

## Inmunofenotipo por citometría de flujo de un paciente con micosis fungoide

Immunophenotype by flow cytometry in a patient with mycosis fungoide

Yenisey Triana Marrero<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0003-3391-0767>

Imilla Casado Hernández<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-0432-7943>

Vianed Marsán Suárez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-5659-8214>

Yaneisy Duarte Pérez<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8953-4476>

Elizabeth Hernández Ramos<sup>1</sup> <https://orcid.org/000-0003-1126-5314>

Orlando Olivera Morán<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1253-466X>

Daniel Ramos Díaz<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0003-4528-3617>

Linnnet Elena González Fornaris<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0001-5090-1593>

<sup>1</sup>Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Hospital Clínico Quirúrgico Amalia Simoni. Camagüey, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [rhematologia@infomed.sld.cu](mailto:rhematologia@infomed.sld.cu)

### RESUMEN

**Introducción:** La micosis fungoide es el más frecuente dentro de los linfomas cutáneos de células T. Afecta principalmente la piel y la diseminación extracutánea; solo puede ocurrir en estadios avanzados y principalmente a los ganglios linfáticos, el hígado, el bazo y la sangre. En la actualidad la técnica de citometría de flujo es de gran utilidad en la caracterización inmunofenotípica de esta entidad.

**Objetivo:** Caracterizar el inmunofenotipo de un paciente adulto con diagnóstico sugestivo de micosis fungoide evaluado en el Instituto de Hematología e Inmunología de La Habana, Cuba.

**Métodos:** Se analizó una muestra de sangre periférica por citometría de flujo de un paciente con sospecha clínica e histopatológica de micosis fungoide. Se emplearon anticuerpos monoclonales dirigidos contra los antígenos de diferenciación linfocitoide T. La lectura se realizó en un citómetro GALLIOS, Beckman Coulter y los datos obtenidos se analizaron con el empleo del programa informático Kaluza.

**Resultados:** Los antígenos con expresión positiva fueron CD5 (53,38 %), CD3 (55,73 %), así como la coexpresión de CD3+/CD8+ (26,07 %), CD3+/CD4+ (60,81 %), CD45RO+/CD27+ (60,95 %), CD3+/TCR- $\alpha\beta$  doble positivos (90,33 %). Hubo ausencia de la expresión de los marcadores CD2, CD7, CD25, CD30 y CD103.

**Conclusiones:** El inmunofenotipo contribuye a la comprensión de los aspectos clínicos, pronósticos y de progresión de la enfermedad, lo que tributa a un adecuado tratamiento de estos pacientes.

**Palabras clave:** inmunofenotipo; micosis fungoide; citometría de flujo; linfoma de células T.

## ABSTRACT

**Introduction:** Mycosis fungoides is the most frequent cutaneous T-cell lymphoma. It mainly affects the skin and extracutaneous dissemination can only occur in advanced stages and mainly to the lymph nodes, liver, spleen and blood. Currently, the flow cytometry technique is very useful in the immunophenotypic characterization of this entity.

**Objective:** To study the immunophenotype of an adult patient with suggestive diagnostic of mycosis fungoides evaluated at Institute of Hematology and Immunology, Havana, Cuba.

**Methods:** A peripheral blood sample was analyzed for the flow cytometry from a patient with clinical and histopathological suspicion of mycosis fungoides. Monoclonal antibodies directed against T-lymphoid differentiation antigens were used. The reading was performed in a GALLIOS, Beckman Coulter cytometer and the data obtained were analyzed using the Kaluza computer program.

**Results:** The antigens with positive expression were CD5 (53.38%), CD3 (55.73%), as well as the coexpression of CD3+/CD8+ (26.07%), CD3+/CD4+ (60.81%), CD45RO+/CD27+ (60.95%), CD3+/TCR- $\alpha\beta$  (90.33%). There was absence of the expression of the markers CD2, CD7, CD25, CD30 and CD103.

**Conclusions:** The immunophenotype contributes to the understanding of the clinical aspects, prognosis and progression of the disease, which contributes to an adequate treatment of these patients.

**Keywords:** immunophenotype; mycosis fungoides; flow cytometry; T-cell lymphoma

Recibido: 26/05/2023

Aceptado: 06/12/2023

## Introducción

Los linfomas cutáneos primarios de células T (LCCT) son un grupo heterogéneo de trastornos linfoproliferativos clonales de células T que afectan la piel. Representan del 75-80 % de todos los linfomas cutáneos primarios. La micosis fungoide (MF) es el LCCT con mayor prevalencia y constituye aproximadamente el 50-65 % de estos; aun así, la MF es una enfermedad rara.<sup>(1)</sup>

Se estima que su incidencia es del 0,29 % por cada 100 000 habitantes, es más frecuente en adultos jóvenes, con una relación hombre-mujer de 2:1. Esta enfermedad

puede estar limitada a la piel durante muchos años. La diseminación extracutánea solo ocurre en estadios avanzados y afecta principalmente a los ganglios linfáticos (GL), el hígado, el bazo y la sangre. La afectación de la médula ósea (MO) es muy rara.<sup>(2)</sup>

En su patogénesis se describe la asociación con los alelos del HLA (siglas del inglés *Human Leukocyte Antigen*) de clase II -DRB1\*05, -DRB1\*11 y -DQB1\*03; este último, se reportó en seis familias con varios miembros afectados por LCCT. Se sugiere el papel de un antígeno crónico; entre los agentes involucrados están el virus linfotrópico humano (HTLV-1), el citomegalovirus (CMV), el virus de Epstein-Barr (VEB), los superantígenos de *Staphylococcus aureus*<sup>(3,4)</sup> y la estimulación de los linfocitos TCD4 cooperadores por células de Langerhans intraepidérmicas. Esta teoría sugiere que la causa de la enfermedad puede ser un proceso proinflamatorio o policlonal, hasta la bien desarrollada forma clonal, que se explica por la persistencia inmunológica del microambiente cutáneo.<sup>(5)</sup>

Existe una respuesta Th2 incrementada en la MF/síndrome de Sézary (SS), caracterizada por un incremento de interleucinas (IL) detectables en la piel y la sangre periférica (SP), como la IL4, IL5 e IL10 producidas por el linfocito atípico; las cuales generan una disminución en el número de células dendríticas y, secundariamente, de células TCD8+ citotóxicas y células asesinas naturales (NK) y de las citocinas que estas producen, como interferón (IFN)  $\alpha$ , IFN $\gamma$  e IL12.

Las células presentadoras de antígenos expresan CD40 en su superficie, que es habitualmente activado por el ligando de CD40, expresado a su vez por linfocitos T.<sup>(6)</sup>

Los linfocitos T atípicos de la MF/SS no lo expresan, con lo que no se produce la activación de las células dendríticas y la subsiguiente producción de citocinas. Estas citocinas son el IFN $\alpha$  (producidos por las células dendríticas plasmocitoides) y las IL12, 15 y 18 (dendríticas mieloides) todas implicadas en la activación de las células NK CD56+ y las células T CD8+ citotóxicas, productoras ambas de IFN $\gamma$ . Estos dos

puntos son claramente responsables del estado de inmunosupresión propio de estos pacientes, con aparición de neoplasias secundarias e infecciones.<sup>(7,8)</sup>

El diagnóstico de las MF es un desafío, especialmente en las fases iniciales.<sup>(9)</sup> Es una enfermedad de evolución lenta y progresiva que puede llegar a comprometer la vida del paciente por la invasión de los GL y la MO.<sup>(10)</sup> Se realiza teniendo en cuenta criterios clínicos, histopatológicos, inmunofenotípicos y moleculares.<sup>(11)</sup>

En ese sentido, la MF es un linfoma de células T auxiliares de memoria; se caracteriza por la expresión de los antígenos (Ags) CD3+, CD4+, CD45RO+. El fenotipo más frecuente de las células neoplásicas es, además, CD2+, CD5+, CD8-, TCR  $\alpha/\beta$ + y CD30- en ausencia de transformación. Puede ser doble positivo (CD4+/CD8+) o doble negativo (CD4-/CD8-), pero el fenotipo de las células T no tiene implicaciones en el pronóstico. El antígeno CD7 se expresa en un tercio de los casos. Con la evolución de la enfermedad puede producirse la pérdida de algunos de estos Ags de la célula T. Es rara la presencia de CD8 en los adultos. En la infancia y la adolescencia es más frecuente la expresión de CD8+, CD2+ y CD7-. La adquisición evolutiva de CD30 tiene valor pronóstico.<sup>(12)</sup>

El inmunofenotipaje por CMF proporciona un enfoque más apropiado para la evaluación del SS y la MF, pues permite la evaluación de múltiples Ags simultáneamente para identificar las células T que tienen una combinación de hallazgos que difieren de la norma, como la ausencia de CD7 y de CD26 y la tinción de intensidad débil para CD3. En la actualidad se recomienda la evaluación objetiva de la carga tumoral mediante CMF de la SP para todos los estadios de MF, lo que resulta esencial para la identificación de umbrales clínicamente relevantes para la gravedad de la enfermedad y la respuesta a la terapia.<sup>(13)</sup>

Este trabajo tiene como objetivo caracterizar el inmunofenotipo por CMF de un paciente adulto con diagnóstico sugestivo de MF evaluado en el Instituto de Hematología e Inmunología (IHI) de La Habana, Cuba.

## Métodos

Se obtuvo una muestra procedente de SP (3 mL), por punción venosa en un tubo con etilendiamino-tetra-acetato de potasio (EDTA) de un paciente con sospecha clínica e histopatológica de MF. La identificación y cuantificación de los Ags expresados en la MF se desarrolló por la técnica de CMF, con el empleo de anticuerpos monoclonales (AcMo) dirigidos contra los Ags de diferenciación linfoide T. En todos los casos, los AcMo fueron previamente titulados y conjugados directamente por el fabricante a los fluorocromos isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE), alofocianina (APC) y ficoeritrina cianina 5 (PC5). El panel de AcMo que se empleó fue: AntiCD4PE/CD3PC5\*; AntiCD8PE/CD3PC5\*; Anti-CD45ROFITC/CD27APC; AntiCD3PE/TCR- $\alpha\beta$  APC; Anti-CD2 FITC\*; Anti-CD5 FITC\*\*; Anti-CD7PE\*; Anti-CD25PE\*; Anti-CD30FITC\*; Anti-CD103PE\*; de las firmas BeckmanCoulter (\*) y Milteny (\*\*).

## Técnicas y procedimientos de laboratorio

Se dispensaron 50  $\mu$ L de la muestra procedente de SP en cada tubo de 15 mL, las cuales se incubaron con 5  $\mu$ L de las combinaciones correspondientes de AcMo durante 30 min, a oscuras y a temperatura ambiente (TA). El lisado de los hematíes se realizó con cloruro de amonio, durante 10 min, a TA. Posteriormente, las células fueron lavadas en dos ocasiones con cloruro de sodio a 0,9 % y centrifugadas durante 10 min a 1500 rpm. Finalmente fueron leídas en un citómetro GALLIOS, BeckmanCoulter, ubicado en el departamento de Inmunología del IHI.

En el momento de adquirir las células en el citómetro ( $10^4$  células), se realizó una calibración previa con la muestra que contenía solamente sangre total (control negativo). Cuando la luz difractada incidió en el mismo eje de la luz incidente. Se evaluó el tamaño celular, a través del *forward scatter* (FSC). Por otro lado, cuando la luz

difractada y reflejada se detectó a 90° de la dirección del láser, se evaluó la complejidad interna celular o granularidad, a través del *side scatter* (SSC).

Se analizaron los histogramas correspondientes al tubo control, a través de los cuales se establecieron los límites de la emisión de fluorescencia de los fluorocromos utilizados.

Se utilizó como estrategia de análisis, el gráfico de puntos sobre el total de células marcadas para la separación de los singletes; células que pasan una sola vez por el láser y presentan la altura de señal (FSC-H) y el área de señal (FSC-A) uniforme que el citómetro registra como un evento, descartando agregados celulares (dos o más células).

Se utilizó el gráfico de puntos CD45 vs. SSC para separar la población de linfocitos de las restantes poblaciones celulares y del detrito celular. Se realizó el análisis sobre esta población.

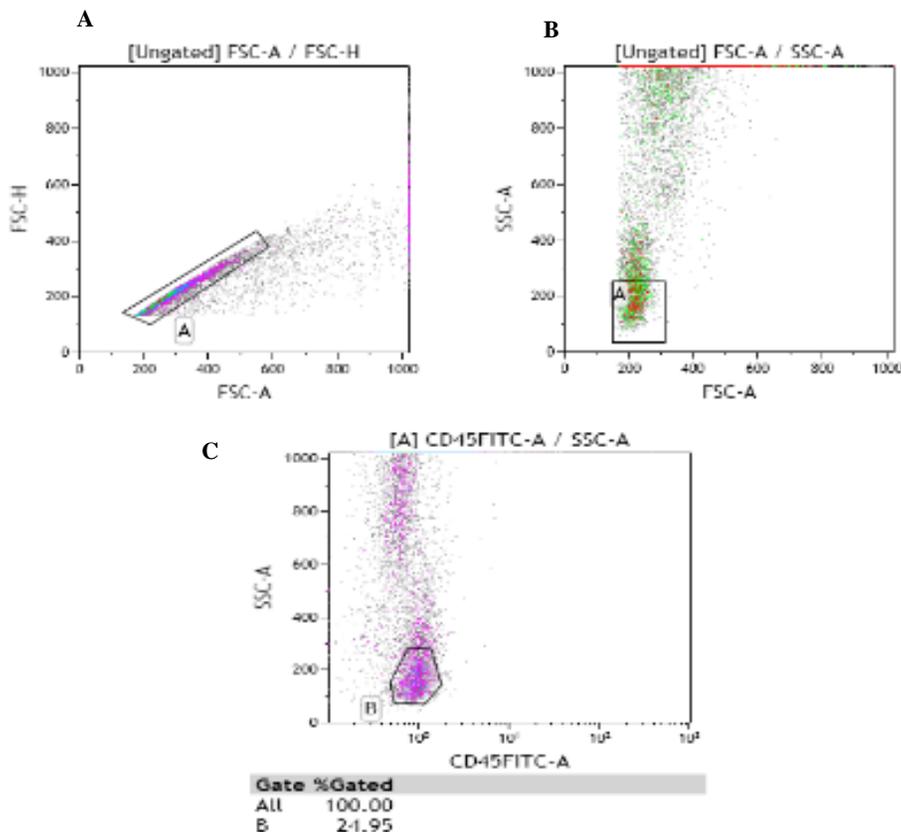
Se utilizaron gráficos de histogramas de fluorescencia para evaluar a través de la intensidad de fluorescencia media (IFM) la expresión de los Ags CD2, CD3, CD5, CD7, CD25, CD30, CD103, además de gráficos de dotplot para evaluar la coexpresión de los antígenos CD3+/CD4+, CD3+/CD8+; CD3+/TCR- $\alpha\beta$ +; CD45RO+/CD27+.

Los datos obtenidos se analizaron con el empleo del programa informático Kaluza. Se consideró positivo, si el porcentaje de expresión del antígeno fue igual o mayor que 20 % en los linfocitos maduros.

## Resultados

La estrategia diagnóstica propuesta por los investigadores para el análisis permitió la identificación y cuantificación de los Ags expresados en la población de linfocitos procedentes de la SP.

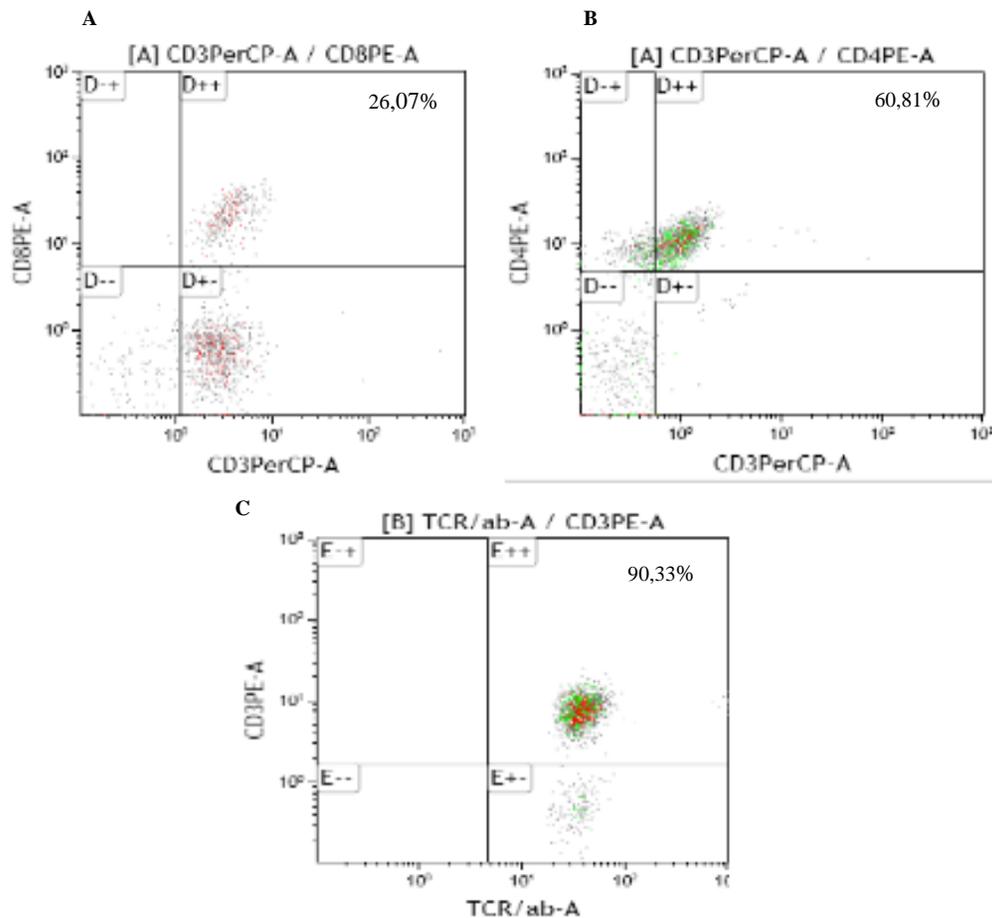
En la fig.1A se obtuvo la distribución de las células del paciente en estudio mediante la separación de los singletes (FSC-H vs. FSC-A). Por su parte, la fig.1B muestra la ventana de selección según el tamaño celular (FSC) y complejidad interna (SSC). La fig.1C evidencia el gráfico SSC/CD45FITC, en el que se discriminó la población de linfocitos maduros, sobre la cual se realizó el análisis.



**Fig. 1** - Distribución total de las células procedentes de la sangre periférica de un paciente con Micosis fungoide. A) Separación de los singletes. B) Separación de las células según su tamaño (FSC) y complejidad interna (SSC). C) Separación de los linfocitos maduros utilizando SSC vs. CD45. All: total de células contadas. B: % de la población de linfocitos maduros en relación con el % total de células contadas.

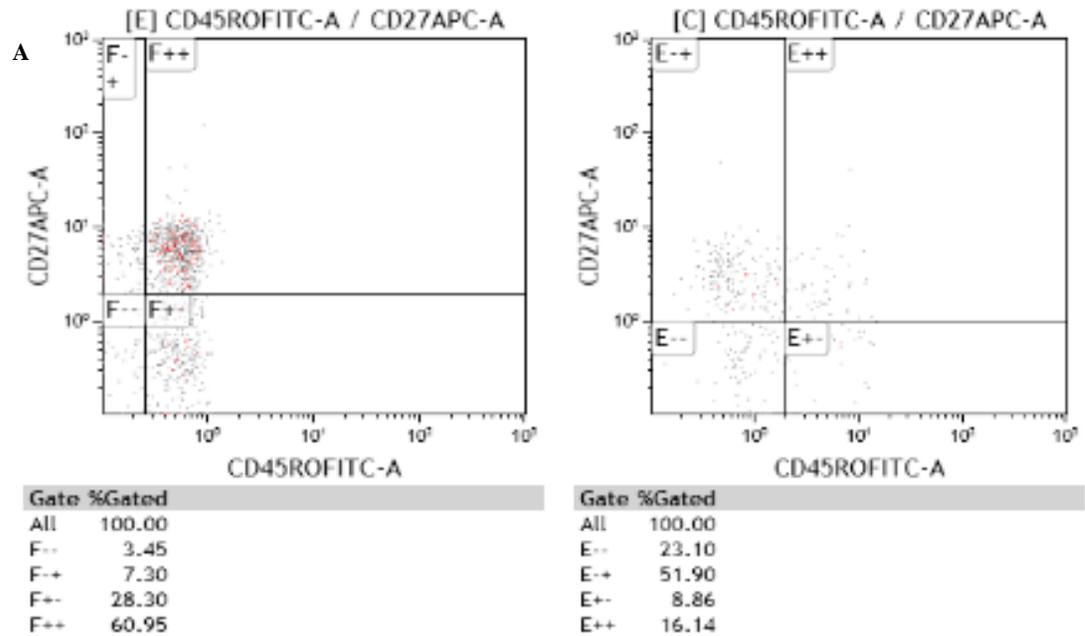
La fig. 2A muestra el gráfico dotplot CD3/CD8, en el cual se obtuvo la expresión del Ag CD8 (26,07%) sobre el total de linfocitos T que expresaron CD3. Luego, sobre esta

población se analizó la coexpresión de los Ags CD3+/CD4+ correspondiente a la población de linfocitos T colaboradores (60,81%) (fig. 2B). La coexpresión del marcador CD3, característico de los linfocitos T, con TCR- $\alpha\beta$  fue de 90,33 % (fig. 2C).



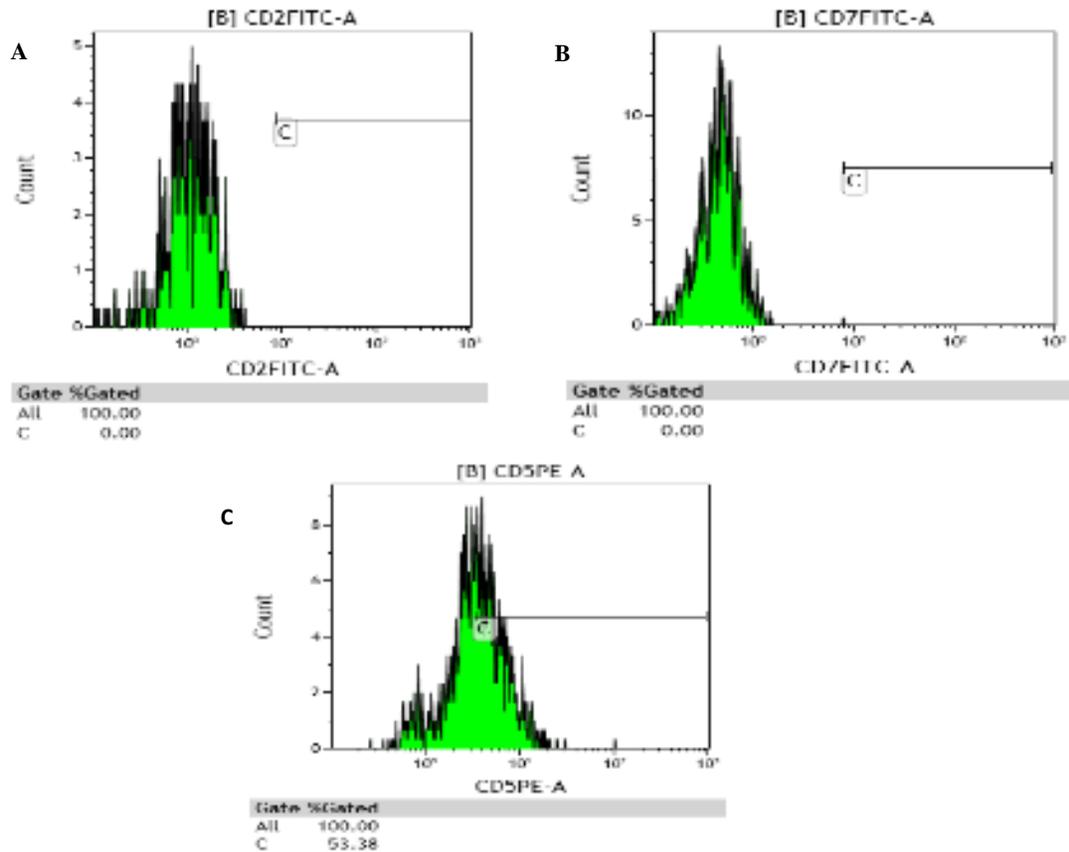
**Fig. 2 -** A y B) Gráfico de dotplot que muestran la población de células T CD3+CD8+ y CD3+CD4+ respectivamente, en relación con el total de células contadas. C) Gráfico de dotplot que muestra la coexpresión de los Ags CD3+/ TCR- $\alpha\beta$  (D++).

Con la estrategia de análisis que se empleó, la coexpresión de los Ags CD45RO+/CD27 sobre la población de linfocitos T CD3+/CD4+ y CD3+/CD8+, fue de 60,95 % y 16,14 %, respectivamente (fig. 3A y 3B).



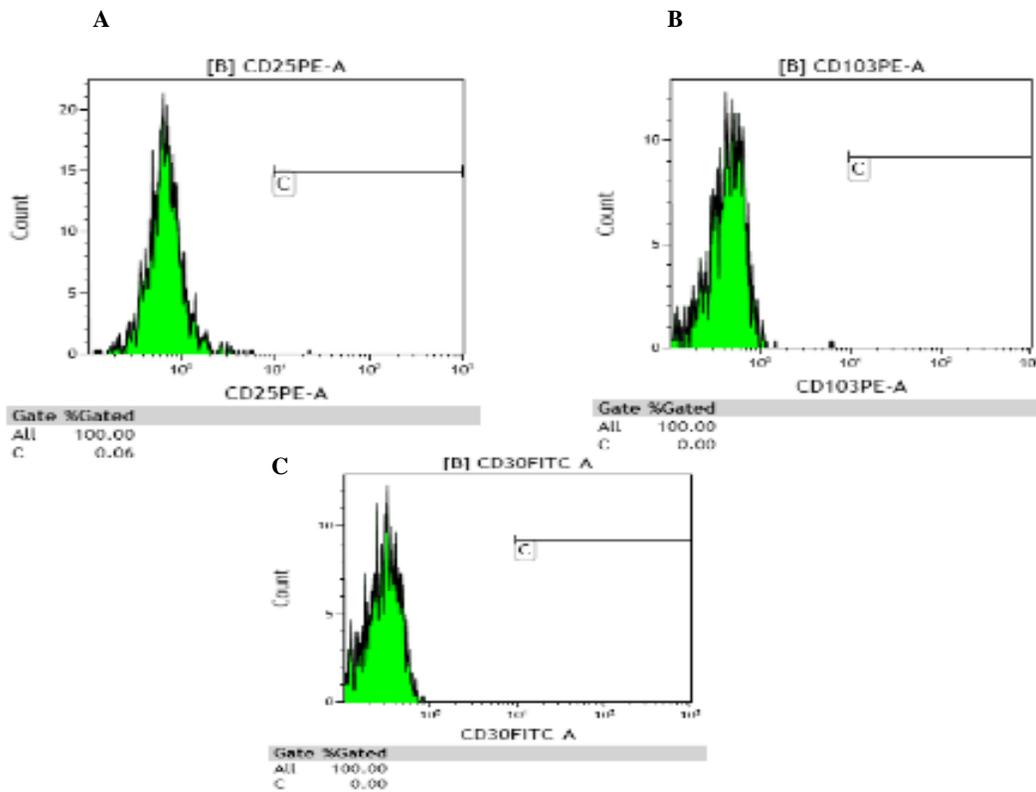
**Fig. 3** - A) Gráficos de dotplot que muestran la población de linfocitos CD45RO<sup>+</sup>/CD27 sobre la población T CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup> (F<sup>++</sup>). B) Gráfico de dotplot que exhibe la coexpresión de los Ags CD45RO/CD27 sobre la población T CD3<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> (E<sup>++</sup>).

Hubo ausencia en la expresión de los Ags CD2 y CD7; mientras que CD5 se expresó en un 53,38 % (fig.4A, B y C).



**Fig. 4** - Histogramas que muestran intensidad de fluorescencia media (IFM) de la expresión positiva de los antígenos CD5 (C) y negativa de CD2 (A) y CD7 (B).

Los marcadores fenotípicos CD25, CD103 y CD30 no se expresaron en el paciente en estudio (fig.5).



**Fig. 5** - Histogramas que muestran la ausencia de expresión de los antígenos A) CD25, B) CD103 y C) CD30.

## Discusión

Los LCCT se consideran una neoplasia linfática crónica de la piel que puede afectar la sangre, los GL y los órganos viscerales. Su diagnóstico preciso es importante porque tiene similitud con otros infiltrados cutáneos linfocitarios y requiere un tratamiento específico para su control prolongado. El linfoma de células T (LCT) más común de la piel es la MF.<sup>(14)</sup>

Como parte del algoritmo diagnóstico de los LCCT, el inmunofenotipo por CMF, constituye una técnica de avanzada para medir la participación de la sangre en todas las etapas de MF y SS.<sup>(15)</sup>

En la mayoría de los pacientes con LCT predomina el patrón general de los linfocitos T con función auxiliadora CD3+CD4+ y solo en la minoría se expresan los marcadores que identifican la función citotóxica reconocida como CD3+CD8+. Se utilizan otros marcadores con fines diagnósticos que identifican poblaciones de células T como son el CD5, CD7 y CD28; otros dirigidos contra las células B (CD19, CD20) y varios que identifican estructuras relacionadas con la progresión de la enfermedad.<sup>(16)</sup> Se caracteriza, además, por la expresión de CD45RO+ y otros marcadores de células T como es CD7 que a medida que avanza la enfermedad pierden su expresión; particularmente la expresión de CD7 se considera un hallazgo sensible y específico de MF.<sup>(17)</sup>

El Ag CD3, junto a los Ags CD2 y CD5, constituyen los Ags pan-T, expresados por prácticamente, la totalidad de los linfocitos T maduros en SP y tejido linfoide.<sup>(17)</sup>

El análisis del receptor de células T (RCT) típicamente revela reordenamientos del gen alfa-beta monoclonal. La ausencia de este reordenamiento permite diferir el diagnóstico definitivo a medida que se desarrolla el cuadro clínico.<sup>(18)</sup> El paciente en estudio coexpresó los antígenos TCR- $\alpha\beta$ + / CD3+ en un 90,33 %, resultado acorde con otros investigadores.<sup>(17)</sup>

En el estudio de *Washington* y otros<sup>(19)</sup> sobre el inmunofenotipo de linfocitos T en SP de pacientes con MF/SS encontraron, mediante CMF, que los niveles (expresión disminuida o negativa) de CD3 (expresión alterada en el 34 % de los casos) se correlacionaron con aquellos de RCT- $\alpha\beta$  (expresión aberrante en el 31 % de los casos). Sin embargo, no se encontró relación con las variaciones que puede presentar la expresión de CD4. Al parecer, estas diferencias en Ags relacionados con el RCT indican que los linfocitos tumorales presentan alguna alteración en la formación/regulación del este. CD3 es una molécula coestimuladora de RCT.

En el LTC se expresan como Ags en la superficie celular las moléculas CD45R, CD4, CD8, la cadena p55 del receptor de IL-2 y el RCT. Este RCT de las células malignas

representa una fuente potencial de antígeno tumoral. En el LTC los heterodímeros proteicos son expresados clonotípicamente en niveles altos en la superficie de la célula tumoral y están abundantemente representados en el retículo endoplasmático.<sup>(20)</sup>

El linfocito atípico en la MF/SS es un linfocito maduro CD4+. Generalmente, la presencia de células CD4+ puede incluso duplicar a las CD8+ en los infiltrados cutáneos de MF.<sup>(21)</sup> La presencia de linfocitos CD8+ en el infiltrado neoplásico se considera un hallazgo de buen pronóstico por su carácter protector, por formar parte de forma crítica en la respuesta inmune antitumoral. De hecho, en la enfermedad MF/SS avanzada se produce una disminución de la presencia de estas células citotóxicas en SP, lo que disminuye la actividad inmunitaria celular antitumoral y antimicrobiana en estos pacientes. *Vermeer* y otros<sup>(22)</sup> también demostraron una mayor presencia de estas células en muestras cutáneas de placas de MF en comparación con lesiones tumorales.

Parcialmente en contra de estas observaciones está el estudio posterior de *Goteri* y otros<sup>(23)</sup> quienes encontraron una menor proporción de células CD8+ (dérmicas) en aquellas biopsias cutáneas de MF en estadios iniciales con un menor infiltrado neoplásico en dermis. Una posible explicación de los autores a este hallazgo fue que en estos estadios incipientes no hubo aún suficiente activación de linfocitos citotóxicos CD8+ por parte de los Ags de las células tumorales de MF, aún escasas. Los mismos autores sí encontraron un porcentaje de células CD8+ no desdeñable en lesiones con gran infiltrado de linfocitos neoplásicos, como imagen de la clara activación de estas células en lesiones de MF avanzada. Un estudio<sup>(24)</sup> indicó que el pronóstico de la MF temprana no está influenciado por el fenotipo, mientras que otros indicaron que los pacientes con MF CD8+ tienen una tasa más baja de progresión de la enfermedad, un curso indolente y un buen pronóstico.<sup>(10)</sup>

Por su parte, CD2 se expresa también en fases iniciales de la diferenciación de los linfocitos T. Se adquiere por parte de los protimocitos en su maduración hacia los timocitos inmaduros, que lo expresan junto con CD5.

En el estudio de *Florell* y otros,<sup>(25)</sup> la delección parcial de CD2 (es decir la negatividad para este antígeno en más de 30 % de los linfocitos) tanto en las células epidérmicas como en el infiltrado dérmico, resultó un hallazgo específico del diagnóstico de MF. En el estudio que se presenta el CD5 se expresó en el 53,38 % y hubo ausencia en la expresión del antígeno CD2, aunque el análisis se hizo en SP.

El CD7 es una glicoproteína de membrana de los linfocitos T, entre otras células (también monocitos y células NK). En el estudio de *Washington* y otros<sup>(19)</sup> se observó que la expresión de CD7 en los linfocitos T tumorales de la SP es la única que sufre variaciones a lo largo de la evolución de la enfermedad; hallaron alteraciones en la expresión de este Ag hasta en el 61% de los casos analizados. Esta variabilidad pudo deberse a que es un Ag muy regulado por el microambiente tumoral o por los tratamientos utilizados. En este estudio la expresión del antígeno CD7 estuvo ausente, lo que se encuentra en consonancia con lo antes expuesto.

El CD25 corresponde a la cadena  $\alpha$  del receptor linfocitario para IL-2; el complejo comprende además la cadena  $\beta$  (CD122) y  $\gamma$  (CD132). *Jones* y otros<sup>(26)</sup> demostraron que la expresión de CD25 es variable en los LCCT: la máxima expresión ocurre en las células tumorales epidérmicas y de SP y es menor en dermis y en los GL. Sin embargo, el estudio de este paciente arrojó la ausencia en la expresión del CD25 que apoya la idea de su variable expresión, en este caso, en la SP.

En líneas generales, los linfocitos malignos en la MF suelen ser CD3+CD4+ y CD8-, pero con frecuencia pierden la expresión de otros Ag celulares pan-T. Por lo tanto, la demostración de una población significativa de células CD4+ que carecen de expresión de CD2, CD5 y/o CD7 es altamente específica (especificidad > 90 %) para la MF en la

mayoría de las series reportadas,<sup>(27)</sup> datos que se corresponden con la expresión antigénica del paciente en estudio.

Como principal aporte científico cabe resaltar el algoritmo de trabajo que se propone para el diagnóstico por citometría de flujo de la MF, que fue elaborado después de realizar una minuciosa revisión de la bibliografía, teniendo en cuenta los reactivos disponibles en el laboratorio. Los resultados de este trabajo demostraron que el flujograma propuesto por los investigadores permitió identificar la expresión de los Ags más frecuentemente expresados en pacientes con MF. Particularmente, en esta enfermedad, el inmunofenotipo no solo impacta en el diagnóstico, sino, además, contribuye a la comprensión de los aspectos clínicos, pronósticos y de progresión de la enfermedad, por lo que es necesario la utilización de un panel combinado de marcadores de células T y B independientemente del estadio de la enfermedad, análisis que tributa al adecuado manejo de estos pacientes.

## Referencias bibliográficas

1. Kaufman AE, Patel K, Goyal K, Leary O, Rubin ON, Pearson De, *et al.* Mycosis fungoides: developments in incidence, treatment and survival. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020;34(10):2288-94. DOI: [10.1111/jdv.16325](https://doi.org/10.1111/jdv.16325)
2. Gülsel BG, Su O, Pelin CF, Emiroğlu N, Bıyık OD, Onsun N. Prognostic factors of patients with mycosis fungoides. *Adv Dermatol Allergol.* 2020;XXXVII(5):796–99. DOI: [10.5114/ada.2020.100491](https://doi.org/10.5114/ada.2020.100491)
3. Herne KI, Talpur R, Breuer-Mc, Champlin R, Duvic M. Cytomegalovirus seropositivity is significantly associated with mycosis fungoides and Sézary syndrome. *Blood.* 2003;101:2132-6. DOI: [10.112/BLOOD-2002-2247](https://doi.org/10.112/BLOOD-2002-2247)

4. Hodak E, Kleiin T, Gabay B, Ben-Amitai D, Bergman R, Gdalevich M, *et al.* Familial mycosis fungoides: report of 6 kindred and a study of the HLA system. *J Am Acad Dermatol.* 2005;52:393-402. DOI: [10.1016/j.jaad.2003.12.052](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2003.12.052)
5. Rude P, Ole J, Ulrike W, Lindahl LM, Gniadecki R, Fogh H. Clinical and Histological Characteristics of Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome: A Retrospective, Single-centre Study of 43 Patients from Eastern Denmark. *Acta Derm Venereol.* 2019;99:1231-6. DOI: [10.2340/00015555-3351](https://doi.org/10.2340/00015555-3351)
6. Nielsen PR, Eriksen JO, Sørensen D, Wehkamp U, Lindahl LM, Bzorek M. Role of B-cells in Mycosis Fungoides. *Acta Derm Venereol.* 2021;101:adv00413. DOI: [10.2340/00015555-3775](https://doi.org/10.2340/00015555-3775)
7. Weiner DM, Durgin JS, Wysocka M, Rook HA. The Immunopathogenesis and Immunotherapy of Cutaneous T Cell Lymphoma: Part II, Current and Future Approaches. *J Am Acad Dermatol.* 2021;84(3):597-604. DOI: [10.1016/j.jaad.2020.12.026](https://doi.org/10.1016/j.jaad.2020.12.026)
8. Nikolaou VA, Papadavid E, Katsambas A. Clinical characteristics and course of CD8+ cytotoxic variant of mycosis fungoides: a case series of seven patients. *Br J Dermatol.* 2009;161:826-30. DOI: [10.1111/j.1365-2133.2009.09301.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2009.09301.x)
9. Amorim GM, Corbellini NJP, Quintella DC, Cuzzi T, Ramos-e-Silva M. Clinical and epidemiological profile of patients with early stage mycosis fungoides. *An Bras Dermatol.* 2018;93(4):546-52. DOI: [10.1590/abd1806-4841.20187106](https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20187106)
10. Ding X, Chen J, Kuai L, Xing M, Ru Y, Luo Y, *et al.* CD4/CD8 dual-positive mycosis fungoides: a case report and literature review. *Medicine.* 2020;99(42):e22786. DOI: [10.1097/MD.00000000000022786](https://doi.org/10.1097/MD.00000000000022786)
11. Nielsen RP, Eriksen JO, Lindahl LM, Wehkamp U, Bzorek M, Andersen G. Diagnostic Two-Gene Classifier in Early-Stage Mycosis Fungoides: A Retrospective Multicenter Study. *J Invest Dermatol.* 2021;141(1):213.17.e5. DOI: [10.1016/j.jid.2020.04.026](https://doi.org/10.1016/j.jid.2020.04.026)

12. Pruksaeakanan C, Teyateeti P, Patthamalai P, Thumrongtharadol J, Chairatchaneeboon M. Primary Cutaneous Lymphomas in Thailand: A 10-Year Retrospective Study. *Biomed Res Int.* 2021;2021:4057661. DOI: [10.1155/2021/4057661](https://doi.org/10.1155/2021/4057661)
13. Craig EF. It is time to adopt a multicolor immunophenotyping approach to evaluate blood for Sézary syndrome and mycosis fungoides. *Cytometry.* 2021;100:125-8. DOI: [10.1002/cyto.b.21872](https://doi.org/10.1002/cyto.b.21872)
14. Fuentes GL, Rodríguez RZ, Rodríguez PA. Eritrodermia y Linfomas Cutáneos de Células T. *Multimed.* 2020 [acceso 06/02/2023];24(5):1197-1209. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-48182020000501197&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-48182020000501197&script=sci_arttext)
15. Scarisbrick JJ, Hodak E, Bagot M, Stranzenbach R, Stadler R, Ortiz Romero PL; *et al.* Blood classification and blood response criteria in mycosis fungoides and Sézary syndrome using flow cytometry: Recommendations from the EORTC cutaneous lymphoma taskforce. *Eur J Cancer.* 2018;93:47-56. DOI: [10.1016/j.ejca.2018.01.076](https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.01.076)
16. Pulitzer PM, Horna P, Almeida J. Sézary syndrome and mycosis fungoides: an overview, including the role of immunophenotyping. *Cytometry B Clin Cytom.* 2021;100(2):132-8. DOI: [10.1002/cyto.b.21888](https://doi.org/10.1002/cyto.b.21888)
17. Horna P, Wang SA, Wolniak KL, Psarra K, Almeida J, Illingworth JA, *et al.* Flow cytometric evaluation of peripheral blood for suspected Sézary syndrome or mycosis fungoides: International guidelines for assay characteristics. *Cytometry.* 2021;100:142-55. DOI: [10.1002/cyto.b.21878](https://doi.org/10.1002/cyto.b.21878)
18. Virmani P, Myskowski LP, Pulitzer M. Unusual variants of mycosis fungoides. *Diagn Histopathol.* 2016;22(4):142-51. DOI: [10.1016/j.mpdhp.2016.04.004](https://doi.org/10.1016/j.mpdhp.2016.04.004)
19. Washington LT, Huh YO, Powers LC, Duvic M, Jones DA. Stable aberrant immunophenotype characterizes nearly all cases of cutaneous T-cell lymphoma in blood and can be used to monitor response to therapy. *BMC Clin Pathol.* 2002;10;2(1):5. DOI: [10.1186/1472-6890-2-5](https://doi.org/10.1186/1472-6890-2-5) .

20. Faxas GME. Actualidad clínica-biológica de los linfomas T cutáneos. Rev Cubana Med. 2003 [acceso 14/02/2023];42(1):72-81. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75232003000100010&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75232003000100010&script=sci_arttext)
21. Luo Y, Liu Z, Liu J, Liu Y, Zhang W, Zhang Y. Mycosis Fungoides and Variants of Mycosis Fungoides: A Retrospective Study of 93 Patients in a Chinese Population at a Single Center. Ann Dermatol. 2020;1(32):14-20. DOI: [10.5021/ad.2020.32.1.1](https://doi.org/10.5021/ad.2020.32.1.1)
22. Vermeer MH, van Doorn R, Dukers D, Bekkenk MW, Meijer CJ, Willemze R. CD8+ T cells in cutaneous T-cell lymphoma: expression of cytotoxic proteins, Fas Ligand, and killing inhibitory receptors and their relationship with clinical behavior. J Clin Oncol. 2001;19(23):4322-9. DOI: [10.1200/JCO.2001.19.23.4322](https://doi.org/10.1200/JCO.2001.19.23.4322)
23. Goteri G, Filosa A, Mannello B. Density of neoplastic lymphoid infiltrate, CD8+ T cells, and CD1a+ dendritic cells in mycosis fungoides. J Clin Pathol. 2003;56(6):453-8. DOI: [10.1136/jcp.56.6.453](https://doi.org/10.1136/jcp.56.6.453) .
24. Kelemen K, Guitart J, Kuzel TM, Goolsby CL, Peterson LC. The usefulness of CD26 in flow cytometric analysis of peripheral blood in Sézary syndrome. Am J Clin Pathol. 2008;129(1):146-56. DOI: [10.1309/05GFG3LY3VYCDMEY](https://doi.org/10.1309/05GFG3LY3VYCDMEY)
25. Florell SR, Cessna M, Lundell RB, Boucher KM, Bowen GM, Harris RM, *et al*. Usefulness of immunophenotyping in atypical cutaneous T-cell infiltrates. Am J Clin Pathol. 2006;125(5):727-36. DOI: [10.1309/3JK2-H6Y9-8NU-AY37](https://doi.org/10.1309/3JK2-H6Y9-8NU-AY37) .
26. Jones D, Ibrahim S, Patel K, Luthra R, Duvic M, Medeiros LJ. Degree of CD25 expression in T-cell lymphoma is dependent on tissue site: implications for targeted therapy. Clin Cancer Res. 2004;10:5587-94. DOI: [10.1158/1078-0432.CCR-0721-03](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-0721-03).
27. Lebas E, Collins P, Somja J, Arjen F, Nikkels A. Comprehensive Update of the Atypical, Rare and Mimicking Presentations of Mycosis Fungoides. Dermatol Ther. 2021;11:1931–51 DOI: [10.1007/s13555-021-00625-6](https://doi.org/10.1007/s13555-021-00625-6)

### **Conflicto de intereses**

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

### **Contribuciones de los autores**

*Conceptualización:* Yenisey Triana Marrero, Imilla Casado Hernández, Vianed Marsán Suárez.

*Curación de datos:* Yenisey Triana Marrero, Imilla Casado Hernández, Yaneisy Duarte Pérez, Elizabeth Hernández Ramos.

*Análisis formal:* Yenisey Triana Marrero, Imilla Casado Hernández.

*Investigación:* Yenisey Triana Marrero, Imilla Casado Hernández, Yaneisy Duarte Pérez, Elizabeth Hernández Ramos, Orlando Olivera Morán, Daniel Ramos Díaz, Linnnet Elena González Fornaris.

*Metodología:* Yenisey Triana Marrero, Imilla Casado Hernández, Vianed Marsán Suárez,

*Redacción borrador- original:* Yenisey Triana Marrero, Orlando Olivera Morán, Daniel Ramos Díaz, Linnnet Elena González Fornaris.

*Redacción revisión-edición:* Yenisey Triana Marrero, Imilla Casado Hernández, Vianed Marsán Suárez, Yaneisy Duarte Pérez, Elizabeth Hernández Ramos.