



## ARTIGO ORIGINAL

# Diminuição de 5-hidroximetilcitosina na doença linfoproliferativa cutânea primária de células T CD4<sup>+</sup> pleomórficas pequenas/médias<sup>☆,☆☆</sup>



Jiahui Hu , Xinyue Zhang , Lihong Zhao , Qiang Zhao e Songmei Geng \*

Departamento de Dermatologia, The Second Affiliated Hospital, Escola de Medicina, Xian Jiaotong University, Xian, China

Recebido em 20 de novembro de 2022; aceito em 7 de janeiro de 2023

## PALAVRAS-CHAVE

Epigenômica;  
Linfoma cutâneo de células-T;  
Metilação de DNA

## Resumo

**Fundamentos:** Doença linfoproliferativa cutânea primária de células T CD4<sup>+</sup> pleomórficas pequenas/médias (PCSM-TCLPD, do inglês *primary cutaneous CD4<sup>+</sup> small/medium sized pleomorphic T-cell lymphoproliferative disorder*) tem sido considerada doença cutânea controversa que tem sido incluída entre os linfomas cutâneos de células T, apresentando-se mais comumente como nódulo solitário e/ou placa com predileção específica e característica para cabeça e pescoço. Em virtude da considerável sobreposição entre PCSM-TCLPD e pseudolinfoma (PL), o diagnóstico e a diferenciação são frequentemente desafiadores. A metilação do DNA na posição 5 da citosina e a subsequente redução nos níveis intracelulares de 5-hidroximetilcitosina (5-hmC) são eventos epigenéticos chave em vários tipos de câncer, incluindo linfomas sistêmicos. No entanto, isso foi raramente estudado em linfomas cutâneos.

**Objetivos:** O objetivo foi explorar a utilidade da imunomarcagem de 5-hmC para diferenciar PCSM-TCLPD de PL.

**Métodos:** Estudo retrospectivo de uma série de casos com análise imuno-histoquímica e análise por imunofluorescência de 5-hmC foram realizados em PL e PCSM-TCLPD.

**Resultados:** Foi observada diminuição significativa da imunorreatividade nuclear de 5-hmC em PCSM-TCLPD em comparação com PL ( $p < 0,0001$ ). Utilizando o método integral semiquantitativo de pontuação, houve diferenças estatísticas nos escores finais de 5-hmC entre os dois grupos de estudo. A imunomarcagem dupla de 5-hmC CD4 revelou diminuição de 5-hmC em linfócitos CD4<sup>+</sup> de PCSM-TCLPD.

**Limitações do estudo:** O pequeno tamanho da amostra clínica no estudo.

**Conclusões:** A presença de 5-hmC em linfócitos CD4<sup>+</sup> sugere fortemente processo benigno do tipo PL. Além disso, a diminuição da imunomarcagem nuclear de 5-hmC em PCSM-TCLPD indica seu *status* linfoproliferativo, o que auxilia na diferenciação diagnóstica com PL.

© 2023 Sociedade Brasileira de Dermatologia. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

DOI referente ao artigo:

<https://doi.org/10.1016/j.abd.2023.01.003>

<sup>☆</sup> Como citar este artigo: Hu J, Zhang X, Zhao L, Zhao Q, Geng S. Decrease of 5-hydroxymethylcytosine in primary cutaneous CD4<sup>+</sup> small/medium sized pleomorphic T-cell lymphoproliferative disorder. An Bras Dermatol. 2024;99:27-33.

<sup>☆☆</sup> Trabalho realizado no Second Affiliated Hospital, Escola de Medicina, Xian Jiaotong University, Xian, China.

\* Autor para correspondência.

E-mail: [gsm312@yahoo.com](mailto:gsm312@yahoo.com) (S. Geng).

## Introdução

A doença linfoproliferativa cutânea primária de células T CD4<sup>+</sup> pleomórficas pequenas/médias (PCSM-TCLPD, do inglês *primary cutaneous CD4<sup>+</sup> small/medium sized pleomorphic T-cell lymphoproliferative disorder*) foi descrita como doença clínicopatológica distinta, apresentando-se mais comumente como nódulo solitário e/ou placa com predileção característica por cabeça e pescoço.<sup>1</sup> Na histopatologia, a PCSM-TCLPD é caracterizada por infiltração nodular a difusa de células T pleomórficas de tamanho pequeno a médio (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>-</sup> e CD30<sup>-</sup>) em toda a derme, com pequeno número (< 30%) de grandes células T pleomórficas CD4<sup>+</sup>, sem envolvimento da epiderme. Na maioria dos casos descritos, havia mistura razoavelmente grande com pequenas células T CD8<sup>+</sup> reativas e células B CD20<sup>+</sup>, incluindo alguns histiócitos, neutrófilos, plasmócitos e eosinófilos.<sup>2</sup> A PCSM-TCLPD costumava ser chamada de linfoma cutâneo primário de células T CD4<sup>+</sup> pela Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento do Câncer da Organização Mundial da Saúde - OMS (2008). Entretanto, em virtude de seu comportamento biológico indolente e potencial maligno incerto, a doença foi redesignada como “doença linfoproliferativa cutânea primária de células T CD4<sup>+</sup> pleomórficas pequenas/médias” no esquema de classificação da OMS de 2016.<sup>3</sup>

De longe, a consideração diagnóstica diferencial mais importante e difícil envolve a hiperplasia linfoide benigna.<sup>4</sup> Uma importante entidade no âmbito da hiperplasia linfoide cutânea é o pseudolinfoma (PL). O PL é caracterizado por pápulas, placas ou nódulos subcutâneos vermelhos ou marrons na cabeça, pescoço e membros superiores. As características histopatológicas são infiltração nodular ou infiltração difusa de linfócitos na derme média e inferior, principalmente pequenos linfócitos, acompanhados de histiócitos, eosinófilos e plasmócitos. Pode haver foliculos linfoides e centros germinativos. Em última análise, os PLs se comportam de maneira clinicamente benigna e as lesões eventualmente se resolvem espontaneamente após a identificação e eliminação do agente iniciador ou com terapia não agressiva (como uso tópico ou injeção intradérmica de esteroides).<sup>5</sup>

Em muitos casos, pode ser impossível diferenciá-los.<sup>6,7</sup> A PCSM-TCLPD geralmente tem prognóstico favorável e comportamento indolente, especialmente com lesão solitária, e a taxa de sobrevida em cinco anos é de 98,4% nos casos relatados, embora poucos pacientes com desfechos provavelmente desfavoráveis possam apresentar curso agressivo, lesões múltiplas, grandes e de crescimento rápido, recorrentes, resistentes ao tratamento e fatais.<sup>8</sup> Nesse caso, pode ser importante diferenciar a PCSM-TCLPD do PL para continuar o monitoramento clínico vigilante ou optar por tratamentos diferentes.

A 5-hidroximetilcitosina (5-hmC) é o produto da oxidação da 5-citosina (5-mc), que também é importante marcador epigenético envolvido em vários processos fisiológicos e patológicos. A 5-hmC é catalisada pelas hidroxilases 5-mC: a família de enzimas *ten-eleven translocation* (TET), incluindo TET1, 2 e 3. A enzima TET2 tem sido extensivamente estudada nos eventos epigenéticos. O banco de dados Gene Ontology mostrou que a maioria dos genes alterados por metilação anormal estava relacionada à regulação da transcrição gênica e ao metabolismo celular. Como importante produto intermediário da desmetilação do DNA, a 5-hmC foi recentemente encontrada apenas em mamíferos, com sua expressão deletada em vários tipos de câncer, sugerindo que a diminuição de 5-hmC é um dos eventos epigenéticos importantes que ocorrem durante a diferenciação celular e o desenvolvimento do tumor.<sup>9-11</sup> Foi

demonstrado que a expressão de 5-hmC é um marcador potencial para diferenciar entre melanomas e nevos melanocíticos.<sup>12</sup>

A hipótese dos autores é que a 5-hmC poderia ser um potencial biomarcador útil para diferenciar PCSM-TCLPD de hiperplasia linfoide cutânea benigna (PL) CD4<sup>+</sup>. Além disso, os autores pretendem descrever o perfil da 5-hmC em doenças linfoproliferativas cutâneas de células T.

## Materiais e métodos

### Coortes de pacientes e amostras de tecido

Um total de seis casos de PCSM-TCLPD e 20 casos de PL diagnosticados no departamento de dermatologia de janeiro de 2012 a junho de 2022 foram incluídos para serem submetidos à análise imuno-histoquímica (IHQ), e todos os dados dos pacientes foram anonimizados. O consentimento informado foi obtido de todos os pacientes antes da cirurgia, e todas as amostras foram claramente diagnosticadas por pelo menos dois dermatologistas experientes. Os critérios de inclusão para os grupos PCSM-TCLPD e PL foram clínica e histopatologicamente baseados nos critérios definidos pela classificação da Organização Mundial da Saúde - Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento do Câncer (OMS-EORTC).<sup>13-15</sup>

### Avaliação por imuno-histoquímica

Os estudos imuno-histoquímicos foram realizados de acordo com o procedimento regular (anticorpo para 5-hmC, diluído em 1:5000, Active Motif; anticorpos para TET2, diluídos em 1:500, Abcam). Além disso, controles positivos apropriados foram incluídos. Tecido tonsilar normal, proveniente da otorrinolaringologia, foi selecionado como controle positivo externo. A expressão de 5-hmC e TET2 em macrófagos e células dendríticas em tonsilas foi utilizada como controle positivo. Os controles negativos foram obtidos omitindo-se o anticorpo primário.

### Avaliação por imunofluorescência

As análises de imunofluorescência foram realizadas de acordo com o procedimento regular (anticorpos para 5-hmC, diluídos a 1:500, Active Motif; anticorpos para CD4, diluídos a 1:200, Santa Cruz). O anticorpo correspondente ao isotipo apropriado foi utilizado em todos os experimentos. A análise das imagens foi realizada utilizando-se um microscópio confocal C2 conectado a uma câmera digital (Nikon, Japão).

### Sistema de pontuação

Dois patologistas revisaram todos os cortes de tecido e confirmaram os resultados da IHQ. Os patologistas estavam “cegos” ao avaliar a imunomarcagem com 5-hmC. A reação positiva para 5-hmC mostrou grânulos amarelo-acastanhados, localizados principalmente no núcleo. A taxa de células positivas para 5-hmC e a intensidade da cor de cada corte foram classificadas pelo método integral semiquantitativo.<sup>16</sup> A intensidade da imunomarcagem foi dividida em quatro graus: 0 para ausência de imunomarcagem, 1 para imunomarcagem amarelo-claro, 2 para amarelo médio e 3 para marrom. Além disso, a porcentagem de células positivas para 5-hmC foi avaliada utilizando campos de grande aumento representativos (HPF, do inglês *high-Power fields*; / $\mu\text{m}^2$ ). Um total de 5 HPF não sobrepostos foi seleci-

onado aleatoriamente para contar a porcentagem de células positivas para 5-hmC em cada corte histológico. A pontuação final de 5-hmC de cada corte histológico foi o produto do escore de intensidade de imunomarcção pela porcentagem de células positivas para 5-hmC:  $\geq 4$  pontos constitui alta expressão,  $< 4$  pontos, baixa expressão.

### Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* GraphPad Prism 9.0. As imagens foram processadas pelo programa Image J (NIH, EUA). A menos que especificamente mencionado, o teste *t* de Student bicaudal foi utilizado para comparar diferenças entre os dois grupos; valor de  $p < 0,05$  foi considerado limite para diferenças significantes. Todos os dados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (DP).

## Resultados

### Características clínicas de PCSM-TCLPD e PL

Os grupos de estudo foram compostos por 14 pacientes do sexo masculino e 12 do sexo feminino, com média de idade de 48,5 anos na apresentação (variação de 17 a 83 anos). Nenhum paciente havia falecido no momento da coleta de dados. Doenças extracutâneas foram excluídas pelo estadiamento de acordo com as diretrizes internacionais.<sup>15</sup> O diagnóstico de PCSM-TCLPD e PL foi estabelecido com base na correlação clinicopatológica. Todos os casos apresentaram os aspectos histopatológicos característicos, como descrito anteriormente. Exames laboratoriais e de imagem de rotina (linfonodos superficiais e radiografia de tórax) foram avaliados em todos os casos; todas as investigações foram negativas, e nenhum paciente apresentava história de lesões clínicas sugestivas de micose fungoide. Além disso, nenhuma comorbidade relevante surgiu durante o período de seguimento (tabela S1, tabela S2).

### Achados histopatológicos e imuno-histoquímicos de PCSM-TCLPD e PL

Todos os casos de PCSM-TCLPD mostraram infiltrado nodular a difuso por toda a derme, estendendo-se até o tecido adiposo subcutâneo, sem envolvimento da epiderme (fig. 1). Os infiltrados eram predominantemente compostos por linfócitos de tamanho pequeno/médio, com número variável (5% a 20%) de células linfoides de tamanho médio a grande, com núcleos hiper cromáticos. Em todos os casos havia considerável mistura com histiócitos, que em alguns casos eram acompanhados por células gigantes multinucleadas. Plasmócitos geralmente estavam presentes, mas havia poucos eosinófilos.

Nos casos de PL, a maioria apresentava infiltrados predominantemente intradérmicos, densos, linfocíticos (nodulares ou difusos). Em alguns casos, estendiam-se ao tecido subcutâneo. Em geral, o infiltrado consistia em linfócitos B de tamanho pequeno a médio, sem atipias nucleares significantes. Centros germinativos reativos ou folículos linfoides (fig. S1) foram comumente encontrados.

A IHQ mostrou positividade para CD3 e CD4 em todos os casos de PCSM-TCLPD, e CD7 foi positivo em todos os casos testados. Os linfócitos CD8<sup>+</sup> eram poucos ou ausentes. CD30 foi negativo em todos os seis casos e nenhum caso foi CD56<sup>+</sup>. Havia poucos

casos TIA-1 positivos, e apenas um caso apresentou expressão N/D (não disponível) de TIA-1 (fig. 2, tabela S3).

### Análise imuno-histoquímica

Todos os 26 casos demonstraram forte imunorreatividade nuclear distinta para 5-hmC na epiderme (fig. 3A), enquanto a imunomarcção em linfócitos infiltrados foi diversificada. A taxa média de expressão positiva de 5-hmC foi de 22,14% (IC95%: 22,14  $\pm$  4,99) em seis casos de PCSM-TCLPD e 51,43% (IC95%: 51,88  $\pm$  4,10) em 15 casos de PL. Diminuição significativa da expressão de 5-hmC foi observada em casos de PCSM-TCLPD quando comparados com PL ( $p < 0,0001$ ; fig. 3B).

A pontuação de imunomarcção nuclear de 5-hmC pode ser obtida de acordo com os padrões de pontuação de intensidade de imunomarcção e o método integral semiquantitativo mencionados anteriormente. A diferença na pontuação de imunomarcção nuclear para 5-hmC foi estatisticamente significativa, com pontuações mais altas no grupo PL (média = 2,35, DP = 0,50) em comparação com PCSM-TCLPD (média = 1,33, DP = 0,47,  $p = 0,0014$ ; fig. 3C). A maioria dos casos de PL (95%; 19/20) foi classificada como de alta expressão (fig. 3D). Nenhuma diferença significativa na expressão de TET2 foi observada nos dois grupos (fig. 4).

### Análise de imunofluorescência

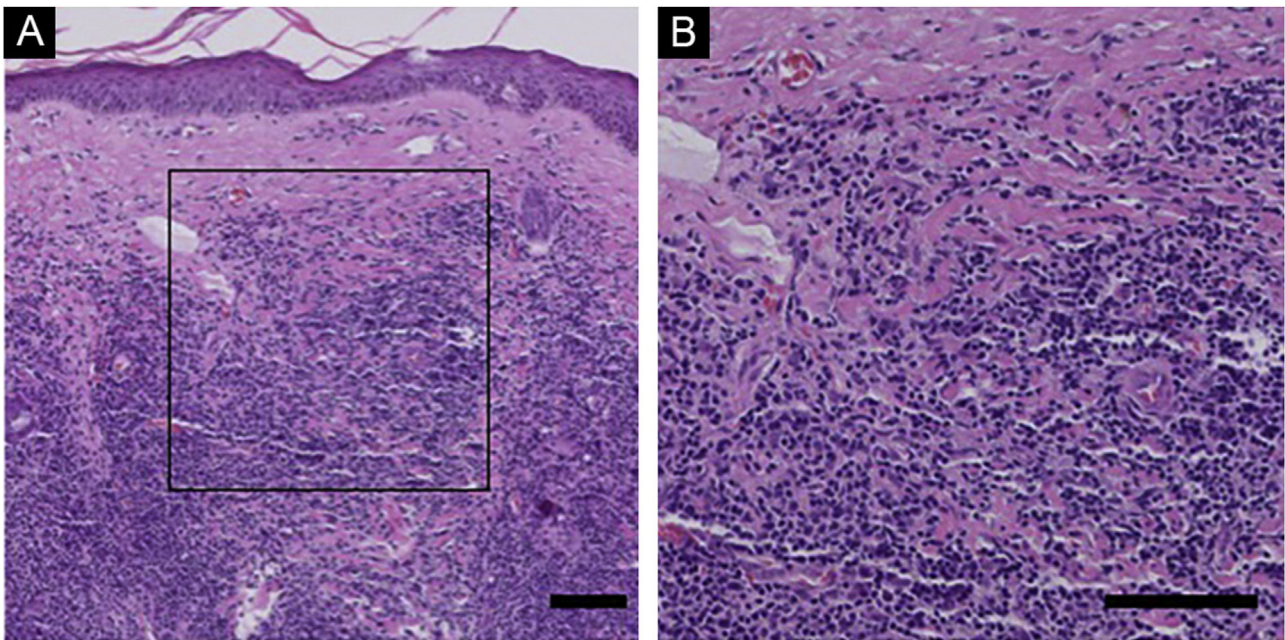
Considerando que os linfócitos infiltrados nas lesões consistem em células T neoplásicas e linfócitos reativos, foi realizada a imunofluorescência (IF) com dupla marcação de 5-hmC e CD4 para avaliar a fonte celular de redução de 5-hmC. Como esperado, a redução de 5-hmC ocorreu nas células T CD4<sup>+</sup> (fig. 5).

## Discussão

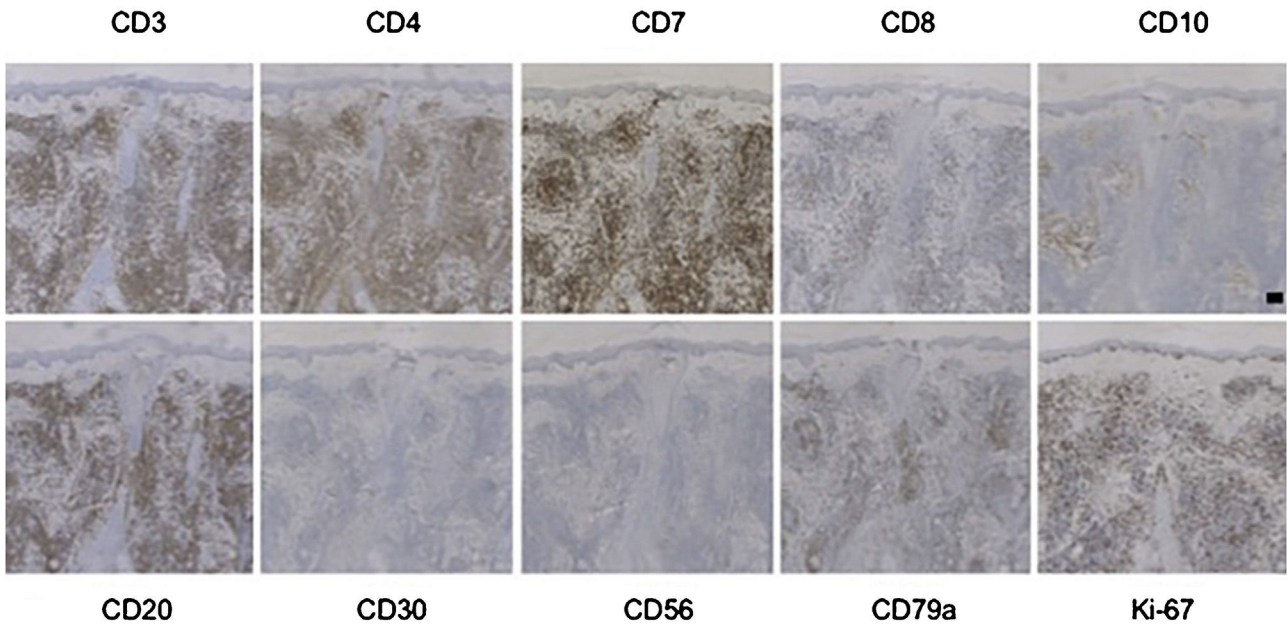
Foram identificadas alterações no padrão epigenético relacionado à metilação do DNA nos casos de PCSM-TCLPD. Especificamente, observou-se que a expressão de 5-hmC era altamente preservada em PL, enquanto houve diminuição significativa da expressão de 5-hmC em PCSM-TCLPD. Em linfomas sistêmicos, a regulação negativa da expressão de 5-hmC parece ser um evento chave para a tumorigênese.<sup>9,17</sup> Especula-se que esse também possa ser o caso em PCSM-TCLPD. Alternativamente, a expressão diminuída de 5-hmC pode representar um epifenômeno secundário a uma via distinta que leva à carcinogênese.<sup>18,19</sup> Portanto, mais estudos serão fundamentais para esclarecer qual papel, se houver, a regulação negativa de 5-hmC desempenha em doenças linfoproliferativas.

Do ponto de vista diagnóstico, tanto a reatividade quanto a apresentação atípica de linfócitos CD4<sup>+</sup> durante o processo inflamatório podem ser diagnosticados erroneamente como pseudolinfoma. Os presentes dados mostraram que a ausência de coloração de 5-hmC foi altamente sugestiva de PCSM-TCLPD. Nesse caso, o uso da coloração de 5-hmC pode ser um complemento útil para diferenciar PCSM-TCLPD de PL. Isso é semelhante à melanocitopatía, na qual a expressão de 5-hmC demonstrou ser um marcador potencial para diferenciar melanoma maligno de nevos benignos.<sup>12</sup> Entretanto, com o aumento do tamanho da amostra, localização em todo o genoma e a aplicação de métodos de detecção de tecido com 5-hmC, mais estudos do genoma, como sequenciamento de células únicas e sequenciamento de transcriptoma espacial, são necessários





**Figura 1** A - Histopatologia da PCSM-TCLPD. Nenhuma anormalidade óbvia foi observada na epiderme e infiltração difusa de células linfoides foi observada em toda a derme. B - Em maior aumento, um grande número de linfócitos de tamanho pequeno a médio foi visto na derme, com mastócitos, plasmócitos e eosinófilos entre os linfócitos. (Hematoxilina & eosina, barra de escala = 100  $\mu$ m).

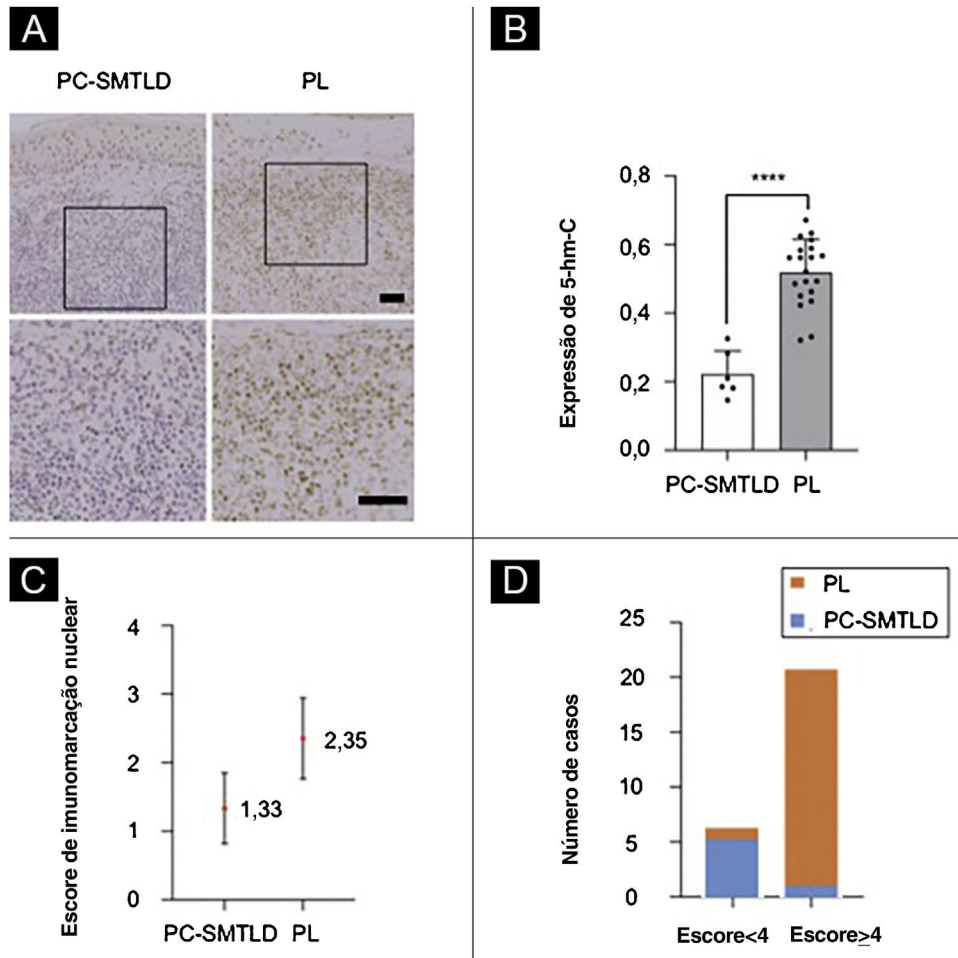


**Figura 2** Imuno-histoquímica dos casos de PCSM-TCLPD. Caso 2. As células neoplásicas expressam fortemente CD3, CD4 e CD7; raramente expressam CD8, CD10 ou CD30, não expressam CD56. (Imuno-histoquímica, barra de escala = 100  $\mu$ m).

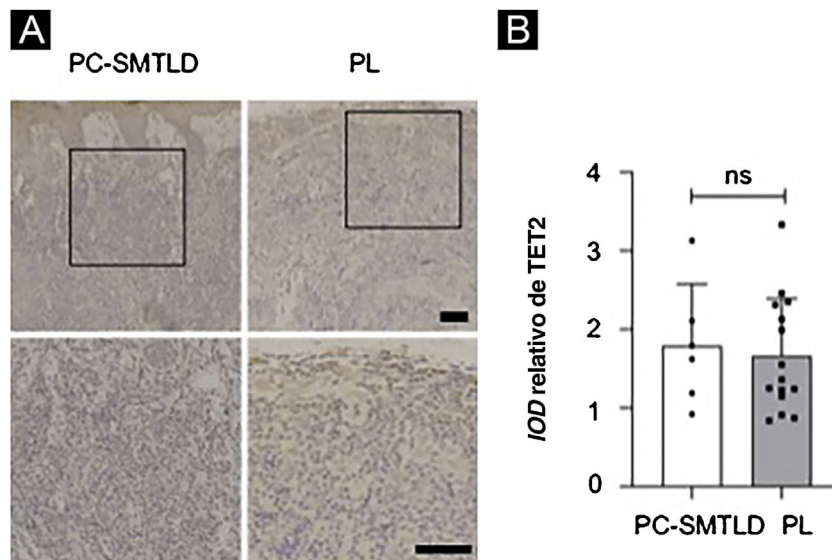
para esclarecer ainda mais o papel da 5-hmC em doenças raras como distúrbios proliferativos linfoides.

Diversos estudos mostraram que a metilação do DNA está intimamente relacionada com a ocorrência de tumores diversos. A enzima TET e 5-hmC desempenham papéis importantes na desmetilação da citosina do DNA. Estudos<sup>20</sup> demonstraram que a metilação do DNA de genes supressores de tumor foi encontrada em vários tumores, como leucemia, câncer de cólon,

câncer de pulmão, câncer de mama, câncer de vesícula biliar e câncer de próstata. Os níveis de proteína TET e 5-hmC estavam significativamente reduzidos em tumores malignos, o que sugere que a 5-hmC pode ser um marcador biológico do tumor. O nível de 5-hmC está relacionado ao grau de diferenciação de alguns tumores e intimamente relacionado ao prognóstico dos mesmos.<sup>21</sup> Embora diferentes mecanismos possam afetar a redução de 5-hmC no câncer, a mutação da enzima TET2 é res-

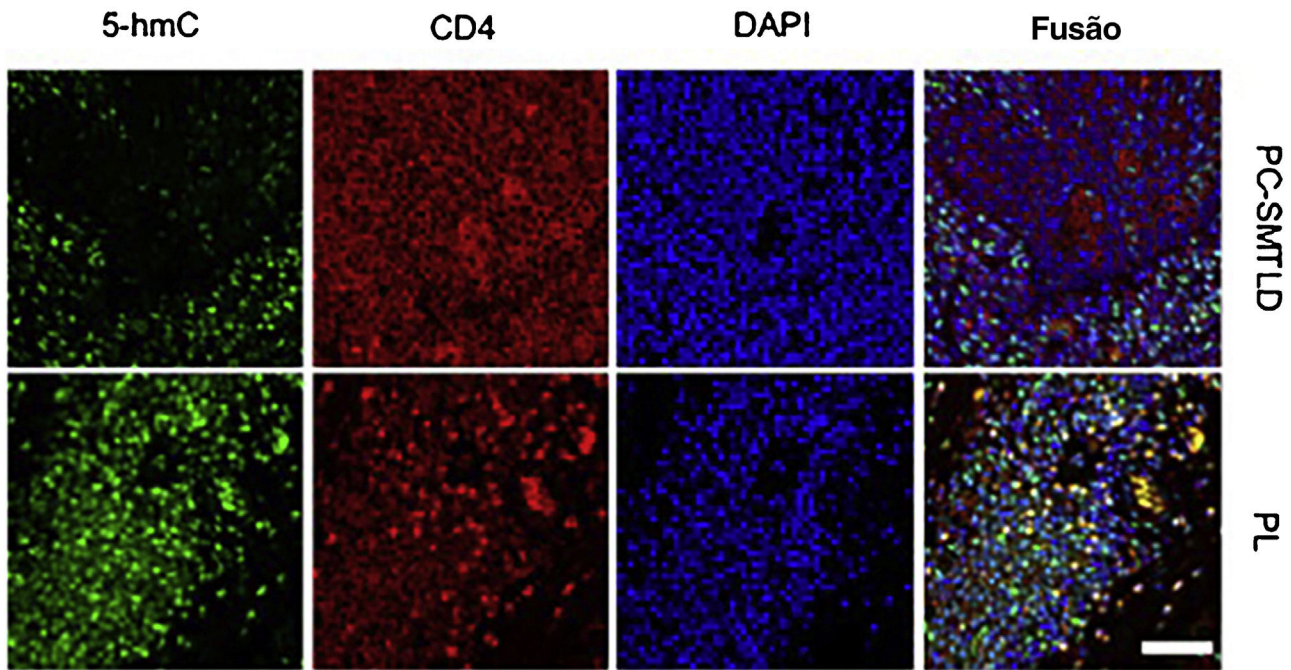


**Figura 3** Expressão de 5-hmC. Doença linfoproliferativa cutânea primária de células T CD4<sup>+</sup> pleomórficas pequenas/médias (PCSM-TCLPD) e pseudolinfoma (PL): diminuição significativa da expressão de 5-hmC foi observada em PCSM-TCLPD quando comparada com PL na derme (fig. 3A; \*\*\*\*p < 0,0001; fig. 3B). A diferença no escore de imunomarcção nuclear para 5-hmC foi estatisticamente significativa com escores mais altos no grupo PL (média = 2,35, desvio padrão [DP = 0,50]) quando comparado à PCSM-TCLPD (média = 1,33, DP = 0,47, p = 0,0014; fig. 3C). A maioria dos casos de PL (95%; 19/20) estava no grupo de alta expressão (fig. 3D).



**Figura 4** Expressão de TET2: Nenhuma diferença significativa na expressão de TET2 foi observada nos dois grupos.





**Figura 5** Dupla marcação com imunofluorescência (IF) de 5-hmC (verde) e CD4 (vermelho) em caoss de PCSM-TCLPD e PL: Observou-se diminuição de 5-hmC em linfócitos CD4<sup>+</sup> em PCSM-TCLPD. DAPI (azul) foi utilizado para mostrar o núcleo da célula.

ponsável pela redução dos níveis de 5-hmC no linfoma de células T e tumores mieloproliferativos.<sup>8,9,22</sup> A redução dos níveis de 5-hmC em doenças linfoproliferativas CD4<sup>+</sup> pode ser um indicador de mutações de TET2. Assim, foram avaliados os níveis de expressão de 5-hmC e TET2 em PCSM-TCLPD e PL através de imuno-histoquímica, com o objetivo de explorar as alterações de 5-hmC e da enzima TET2 que catalisa a oxidação de 5-mC. Por fim, verificou-se que o nível de expressão de 5-hmC em PCSM-TCLPD foi menor que em PL, enquanto a expressão de TET2 não foi diferente. Uma possível razão foi a alteração da atividade de TET2 em vez do nível de expressão.

Em algumas neoplasias malignas, a perda de 5-hmC parece estar associada a um curso mais agressivo e pior prognóstico. Em contraste, PCSM-TCLPD é um tipo de doença linfoproliferativa com potencial benigno ou maligno indeterminado, frequentemente com curso benigno e bom prognóstico. A redução de 5-hmC na PCSM-TCLPD sugere que a redução de 5-hmC pode não se limitar a tumores malignos e invasivos, ou que pode haver outros mecanismos para neutralizar o efeito da redução de 5-hmC, de modo que a doença apresenta caráter benigno.

Nas primeiras descrições essas entidades foram classificadas como linfoma periférico de células T, sem outra especificação (PTCL-NOS, do inglês *peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified*). Em 2008, a OMS classificou o PTCL-NOS como "linfoma cutâneo primário de células T de tamanho pequeno/médio positivo para CD4". Embora alguns casos tenham sido fatais, o prognóstico em muitos casos foi surpreendentemente bom, e alguns estudos confirmaram essa observação preliminar. Após oito anos de seguimento, descobriu-se que esses linfomas eram de fato indolentes ou tinham potencial maligno indeterminado; portanto, é duvidoso que possam ser definidos como linfomas genuínos. Alterações foram feitas na nova classificação dos linfomas cutâneos da OMS de 2016, com o estabelecimento temporário de novas doenças designando condições com potencial metastático como linfomas e renomeando doenças com potencial maligno indeterminado

como doenças linfoproliferativas (PCSM-TCLPD). À medida que a experiência nessa área continua a crescer, espera-se que novas doenças sejam desmembradas a partir das já existentes.

No Yale Cancer Center, pesquisadores observaram a heterogeneidade da PCSM-TCLPD,<sup>23</sup> sugerindo que é importante diferenciar casos indolentes de PCSM-TCLPD de casos mais agressivos em virtude das grandes diferenças no prognóstico e tratamento entre esses grupos. Nos casos relatados, concorda-se que pacientes com lesão única e as características histopatológicas e imunofenotípicas descritas anteriormente têm bom prognóstico, com taxa de sobrevida estimada em cinco anos de 75%. Portanto, devem ser conduzidas com tratamento local na maioria dos casos. No entanto, o estadiamento é essencial para eliminar os casos de envolvimento sistêmico. Nos casos raros em que as características invasivas são desconhecidas, a quimioterapia citotóxica e a radioterapia de campo envolvido podem ser usadas como no linfoma cutâneo primário inicial de células T. Nesse experimento, foi estudada a expressão de 5-hmC em casos de PCSM-TCLPD e PL. Em virtude da diferença na expressão de 5-hmC, ela pode ser utilizada como um dos indicadores para o diagnóstico diferencial entre PCSM-TCLPD e PL, também tornando a 5-hmC um novo potencial marcador biológico para o diagnóstico de PCSM-TCLPD. Isso também explica a razão pela qual parte dos casos de PCSM-TCLPD tem potencial maligno, e permitindo diagnosticar PCSM-TCLPD com tendência maligna na fase inicial, possibilitando uma intervenção precoce. Assim, a avaliação do estágio e o melhor tratamento podem ser alcançados.

## Conclusão

Os autores estudaram o padrão de expressão de 5-hmC em pseudolinfoma e doenças linfoproliferativas e verificaram que a 5-hmC geralmente diminui em doenças linfoproliferativas na avaliação IHQ. Por fim, concluíram que esse biomarcador epi-

genético estava diminuído na maioria dos casos de doença linfoproliferativa, mas não em casos benignos (pseudolinfoma).

## Suporte financeiro

Este estudo recebeu suporte financeiro da The World-Class Universities (Disciplines) and The Characteristic Development Guidance Funds for the Central Universities (Concessão n° PY3A0241001016), National Natural Science Foundation of China (Concessão n° 81372912).

## Contribuição dos autores

Jiahui Hu: Concepção do estudo; concepção e supervisão dos experimentos; obtenção, análise e interpretação dos dados; análise estatística; revisão crítica da literatura; redação e aprovação do manuscrito.

Sonemei Geng: Análise e interpretação dos dados; redação do manuscrito; revisão crítica da literatura e revisão crítica do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito.

Xingyue Zhang: Aprovação da versão final do manuscrito; obtenção, análise e interpretação dos dados; revisão crítica do manuscrito.

Lihong Zhao: Interpretação dos dados; redação do manuscrito; revisão crítica da literatura e revisão crítica do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito.

Qiang Zhao: Interpretação dos dados; revisão crítica do manuscrito; aprovação da versão final do manuscrito.

## Conflito de interesses

Nenhum.

## Apêndice. Material suplementar

Pode consultar o material adicional para este artigo na sua versão eletrônica disponível em [doi:10.1016/j.abdp.2023.08.005](https://doi.org/10.1016/j.abdp.2023.08.005).

## Referências

- Cetinözman F, Jansen PM, Willemze R. Expression of programmed death-1 in primary cutaneous CD4-positive small/medium-sized pleomorphic T-cell lymphoma, cutaneous pseudo-T-cell lymphoma, and other types of cutaneous T-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 2012;36:109–16.
- Keeling BH, Gavino ACP, Admirand J, Soldano AC. Primary cutaneous CD4-positive small/medium-sized pleomorphic T-cell lymphoproliferative disorder: report of a case and review of the literature. *J Cutan Pathol*. 2017;44:944–7.
- Magro CM, Momtahan S. Differential NFATc1 expression in primary cutaneous CD4+ small/medium-sized pleomorphic T-cell lymphoma and other forms of cutaneous T-Cell lymphoma and pseudolymphoma. *Am J Dermatopathol*. 2017;39:95–103.
- Sundram U. Cutaneous lymphoproliferative disorders: what's new in the revised 4th edition of the World Health Organization (WHO) classification of lymphoid neoplasms. *Adv Anat Pathol*. 2019;26:93–113.
- Nakagawa Y, Hamada T, Takahashi T, Miyake T, Hirai Y, Iwatsuki K, et al. Analysis of clonality in cutaneous B-cell lymphoma and B-cell pseudolymphoma using skin flow cytometry: Comparison of immunophenotyping and gene rearrangement studies. *J Dermatol*. 2022;49:246–52.
- Goyal A, Moore JB, Gimbel D, Carter JB, Kroshinsky D, Ferry JA, et al. PD-1 S100, and CD1a expression in pseudolymphomatous folliculitis, primary cutaneous marginal zone B cell lymphoma (MALT lymphoma) and cutaneous lymphoid hyperplasia. *J Cutan Pathol*. 2015;42:6–15.
- Besch-Stokes JG, Costello CM, Severson KJ, Bhullar P, Montoya J, Butterfield RJ, et al. Primary cutaneous CD4+ small/medium T-cell lymphoproliferative disorder: Diagnosis and management. *J Am Acad Dermatol*. 2022;86:1167–9.
- Salah E. Primary cutaneous CD4+ small/medium pleomorphic T-cell lymphoproliferative disorder: There do we stand? a systematic review. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2019;17:123–36.
- Lemonnier F, Pouillot E, Dupuy A, Couronné L, Martin N, Scourzic L, et al. Loss of 5-hydroxymethylcytosine is a frequent event in peripheral T-cell lymphomas. *Haematologica*. 2018;103:e115–8.
- Qiu L, Liu F, Yi S, Li X, Liu X, Xiao C, et al. Loss of 5-Hydroxymethylcytosine is an epigenetic biomarker in cutaneous T-Cell lymphoma. *J Invest Dermatol*. 2018;138:2388–97.
- Boudra R, Woappi Y, Wang D, Xu S, Wells M, Schmults CD, et al. Regulation of 5-hydroxymethylcytosine by TET2 contributes to squamous cell carcinoma tumorigenesis. *J Invest Dermatol*. 2022;142:1270–9.
- Uchiyama R, Uhara H, Uchiyama A, Ogawa E, Takazawa Y, Ashida A, et al. 5-Hydroxymethylcytosine as a useful marker to differentiate between malignant melanomas and benign melanocytic nevi. *J Dermatol Sci*. 2014;73:161–3.
- Kempf W, Zimmermann AK, Mitteldorf C. Cutaneous lymphomas-An update 2019. *Hematol Oncol*. 2019;37:43–7.
- Willemze R, Cerroni L, Kempf W, Berti E, Facchetti F, Swerdlow SH, et al. The 2018 update of the WHO-EORTC classification for primary cutaneous lymphomas. *Blood*. 2019;133:1703–14.
- Kempf W, Mitteldorf C. Cutaneous T-cell lymphomas-An update 2021. *Hematol Oncol*. 2021;39:46–51.
- Lee JJ, Vilain RE, Granter SR, Hu NR, Bresler SC, Xu S, et al. 5-Hydroxymethylcytosine is a nuclear biomarker to assess biological potential in histologically ambiguous heavily pigmented melanocytic neoplasms. *J Cutan Pathol*. 2017;44:249–55.
- Pethusamy K, Seethy A, Dhar R, Karmakar A, Chaudhary S, Bakhshi S, et al. Loss of TET2 with reduced genomic 5-hmC is associated with adverse-risk AML. *Leuk Lymphoma*. 2022;27:1–7.
- Ratan RR. Epigenetics and the nervous system: epiphenomenon or missing piece of the neurotherapeutic puzzle? *Lancet Neurol*. 2009;8:975–7.
- Vezzani B, Carinci M, Previati M, Giacovazzi S, Della Sala M, Gafà R, et al. Epigenetic regulation: a link between inflammation and carcinogenesis. *Cancers (Basel)*. 2022;14:1221.
- Ficz G, Gribben JG. Loss of 5-hydroxymethylcytosine in cancer: cause or consequence? *Genomics*. 2014;104:352–7.
- Crake RLI, Burgess ER, Wiggins GAR, Magon NJ, Das AB, Vissers MCM, et al. Ascorbate content of clinical glioma tissues is related to tumour grade and to global levels of 5-hydroxymethylcytosine. *Sci Rep*. 2022;12:14845.
- Li W, Xu L. Epigenetic function of TET family, 5-methylcytosine, and 5-hydroxymethylcytosine in hematologic malignancies. *Oncol Res Treat*. 2019;42:309–18.
- James E, Sokhn JG, Gibson JF, Carlson K, Subtil A, Girardi M, et al. CD4+ primary cutaneous small/medium-sized pleomorphic T-cell lymphoma: a retrospective case series and review of literature. *Leuk Lymphoma*. 2015;56:951–7.