

## SECCIÓN 1

# Aspectos diagnósticos de las neoplasias linfoides

<b>Capítulo 1</b>	<b>3</b>
La histopatología y la citometría de flujo en el diagnóstico de las neoplasias linfoides	
<b>Capítulo 2</b>	<b>27</b>
Técnicas citogenéticas y moleculares en las neoplasias linfoides	
<b>Capítulo 3</b>	<b>41</b>
Diagnóstico por imágenes en las neoplasias linfoides. De la radiología convencional a la resonancia magnética	
<b>Capítulo 4</b>	<b>57</b>
Papel de la medicina nuclear en las neoplasias linfoides	
<b>Capítulo 5</b>	<b>75</b>
Conceptos útiles para el desarrollo y la interpretación de estudios epidemiológicos	



# La histopatología y la citometría de flujo en el diagnóstico de las neoplasias linfoides

Anahí Vijnovich Barón y Graciela Lucero

## INTRODUCCIÓN

El diagnóstico correcto de las neoplasias linfoides requiere el aporte indispensable de las diversas metodologías disponibles. Las características histopatológicas, fenotípicas, citogenéticas y moleculares brindan información que debe ser interpretada en el contexto clínico, teniendo en cuenta las limitaciones, ventajas y desventajas de cada una de dichas metodologías.

En el presente capítulo se tratarán las patologías de mayor frecuencia en la práctica diaria, excluyendo los linfomas NK (de células *natural killer*) y los linfomas extranodales.

## ASPECTOS PRÁCTICOS DE LA MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS

Para lograr un diagnóstico anatomopatológico preciso en la patología hemolinfoide es necesario que exista una adecuada comunicación entre el hematólogo, el anatomopatólogo y el cirujano antes de proceder a la biopsia ganglionar.

Es importante conocer la historia clínica del paciente, la condición actual y los diagnósticos diferenciales preoperatorios para definir cuáles son los métodos diagnósticos complementarios que se utilizarán en el material.<sup>1</sup> Se deberá solicitar al cirujano que elija el ganglio de mayor tamaño, preferentemente el más profundo y de aspecto más anormal. Es importante resecarlo entero y, si es posible, con cápsula y tejido adiposo pericapsular.

Sólo en los casos en los que el ganglio fuese muy grande y/o formara parte de un conglomerado, o

estuviese muy adherido a tejidos vecinos, de modo que la biopsia excisional fuese muy dificultosa o imposible, se optará por realizar una biopsia incisional.<sup>2</sup>

La punción, tanto con aguja fina como gruesa, debe ser efectuada sólo en aquellos casos en los que la resección no sea posible. La punción es de utilidad en el diagnóstico de metástasis ganglionares, pero no en el diagnóstico de la patología hemolinfoide. La punción-biopsia, sumada a la citometría de flujo, puede ayudar a diferenciar patología hematológica benigna de maligna, pero este método no es suficiente para un diagnóstico definitivo, más aún, puede conducir a errores diagnósticos. Por otra parte se han descrito cambios morfológicos asociados a las punciones con aguja fina, tales como hemorragia focal, necrosis segmentaria con organización y necrosis coagulativa completa acompañada de esclerosis con proliferación vascular y de células fusiformes, todo lo cual puede enmascarar la patología de base.<sup>3</sup>

El diagnóstico anatomopatológico es un aspecto fundamental para la correcta elección del tratamiento.

En caso de sospecha de enfermedad infecciosa se debe separar en quirófano parte del material en forma estéril para estudios microbiológicos.

El ganglio deberá remitirse entero, en un frasco con solución fisiológica, en forma inmediata, al patólogo. Nunca debe envolverse en gasa, dado que esto deseca el material, dando un aspecto atípico a las células, con núcleos irregulares, lo que puede llevar a errores en el análisis morfológico.

El material debe ser estudiado macroscópicamen-

te por el patólogo quien realizará dos o más improntas de él, para su coloración y observación en el microscopio. Estos hallazgos morfológicos preliminares le permiten al patólogo evaluar la necesidad de estudios complementarios, para lo cual seleccionará material adecuado para remitir al laboratorio de citometría de flujo o proseguirá solamente con el estudio histopatológico e inmunohistoquímico.

Si el ganglio es extraído fuera del horario de recepción del laboratorio de patología, es preferible colocarlo en un frasco con formol neutro (*buffer*) o formol al 10%, para evitar el deterioro del tejido cuando se lo deja hasta el día siguiente en solución fisiológica.

Para el análisis inmunofenotípico por citometría de flujo, el ganglio deberá ser colocado en un recipiente que contenga medio de cultivo o solución fisiológica estéril a fin de ser transportado inmediatamente luego de su extracción. La demora en el procesamiento de la muestra puede ocasionar una significativa pérdida de viabilidad de ésta, lo cual afectará los resultados, dado que las células muertas pueden teñirse inespecíficamente ocasionando falsos positivos. La viabilidad de la muestra se determina mediante la tinción con azul tripán al 3%. Las células vivas excluyen el colorante, de modo que sólo se tiñen las células muertas. La viabilidad mínima aceptable es del 80%.

## ESTUDIOS INMUNOFENOTÍPICOS

La inmunofenotipificación puede llevarse a cabo utilizando técnicas **inmunohistoquímicas** o de **citometría de flujo**.

En la **inmunohistoquímica**, el reconocimiento del antígeno se realiza mediante el empleo de un anticuerpo monoclonal marcado con una enzima que, luego de la incubación, se revela por reacción con el sustrato para producir un compuesto coloreado e insoluble, el cual identifica el sitio del antígeno en el tejido cuando es visualizado en el microscopio óptico.

La **citometría de flujo** se ha convertido en una metodología de rutina esencial para determinar la expresión de antígenos de superficie y citoplasmáticos de las células neoplásicas. Esto se logra por medio de la focalización hidrodinámica de células que fluyen en una corriente líquida y alineada a través de una fuente de luz intensa, generalmente luz monocromática del rayo láser. La presencia de varios fotodetectores permite la detección simultánea de parámetros múltiples relacionados con la dispersión de luz, los cuales suministran informa-

ción sobre el tamaño y las características internas de las células.

La dispersión de luz frontal o *forward scatter* (en un ángulo de 2 a 10 grados) es el parámetro que se correlaciona con el tamaño celular, mientras que la dispersión lateral o *side scatter* (en un ángulo de 90 grados) se correlaciona con la granularidad citoplasmática y la configuración nuclear.

Actualmente se dispone de una gran variedad de anticuerpos monoclonales que identifican antígenos con una designación del *cluster* o grupo de diferenciación (CD) específico.

La inmunofenotipificación permite la separación objetiva de los procesos B, T y NK.

El Consenso Internacional del Grupo de Bethesda estableció las recomendaciones para el análisis inmunofenotípico por citometría de flujo para el diagnóstico de las diversas neoplasias hematopoyéticas.<sup>4,5</sup>

## DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES DE LAS NEOPLASIAS LINFÓIDES EN GANGLIOS LINFÁTICOS

### Histopatología

El primer paso en el estudio anatomopatológico de un ganglio linfático es su análisis morfológico. Su aspecto y características pueden sugerir diversos diagnósticos diferenciales, lesiones benignas o malignas y, entre estas últimas, lesiones malignas hematológicas y no hematológicas.

Al observar microscópicamente un ganglio linfático, lo primero que se debe reconocer es la histarquitectura, la cual puede estar conservada o alterada, parcial o totalmente. Cuando se pierde la histarquitectura, el patrón de proliferación que la reemplaza puede ser folicular o difuso.

El patrón de crecimiento folicular en un ganglio linfático puede deberse a procesos reactivos o neoplásicos. Dentro de los primeros, la forma más frecuente es la **hiperplasia folicular reactiva (HFR)**. Dentro de los procesos neoplásicos hematológicos, el patrón de crecimiento folicular o nodular puede observarse en: linfoma no Hodgkin folicular (LF), linfoma de células del manto (LCM), linfoma de la zona marginal nodal (LZM) con colonización del centro germinal y en el Linfoma de Hodgkin de tipo predominio linfocítico nodular (LHPLN).

Las características histopatológicas de las diversas neoplasias linfoides han sido descritas en el primer *Manual de neoplasias linfoides*,<sup>6</sup> por lo que en

este capítulo nos referiremos brevemente sólo a las características diferenciales.

## Citometría de flujo

A pesar de tratarse de una metodología que no puede reemplazar a la histopatología, la citometría de flujo tiene un papel muy importante en el diagnóstico diferencial de los distintos subtipos de linfomas con diversos inmunofenotipos.

La cuantificación y el análisis multiparamétrico son algunas de las ventajas de esta metodología. Por otra parte, la citometría de flujo permite evaluar la clonalidad con alta sensibilidad mediante la determinación de la distribución de las cadenas livianas de superficie y citoplasmáticas.

La disgregación del ganglio, imprescindible para la inmunofenotipificación por citometría de flujo, con la consiguiente pérdida de la histoarquitectura, es la principal limitante que presenta esta metodología frente a la histopatología.

La selección del panel de anticuerpos monoclonales es muy importante. Éste debe ser lo suficientemente amplio como para incluir las diversas posibilidades diagnósticas.

La evaluación morfológica previa del frotis de sangre periférica, del aspirado de médula ósea o de la impronta de la biopsia ganglionar, así como los datos clínicos aportados por el hematólogo, permiten tener una orientación diagnóstica con lo cual es posible seleccionar con mayor precisión el panel que se va a utilizar.

La evaluación inicial debe incluir anticuerpos para el reconocimiento de las poblaciones B, T y NK. Para la evaluación de las neoplasias B maduras los más utilizados son el CD10, CD11c, CD19, CD20, CD22, CD23, CD25, CD38, CD79b, CD103, CD138, FMC-7, así como anticuerpos para cadenas kappa y lambda. Es importante contar con más de un clon diferente para la detección de las cadenas livianas a fin de evitar resultados falsos negativos.

El hematopatólogo orienta su diagnóstico de acuerdo con el patrón (folicular o difuso), el tamaño celular predominante (células pequeñas, células grandes), la condición benigna o neoplásica, y el fenotipo B o T.

A continuación se describirán las características histopatológicas, inmunohistoquímicas y de citometría de flujo de las principales entidades de acuerdo con la aplicación del **cuadro 1-1**.

## PATRÓN FOLICULAR NO NEOPLÁSICO

### Hiperplasia folicular reactiva

#### *Histopatología*

La hiperplasia folicular reactiva (HFR) es el resultado de la activación del sistema inmunitario por un antígeno. Ello puede observarse en procesos inespecíficos, en los cuales no se puede determinar la etiología precisa: enfermedades autoinmunes, infección por virus de Epstein-Barr (EVB), virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), artritis reumatoidea, etcétera.

La diferenciación entre HFR y linfoma folicular (LF) resulta sencilla en ciertas ocasiones. Sin embargo, un significativo número de casos ofrece dificultades para el diagnóstico diferencial. Antes de la utilización de las técnicas inmunohistoquímicas (IHQ), la diferenciación se basaba en la aplicación de una larga lista de características morfológicas que ayudaba a tal fin.<sup>7</sup> Actualmente la inmunohistoquímica ofrece un invaluable aporte para tal diferenciación, mediante la expresión de la proteína bcl-2, presente en los centros germinales foliculares de los linfomas y ausente en los centros germinales foliculares de las HFR. La proteína bcl-2 se expresa en forma variable en los diferentes linfomas, por ello no resulta de utilidad en la diferenciación entre éstos, pero es de suma utilidad para la distinción entre HFR y linfoma no Hodgkin. La positividad de la proteína bcl-2 descarta la HFR, pero la negatividad no descarta totalmente el diagnóstico de linfoma, ya que la positividad se observa en el 90% de los LF grado 1, el 80% de los grado 2 y el 70% de los grado 3.

Otra marcación de utilidad es la medición de la proliferación mediante la expresión de MIB-1 (Ki67) en material incluido en parafina. La HFR muestra una proliferación de alrededor del 90% en los centros germinales, mientras que el LF usualmente muestra una proliferación del 15 al 20%, aunque puede ser más elevado –alrededor del 40%–, dato que está relacionado con un peor pronóstico (**fig. 1-1A y B**).

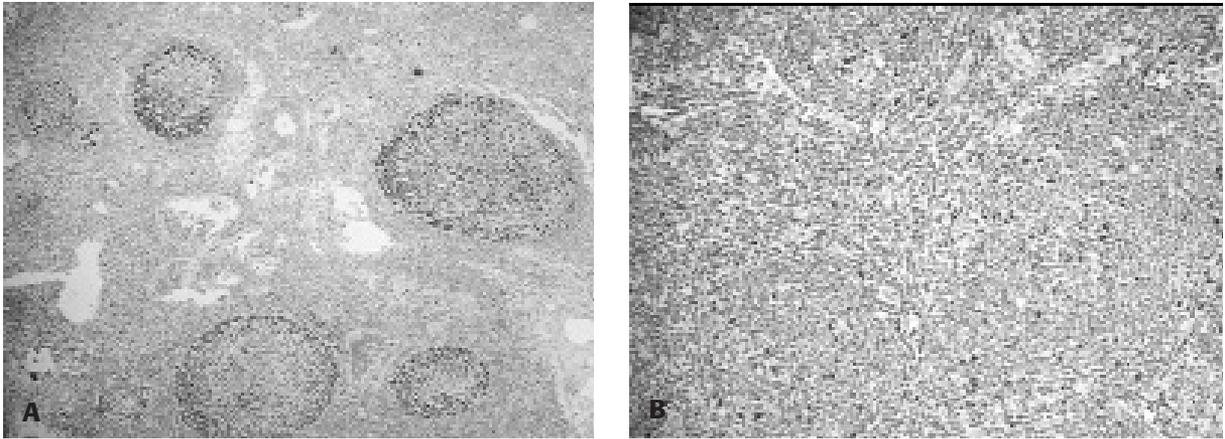
#### *Citometría de flujo*

Esta metodología es de gran utilidad ya que los aumentos de células B que ocurren en los procesos reactivos son poblaciones policlonales que expresan ambas cadenas livianas de superficie con relación kappa/lambda conservada.

Cuadro 1-1. Diagnóstico histopatológico y neoplasias ganglionares de patrón difuso

DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO					
<b>PATRÓN FOLICULAR</b>	<b>Reactivo</b>	Hiperplasia folicular reactiva			
		Transformación progresiva del centro germinal			
	<b>Neoplásico</b>	Linfoma folicular			
		Linfoma del manto			
		Linfoma marginal			
Linfoma de Hodgkin predominio linfocitario nodular					
<b>PATRÓN DIFUSO</b>	<b>Reactivo</b>	Mononucleosis			
		Enfermedad de Kikuchi-Fujimoto			
		Hiperplasia paracortical			
		Anticonvulsivos			
		Seudotumor inflamatorio			
	<b>Neoplásico</b>	Hematológico linfoide B o T			Linfoma de células pequeñas
					Linfoma de células medianas
					Linfoma de células grandes
		Hematológico no linfoide			Sarcoma mielóide
					Sarcoma histiocítico
		No hematológico			Metástasis de carcinoma nasofaríngeo de células pequeñas poco diferenciado
					Metástasis de melanoma
					Sarcoma
Timoma					
NEOPLASIAS GANGLIONARES DE PATRÓN DIFUSO					
	Procesos no hematológicos	Linfomas B	Linfomas T	Otros procesos oncohematológicos	
<b>CÉLULAS PEQUEÑAS</b>		Linfoma linfocítico/LLC Linfoma de células del manto Linfoma de la zona marginal Linfoma linfoplasmocítico Linfoma folicular variante difusa Linfoma de Hodgkin clásico rico en linfocitos	Linfoma T periférico NOS Linfoma angioinmunoblástico		
<b>CÉLULAS MEDIANAS</b>		Linfoma de Burkitt Linfoma de células del manto blastoide Linfoma/leucemia linfoblástico	Leucemia/linfoma linfoblástico		
<b>CÉLULAS GRANDES</b>	Carcinomas Melanomas	Linfoma difuso de células grandes Linfoma plasmoblástico (CD20-) Linfoma ALK + (CD20-)	Linfoma T periférico Linfoma anaplásico CD30+	Linfoma de Hodgkin (CM, DL, EN)  Sarcoma mielóide Sarcoma histiocítico	

LLC: leucemia linfocítica crónica.



**Fig. 1-1.** Inmunohistoquímica que muestra la diferente expresión del Ki 67 en la hiperplasia folicular reactiva (A) y en el linfoma folicular (B). Véase también el apéndice de Láminas en color.

Las neoplasias B representan una expansión clonal que expresa un solo tipo de cadena liviana ( $\kappa$  o  $\lambda$ ). Sin embargo, es importante tener en cuenta que se han informado (si bien infrecuentemente) algunos casos de procesos reactivos como hiperplasias reactivas floridas, con restricción de cadenas livianas.<sup>8</sup> Por lo cual no sólo debe tenerse en cuenta la distribución de las cadenas livianas (ligeras), sino también el fenotipo inmunológico atípico de las células neoplásicas.

### Transformación progresiva del centro germinal (TPCG)

#### Histopatología

Es una entidad benigna, autolimitada. Morfológicamente se caracteriza por grandes nódulos originados por la migración de linfocitos pequeños del manto al centro germinal. Éste se observa fragmentado, con células grandes en el centro de disposición desordenada. Esos grandes nódulos se observan en bajo número entre folículos hiperplásicos.

El cuadro se presenta en general en hombres jóvenes. El diagnóstico diferencial, tanto clínico como histopatológico, es con el Linfoma de Hodgkin subtipo predominio linfocítico nodular. Este último generalmente compromete al ganglio en su totalidad y presenta las típicas células L&H, las que se hallan rodeadas por una corona de linfocitos T. En la TPCG pueden observarse células grandes de tipo centroblastico, las que se encuentran rodeadas por linfocitos B.<sup>9,10</sup>

#### Citometría de flujo

Permite corroborar el diagnóstico, confirmando la ausencia de clonalidad y de células con fenotipo inmunológico atípico.

### Hiperplasia de células del manto (hiperplasia de folículos primarios)

En esta entidad el ganglio linfático muestra numerosos folículos en el área cortical, con conservación de los senos medulares dilatados. Estos folículos se caracterizan por la proliferación monomorfa de linfocitos pequeños sin centros germinales, lo cual puede confundirse con un linfoma de la zona marginal, ya que, además de CD20, expresan proteína bcl-2, y son CD10 y bcl-6 negativos. Es importante reconocer la inmunohistoarquitectura conservada en zonas B y T y la ausencia de obliteración de los senos medulares característica de los linfomas.

### PATRÓN FOLICULAR NEOPLÁSICO HEMATOLÓGICO

#### Linfoma folicular

#### Histopatología

El LF generalmente ocupa la totalidad de la superficie del ganglio linfático. Sobre la base de la población celular (centrocitos y centroblastos) se lo divide en 3 grados. Las células muestran diferen-

tes tamaños e irregularidades nucleares: núcleos clivados y no clivados. La IHQ muestra expresión de CD20, CD10 y bcl-6, además de bcl-2 y baja expresión del MIB-1. Los centros germinales presentan positividad para el CD23 en las redes de células foliculares dendríticas.<sup>6</sup>

### *Citometría de flujo*

El linfoma folicular en la citometría de flujo muestra una población clonal con restricción de cadena liviana y expresión de moderada a fuerte intensidad de fluorescencia de la inmunoglobulina de superficie (IgS). Asimismo expresa antígenos de célula B: CD19, CD20, CD22, CD24, CD79a, CD79b y FMC-7. Muestra positividad frente al CD10, bcl-2 y al CD23 en aproximadamente un 40% de los casos y negatividad para CD5.<sup>11</sup>

## Linfoma de células del manto

### *Histopatología*

Este linfoma presenta diferentes patrones de crecimiento: patrón zona de manto, nodular y difuso.

El patrón zona de manto muestra proliferación del área del manto dejando centros germinales reactivos remanentes cuyo inmunofenotipo (IFT) corresponde al del centro germinal folicular; además son bcl-2 negativos.

El patrón nodular presenta una proliferación monomorfa de células pequeñas con leve irregularidad nuclear y presencia de histiocitos epitelioides aislados. EL IFT es CD20+, CD5+, CD43+, CCD-1+ y negativo para CD23, CD10 y bcl-6.<sup>6</sup>

### *Citometría de flujo*

Las células neoplásicas expresan los antígenos de células B: CD19, CD20, CD22, CD79a, CD79b, FMC-7. Son células CD5+, pero muestran negatividad para CD10 y CD23.<sup>11</sup>

El CD20 muestra característicamente fuerte intensidad de fluorescencia.

La IgS es de moderada a fuerte intensidad de fluorescencia, con restricción de cadena liviana de superficie; es más frecuente el isotipo lambda.

## Linfoma de la zona marginal nodal

### *Histopatología*

Este tipo de linfoma puede mostrar colonización de los folículos linfoides por las células marginales neoplásicas, en cuyo caso se observará prolifera-

ción por células pequeñas, con separación de núcleos entre sí por la presencia de un citoplasma amplio.

El IFT del nódulo es solamente CD20+, pero son negativos el CD10 y bcl-6 típicos del centro germinal y negativos para CD5, CD23 y variables para bcl-2 y CD43.<sup>6</sup>

### *Citometría de flujo*

El aporte principal de la citometría de flujo en este linfoma es la demostración de la existencia de una población clonal, que muestra la ausencia de las características fenotípicas de los otros tipos de linfoma: la negatividad del CD5, presente en el linfoma del manto y el linfoma linfocítico de células pequeñas, y la negatividad del CD10 y CD23, presentes en el linfoma folicular.

Asimismo muestra expresión de los antígenos de célula B (CD19, CD20, CD22, CD79a, CD79b).

El linfoma de la zona marginal es frecuentemente positivo para CD11c.

## Linfoma de Hodgkin predominio linfocítico nodular

### *Histopatología*

Este tipo de linfoma de Hodgkin (LH) se caracteriza por la proliferación de nódulos de linfocitos pequeños con aisladas células grandes de núcleos irregulares lobulados con aspecto de "pochoclo", vesiculosas con nucléolos, llamadas células L&H.

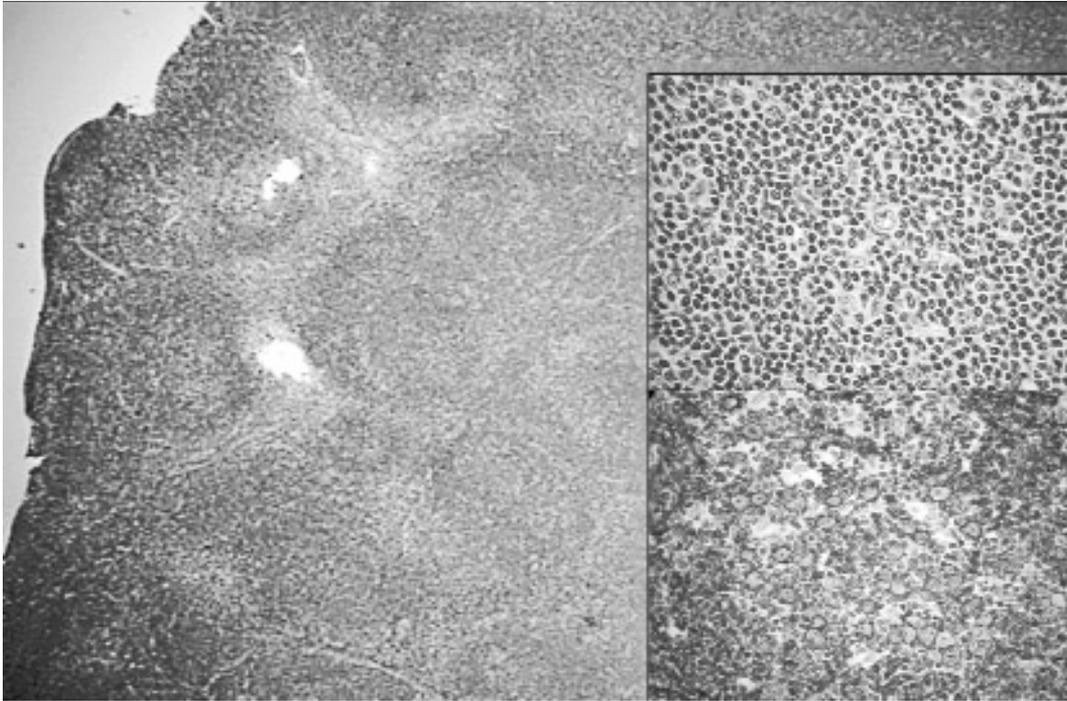
Asimismo se aprecia proliferación de histiocitos epitelioides intranodulares e internodulares. Los linfocitos pequeños nodulares son en su mayoría B y las células L&H expresan CD45, CD20, EMA, bcl-6 y los factores de transcripción OCT-2 y BOB.1, pero son negativos con CD30 y CD15 (**fig. 1-2**).<sup>6</sup>

### *Citometría de flujo*

Su principal utilidad es la de confirmar la ausencia de clonalidad B, lo que permite excluir el diagnóstico de linfoma no Hodgkin.

## **PATRÓN DIFUSO NO NEOPLÁSICO**

El ganglio linfático puede reaccionar en procesos no neoplásicos, alterando su histoarquitectura, que es reemplazada por una proliferación difusa. En estos casos se impone el diagnóstico diferencial con



**Fig. 1-2.** Linfoma de Hodgkin. Predominio linfocitario nodular HE (vista de campo 2x) y (20x). Inmunohistoquímica: expresión del CD20 (recuadros de la derecha, 20x). Véase también el apéndice de Láminas en color.

procesos neoplásicos hematológicos y no hematológicos. En dichas circunstancias resulta de sumo interés conocer los datos clínicos y de laboratorio del paciente para arribar a un diagnóstico correcto.

## Hiperplasia interfolicular

### *Histopatología*

La hiperplasia interfolicular/paracortical es una reacción inespecífica, generalmente asociada a procesos virales. En estos casos el ganglio muestra una hiperplasia entre los folículos linfoides reactivos, los cuales pueden estar conservados o disminuidos en su número. El área paracortical muestra una expansión difusa constituida por una población heterogénea de linfocitos pequeños, linfocitos transformados, inmunoblastos, plasmocitos, eosinófilos, hiperplasia de vénulas poscapilares, y ocasionalmente pueden observarse células de aspecto sternbergoides.

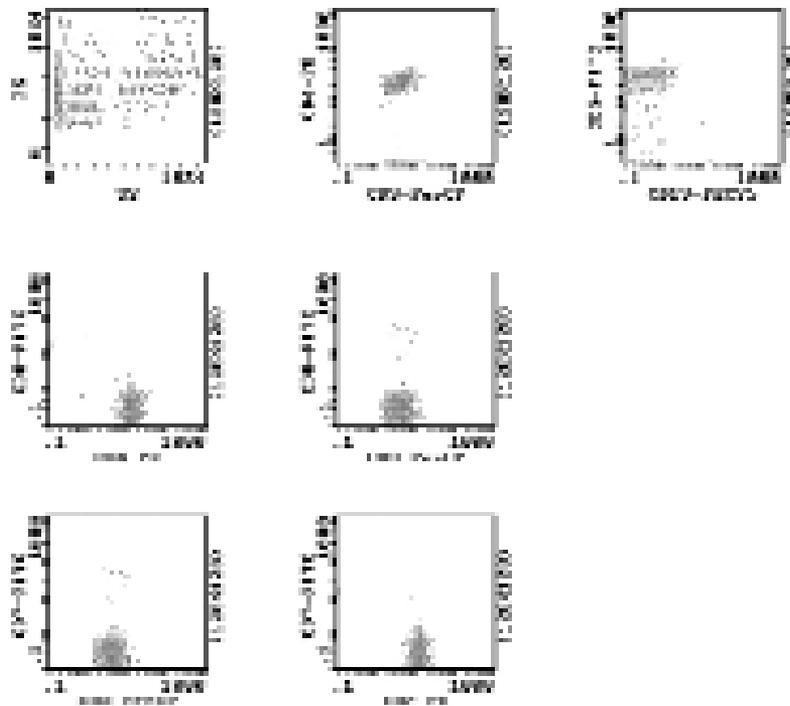
Esta lesión obliga al diagnóstico diferencial con linfoma de Hodgkin clásico de celularidad mixta (LHCM) y con linfoma no Hodgkin T periférico (LNHTP). El LHCM tiene típicas células de Reed-Sternberg CD30+ y CD15+, mientras que la hiper-

plasia paracortical puede tener células activadas grandes CD30+, pero CD15-. El LNHTP muestra población T predominante (**fig. 1-3**), especialmente las células grandes, mientras que en la hiperplasia paracortical las células grandes corresponden a una población mixta de células T y B.

### *Citometría de flujo*

A diferencia de las expansiones clonales B en las que se puede poner en evidencia la clonalidad mediante la determinación de la restricción de cadenas livianas, las expansiones clonales T muestran sólo una evidencia indirecta de clonalidad. Esta evidencia está dada por la ausencia atípica de algunos de los antígenos de célula T (CD2, CD3, CD5 y CD7).<sup>12</sup>

La pérdida más frecuente es la del antígeno CD7, seguida del CD5. En el caso del LNHTP, las células muestran con más frecuencia un fenotipo helper-inductor CD4+ y menos frecuentemente un fenotipo supresor CD8+. La presencia de fenotipos atípicos con coexpresión de CD4 y CD8 o la ausencia de CD4 y CD8, si bien pueden ser más sugestivos de linfoma, tampoco pueden confirmar clonalidad.



**Fig. 1-3.** Linfoma no Hodgkin T periférico (LNH TP). Los histogramas de fluorescencia de la citometría de flujo muestran una población T predominante con fenotipo de célula helper-inductora (CD4+), con expresión de CD5, ausencia atípica de CD7 y expresión débil de CD2, CD3 y CD4. Véase también el apéndice de Láminas en color.

A continuación se mencionarán las hiperplasias paracorticales que más frecuentemente plantean el diagnóstico diferencial con neoplasias hematológicas.

## Mononucleosis infecciosa (MNI)

### Histopatología

Esta entidad muestra las características típicas descritas en la hiperplasia paracortical, con un aspecto moteado dado por la presencia de numerosos inmunoblastos grandes.<sup>13</sup> Suele observarse necrosis focal o apoptosis, hiperplasia de la zona marginal y sinusoides dilatados con inmunoblastos en su interior. Esto último puede ocasionar confusión con el linfoma anaplásico de células grandes CD30+, más aún teniendo en cuenta que las células activadas son CD30+. Pueden observarse células sternbergoides simulando un linfoma de Hodgkin, pero éstas son CD15-.

La arquitectura del ganglio se halla preservada en la MNI con senos dilatados con inmunoblastos.

Dichos inmunoblastos son CD20+, CD30 y expresan la proteína latente de membrana de EBV. En cambio, en el linfoma se borra la arquitectura ganglionar y los senos son imperceptibles.

### Citometría de flujo

Muestra predominio de células T de fenotipo citotóxico supresor CD8+, sin ausencias atípicas de antígenos de células T. Pueden expresar antígenos de activación como HLA-DR, CD25 o CD38.

### Otras lesiones

Otras lesiones que se expresan como hiperplasia paracortical y que pueden simular linfomas son las linfadenopatías por hipersensibilidad a fármacos, como por ejemplo tratamientos con medicación anticonvulsiva (difenilhidantoína), las linfadenitis posvaccinales y la antiguamente llamada respuesta inmunitaria anormal, relacionada con alteraciones inmunológicas, cuyo aspecto morfológico remeda un linfoma de Hodgkin clásico sin células de Reed-Sternberg. Todo lo anterior pone de manifiesto la

importancia de que el patólogo conozca los antecedentes de los pacientes al realizar el análisis de un ganglio linfático.

## Enfermedad de Kikuchi-Fujimoto

Entre las hiperplasia difusas, la que más suele confundirse con los linfomas es la linfadenitis necrosante de Kikuchi-Fujimoto. Es una enfermedad autolimitada, de etiología desconocida, benigna, que se acompaña de síntomas sistémicos. El ganglio linfático presenta focos bien circunscritos de necrosis con restos nucleares, necrosis unicelular y ausencia de leucocitos polimorfonucleares.

Se observa proliferación de células dendríticas plasmocitoides, linfocitos T CD8+, linfocitos transformados e histiocitos, todo lo cual le da un aspecto moteado al ganglio linfático. Esta población de células de mayor tamaño y la necrosis suelen hacer confundir la entidad con los linfomas no Hodgkin B de células grandes.<sup>14</sup> Las técnicas de IHQ ayudan al diagnóstico diferencial, mostrando positividad para CD68, mieloperoxidasa y CD123.

Diversos estudios moleculares recientes han demostrado expansiones clonales de células T, los cuales no deben ser tomados como un criterio de malignidad en esta entidad autolimitada.

## Seudotumor inflamatorio

### *Histopatología*

Se trata de una rara entidad de etiología desconocida, que consiste en una proliferación de células fusiformes con un infiltrado inflamatorio.

Clínicamente los pacientes pueden presentarse con poliadenopatías, fatiga y sudoración nocturna.

Histológicamente presentan compromiso focal o difuso del ganglio linfático por proliferación de linfocitos, plasmocitos, histiocitos y eosinófilos, hiperplasia de pequeños vasos y proliferación fusocelular.

Deben diferenciarse de tumores de células dendríticas o células accesorias, linfoma de Hodgkin y linfomas no Hodgkin, especialmente los T periféricos. La IHQ muestra una proliferación mixta de linfocitos B y T, aislados linfocitos activados CD30+ y población politípica de plasmocitos.

Para el diagnóstico diferencial se debe tener en cuenta que el LNHT periférico muestra obliteración de la arquitectura, atipia citológica, mitosis, mayor vascularización, ausencia de proliferación fusocelular y expresión de inmunofenotipo aberrante. Además el linfoma de Hodgkin en la variante fibroblástica de la esclerosis nodular se caracteriza por escasas células

típicas y puede ofrecer dificultades diagnósticas. En este último se deben identificar las células de Reed-Sternberg CD45-, CD30+ y CD15+.

### *Citometría de flujo*

Es útil para comprobar la ausencia de poblaciones T con anomalías fenotípicas, lo cual favorece la exclusión diagnóstica de LNHTP.

## PATRON DIFUSO NEOPLÁSICO NO HEMATOLÓGICO

Existen varios tumores no hematológicos que pueden ser fácilmente confundidos con neoplasias hematológicas.

### Timoma

#### *Histopatología*

Es un tumor epitelial localizado en mediastino, que puede o no estar encapsulado. La clasificación de estos tumores reconoce diferentes tipos, uno de los cuales, el tipo B1 o linfocítico, debe diferenciarse del linfoma de células precursoras T o linfoma linfoblástico.

Ambas entidades se caracterizan por una proliferación de timocitos corticales, CD3+, CD10+, TDT+, por lo cual se debe tener mucha precaución en la interpretación de punciones de mediastino mediante citometría de flujo.

Este subtipo de timoma presenta además una proliferación de células de mayor tamaño, ovoides, con escaso citoplasma, núcleos de cromatina laxa que expresan citoqueratina y son de origen epitelial. Los linfocitos suelen ser más pequeños que los linfoblastos de un linfoma linfoblástico.

La diferenciación entre ambas entidades es de suma importancia para el pronóstico y tratamiento.

#### *Citometría de flujo*

La citometría de flujo muestra una población celular predominante con fenotipo inmunológico de timocito cortical tardío: CD1 +, CD2+, CD3 sup +/-, CD4+, CD5+, CD7+, CD8+, TdT+. El fenotipo inmunológico es semejante al de las células del linfoma linfoblástico T.

Algunas diferencias pueden contribuir al diagnóstico diferencial de ambas patologías. En el caso del timoma se observan junto con la población predominante de timocitos corticales tardíos, pequeñas poblaciones de células CD4+/CD8- y de células

CD4-/CD8+. Además los histogramas de fluorescencia de los antígenos de célula T, muestran heterogeneidad debido a la presencia de poblaciones con distintas intensidades de fluorescencia, a diferencia del linfoma linfoblástico que exhibe curvas homogéneas.<sup>15</sup>

El linfoma linfoblástico T, a diferencia del timoma, puede presentar anomalías fenotípicas como la ausencia atípica de algún antígeno de célula T.

### Metástasis de carcinoma nasofaríngeo (CAVUM)

Estos tumores epiteliales pueden iniciarse con metástasis en ganglios cervicales. Son tumores más frecuentes en jóvenes. Su aspecto es similar al de un linfoma de Hodgkin tipo celularidad mixta o un LNH B difuso de células grandes.

La expresión de citoqueratina confirma su estirpe epitelial.

### Metástasis de carcinoma indiferenciado de células pequeñas (tipo *oat cells*)

Estos tumores también pueden manifestarse inicialmente por sus metástasis ganglionares y lo hacen generalmente en mediastino. Su aspecto citomorfológico es muy similar al linfoma no Hodgkin linfoblástico de células precursoras T. Estos casos expresan citoqueratina puntual paranuclear y marcadores de diferenciación neuroendocrina: cromogranina, CD56, a diferencia del linfoma linfoblástico que es CD45+, CD3+, TDT+, CD10+ y CD99+.

### Metástasis de carcinoma poco diferenciado

En estos casos se observa proliferación difusa por células grandes con variable cantidad de citoplasma, núcleos grandes vesiculosos con nucléolo evidente, las cuales remedan centroblastos o inmunoblastos.

Expresan citoqueratina. Se debe completar el estudio con un panel de marcadores para orientar el origen del tumor primitivo.

### Metástasis de melanoma

Los ganglios linfáticos con metástasis de melanoma son fácilmente diagnosticables cuando se observa melanina. Sin embargo, hay casos de melanoma amelanótico, cuyo aspecto puede simular un linfoma ya sea de células grandes o un linfoma anaplásico T/nulo CD30+, especialmente porque ambos

infiltran inicialmente el ganglio a nivel de los senos medulares y subcapsulares.

En estos casos, la IHQ es de ayuda y se observa expresión de melan A y HMB-45 (para melanoma) y vimentina y S-100. Estos últimos, si bien inespecíficos, completan el panel y orientan hacia este tipo de tumor.

### Metástasis de sarcoma

Esta eventualidad es poco usual. Puede ser confundida con un tumor mesenquimático primario del ganglio linfático o con raras variantes morfológicas de un linfoma no Hodgkin B difuso de células grandes fusocelular, o con un linfoma no Hodgkin anaplásico T/nulo CD30+ variante sarcomatoide. En esos casos, el LNH B será CD45+ y CD20+, mientras que el anaplásico será CD30+, EMA+, CD43+/-, CD45 y CD3 variables.

## PATRÓN DIFUSO NEOPLÁSICO HEMATOLÓGICO

Cuando el análisis histopatológico de un ganglio linfático muestra un patrón de crecimiento difuso se abre un gran abanico de posibilidades de diagnóstico diferencial de neoplasias hematológicas.

Desde la morfología, la proliferación puede ser homogénea de células pequeñas, de células medianas o de células grandes, o puede ser heterogénea con variación en el tamaño de sus células, con componente inflamatorio de fondo o sin él.

### Neoplasias hematológicas difusas de células pequeñas B

El patrón difuso de células pequeñas B se encuentra en un grupo de entidades, las cuales se diferencian por sus características morfológicas e inmunofenotípicas. En bajo número de casos, estas características pueden no estar claramente definidas por ausencia o superposición, por lo que es recomendable informar estos casos como LNH B de células pequeñas inclasificable.

#### *Linfoma linfocítico/leucemia linfática crónica*

#### Histopatología

El ganglio muestra una proliferación difusa de linfocitos pequeños con núcleos redondeados y cromatina en grumos. Las secciones muestran áreas más claras conocidas como seudofolículos o centros de proliferación constituidos por prolinfocitos

y parainmunoblastos. La IHQ es CD20+, CD5+, CD23+, CD43+, bcl-2 variable.<sup>6,16</sup>

**Citometría de flujo**

La citometría de flujo permite la evaluación de algunos antígenos no valorables mediante la inmunohistoquímica, además de la evaluación semicuantitativa de la IgS y la coexpresión de antígenos (fig. 1-4).

Las células muestran expresión de los antígenos asociados al linaje B (CD19, CD20, CD24, CD79a), con excepción de CD22, CD79b y FMC-7, los cuales son negativos o débilmente positivos. La expresión de CD20 es frecuentemente débil. La inmunoglobulina de superficie es débil y muestra restricción de cadenas livianas (kappa o lambda) y expresión de cadenas mu y/o delta. Las células muestran coexpresión de CD5 y CD23 y son negativas para CD10.<sup>17,18</sup>

Además de la utilidad para el diagnóstico, la citometría permite la evaluación de parámetros de valor pronóstico como Zap-70 y CD38.<sup>19,20</sup>

**Linfoma de células del manto**

**Histopatología**

La proliferación en estos casos es monomorfa, de células pequeñas a medianas de contornos nuclea-

res ligeramente irregulares, con un “cielo estrellado” dado por aislados histiocitos epitelioides. La IHQ es: CD20+, CD5+, CD43+, CCD-1+, CD23- (fig. 1-5).

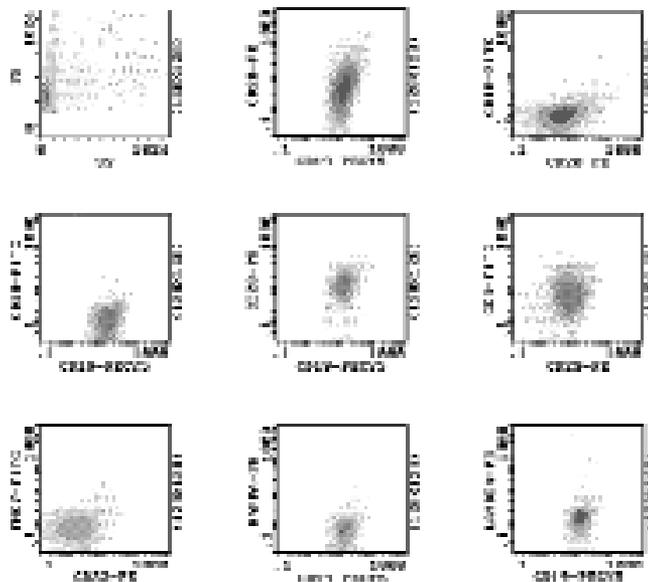
Existen variantes blastoides (fig.1-6) y de células grandes, y menos frecuentemente variantes que simulan un linfoma linfocítico o un linfoma de la zona marginal.<sup>6,21</sup>

**Linfoma de la zona marginal, nodal**

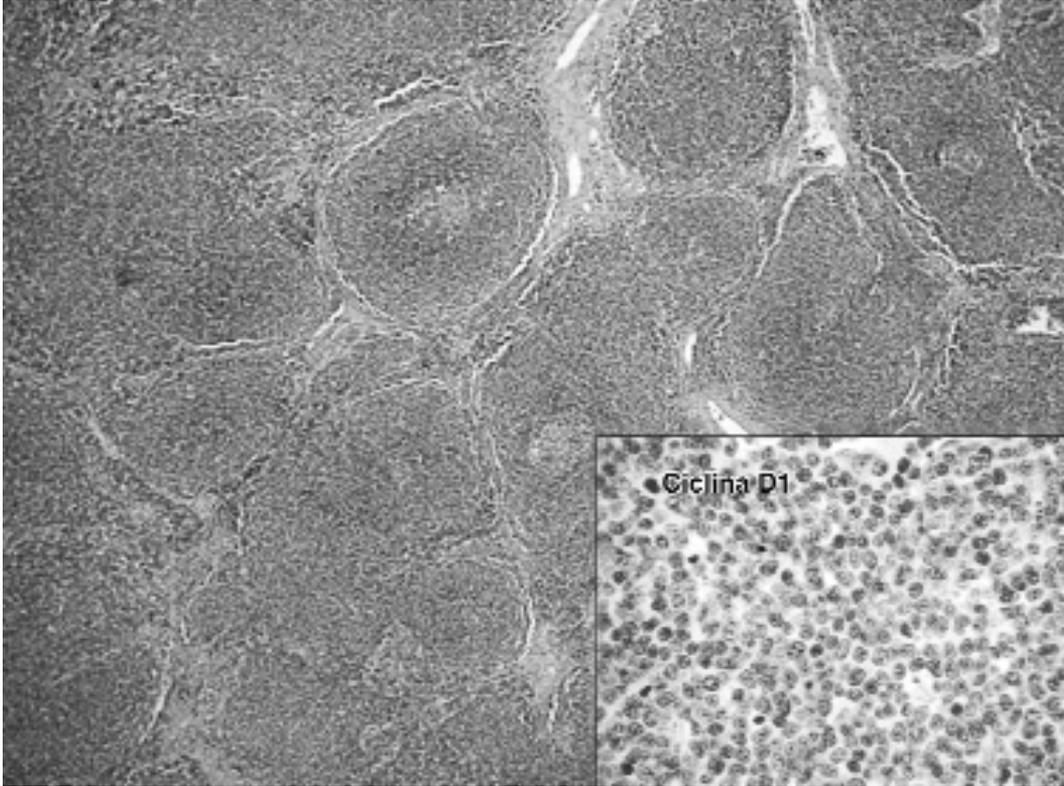
**Histopatología**

Este tipo de linfoma de células pequeñas compromete al ganglio linfático con diferentes patrones de crecimiento. En área **marginal** (es decir, por fuera del manto), **nodular** (colonizando el centro germinal del folículo linfóide) o en forma **difusa**. Esta última muestra una proliferación que a bajo aumento se distingue por un color más claro; este efecto se produce porque dichas células tienen un citoplasma más amplio y claro que separa los núcleos entre sí. Los núcleos son redondeados o levemente arriñonados. Entre estas células pueden observarse aislados centroblastos.

La IHQ muestra positividad sólo para CD20; el resto de los marcadores son: CD5-, CD23-, CD43-/+, CD10-, bcl-6- y bcl-2 variable. El índice de proliferación es bajo.<sup>6,22</sup>



**Fig. 1-4.** Linfoma linfocítico/leucemia linfática crónica. Los histogramas de fluorescencia de la citometría de flujo muestran una población B con expresión de CD5, CD23 e inmunoglobulina de superficie de muy débil intensidad de fluorescencia con restricción de cadena liviana lambda, y negatividad frente a CD10 y FMC-7. Véase también el apéndice de Láminas en color.



**Fig. 1-5.** Linfoma no Hodgkin B de células del manto HE (2x). Inmunohistoquímica (recuadro inferior derecho): expresión de CCD1 (ciclina D1). Véase también el apéndice de Láminas en color.

### Linfoma linfoplasmocítico

#### Histopatología

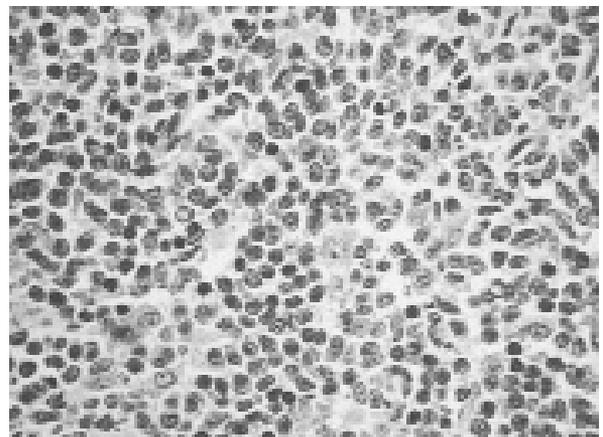
Este linfoma no presenta criterios diagnósticos muy claros. La celularidad se halla constituida por linfocitos pequeños, células linfoplasmocitoides y plasmocitos. Algunas células suelen mostrar invaginaciones citoplasmáticas conocidas como cuerpos de Russell o intranucleares (cuerpos de Dutcher). Con técnica de Giemsa se puede observar un aumento de mastocitos.

La clasificación de la OMS sostiene que, para su diagnóstico, el ganglio no debe mostrar otro tipo de linfoma, como por ejemplo folicular o linfocítico, ya que en esos casos serían linfoma folicular o linfocítico con áreas de diferenciación linfoplasmocítica. Es decir que para su diagnóstico se requiere una proliferación difusa con estas características. La inmunohistoquímica es similar a la del linfoma de la zona marginal.<sup>6,23</sup>

#### Citometría de flujo

Esta metodología permite evaluar el fenotipo inmunológico característico: expresión de los anti-

genos de célula B (CD19, CD20, CD22, CD24), negatividad para CD5, CD10, CD11c y CD23, frecuente expresión de CD25 y FMC-7 y coexpresión característica de la IgS y de la Ig citoplasmática



**Fig. 1-6.** Linfoma no Hodgkin de células del manto, variante blastoide HE (20x). Véase también el apéndice de Láminas en color.

(IgC), ambas con restricción de cadena liviana.<sup>24</sup> La detección de ambos tipos de inmunoglobulinas (IgS e IgC), que prueban la coexistencia de poblaciones B maduras clonales con células plasmáticas también clonales, es una de las ventajas importantes de esta metodología.

### *Linfoma folicular variante difusa*

#### Histopatología

Ésta es una variante muy poco frecuente en la que el ganglio linfático muestra una proliferación difusa de células pequeñas de núcleos hendidos o centrocitos con ocasionales células grandes o centroblastos que presentan el inmunofenotipo característico de un linfoma no Hodgkin folicular: CD20+, CD10+, bcl-6+, bcl-2+, CD5-, CD23-, CD43-, con bajo índice de proliferación.<sup>6,25</sup>

### *Linfoma de Hodgkin clásico rico en linfocitos*

#### Histopatología

Este linfoma está comprendido dentro de los linfomas de Hodgkin clásico. Existe una forma vagamente nodular y una difusa. Esta última se halla conformada por una proliferación de linfocitos pequeños, sin plasmocitos ni eosinófilos, con bajo número de células de Reed-Sternberg interpuestas. Las células de Reed-Sternberg marcan cómo el LH clásico CD45-, CD30+, CD15+, EMA- y los linfocitos pequeños no neoplásicos son predominantemente T.<sup>6</sup>

#### Citometría de flujo

Su utilidad consiste en confirmar la ausencia de clonalidad B, lo que permite excluir el diagnóstico de linfoma no Hodgkin.

### **Neoplasias hematológicas difusas de células pequeñas T**

#### *Linfoma no Hodgkin T periférico no especificado (NOS)*

#### Histopatología

El ganglio linfático presenta pérdida parcial de la histoarquitectura, con compromiso interfolicular de la zona T, o difusa con reemplazo total de la arqui-

tectura. La población celular se halla constituida por células pequeñas, en ocasiones mezcladas con células medianas y grandes, de núcleos irregulares, generalmente de citoplasma claro. Frecuentemente se observa un fondo inflamatorio de eosinófilos, plasmocitos polipáticos, histiocitos e hiperplasia vascular.

La IHQ muestra expresión de CD45, CD3, CD43 en todas las células atípicas y puede mostrar anomalías en el inmunofenotipo T, con ausencia de algún marcador. Algunos casos pueden presentar expresión de CD30.

Estos linfomas deben ser diferenciados de procesos reactivos y del linfoma de Hodgkin clásico de celularidad mixta. En el primer caso, la ausencia de atipias celulares y la presencia de una población mixta de células B y T favorece el diagnóstico de un proceso reactivo; en el segundo caso, la presencia de células de Reed-Sternberg típicas CD30+, CD15+ sugiere el diagnóstico de Hodgkin.

Ocasionalmente, para definir el diagnóstico, se debe recurrir a técnicas de biología molecular que determinan la clonalidad mediante el reordenamiento del receptor de células T.<sup>26</sup>

#### Citometría de flujo

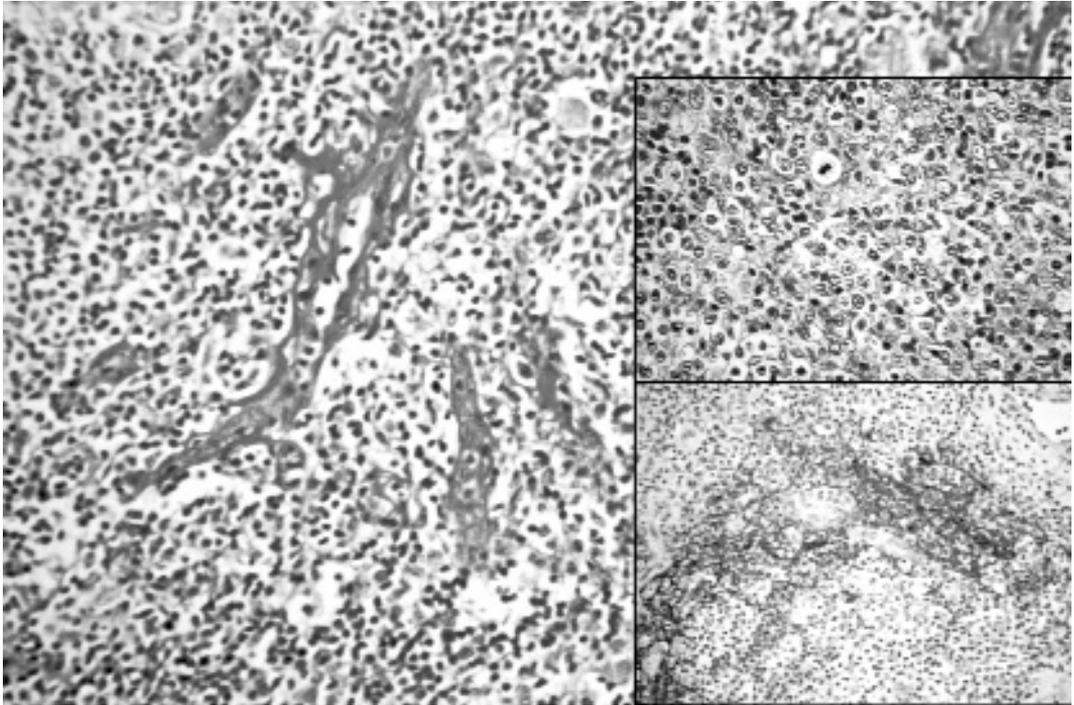
Esta metodología provee evidencia inmunofenotípica de la presencia de una población T con anomalías fenotípicas consistentes en la pérdida de algunos de los antígenos de células T (CD2, CD3, CD5, CD7), con frecuencia CD7 o CD5.<sup>12</sup>

### *Linfoma T angioinmunoblástico*

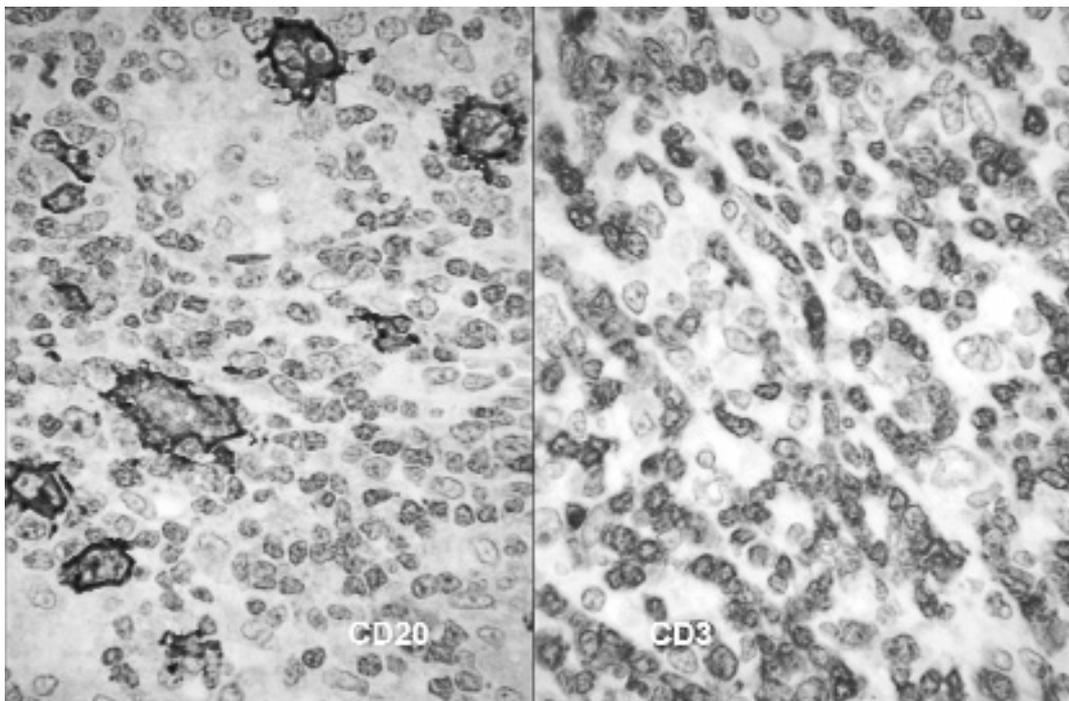
Este tipo de linfoma es una entidad que se caracteriza por hallazgos clínicos y de laboratorio particulares.

En cuanto a la anatomía patológica presenta proliferación difusa, con arborización vascular y depósitos PAS positivos. Los folículos linfoides se hallan generalmente hipoplásicos con centros germinales atróficos ("gastados"), con disminución de células linfoides e hiperplasia de células foliculares dendríticas. Las células son pequeñas y medianas, con aisladas células grandes. Pueden mostrar citoplasma claro y en la IHQ se observa expresión de CD45, CD3, CD4. Recientemente se ha descrito expresión de CD10.

Además se observa proliferación de células foliculares dendríticas con cierta disrupción y disposición perivascular. Antiguamente se diferenciaban las linfadenopatías angioinmunoblásticas y el linfoma, pero hoy en día se considera una misma entidad linfomatosa (**fig. 1-7**).



**Fig. 1-7.** Linfoma angioinmunoblástico T HE (vista de campo, 10x y recuadro superior derecho, 20x). Inmunohistoquímica: CD21 (recuadro inferior derecho, 10x). Véase también el apéndice de Láminas en color.



**Fig. 1-8.** LNH de células grandes B, rico en células T. Inmnohistoquímica: expresión de CD20 y CD3. Véase también el apéndice de Láminas en color.

## Neoplasias difusas con predominio de células T

### *Linfoma B rico en células T (LBRCT)*

#### Histopatología

Esta entidad está comprendida entre los linfomas no Hodgkin difusos de células grandes, pero se describe en este sector sobre la base de su aspecto histológico. El ganglio muestra pérdida de la histoarquitectura, la cual se halla reemplazada por una proliferación de linfocitos pequeños T no neoplásicos entre los que se observan aisladas células grandes B neoplásicas que corresponden a sólo el 10% de la celularidad global. Por definición, los linfocitos pequeños B son muy escasos. Las células grandes pueden tener aspecto de centroblastos, de células L&H o células sternbergoides. Antiguamente se los había considerado como linfomas T por el predominio de sus células.

La IHQ muestra que las células grandes B son CD45+ CD20+ y los linfocitos T acompañantes son CD3+ (fig. 1-8).

Los diagnósticos diferenciales incluyen el LNH T, que no muestra células grandes B, el linfoma de Hodgkin clásico, cuyas células típicas son CD45-, CD20-/+, CD30+ y CD15+ y el linfoma de Hodgkin predominio linfocitario nodular (LHPLN). Este último diagnóstico diferencial tiene implicancias pronósticas y terapéuticas. Ambas patologías presentan células grandes con idéntico inmunofenotipo: CD45+, CD20+, bcl-6+, EMA+/- . La diferenciación se basa

predominantemente en los linfocitos del fondo, que en el LHPLN conforman nódulos de linfocitos B con marcación de la red de células foliculares dendríticas, mientras que en el LBRCT son linfocitos T CD3+, CD8+ y TIA-1+.<sup>27</sup>

#### Citometría de flujo

Se detecta la existencia de una población clonal B. El bajo porcentaje de células neoplásicas presentes en la muestra puede ser responsable de falsos negativos. Este tipo de error se minimizaría mediante la adquisición de un número muy alto de células, para aumentar la probabilidad de detectar estas poblaciones con muy baja representatividad.

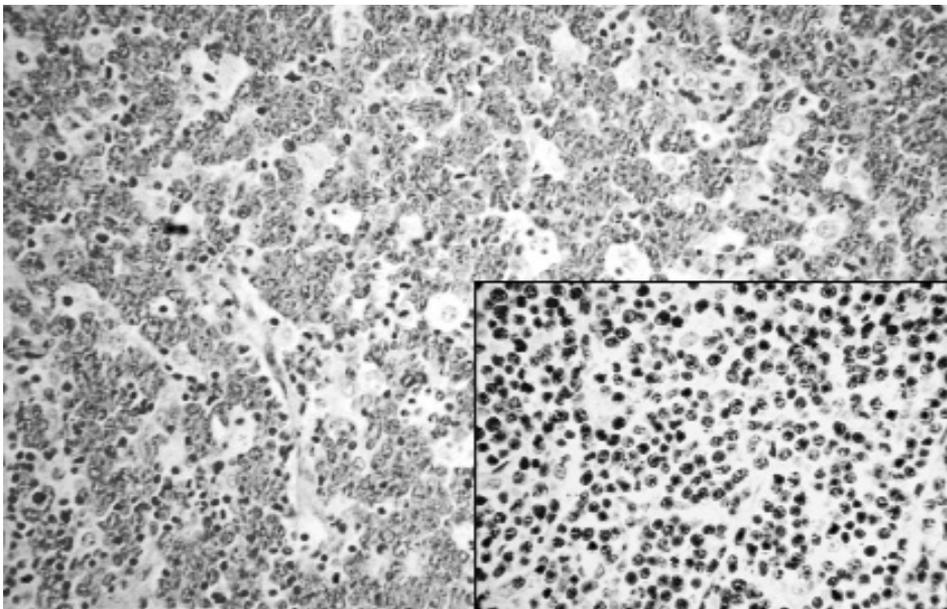
## Neoplasias difusas de células medianas B

### *Linfoma de Burkitt*

#### Histopatología

Morfológicamente este linfoma presenta proliferación difusa con imagen en “cielo estrellado”. Las células son de tamaño mediano, con citoplasma evidente, de bordes angulados que se ordenan como en rompecabezas con las células vecinas. La membrana nuclear es remarcada y poseen de dos a cinco nucléolos. La IHQ es CD20+, CD10+, bcl-6+, bcl-2- y MIB-1 en el 100% de las células (fig. 1-9).

El diagnóstico diferencial es con el LNH B difuso



**Fig. 1-9.** Linfoma de Burkitt HE (20×). Inmunohistoquímica (recuadro inferior derecho): Ki 67 (10×). Véase también el apéndice de Láminas en color.

de células grandes, el que también puede tener una imagen en “cielo estrellado”. Generalmente, los LNHB DCG tienen un índice de proliferación menor del 100% y algunos puede ser bcl-2 positivos.

Algunos casos pueden ser de difícil diferenciación morfológica e inmunofenotípica y hasta pueden compartir características moleculares, lo que ha llevado a crear una nueva entidad: el linfoma inclasificable con características intermedias entre linfoma B difuso de células grandes y linfoma de Burkitt.<sup>28,29</sup>

### Citometría de flujo

Las células neoplásicas expresan los antígenos de célula B (CD19, CD20, CD22, CD79a, FMC-7), CD10 e IgS con restricción de cadena liviana. Son negativas para CD34 y TdT.

### Linfoma/leucemia linfoblástico de células precursoras B

#### Histopatología

Rara vez, la variante B se presenta como linfoma y frecuentemente lo hace como leucemia. Las células son morfológicamente indistinguibles de las T y expresan CD20-/+, CD79a+, CD10+, TdT+, CD99+.

### Citometría de flujo

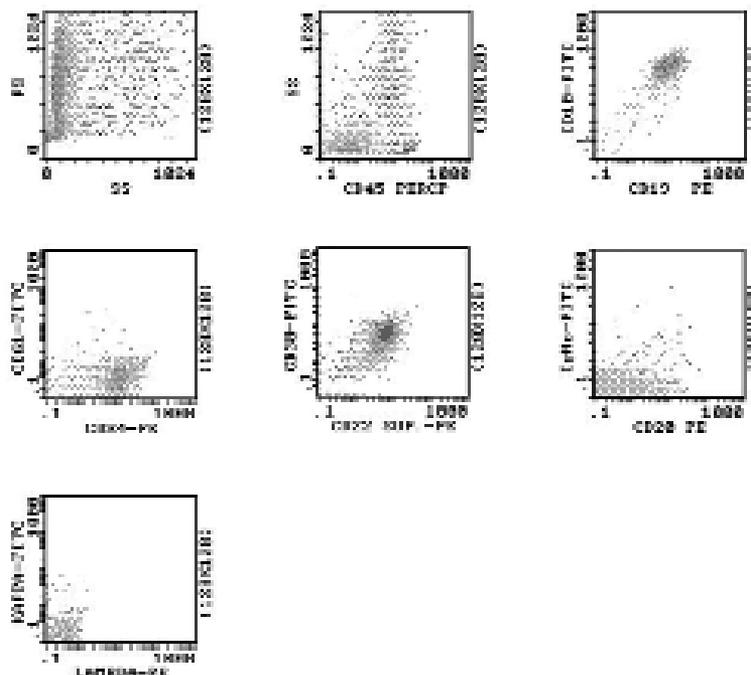
La citometría de flujo resulta fundamental para la identificación del linaje B. Debe utilizarse un amplio panel de anticuerpos con especificidad para antígenos linfoides B y T y mieloides.

Estos linfomas muestran heterogeneidad fenotípica. La clasificación del Grupo Europeo para la caracterización inmunológica de las leucemias (EGIL) reconoce cuatro subtipos inmunológicos correspondientes a diferentes estadios de maduración (**cuadro 1-2**).<sup>30</sup>

Expresan los antígenos de célula B CD19, CD79a y CD22 citoplasmático o de superficie (**fig. 1-10**). Pueden expresar de manera aberrante antígenos asociados a línea mieloide como CD13, CD15 y CD33. Estas leucemias, que no cumplen el criterio de una leucemia bifenotípica verdadera, constituyen las leucemias llamadas LLA My+.<sup>30</sup>

### Linfoma de células del manto, variante blastoide

Es una variante del linfoma de células del manto. Recibe este nombre por su semejanza con los linfoblastos, de tamaño mediano, cromatina densa, escasos nucléolos y numerosas mitosis. La IHQ es CD20+, CD5+, CD43+, CCD-1+ (**fig. 1-6** y la cito-



**Fig. 1-10.** Linfoma linfoblástico B. Los histogramas de fluorescencia de la citometría de flujo muestran una población predominante de células precursoras B con ausencia atípica de CD45, expresión de CD19, CD22 y CD10, y negatividad para CD20, cadena pesada mu citoplasmática y cadenas livianas de superficie. Véase también el apéndice de Láminas en color.

metría de flujo muestra una población B con positividad para CD5 o FMC7, negatividad para CD10 y CD23, e inmunoglobulina de superficie de fuerte intensidad de fluorescencia con restricciones de cadenas livianas (**fig. 1-11**).<sup>21</sup>

### Neoplasias difusas de células medianas T

#### *Linfoma/leucemia linfoblástico de células precursoras T*

##### Histopatología

A diferencia de los linfomas linfoblásticos B, los T se presentan más frecuentemente como linfomas. Algunos pueden mostrar imagen en “cielo estrellado”. Están conformados por células medianas, con escaso citoplasma, núcleos irregulares, cromatina densa y nucléolo poco conspicuo. La IHQ es CD3+, CD10+, TDT, CD99, CD1a+.

Estos casos deben diferenciarse de los linfomas B de células medianas y, por su localización habitualmente mediastinal, de las metástasis de carcinoma de células pequeñas tipo “oat cell” y de timomas. En el primer caso, expresan citoqueratinas en forma puntual y marcadores neuroendocrinos, y en el segundo, citoqueratinas.

##### Citometría de flujo

Este linfoma muestra heterogeneidad fenotípica. Se reconocen cuatro subtipos inmunológicos de acuerdo con el grado madurativo (**cuadro 1-3**).<sup>31</sup>

El marcador más específico es el antígeno CD3 citoplasmático o de superficie, ya que el resto de los marcadores asociados a célula T (CD2, CD5 y

CD7) pueden expresarse también en la leucemia mieloide aguda.

Por lo general es TdT+.

### Neoplasias difusas de células grandes

Los ganglios linfáticos infiltrados por neoplasias de células grandes deben ser diferenciados de tumores no hematopoyéticos. Para ello es conveniente comenzar con un panel de: citoqueratina para tumor epitelial, S-100 para melanoma y CD45 para neoplasia hematológica. Luego se prosigue completando el panel según los resultados hallados.

#### *Linfoma no Hodgkin B difuso de células grandes*

##### Histopatología

Estos casos presentan generalmente compromiso difuso de todo el ganglio linfático por células grandes que pueden ser de tipo centroblastico, inmunoblástico (**fig. 1-12**) o anaplásico (**fig. 1-13**). La IHQ es CD45+, CD20+, bcl-2+/-, MIB-1 menor de 100%, con inmunofenotipo de tipo centro germinal CD10+, bcl-6+, o de célula activada CD10-, bcl-6-, MUM-1+. La variante morfológica anaplásica puede ser CD30+ o -, pero, siendo una neoplasia B, se hallan comprendidos dentro de los linfomas B difusos de células grandes.<sup>32</sup>

##### Citometría de flujo

Por lo general permite detectar las células neoplásicas que expresan los antígenos de célula B CD19,

**Cuadro 1-2. Clasificación de la leucemia linfoblástica aguda-B del Grupo Europeo para la clasificación inmunológica de las leucemias (EGIL)**

Todas son positivas para CD19 y/o CD22 y/o CD79a y en su mayoría TdT+ excepto las B madura

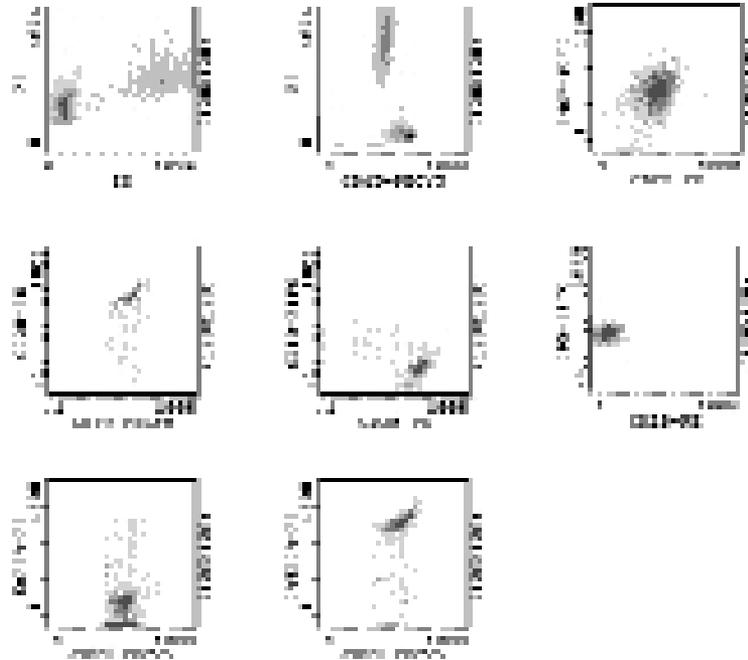
Categoría	Inmunofenotipo
B-I (Pro B)	CD10-, μ citop-, IgS-
B-II (Común)	CD10+, μ citop-, IgS-
B-III (Pre-B)	μ citop.+
B-IV (B madura) *	IgS+

\*Clasificada como linfoma no Hodgkin en la clasificación de la WHO (OMS).

**Cuadro 1-3. Clasificación de la leucemia linfoblástica T del Grupo Europeo para la clasificación de las leucemias (EGIL)**

Todos los casos son positivos para CD3 citoplasmático o CD3 de membrana. Algunos casos son CD10 positivos

Categoría	Inmunofenotipo
T-I (Pro-T)	CD7+, CD2, CD5-, CD8-, CD1a-
T-II (Pre-T)	CD2+ y/o CD5+ y/o CD8+, CD1a-
T-III (T cortical)	CD1a+, CD3m +/-
T-IV (T maduro)	CD3m+, CD1a-
Grupo a	Anti TCR αβ +
Grupo b	Anti TCR γδ +



**Fig. 1-11.** Linfoma del manto. Los histogramas de fluorescencia de la citometría de flujo muestran una población B con positividad para CD5 y FMC-7, negatividad para CD10 y CD23, e inmunoglobulina de superficie de fuerte intensidad de fluorescencia con restricción de cadena lambda. Véase también el apéndice de Láminas en color.

CD20, CD22 y CD79a e IgS con restricción de cadena liviana.

No obstante, puede ocurrir que las células clonales no sean detectadas, especialmente cuando tienen baja representatividad en la muestra analizada.

Pueden expresar CD10 (fenotipo centrofolicular) y CD5.

### *Linfoma no Hodgkin B difuso de células grandes plasmoblástico*

#### Histopatología

Éstos se presentan generalmente en pacientes HIV+. Se caracterizan por tener células grandes y su IHQ es CD45+/-, CD20-, CD138+/-, vs38c+, EMA+/-, SIg + monotípica, MIB-1 100%.<sup>33</sup>

#### Citometría de flujo

Permite detectar una población celular anormal con negatividad para la IgS y positividad para la IgC, que exhibe restricción de cadena liviana. Expresa los antígenos característicos de la célula plasmática CD38 y CD138 y es negativo para CD19 y CD20. La expresión de CD56 es controvertida.

### *Linfoma no Hodgkin B difuso de células grandes Alk+*

Se trata de un linfoma muy poco frecuente, formado por células grandes, CD45+, CD20-, CD30-, vs38c+, CD138+/-, Ig A+ y ALK +, con positividad granular citoplasmática.<sup>34</sup>

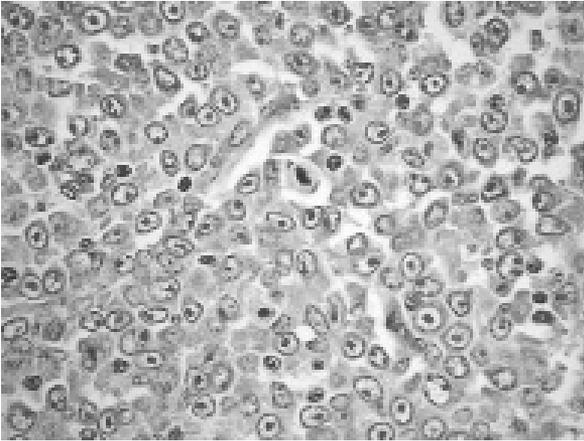
### *Linfoma no Hodgkin T NOS de células grandes*

Son linfomas difusos de células grandes cuyo inmunofenotipo es CD45+, CD3+, CD43+ y variable expresión de otros antígenos T.<sup>26</sup>

### *Linfoma no Hodgkin T de células grandes anaplásico CD30+*

#### Histopatología

Estos linfomas comprometen inicialmente los sinusoides y luego difusamente el ganglio. Las células pueden mostrar la morfología típica de células grandes con amplio citoplasma y núcleos grandes anaplásicos, algunos en herradura. En otras ocasiones son más monomorfos (**fig. 1-13**).



**Fig. 1-12.** Linfoma no Hodgkin B de células grandes, inmunoblástico HE (40×). Véase también el apéndice de Láminas en color.

Originalmente se confundían con metástasis de carcinoma indiferenciado o de melanoma. La IHQ es CD45+, CD3-/+, CD30+, EMA+, CD15-. Actualmente se separan en dos entidades de dife-

rente pronóstico según expresen la proteína ALK (ALK positivos o negativos).<sup>6,35</sup>

También obligan al diagnóstico diferencial con linfomas de Hodgkin, los que presentan células de Reed-Sternberg CD45- EMA-, CD20-/+, CD30+ y CD15+.

#### Citometría de flujo

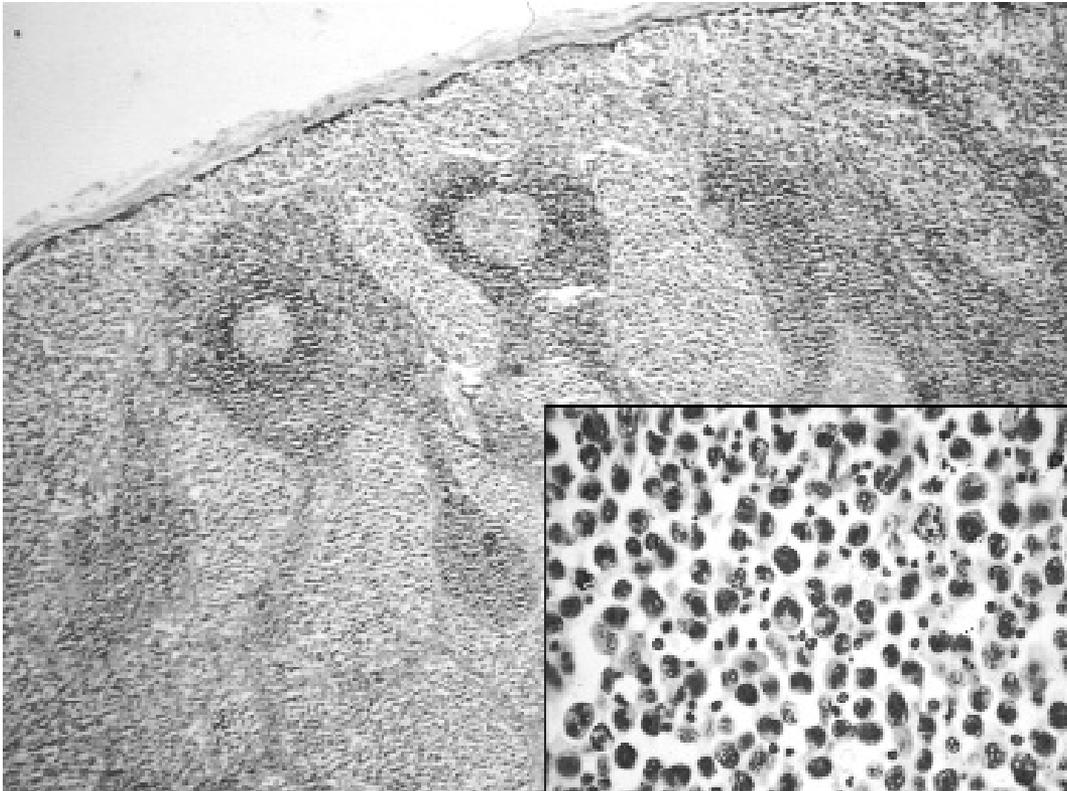
Por ser predominantemente de origen T, suele detectarse ausencia aberrante de antígenos T.<sup>35</sup> Por definición es CD30+ y puede expresar CD56.

Al igual que los linfomas difusos de células grandes, puede no ser detectado mediante citometría de flujo cuando presenta un fenotipo nulo.

### Sarcoma mieloide (sarcoma granulocítico)

#### Histopatología

Estas neoplasias hematológicas representan la transformación tumoral o crisis blástica extramedular que puede ocurrir durante la evolución de



**Fig. 1-13.** Linfoma no Hodgkin anaplásico de células grandes CD 30 + HE (2×) y (vista de campo, 2×; vista del recuadro inferior derecho, 40×). Véase también el apéndice de Láminas en color.

una leucemia mieloide crónica, aunque también pueden presentarse simultáneamente o aun precederla. Anteriormente se diagnosticaban como linfomas de células grandes. La IHQ es CD45+, CD43+, mieloperoxidasa +, CD20-, CD3-.

### *Citometría de flujo*

Es de gran utilidad para demostrar el origen mieloide del tumor. Las células pueden expresar los antígenos mieloides CD13, CD15, CD33 y mieloperoxidasa. Es especialmente útil cuando las células presentan un fenotipo de célula precursora mieloide poco diferenciada y muestran expresión de los antígenos CD34 y CD117.

El sarcoma monocítico muestra fuerte expresión de CD11c, CD14, CD64 y lisozima.

### **Sarcoma histiocítico**

El sarcoma histiocítico es una neoplasia poco frecuente, generalmente de compromiso extranodal, pero puede ocurrir en ganglios linfáticos. La infiltración es difusa y cohesiva, aunque puede presentarse con localización intrasinusoidal. La población celular es usualmente monomorfa de células grandes, generalmente redondeadas, con ocasionales focos fusocelulares. Debe diferenciarse del linfoma de células grandes y de las metástasis de carcinoma o melanoma. El inmunofenotipo es esencial para su diagnóstico. Las células son CD45+, CD68+, frecuentemente CD4+ y ocasionalmente CD15+. Son negativas para CD1a (células de Langerhans), CD21 (células foliculares dendríticas) y mieloperoxidasa (sarcoma mieloide), CD20 y CD3.<sup>36</sup>

### **Linfoma de Hodgkin clásico (LHC)**

Dentro del linfoma de Hodgkin clásico hay diversos subtipos histológicos según su aspecto morfológico. La IHQ de todos es la misma para las células típicas de Reed-Sternberg: CD45-, EMA-, CD30+, CD15+, CD20-/+, CD3-. El fondo de linfocitos es predominantemente T, CD3+, CD4+.<sup>6</sup>

### *LHC esclerosis nodular*

Este tipo obliga al diagnóstico diferencial con un LNH B DCG con esclerosis, el que también se presenta en mediastino. Este último presenta proliferación difusa monomorfa de células grandes CD45+, CD20+, CD30+/- con marcación heterogénea de débil intensidad, y CD15-. Existen casos en los que las características morfológicas e inmunofenotípi-

cas se superponen, conocidos anteriormente como linfomas de la “zona gris” mediastinal. Hoy se los llama linfomas inclasificables con características intermedias entre LNHB DCG y LHC. Estos casos son diferentes del llamado linfoma compuesto, el cual se define como aquel que presenta los dos tipos de linfoma bien distinguibles en la misma masa ganglionar.<sup>37</sup>

### *LHC celularidad mixta*

Esta variante puede confundirse con un LNH T periférico NOS, el que también muestra un fondo inflamatorio de eosinófilos, plasmocitos e histiocitos, y puede mostrar células grandes “sternbergoides”. En el LNH T periférico NOS, estas últimas se distinguen por ser CD45+, CD3+, CD30 variable y CD15 negativas.<sup>38</sup>

### *LHC depleción linfocitaria*

Es una variante muy poco frecuente, y desde el advenimiento de las técnicas inmunohistoquímicas casi no se efectúa este diagnóstico. Se lo solía confundir con los linfomas de células grandes B y con linfomas anaplásicos de células grandes CD30+ T/nulos.<sup>39</sup>

## **NEOPLASIAS LIFOIDES QUE COMPROMETEN PREDOMINANTEMENTE LA MÉDULA ÓSEA**

Dentro de este grupo se encuentran aquellas entidades que no fueron descritas previamente, dado que rara vez infiltran el ganglio linfático, con excepción de la leucemia linfática crónica ya mencionada.

### **Leucemia prolinfocítica**

#### *Histopatología*

La biopsia de médula ósea (BMO) muestra infiltración intersticial o nodular, intertrabecular, por células con pequeño nucléolo.

En caso de infiltración esplénica se observa compromiso de la pulpa blanca con extensión hacia la pulpa roja.

El ganglio linfático presenta compromiso difuso sin centros de proliferación o pseudofolículos.

El diagnóstico diferencial debe hacerse con la variante blastoide del linfoma de células del manto, con el linfoma esplénico de la zona marginal y con la leucemia linfática crónica.

### *Citometría de flujo*

Las células muestran fuerte expresión de los antígenos de célula B (CD19, CD20, CD22) pero, a diferencia de la LLC, son CD5 y CD23 negativas y FMC-7 positivas. Son negativas para CD10 y CD25. La IgS muestra fuerte intensidad de fluorescencia con restricción de cadena liviana.

## **Leucemia de células vellosas (LCV)**

### *Histopatología*

La LCV compromete la médula ósea (MO) y el bazo y excepcionalmente afecta el ganglio linfático. La MO presenta compromiso intersticial focal o difuso por células linfoides de citoplasma amplio, el cual separa los núcleos entre sí. Se observa aumento de la trama reticulínica. Las técnicas inmunohistoquímicas muestran positividad con CD20 y DBA-44.

En el bazo, compromete la pulpa roja con hipoplasia de la pulpa blanca y formación de lagos venosos.

El diagnóstico diferencial debe efectuarse con otras neoplasias linfoides B de células pequeñas en médula ósea y bazo. En este último, con las entidades provisionales que incluyen neoplasias esplénicas difusas de la pulpa roja.

### *Citometría de flujo*

El fenotipo inmunológico permite el diagnóstico diferencial con otras entidades linfoproliferativas. Se caracteriza por expresión de antígenos de células B (CD19, CD20++, CD22++). Es CD5-, CD10-CD11c++, CD23-, CD25+, CD103+, CD123+, FMC-7+ e IgS con expresión monotípica de cadena liviana.

Las diferencias más destacables con el linfoma marginal esplénico son la expresión de menor intensidad de los antígenos CD11c, CD20 y CD22 y la ausencia de coexpresión de CD11c, CD25 y CD103.

## **Mieloma**

### *Histopatología*

La médula ósea muestra infiltración por células plasmáticas con diversos patrones: intersticial, en pequeños nidos, en grandes focos o difusa. Las células pueden ser maduras, de maduración intermedia o inmaduras. La confirmación diagnóstica se realiza mediante IHQ observando positividad con CD138, el cual permite visualizar más claramente

el porcentaje de infiltración y la restricción de cadenas livianas de inmunoglobulina citoplasmática kappa o lambda.

El diagnóstico diferencial usualmente se realiza con la gammapatía monoclonal de origen indeterminado, la cual muestra escasos plasmocitos intersticiales maduros. Los mielomas CD20+ deben diferenciarse de la macroglobulinemia de Waldstrom. La clínica y los datos de laboratorio ayudan en la diferenciación de estas entidades.

### *Citometría de flujo*

Esta metodología resulta de utilidad para el diagnóstico diferencial entre mieloma múltiple (MM) e hiperplasia reactiva de células plasmáticas, y se basa en la presencia en el MM de células con fuerte expresión de CD38 o que coexpresan CD38 y CD138.

Las células neoplásicas muestran ausencia atípica de CD19, antígeno que es expresado por las células plasmáticas normales. Además, la mayoría de los MM muestran expresión aberrante de CD56, el cual está ausente en los plasmocitos normales.<sup>40</sup> Otra diferencia importante entre las dos entidades es la expresión monotípica de la cadena liviana de la inmunoglobulina citoplasmática en la célula mielomatososa, a diferencia de la expresión policlonal de ambos tipos de cadenas livianas en la hiperplasia reactiva.

Las células plasmáticas tanto normales como patológicas no muestran expresión de los antígenos de superficie de célula B CD20 y CD22. Algunos casos de MM pueden ser CD20+.

Las gammapatías monoclonales de significado incierto (MGUS) muestran coexistencia de poblaciones de células plasmáticas normales y patológicas, lo cual se observa raramente en el mieloma múltiple.

## **CONCLUSIONES**

El diagnóstico diferencial de las patologías proliferativas del ganglio linfático debe ser realizado, según su histoarquitectura, entre lesiones benignas y lesiones malignas, tanto hematológicas como no hematológicas.

Dependiendo del patrón de crecimiento nodular o difuso y del tipo de celularidad se abre el espectro de las lesiones para tener en cuenta en el diagnóstico diferencial.

En algunos casos, las características morfológicas e inmunohistoquímicas pueden no ser suficientes y requerir métodos complementarios como la inmu-

nofenotipificación por citometría de flujo y la biología molecular.

Dada la dificultad que muchas veces ofrece el diagnóstico de la hematopatología, es recomendable que éste se halle en manos de hematopatólogos expertos en el tema.

## REFERENCIAS

- Cousar JB. Surgical pathology examination of lymph nodes. Practice survey by American Society of Clinical Pathologist. *Am J Clin Pathol* 1995;104:126-132.
- Banks PM. Technical factors in the preparation and the evaluation of lymph node biopsies. In: Knowles DM (ed). *Neoplastic Hematopathology*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2001. p. 467-482.
- Tsang WY, Chang JK. Spectrum of morphologic changes in lymph nodes attributable to fine needle aspiration. *Hum Pathol* 1992;149:25-33.
- Stetler-Stevenson M, Davis B, Wood B, Braylan R. 2006 Bethesda International Consensus Conference on Flow Cytometry Immunophenotyping of Hematolymphoid Neoplasia. *Cytometry B Clin Cytom* 2007;72B:S3.
- Wood BL, Arroz M, Baenett D, et al. 2006 Bethesda International Consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia by flow cytometric diagnosis of hematopoietic neoplasia. *Cytometry B Clin Cytom* 2007;72B:S14-S22.
- Vijnovich Baron A. Histopatología de los linfomas. En: Tartas N, Zerga M, Sánchez Ávalos J (eds.). *Manual de Oncohematología. Las neoplasias linfoides*. Buenos Aires: Bio Sidus; 2009. Cap- 2. p.13-25.
- Schnitzer B. Reactive lymphoid hiperplasias. In: Jaffe ES (ed). *Surgical Pathology of the lymph nodes and related organs*. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1995. p. 98-132.
- Jasani B. Immunohistologically definable light chain restriction in autoimmune disease. *J Pathol* 1998; 154:1-5.
- Chang CC, Osipov V, Wheaton S. Follicular hyperplasia, follicular lysis and progressive transformation of germinal centers. A sequential spectrum of morphologic evolution in lymph node hyperplasia. *Am J Clin Pathol* 2003;120:322-326.
- Poppema S, Kaeslerling E, Lennert K. Hodgkin's disease with lymphocytic predominance, nodular type (nodular paragranuloma) and progressively transformed germinal centers - a cytohistological study. *Histopathology* 1979; 3:295-308.
- Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, et al. A revised European Classification of lymphoid neoplasms: A proposal from the international lymphoma study group. *Blood* 1994, 84:1361-1392.
- Went P, Agostinelli C, Gallamini A, et al. Marker expression in peripheral T-cell lymphoma: a proposed clinical-pathologic prognostic score. *J Clin Oncol* 2006;24: 2472-2479.
- Childs CC, Parham DM, Berard CW. Infectious mononucleosis. The spectrum of morphologic changes simulating lymphoma in lymph nodes and tonsils. *Am J Surg Pathol* 1987;11:122-132.
- Chamulak GA, Brynes RK, Nathwani BN. Kikuchi-Fujimoto disease mimicking malignant lymphoma. *Am J Surg Pathol* 1990;14:514-523.
- Li S, Luco J, Mann KP, et al. Flow cytometry in the differential diagnosis of lymphocyte-rich thymoma from precursor T-cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoblastic lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2004;121:268-274.
- Inamdar KV, Bueso-Ramos CE. Pathology of chronic lymphocytic leukemia: an update. *Ann Diagn Pathol* 2007 Oct;11(5):363-389.
- Moreau EJ, Matutes E, A'Hem RP, et al. Improvement of the chronic lymphocytic leukemia scoring system with monoclonal antibody SN8 (CD79a). *Am J Clin Pathol* 1997;108:378-382.
- Ginaldi L, Catovsky D. Levels of expression of CD19 and CD20 in chronic B cell leukemias. *J Clin Pathol* 1998;51:364-369.
- Ibrahim S, Keating M, Do KA, et al. CD38 expression as an important prognostic factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2001;98:181-186.
- Rassenti LZ, Huynh L, Toy TL, et al. Zap-70 compared with immunoglobulin heavy-chain gene mutation status as a predictor of disease progression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2004;351:893-901.
- Swerdlow S, Campo E, Seto M, et al. Mantle lymphoma. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, et al. (eds). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed. Lyon: IARC; 2008. p. 229-232.
- Traverse-Glehen A, Felman P, Callet-Bauchu E. A Clinicopathological study of nodal marginal zone B-cell lymphoma. A report on 21 cases. *Histopathology* 2006; 48: 162-173.
- Pangalis Gerassimos A, Angelopoulou M, Vassilakopoulos T. B-Chronic Lymphocytic Leukemia, Small lymphocytic lymphoma, and lymphoplasmacytic lymphoma, including Waldenström's Macroglobulinemia: a Clinical, Morphologic, and Biologic Spectrum or similar Disorders. *Seminars in Hematology* 1999 April; 36 (2): 104-114.
- San Miguel JF, Vidriales MB, Ocio E, et al. Immunophenotypic analysis of Waldenström's macroglobulinemia. *Sem Oncol* 2003;30:187-195.
- Harris N, Swerdlow S, Jaffe E, et al. Follicular Lymphoma. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, et al (eds). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed. Lyon: IARC; 2008. p. 220-226.
- Pileri S, Weisemburger D, Sng I, et al. Peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, et al. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed. Lyon: IARC; 2008. p. 306-308.
- Lim Megan S, Beaty M, Sorbara L. T-Cell / Histiocyte-Rich Large B-cell Lymphoma. A Heterogeneous Entity whit Derivation From Germinal Center B cells. *Am J Surg Pathol* 2002;26(11):1458-1466.
- Leoncini L, Raphael M, Sterin H, et al. Burkitt lymphoma. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, et al. (eds). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed. Lyon: IARC; 2008. p. 262-264.
- Kluin P, Harris N, Stein H, et al. B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, et al. (eds). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed. Lyon: IARC; 2008. p. 265-266.
- European Group for the Immunological characterization of leukemias (EGIL). Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, Van't Veer MB. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *Leukemia* 1995; 9:1783-1786.
- Borowitz M, Chan JKC. T lymphoblastic leukemia/lymphoma. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N. et al. (eds). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed. Lyon: IARC; 2008. p.176-178.

32. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004;103(1):275-282.
33. Vega F, Chang Chung-che, Medeiros LJ. Plasmablastic lymphomas and plasmablastic plasma cell myelomas have nearly identical immunophenotypic profiles. *Mod Pathol* 2005;18: 806-815.
34. Mc Kenna R, Kroft SH. ALK-positive diffuse large B-cell lymphoma report of four cases and review of the literature. *Mod Pathol* 2007; 20:310-319.
35. Kadin ME, Carpenter C. Systemic and Primary cutaneous anaplastic large cell lymphomas. *Sem Hematol* 2003; 40:241-256.
36. Grogan T, Pileri S, Chan JK. Histiocytic Sarcoma. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, et al. (eds). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon: IARC; 2008. p. 356-357.
37. Stein H, Von Wasieliewski R, Poppema S, et al. Nodular sclerosis classical Hodgkin lymphoma. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, et al. (eds). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon: IARC; 2008:330.
38. Weiss L, Von Wasieliewski R, Delsol G. Mixed cellularity classical Hodgkin lymphoma. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, et al. (eds). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon: IARC; 2008:331.
39. Benharroch D, Stein H, Peh SC. Lymphocyte-depleted classical Hodgkin lymphoma. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, et al. (eds). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon: IARC; 2008:334.
40. Harada H, Kawano MM, Huang N, et al. Phenotypic difference of normal plasma cells from mature myeloma cells. *Blood* 1993; 81:2658-2663.