Análise semiquantitativa das células da pele	55
3.2.8 Submissão à Comissão de Ética do HUCFF/UFRJ	55
4 RESULTADOS	56
4.1 Casuística	56
4.2 Análise das subpopulações de linfócitos T CD4 e CD8	58
4.2.1 Análise da subpopulação CD4 na epiderme	58
4.2.2 Análise da subpopulação CD4 na derme	58
4.2.3 Análise da subpopulação CD4 no sangue periférico	60
4.2.4 Análise da subpopulação CD8 na epiderme	61
4.2.5 Análise da subpopulação CD8 na derme	61
4.2.6 Análise da subpopulação CD8 no sangue periférico	62
4.2.7 Análise da relação CD4/CD8 na epiderme	64
4.2.8 Análise da relação CD4/CD8 na derme	64
4.2.9 Análise da relação CD4/CD8 no sangue periférico	64
4.3 Análise da subpopulação CD7	65

4.3.1	Análise da subpopulação CD7 na epiderme	65
4.3.2	Análise da subpopulação CD7 na derme	65
4.4	Análise das células CLA+	67
4.4.1	Análise das células CLA+ na epiderme	67
4.4.2	Análise das células CLA+ na derme	67
4.5	Estudo do fenótipo funcional	70
4.5.1	Análise das células produtoras de IFN- γ na epiderme	70
4.5.2	Análise das células produtoras de IFN- γ na derme	70
4.5.3	Análise dos linfócitos produtores de IFN- γ no sangue Periférico	71
4.5.3.1	Análise das células CD4 produtoras de IFN- γ no sangue periférico	72
4.5.3.2	Análise das células CD8 produtoras de IFN- γ no sangue periférico	74
4.5.4	Análise das células produtoras de IL-4 na epiderme	76
4.5.5	Análise das células produtoras de IL-4 na derme	76
4.5.6	Análise dos linfócitos produtores de IL-4 no sangue Periférico	77
4.5.6.1	Análise das células CD4 produtoras de IL-4 no sangue Periférico	79
4.5.6.2	Análise das células CD8 produtoras de IL-4 no sangue Periférico	80
4.5.7	Análise da relação dos linfócitos produtores de IFN- γ e IL-4 no sangue periférico	82
5	DISCUSSÃO	84
6	CONCLUSÕES	96
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
8	APÊNDICES	134

Lista de Siglas e Abreviaturas

ADN Ácido desoxirribonucléico

AIF Fator indutor de apoptose

AP Fosfatase alcalina

ARN Ácido ribonucléico

BSA Albumina sérica bovina

CCL17 quimiocina 17

CCL27 quimiocina 27

CCR4 receptor de CCL17

CCR7 receptor de CCL19

CCR10 receptor de CCL 27 e CCL 28

CD6056(0)-4.3

- EDTA** ácido etileno diamino tetracético
- E_{fóton}** Energia transportada por cada fóton
- EORTC** Organização Européia para Pesquisa e Tratamento do Câncer
- eV** elétron-Volt
- FADD** Proteína associada ao Fas com domínio da morte
- FAPERJ** Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
- FLICE** Caspase 8
- FLIPE** Proteína inibidora da caspase 8 (FLICE)
- h** Hora
- HIV** Vírus da imunodeficiência humana
- HTLV1** Vírus 1 T-linfotrópico humano
- ICAM-1** Molécula de adesão intercelular-1
- ICAM-3** Molécula de adesão intercelular-3
- IgE** Imunoglobulina E
- IL** Interleucina
- IL-1** Interleucina 1 alfa
- IL-4** Interleucina 4
- INF- γ** Interferon gama
- IV** Infravermelho
- J** Joule
- LCCT** Linfoma cutâneo de células T
- LCP** linfoma cutâneo primário
- LDH** Desidrogenase láctica
- LEEP-CAM** molécula de adesão linfócito epitélio-endotélio

LFA-1 Antígeno associado à função linfocitária

LSAB Sistema estreptovidina biotina

m Metro

MF Micose fungóide

5-MOP 5-metoxipsoraleno

8-MOP 8-metoxipsoraleno

NK Células *natural killer*

nm Nanômetro

OMS Organização Mundial de Saúde

PCR Reação de polimerase em cadeia

PDT Terapia fotodinâmica

PGE2 Prostaglandina E2

PUVA Psoraleno + ultravioleta A

RAR Receptor de ácido retinóico

RXR Receptor retinóico X

SS Síndrome de Sézary

t Tempo

TCR Receptor de célula T

Th1 Linfócitos T auxiliares 1

Th2 Linfócitos T auxiliares 2

TNF- Fator de necrose tumoral

TNFR1 Receptor 1 para TNF

TNF- Fator de necrose tumoral

TRADD Proteína associada ao receptor TNF com domínio da morte

UCA Ácido urocânico

UV Ultravioleta

UVA Ultravioleta A

UVB Ultravioleta B

UVC Ultravioleta C

V Volt

VCAM-1 Molécula de adesão à célula vascular

Lista de Figuras

Figura 1 O espectro eletromagnético	29
Figura 2 Grau de penetração das radiações ópticas na pele humana	30
Figura 3 Ácido urocânico – formas <i>trans</i> e <i>cis</i>	33
Figura 4 Apoptose imediata	37
Figura 5 Apoptose intermediária	39
Figura 6 Apoptose tardia	40
Figura 7 Paciente 4 pré-tratamento	57
Figura 8 Paciente 4 pós-tratamento	57
Figura 9 Paciente 5 pré-tratamento	58
Figura 10 Paciente 5 pós-tratamento	58
Figura 11 Células CD4+ na derme	59
Figura 12 Células CD8+ na derme	62
Figura 13 Células CD7+ na derme	66
Figura 14 Células CLA+ na epiderme	68
Figura 15 Células CLA+ na derme	69
Figura 16 Células produtoras de IFN- γ na derme	70
Figura 17 Células produtoras de IL-4 na derme	76

Lista de Gráficos

Gráfico 1 Variação individual das células CD4 no sangue periférico pré e pós PUVA	60
Gráfico 2 Variação da média das células CD4 no sangue periférico pré e pós PUVA	61
Gráfico 3 Variação individual das células CD8 no sangue periférico pré e pós PUVA	63
Gráfico 4 Variação da média das células CD8 no sangue periférico pré e pós PUVA	63
Gráfico 5 Variação da relação das médias das células CD4 e CD8 no sangue periférico pré e pós PUVA	65
Gráfico 6 Variação individual dos linfócitos produtores de IFN- γ no sangue periférico pré e pós PUVA	72
Gráfico 7 Variação da média dos linfócitos produtores de IFN- γ no sangue periférico pré e pós PUVA	72
Gráfico 8 Variação individual das células CD4 produtoras de IFN- γ no sangue periférico pré e pós PUVA	73
Gráfico 9 Variação da média das células CD4 produtoras de IFN- γ no sangue periférico pré e pós PUVA	74

Gráfico 10 Variação individual das células CD8 produtoras de IFN- γ no sangue periférico pré e pós PUVA	75
Gráfico 11 Variação da média das células CD8 produtoras de IFN- γ no sangue periférico pré e pós PUVA	75
Gráfico 12 Variação individual dos linfócitos produtores de IL-4 no sangue periférico pré e pós PUVA	78
Gráfico 13 Variação da média dos linfócitos produtores de IL-4 no sangue periférico pré e pós PUVA	78
Gráfico 14 Variação individual das células CD4 produtoras de IL-4 no sangue periférico pré e pós PUVA	79
Gráfico 15 Variação da média das células CD4 produtoras de IL-4 no sangue periférico pré e pós PUVA	80
Gráfico 16 Variação individual das células CD8 produtoras de IL-4 no sangue periférico pré e pós PUVA	81
Gráfico 17 Variação da média das células CD8 produtoras de IL-4 no sangue periférico pré e pós PUVA	81
Gráfico 18 Variação da relação das médias dos linfócitos produtores de IFN- γ e IL-4 no sangue periférico pré e pós PUVA	83

Lista de Quadros

Quadro 1 Classificação dos linfomas cutâneos primários segundo a EORTC	6
Quadro 2 Classificação dos linfomas cutâneos de células T e NK segundo a OMS	7
Quadro 3 Classificação dos linfomas cutâneos de células T e NK segundo a OMS e EORTC	8
Quadro 4 MF-variantes clínicas	14
Quadro 5 Dermatoses clinicamente simuladas pela MF	15
Quadro 6 Critérios histológicos para o diagnóstico de MF – estágio inicial	16
Quadro 7 Sistema de pontuação para estimar a probabilidade do diagnóstico de MF	19
Quadro 8 Estadiamento da MF (TNMB)	20
Quadro 9 Estadiamento da MF segundo a OMS	21
Quadro 10 Estadiamento da MF segundo a Universidade de Graz	21
Quadro 11 Estadiamento da MF (TNMB modificado)	22
Quadro 12 Opções terapêuticas para MF/ SS	23
Quadro 13 Opções terapêuticas segundo os estágios da doença	24
Quadro 14 Distribuição da energia solar na superfície terrestre	29
Quadro 15 Determinação do Fototipo	41 Dermatol 4.67474

Lista de Tabelas

Tabela 1 Distribuição por idade e sexo	56
Tabela 2 Distribuição por estágio da doença, fototipo, dose acumulada de UVA e resposta terapêutica	57
Tabela 3 Análise semiquantitativa das células CD4 na derme, antes e após tratamento	58
Tabela 4 Percentagem das células CD4 no sangue periférico, antes e após tratamento	60
Tabela 5 Análise semiquantitativa das células CD8 na derme, antes e após tratamento	61
Tabela 6 Percentagem das células CD8 no sangue periférico, antes e após tratamento	62
Tabela 7 Percentagem das médias das células CD4 e CD8, antes e após tratamento	64
Tabela 8 Análise semiquantitativa das células CD7 na derme, antes e após tratamento	66
Tabela 9 Análise semiquantitativa das células CLA na derme, antes e após tratamento	67
Tabela 10 Análise semiquantitativa das células produtoras de IFN- γ na	70

derme, antes e após tratamento

Tabela 11 Percentagem dos linfócitos produtores de IFN- γ no sangue periférico, antes e após tratamento	71
Tabela 12 Percentagem dos linfócitos produtores de IFN- γ no sangue periférico do grupo controle	71
Tabela 13 Percentagem das células CD4 produtoras de IFN- γ no sangue periférico, antes e após tratamento	73
Tabela 14 Percentagem das células CD8 produtoras de IFN- γ no sangue periférico, antes e após tratamento	74
Tabela 15 Análise semiquantitativa das células produtoras de IL-4 na derme, antes e após tratamento	76
Tabela 16 Percentagem dos linfócitos produtores de IL-4 no sangue periférico, antes e após tratamento	77
Tabela 17 Percentagem dos linfócitos produtores de IL-4 no sangue periférico do grupo controle	77
Tabela 18 Percentagem das células CD4 produtoras de IL-4 no sangue periférico, antes e após tratamento	79
Tabela 19 Percentagem das células CD8 produtoras de IL-4 no sangue periférico, antes e após tratamento	803
Tabela 20 Percentagem das médias dos linfócitos produtores de IFN- γ e IL-4, antes e após tratamento	82

Tabela 21 Percentagem das médias dos linfócitos produtores de IFN- γ e IL-4 no sangue periférico do grupo controle **82**

1 Introdução e Objetivos

A micose fungóide (MF), forma mais comum de linfoma cutâneo de células T (LCCT), caracteriza-se pela proliferação de linfócitos T neoplásicos, epidermotrópicos, de tamanhos pequeno e médio. É representada pela forma clássica de Alibert-Bazin, com evolução progressiva de máculas, placas e tumores, e pelas variantes clínicas com características histológicas e curso clínico semelhante (WILLEMZE et al, 1997).

O diagnóstico da MF baseia-se, fundamentalmente, na correlação clínico-patológica, porém o emprego de técnicas de análise genotípica e de imunofenotipagem, o qual geralmente revela a presença de células CD4+CD8-CD7-, pode ser útil quando se está diante de um caso onde as lesões cutâneas e o exame histopatológico são sugestivos, mas não conclusivos de MF (GIRARDI, HEALD & WILSON, 2004; DIPPEL, KLEMKE & GOERDT, 2003; STEVENS et al, 2003; SANTUCCI et al, 2000).

As opções terapêuticas para o tratamento da MF variam de acordo com o estágio da doença (Quadro 13) e a utilização do psoraleno associado à radiação UVA (PUVA) representa uma opção eficaz para os estágios iniciais (IA, IB e IIA) (KIM et al, 2005).

Os mais importantes indicadores de prognóstico são o tipo de lesão (T), o estágio da doença e a idade do paciente. A presença de eosinofilia periférica e de elevadas taxas de LDH e de células de Sézary também está relacionada a um pior prognóstico, assim como as variantes histológicas folicular e granulomatosa e a presença de células CD30+ (KIM et al, 2005).

A participação das citocinas no prognóstico da MF tem demonstrado importância fundamental, visto que a perda da imunidade celular (Th1) está diretamente relacionada à progressão da doença (SAED et al, 1994).

Desde a publicação, em 1994, dos estudos de SAED e colaboradores e de VOWELS e colaboradores têm se descrito resultados antagônicos no que diz respeito à origem e ao perfil das citocinas presente na MF, principalmente nos estágios iniciais.

Além disso, o comportamento dessas citocinas Th1 e Th2 diante das diversas opções terapêuticas para a MF foi avaliado por apenas um estudo clínico que utilizou como forma de tratamento a fotoférese extracorpórea (ECP) (DI RENZO et al, 1997).

Da mesma forma, o CLA têm sido implicado como um marcador de prognóstico. Sua maior presença no sangue periférico e menor presença na pele, segundo alguns estudos, indicaria uma evolução menos favorável.

Decidiu-se, portanto, realizar o presente estudo com os objetivos de avaliar:

1- O efeito da terapia PUVA sobre a população de linfócitos T presentes na pele, através da imunofenotipagem dos marcadores CD4, CD8 e CD7.

2- O efeito da terapia PUVA sobre a população de linfócitos T presentes no sangue periférico, através da imunofenotipagem dos marcadores CD4 e CD8.

3- O perfil Th1/Th2 na pele e no sangue periférico antes da terapia PUVA, através da imunofenotipagem das células produtoras de IFN- γ (Th1) e IL-4 (Th2).

4- O efeito da terapia PUVA sobre as células produtoras de IFN- γ e IL-4 presentes na pele e no sangue periférico.

5- A presença das células CLA+ na pele antes e após a terapia PUVA.

2 Fundamentação teórica

2.1 Linfomas cutâneos de células T

2.1.1 Definição

Os LCCT representam um grupo heterogêneo de neoplasias, caracterizado pela presença de linfócitos T malignos e epidermotrópicos (DIPPEL, KLEMKE & GOERDT, 2003).

Podem ser definidos como linfomas não-Hodgkin, que se apresentam, na época do diagnóstico, com comprometimento cutâneo exclusivo, i.e., sem a evidência de lesões em outros órgãos, avaliados por métodos de estadiamento apropriados. Essa definição, no entanto, não se aplica aos casos de micose fungóide (MF) clássica com comprometimento de linfonodos, nem aos casos de síndrome de Sézary (SS) onde, por definição, possui acometimento do sangue periférico, sendo estas as duas únicas apresentações de LCCT com possível comprometimento inicial de outros órgãos que não exclusivamente a pele (FINK-PUCHES et al, 2002; SLATER, 2002; WILLEMZE et al, 1997).

2.1.2 Epidemiologia

Os LCCT são neoplasias relativamente raras, cuja incidência varia entre 0,13 e 0,9 caso/ 100.000/ ano. Uma provável justificativa para tão grande variabilidade é a não uniformidade dos critérios diagnósticos empregados. Acometem com maior frequência pacientes do sexo masculino (2:1), entre 40 – 60 anos de idade, e têm na MF a sua forma de apresentação mais comum, a qual representa cerca de 80-85%

de todos os LCCT (MORALES-SUÁREZ-VARELA et al, 2000; ZACKHEIM, 1999; WILLEMZE et al, 1997).

MORALES-SUÁREZ-VARELA e colaboradores (2000) relataram um aumento na incidência da MF. É possível, no entanto, que esse aumento não represente um aumento real, mas o reflexo da melhoria das técnicas de diagnóstico, o que tem possibilitado uma melhor distinção de quadros dermatológicos benignos, aos quais a MF pode se assemelhar muito clínica e histologicamente.

2.1.3 Etiologia

Agentes infecciosos, alterações genéticas e exposição ocupacional crônica a produtos químicos, pesticidas e tabaco já foram implicados, sem comprovação, como possíveis fatores etiológicos relacionados aos LCCT (GIRARDI, HEALD & WILSON, 2004).

A observação de que indivíduos infectados pelo HTLV-1 desenvolvem leucemia de células T com lesões cutâneas idênticas às observadas nos pacientes portadores de LCCT fez com que se pensasse que os LCCT também pudessem ser consequência da infecção pelo HTLV-1 ou outro retrovírus (HTLV-2; HIV), fato ainda controverso (BONI et al, 1996; LI et al, 1996).

O citomegalovírus (CMV) é outro vírus descrito com possível envolvimento na etiologia dos LCCT. HERNE et al (2003) relataram, em um estudo passível de críticas, que 97% dos pacientes avaliados, portadores de MF e SS, apresentaram sorologia positiva para o CMV (IgG) em comparação a 57% do grupo controle. A taxa de soropositividade para o vírus Epstein-Barr (EBV), já relacionado a vários outros linfomas (ex. doença de Hodgkin, linfoma de Burkitt), também foi avaliada de forma isolada por esses mesmos autores em 13 pacientes com uma positividade de 100%.

2.1.4- Classificação

Nos últimos 50 anos, 14 métodos de classificação dos linfomas não-Hodgkin foram estabelecidos sem um consenso internacional. Na década de 80, por exemplo, europeus e norte-americanos utilizavam classificações distintas, Kiel e *Working For ul tion*, respectivamente. Em 1994, no entanto, com o objetivo de se obter uma classificação única e de incluir formas até então desconhecidas, estabeleceu-se a *revised European American classification* (REAL). Apesar de amplamente utilizada, sofreu críticas por se basear principalmente nos linfomas sistêmicos e por excluir certas formas de linfoma cutâneo. Como consequência, em 1997, o Grupo do Projeto Linfoma Cutâneo da EORTC desenvolveu uma classificação exclusiva para os linfomas cutâneos primários T e B (Quadro 1). Apesar de identificar de forma precisa as características clínicas, histopatológicas, terapêuticas e prognósticas, principalmente dos de células T, não obteve aceitação universal por se tratar de uma classificação órgão específica (RUSSEL-JONES, 2003; SANDER et al, 1997; WILLEMZE et al, 1997).

Em 2000, a Organização Mundial de Saúde (OMS) publicou um consenso que rejeitava o sistema de classificação órgão específica e tentava reunir as diferentes formas de classificar os tumores hematopoiéticos e do tecido linfóide, incluindo, inclusive, a grande maioria das entidades descritas pela EORTC (Quadro 2) (HARRIS et al, 2000). RUSSELL-JONES (2003), ao analisá-lo, ressaltou a imprecisão da definição da SS, em comparação à classificação da EORTC, que utilizava critérios hematológicos específicos (relação CD4: CD8 >10 e presença de célula T do clone maligno no sangue periférico). FINK-PUCHES e colaboradores (2002), por sua vez, ao avaliarem 556 pacientes portadores de linfoma cutâneo primário (LCP), concluíram que a classificação da EORTC permitiu uma categorização mais precisa dos pacientes, principalmente dos portadores de linfoma

cutâneo de células B. Além disso, eles ressaltaram a importância de se manter a MF e a SS em categorias distintas, por possuírem tratamento e prognóstico distintos, fato não observado na classificação da OMS.

Quadro 1 Classificação dos linfomas cutâneos primários segundo a EORTC

Linfomas cutâneos de células T primários	
Indolentes	
◆	Micose fungóide (MF)
◆	MF + mucinose folicular
◆	Reticulose pagetóide
◆	LCCT de grandes células, CD 30+
	• Anaplásico
	• Imunoblástico
	• Pleomorfo
Agressivos	
◆	Síndrome de Sézary
◆	LCCT de grandes células, CD 30 –.
	• Imunoblástico
	• Pleomorfo
Provisórios	
◆	Cútis laxa granulomatosa
◆	LCCT pleomorfo de pequenas e médias células
◆	Linfoma de célula T paniculite subcutânea-símile

Fonte: WILLEMZE, R. et al. EORTC classification for primary cutaneous lymphomas: A proposal from the cutaneous lymphoma study group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. Blood, v.90, n.1, p.354-371, 1997.

Quadro 2 Classificação dos linfomas cutâneos de células T e NK segundo a OMS

Neoplasias de células T e NK

- ◆ Neoplasias de células T precursoras
 - Leucemia/ linfoma linfoblástico
- ◆ Neoplasias de células T maduras (periféricas)
 - Leucemia prolinfocítica
 - Leucemia linfocítica granular
 - Leucemia agressiva de células NK
 - Leucemia/ linfoma de células T do adulto (HTLV1+)
 - Linfoma de células T/ NK extranodal, nasal
 - Linfoma de células T enteropática
 - Linfoma de células T hepatoesplênico
 - Linfoma de células T paniculite subcutânea-símile
 - Micose fungóide/ Síndrome de Sézary
 - Linfoma de grandes células anaplásico cutâneo primário
 - Linfoma de células T periférico
 - Linfoma de células T angioimunoblástico
 - Linfoma de grandes células anaplásico sistêmico primário

Neoplasias de células T periféricas, primárias, extranodais. Variantes e subtipos

- ◆ Micose fungóide (MF)– variantes
 - Reticulose pagetóide
 - Mucinose folicular associada à MF
 - Cútis laxa granulomatosa
- ◆ Doenças linfoproliferativas cutâneas primárias de células T CD 30 +
 - Papulose linfomatóide (tipos A e B)
 - Linfoma de grandes células anaplásico cutâneo primário
 - Lesões borderline

Fonte: HARRIS, N.L. et al. The World Health Organization classification of neoplastic diseases of the haematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee Meeting, Airlie House, Virginia, November 1997. *Histopathology*, v.36, p.69-87, 2000.

A contínua discussão sobre qual das duas classificações (EORTC e OMS) seria a que melhor se adequaria aos pacientes portadores de linfoma cutâneo primário, fez com que representantes das duas organizações se reunissem em 2003 e 2004 e elaborassem uma classificação única (OMS-EORTC) (Quadro 3), contribuindo significativamente para a uniformização do diagnóstico e tratamento. É

provável, no entanto, que com a realização de novos estudos da expressão protéica e genética desses linfomas, a elaboração de novas classificações se faça necessária, inclusive com uma possível subdivisão dos LCCT segundo o perfil Th1 e Th2 desses pacientes (SLATER, 2005; WILLEMZE, et al, 2005).

Quadro 3 Classificação dos linfomas cutâneos de células T e NK segundo a OMS e EORTC

Linfomas cutâneos de células T e NK
Micose fungóide
MF – variantes e subtipos
<ul style="list-style-type: none"> • MF foliculotrópica • Reticulose pagetóide • Cútis laxa granulomatosa
Síndrome de Sézary
Leucemia/linfoma de células T do adulto
Doenças linfoproliferativas cutâneas primárias de células T CD 30 +
<ul style="list-style-type: none"> • Linfoma de grandes células anaplásico cutâneo primário • Papulose linfomatóide
Linfoma de células T paniculite subcutânea-símile
Linfoma de células T/ NK extranodal, nasal
Linfoma cutâneo primário periférico de células T, inespecífico
<ul style="list-style-type: none"> • Linfoma cutâneo primário de células T epidermotrópico agressivo CD8+ (provisório) • Linfoma cutâneo de células T • Linfoma cutâneo primário de células T pequenas e médias pleomorfo (provisório)
Linfoma cutâneo de células B
Linfoma cutâneo primário de células B marginal
Linfoma cutâneo primário centro folicular
Linfoma cutâneo primário de células B grandes difuso, tipo perna
Linfoma cutâneo primário de células B grandes difuso, outros
<ul style="list-style-type: none"> • Linfoma de células B grandes intravascular
Neoplasia hematológica precursora
Neoplasia hematodérmica CD4+/CD56+ (linfoma de células NK blástico)

2.1.5 O epidermotropismo

A capacidade que algumas células T possuem de migrar da corrente sanguínea para a pele é decorrente de um mecanismo que envolve moléculas de adesão e citocinas (TAKAHASHI et al, 2003).

As moléculas de adesão dos grupos das selectinas e integrinas têm papel importante na migração celular pelos diferentes compartimentos do organismo através da interação célula-célula e célula-matriz extracelular (DRILLENBURG & PALS, 2000).

Tanto as selectinas quanto as integrinas são glicoproteínas transmembranosas. Estão presentes também nos linfócitos, e atuam como mediadores da sua interação com uma variedade de células e componentes da matriz extracelular. As selectinas se caracterizam por possuírem uma única cadeia e um domínio lectina-símile. As integrinas, por sua vez, são compostas por duas subunidades, α e β , dependentes de ativação prévia por citocinas. Apesar de atualmente se utilizar a nomenclatura $\alpha\beta$, designações prévias para as diversas integrinas ainda permanecem em uso (ex. LFA-1 para $\alpha L\beta 2$). Além disso, várias integrinas $\beta 1$ ainda são referidas como VLA (*very late antigen*) (BANK et al, 1999).

Para que o tráfego dos linfócitos T entre a circulação periférica e a pele ocorra é necessário que haja combinações específicas de pares de receptores de adesão, assim como a ativação das integrinas por citocinas específicas, num processo que pode ser dividido em adesão, ativação, fixação e diapedese (BUTCHER & PICKER, 1996).

As células T inativas, ao deixarem o timo, guiadas pelas selectinas L-selectina (CD62L) e CCR7, caem na corrente sanguínea e invariavelmente migram para os linfonodos, onde são ativadas por antígenos trazidos dos diferentes tecidos. Uma vez ativada parte dessas células T se diferencia em células de memória e passa a

expressar novas moléculas de superfície, que as permitirão migrar posteriormente para os sítios extranodais de onde partiu o estímulo antigênico. Uma dessas moléculas é a selectina CLA. Trata-se de uma glicoproteína expressa por células T (CD4 e CD8) ativadas por antígenos trazidos da pele. Possui a capacidade de se ligar a E-selectina, presente no endotélio das vênulas cutâneas (**adesão**), com o objetivo de diminuir a velocidade de deslocamento celular para que as integrinas $\alpha\text{L}\beta\text{2}$ (LFA) e $\alpha\text{4}\beta\text{1}$ (VLA-4), presentes na célula T, sejam ativadas por citocinas presentes na superfície das células endoteliais (**ativação**), e por sua vez possam se ligar aos receptores endoteliais ICAM-1 e VCAM-1, respectivamente (**fixação**). Tal processo permite que a célula T migre então para a pele (**diapedese**). Outras moléculas presentes nos linfócitos T com papel semelhante ao CLA, na facilitação da ligação $\alpha\text{L}\beta\text{2}$ (LFA) - ICAM-1, são os receptores para quimiocina CCR4¹ e CCR10, os quais se ligam às quimiocinas endoteliais CCL17 e CCL27, respectivamente (SOKOLOWSKA-WOJDYLO, et al, 2005; GIRARDI, HEALD & WILSON, 2004).

Citocinas pró-inflamatórias, incluindo interferon- γ e TNF- α , têm a capacidade de atrair linfócitos T para áreas de inflamação através da indução de expressão de ICAM-1 e VCAM-1 (KRUTMANN, 1998).

Uma vez extravasados para a pele, os linfócitos T utilizam integrinas $\alpha\text{1}\beta\text{1}$, $\alpha\text{2}\beta\text{1}$, $\alpha\text{5}\beta\text{1}$ para se ligar a vários receptores da matriz extracelular, tais como colágeno tipo 1, fibronectina, condroitin sulfato e laminina, com o objetivo de migrar através da derme. A localização dos linfócitos T na epiderme, no entanto, requer a participação das ligações LFA-1 (linfócito T) + ICAM-1/ ICAM-3 (ceratinócitos); $\alpha\text{7}\beta\text{1}$ (CD103) (linfócito T) + caderina-E (ceratinócitos); e CCR10

¹ Até o momento 50 ligantes e 20 receptores para citocinas são conhecidos. Estruturalmente, os ligantes podem ser divididos em duas subfamílias, de acordo com a presença de um aminoácido entre (CXC) ou ao lado (CC) dos resíduos de cisteína N-terminal.

(linfócitos) + CCL27 (ceratinócitos). É possível que a molécula LEEP-CAM (*ly phocyte endotheli l epitheli l cell dhesion olecule*), expressa nas camadas epidérmicas suprabasais, também participe desse processo. Seu ligante no linfócito T ainda permanece desconhecido (AGACE et al, 2000; HYNES, 1992).

A participação de muitas dessas moléculas de adesão e citocinas no epidermotropismo observado nos LCCT tem sido avaliada por diversos autores. FERENCZI e colaboradores (2002) observaram a maior expressão das moléculas CLA e CCR4 nos linfócitos T circulantes de pacientes portadores de SS (n=13) e MF com comprometimento do sangue periférico (n=1), quando comparados a pacientes saudáveis. A presença expressiva das moléculas CCL17 (ligante de CCR4), nas células endoteliais, e CLA e CCR4, nos linfócitos T, das lesões cutâneas desses pacientes também foi observada.

FIVENSON e colaboradores (1992) observaram, por sua vez, uma maior expressão das moléculas E-selectina e ICAM-1 nas lesões cutâneas de pacientes com MF.

Com relação a integrina $\alpha E\beta 7$ (CD103), DIETZ e colaboradores (1996), ao avaliarem 35 pacientes (22 com LCCT e 13 com processos inflamatórios benignos) concluíram que sua expressão está diretamente relacionada ao grau de epidermotropismo presente tanto nos LCCT quanto nas dermatoses inflamatórias. SIMONITSCH e colaboradores (1994) relataram resultados semelhantes, no que diz respeito aos LCCT, ao observarem uma relação direta entre o grau de epidermotropismo e o estágio da doença, sugerindo que a perda dessa integrina (CD103) esteja relacionada a um pior prognóstico.

2.2 Micoose Fungóide

2.2.1 Definição

É um LCCT, epidermotrópico, caracterizado pela proliferação de linfócitos T

A forma em placas apresenta-se como lesões infiltradas, descamativas, eritematoacastanhadas. A distinção das lesões tumorais planas deve ser feita através de exame histopatológico. Máculas, contínuas às placas ou não, também podem ser observadas (CERRONI et al, 2004).

Na fase tumoral, a combinação de máculas, placas e tumores é o freqüentemente observado. A presença exclusiva de lesões tumorais solitárias, ou mais comumente, localizadas ou generalizadas, no entanto, pode ser vista (GERARDI, HEALD & WILSON, 2004).

Além da apresentação clássica descrita anteriormente, quadros distintos (alguns raros) têm sido observados (Quadro 4). Pacientes que apresentam essas formas variantes freqüentemente apresentam também lesões clássicas em outras áreas do tegumento. Apesar de no passado, algumas dessas formas terem sido consideradas como entidades distintas, hoje em dia, são tidas como variantes da MF (ex. parapsoríase em pequenas placas, reticulose pagetóide, pele frouxa granulomatosa) (CERRONI et al, 2004).

ZACKHEIM & McCALMONT, ao publicarem um artigo de revisão em 2002, ressaltaram a diversidade morfológica com que a MF pode se apresentar. Sugeriram, inclusive, que o título de grande imitadora, anteriormente atribuída à sífilis, seja concedido atualmente à MF. Eles relataram um total de 25 dermatoses (Quadro 5), cujo diagnóstico de MF só foi possível através dos achados histopatológicos, já que clinicamente não havia nenhuma suspeita prévia.

Quadro 4 MF Variantes clínico-patológicas

- MF acantose nigricans-símile
- MF angiocêntrica/ angiodestrutiva
- MF bolhosa (vesícolbolhosa)
- MF disidrósica
- MF eritrodérmica
- MF folicular (pilotrópica)
- MF granulomatosa
- Pele frouxa granulomatosa
- MF hipercrômica
- MF hipocrômica
- MF ictiose-símile
- MF intersticial
- MF invisível
- MF mucinosa
- MF palmar e plantar
- MF com cistos infundibulares eruptivos
- MF com mucinose folicular
- MF com transformação para grandes células
- Reticulose pagetóide (tipo Woringer-Kolopp)
- MF papular
- Papuloeritroderma de Ofuji
- MF dermatite perioral-símile
- MF púrpura pigmentar-símile
- MF poiquilodérmica (poiquilodermia vascular atrófica)
- MF pustulosa
- Parapsoríase em pequenas placas
- MF siringotrópica
- MF solitária (unilesional)
- MF verrucosa/ hiperkeratósica
- MF zosteriforme

Quadro 5 Dermatoses simuladas pela MF

Dermatose	Presença de outras manifestações clínicas de MF
Acantose nigricans	Sim
Alopecia	Sim/ não
Erupção bolhosa	Sim
Comedões e cistos epidérmicos	Sim/ não
Celulite dissecante do couro cabeludo	Sim
Disidrose	Sim
Eritema anular centrífugo	Sim
Eritema multiforme	Não
Gangrena	Não
Ictiose adquirida	Não
Dermatose invisível	Não
Pé isquêmico	Não
Ceratose liquenóide crônica	Não
Necrobiose	Sim
Dermatite perioral	Sim
Púrpura pigmentar	Sim/ não
Pitíriase Alba	Não
Poroceratose	Sim/ não
Psoríase em placas	Sim
Pustulose palmoplantar	Sim
Pioderma gangrenoso	Sim
Sarcoidose	Não
Sarcoma	Sim
Erupção vesícolbolhosa	Sim
Vitiligo	Sim/ não

Fonte: ZACKHEIM, H.; McCALMONT, T.H. Mycosis fungoides: The great imitator. Journal of the American Academy of Dermatology, v.47, n.6, p.914-918, 2002.

A possível existência de linfócitos CD4 com fenótipos distintos, assim como as diferentes respostas apresentadas por cada paciente frente a esses linfócitos são possíveis explicações, segundo esses mesmos autores, para tentar justificar tal diversidade morfológica (ZACKHEIM & McCALMONT, 2002).

O envolvimento extracutâneo na MF é raramente observado e os sítios de predileção incluem os linfonodos, os pulmões, o baço e o fígado. A medula óssea comumente se mantém preservada e o comprometimento dos linfonodos, mesmo

que apenas clinicamente, segundo alguns autores, representa sinal de pior prognóstico (CERRONI et al, 2004).

2.2.3- Diagnóstico

O diagnóstico da MF baseia-se fundamentalmente na correlação clínico-patológica (SANTUCCI et al, 2000).

Apesar dos critérios histopatológicos específicos para o diagnóstico das lesões iniciais da MF já terem sido estabelecidos (Quadro 6), esses nem sempre estão presentes. Os microabscessos de Pautrier/ Darier (coleção de linfócitos T malignos ao redor de células de Langerhans), por exemplo, altamente específicos, são raramente vistos nessa fase. Além disso, padrões histológicos distintos, apesar de infreqüentes, tais como infiltrado superficial perivascular (não em faixa), espongiose acentuada, dermatite de interface com ceratinócitos necróticos, incontinência pigmentar, hiperplasia epidérmica e extravasamento de hemácias importantes também podem ser observados (CERRONI et al, 2004).

Quadro 6 Critérios histológicos para o diagnóstico de MF – estágio inicial

- ◆ Epidérmicos:
 - Coleção de linfócitos intraepidérmicos (microabscessos de Pautrier/ Darier)
 - Linfócitos alinhados ao longo da junção dermo-epidérmica
 - Linfócitos intraepidérmicos maiores do que os linfócitos dérmicos
 - Epidermotropismo desproporcional (linfócitos intraepidérmicos com pouca espongiose).
 - Linfócitos intraepidérmicos com halo ao redor do núcleo
- ◆ Dérmicos
 - Derme papilar aumentada com pouca fibrose e feixes grosseiros de colágeno
 - Infiltrado linfocitário liquenóide em faixa ou localizado

Segundo LEBOIT e McCALMONT (1997), o diagnóstico histológico da MF na fase inicial se dá principalmente pela presença de alterações estruturais e não citológicas. Alterações sutis, tais como a presença de discreto infiltrado linfocitário intraepidérmico, discreta hiperplasia epidérmica psoriasiforme e fibrose papilar são os achados mais comuns, ao contrário da presença de linfócitos atípicos (células maiores e com núcleo hipercromático), a qual é raramente vista.

LISBOA (2001), ao avaliar 9 pacientes concluiu que os critérios mais relevantes para o diagnóstico da MF na fase inicial são a presença de linfócitos hiperconvolutos na epiderme, linfócitos envoltos por halo e infiltrado dérmico de células mononucleares com padrão histológico variável e presença de eosinófilos.

A presença de microabscesso de Pautrier e Darier e de denso infiltrado em faixa na derme superficial com predomínio de linfócitos pequenos e pleomorfos caracterizam as lesões em placa (CERRONI et al, 2004).

Nos tumores, evidencia-se infiltrado denso nodular ou difuso ocupando toda a derme e freqüentemente envolvendo a hipoderme. O epidermotropismo pode estar ausente. A presença de células grandes (>25% do infiltrado), CD 30 positivas ou não, representa sinal de mau prognóstico (CERRONI et al, 2004).r65(3)-4.3314;39585917(r)12.8

de um único clone de células T (infiltrado monoclonal), ao contrário de quadros benignos, cujo infiltrado na maioria das vezes é policlonal (DIPPEL, KLEMKE & GOERDT, 2003).

A imunofenotipagem dos antígenos de superfície celular das lesões cutâneas, por sua vez, mostra, na maioria dos casos, um infiltrado composto por células CD2+, CD3+, CD4+, CD5+, CD8- (células T auxiliares maduras). A ausência dos antígenos de superfície CD7 e CD26, no entanto, normalmente presentes nos linfócitos T maduros, sugere o diagnóstico de LCCT (KIM et al, 2005; JONES et al, 2001).

Para estimar a probabilidade do diagnóstico da fase inicial de MF, nos casos onde os achados histopatológicos não se mostrem conclusivos, mas compatíveis com MF, STEVENS e colaboradores (2003) propuseram um sistema de pontuação que utiliza como critérios a presença de: 1- lesões com morfologia e distribuição clássicas; 2- rearranjo genético monoclonal dos receptores de célula T; e 3- expressão epidérmica difusa do HLA-DR. Consideraram-se como clássicas, quanto à morfologia, as máculas poiquilodérmicas, descamativas e apergaminhadas (poiquiloderma atrófica vascular), as placas bem definidas, endurecidas e descamativas e os tumores, e, quanto à distribuição, as lesões localizadas na região glútea, parte inferior do tronco, parte superior das coxas, parte superior da face interna dos braços, regiões periaxilares e inframamárias. Dos 138 pacientes estudados por esses autores, 64 eram portadores de quadros dermatológicos benignos ou indeterminados e 74 de MF. Aqueles que obtiveram uma pontuação igual ou superior a 3,5 e 4,0 quando avaliados pelo estudo do rearranjo genético dos receptores de células T ou da expressão epidérmica do HLA-DR, respectivamente, segundo descrição do Quadro 7, apresentaram uma associação significativa com o diagnóstico histológico de MF. O fato dos pacientes avaliados pelo estudo da expressão epidérmica do HLA-DR só alcançarem a pontuação necessária para o

diagnóstico de MF, quando associados à morfologia e não à distribuição clássica das lesões, confere ao estudo do rearranjo genético dos receptores de células T uma vantagem, já que o mesmo necessita de apenas um desses dois critérios. Outra observação que vale a pena ressaltar é que os pacientes com lesões de morfologia e distribuição clássicas e exame histopatológico compatível com MF não necessitam se submeter a exames complementares, pois esses critérios por si só atingem a pontuação necessária.

Quadro 7 Sistema de pontuação para estimar a probabilidade do diagnóstico de MF

Critério diagnóstico	Pontuação (Quando TCR-GR disponível)	Pontuação (Quando HLA-DR disponível)
TCR-GR positivo	2,5	-----
Morfologia clássica	2,0	2,5
Distribuição clássica	1,5	1,5
Expressão do HLA-DR	----	2,0
Pontuação máxima	6,0	6,0

Fonte: STEVENS, S.R. et al. A simple clinical scoring system to improve the sensitivity and standardization of the diagnosis of mycosis fungoides type cutaneous T-cell lymphoma: Logistic regression of clinical and laboratory data. *British Journal of Dermatology*, v.149, p.513-522, 2003.

2.2.4- Estadiamento

O principal objetivo da utilização de esquemas de estadiamento para os diferentes tumores é a estratificação dos pacientes em grupos homogêneos para que esses grupos possam receber terapias definidas (KASHANI-SABET, McMILLAN & ZACKHEIM, 2001).

Atualmente, a maioria dos tumores é estadiada de acordo com o esquema TNM (T=tumor; N=linfonodo e M=metástase). O esquema de estadiamento TNM mais utilizado para os LCCT é o proposto por BUNN & LAMBERG (1979), elaborado segundo recomendações do Comitê de Estadiamento e Classificação dos Linfomas

Cutâneos de Células T (Quadro 8). Esse esquema utiliza como critérios o tipo de lesão, o percentual do envolvimento cutâneo, e o comprometimento de linfonodos e vísceras. Apesar de se verificar a presença de células malignas circulantes no sangue periférico (células de Sézary) em cada paciente, esse critério não é levado em consideração. Fazem parte da MF inicial os estágios IA, IB e IIA.

Quadro 8 Estadiamento da MF (TNMB)

	T	N	M
IA	1	0	0
IB	2	0	0
IIA	1,2	1	0
IIB	3	0,1	0
III	4	0,1	0
IVA	1-4	2,3	0
IVB	1-4	0-3	1

T=pele; N=linfonodos; M=metástase; B=sangue

T0= Apenas suspeita clínica e/ou histológica

T1= Pápulas, placas ou máculas eczematosas acometendo <10% da superfície corporal

T2= Pápulas, placas ou máculas eczematosas acometendo 10% da superfície corporal

T3= Tumor (es)

T4= Eritrodermia

N0= Ausência de acometimento clínico e histopatológico de linfonodos periféricos

N1= Linfonodos periféricos clinicamente anormais com histopatologia negativa para LCCT

N2= Linfonodos periféricos clinicamente normais com histopatologia positiva para LCCT

N3= Linfonodos periféricos clinicamente anormais com histopatologia positiva para LCCT

B0= Células atípicas circulantes ausentes (<5%)

B1= Células atípicas circulantes presentes (>5%)

M0= Ausência de acometimento visceral

M1= Acometimento visceral por LCCT com confirmação histológica

Fonte: BUNN PA, LAMBERG SI. Report of the committee on staging and classification of cutaneous T-cell lymphomas. Cancer Treat Rep, v.63, p. 725-728, 1979.

Desde a publicação do esquema proposto por BUNN & LAMBERG em 1979, vários estudos têm sido realizados com o intuito de validar um esquema de estadiamento alternativo. A OMS, por exemplo, propôs um novo sistema de

estadiamento (Quadro 9), assim como a Universidade de Graz (Quadro 10) (CERRONI et al, 2004).

Quadro 9 Estadiamento da MF segundo a OMS

Estágio	
I	Doença limitada à pele
Ia	Máculas e placas limitadas
Ib	Máculas e placas disseminadas
Ic	Tumores
II	Linfonodos aumentados (histologia negativa)
III	Linfonodos comprometidos (histologia positiva)
IV	Envolvimento visceral

Fonte: CERRONI L, GATTER K, KERL H. An illustrated guide to skin lymphoma – 2ª ed. Blackwell. Massachusetts – EUA. 2004, p.10.

Quadro 10 Estadiamento da MF segundo a Universidade de Graz

Estágio	
Ia	Máculas < 10 % da superfície corporal
Ib	Máculas > 10% da superfície corporal
IIa	Placas
IIb	Tumores
IIc	Eritrodermia
IId	Aspecto de células grandes
III	Envolvimento de linfonodo ou visceral

Fonte: CERRONI L, GATTER K, KERL H. An illustrated guide to skin lymphoma – 2ª ed. Blackwell. Massachusetts – EUA. 2004, p.10.

KASHANI-SABET e colaboradores (2001), após avaliarem 489 pacientes portadores de LCCT, propuseram duas modificações no esquema publicado por BUNN & LAMBERG (1979): 1- A separação dos pacientes T2 em pacientes portadores de lesões maculosas e pacientes portadores de lesões em placas, já que os primeiros apresentaram sobrevida semelhante ao grupo controle, fato não observado no segundo grupo; e 2- A incorporação dos pacientes portadores de

tumor e eritrodermia num mesmo grupo (III) por possuírem sobrevida semelhante (Quadro 11).

Quadro 11 Estadiamento da MF (TNMB modificado)

	T	N	M
IA	1	0	0
IB	2a	0	0
IIA	1,2a	1	0
IIB	2b	0,1	0
IIIA	3	0,1	0
IIIB	4	0,1	0
IVA	1-4	2,3	0
IVB	1-4	0-3	1

T= Pele; N= linfonodos; M= metástase; B= sangue

T1= Máculas e/ou placas acometendo <10% da superfície corporal

T2a= Máculas acometendo 10% da superfície corporal

T2b= Placas acometendo 10% da superfície corporal

T3= Tumor (es)

T4= Eritrodermia (80% da superfície corporal)

N0= Ausência de acometimento clínico e histopatológico de linfonodos periféricos

N1= Linfonodos periféricos clinicamente anormais com histopatologia negativa para LCCT

N2= Linfonodos periféricos clinicamente normais com histopatologia positiva para LCCT

N3= Linfonodos periféricos clinicamente anormais com histopatologia positiva para LCCT

B0= Células atípicas circulantes ausentes (<5%)

B1= Células atípicas circulantes presentes (>5%)

M0= Ausência de acometimento visceral

M1= Acometimento visceral por LCCT com confirmação histológica

Fonte: KASHANI-SABET M, McMILLAN A, ZACKHEIM HS. A modified staging classification for cutaneous T-cell lymphoma. Journal of the American Academy of Dermatology, v.45, n.5, p.700-706, 2001.

2.2.5 Tratamento

2.2.5.1 Considerações gerais

Várias opções terapêuticas, sistêmicas ou direcionadas à pele, estão disponíveis para o tratamento da MF (Quadro 12). São utilizadas de acordo com o

estágio da doença (Quadro 13) e têm como objetivo destruir as células neoplásicas e induzir no paciente uma resposta imune antitumoral capaz de controlar ou erradicar a doença (KIM et al, 2005).

Quadro 12 Opções terapêuticas para a MF/SS

Terapia	Mecanismo de ação
<p style="text-align: center;"><u>Direcionada à pele</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Corticosteróides tópicos • Quimioterapia tópica (mostarda nitrogenada, BCNU) • Retinóides tópicos (bexaroteno, tazaroteno) • Imiquimod tópico • Fototerapia (UVB, PUVA) • Bomba de elétrons 	<ul style="list-style-type: none"> • Apoptose das CT e diminuição CL • Apoptose das CT • Aciona imunidade antitumoral • Apoptose das CT e diminuição CL • Apoptose das CT e diminuição CL • Apoptose das CT
<p style="text-align: center;"><u>Biológica</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Retinóide RXR (bexaroteno) • Retinóide RAR (isotretinoína) • IFN-α e IFN-γ • GM-CSF • ECP • Proteína/ toxina da fusão 	<ul style="list-style-type: none"> • Apoptose das CT e inibe produção de IL-4 • Apoptose das CT • Estimulo da IC, inibe produção das citocinas Th2 pelas CT e proliferação das CT • Aumenta função e número das CL circulantes • Apoptose das CT circulantes; induz diferenciação das CL • Elimina células tumorais CD25+
<p style="text-align: center;"><u>Outras terapias sistêmicas</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Quimioterapia citotóxica (MTX, doxil, gemcitabine, ectoposide, pentostatin) • Transplante de MO, célula tronco 	<ul style="list-style-type: none"> • Agentes citotóxicos • Agentes citotóxicos (indução), efeito enxerto contra hospedeiro
<p style="text-align: center;"><u>Experimental</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Anticorpos monoclonais (CD4, CD52, CD40, CCR4) • Citocinas (IL-12, IL-2, IL-15) • Vacinas 	<ul style="list-style-type: none"> • Eliminação das células tumorais (CD4, CD52, CCR4) • Aumento da imunidade celular antitumoral • TCR e CCR4 como antígenos

CT- células tumorais; GM-CSF- fator estimulador de colônia de granulócito-monócito; ECP- fotoférese extra-corpórea; CL- células de Langerhans; BCNU- bicloroetilnitrosurea; MTX- metotrexato; MO- medula óssea

Fonte: KIM ,J.E. et al, Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma. The Journal of Clinical Investigation, vol. 115, n.4, p.798-810, 2005.

Quadro 13 Opções terapêuticas segundo os estágios da doença

Estágio	Primeira opção	Segunda opção	Doença refratária
IA	Terapia direcionada à pele		
IB – IIA	<ul style="list-style-type: none"> • QT tópica • Fototerapia • Bomba de elétrons (+/- agentes biológicos em baixas doses) 	<ul style="list-style-type: none"> • IFNs • Retinóides • Terapia múltipla <ul style="list-style-type: none"> QT+ agente biológico Fototerapia+ agente biológico 2 agentes biológicos • Toxina diftérica 	<ul style="list-style-type: none"> • Terapias experimentais
IIB	<p><u>Poucos tumores</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Bomba de elétrons localizada • IFN intralesional • QT tópica+ agente biológico <p><u>Tumores generalizados</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Bomba de elétrons total • Toxina diftérica • Terapia múltipla 	<ul style="list-style-type: none"> • Terapia múltipla • Toxina diftérica • QT com um agente 	<ul style="list-style-type: none"> • Terapias experimentais
IIIA/B	<ul style="list-style-type: none"> • PUVA • Retinóides • IFNs • MTX • ECP • Terapia múltipla 	<ul style="list-style-type: none"> • Terapia múltipla • Toxina diftérica • QT com um agente 	<ul style="list-style-type: none"> • Terapias experimentais
IV A/B	<ul style="list-style-type: none"> • QT com um agente • Terapia múltipla (+ terapia direcionada à pele) 	<ul style="list-style-type: none"> • Radioterapia adjuvante paliativa local para doença extracutânea • Transplante de MO/ célula tronco • QT 	<ul style="list-style-type: none"> • Terapias experimentais

QT- quimioterapia; IFN- γ interferon gama; MTX- metotrexate; ECP- fotoférese extracorpórea; MO- medula óssea
 Fonte: KIM, J.E. et al, Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma. The Journal of Clinical Investigation, vol. 115, n.4, p.798-810, 2005.

O estadiamento do paciente é, portanto, etapa prévia fundamental. Um exame físico completo, com atenção particular ao tipo de lesão, à porcentagem do comprometimento cutâneo e à presença de hepatosplenomegalia e/ou linfadenopatia periférica, deve ser realizado. Da mesma forma que a avaliação do sangue periférico, através de hemograma completo e pesquisa de células de Sézary (células convolutas anormais). Caso se observe a presença de linfadenopatia periférica, deve-se realizar uma biópsia do linfonodo comprometido, assim como uma avaliação dos linfonodos mediastinais, retroperitoniais e pélvicos, através de radiografia de

tórax e tomografia computadorizada de abdome e pelve, respectivamente. A presença de células de Sézary em quantidade superior a 5%, por sua vez, indica a realização de um aspirado de medula óssea (MORISON, 2005; KIM et al, 2005).

Os pacientes com máculas ou placas limitadas a menos de 10% da superfície corporal (estágio IA) freqüentemente apresentam uma resposta celular normal e remissão completa da doença com a utilização das terapias direcionadas à pele (Quadro 12), as quais agem, fundamentalmente, induzindo a apoptose das células T malignas e, no caso dos corticóides tópicos e PUVA, promovendo também a diminuição do número das células de Langerhans epidérmicas, interrompendo assim a estimulação crônica das células tumorais (KIM et al, 2005).

Para os pacientes com lesões mais extensas (estágios IB e IIA), os quimioterápicos tópicos, a fototerapia (UVB e PUVA) e a terapia com bomba de elétrons, associados ou não a baixas doses dos agentes biológicos, constituem as opções iniciais (Quadro 13) (KIM et al, 2005).

Os agentes biológicos atualmente disponíveis para o tratamento da MF incluem o bexaroteno (retinóide para receptor retinóico X (RXR)), a isotretinoína (retinóide para receptor de ácido retinóico (RAR)), os inteferons e , a fotoférese extracorpórea (ECP) e a toxina diftérica associada à IL-2 (KIM et al, 2005).

Evidências mais recentes apontam para o uso da imunoterapia com múltiplos agentes para tratamento dos pacientes com doença avançada (KIM et al, 2005).

Segundo BOUWHUIS e colaboradores (2005), a utilização do bexaroteno oral pode ser benéfica em pacientes com doença inicial refratária a outros tratamentos ou em pacientes com doença avançada. Eles o utilizaram, como terapia adjuvante, em associação a ECP, na dose de 300-650 mg/dia, em 6 pacientes com MF e SS

progressivas e tardias, com melhora das lesões cutâneas apesar da progressão das lesões extracutâneas.

Outra associação que tem se mostrado eficaz nos casos avançados de MF é a ECP e o INF- γ ou - β (SHAPIRO et al, 2002).

A toxina diftérica associada a IL-2, administrada por via endovenosa, também se mostrou eficaz em 30% dos pacientes tratados. Atua induzindo a apoptose celular por interrupção da síntese protéica. Os efeitos colaterais observados foram hipotensão, aumento das transaminases, edema, dispnéia e sintomas gripe-símile (KIM et al, 2005).

Vacinas utilizando o TCR e o CCR4 como antígeno, assim como anticorpos monoclonais contra marcadores celulares, tal como o anti-CD4, têm sido testados e representam possibilidades futuras para o tratamento da MF (KIM et al, 2005).

2.2.5.2 PUVA

2.2.5.2.1 Histórico

O uso tópico de extratos, sementes e partes de plantas contendo psoraleno (*Ami i jus e Psor le corylifoli*), associado à exposição solar como forma de tratamento para o vitiligo, por curandeiros egípcios e indianos, data de cerca de 4000 anos atrás (HÖNIGSMANN et al, 2001).

Os primeiros estudos clínicos, no entanto, datam de 1948 e 1953, quando EL MOFTY e LERNER e colaboradores, respectivamente, utilizaram psoraleno oral e tópico no tratamento do vitiligo.

Em 1974, PARRISH e colaboradores, por sua vez, demonstraram a eficácia do uso do 8-metoxipsoraleno (8MOP) associado à radiação UVA artificial no tratamento da psoríase. Essa forma de terapia passou então a ser denominada

fotoquimioterapia, sendo atualmente mais conhecida pelo acrônimo PUVA (**P**сорaleno + **UVA**).

Desde então vários estudos têm demonstrado a eficácia da fotoquimioterapia PUVA, a qual representa valiosa opção terapêutica no tratamento de inúmeras dermatoses.

Os primeiros autores a utilizarem com sucesso a fotoquimioterapia PUVA no tratamento da MF foram GILCHREST e colaboradores em 1976. Eles trataram nove pacientes, não responsivos a tratamentos prévios, com regressão total em 4 pacientes e melhora em 5. Desde então, vários outros estudos têm validado esses achados iniciais demonstrando taxas de remissão total que variam de 75-100% para o estágio IA, 47-100% para o estágio IB, 67-83% para o estágio IIA, 40-100% para o estágio IIB e 33-100% para o estágio III. Muitos poucos pacientes no estágio IV foram tratados exclusivamente com PUVA

2.2.5.2.2 Os psoralenos

Os psoralenos são furocumarínicos tricíclicos que, quando ativados pela radiação UVA, são capazes de produzir reações fototóxicas. Essas reações, realizada de forma repetitiva e controlada, seriam responsáveis pelo controle das doenças tratadas por este método (PUVA) (HÖNIGSMANN et al, 1993).

Atualmente, o 8-metoxipsoraleno (8-MOP, metoxalen) é o psoraleno mais comumente prescrito, mas, nos países onde se encontra disponível, utiliza-se também o 5-metoxipsoraleno (5-MOP, bergapteno). São furocumarínicos lineares, bifuncionais, ou seja, com duas ligações duplas fotoativas. Possuem metabolismo hepático e excreção renal. A interação deles com o ADN nuclear tem papel altamente relevante no mecanismo de ação. Inicialmente, se intercalam na dupla hélice de ADN, sem a participação da radiação UV. Posteriormente, ao entrarem em

contato com a radiação UVA, formam adutos ciclobutanos através da união de cada ligação dupla reativa com uma base pirimidínica, formando assim um *crosslink* psoraleno-ADN, o qual tem a capacidade de inibir a replicação do ADN e levar à morte celular (HÖNIGSMANN et al, 1993).

2.2.5.2.3 As radiações ultravioleta

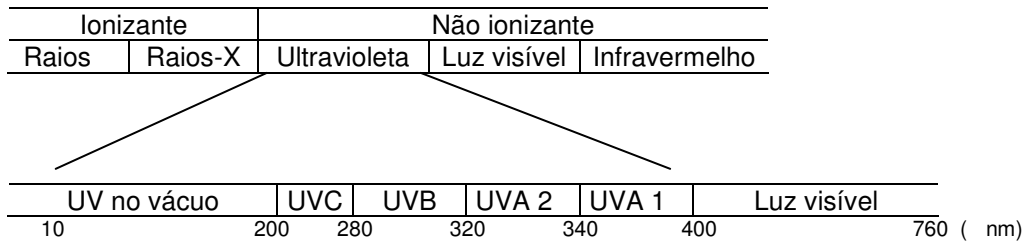
As radiações UV são radiações eletromagnéticas, que possuem comprimento de onda que variam de 10 a 400 nm ($1\text{nm}=10^{-9}\text{m}$). Podem ser divididas em UV de comprimento de onda longo [(UVA 1 (380 - 340 nm) e UVA 2 (340 - 310 nm)], médio [UVB (315 - 280 nm)], e curto [UVC (280 - 200 nm)], não se considerando as radiações com comprimento de onda entre 10 e 200 nm que por não se propagarem no ar não atingem a matéria viva (ENDRES & BREIT, 2001).

Possuem a capacidade de propagar energia à distância através de feixes de fótons (pacotes de energia), sendo a energia transportada por cada fóton (E_{foton}) inversamente proporcional ao comprimento de onda (λ) ($E_{\text{foton}}= 1240/\lambda$) (ENDRES & BREIT, 2001; LEITÃO & GOMES, 1997).

Por não possuírem energia suficiente para promover ionização, isto é, a ejeção de um elétron orbital, dos elementos químicos presentes em maior quantidade na matéria viva, como carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, as radiações ultravioleta são tidas como radiações Não ionizantes, ao contrário dos raios X e gama. Na verdade, as radiações ultravioleta são classificadas como radiações excitantes por serem capazes de promover excitação, ou seja, o transporte de um elétron orbital para um nível energético superior (órbita mais externa) (LEITÃO & GOMES, 1997).

As radiações ultravioleta estão distribuídas no espectro eletromagnético de acordo com o seu comprimento de onda (Figura 1) (KOCHEVAR, PATHAK & PARRISH, 1993).

Figura 1 O espectro eletromagnético



Fonte: KOCHEVAR, I.E.; PATHAK, M.A.; PARRISH, J.A. Photophysics, photochemistry and photobiology. In: FITZPATRICK, T.B. et al. Dermatology in general medicine. 4. Ed. McGraw-Hill, 1993. p.1621-1638.

Cerca de 7% da energia solar recebida na superfície da terra são compostos pelas radiações UVA e UVB. A radiação UVC não está presente por ser filtrada pela atmosfera (Quadro 14) (KOCHEVAR, PATHAK, PARRISH, 1993).

Quadro 14 Distribuição da energia solar na superfície terrestre

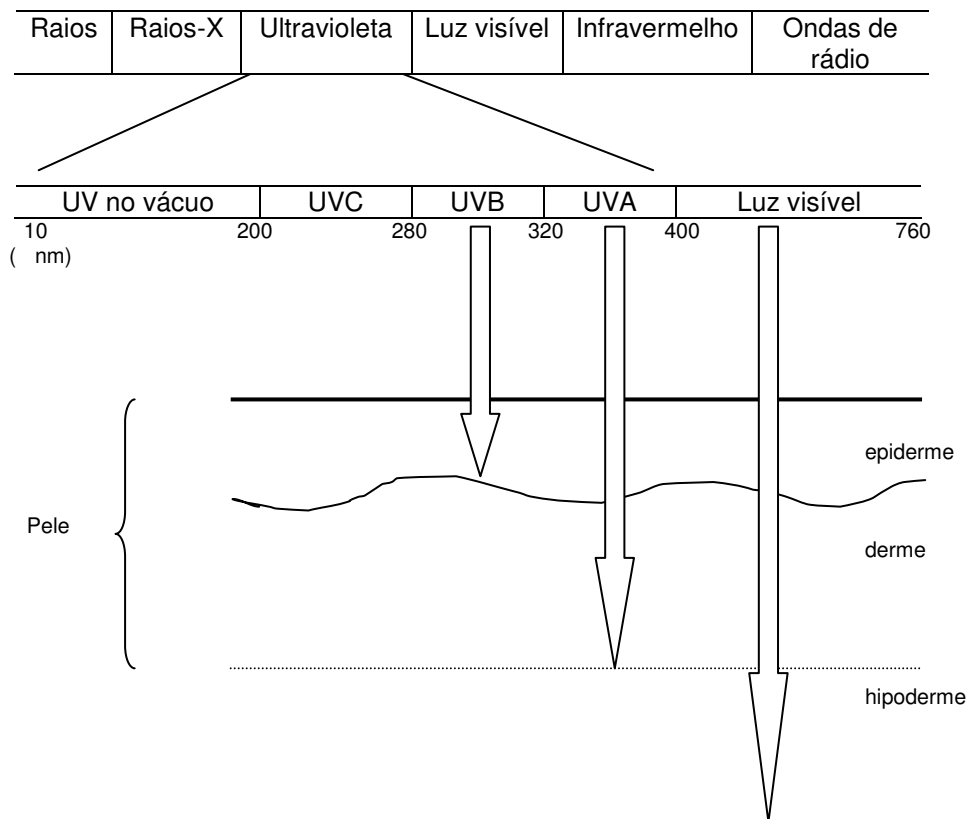
Espectro	Superfície terrestre % do total
UVC (<280 nm)	0
UVB (280-320 nm)	0.5
UVA (320-400 nm)	6.3
Visível (400-700 nm)	38.9
Infravermelho (>700 nm)	54.3

Fonte: KOCHEVAR, I.E.; PATHAK, M.A.; PARRISH, J.A. Photophysics, photochemistry and photobiology. In: FITZPATRICK, T.B. et al. Dermatology in general medicine. 4. Ed. McGraw-Hill, 1993. p.1621-1638.

O grau de absorção e penetração das radiações UV na pele humana depende da estrutura das moléculas encontradas ao longo da sua trajetória, já que a energia fotônica destas radiações deverá coincidir com a quantidade de energia necessária para a ativação destas moléculas. Desta forma, um fóton mais energético não

necessariamente terá maior penetração. Fótons de luz visível, por exemplo, com energia inferior a 2 eV podem chegar à derme, enquanto que fótons de UVC ($E_{\text{fóton}} \sim 5 \text{ eV}$) não ultrapassam a epiderme (Figura 2) (GARSSSEN & van LOVEREN, 2001).

Figura 2 Grau de penetração das radiações ópticas na pele humana



Fonte: GARSSSEN J & van LOVEREN H. Effects of ultraviolet exposure on the immune system. Critical reviews in Immunology, v.21, n.4, p.359-397, 2001.

As etapas do processo pelo qual a radiação UV promove seus efeitos sobre a pele incluem (KOCHEVAR, PATHAK, PARRISH, 1993):

- 1- Absorção dos fótons de UV por uma molécula (ex. ADN, melanina, etc.), a qual recebe o nome de cromóforo;
- 2- Ativação deste cromóforo;
- 3- A transformação deste cromóforo em um fotoproduto (ex. dímeros de pirimidina como fotoproduto de ADN);

- 4- A ativação de um processo bioquímico por este fotoproduto (ex. estímulo à síntese protéica);
- 5- Promoção de alterações celulares (ex. proliferação);
- 6- Aparecimento de resposta visível (ex. eritema, hiperplasia).

As alterações cutâneas secundárias à exposição à radiação UV incluem o **espessamento da epiderme**, a formação de **eritema** e **pigmentação**, o **envelhecimento precoce**, a **fotocarcinogênese**, a **formação de vitamina D** e as **alterações da resposta imune** (NORRIS, GANGE & HAWK, 1993), sendo o envelhecimento cutâneo e a fotocarcinogênese efeitos colaterais tardios observados mais comumente em pacientes com fototipos I e II expostos cronicamente à radiação UV (MORISON, 2005).

O **eritema** ocorre por vasodilatação de arteríolas, vênulas e capilares, secundária à ação de mediadores químicos tais como histamina, serotonina, prostaglandinas e bradicinina. É mais evidente 12-16 h após a exposição e regride em alguns dias. A absorção direta de fótons de UV pelos vasos sanguíneos, apesar de também provocar vasodilatação, não parece ter papel importante neste processo devido à baixa penetração destas radiações na pele e às altas doses necessárias para que este fenômeno ocorra. Dor e edema também podem estar presentes (MORISON, 2005; NORRIS, GANGE & HAWK, 1993).

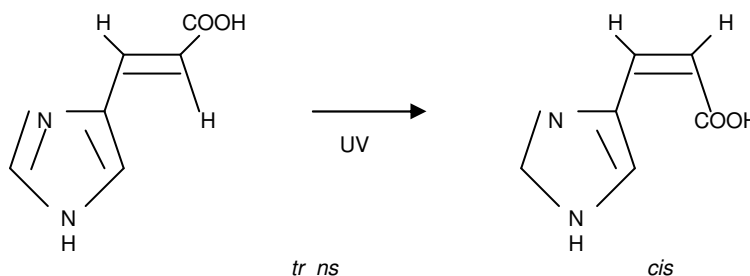
A **pigmentação** da pele, à semelhança do que ocorre com o eritema, pode surgir de forma imediata ou tardia. A forma imediata é decorrente da fotooxidação de precursores da melanina já presentes nos melanócitos, enquanto que a forma tardia, a qual surge 48-72 horas após a exposição ao UV, com pico máximo 10-15 dias após, resulta da ativação ou proliferação de melanócitos, do aumento do número de melanossomos ou dendritos melanocíticos, do aumento da transferência de grãos de

2.2.5.2.4 Alterações da resposta imune

O estudo dos efeitos da radiação eletromagnética não ionizante, em particular da radiação UV, sobre o sistema imunológico, constitui, atualmente, campo de pesquisa específico, a fotoimunologia (ULLRICH, 1995; KRIPKE, 1984).

Apesar dos vários estudos realizados, os conhecimentos em fotoimunologia permanecem, em parte, fragmentados e se baseiam principalmente nas alterações observadas *in vitro* e em animais (KRUTMANN, MORITA, ELMETS, 2001). Mesmo já se conhecendo as propriedades antiinflamatória e imunossupressora da radiação UV, não se estabeleceu ainda a seqüência exata, as interações e todos os componentes desse processo. A identidade e a localização do(s) cromóforo(s) responsável (eis) pela absorção da radiação UV e início das reações é, inclusive, motivo de controvérsia. Com relação à radiação UVB, é possível que tanto o ADN, quanto o ácido urocânico³ (UCA) e os lipídios da membrana celular desempenhem esse papel, através da formação de dímeros de pirimidina como fotoproduto de ADN, da isomerização do ácido urocânico da sua forma *trans* em *cis* (Figura 3) ou da peroxidação dos lipídios da membrana celular, respectivamente. A radiação UVA, por sua vez, parece exercer os seus efeitos imunomodulatórios através de mecanismos oxidativos, principalmente através da produção de oxigênio singlete (KRUTMANN, 1998; ULLRICH, 1995).

Figura 3 ácido urocânico- formas *trans* e *cis*



Fonte: GARSSSEN J, van LOVEREN H. Effects of ultraviolet exposure on the immune system. *Critical Reviews in Immunology*, v.21, n.4, p.359-397, 2001.

³ Ácido urocânico – produto da deaminação direta do aminoácido histidina

Segundo KRUTMANN, MORITA & ELMETS (2001), os efeitos imunomodulatórios exercidos pela radiação UV podem ser resumidos nas alterações 1- da produção de mediadores químicos; 2- da expressão dos receptores celulares e 3- da indução de apoptose.

Além dos macrófagos, os ceratinócitos também produzem IL-10, quando estimulados pela radiação UV (UVB e UVA1), através de um processo dependente da produção prévia de *cis*-UCA, prostaglandina E2 (PGE2) e interleucina 4 (IL-4) (SHREEDHAR et al, 1998). Secundariamente a esse aumento de IL-10, observa-se uma diminuição da expressão, pelas células de Langerhans, da molécula de co-estimulação B7, necessária no processo de apresentação antigênica às células Th1. Desta forma a capacidade das células de Langerhans apresentarem antígenos às células Th1 está diminuída, o que leva a uma menor produção de INF- γ (BOONSTRA et al, 2000; KRUTMANN, 1998).

A isomerização do ácido urocânico, por sua vez, também é capaz de induzir a produção de IL-10 por células T CD4+ (HOLÁN et al, 1998).

A célula natural *killer* (NK), importante no desenvolvimento da resposta celular Th1 pela produção de IFN- γ , também tem a sua proliferação diminuída quando exposta à radiação UV, provavelmente por um mecanismo dependente da produção de dímeros de pirimidina e *cis*-UCA (DUTHIE, KIMBER & NORVAL, 1999).

O aumento da síntese do fator de necrose tumoral (TNF- α), por ceratinócitos e mastócitos expostos à radiação UV, também é visto. Ocorre secundariamente à formação de dímeros de timina e à isomerização do ácido urocânico, e tem como consequência a diminuição da apresentação antigênica pela depleção das células de Langerhans (ULLRICH, 1995).

Outro efeito provocado pela exposição à radiação UV é a diminuição da expressão da molécula de adesão intercelular ICAM-1 na superfície de ceratinócitos, monócitos e células de Langerhans, provavelmente por um mecanismo indireto, através da redução da produção de citocinas (IFN- γ , TNF- β , TNF- α) por células inflamatórias cutâneas (KRUTMANN, 1998).

Ceratinócitos normais não expressam ou expressam pouca quantidade de ICAM-1 na sua superfície quando comparados aos ceratinócitos alterados por dermatoses como psoríase, dermatite atópica e micose fungóide (KRUTMANN, 1998). Por atuar como co-receptor para o antígeno de superfície de leucócitos LFA-1, a molécula ICAM-1 parece desempenhar papel importante na produção e manutenção de diversas respostas imunes e inflamatórias cutâneas. O sucesso

próprio (KRUTMANN, 1998). .cutmao (u)-4.33117(t)-2.1655()-602.519(o)5.67474(d25 0 Td e)-4.3

7(a160 Td32(o)-4.33117(m)2.51125(p)-4.315.()-142.248o)-160 Td3(a)-4.331177(e)5.603114(A)-3.39556(M)12.5

.319(d)-4.33117(i)1.87(v)9.7103328r elpitaniseranae ep aãe ó

17)-602.519(a)-4.3311(ã)4(e)-3954(r)2.80439()-2.1e (u)-4.33117(t)-2.16557(s)9.71032()-362.377(7(r)2.80439(

Durante o processo apoptótico observa-se inicialmente a diminuição do volume celular, a vesiculação da membrana plasmática, a vacuolização do retículo endoplasmático e a condensação da cromatina ao longo da membrana nuclear. Posteriormente, ocorre a formação dos corpos apoptóticos (pequenos fragmentos citoplasmáticos e nucleares vistos na superfície celular como vesículas ou bolhas), que se desprendem e são prontamente fagocitados sem a indução da resposta inflamatória (GODAR, 1999).

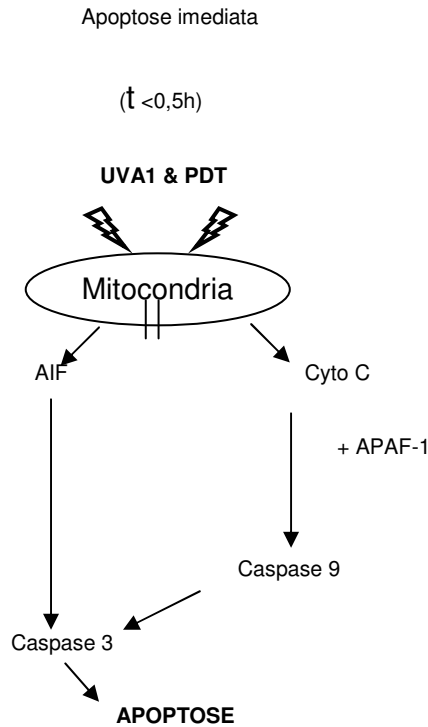
Segundo critérios cinéticos, a apoptose pode ser dividida em imediata ($t < 0,5h$), intermediária ($t > 0,5 < 4h$) e tardia ($t > 4h$). As formas imediata e intermediária são denominadas de morte celular **pré-programada**, pois não há necessidade de síntese protéica após o estímulo apoptótico, ao contrário da forma tardia, denominada de morte celular **programada** (GODAR, 1999).

Agentes capazes de lesar e conseqüentemente alterar a permeabilidade da membrana mitocondrial, como, por exemplo, a radiação UVA1 e a terapia fotodinâmica (PDT), são responsáveis pela indução da apoptose imediata (GODAR, 1999).

A liberação para o citosol do fator indutor de apoptose (AIF) e do citocromo C (Cyto-C), presentes na mitocôndria, faz com que proteases (caspases) responsáveis pela indução da morfologia apoptótica através da clivagem das proteínas da lâmina nuclear e do citoesqueleto sejam ativadas. O AIF ativa diretamente a caspase 3 (caspase efetora⁴), enquanto que o Cyto C necessita primeiramente se associar à proteína APAF-1 para em seguida ativar a caspase 9 (caspase iniciadora⁵ pós-mitocondrial) e posteriormente a caspase 3 (Figura 4) (GODAR, 1999).

⁴ Caspase efetora - executa a proteólise de estruturas importantes para a homeostase e reparo celular.

Figura 4 APOPTOSE IMEDIATA



Fonte: GODAR DE. Light and death: Photons and apoptosis. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings, v.4, p.17-23, 1999.

Deve-se ressaltar que esse processo de liberação de AIF e Cyto C pode ser inibido pela proteína Bcl-2 por sua capacidade de manter a integridade da membrana mitocondrial. A família Bcl-2, na verdade, é composta por proteínas que possuem propriedades anti-apoptóticas (ex. Bcl-2, Bcl-xL) e pró-apoptóticas (ex. BAX, BAK, BAD, BID) exercidas através da inibição ou liberação de Cyto C da mitocondria para o citoplasma, respectivamente. As moléculas anti-apoptóticas são proteínas integrantes da membrana mitocondrial, ao contrário das pró-apoptóticas, que se localizam no citosol ou no citoesqueleto e se integram à membrana mitocondrial após um estímulo apoptótico (HOLTZMAN et al, 2000).

⁵ Caspase iniciadora - conecta os sinais apoptóticos ao programa apoptótico celular.

A forma intermediária de apoptose, por sua vez, ocorre por ativação de um receptor apoptótico celular, como, por exemplo, do receptor Fas (FasR), também denominado CD95 ou APO-1. Exemplos de agentes capazes de induzir a apoptose intermediária incluem altas doses da radiação UVB e UVC. O mecanismo que leva a ativação desses receptores não é conhecido, mas a alteração conformacional ou física da membrana celular é uma possibilidade (ARAGANE *et al.*, 1998). Após a estimulação do FasR observa-se o recrutamento da caspase 8⁶ (caspase iniciadora pré-mitocondrial) pela proteína associada ao Fas com domínio da morte (FADD), ocorrendo assim a ativação da caspase 3 de forma direta ou através da clivagem da proteína Bid (presente na membrana mitocondrial), da formação do poro mitocondrial e da liberação de Cyto C (Figura 5). A participação mitocondrial nesse processo depende do estímulo apoptótico e do tipo celular envolvidos. As células hepáticas e a deficiência do fator de crescimento, por exemplo, dependem primordialmente da disfunção mitocondrial (GODAR, 1999).

Outro receptor capaz de induzir, pelo menos parcialmente, a apoptose intermediária é o receptor 1 para TNF (TNFR1). Após a sua ativação, possivelmente pelo TNF- α liberado por ceratinócitos expostos à radiação UV, observa-se o recrutamento da proteína associada ao receptor TNF com domínio da morte (TRADD) e em seguida da proteína FADD que irá ativar a caspase 3 (ARAGANE *et al.*, 1998).

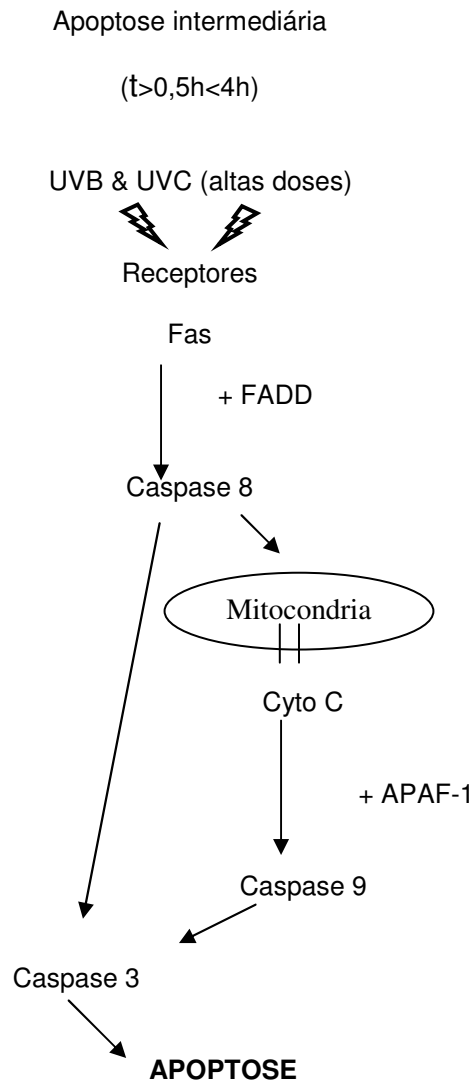
Com relação a apoptose tardia, há dois mecanismos distintos de indução, secundários à lesão do ADN: 1- ativação do fator de transcrição AP-1; 2- acúmulo intracelular de p53 (GODAR, 1999).

Agentes capazes de lesar o ADN e induzir a ativação do fator de transcrição AP-1 incluem as radiações UVB, UVA e raio X. Como consequência, observa-se

⁶ Anteriormente denominada FLICE (FADD-like interleukin-1 -converting enzyme [ICE])

uma maior síntese e expressão de FasL e ativação da caspase 8 via FADD (Figura 5) (GODAR, 1999).

Figura 5 APOPTOSE INTERMEDIÁRIA

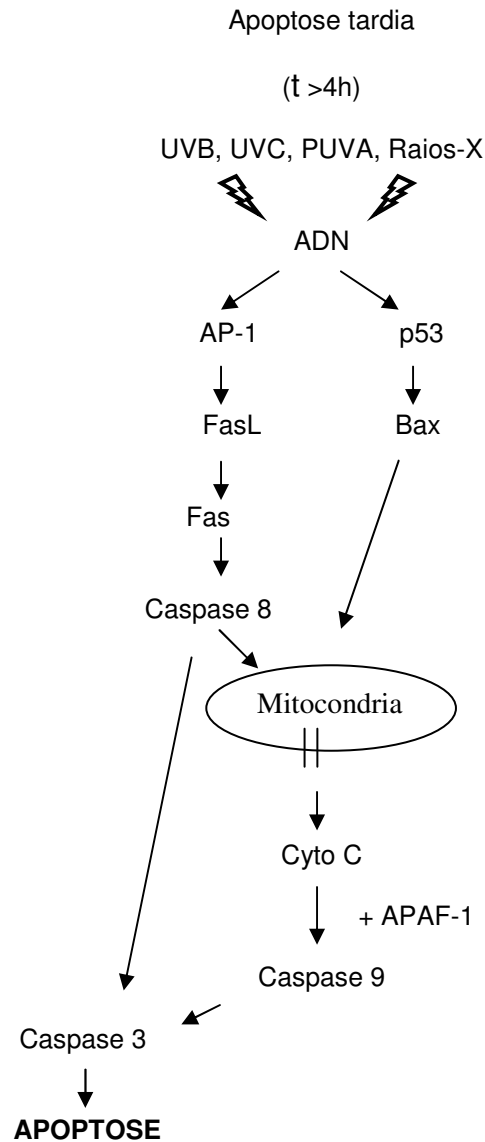


Fonte: GODAR DE. Light and death: Photons and apoptosis. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings, v.4, p.17-23, 1999.

Já o acúmulo intracelular de p53, observado com o uso das radiações UVB, UVC e PUVA, é capaz de promover uma maior expressão da proteína Bax (formadora do poro mitocondrial), a inibição da expressão de Bcl-2, uma maior liberação de Cyto C e a indução da apoptose imediata, sem a participação do processo intermediário (Figura 6). Antes disso, p53 faz com que a célula tente

reparar o dano ao ADN interrompendo o ciclo celular na fase G1 (ARAGANE et al, 1998).

Figura 6 APOPTOSE TARDIA



Fonte: GODAR DE. Light and death: Photons and apoptosis. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings, v.4, p.17-23, 1999.

2.2.5.2.6- Aspectos práticos

Nos pacientes nos estágios iniciais (IA, IB e IIA) a terapia PUVA pode ser aplicada isoladamente de forma idêntica à empregada no tratamento da psoríase. Administra-se o psoraleno na dose de 0,6 – 0,8 mg/kg (8-MOP) ou 1,2 - 1,8 mg/kg (5-MOP) duas horas antes da exposição à radiação UVA, duas a quatro vezes por

semana segundo o protocolo utilizado. Dois protocolos são atualmente empregados, o europeu e o americano. As principais diferenças entre eles são a determinação das doses iniciais e subseqüentes de UVA e a freqüência de tratamento (HÖNIGSMANN et al, 1993).

Segundo o protocolo americano, a determinação das doses iniciais e subseqüentes de UVA se baseiam no fototipo do paciente (Quadro 15 e 16) e a freqüência de tratamento varia de 2 a 3 sessões por semana. O protocolo europeu, por sua vez, utiliza como dose inicial a dose fototóxica mínima, o eritema cutâneo como guia para aumento da dose de UVA e uma freqüência fixa de quatro vezes por semana. Por não haver evidências de superioridade de nenhum dos protocolos com relação ao tratamento dos LCCT, ambos permanecem em uso (HÖNIGSMANN et al, 1993).

Quadro 15 Determinação do Fototipo

Fototipo	História
I	Sempre queima, nunca bronzeia
II	Sempre queima, às vezes bronzeia
III	Às vezes queima, sempre bronzeia
IV	Nunca queima, sempre bronzeia
V	Pardos
VI	Negros

Fonte: HÖNIGSMANN, H. et al. Oral photochemotherapy with psoralens and UVA (PUVA): Principles and practice. In: FITZPATRICK, T.B. et al. Dermatology in general medicine, McGraw-hill, 1993. p.1728-1754.

Quadro 16 Determinação da dose inicial, subseqüente e máxima de radiação UVA (J/cm²)

Fototipo	Dose inicial	Aumentos	Dose máxima
I	0,5	0,5	5
II	1,0	0,5	8
III	1,5	0,5 – 1,0	12
IV	2,0	1,0	14
V	2,5	1,0	16
VI	3,0	1,0 – 1,5	20

Fonte: MORISON, W.L. PUVA photochemotherapy. In: Wolverton, S.E. Comprehensive dermatologic drug therapy 1^a ed. Saunders. Pennsylvania: Philadelphia. 2001, p.311-325.
HÖNIGSMANN, H. et al. Oral photochemotherapy with psoralens and UVA (PUVA): Principles and practice. In: FITZPATRICK, T.B. et al. Dermatology in general medicine, McGraw-hill, 1993. p.1728-1754.

A exposição à radiação UVA deve ser feita de modo que todo o corpo seja exposto, inclusive as regiões intertriginosas, pela possibilidade da existência de lesões subclínicas imperceptíveis. A região genital masculina deve ser protegida durante o tratamento fototerápico. WOLFF & HONIGSMANN (1991), no entanto, não observaram o desenvolvimento de tumor genital em 32.599 pacientes tratados com PUVA

Uma vez obtida a regressão clínica das lesões, inicia-se a terapia de manutenção, a qual consiste da diminuição progressiva da frequência de tratamento até uma sessão mensal, mantida empiricamente por vários meses ou indefinidamente (HÖNIGSMANN et al, 1993).

Os efeitos colaterais da terapia PUVA também já foram bem documentados (MORISON, 2001), sendo o fotoenvelhecimento e a carcinogênese os mais preocupantes. O aparecimento de eritema, dor, edema, bolha e prurido, assim como a intolerância gástrica ao 8-MOP, são os efeitos colaterais agudos mais frequentes. Na MF, em particular, por sua natureza e potencial letal, os benefícios se sobrepõem aos riscos no que diz respeito ao desenvolvimento dos possíveis efeitos colaterais.

2.2.6 Prognóstico

Vários estudos têm demonstrado que a MF inicial possui evolução tipicamente lenta e que pacientes no estágio IA, tratados adequadamente, possuem sobrevida média semelhante à população controle. Cerca de 10 % de todos os pacientes, no entanto, evoluem para um estágio mais avançado da doença, e esses, por sua vez, apresentam uma sobrevida menor. Mesmo assim, pacientes nos estágios IB e IIA têm uma sobrevida maior do que 10 anos em cerca de 80% dos casos. Tais observações fundamentam a utilização de esquemas terapêuticos adaptados aos

diferentes estágios da doença, sem a necessidade do emprego de tratamentos agressivos como os aplicados aos outros tipos de linfoma (DIPPEL, et al, 2003).

Os mais importantes indicadores clínicos de prognóstico são o tipo de lesão (T), o estágio da doença, a presença de doença extracutânea e a idade do paciente. A presença de eosinofilia periférica e de elevadas taxas de LDH e de células de Sézary também está relacionada a um pior prognóstico, assim como as variantes histológicas folicular e granulomatosa e a presença de células CD30+. A presença de linfócitos tumorais CD8+, por sua vez, costuma sinalizar uma evolução mais favorável (KIM et al, 2005).

Com o objetivo de se obter uma melhor previsão da sobrevida dos pacientes portadores de LCCT, KLEMKE e colaboradores (2005) elaboraram um sistema de pontuação, denominado Índice de Gravidade dos LCCT (CTCL-SI) (Quadro 17). Esses autores avaliaram o comprometimento da pele, linfonodos, sangue periférico e órgãos internos de 62 pacientes portadores de MF e SS clássicas por um período médio de 39 meses. Como resultado demonstraram que pacientes com um CTCL-SI ≤ 20 obtiveram um prognóstico excelente, mas sem significado estatístico na previsão da sobrevida e progressão da doença. Em contrapartida, pacientes com CTCL-SI ≥ 60 , tiveram uma probabilidade de sobrevida próxima a 0%. A probabilidade de sobrevida para os pacientes com CTCL-SI > 20 e < 60 , por sua vez, pôde ser calculada pela equação $SR5 = 124 - 2 \times (CTCL-SI)\%$, expressa em meses, sendo SR5 a taxa de sobrevida em 5 anos. O comprometimento do sangue periférico e dos linfonodos foram os mais importantes fatores de pior prognóstico demonstrado por esse estudo.

Quadro 17 Índice de Gravidade para os LCCT (MF e SS)

Pele				Linfonodo		Sangue periférico		Vísceras	
Área %	Pontos	Tumor	Pontos		Pontos	Células atípicas	Pontos		Pontos
0	0	0	0	Normal	0	0-99	0	Ausente	0
1-10	3	1	6	Aumentado sem LCCT	5	100-1000	5	1 órgão	15
11-20	6	2-10	8	Aumentado com LCCT	15	>1000	10	> 1 órgão ou SS	25
21-40	9	>10	10						
41-60	12								
SE	14								
E	15								
Soma 1		Soma 2		Soma 3		Soma 4		Soma 5	
CTCL-SI (soma 1+2+3+4+5) =									

SE- suberitrodérmico E- eritrodérmico

Fonte: KLEMKE, C.D. et al, Prognostic factors and prediction of prognosis by the CTCL Severity Index in mycosis fungoides and Sézary syndrome. British Journal of Dermatology, v.153, p.118-124, 2005.

2.2.7 O perfil Th1/ Th2

Assim como as células T auxiliares (Th), as doenças dermatológicas, de uma forma geral, também podem ser diferenciadas em Th1 e Th2, segundo o perfil das citocinas presente em cada uma delas (SAED et al, 1994).

Apesar de não se conhecer os mecanismos imunológicos que levam ao desenvolvimento de uma resposta Th específica, sabe-se que as células Th1 são primariamente responsáveis por mediar as reações de hipersensibilidade tardia, tais como as observadas na dermatite de contato e na psoríase, enquanto que a resposta Th2 é vista nas doenças parasitárias e reações alérgicas, caracterizadas pela presença de eosinofilia e altos títulos de anticorpos, principalmente IgE (VOWELS et al, 1994).

ASSADULLAH e colaboradores (1996), todavia, chamaram a atenção para o fato de diversos estudos terem demonstrado perfis de citocina distintos para uma mesma doença, e sugeriram a existência de um espectro contínuo, onde os padrões clássicos Th1 e Th2 representariam os extremos desse espectro.

É de importância fundamental a participação das citocinas não só na patogênese, mas também no prognóstico dos LCCT, visto que a perda da imunidade celular (Th1) está diretamente relacionada à progressão da doença (SAED et al, 1994).

O fato das células tumorais e reativas, presentes no infiltrado celular das lesões cutâneas dos LCCT, serem linfócitos T CD4+ e CD8+, respectivamente, no entanto, dificulta a determinação da participação de cada uma delas na produção das citocinas presentes (ECHCHAKIR et al, 2000).

Desde a publicação, em 1994, dos estudos de SAED e colaboradores e de VOWELS e colaboradores têm se descrito resultados antagônicos no que diz respeito à origem e ao perfil das citocinas presente nos LCCT nos seus diferentes estágios.

Enquanto SAED e colaboradores (1994) observaram o predomínio das citocinas Th1 nas lesões cutâneas de sete pacientes portadores de MF em placa, VOWELS e colaboradores (1994) observaram a presença de IL-4 e IL-5 (Th2) na maioria dos doze pacientes com MF estudados (3 máculas, 3 placas e 6 tumores), principalmente nas lesões tumorais.

SAED e colaboradores (1994), contudo, ao avaliarem três outros pacientes com SS observaram o predomínio das citocinas Th2 tanto na pele quanto no sangue periférico e, desta forma, sugeriram que as células neoplásicas dos LCCT, na verdade, poderiam ser Th2, mas por estarem presentes em pequeno número nas lesões iniciais de MF seriam suprimidas pelas células T reacionais (Th1), fato não

observado nos quadros mais avançados, inclusive na SS e nas lesões tumorais da MF, onde a quantidade das células tumorais é maior.

Parcialmente de acordo com os achados de VOWELS e colaboradores (1994), ASADULLAH e colaboradores (1996) observaram o predomínio de IL-10, mas não de IL-4, nas lesões cutâneas de 11 pacientes com MF, principalmente nas placas e tumores. Para justificar a ausência de IL-4, a qual também é secretada pelas células Th2, eles sugeriram que a célula produtora poderia ser monócito, macrófago, ceratinócito ou até mesmo a própria célula neoplásica, a qual pertenceria a um novo tipo de célula Th, descrita como produtora de IL-10 e não IL-4, encontrada principalmente no tecido linfóide associado à mucosa (MALT).

ECHCHAKIR e colaboradores (2000), por sua vez, avaliaram separadamente as células T tumorais e reativas, e observaram que as mesmas produziram, respectivamente, IL-4, IL-6 e IL-10 (Th2) e IFN- γ e IL-2 (Th1). Utilizaram como substrato, no entanto, o sangue periférico de um único paciente que evoluiu para linfoma de células grandes pleomorfo.

Da mesma forma, HARWIX e ZACHMANN (2000) isolaram e avaliaram clones individuais de células T (n=120) da epiderme, derme e sangue periférico de 4 pacientes com lesões iniciais de MF (3 máculas e 1 placa). Identificadas como células T reativas (não pertenciam ao clone dominante), essas células se mostraram capazes de produzir tanto IFN- γ quanto IL-4 e, portanto, não possuíam atividade exclusiva Th1 como descrito por ECHCHAKIR e colaboradores (2000). A possibilidade de que essas células, em estágios mais avançados, pudessem vir a exibir um fenótipo Th2, inclusive, também não pôde ser afastada.

SIGURDSSON e colaboradores (2000) também não observaram o predomínio Th1 ou Th2 na pele de 6 pacientes com MF (5 placas e 1 tumor), ao

contrário dos 5 pacientes portadores de SS, por eles avaliados, que exibiram um padrão Th2.

O comportamento dessas citocinas, Th1 e Th2, diante das diversas opções terapêuticas para a MF foi avaliado por apenas um estudo clínico que utilizou como forma de tratamento a fotoférese extracorpórea (EPC) (DI RENZO et al, 1997). Nesse estudo, o aumento de IL-4 (Th2) e a diminuição de IFN- γ e IL12 (Th1), observados no sangue periférico de 8 pacientes com MF, estágio IB, antes do tratamento, retornaram a níveis normais após um ano de uso de ECP, quando comparados ao grupo controle (indivíduos sadios).

Dois outros estudos (SAED et al, 1994 e TOKURA et al, 2001), *in vitro*, também demonstraram que células T malignas (HUT-78) e células mononucleares provenientes do sangue periférico de dois pacientes com SS, quando tratadas com 8-MOP e UVA, produziram maior quantidade de citocinas Th1 e menor quantidade de citocinas Th2.

A inexistência de um trabalho clínico semelhante ao realizado por DI RENZO e colaboradores (1997), utilizando PUVA como forma de tratamento, motivou a realização do presente estudo.

3 Metodologia

Lactação
Insuficiência hepática ou renal
História de reação idiossincrásica ao psoraleno
Tratamento específico para micose fungóide nos últimos 3 meses.

3.2.2 Ficha cadastral – Registro de dados como sexo, idade, fototipo e exames complementares.

3.2.3 Administração da terapia PUVA

Os pacientes receberam 8- metoxipsoraleno (8-MOP) por via oral, na dose de 0,6 mg/kg/dia, e foram expostos à irradiação UVA, 2 horas após, três vezes por semana até o total de 60 sessões. As doses iniciais, subseqüentes e máximas de radiação UVA de cada sessão foram determinadas pelo fototipo do paciente (Protocolo americano) (Quadros 15 e 16).

Optou-se por se utilizar o 8-MOP e não o 5-MOP por ser entre os dois o único comercializado no Brasil, sendo o mesmo fornecido gratuitamente aos pacientes.

Durante o tratamento os pacientes foram orientados a:

1- Expor toda a superfície corpórea, exceto a região genital masculina, e utilizar proteção ocular, enquanto dentro da unidade fototerápica.

2- Evitar exposição solar excessiva.

3- Utilizar proteção ocular em caso de exposição solar até 24 horas após a ingestão da medicação.

3.2.4 Avaliação dos pacientes

Após inclusão no estudo, os pacientes foram avaliados e acompanhados segundo o protocolo descrito a seguir:

Atividade	Sessões de PUVA						
	0	1-19	20	21-39	40	41-59	60
Anamnese	X						
Exame dermatológico	X		X		X		X
Critérios de inclusão e exclusão	X						
Consentimento informado	X						
Biópsia de pele	X						X
RX de tórax	X						
Ultra-som abdominal total e pélvico	X						
Pesquisa de células de Sézary	X						X
CD4, CD8, CD7, CLA, IFN- γ , IL-4	X						X
Hemograma completo	X		X		X		X
Uréia	X		X		X		X
Creatinina	X		X		X		X
TGO	X		X		X		X
TGP	X		X		X		X
Fosfatase alcalina	X		X		X		X
Bilirrubina total	X		X		X		X
Bilirrubina direta	X		X		X		X
Bilirrubina indireta	X		X		X		X
Gama GT	X		X		X		X
Albumina	X		X		X		X
TAP	X		X		X		X
Exame oftalmológico	X						X
Administração da Terapia PUVA		X	X	X	X	X	X

3.2.4.1 Avaliação clínica

Os pacientes foram submetidos a exame clínico após a 20^a, 40^a e 60^a sessões de PUVA (7^a e 14^a semanas do início e ao término do estudo, respectivamente) no Setor de Fotodermatologia do Serviço de Métodos Especiais (SME) do HUCFF-UFRJ, e a resposta terapêutica mensurada da seguinte forma:

- Remissão completa - desaparecimento de todas as lesões.
- Remissão parcial – qualquer melhora inferior à remissão completa.
- Ausência de melhora - manutenção das lesões iniciais.
- Progressão da doença – aparecimento de lesões novas.

Fonte: KIM et al. Clinical characteristics and long-term outcome of patients with generalized patch and/or plaque (T2) mycosis fungoides. Archives of Dermatology, v.135, p.26-32, 1999.

3.2.4.2 Coleta e armazenamento das biópsias de pele e do sangue periférico

As biópsias de pele foram realizadas utilizando-se *punch* de 6 mm de diâmetro e o sangue coletado por punção venosa periférica, obtendo-se 10 ml em tubos contendo EDTA, nos seguintes tempos de tratamento:

ZERO – PACIENTE VIRGEM DE TRATAMENTO

60 SESSÕES (20 SEMANAS APÓS O INÍCIO DA TERAPIA PUVA)

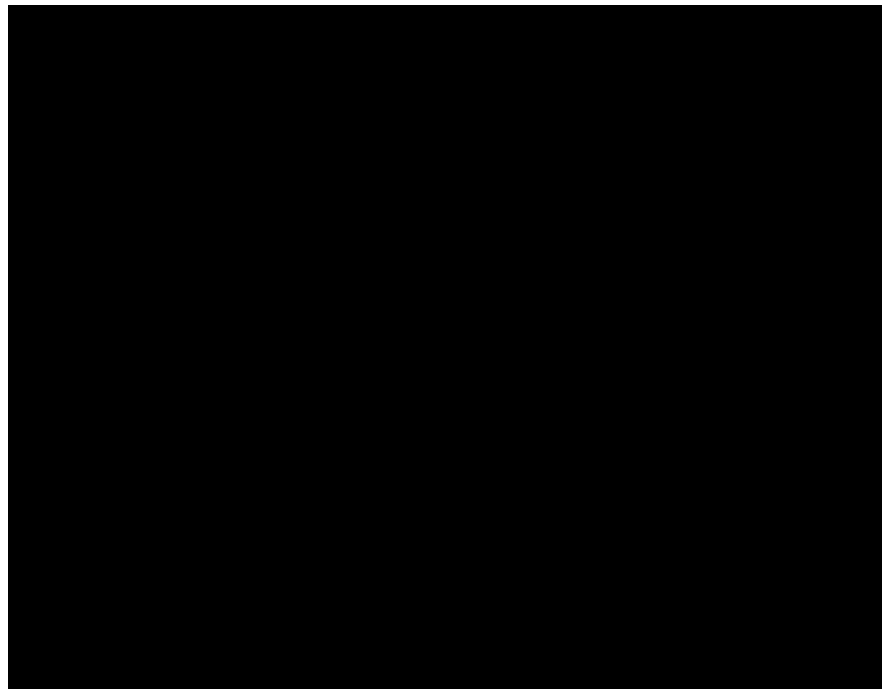
Durante a coleta dos dados, as células mononucleares do sangue periférico e as biópsias de pele foram armazenadas em nitrogênio líquido no Banco de Células do Rio de Janeiro e posteriormente preparadas para as diferentes análises propostas.

As biópsias de pele foram realizadas na mesma área, sendo a 2^a localizada a 0,5 cm da 1^a.

3.2.4.3 Citometria de fluxo

As células mononucleares do sangue obtidas em gradiente de Ficoll foram cultivadas a uma densidade de 2×10^6 células/ml em placa de 24 poços por 5 hs com meio contendo 20 nM de PMA (forbol éster miristato – Sigma Chemical Co, MO, Estados Unidos) 2 μ M de Ionomicina (Sigma Chemical Co, MO, Estados Unidos) e 3 μ M de monensina (Sigma Chemical Co, MO, Estados Unidos) em estufa de CO₂ a 37°C.

As células provenientes da cultura descrita acima foram incubadas em placas de 96 poços, fundo U (Corning, NY, Estados Unidos) por 10 minutos com meio DMEM contendo 2% de soro AB humano. Depois fixadas em solução de paraformaldeído 2% (Sigma Chemical Co, MO, Estados Unidos) por 5 minutos à 37°C. Lavadas com PBS e incubadas por 30 minutos, na ausência de luz, com 10µl de saponina 0,3% (Sigma Chemical Co,MO, Estados Unidos) e os anticorpos indicados. A lavagem é feita em saponina 0,3% e as células ressuspensas em PBS para a leitura no citômetro de fluxo, utilizando-se o *softw re* Cell Quest (BD, Califórnia, Estados Unidos), conforme gráfico ilustrativo.



3.2.4.4 Grupo controle

Utilizou-se como controle o sangue periférico de seis indivíduos sadios com faixa etária (43-82 anos) e idade média (62,8 anos) compatíveis com os pacientes estudados.

As técnicas de coleta, armazenamento e processamento foram realizadas de forma idêntica nos dois grupos para que os resultados não sofressem influência dessas variáveis.

3.2.4.5 Imunohistoquímica

As amostras de tecido (pele) foram congeladas em Tissue-Tek[®] OCT (Sakura Finetec Europe, NL).

Cortes de 4 μ de espessura foram posteriormente montados em lâminas silanizadas, para aumentar a aderência, e imediatamente fixados em acetona por 10 segundos em temperatura ambiente no Serviço de Anatomia Patológica de HUCFF-UFRJ. As marcações para CD4, CD8, CLA, CD7, IFN- γ e IL-4 foram realizadas como descrito a seguir:

Os cortes foram circulados por uma caneta hidrofóbica (Dako) e incubados com os anticorpos previamente diluídos em uma solução de PBS-TWEEN20 A 0,02% (cloreto de sódio 8,17g, fosfato de sódio monobásico 0,36g, fosfato de sódio bibásico 1,05g, água destilada 1L, TWEEN 20 200 μ L, pH 7.6) + BSA a 1% (Sigma). Após uma hora de reação em temperatura ambiente foi aplicado o kit LSAB + System AP (Dako), sendo que ao fim de cada etapa as lâminas foram lavadas em tampão PBS-TWEEN20. Foi adicionado a seguir o cromógeno *Per nent Red* (Dako) por 3 a 5 minutos. Posteriormente, as lâminas foram lavadas em água destilada, contracoradas em hematoxilina de Harris, azuladas em água corrente, secas e montadas com goma de Damar (Proquímios) para fixação das lamínulas.

Todas as marcações foram feitas por Anticorpos Laboratório, situado à Rua Miguel de Frias, 77/1009 – Niterói – Rio de Janeiro; telefone: 2704-4488; site: www.anticorpos.com.br.

3.2.5 Anticorpos

Para citometria de fluxo foram utilizados os seguintes anticorpos:

anti-IL-4 FITC, anti-IFN- FITC, anti-CD4 PE e anti-CD8 CY

Para imunohistoquímica foram utilizados os seguintes anticorpos, nas diluições preconizadas pelos fabricantes, após testagem e titulação em biópsias de linfonodo controle:

anti-CD4 biotina, clone 4B12, diluição 1:50, BioGenex, California, Estados Unidos

anti-CD8 biotina, clone C8/144B, diluição 1:50, Dako, Copenhagen, Dinamarca

anti-CD7biotina, clone CBC.37, diluição 1:50, Dako, Copenhagen, Dinamarca

anti-CLA purificado, clone HECA-452, diluição 1:50, B&D Pharmingen, Califórnia, Estados Unidos

anti-IFN- purificado, clone 25723, diluição 1:25, R&D systems, Minnesota, Estados Unidos

anti-IL4 purificado, clone 3007.11, diluição 1:30, R&D systems, Minnesota, Estados Unidos

3.2.6 - Análise qualitativa das células da pele

Após a realização da técnica de imunohistoquímica, procedeu-se o exame microscópico dos cortes histológicos no Serviço de Anatomia Patológica do HUCFF-UFRJ, com o objetivo de se identificar, na epiderme e derme, a presença de células

4 Resultados

4.1 Casuística:

Obedecendo-se os procedimentos pré-estabelecidos, de acordo com a metodologia estipulada, observaram-se os seguintes aspectos e características, devidamente sumarizados e registrados nas tabelas e gráficos que se seguem.

Dos sete pacientes estudados, quatro eram do sexo masculino e três do sexo feminino. A idade média observada foi 63,14 anos (35-78 anos) (Tabela 1).

Tabela 1 Distribuição por idade e sexo

Paciente	Idade (anos)	Sexo
1	72	F
2	35	M
3	62	M
4	78	F
5	69	F
6	63	M
7	63	M

A dose acumulada de UVA variou entre 249,5 e 617, sendo esses dois extremos pertencentes ao menor e maior fototipo, respectivamente. Todos os pacientes apresentaram remissão das lesões, sendo cinco de forma total e dois de forma parcial (Figuras 7-10), sem relação com o estágio da doença (Tabela 2).

Tabela 2 Distribuição por estágio da doença, dose acumulada de UVA e resposta ao tratamento

Paciente	Estágio (TNM)	Fototipo	Dose acumulada de UVA (J/Cm ²)	Resposta ao tratamento
1	IB	V	344	Remissão completa
2	IB	IV	378	Remissão completa
3	IB	V	316	Remissão parcial
4	IA	III	249,5	Remissão parcial
5	IB	VI	617	Remissão completa
6	IA	II	298	Remissão completa
7	IB	IV	465	Remissão completa

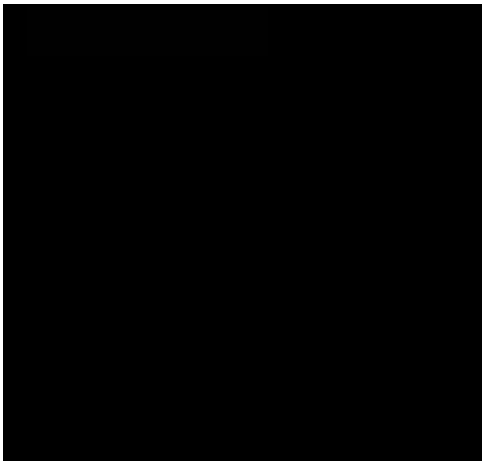


Figura 7 Paciente 4 pré-tratamento. Placa eritematosa e mílios na face.

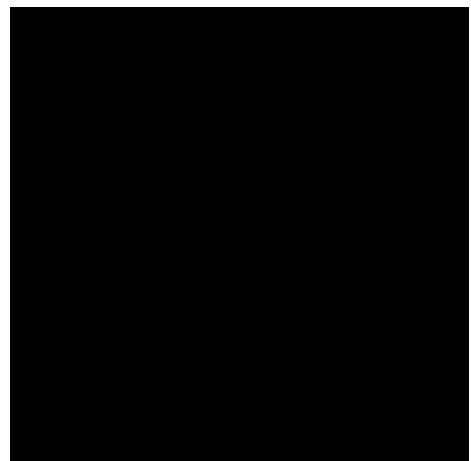


Figura 8 Paciente 4 pós-tratamento. Regressão parcial da lesão.

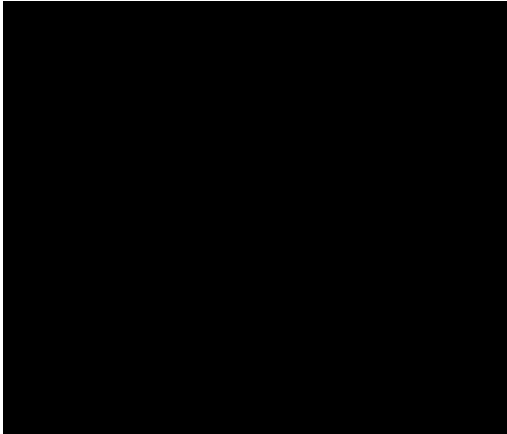


Figura 9 Paciente 5 pré-tratamento. Placas eritematohipocrômicas, descamativas e máculas hipocrômicas no dorso

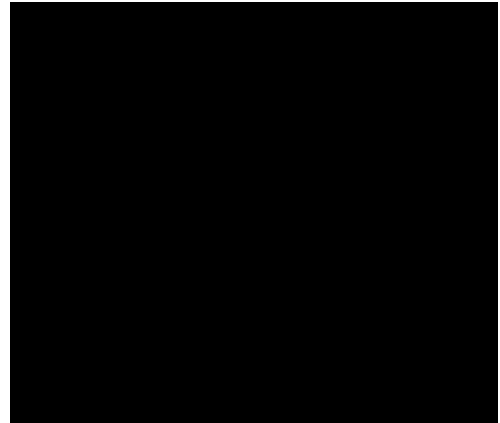


Figura 10 Paciente 5 pós-tratamento. Regressão total das lesões.

4.2 Análise das subpopulações de linfócitos T CD4 e CD8

4.2.1. Análise da subpopulação CD4 na epiderme

Três dos seis pacientes avaliados se mostraram positivos antes do tratamento e negativos após. Os outros três pacientes foram negativos antes e após as 60 sessões de PUVA. Raras células CD4+ foram encontradas nesse compartimento.

4.2.2 Análise da subpopulação CD4 na derme

Dos seis pacientes avaliados, quatro se mostraram positivos antes do tratamento (Tabela 3 e Figura 11). Desses quatro pacientes, três também eram positivos na epiderme. Após o tratamento, observou-se, uma redução importante, com o desaparecimento total dessas células CD4 nos quatro pacientes (Tabela 3). Os dois pacientes nos quais não se conseguiu evidenciar a presença de células CD4+ antes do tratamento, passaram a expressá-las após as 60 sessões de PUVA (Tabela 3).

Tabela 3 Análise semiquantitativa das células CD4 na derme, antes e após tratamento

PACIENTE	1	2	3	5	6	7
CD4 PRÉ (cels/mm)	+++	+++	-	+++	-	+++
CD4 PÓS (cels/mm)	-	-	++	-	+	-

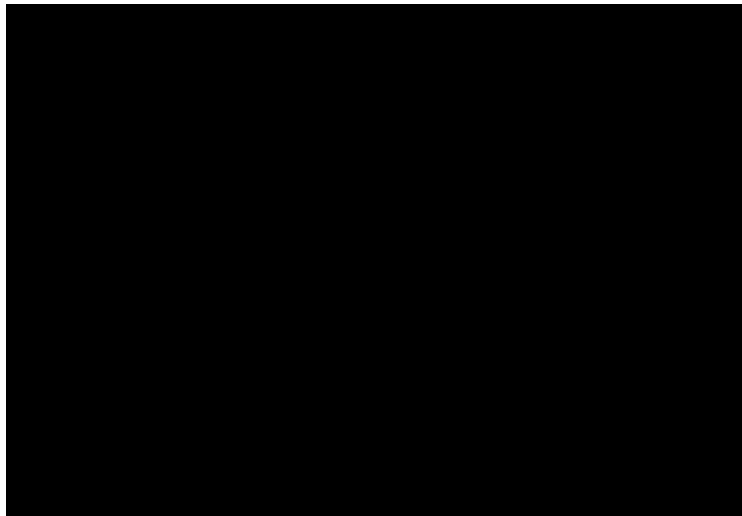


Figura 11 Fotomicrografia de células marcadas pelo anticorpo anti-CD4 na derme.
(Obj. A-10x e B-40x)

4.2.3 Análise da subpopulação CD4 no sangue periférico

Com relação à variação individual da percentagem das células CD4, avaliadas por citometria de fluxo, observou-se que após 60 sessões de PUVA os valores pré-tratamento aumentaram em três pacientes, diminuíram em dois e se mantiveram em dois (Tabela 4 e Gráfico 1). A média desses valores, no entanto, não apresentou variação significativa pelo teste *t-Student* pareado ($p>0,05$) (Gráfico 2).

Tabela 4 Percentagem das células CD4 no sangue periférico, antes e após tratamento

PACIENTE	1	2	3	4	5	6	7
CD4 PRÉ (%)	43,36	38,43	35,55	44,46	38,21	46,88	44,92
CD4 PÓS (%)	52,2	46,24	34	40	46,34	48,11	32,71

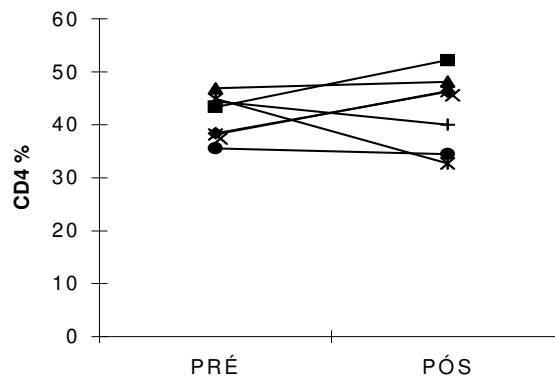


Gráfico 1 Variação individual das células CD4 no sangue periférico pré e pós PUVA. Percentual de células CD4 presentes no sangue periférico, determinado por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. Cada símbolo representa um paciente individual. As linhas foram colocadas para facilitar a visualização das variações pós-tratamento.

* Os dados referentes aos itens 4.2.3, 4.2.6, 4.5.3, 4.5.3.1, 4.5.3.2, 4.5.6, 4.5.6.1 e 4.5.6.2, expostos nas tabelas e gráficos de linha, são exatamente os mesmos. As tabelas são utilizadas com maior frequência em estudos clínicos e permitem uma melhor visualização das variações individuais. Os gráficos de linha, por sua vez, permitem uma melhor visualização das modificações do grupo como um todo.

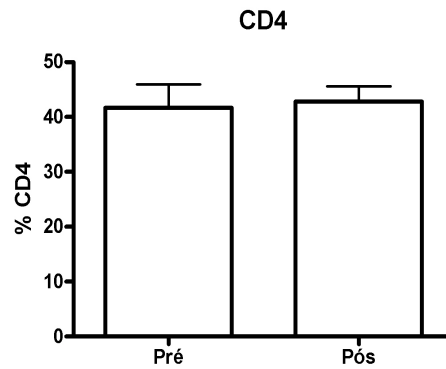


Gráfico 2 Variação da média das células CD4 no sangue periférico pré e pós PUVA. Médias do percentual de células CD4 presentes no sangue periférico, determinadas por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. As barras representam as médias e as linhas em formato de T o desvio padrão. A diferença entre os valores PRÉ e PÓS-tratamento se mostrou não significativa ($p > 0,05$).

4.2.4 Análise da subpopulação CD8 na epiderme

Todos os seis pacientes avaliados se mostraram negativos antes e após o tratamento.

4.2.5 Análise da subpopulação CD8 na derme

Apenas um dos seis pacientes apresentou, na avaliação pré-tratamento, raras células CD8+ na derme (Figura 12), as quais desapareceram com o tratamento (Tabela 5). Todos os outros cinco pacientes eram CD8- no pré-tratamento e assim se mantiveram após as 60 sessões de PUVA (Tabela 5).

Tabela 5 Análise semiquantitativa das células CD8 na derme, antes e após tratamento

PACIENTE	1	2	3	5	6	7
CD8 PRÉ (cels/mm)	+	-	-	-	-	-
CD8 PÓS (cels/mm)	-	-	-	-	-	-

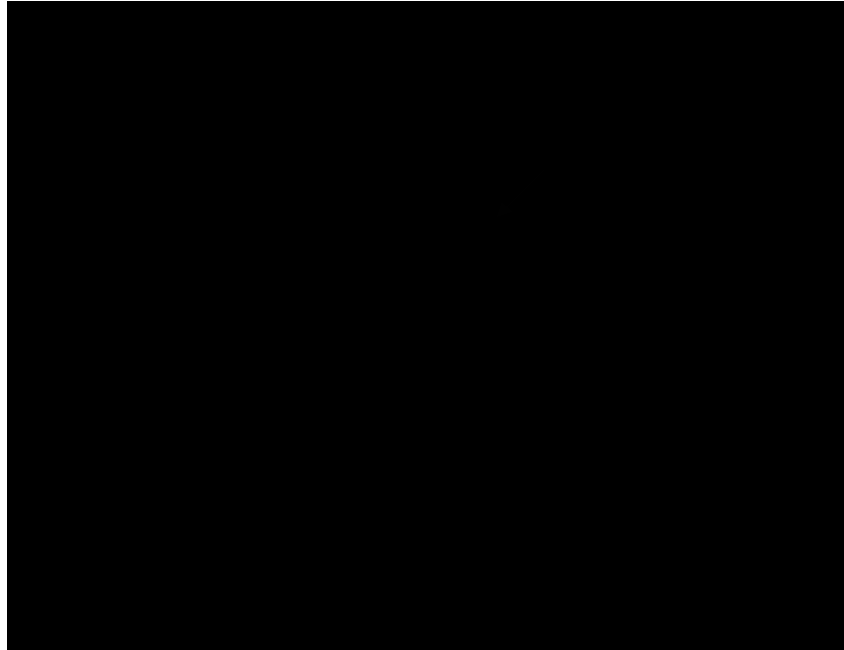


Figura 12 Fotomicrografia de células marcadas pelo anticorpo anti-CD8 na derme (Obj.100x)

4.2.6 Análise da subpopulação CD8 no sangue periférico

A percentagem das células CD8, por sua vez, após o tratamento, aumentou em dois pacientes, se manteve em um e diminuiu em quatro, quando comparada aos valores pré-tratamento (Tabela 6 e Gráfico 3). A média desses valores, contudo, permaneceu praticamente inalterada após o tratamento (Teste T *Student* pareado) ($p>0,05$) (Gráfico 4).

Tabela 6 Percentagem das células CD8 no sangue periférico, antes e após tratamento

PACIENTE	1	2	3	4	5	6	7
CD8 PRÉ (%)	32,93	24,78	16,17	26,84	22,05	11,58	22,79
CD8 PÓS (%)	27,33	17,66	24,74	29,59	15,04	7,23	37,52

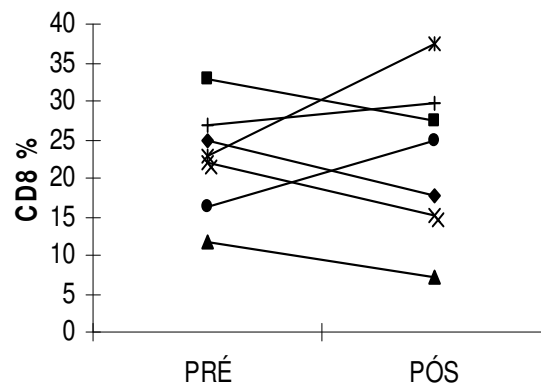


Gráfico 3 Variação individual das células CD8 no sangue periférico pré e pós PUVA. Percentual de células CD8 presentes no sangue periférico, determinado por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. Cada símbolo representa um paciente individual. As linhas foram colocadas para facilitar a visualização das variações pós-tratamento.

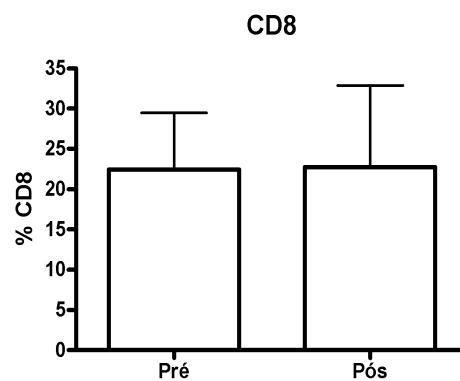


Gráfico 4 Variação da média das células CD8 no sangue periférico pré e pós PUVA. Médias do percentual de células CD8 presentes no sangue periférico, determinadas por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. As barras representam as médias e as linhas em formato de T o desvio padrão. A diferença entre os valores PRÉ e PÓS-tratamento se mostrou não significativa ($p > 0,05$).

4.2.7 Análise da relação CD4/CD8 na epiderme

A análise da relação CD4/CD8, antes do tratamento, demonstrou a presença exclusiva dos linfócitos T CD4 na epiderme de três pacientes. Nos três outros pacientes, no entanto, não se conseguiu detectar a presença de células CD4 ou CD8. Após o tratamento, tanto as células CD4 quanto CD8 estavam ausentes em todos os seis pacientes.

4.2.8 Análise da relação CD4/CD8 na derme

Observou-se o predomínio das células CD4 antes do tratamento. Na análise pós-tratamento, observou-se uma redução total das células CD8 e parcial das células CD4. Alguns pacientes, que não apresentavam células CD4 no pré-tratamento, passaram a expressá-las no pós-tratamento (Tabelas 3 e 5).

4.2.9 Análise da relação CD4/CD8 no sangue periférico

As médias da percentagem de células CD4 e CD8 mostraram o predomínio das células CD4 pré-tratamento e se mantiveram praticamente inalteradas após o tratamento (Tabela 7 e Gráfico 5).

Tabela 7- Percentagem das médias das células CD4 e CD8, antes e após tratamento

MARCADOR	MÉDIA PRÉ	MÉDIA PÓS
CD4 (%)	41,69	42,8
CD8 (%)	22,45	22,73

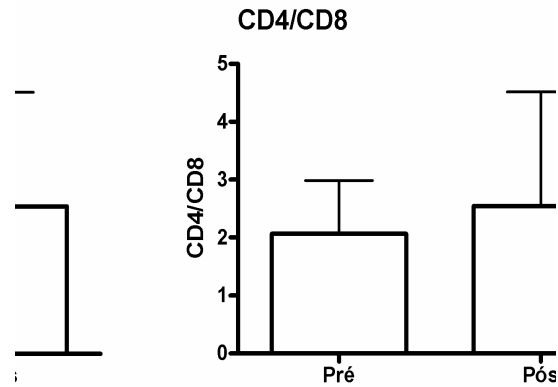


Gráfico 5 Variação da relação das médias das células CD4 e CD8 no sangue periférico pré e pós PUVA. Variação da relação das médias das células CD4 e CD8 presentes no sangue periférico, determinadas por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. As barras representam as médias e as linhas em formato de T o desvio padrão. A diferença entre os valores pré e pós-tratamento se mostrou não significativa ($p > 0,05$).

4.3 Análise da subpopulação CD7

4.3.1 Análise da subpopulação CD7 na epiderme

Dos três pacientes que se mostraram positivos para CD4 na epiderme, antes do tratamento, apenas um apresentou positividade para CD7, com raras células presentes, demonstrando que nesses pacientes o infiltrado presente era composto principalmente por células CD7⁻. Os outros três pacientes que foram negativos para CD4 e CD8 também o foram para CD7. No pós-tratamento, todos os pacientes foram negativos para CD7, assim como para CD4 e CD8.

4.3.2 Análise da subpopulação CD7 na derme

A análise qualitativa da subpopulação CD7 demonstrou um comportamento idêntico ao da subpopulação CD4, ou seja, os mesmos quatro pacientes que eram CD4 positivos antes do tratamento eram também CD7 positivos (Figura 13), assim como os dois pacientes que eram CD4 negativos também se mostraram CD7 negativos. No pós-tratamento observou-se o mesmo. Os quatro pacientes CD4

positivos no pré-tratamento e que se tornaram negativos após as 60 sessões de PUVA também se tornaram CD7 negativos. Os dois pacientes que eram CD4 negativos antes do tratamento e CD4 positivos após também eram CD7 negativos antes e positivos após. A análise semiquantitativa, por sua vez, demonstrou de forma semelhante às células CD4, uma diminuição importante após o tratamento (Tabela 8).

Tabela 8 Análise semiquantitativa das células CD7 na derme, antes e após tratamento

PACIENTE	1	2	3	5	6	7
CD7 PRÉ (cels/mm)	+++	++	-	+	-	++
CD7 PÓS (cels/mm)	-	-	+	-	++	-

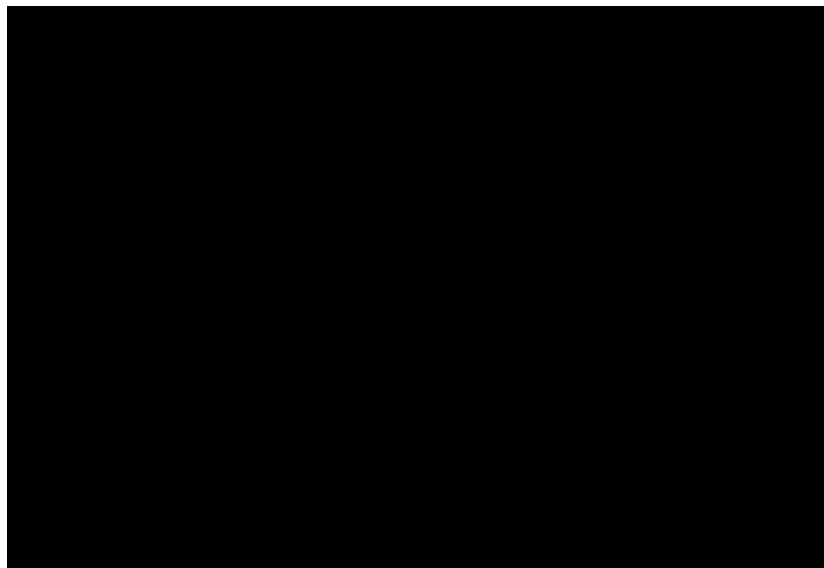


Figura 13 Fotomicrografia de células marcadas pelo anticorpo anti-CD7 na derme (Obj. 40x).

4.4 Análise das células CLA+

4.4.1 Análise das células CLA+ na epiderme

Quatro dos seis pacientes avaliados se mostraram positivos para o CLA (Figura 14), sendo dois de forma intensa. Três dos quatro pacientes eram CD4+. O outro paciente era CD4-CD8-. Na avaliação pós-tratamento todos esses quatro pacientes se tornaram CLA negativos. No entanto, um outro único paciente (CD4-CD8-), que tinha se mostrado negativo para CLA pré-tratamento, apresentou positividade no pós-tratamento.

4.4.2 Análise das células CLA+ na derme

Antes do tratamento, cinco dos seis pacientes estudados eram CLA positivos (Figura 15). Após o tratamento, observou-se uma redução importante dessas células, sendo que quatro dos cinco pacientes se tornaram CLA negativos. Um único paciente se manteve CLA positivo após o tratamento (Tabela 9). O único paciente que não expressava o antígeno CLA antes do tratamento foi o que teve resposta clínica parcial. Após o tratamento, no entanto, esse mesmo paciente passou a expressar células CLA positivas (Tabela 9).

Tabela 9 Análise semiquantitativa das células CLA na derme, antes e após tratamento

PACIENTE	1	2	3	5	6	7
CLA PRÉ (cels/mm)	+++	+++	-	++	+	+++
CLA PÓS (cels/mm)	-	-	++	-	+	-

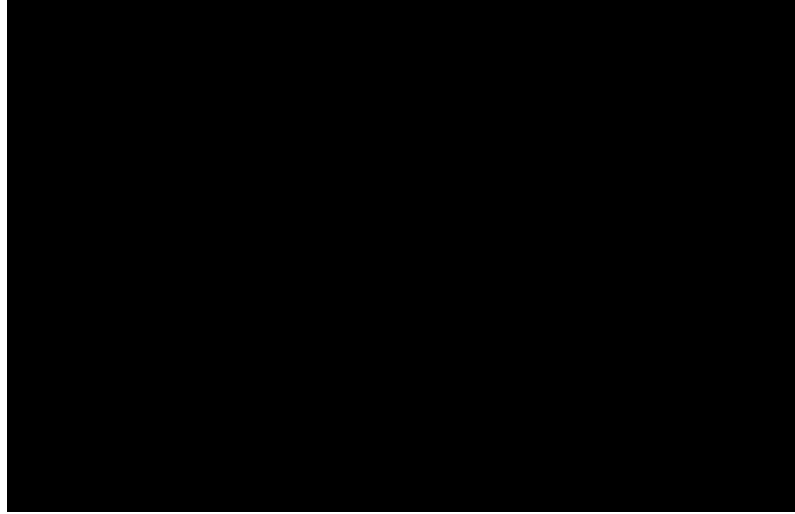


Figura 14 Fotomicrografia de células marcadas pelo anticorpo anti-cla na epiderme (Obj. A-10x e B- 40X).



Figura 15 Fotomicrografias de células marcadas pelo anticorpo anti-cla na derme (Obj. A- x10, B- x40 e C- células endoteliais x40).

4.5 Estudo do fenótipo funcional

4.5.1 Análise das células produtoras de IFN- γ na epiderme

Todos os pacientes se mostraram negativos para células produtoras de IFN- γ antes e após o tratamento.

4.5.2 Análise das células produtoras de IFN- γ na derme

A presença de células produtoras de IFN- γ foi observada, antes do tratamento, em quatro dos seis pacientes avaliados, as quais apresentavam morfologia dendrítica (Figura 16). Após o tratamento todos os pacientes se tornaram negativos (Tabela 10).

Tabela 10 Análise semiquantitativa das células produtoras de IFN- γ na derme, antes e após tratamento

PACIENTE	1	2	3	5	6	7
IFN- γ PRÉ (cels/mm)	+	-	++	++	-	++
IFN- γ PÓS (cels/mm)	-	-	-	-	-	-

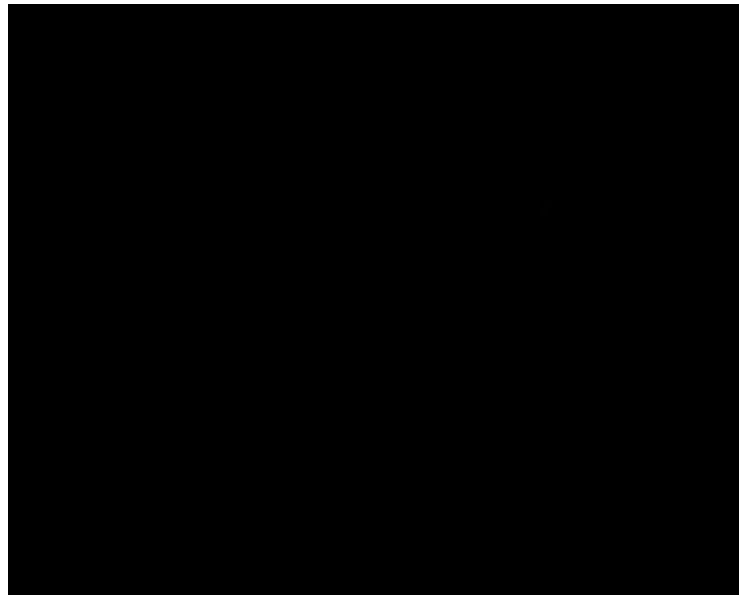


Figura 16 Fotomicrografia de células com morfologia dendrítica marcadas pelo anticorpo anti-IFN-g na derme (Obj.40x)

4.5.3 Análise dos linfócitos produtores de IFN- γ no sangue periférico

A avaliação individual pós-tratamento da percentagem de linfócitos produtores de IFN- γ demonstrou que os valores pré-tratamento diminuíram em quatro pacientes, se mantiveram em dois e aumentaram em um (Tabela 11 e Gráfico 6). Uma diminuição da média dos valores pré-tratamento também foi observada, porém sem significado estatístico (Teste t-*Student* pareado) ($p > 0,05$) (Gráfico 7).

Os dados do grupo controle podem ser vistos na Tabela 12 e se assemelham aos pacientes em estudo pré-tratamento.

Tabela 11 Percentagem de linfócitos produtores de IFN- γ no sangue periférico, antes e após tratamento

PACIENTE	1	2	3	4	5	6	7
IFN- γ PRÉ (%)	10,17	1,73	1,15	5,83	6,39	5,48	2,55
IFN- γ PÓS (%)	3,45	2,68	5,58	5,52	0,76	1,32	0,36

Tabela 12 Percentagem de linfócitos produtores de IFN- γ no sangue periférico do grupo controle

PACIENTE	1	2	3	4	5	6
IFN- γ (%)	7,82	5,86	9,44	6,44	2,94	6,28

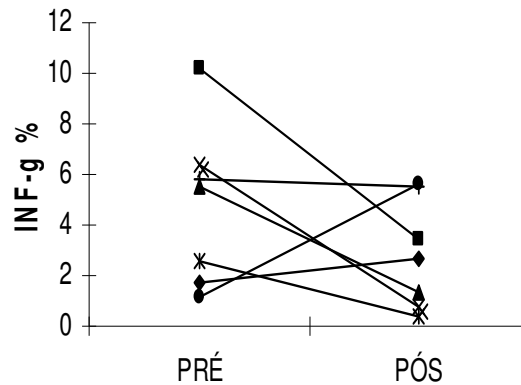


Gráfico 6 Variação individual de linfócitos produtores de IFN- γ no sangue periférico pré e pós PUVA Percentual de linfócitos produtores de IFN- γ presentes no sangue periférico, determinado por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. Cada símbolo representa um paciente individual. As linhas foram colocadas para facilitar a visualização das variações pós-tratamento. Os dados mostrados referem-se à produção de IFN- γ pela população de linfócitos.

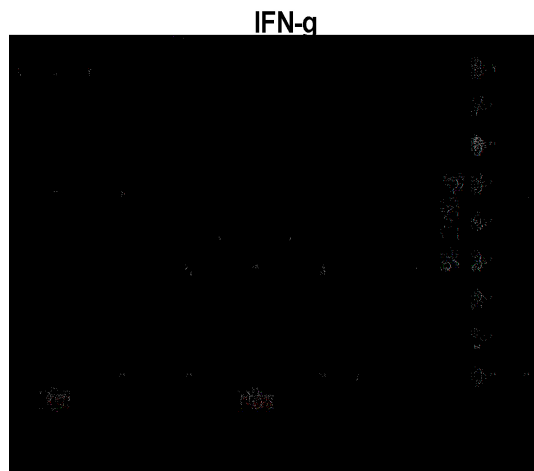


Gráfico 7 Variação da média dos linfócitos produtores de IFN- γ no sangue periférico pré e pós PUVA. Médias do percentual de linfócitos produtores de IFN- γ presentes no sangue periférico, determinadas por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. As barras representam as médias e as linhas em formato de T o desvio padrão. A diferença entre os valores PRÉ e PÓS-tratamento se mostrou não significativa ($p > 0,05$).

4.5.3.1 Análise do percentual de células CD4 produtoras de IFN- γ no sangue periférico

A percentagem de células CD4 produtoras de IFN- γ , após o tratamento, se mostrou diminuída em quatro pacientes, mantida em um e aumentada em dois, em

relação aos valores pré-tratamento (Tabela 13 e Gráfico 8). A média dos valores pré e pós-tratamento também diminuiu, porém sem significado estatístico (Teste *t-Student* pareado) ($p > 0,05$) (Gráfico 9).

Tabela 13 Percentagem das células CD4 produtoras de IFN- γ no sangue periférico, antes e após tratamento

PACIENTE	1	2	3	4	5	6	7
CD4/ IFN- γ PRÉ (%)	5,58	1,2	1,43	12,13	7,7	5,27	3,66
CD4/ IFN- γ PÓS (%)	5,3	3,4	5,14	9,61	0,54	1,81	0,56

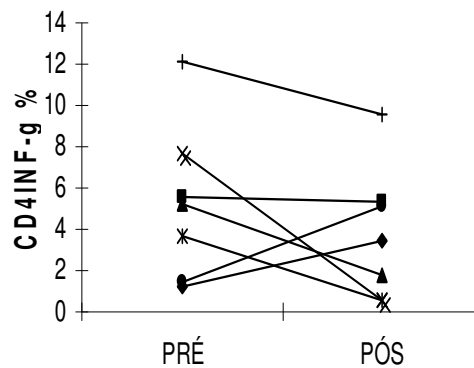


Gráfico 8 Variação individual das células CD4 produtoras de IFN- γ no sangue periférico pré e pós PUVA. Percentual de células CD4 produtoras de IFN- γ presentes no sangue periférico, determinado por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. Cada símbolo representa um paciente individual. As linhas foram colocadas para facilitar a visualização das variações pós-tratamento. Os dados mostrados correspondem ao percentual de células produtoras de IFN- γ dentro da população CD4

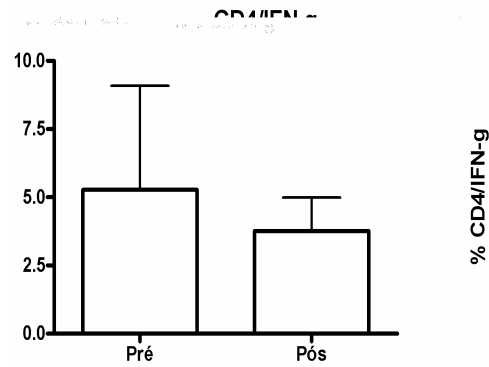


Gráfico 9 - Variação da média das células CD4 produtoras de IFN- γ no sangue periférico pré e pós PUVA. Médias do percentual de células CD4 produtoras de IFN- γ presentes no sangue periférico, determinadas por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. As barras representam as médias e as linhas em formato de T o desvio padrão. A diferença entre os valores pré e pós-tratamento se mostrou não significativa ($p > 0,05$).

4.5.3.2 Análise do percentual de células CD8 produtoras de IFN- γ no sangue periférico

A percentagem das células CD8 produtoras de IFN- γ , por sua vez, aumentou em três pacientes e diminuiu em quatro após o tratamento (Tabela 14 e Gráfico 10). A média desses valores após o tratamento apresentou uma diminuição, porém sem valor estatístico (Teste *t-Student* pareado) ($p > 0,05$) (Gráfico 11).

Tabela 14 Percentagem das células CD8 produtoras de IFN- γ no sangue periférico, antes e após tratamento

PACIENTE	1	2	3	4	5	6	7
CD8/ IFN- γ PRÉ (%)	15,12	4,2	2,28	2,98	14,29	18,11	5,08
CD8/ IFN- γ PÓS (%)	8,33	10,15	13,86	8,18	2,88	1,91	0,58

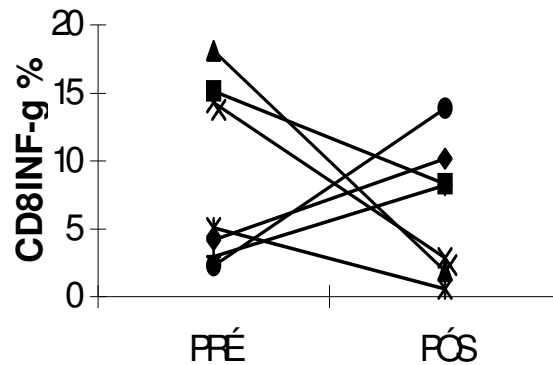


Gráfico 10 Variação individual das células CD8 produtoras de IFN- γ no sangue periférico pré e pós PUVA. Percentual de células CD8 produtoras de IFN- γ presentes no sangue periférico, determinado por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. Cada símbolo representa um paciente individual. As linhas foram colocadas para facilitar a visualização das variações pós-tratamento. Os dados mostrados correspondem ao percentual de células produtoras de IFN- γ dentro da população CD8.

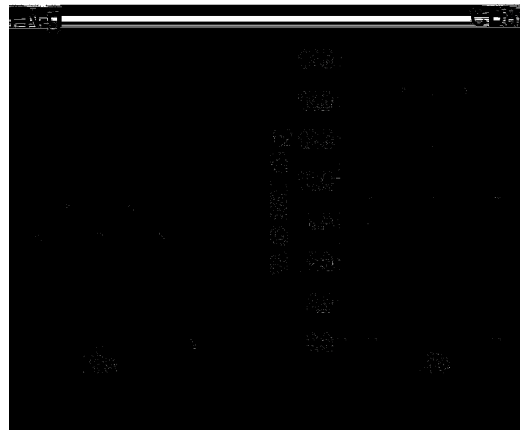


Gráfico 11 Variação da média das células CD8 produtoras de IFN- γ no sangue periférico pré e pós PUVA. Médias do percentual de células CD8 produtoras de IFN- γ presentes no sangue periférico, determinadas por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. As barras representam as médias e as linhas em formato de T o desvio padrão. A diferença entre os valores pré e pós-tratamento se mostrou não significativa ($p > 0,05$).

4.5.4 Análise das células produtoras de IL-4 na epiderme

Todos os seis pacientes avaliados não apresentaram células produtoras de IL-4, na epiderme, antes ou após o tratamento.

4.5.5 Análise das células produtoras de IL-4 na derme

Na avaliação pré-tratamento, todos os seis pacientes não apresentaram células produtoras de IL-4. No entanto, um paciente passou a expressá-las após as 60 sessões de PUVA (Figura 17), porém de forma rara (Tabela 15).

Tabela 15- Análise semiquantitativa das células produtoras de IL-4 na derme, antes e após tratamento

PACIENTE	1	2	3	5	6	7
IL-4 PRÉ (cels/mm)	-	-	-	-	-	-
IL-4 PÓS (cels/mm)	-	-	+	-	-	-

4.5.6 Análise dos linfócitos produtores de IL-4 no sangue periférico

Na avaliação pós-tratamento, observou-se que a percentagem de linfócitos produtoras de IL-4 aumentou em um paciente, manteve-se praticamente inalterada em cinco e diminuiu em um (Tabela 16 e Gráfico 12). A média dos valores pré e pós-tratamento também não sofreu alteração significativa (Teste *t-Student* pareado) ($p > 0,05$) (Gráfico 13).

Dados do grupo controle podem ser vistos na Tabela 17 e são semelhantes aos valores dos pacientes estudados.

Tabela 16 Percentagem de linfócitos produtores de IL-4 no sangue periférico, antes e após tratamento

PACIENTE	1	2	3	4	5	6	7
IL-4 PRÉ (%)	0,32	0,91	0,17	5,05	0,28	0,18	0,78
IL-4 PÓS (%)	0,27	4,01	0,73	0,7	0,97	0,15	0,2

Tabela 17 Percentagem de linfócitos produtores de IL-4 no sangue periférico do grupo controle

PACIENTE	1	2	3	4	5	6
IL-4 (%)	0,19	0,78	1,74	0,25	0,78	4,38

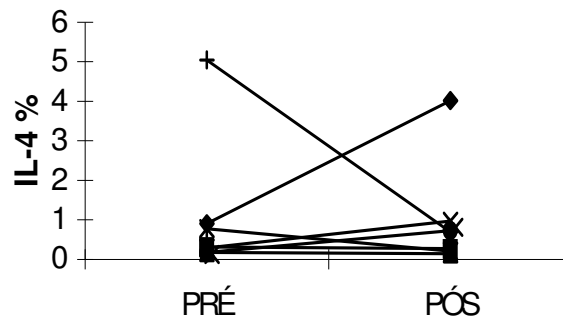


Gráfico 12 Variação individual linfócitos produtores de IL-4 no sangue periférico pré e pós PUVA. Percentual de linfócitos produtores de IL-4 presentes no sangue periférico, determinado por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. Cada símbolo representa um paciente individual. As linhas foram colocadas para facilitar a visualização das variações pós-tratamento. Os dados mostrados referem-se à produção de IL-4 pela população de linfócitos

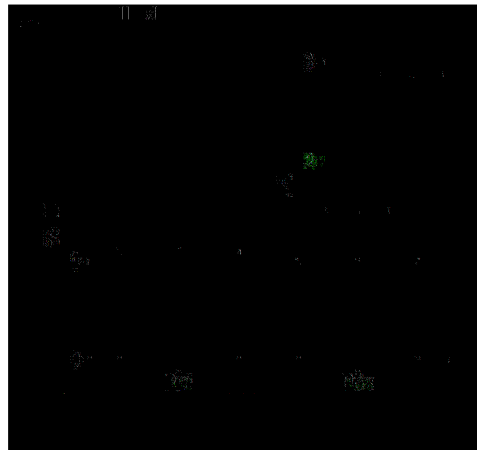


Gráfico 13 Variação da média dos linfócitos produtores de IL-4 no sangue periférico pré e pós PUVA. Médias do percentual de linfócitos produtores de IL-4 presentes no sangue periférico, determinadas por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. As barras representam as médias e as linhas em formato de T o desvio padrão. A diferença entre os valores pré e pós-tratamento se mostrou não significativa ($p > 0,05$).

4.5.6.1 Análise do percentual de células CD4 produtoras de IL-4 no sangue periférico

Com relação às células CD4 produtoras de IL-4, observou-se que os valores pré-tratamento aumentaram em dois pacientes, diminuíram em um e se mantiveram em quatro (Tabela 18 e Gráfico 14). A variação das médias pré e pós-tratamento também foi discreta e sem valor estatístico (Teste *t-Student* pareado) ($p > 0,05$) (Gráfico 15).

Tabela 18 Percentagem das células CD4 produtoras de IL-4 no sangue periférico, antes e após tratamento

PACIENTE	1	2	3	4	5	6	7
CD4/ IL-4 PRÉ (%)	0,36	1,04	0,27	4,48	0,67	0,78	0,36
CD4/ IL-4 PÓS (%)	0,69	5,38	4,02	2,43	0,3	0,39	0,37

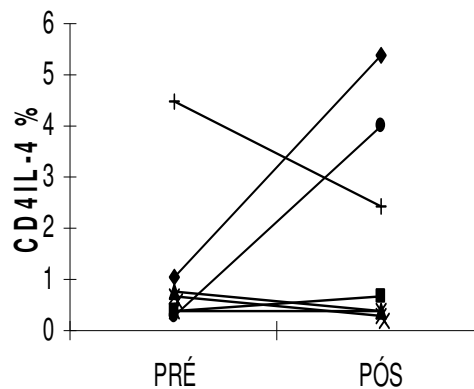


Gráfico 14 Variação individual das células CD4 produtoras de IL-4 no sangue periférico pré e pós PUVA. Percentual de células CD4 produtoras de IL-4 presentes no sangue periférico, determinado por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. Cada símbolo representa um paciente individual. As linhas foram colocadas para facilitar a visualização das variações pós-tratamento. Os dados mostrados correspondem ao percentual de células produtoras de IL-4 dentro da população CD4

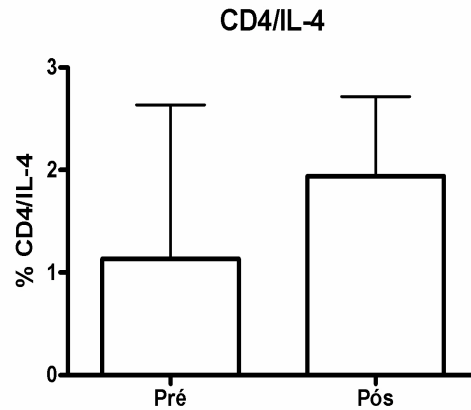


Gráfico 15 Variação da média das células CD4 produtoras de IL-4 no sangue periférico pré e pós PUVA. Médias do percentual de células CD4 produtoras de IL-4 presentes no sangue periférico, determinadas por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. As barras representam as médias e as linhas em formato de T o desvio padrão. A diferença entre os valores pré e pós-tratamento se mostrou não significativa ($p > 0,05$).

4.5.6.2 Análise do percentual de células CD8 produtoras de IL-4 no sangue periférico

A percentagem de células CD8 produtoras de IL-4, por sua vez, após o tratamento, aumentou em dois pacientes e se manteve em cinco (Tabela 19 e Gráfico 16). A média desses valores apresentou discreto aumento após o tratamento, porém também sem significado estatístico (Teste *t-Student* pareado) ($p > 0,05$) (Gráfico 17).

Tabela 19 Percentagem das células CD8 produtoras de IL-4 no sangue periférico, antes e após tratamento

PACIENTE	1	2	3	4	5	6	7
CD8/ IL-4 PRÉ (%)	0,83	1,06	2,26	2,21	1,39	0,76	1,67
CD8/ IL-4 PÓS (%)	1,34	11,55	1,06	2,38	5,14	2,41	0,93

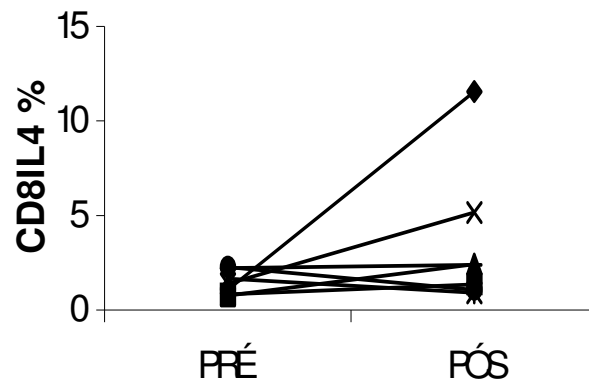


Gráfico 16 Variação individual das células CD8 produtoras de IL-4 no sangue periférico pré e pós PUVA. Percentual de células CD8 produtoras de IL-4 presentes no sangue periférico, determinado por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. Cada símbolo representa um paciente individual. As linhas foram colocadas para facilitar a visualização das variações pós-tratamento. Os dados mostrados correspondem ao percentual de células produtoras de IL-4 dentro da população CD8

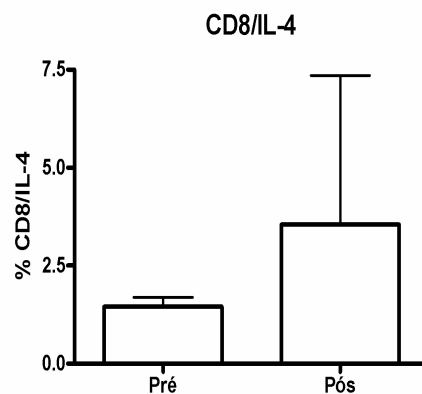


Gráfico 17 Variação da média das células CD8 produtoras de IL-4 no sangue periférico pré e pós PUVA. Médias do percentual de células CD8 produtoras de IL-4 presentes no sangue periférico, determinadas por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. As barras representam as médias e as linhas em formato de T o desvio padrão. A diferença entre os valores pré e pós-tratamento se mostrou não significativa ($p > 0,05$).

4.5.7 Análise da relação dos linfócitos produtores de IFN- γ e IL-4 no sangue periférico

Ao se comparar as médias do percentual dos linfócitos produtores de IFN- γ e IL-4, observou-se o maior número dos linfócitos produtores de IFN- γ principalmente no pré-tratamento (Tabela 20). A variação da relação IFN- γ / IL-4 (pré e pós-tratamento), por sua vez, não apresentou significado estatístico (Teste t-Student pareado) ($p > 0,05$) (Gráfico 18).

Dados do grupo controle podem ser vistos na Tabela 21 e são similares aos valores dos pacientes estudados pré-tratamento.

Tabela 20 Percentagem das médias dos linfócitos produtores de IFN- γ e IL-4, antes e após tratamento

MARCADOR	PRÉ (%)	PÓS (%)
IFN- γ	4,76	2,81
IL-4	1,1	1

Tabela 21 Percentagem das médias de linfócitos produtores de IFN- γ e IL-4 no sangue periférico do grupo controle

MARCADOR	%
IFN- γ	6,46

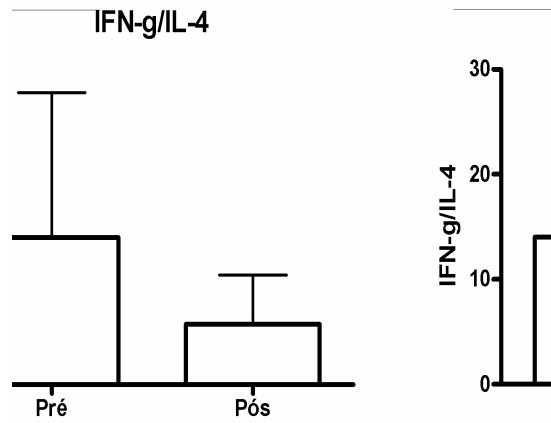


Gráfico 18- Variação da relação das médias dos linfócitos produtores de IFN- γ e IL-4 no sangue periférico pré e pós PUVA. Variação da relação das médias dos linfócitos produtores de IFN- γ e IL-4 presentes no sangue periférico, determinadas por citometria de fluxo, antes (PRÉ) e após (PÓS) 60 sessões de PUVA. As barras representam as médias e as linhas em formato de T o desvio padrão. A diferença entre os valores pré e pós-tratamento se mostrou não significativa ($p > 0,05$).

5 Discussão

No presente estudo, sete pacientes portadores de MF, estágios IA e IB, tiveram as manifestações clínicas e expressão dos linfócitos T no sangue periférico e pele avaliadas antes e após 60 sessões de terapia PUVA.

Um fato que chamou a atenção já no início do estudo, durante o processo de seleção dos pacientes, foi a diversidade clínica com que esses pacientes se apresentaram. ZACKHEIM & McCALMONT (2002), inclusive, publicaram um artigo de revisão onde também chamaram a atenção para esse fato. Eles mencionaram 25 dermatoses simuladas pela MF, onde o diagnóstico muitas vezes só foi possível através do exame histopatológico, fato observado em alguns dos pacientes aqui avaliados.

Quando as lesões de MF estão presentes com morfologia e localização típicas são facilmente reconhecidas e geralmente não trazem nenhuma dificuldade diagnóstica, só que isso nem sempre ocorre. Pelo contrário, não raramente os pacientes apresentam quadros clínicos que simulam outras dermatoses e assim são tratados por muito tempo. Somente após a modificação do quadro, com aparecimento de lesões típicas de MF, têm então o seu diagnóstico firmando. Desta forma, vale ressaltar a importância de se ter em mente a MF como uma possibilidade diagnóstica para dermatoses de evolução atípica.

Linfócitos T CD4 com expressões fenotípicas diversas e respostas individuais distintas à presença desses linfócitos são possíveis explicações para justificar tal diversidade clínica (ZACKHEIM e McCALMONT, 2002), mas fogem da discussão do presente estudo.

No que diz respeito a imunofenotipagem, a MF caracteriza-se por apresentar células neoplásicas que expressam, na sua grande maioria, o fenótipo CD4+CD8-CD7-CD45RO+. Localizam-se, inicialmente, quase que exclusivamente na epiderme, mas à medida que a doença progride passam a ser detectadas também na derme e no sangue periférico (HODAK et al, 2006).

Uma característica que pode ser observada em muitos linfomas T, inclusive na MF, entretanto, é uma expressão fenotípica atípica das células neoplásicas, principalmente numa fase mais tardia da doença (WOOD et al, 1990).

Alguns estudos, contudo, têm descrito perfis imunohistoquímicos distintos mesmo nas lesões cutâneas iniciais (máculas e placas). HODAK e colaboradores (2006), por exemplo, ao avaliarem as células mononucleares intraepidérmicas de 140 pacientes com MF inicial (estágios IA e IB), observaram que em 18 pacientes (12%) a análise imunohistoquímica se mostrou negativa tanto para CD4 quanto para CD8, sem que isso representasse qualquer modificação no quadro evolutivo desses pacientes. Oito pacientes apresentavam MF clássica e dez apresentavam formas variantes (5 hipocrômicas, 3 localizadas, 1 ictiosiforme e 1 purpúrica). Mais freqüentemente, porém, esses achados (CD4-CD8-) têm sido observados em LCCT não MF de curso clínico mais agressivo (JONES et al, 2002).

Casos de MF com células tumorais CD4- e CD8+ (variante citotóxica), apesar de raros, também têm sido descritos. Possuem apresentação clínica e evolução típica da MF clássica e devem ser diferenciados, principalmente, de uma outra forma de LCCT, descrita mais recentemente, com características clínicas semelhantes à MF, porém com curso agressivo, lesões cutâneas generalizadas, ausência de comprometimento dos linfonodos e metástase para locais infreqüentes na MF como testículo, pulmão, cavidade oral e sistema nervoso central (BERTI et al, 1999).

Na maioria dos casos de MF inicial, no entanto, o que se deve encontrar na análise do infiltrado intraepidérmico é o predomínio das células CD4. As células CD8 também podem estar presentes, mas geralmente representam células T citotóxicas reativas que quantificam um número menor, numa relação CD4:CD8 igual ou superior a 2:1. O predomínio das células CD8 é mais comumente visto em quadros inflamatórios benignos, principalmente quando essa relação é $\leq 1:2$ (NUCKOLS et al, 1999)

A análise qualitativa do infiltrado intraepidérmico dos seis pacientes avaliados pelo presente estudo evidenciou a presença exclusiva das células CD4+ em três pacientes. Como descrito anteriormente, esses achados estão de acordo com a maioria dos estudos publicados. A análise imunohistoquímica dos outros três pacientes, no entanto, revelou-se negativa para CD4 e CD8. De acordo com HODAK e colaboradores (2006) esses achados também podem ser vistos, mesmo na fase inicial da doença, sem que represente qualquer modificação na apresentação ou evolução do quadro. Os três pacientes em questão, por sua vez, também tiveram apresentação típica e resposta ao tratamento, reforçando assim os achados de HODAK e colaboradores (2006), quando observaram que a presença de um infiltrado CD4-CD8- não necessariamente aponta para uma pior prognóstico.

Uma outra possibilidade para justificar a ausência das células CD4 no infiltrado intraepidérmico seria a limitação da técnica de coloração em detectar essas células, principalmente quando presentes em pequena quantidade como nos casos de MF inicial.

Pela freqüente dificuldade em se diferenciar a MF inicial de quadros inflamatórios benignos, quando os achados clínicos e histológicos são muitas vezes inespecíficos, a avaliação da relação CD4/CD8, descrita como principalmente CD8+ nas lesões benignas, também pode ser útil. No presente estudo, não se observou a

presença de células CD8 no infiltrado intraepidérmico de nenhum dos pacientes avaliados, o que reforça esses achados. É verdade que casos de MF CD8+ já foram publicados, mas são raramente vistos. Além disso, outros critérios, que não a relação CD4/CD8, tais como o estudo do antígeno CD7 e do receptor de célula T, apesar de serem da mesma forma inespecíficos são freqüentemente utilizados como recurso diagnóstico auxiliar.

Enquanto, no infiltrado intraepidérmico das lesões cutâneas iniciais observa-se o principalmente células T neoplásicas CD4+, o infiltrado dérmico é composto muitas vezes por células T reativas CD8+, as quais parecem desempenhar importante papel no controle da MF por induzir a lise das células neoplásicas através da liberação de grânulos citotóxicos (ECHCHAKIR et al, 2000). HOPPE e colaboradores (1995), por exemplo, observaram uma maior taxa de sobrevida quando essas células estavam presentes em grande quantidade. Há casos, no entanto, onde essas células T reativas são representadas principalmente por células T CD4 (HARWIX, ZACHMANN & NEUMANN, 2000; SIGURDSSON et al, 2000).

Da mesma forma que HARWIX, ZACHMANN & NEUMANN (2000) e SIGURDSSON e colaboradores (2000), também se observou o predomínio das células CD4+ em relação às células CD8+ no infiltrado intradérmico dos pacientes em estudo. É possível que a relação entre a presença das células CD8+ e uma melhor resposta terapêutica evidenciada por HOPPE e colaboradores (1995) não seja uma verdade absoluta, visto que pacientes CD8- também responderam totalmente ao tratamento.

A ausência do antígeno CD7 é outra alteração presente nas células tumorais da MF. É a perda mais freqüente e precoce vista nesses pacientes. Além de utilizada como auxílio diagnóstico, apesar de observada em processos inflamatórios benignos, também pode ser útil na avaliação prognostica (LAETSCH et al, 2000).

LAETSCH e colaboradores (2000), ao investigarem a presença de células T CD7- no sangue periférico de 21 pacientes com MF, observaram uma relação direta entre a presença dessas células e a piora da doença. WOOD e colaboradores (1990), por sua vez, ao avaliarem 13 pacientes com MF inicial (IA e IB) observaram a presença de células CD7- na pele da maioria dos pacientes, enquanto que no sangue periférico esses achados não se repetiram.

Ao se utilizar a ausência do antígeno CD7 como “marcador” de célula neoplásica, pode-se supor que as células predominantes do infiltrado intraepidérmico dos pacientes CD4+ em estudo pertenciam a esse grupo, já que nesses pacientes o infiltrado era composto principalmente por células CD7 negativas. As poucas células que expressavam CD7, por sua vez, poderiam representar células neoplásicas CD7+ ou, mais provavelmente, células inflamatórias reativas.

A análise do infiltrado intradérmico dos pacientes em estudo revelou a presença de células CD7+ em grande quantidade, reforçando assim a idéia de que as células CD7+ presentes na epiderme, seriam na verdade células reativas, visto que não se esperaria uma riqueza de células neoplásicas na derme e poucas células na epiderme numa fase tão inicial da MF.

No que diz respeito à relação do papel desempenhado pelo antígeno CD7 no prognóstico dos pacientes, tendeu-se a não aceitar a possível relação existente entre a ausência desse marcador e uma pior resposta terapêutica, pelo menos na MF inicial, visto que o paciente com resposta terapêutica parcial se mostrou positivo para esses antígeno.

A maioria das células neoplásicas vista na MF inicial expressam o antígeno linfocitário cutâneo (CLA) (FERENCZI et al, 2002). Trata-se de uma glicoproteína expressa por linfócitos T CD4 e CD8 ativados, cujo papel é promover a adesão às

células endoteliais cutâneas no processo de migração para a pele. Destaca-se por sua especificidade, não sendo expressa por outras células T, que não aquelas ativadas por antígenos trazidos da pele, explicando assim, pelo menos em parte, o epidermotropismo visto na MF (FERENCZI et al, 2002).

FERENCZI e colaboradores (2002) relataram um aumento das células T CLA+ na circulação periférica e na pele de pacientes com MF quando comparados a indivíduos saudáveis.

Da mesma forma, BOROWITZ e colaboradores (1993), observaram um aumento da população de células T CLA+ no sangue periférico de 29 pacientes com MF, numa relação direta com o comprometimento cutâneo. Sugeriram, inclusive, a quantificação seriada dessas células como forma de controle da doença.

Numa fase mais tardia da doença, contudo, o que pode ocorrer é a perda da expressão do CLA pelas células neoplásicas (YAMAGUCHI et al, 2003).

YAMAGUCHI e colaboradores (2003) e PICKER e colaboradores (1990), por exemplo, observaram a ausência do CLA na pele de pacientes com MF tumoral, fato não observado em pacientes com lesões iniciais (máculas), ratificando assim a idéia de que a perda do CLA possa preceder a progressão da doença.

Dos seis pacientes avaliados pelo presente estudo, somente aquele que teve resposta parcial ao tratamento se mostrou CLA negativo na avaliação pré-PUVA. Mesmo considerando-se a irrelevância estatística desse fato, é possível que a ausência na pele do antígeno CLA, represente um fator prognóstico negativo precoce, já que clinicamente o paciente não apresentava nenhum sinal que apontasse para uma evolução distinta.

Observou-se que células endoteliais de vasos da derme superficial de 2 pacientes também se mostraram CLA positivas. Ao se procurar na literatura achado semelhante, encontrou-se o artigo publicado por FERNÁNDEZ-FIGUERAS e

colaboradores (2001), os quais descreveram a presença do CLA em células endoteliais de vasos cutâneos de pacientes com angioqueratoma pseudolinfomatoso acral, que tem em comum com a MF a presença de um infiltrado linfóide na derme. Outras dermatoses com achados histopatológicos semelhantes, tais como papulose linfomatóide e granuloma piogênico, no entanto, se mostraram CLA negativas como descrito por esses mesmos autores. Estudos futuros em MF, portanto, são necessários para validar essas observações.

A hipótese de que as células T neoplásicas, presentes na MF, produzam IL-4, IL-5 e IL-1- e, portanto, tenham um perfil Th2 é defendida por alguns autores (DI RENZO et al, 1997; VOWELS et al, 1994), mas não confirmada por outros (HARWIX, ZACHMANN & NEUMANN, 2000; SAED et al, 1994), segundo estudos realizados no sangue periférico e na pele.

Com relação ao sangue periférico, SAED e colaboradores (1994), ao avaliarem três pacientes portadores de MF, estágios IA/ IB, observaram, através de um estudo qualitativo, célula inespecífico, a ausência do predomínio Th1 ou Th2. Os pacientes por eles estudados se mostraram capazes de expressar tanto IL-2 e IFN- γ (Th1), quanto IL-4, IL-5 e IL-1- (Th2), de forma semelhante ao grupo controle saudável.

HARWIX, ZACHMANN & NEUMANN (2000), por sua vez, obtiveram resultados semelhantes, ou seja, também não observaram um padrão específico de produção de citocinas Th1 ou Th2, porém utilizaram metodologia distinta. Avaliaram quantitativamente a produção de IFN- γ (Th1), IL-4 e IL-1- (Th2) por 54 clones de células T não neoplásicas (não pertenciam ao clone dominante), isolados do sangue periférico de quatro pacientes portadores de MF (IA e IB).

Outro estudo quantitativo também realizado com o objetivo de avaliar o perfil Th1/Th2 no sangue periférico de pacientes com MF inicial, foi o publicado por DI

RENZO e colaboradores (1997). Eles isolaram células mononucleares de oito pacientes com MF estágio IB, quantificaram a produção de IFN- γ , IL-12 (Th1) e IL-4 (Th2) e compararam a indivíduos saudáveis. Além disso, submeteram os pacientes à terapia com ECP por um ano e realizaram nova avaliação após esse período. Como resultado, observaram uma maior produção de IL-4 e menor de IFN- γ (média), antes do tratamento, em relação aos indivíduos saudáveis. Após o tratamento tanto a produção de IFN- γ quanto de IL-4 retornaram a níveis semelhantes aos apresentados pelo grupo controle. Concluíram, então, que os pacientes com MF, estágio inicial, apresentam uma resposta predominantemente Th2 e que a ECP é capaz de reverter esse desequilíbrio.

No presente estudo, no entanto, os achados de DI RENZO e colaboradores (1997) não se repetiram apesar de realizados com o mesmo objetivo. Os resultados aqui apresentados, analisados de forma individualizada, na verdade, estão de acordo com os achados de SAED e colaboradores (1994) e HARWIX, ZACHMANN & NEUMANN (2000), os quais não observaram um padrão específico de produção de citocinas Th1 ou Th2.

Mesmo avaliando-se a **produção média** de IFN- γ (Th1) e IL-4 (Th2) pelas células mononucleares no sangue periférico dos pacientes em estudo, como feito por DI RENZO e colaboradores (1997), observou-se uma maior tendência a produção de IFN- γ (Th1) na avaliação pré-tratamento, semelhantemente ao grupo controle.

As possíveis justificativas para explicar tais diferenças incluem as diferentes populações estudadas e metodologias empregadas na quantificação das citocinas. Enquanto DI RENZO e colaboradores (1997) incluíram na sua casuística pacientes não responsivos à PUVAterapia prévia, portanto possivelmente possuidores de um perfil imunológico distinto, o presente estudo avaliou somente pacientes não

tratados previamente. Além disso, DI RENZO e colaboradores quantificaram as citocinas presentes no sangue periférico no momento da coleta e pós-estímulo *in vitro*. Por fornecer uma melhor estimativa da realidade *in vivo* (VASCONCELOS et al, 2003) o presente estudo, no entanto, quantificou somente as citocinas *e vivo* ou seja, aquelas presentes no sangue no momento da coleta.

Ao se comparar os pacientes aqui estudados ao grupo controle observou-se que ambos foram capazes de produzir, de forma não padronizada, citocinas Th1 e Th2. Ao se avaliar a produção média dessas citocinas, por sua vez, evidenciou-se a maior produção de IFN- γ nos dois grupos, apesar de produzidas em baixas taxas, provavelmente pela criopreservação. Atribuir à MF, portanto, a presença do perfil Th1 nesses pacientes não se justifica já que o grupo controle apresentou resultados semelhantes.

Por outro lado, mesmo que as células neoplásicas da MF sejam produtoras de citocinas Th2, é de se estranhar que pacientes com MF num estágio tão inicial, como os descrito por DI RENZO e colaboradores (1997), possuam no sangue periférico uma quantidade tão grande dessas células capaz de reverter o padrão normal Th1, já que há normalmente uma diferença quantitativa importante entre esses dois padrões.

Com relação ao perfil Th1 e Th2 na pele de pacientes com MF, os resultados também são conflitantes, mas as casuísticas e metodologias empregadas, por sua vez, também são distintas. VOWELS e colaboradores (1994) e SAED e colaboradores (1994), por exemplo, obtiveram resultados divergentes, Th2 e Th1, respectivamente, em estudos com métodos qualitativos semelhantes entre si, mas com populações diferentes. Enquanto VOWELS e colaboradores (1994) avaliaram pacientes com lesões tumorais, e foram exatamente nesses pacientes onde se

observou com maior frequência a presença de IL-4 e IL-5 (Th2), SAED e colaboradores (1994) estudou pacientes IA e IB, ou seja, sem lesão tumoral.

Da mesma forma, o presente estudo mostrou resultados distintos do que SIGURDSON e colaboradores (2000) observaram, apesar da metodologia semelhante empregada em ambos, ou seja, o uso da imunohistoquímica na identificação das células produtoras de IFN- γ e IL-4. Enquanto SIGURDSON e colaboradores (2000) observaram a presença de células produtoras de IFN- γ e IL-4 em números médios semelhantes, o presente estudo observou principalmente células produtoras de IFN- γ . Mais uma vez é possível que essa diferença seja decorrente das diferentes populações estudadas já que SIGURDSON e colaboradores (2000) incluíram, de forma semelhante a VOWELS e colaboradores (1994), pacientes com lesões tumorais, o que não ocorreu nesse estudo.

Desta forma, os resultados aqui apresentados, no que diz respeito ao perfil Th1/Th2 na pele, se assemelham aos achados de SAED e colaboradores (1994) e tendem ao normalmente encontrado em indivíduos saudáveis, não permitindo afastar a hipótese de que em estágios mais avançados da MF o perfil Th2 seja encontrado.

A participação de células com morfologia dendrítica na produção de IFN- γ , como observado em alguns casos do presente estudo (Figura 16), reitera a importância da possível participação do microambiente local, e não exclusivamente das células T neoplásicas, na construção do perfil de citocinas encontrado na MF.

A eficácia da terapia PUVA no tratamento da MF é conhecida desde a publicação do estudo de GILCHREST e colaboradores, em 1976, quando a utilizaram pela primeira vez com boa resposta em pacientes não responsivos a terapias prévias. Desde então diversos estudos clínicos, histológicos e experimentais têm confirmado esses achados iniciais, concedendo papel de destaque à terapia

PUVA no arsenal terapêutico da MF, principalmente nos estágios iniciais da doença (HÖNIGSMANN et al, 2001) .

Os mecanismos pelos quais a terapia PUVA leva ao desaparecimento das células T neoplásicas, no entanto, não está totalmente esclarecido, mas envolve principalmente a indução da apoptose celular (MANHÃES, 2004; HÖNIGSMANN et al, 2001). Outros mecanismos incluem a modificação da produção de citocinas, da expressão de receptores celulares pelas células neoplásicas e da função das células de Langerhans (BANDEIRA-WEBER, 2003; HÖNIGSMANN et al, 2001).

ANTELO (2006) ao avaliar o sangue periférico de 22 pacientes portadores de vitiligo não segmentar não observou diferença significativa nos níveis dos linfócitos T CD4 e CD8 após 3- sessões de PUVA, apesar da boa resposta clínica apresentada pelos pacientes.

MANHÃES (2004), por sua vez, observou na pele de 9 pacientes com MF uma redução significativa das células CD7 e CD8 após tratamento com PUVA.

No presente estudo, assim como no estudo de ANTELO (2006), também não se observou no sangue periférico alteração significativa na contagem das células CD4 e CD8 após o tratamento. Apesar de avaliar uma doença distinta com uma metodologia também distinta, o estudo de ANTELO (2006) ilustra a possibilidade de não se detectar no sangue periférico alteração significativa na expressão dos linfócitos CD4 e CD8 com o uso da terapia PUVA, mesmo ao se avaliar doenças sistêmicas.

No caso do presente estudo, a variação não significativa dos níveis de linfócitos CD4 e CD8 no sangue periférico após o tratamento, provavelmente se deu pela pouca quantidade de células neoplásicas presentes nesse compartimento nessa fase da doença.

Com relação às alterações cutâneas, observou-se de forma semelhante ao estudo de MANHÃES (2004), uma redução importante após o tratamento das células CD4, CD7 e CLA dérmicas. A redução das células CD4, CD7 e CLA epidérmicas e CD8 dérmicas, apesar de total, ocorreu em um número pequeno de células.

O único estudo que se tem conhecimento sobre possíveis alterações das citocinas Th1/Th2 na MF pós-tratamento, é o estudo de DI RENZO e colaboradores (1997). Eles observaram no sangue periférico uma modificação do perfil Th2 pré-tratamento para Th1 com o uso da ECP por um ano. No presente estudo, observou-se uma redução não significativa das células Th1 presentes no sangue periférico sem que houvesse qualquer modificação no perfil Th1 observado pré-tratamento. Na pele também não se observou modificação do perfil das citocinas pós-tratamento, porém houve uma redução importante das células produtoras de IFN- γ (Th1).

Desta forma, o presente estudo demonstra que pacientes com MF inicial podem se comportar como indivíduos saudáveis no que diz respeito ao perfil Th1/Th2 e que a resposta à terapia PUVA está associada a uma redução do quantitativo celular na pele. A possível relação entre a ausência na pele de células CLA⁺ e um pior prognóstico, justifica a continuação desse trabalho na tentativa de se verificar a repetição desse fato.

6 Conclusões

A análise dos resultados aqui apresentados permitiu concluir que:

1. Houve uma redução importante das células CD4 e CD7 na pele após o tratamento. As células CD8 não sofreram variação importante.
2. Não se observou alteração significativa das células CD4 e CD8 no sangue periférico com o uso da terapia PUVA.
3. Houve o predomínio das células produtoras de IFN- γ na pele e no sangue periférico antes da terapia PUVA.
4. Houve uma redução importante das células produtoras de IFN- γ na pele, mas não no sangue periférico, após o tratamento. As células produtoras de IL-4, por sua vez, não sofreram alteração importante tanto na pele quanto no sangue periférico.
5. A maioria dos pacientes apresentavam células CLA+ na pele antes do tratamento, as quais diminuíram de forma importante com o uso da terapia PUVA.

7 Referências Bibliográficas

1. ADAMS, J.M.; CORY, S. The Bcl-2 protein family: Arbiters of cell survival. **Science**, v.281, p.1322-1326, 1998.
2. AGACE, W.W.; HIGGINS, J.M.G.; SADASIVAN, B. T-lymphocyte-epithelial-cell interactions: Integrin $\alpha E(CD1-3)\beta 7$, LEEP-CAM and chemokines. **Current Opinion in Cell Biology**, v.12, p.563-568, 2000.
3. AGNARSSON, B.A.; VONDERHEID, E.C.; KADIN, M.E. Cutaneous T cell lymphoma with supressor/cytotoxic (CD8) phenotype: Identification of rapidly progressive and chronic subtypes. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.22, n4, p.569-577, 1990.
4. ANTELO, D.P. **Vitiligo**: análise de marcadores linfocitário e do antígeno cutâneo linfocitário (CLA). 2006. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina, Dermatologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Rio de Janeiro, 2006.
5. ARAGANE, Y. et al. Ultraviolet light induces apoptosis via direct activation of CD95 (Fas/APO-1) independently of its ligand CD95L. **The Journal of Cell Biology**, v.140, n.1, p.171-182, 1998.

6. ASADULLAH, K. et al. Progression of mycosis fungoides is associated with increasing cutaneous expression of interleukin-1- mRNA. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.107, p.833-837, 1996.
7. AZULAY, R.D.; AZULAY, D.R. **Dermatologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 517 p.
8. BAGOT, M. et al. Crosstalk between tumor T lymphocytes and reactive T lymphocytes in cutaneous T cell lymphomas. **Annals New York Academy of Sciences**, v.941, p.31-38, 2001.
9. BANDEIRA-WEBER, L. **Avaliação do efeito imunomodulador mediado pela fotoquimioterapia (PUVA) sobre a dinâmica celular no processo inflamatório-expansivo através da imunofenotipagem**. 2003. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2003.
10. BANK , I. et al. The epidermotropic mycosis fungoides associated $\alpha 1\beta 1$ integrin (VLA-1, CD49a/CD29) is primarily a collagen IV receptor on malignant T cells. **Journal of Cutaneous Pathology**, v.26, p.65-71, 1999.
11. BARR, R.M. et al. Suppressed alloantigen presentation, increased TNF- α , IL-1, IL-1Ra, IL-1-, and modulation of TNF-R in UV irradiated human skin. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.112, p.692-698, 1999.

12. BEISSERT, S.; SCHWARZ, T. Role of immunomodulation in diseases responsive to phototherapy. **Methods**, v.28, n.1, p.138-144, 2002.
13. BERGER, C.L. et al. The clonotypic T cell receptor is a source of tumor-associated antigens in cutaneous T cell lymphoma. **Annals New York Academy of Sciences**, v.941, p.106-122, 2001.
14. BERTI, E. et al. Primary cutaneous CD-8-positive epidermotropic cytotoxic T cell lymphomas. A distinct clinicopathological entity with an aggressive clinical behavior. **American Journal of Pathology**, v.155, n.2, p.483-491, 1999.
15. BETHEA, D. et al. Psoralen photobiology and photochemotherapy: 5- years of science and medicine. **Journal of Dermatological Science**, v. 19, p.78-88, 1999.
16. BIDÈRE, N.; SENIK, A. Caspase-independent apoptotic pathways in T lymphocytes: A minireview. **Apoptosis**, v.6, n.5, p.371-375, 2001.
17. BIESSERT, S.; SCHWARZ, T. Mechanisms involved in ultraviolet light-induced immunosuppression. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v.4, n.1, p.61-64, 1999.
18. BIRCH-MACHIN, M.A. Mitochondria and skin disease. **Clinical and Experimental Dermatology**, v.25, p.141-146, 2000.

19. BÖNI, R. et al. No detection of HTLV-I proviral DNA in lesional skin biopsies from Swiss and German patients with cutaneous T-cell lymphoma. **British Journal of Dermatology**, v.134, p.282-284, 1996.
20. BOONSTRA, A. et al. UVB irradiation modulates systemic immune responses by affecting cytokine production of antigen-presenting cells. **International Immunology**, v.12, n.11, p.1531-1538, 2000.
21. BOROWITZ, M.J. et al. Abnormalities of circulating T-cell subpopulations in patients with cutaneous T-cell lymphoma: Cutaneous lymphocyte-associated antigen expression on T cells correlates with extent of disease. **Leukemia**, v.7, n.6, p.859-863, 1993.
22. BOS, J.D. The skin as an organ of immunity. *Clinical and Experimental Immunology*, v.107 (Suppl.1), p.3-5, 1997.
23. BOUWHUIS, S.A. et al. Bexarotene treatment of late-stage mycosis fungoides and Sézary syndrome: Development of extracutaneous lymphoma in 6 patients. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.52, n.6, p.991-996, 2005.
24. BOWMAN, P.H.; HOGAN, D.J.; SANUSI, I.D. Mycosis fungoides bullosa: Report of a case and review of the literature. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.45, n.6, p.934-939, 2001.

25. BRINK, N. et al. Comparative quantification of IL-1 β , IL-1-, IL-1-r, TNF- α and IL-7 mRNA levels in UV-irradiated human skin in vivo. **Inflammation Research**, v.49, p.290-296, 2000.
26. BUNN, P.A.; LAMBERG,S.I. Report of the committee on staging and classification of cutaneous T-cell lymphomas. **Cancer Treatment Reviews**, v.63, p.725-728, 1979.
27. BURREN, R. et al. Sunlight and carcinogenesis: Expression of p53 and pyrimidine dimers in human skin following UVA I, UVA I + II and solar simulating radiations. **International Journal of Cancer**, v.76, p.201-206, 1998.
28. BUTCHER, E.C.; PICKER, L.J. Lymphocyte homing and homeostasis. **Science**, v.272, p.60-66, 1996.
29. CANTON, M. et al. PUVA-induced apoptosis involves mitochondrial dysfunction caused by the opening of the permeability transition pore. **FEBS Letters**, v.552, n.103, p.168-172, 2002.
30. CERRONI, L.; GATTER, K.; KERL, H. **An illustrated guide to skin lymphoma** – 2^a ed. Blackwell. Massachusetts, 2004. 186 p.
31. _____. et al. Monoclonality of intraepidermal T lymphocytes in early mycosis fungoides detected by molecular analysis after laser-beam microdissection. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.114, n.6, p.1154-1157, 2000.

32. COVEN, T.R. et al. PUVA-induced lymphocyte apoptosis: Mechanism of action in psoriasis. **Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine**, v.15, p.22-27, 1999.
33. DAYNES, R.A. et al. Experimental photoimmunology ramifications of UV-induced carcinogenesis. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.77, p.77-85, 1981.
34. DAWE, R.S. et al. UVB Phototherapy clears psoriasis through local effects. **Archives of Dermatology**, v.138, p.1071-1076, 2002.
35. DE FABO, E.C.; NOONAN, F. Mechanism of immune suppression by ultraviolet irradiation in vivo. **Journal of Experimental Medicine**, v.157, p.84-98, 1983.
36. DELVES, P.J.; ROITT, S.M. The immune system. **The New England Journal of Medicine**, v.343, n.1, p.37-49, 2000.
37. DEREURE, O. et al. Infrequent Fas mutations but no Bax or p53 mutations in early mycosis fungoides: A possible mechanism for the accumulation of malignant T lymphocytes in the skin. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.118, n.6, p.949-956, 2002.
38. _____. et al. Decreased expression of Fas (APO-1/CD95) on peripheral blood CD4+ T lymphocytes in cutaneous T cell lymphomas. **British Journal of Dermatology**, v.143, p.1205-1210, 2000.

39. DIETZ, S.B.; WHITAKER-MENEZES, D.; LESSIN, S.R. The role of $\alpha E\beta 7$ integrin (CD1-3) and E-caderin in epidermotropism in cutaneous T-cell lymphoma. **Journal of Cutaneous Pathology**, v.23, p.312-318, 1996.
40. DIPPEL, E.; KLEMKE, C.D.; GOERDT, S. Current status of cutaneous T-cell lymphoma: Molecular diagnosis, pathogenesis, therapy and future directions. **Onkologie**, v.26, p.477-483, 2003.
41. DI RENZO, M. et al. Extracorporeal photochemotherapy restores Th1/Th2 imbalance in patients with early stage cutaneous T-cell lymphoma. **Immunology**, v.92, p.99-103, 1997.
42. DRILLENBURG, P.; PALS, S.T. Cell adhesion receptors in lymphoma dissemination. **Blood**, v.95, n.6, p.1900-1910, 2000.
43. DUKE, R.C.; OJCIUS, D.M.; YOUNG, J.D. Cell suicide in health and disease. **Scientific American**, v.275, n.6, p.80-87, 1996.
44. DUMMER, R. et al. Therapy of cutaneous lymphoma – Current practice and future developments. **Onkologie**, v.26, p.366-372, 2003.
45. _____. et al. Junctional CD8+ cutaneous lymphomas with nonaggressive clinical behavior. **Archives of Dermatology**, v.138, p.199-203, 2002.

46. _____. et al. Sézary syndrome T-cell clones display T-helper 2 cytokines and express the accessory factor-1 (Interferon- γ receptor β -chain). **Archives of Dermatology**, v.129, p.433-436, 1993.
47. DUTHIE, M.S.; KIMBER, I.; NORVAL, M. The effects of ultraviolet radiation on the human immune system. **British Journal of Dermatology**, v.140, p.995-1009, 1999.
48. ECHCHAKIR, H. et al. Cutaneous T cell lymphoma reactive CD4+ cytotoxic T lymphocyte clones display a Th1 cytokine profile and use a Fas-independent pathway for specific tumor cell lysis. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.115, n.1, p.74-80, 2000.
49. EDELSON, R.L. Cutaneous T cell lymphoma the helping hand of dendritic cells. **Annals New York Academy of Sciences**, v.941, p.3-11, 2001.
50. EICHMÜLLER, S. et al. Tumor-specific antigens in cutaneous T-cell lymphoma: Expression and sero-reactivity. **International Journal of Cancer**, v.104, p.482-487, 2003.
51. EL MOFTY, A.M. A preliminary report on the treatment of leukoderma with Ammi majus Linn. **J. R. Egypt Medical Association**, v.31, p.651-655, 1948.
52. ENDRES, L. ; BREIT, R. UV radiation, irradiation, dosimetry. In: KRUTMANN, J. et al. **Dermatological Phototherapy and Photodiagnostic Methods**, Springer, 1 ed., 2001. Germany, p.3-53.

53. FERENCZI, K. et al. Increased CCR4 expression in cutaneous T cell lymphoma. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.119, n.6, p.1405-1410, 2002.
54. FERNANDEZ-FIGUERAS, M.T. et al. Cutaneous angiolymphoid hyperplasia with high endothelial venules is characterized by endothelial expression of cutaneous lymphocyte antigen. **Human Pathology**, v.32, n.2, p.227-229, 2001.
55. FIERRO, M.T. et al. CD45RA+ immunophenotype in mycosis fungoides: Clinical, histological and immunophenotypical features in 22 patients. **Journal of Cutaneous Pathology**, v.28, p.356-362, 2001.
56. FINK-PUCHES, R. et al. Primary cutaneous lymphomas: applicability of current classification schemes (European Organization for Research and Treatment of Cancer, World Health Organization) based on clinicopathologic features observed in a large group of patients. **Blood**, v.99, n.3, p.800-805, 2002.
57. FILGUEIRA, A.L. Puvaterapia. Argumentos a favor. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.65, n.5, p.213-215, 1990.
58. FIVENSON, D.P.; DOUGLASS, M.C.; NICKOLOFF, B.J. Cutaneous expression of Thy-1 in mycosis fungoides. **American Journal of Pathology**, v.141, p.1373-1380, 1992.
59. FLEISHER, T.A. Apoptosis. **Annals of Allergy, Asthma and Immunology**, v.78, p.245-250, 1997.

60. FOULC, P.; N'GUYEN, J.M.; DRÉNO, B. Prognostic factors in Sézary syndrome: A study of 28 patients. **British Journal of Dermatology**, v.149, p.1152-158, 2003.
61. FUHLBRIGGE, R.C. et al. Cutaneous lymphocyte antigen is a specialized form of PSGL-1 expressed on skin-homing T cells. **Nature**, v.389, p.978-981, 1997.
62. GARSSSEN, J.; VAN LOVEREN, H. Effects of ultraviolet exposure on the immune system. **Critical Reviews in Immunology**, v.21, n.4, p.359-397, 2001.
63. _____. et al. UVB exposure-induced systemic modulation of Th-1 and Th-2-mediated immune responses. **Immunology**, v.97, p.506-514, 1999.
64. GILCHREST, B.A. et al. Oral methoxsalen photochemotherapy of mycosis fungoides. **Cancer**, v.38, n.2, p.683-689, 1976.
65. GIRARDI, M.; HEALD, P.W.; WILSON, L.D. The pathogenesis of mycosis fungoides. **The New England Journal of medicine**, v.350, p.1978-1988, 2004.
66. GODAR, D.E. Light and death: Photons and apoptosis. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v.4, p.17-23, 1999.
67. GOODMAN, J.W. The immune response. In: STITES, D.P.; TERR, I.A.; PARSLow, T.G. **Basic and Clinical Immunology**. 8. ed. Rio de Janeiro: Prentice Hall do Brasil, 1994. p. 40-57.

68. GMEINER, B.; RAAB, W. The mechanism of photochemotherapy. **Dermatologica**, v.152, p. 281-285, 1976.
69. GUPTA, A.K.; ANDERSON, T.F. Psoralen photochemotherapy. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.17, n.5 pt1, p.703-734, 1987.
70. HALEY, H.R.; DAVIS, D.A.; SAMS, W.M. Durable loss of a malignant T-cell clone in stage IV cutaneous T-cell lymphoma patient treated with high-dose interferon and photopheresis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.41, n.5 pt2, p.880-883, 1999.
71. HALPERN, S.M. Guideline for topical PUVA: a report of a workshop of the British Photodermatology Group. **British Journal of Dermatology**, v142, p.22-31, 2000.
72. HANSEN, E.R. Immunoregulatory events in the skin of patients with cutaneous T-cell lymphoma. **Archives of Dermatology**, v.132, p.554-560, 1996.
73. HARMON, C.B. et al. Detection of circulating T cells with CD4+CD7- immunophenotype in patients with benign and malignant lymphoproliferative dermatoses. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.35, n.3 pt1, p.404-410, 1996.
74. HARRIS, N.L. et al. The World Health Organization classification of neoplastic diseases of the haematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical

Advisory Committee Meeting, Airlie House, Virginia, November 1997.

Histopathology, v.36, p.69-87, 2000.

75. HARWIX, S.; ZACHMANN, K.; NEUMANN, C. T-cell clones from early-stage cutaneous T-cell lymphoma show no polarized Th-1 or Th-2 cytokine profile. **Archives of Dermatological Research**, v.292, p.1-8, 2000.
76. HEALD, P. Clinical trials and efficacy assessment in the therapy of cutaneous T cell lymphoma. **Annals New York Academy of Sciences**, v.941, p.155-165, 2001.
77. HERMANN, J.J. et al. Treatment of mycosis fungoides with photochemotherapy (PUVA): Long-term follow-up. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.33, n.2 pt1, p.234-242, 1995.
78. HERNE, K.L. et al. Cytomegalovirus seropositivity is significantly associated with mycosis fungoides and Sézary syndrome. **Blood**, v.101, n.6, p.2132-2136, 2003.
79. HODAK, E. et al. CD4/CD8 double-negative epidermotropic cutaneous T-cell lymphoma: an immunohistochemical variant of mycosis fungoides. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.55, n.2, p.276-284, 2006.
80. HOLÁŇ, V. et al. Urocanic acid enhances IL-1- production in activated CD4+ T cells. **The Journal of Immunology**, v.161, p.3237-3241, 1998.

81. HOLLOWAY, K.B.; FLOWERS, F.P.; RAMOS-CARO, F.A. Therapeutic

88. HYNES, R.O. Integrins: Versatility, modulation and signaling in cell adhesion. **Cell**, v.69, p.11-25, 1992.
89. IMBODEN, J.B. T lymphocytes and natural killer cells. In: STITES, D.P.; TERR, I.A.; PARSLOW, T.G. **Basic and Clinical Immunology**. 8. ed. Rio de Janeiro: Prentice Hall do Brasil, 1994. p. 94-104.
90. IWASAKI, K.; IZAWA, M.; MIHARA, M. UV-induced apoptosis in rat skin. **Journal of Dermatological Science**, v.12, p.31-35, 1996.
91. JEROME, K.R.; SLOAN, D.D.; AUBERT, M. Measurement of CTL-induced cytotoxicity: The caspase 3 assay. **Apoptosis**, v.8, n.6, p.563-571, 2003.
92. JONES, D. et al. CD4⁻ CD8⁻ double negative cutaneous T-cell lymphomas share common histological features and aggressive course. **The American Journal of Surgical Pathology**, v.26, p.225-231, 2002.
93. _____. et al. Absence of CD26 expression is a useful marker for diagnosis of T-cell lymphoma in peripheral blood. Hematopathology, **American Journal of Clinical Pathology**, v.115, p.885-892, 2001.
94. _____. et al. Expression pattern of T-cell-associated chemokine receptors and their chemokines correlates within specific subtypes of T-cell non-Hodgkin lymphoma. **Blood**, v.96, n.2, p.685-690, 2000.

95. KACINSKI, B.M.; FLICK, M. Apoptosis and cutaneous T cell lymphoma. **Annals New York Academy of Sciences**, v.941, p.195-199, 2001.
96. KADIN, M.E.; LEVI, E.; KEMPF, W. Progression of lymphomatoid papulosis to systemic lymphoma is associated with escape from growth inhibition by transforming growth factor- β and CD3- ligand. **Annals New York Academy of Sciences**, v.941, p.59-68, 2001.
97. KAKINUMA, T. et al. Thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) in mycosis fungoides: Serum TARC levels reflect the disease activity of mycosis fungoides. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.48, n.1, p.23-30, 2003.
98. KALLINICH, T. et al. Chemokine receptor expression on neoplastic and reactive T cells in the skin at different stages of mycosis fungoides. **Journal of Investigative Dermatology**, v.121, n.5, p.1045-1052, 2003.
99. KAMARASHEV, J. et al. Comparative analysis of histological and immunohistological features in mycosis fungoides and Sézary syndrome. **Journal of Cutaneous Pathology**, v.25, p.407-412, 1998.
100. KANG, K. et al. In human skin, UVB initiates early induction of IL-1- over IL-12 preferentially in the expanding dermal monocytic/macrophagic population. **The Journal of investigative Dermatology**, v.110, p.31-38, 1998.

108. KONDO, S.; JIMBOW, K. Dose-dependent induction of IL-12 but not IL-1- from human keratinocytes after exposure to ultraviolet light A. **Journal of Cellular Physiology**, v.177, p.493-498, 1998.
109. KONSTANTINIDOU, A.E.; KORKOLOPOULOU, P.; PATSOURIS, E. Apoptotic markers for the tumor recurrence: A minireview. **Apoptosis**, v.7, n.5, p.461-470, 2002.
110. KRIPKE, M. Photoimmunology. **Photochemistry and Photobiology**, v.52, n.4, p.919-924, 1990.
111. _____. Ultraviolet radiation and immunology: Something new under the sun-presidential address. **Cancer Research**, v.54, p.6102-6105, 1994.
112. _____. Immunological unresponsiveness induced by ultraviolet radiation. **Immunological Reviews**, v.80, p.87-102, 1984.
113. KRUEGER, J. The immunologic basis for the treatment of psoriasis with new biologic agents. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.46, n.1, p.1-23, 2002.
114. KRUTMANN, J.; MORITA, A.; ELMETS, C. Mechanisms of photo(chemo)therapy. In: KRUTMANN, J. et al. **Dermatological Phototherapy and Photodiagnostic Methods**, Springer, 1 ed., 2001. Germany, p.54-68.

115. _____. MORITA, A. Mechanisms of ultraviolet (UV) B and UVA phototherapy. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.4, n.1, p.70-72, 1999.
116. _____. Therapeutic photoimmunology: photoimmunological mechanisms in photo(chemo)therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.44, p.159-164, 1998.
117. _____. ELMETS CA. Recent studies on mechanisms in photoimmunology. **Photochemistry and Photoimmunology**, v.48, n.6, p.787-798, 1988.
118. _____. Human photoimmunology. **Photochemistry and Photobiology**, v. 65, n.4, p.607-608, 1997.
119. KURIMOTO, I.; KITAZAWA, T.; STREILEIN, W. Studies of delayed systemic effects of ultraviolet B radiation (UVR) on the induction of contact hypersensitivity, 2. Evidence that interleukin-1- from UVR-treated epidermis is the critical mediator. **Immunology**, v.99, p.134-140, 2000.
120. LAETSCH, B. et al. CD4+/CD7- T cell frequency and polymerase chain reaction-based clonality assay correlate with stage in cutaneous T cell lymphomas. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.114, n.1, p.107-111, 2000.

121. LASKIN, J.D. Cellular and molecular mechanisms in photochemical sensitization: Studies on the mechanism of action of psoralens. **Food and Chemical Toxicology**, v.32, n.2, p.119-127, 1994.
122. LEBWOHL, M., ALI, S. Treatment of psoriasis. Part I. Topical therapy and phototherapy **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.45, n.4, p.487-498, 2001.
123. LEDO, E. Photodermatosis. Part I: Photobiology, photoimmunology, and idiopathic photodermatoses. **International Journal of Dermatology**, v.32, n.6, p.387-396, 1993.
124. LEITÃO A.C.; GOMES, R.A. **Radiobiologia e fotobiologia. Respostas celulares às lesões induzidas por agentes físicos e químicos**, 1997. 119 p. Apostila.
125. LERNER, A.B; DENTON, C.R.; FITZPATRICK, T.B. Clinical and experimental studies with 8-methoxypsoralen in vitiligo. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.20, p.299-314, 1953.
126. LESSIN, S.R.; VOWELS, B.R.; ROOK, A.H. Th2 cytokine profile in cutaneous T-cell lymphoma. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.105, n.6, p.855, 1995.

127. LI, G. et al. Failure to detect human T-lymphotropic virus type-1 proviral DNA in cell lines and tissues from patients with cutaneous T-cell lymphoma. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.107, n.3, p.308-313, 1996.
128. LIM, Y.C. et al. Expression of functional selectin ligands on Th cells is differentially regulated by IL-12 and Il-4. **The Journal of Immunology**, v.162, p.3193-3201, 1999.
129. LISBOA, F.F.C.B. **Crêterios histológicos para o diagnóstico de micose fungóide**: revisão e atualiza o. 2001. Disserta o (Mestrado) – Programa de Pós-Gradua o em Medicina, Dermatologia Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Rio de Janeiro, 2001.
130. LU, D. et al. Clinical and pathological spectrum of CD8-positive cutaneous T-cell lymphomas. **Journal of Cutaneous Pathology**, v.29, p.465-472,
131. LUIZ, R.R.; MAGNANINI, M.M.F. A lógica da determina o do tamanho da amostra em investiga es epidemiológicas. **Cadernos Saúde Coletiva, Rio de Janeiro**, v.8, n.2, p.9-28, 2000.
132. L FTL, M. et al. Dendritic cells and apoptosis in mycosis fungoides. **British Journal of Dermatology**, v.147, p.1171-1179, 2002.
133. MANHÃES, A.M.H. **Micose fungóide. Avalia o do efeito da fotoquimioterapia (PUVA) sobre os marcadores do processo apoptótico e de memória celular no infiltrado inflamatrio-expansivo através da**

- imunofenotipagem.** 2004. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.
134. MARKS, D.I., FOX, R.M. Mechanisms of photochemotherapy-induced apoptotic cell death in lymphoid cells. **Biochemical Cell Biology**, v.69, p.754-760, 1991.
135. MCGREGOR, W.G. DNA repair, DNA replication, and UV mutagenesis. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v.4, n.1, p.1-5, 1999.
136. MEECH, S.J. et al. Reversible resistance to apoptosis in cutaneous T cell lymphoma. **Annals New York Academy of Sciences**, v.941, p.46-58, 2001.
137. MING, M.; LeBOIT, P.E. Can dermatopathologists reliably make the diagnosis of mycosis fungoides? **Archives of Dermatology**, v.136, p.543-546, 2000.
138. MOLL, M. et al. CD7-negative helper T cells accumulate in inflammatory skin lesions. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.102, n.3, p.328-332, 1994.
139. MORALES SUÁREZ-VARELA, M.M. et al. Mycosis fungoides: Review of epidemiological observations. **Dermatology**, v.201, p.21-28, 2000.
140. MORRISON, W.L. PUVA photochemotherapy. In: Wolverton SE. **Comprehensive dermatologic drug therapy.** 1^a ed. Pennsylvania: Philadelphia. 2001. p.311-325.

141. _____. Phototherapy and photochemotherapy. **Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery**, v.18, n.4, p.297-306, 1999.

149. NORRIS, P.G. et al. British photodermatology group guidelines for PUVA. **British Journal of Dermatology**, v.130, p.246-255, 1994.
150. _____. GANGE, R.W.; HAWK, J.L.M. Acute effects of ultraviolet radiation on the skin. In: FITZPATRICK ,T.B. et al. **Dermatology in general medicine**. 4. Ed. McGraw-Hill, 1993. p.1651-1657.
151. NORVAL, M. What's new in photoimmunology? **Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine**, v.18, p.50-51, 2002.
152. _____. What's new in photoimmunology? **Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine**, v.18, p.209-211, 2002.
153. _____. What's new in photoimmunology? **Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine**, v.17, p.136-137, 2001.
154. NUCKOLS, J.D. et al. Quantification of intraepidermal T-cell subsets in formalin-fixed, paraffin- embedded tissue helps in the diagnosis of mycosis fungoides. **Journal of Cutaneous Pathology**, v.26, p.169-175, 1999.
155. OPPENHEIM, J.J.; RUSCETTI, F.W.; FALTYNEK, C. Cytokines. In: STITES, D.P.; TERR, I.A.; PARSLOW, T.G. **Basic and Clinical Immunology**. 8. ed. Rio de Janeiro: Prentice Hall do Brasil. 1994. p. 105-123.

156. ORMSBY, A. et al. Evaluation of a new paraffin-reactive CD7 T-cell deletion marker and a polymerase chain reaction-based T-cell receptor gene rearrangement assay: Implications for diagnosis of mycosis fungoides in community clinical practice. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.45, n.3, p.405-413, 2001.
157. PADILHA-GONÇALVES, A. Puvaterapia. Argumentos contra. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.66, n.5, p.216-217, 1990.
158. PAPADAVID, E. et al. The relevance of peripheral blood T-helper 1 and 2 cytokine pattern in the evaluation of patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome. **British Journal of Dermatology**, v.148, p. 709-718, 2003.
159. PARRISH, J.A. et al. Photochemotherapy of psoriasis with oral methoxsalen and long wave ultraviolet light. **New England Journal of Medicine**, v.291, p.1207-1211, 1974.
160. PARSLOW, T.G. Lymphocytes and lymphoid tissues. In: STITES, D.P.; TERR, I.A.; PARSLOW, T.G. **Basic and Clinical Immunology**. 8. ed. Rio de Janeiro: Prentice Hall do Brasil, 1994. p. 22-39.
161. PATAK, M.A.; FITZPATRICK, T.B. Preventive treatment of sunburn, dermatoheliosis and skin cancer with sun protective agents. In: FITZPATRICK, T,B et al. **Dermatology in general medicine**. 4. Ed. McGraw-Hill, 1993. p.1689-1716.

162. PERITZ, A.E.; GASPARRO, F.P. Psoriasis, PUVA, and skin cancer – Molecular epidemiology: The curious question of T - A transversions. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v.4, n.1, p.11-16, 1999.
163. PICKER, L.J. et al. A unique phenotype of skin-associated lymphocytes in humans: preferential expression of the HECA-452 epitope by benign and malignant T cells at cutaneous sites. **American Journal of Pathology**, v.136, p.1053-1068, 1990.
164. POBER, J.S.; KLUGER, M.S.; SCHECHNER, J.S. Human endothelial cell presentation of antigen and the homing of memory/effector T cells to skin. **Annals New York Academy of Sciences**, v.941, p.12-25, 2001.
165. REINHOLD, U. et al. CD7-negative T cells represent a separate differentiation pathway in a subset of post-thymic helper T cells. **Immunology**, v.89, 391-396, 1996.
166. ROBERT, C.; KUPPER, T.S. Inflammatory skin diseases, T cells, and immune surveillance. **The New England Journal of Medicine**, v.341, n.24, p.1817-1828, 1999.
167. ROBERTS, L.K.; SMITH, D.R.; SEILSTAD, K.H.; JUN, B.D. Photoimmunology: The mechanisms involved in immune modulation by UV radiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.2, p. 149-177, 1988.

168. ROOK, A.H. et al. The role for interleukin-12 therapy of cutaneous T cell lymphoma. **Annals New York Academy of Sciences**, v.941, p177-184, 2001.
169. _____. et al. Pathogenesis of cutaneous T-cell lymphoma: Implications for the use of recombinant cytokines and photopheresis. **Clinical and Experimental Immunology**, v.107, supl. 1, p.16-20, 1997.
170. ROOT, L.S. et al. A fundamental subdivision of circulating lymphocytes defined by adhesion to mucosal addressin cell adhesion molecule-1. *The Journal of Immunology*, v.156, p.3727-3736, 1996.
171. RUSSEL-JONES, R. World Health Organization classification of hematopoietic and lymphoid tissues: Implications for dermatology. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.48, n.1, p.93-102, 2003.
172. SAED, G.; NICKOLOFF, B.J. Th2 cytokine profile in cutaneous T-cell lymphoma. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.105, n.6, p.856, 1995.
173. SAED, G. et al. Mycosis fungoides exhibits a Th1-type cell-mediated cytokine profile whereas Sézary syndrome expresses a Th2-type profile. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.103, n.1, p.29-33, 1994.
174. _____. et al. Mycosis fungoides exhibits a Th1-type cell mediated cytokine profile whereas Sézary syndrome expresses a Th2-type profile. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.103, n.1, p.29-33, 1994.

175. SAMPAIO, S.A.P.; RIVITTI, E. **Dermatologia**. São Paulo: Artes Médicas, 2000. 1156 p.
176. SANDER, C.A. et al. The revised European-American classification of lymphoid neoplasms (REAL): a new perspective for the classification of cutaneous lymphomas. **Journal of Cutaneous Pathology**, v.24, p.329-341, 1997.
177. SANTUCCI, M. et al. Cytotoxic/ Natural killer cell cutaneous lymphomas. Report of the EORTC cutaneous lymphoma task force workshop. **Cancer**, v.97, n.3, p.610-627, 2003.
178. _____. et al. Accuracy, concordance, and reproducibility of histological diagnosis in cutaneous T-cell lymphoma. **Archives of Dermatology**, v.136, p.497-502, 2000.
179. SARRIS, A.H. et al. Interferon-inducible protein 1- as a possible factor in the pathogenesis of cutaneous T-cell lymphomas. **Clinical Cancer Research**, v.3, n.169-177, 1997.
180. _____. et al. Cytokine loops involving interferon- γ and IP-1-, a cytokine chemo tactic for CD4+ lymphocytes: Na explanation for the epidermotropism of cutaneous T-cell lymphoma? **Blood**, v.86, n.2, p.651-658, 1995.

181. SCARISBRICK, J.J. et al. Prognostic significance of tumor burden in the blood of patients with erythrodermic primary cutaneous T-cell lymphoma. **Blood**, v.97, n.3, p.624-630, 2001.
182. SCHECHNER, J.S. et al. Integrins $\alpha 4\beta 7$ and $\alpha E\beta 7$ are expressed on epidermotropic T cells in cutaneous T cell lymphoma and spongiotic dermatitis. **Laboratory Investigation**, v.79, n.5, p.601-607, 1999.
183. SCHÖN, M.P.; ZOLLNER, T.M.; BOEHNCKE, W.H. The molecular basis of lymphocyte recruitment to the skin: Clues for the pathogenesis and selective therapies of inflammatory disorders. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.121, n.5, p.951-962, 2003.
184. SCHWARZ, T. UV light affects cell membrane and cytoplasmic targets. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.44, p.91-96, 1998.
185. _____. KULMS, T. Molecular mechanisms of UV-induced apoptosis. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, v.16, p.195-201, 2000.
186. SHAPIRO, M. et al. Novel multimodality biologic response modifier therapy, including bexarotene, and long- wave ultraviolet A for a patient with refractory stage IV cutaneous T cell lymphoma. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.47, p.956-961, 2002.

187. SHEN, J.; BAO, S.; REEVE, V.E. Modulation of IL-1-, IL-12, and IFN- γ in the epidermis of hairless mice by UVA (320-400nm) and UVB (280-320nm) radiation. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.113, p.1059-1064, 1999.
188. SHREEDHAR, V. et al. A cytokine cascade including prostaglandin E₂, IL-4, and IL-1- is responsible for UV-induced systemic immune suppression. **The Journal of Immunology**, v.160, p.3783-3789, 1998.
189. SIGMUNDSOTTIR, H.; GUDJONSSON, J.E.; VALDIMARSSON, H. The effects of ultraviolet B treatment on the expression of adhesion molecules by circulating T lymphocytes in psoriasis. **British Journal of Dermatology**, v.148, p.996-1000, 2003.
190. SIGURDSSON, V. et al. Interleukin 4 and interferon- γ expression of the dermal infiltrate in patients with erythroderma and mycosis fungoide. An immunohistochemical study. **Journal of Cutaneous Pathology**, v.27, p.429-435, 2000.
191. SIMONITSCH, I. et al. Expression of monoclonal antibody HML-1 defined $\alpha E\beta 7$ integrin in cutaneous T cell lymphoma. **American Journal of Pathology**, v.145, n.5, p.1148-1158, 1994.
192. SITAILO, L.A.; TIBUDAN, S.S.; DENNING, M,F. Activation of caspase-9 is required for UV- induced apoptosis of human keratinocytes. **The Journal of Biological Chemistry**, v.277, n.22, p.19346-19352, 2002.

193. SKOV, L. et al. Contrasting effects of ultraviolet A1 and ultraviolet B exposure on the induction of tumor necrosis factor- α in human skin. **British Journal of Dermatology**, v.138, p.216-220 1998.
194. SLATER, D.N. The new World Health Organization-European Organization for Research and Treatment of Cancer classification for cutaneous lymphomas: a practical marriage of two giants. **British Journal of Dermatology**, v.153, p.874-880, 2005.
195. _____. The new world health organization classification of haematopoietic and lymphoid tumors: a dermatopathologic perspective. **British Journal of Dermatology**, v.147, p.633-639, 2002.
196. SOKOLOWSKA-WOJDYLO, M. et al. Circulating clonal CLA+ and CD4+ T cells in Sézary syndrome express the skin-homing chemokine receptors CCR4 and CCR1- as well as the lymph node-homing chemokine receptor CCR7. **British Journal of Dermatology**, v.152, p.258-264, 2005.
197. STANSFELD, A.G. et al. Updated Kiel classification for lymphomas. **The Lancet**, v.1, n.8580, p.292-293, 1988.
198. STERN, R.S.; BAGERI, S.; NICHOLS, K. The persistent risk of genital tumors among men treated with psoralen plus ultraviolet A (PUVA) for psoriasis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.47, n. 1, p.33-39, 2002.

199. _____. The risk of melanoma in association with long-term exposure to PUVA. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.44, n.5, p.755-761, 2001.
200. STEVENS, S.R. et al. A simple clinical scoring system to improve the sensitivity and standardization of the diagnosis of mycosis fungoides type cutaneous T-cell lymphoma: Logistic regression of clinical and laboratory data. **British Journal of Dermatology**, v.149, p.513-522, 2003.
201. _____. et al. Quantifying skin disease in mycosis fungoides- type cutaneous T-cell lymphomas. **Archives of Dermatology**, v.138, p.42-48, 2002.
202. _____. et al. Circulating CD4+ CD7- lymphocyte burden and rapidity of response. **Archives of Dermatology**, v.138, p.1347-1350, 2002.
203. TAKAHASHI, R. et al. In vitro differentiation from naive to mature E-selectin binding CD4 T cells: Acquisition of skin-homing properties occurs independently of cutaneous lymphocyte antigen expression. **The Journal of Immunology**, v.171, p.5769-5777, 2003.
204. TAN, S.H.; SIM, C.S.; ONG, B.H. Cutaneous lymphomas other than mycosis fungoides in Singapore: A clinicopathological analysis using recent classification systems. **British Journal of Dermatology**, v.149, p.542-553, 2003.
205. TENSEN, C.P. et al. Epidermal interferon- γ inducible protein-1- (IP-1-) and monokine induced by γ -interferon (Mig) but not IL-8 mRNA expression is

- associated with epidermotropism in cutaneous T cell lymphomas. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.111, n.2, p.222-226, 1998.
206. TERR, A.I. Inflammation. In: STITES, D.P.; TERR, A.I.; PARSLow, T.G. **Basic and Clinical Immunology**. 8. ed. Rio de Janeiro: Prentice Hall do Brasil, 1994. p. 137-150.
207. TERUI, T. et al. Ultraviolet B radiation exerts enhancing effects on the production of a complement component C3, by interferon-stimulated cultural human epidermal keratinocytes, in contrast to photochemotherapy and ultraviolet A radiation that show suppressive effects. **British Journal of Dermatology**, v.142, p.660-668, 2000.
208. THE NON-HODGKIN'S LYMPHOMA PATHOLOGIC CLASSIFICATION PROJECT. National Cancer Institute sponsored study of classifications of non-Hodgkin's lymphomas. **Cancer**, v.49, n.10, p.2112-2135, 1982.
209. THUMANN, P. et al. Interaction of cutaneous lymphoma cells with reactive T cells and dendritic cells: Implications for dendritic cell-based immunotherapy. **British Journal of Dermatology**, v.149, p.1128-1142, 2003.
210. TOKURA, Y. et al. Photoactivated cytokine-modulatory action of 8-methoxypsoralen plus ultraviolet A in lymphocytes, monocytes, and cutaneous T cell lymphoma cells. **Annals New York Academy of Sciences**, v.941, p.185-193, 2001.

211. TOMIMORI, Y.; IKAWA, Y.; OYAIZU, N. Ultraviolet-irradiated apoptotic lymphocytes produce interleukin-1- by themselves. **Immunology Letters**, v.71, p.49-54, 2000.
212. TORO, J.R. et al. $\gamma\delta$ T-cell lymphoma of the skin. A clinical, microscopic and molecular study. **Archives of Dermatology**, v.136, p.1024-1032, 2000.
213. ULLRICH, S. Modulation of immunity by ultraviolet radiation: Key effects on antigen presentation. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.105, p.30S-36S, 1995.
214. UPDATE ON ERYTHRODERMIC CUTANEOUS T-CELL LYMPHOMA: Report of the International Society for Cutaneous lymphomas. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.46, n.1, p.95-106, 2002.
215. VASCONCELOS, Z.F.M. et al. T-lymphocyte function from peripheral blood stem-cell donors is inhibited by activated granulocytes. **Cryotherapy**, v.5, n.4, p.336-345, 2003.
216. VERGIER, B. et al. Transformation of mycosis fungoides: Clinicopathological and prognostic features of 45 cases. **Blood**, v.95, n.7, p.2212-2218, 2000.
217. VOWELS, B.R. et al. Th2 cytokine mRNA expression in skin in cutaneous T-cell lymphoma. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.103, p.669-673, 1994.

218. WAGERS, A.J. et al. Interleukin 12 and interleukin 4 control t cell adhesion to endothelial selectines through opposite effects on α 1,3-fucosyltransferase VII gene expression. **Journal of Experimental Medicine**, v.188, n.12, p.2225-2231, 1998.
219. WALTERS,I.B. et al. Narrowband (312-nm) UVB suppresses interferon γ and interleukin (IL) 12 and increases IL-4 transcripts. Differential regulation of cytokines at the single-cell level. **Archives of Dermatology**, v.139, p.155-161, 2003.
220. WALTERSCHEID, J.P.; NGHIEM, D.X.; ULLRICH, S.E. Determining the role of cytokines in UV-induced immunomodulation. **Methods**, v.28, n.1, p.71-78, 2002.
221. WATT, F.M. Role of integrins in regulating epidermal adhesion, growth and differentiation. **The European Molecular Biology Organization Journal**, v.21, n.15, p.3919-3926, 2002.
222. WEHRLI, P. et al. Death receptors in cutaneous biology and disease. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.115, p.141-148, 2000.
223. WHITTAKER, S. Molecular genetics of cutaneous lymphomas. **Annals New York Academy of Sciences**, v.941, p.39-45, 2001.
224. WHITTAM, L.R. et al. CD8-positive juvenile onset mycosis fungoides: an immunohistochemical and genotypic analysis of six cases. **British Journal of Dermatology**, v.143, p.1199-1204, 2000.

225. WIKONKAL, N.M.; BRASH, D.E. Ultraviolet radiation induced signature mutations in photo carcinogenesis. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v.4, n.1, p.6-10, 1999.
226. WILLEMZE, R. et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. **Blood**, v.1-5, n.10, p.3768-3785, 2005.
227. _____. et al. EORTC classification for primary cutaneous lymphomas: A proposal from the cutaneous lymphoma study group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer. **Blood**, v.90, n.1, p.354-371, 1997.
228. WOLFF, K.; HÖNIGSMANN, H. Genital carcinomas in psoriasis patients treated with photochemotherapy. **Lancet**, v.337, p.439, 1991.
229. WOOD, G.S. Analysis of clonality in cutaneous T cell lymphoma and associated diseases. **Annals New York Academy of Sciences**, v.941, p.26-30, 2001.
230. _____. et al. Detection of clonal T-cell receptor γ gene rearrangements in early mycosis fungoides/ Sézary syndrome by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis (PCR/DGGE). **The Journal of Investigative Dermatology**, v.103, n.1, p.34-41, 1994.
231. _____. et al. Leu-8/ CD7 antigen expression by CD3+ T cells: Comparative analysis of skin and blood in mycosis fungoides/ Sézary syndrome relative to normal blood values. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 22, n.4, p.602-607, 1990.

232. YAGI, H. et al. CD7-positive Sézary syndrome with a Th1 cytokine profile. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.34, n.2 pt2, p.368-374, 1996.
233. YAMAMOTO, T. et al. Alteration of cytokine genes and bcl-2 expression following immunotherapy with intralesional IFN- γ in a patient with tumor-stage mycosis fungoides. **Dermatology**, v.196, p.283-287, 1998.
234. YOO, E.K. et al. Apoptosis induction by ultraviolet light A and photochemotherapy in cutaneous T-cell lymphoma: Relevance to the mechanism of therapeutic action. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.107, n.2, p.235-242, 1996.
235. YOSHINORI, A. et al. Ultraviolet light induces apoptosis via direct activation of CD95 (Fas/APO-1) independently of its ligand CD95L. **The Journal of Cell Biology**, v.140, p.171-182, 1998.
236. YOUNG, A.R. et al. Human melanocytes and keratinocytes exposed to UVB or UVA in vivo show comparable levels of thymidine dimers. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.111, n.6, p.936-940, 1998.
237. _____. et al. The similarity of action spectra for thymidine dimers in human epidermis and erythema suggests that DNA is the chromophore for erythema. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.111, n.6, p.982-988, 1998.

238. _____. Chronic effects of ultraviolet radiation on the skin: Experimental aspects. In: FITZPATRICK, T.B. et al. **Dermatology in general medicine**. 4. Ed. McGraw-Hill, 1993. p.1658-1660.
239. YOSHIDA, Y. et al. Cellular fibronectin is induced in ultraviolet-exposed human skin and induces IL-1- production by monocytes/ macrophages. **The Journal of Investigative Dermatology**, v.113, p.49-55, 1999.
240. ZACKHEIM, H.S.; KASHANI-SABET, M.; McMILLAN, A. Low dose methotrexate to treat mycosis fungoides: A retrospective study in 69 patients. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.49, n.5, p.873-878, 2003.
241. _____. McCALMONT, T.H. Mycosis fungoides: The great imitator. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.47, n.6, p.914-918, 2002.
242. _____. Cutaneous T cell lymphoma: Update of treatment. **Dermatology**, v.199, p.102-105, 1999.
243. ZUCKER-FRANKLIN, L.D. The role of human T cell lymphotropic virus type I tax in the development of cutaneous T cell lymphoma. **Annals New York Academy of Sciences**, v.941, p.86-96, 2001.

8 Apêndices

Apêndice 1

FICHA CADASTRAL

Nome:

Prontuário:

End.:

Tel.:

Idade:

Sexo:

Fototipo: I () II () III () IV () V () VI ()

Idade:	Sexo:	SESSÕES DE PUVA			
		Tempo Zero	2 ^a	4 ^a	6 ^a
Fototipo: I () II () III () IV () V () VI ()					
EXAMES COMPLEMENTARES					
Exame histopatológico			_____	_____	
RX de tórax			_____	_____	_____
Ultra-som abdominal			_____	_____	_____
Pesquisa de células de Sézary			_____	_____	
Anti-HIV 1 e 2			_____	_____	_____
Anti-HTLV 1 e 2			_____	_____	_____
Hemácias					
Hemoglobina					
Hematócrito					
Leucócitos totais					
Basófilos					
Eosinófilos					
Mielócitos					
Metamielócitos					
Bastões					
Neutrófilos					
Linfócitos					
Monócitos					
Plaquetas					
Uréia					
Creatinina					
TGO					
TGP					
Fosfatase alcalina					
Bilirrubina total					
Bilirrubina direta					
Bilirrubina indireta					
Gama GT					
Albumina					
TAP					
Exame oftalmológico			_____	_____	
Sangue periférico			_____	_____	
Imunohistoquímica					

Apêndice 2

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está convidado a participar do estudo "O perfil Th1/Th2 nos pacientes portadores de micose fungóide tratados com PUVA".

Sua participação é estritamente voluntária e a qualquer momento você poderá se retirar do estudo sem qualquer dano ou perda de benefícios aos quais tenha direito.

Qual é o objetivo do estudo?

Avaliar possíveis alterações de substâncias (citocinas) no sangue e na pele provocadas pelo uso do psoraleno oral associado à radiação ultravioleta-A (PUVA) no tratamento da micose fungóide.

O que é psoraleno?

É um medicamento oral que em contato com a radiação ultravioleta-A provoca reações no organismo que podem normalizar as alterações provocadas pela sua doença (micose fungóide).

O que é micose fungóide?

É uma forma de câncer de pele (linfoma cutâneo), não agressivo, de evolução crônica, passível de cura se tratado desde o início.

Onde será realizado o tratamento?

No Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) - UFRJ, no Serviço de Métodos Especiais, Setor de Fotodermatologia.

O que terei que fazer se aceitar participar do estudo?

1- Se submeter à biópsia de pele e a exames de sangue no início e término do estudo (cerca de cinco meses após). A biópsia de pele consiste da retirada de um fragmento de 6 milímetros de diâmetro da sua pele, após injeção local de anestésico (cloridrato de lidocaína 2%). A pele então será fechada com um ponto. Os exames de sangue serão realizados com o objetivo de avaliar as possíveis alterações das funções do seu fígado e rins decorrentes do tratamento assim como as possíveis alterações da sua imunidade provocadas pela doença e modificadas pelo tratamento.

2- Se submeter a fotografias das lesões no início e término do tratamento.

Qual é a duração do estudo?

Cinco meses.

O que acontecerá com o meu tratamento após o término do estudo?

Será mantido.

Quais são os possíveis riscos e benefícios se eu concordar em participar?

Possíveis benefícios - Melhor compreensão de como a terapia PUVA está

S1703(i)7.84154(c)-0.295585(i)2.613 0 Td [(r)2.8043117(l)11.8759(o)-4.33117()-102.12.1703()

Sim. Você poderá discutir as suas possibilidades terapêuticas com o seu médico, caso sinta necessidade.

Eu terei algum ônus ao participar do estudo?

Não. Este estudo não trará qualquer ônus ou benefício financeiro para você. A medicação (psoraleno), inclusive, lhe será fornecida gratuitamente.

As informações contidas neste estudo serão confidenciais?

Sim. Os resultados, contudo, poderão ser veiculados em publicações científicas, assim como apresentados em congressos médicos, mas a sua identidade sempre será preservada.

Após ter lido este termo, concordo em participar do estudo "O perfil Th1/Th2 nos pacientes portadores de micose fungóide tratados com PUVA". Todas as informações aqui contidas me foram explicadas e minhas perguntas respondidas satisfatoriamente. Ficou claro que posso sair do estudo a qualquer momento, caso deseje, sem dano ou perda de benefícios adquiridos. Uma cópia deste documento ficará em meu poder.

_____	_____	____/____/____
Nome do voluntário	Assinatura	Data
_____	_____	____/____/____
Nome do Responsável (em caso de menor de 21 anos)	Assinatura	Data
_____	_____	____/____/____
Nome do médico responsável	Assinatura	Data

Telefone de contato do médico responsável (Dr. Jorge Ricardo da Silva Machado):
8197-9982/ 25-1---16

Endereço: Rua Lucídio Lago, 232/ 2-5 – Méier – Rio de Janeiro.

Em caso de dúvida entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) localizado no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho – UFRJ, sala -1D-46/ 1^a andar, telefone: 2562-248-.

E-mail: ccp@hucff.ufrj.br

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)