

ARTICULO CLÁSICO

Metodología diagnóstica para reducir el diagnóstico diferencial citomorfológico de neoplasias linfoides de células pequeñas predominantes

Dra. Lourdes S. Faurés Vergara¹

RESUMEN

Se diseñó y aplicó una metodología diagnóstica interpretativa e integradora para linfomas de células pequeñas con el objetivo de plantearse un diagnóstico diferencial citomorfológico más preciso que se reduce, aún más, al integrar características clínicas diferenciales entre cada una de las enfermedades definidas por la clasificación de la Organización Mundial de la Salud de las neoplasias linfoides incluidas en el diagnóstico diferencial. Fueron seleccionados 28 casos diagnosticados por biopsia aspirativa con aguja fina con dificultad diagnóstica inicial o al aplicarle la metodología y casos con sospecha clínica de linfomas al no tener tumor primario conocido. Para la aplicación de la metodología se tuvieron en cuenta los siguientes criterios: las similitudes y las diferencias citomorfológicas, el tamaño y el tipo de células predominantes (o ambos) y otros tipos celulares reactivos presentes en el microambiente celular tumoral; se identificaron tres patrones citomorfológicos de células pequeñas predominantes: de células pequeñas a

SUMMARY

A diagnostic interpretative and integrative methodology for small cell lymphomas was designed and implemented in order to consider a more accurate cytomorphologic differential diagnosis, which is further reduced by integrating differential clinical characteristics among each of the diseases defined by the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms included in the differential diagnosis. A total of 28 cases were selected. They were diagnosed by fine needle aspiration biopsy with initial diagnostic difficulty or when the methodology was applied, and clinically suspected cases of lymphomas having no known primary tumor. The following criteria were taken into account for the application of the methodology: the cytomorphological similarities and differences, the size and the predominant cell type (or both), and other reactive cell types present in the tumor cell microenvironment. Three cytomorphologic patterns of predominant small cell were identified:

medianas con numerosas mitosis; con ocasional célula grande y mixto; en el diagnóstico diferencial se reducen las enfermedades neoplásicas linfoides a considerar y esta metodología es factible de aplicar en departamentos con limitados recursos técnicos disponibles.

DeCS:

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

LINFOMA

CARCINOMA DE CELULAS PEQUEÑAS

small to medium cells with numerous mitosis, with occasional large cell, and mixed. The neoplastic lymphoid illnesses to consider are reduced in the differential diagnosis, and this methodology is feasible to be implemented in departments with limited technical resources available.

MeSH:

DIAGNOSIS, DIFFERENTIAL

LYMPHOMA

CARCINOMA, SMALL CELL

INTRODUCCIÓN

Los linfomas son tumores originados de células del sistema inmune con gran complejidad diagnóstica; las células neoplásicas reflejan el estadio de su célula de origen y llevan consigo su marcaje de diferenciación.¹ El inmunofenotipaje, determinado por la inmunocitoquímica o la citometría de flujo, es de gran importancia para el diagnóstico y la clasificación de las proliferaciones linfoides, sobre todo en los tumores de bajo grado.²⁻⁵ La población celular asociada al tumor incluye células reactivas correspondientes a la respuesta inmune y al componente inflamatorio asociado al tumor y conforma el microambiente celular tumoral fisiopatológicamente distribuida para interactuar de forma paracrina o autocrina.⁶

La metodología interpretativa integradora (MDII) propuesta enfatiza en la importancia de agrupar neoplasias en el contexto de la valoración integral del microambiente celular tumoral según el tamaño nuclear predominante, la distribución proporcional relativa de células pequeñas y grandes, si el extendido es polimorfo o no según los tipos celulares, si ocasionales células grandes se interponen entre células predominantes, si estas son semejantes entre sí, si se identifica un componente inflamatorio o si se detectan células linfoides atípicas de tamaño variable. Los aspectos diferenciales morfológicos permiten desagregar el patrón de células pequeñas predominantes.

La investigación persigue como objetivo lograr mayor precisión diagnóstica al reducir el número de neoplasias en el diagnóstico diferencial de los linfomas de células pequeñas predominantes mediante la interpretación integral del microambiente celular tumoral y la integración de características clínicas diferenciales. En los aspirados con aguja fina de los ganglios linfáticos es más preciso el diagnóstico si se aplica la MDII: se obtiene un diagnóstico diferencial basado en patrones de reconocimiento citomorfológicos más específicos y correlacionados con el contexto clínico si se compara con la interpretación diagnóstica estándar que se emplea en Cuba.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio analítico de extendidos citológicos retro y prospectivo en un período comprendido entre 1993 y 2007 en el Hospital General Docente "Mártires del 9 de abril" de Sagua la Grande, Villa Clara, correspondiente a diagnósticos citológicos de biopsia aspirativa con aguja fina (BAAF) de 28 adenopatías con mayor dificultad diagnóstica.

Criterios de inclusión: diagnósticos previos de linfoma Hodgkin o no Hodgkin, casos con dificultad diagnóstica inicial o al aplicarle la metodología y casos con sospecha clínica de linfomas al no tener tumor primario conocido.

Se plantea el diseño y la aplicación de la MDII para aplicar y evaluar resultados basados en la definición y la identificación de patrones citomorfológicos de reconocimiento integradores de características morfológicas diferenciales para neoplasias linfoides de células pequeñas predominantes. Esta metodología no requiere inmunofenotipo para linaje celular B o T inicialmente, este es indicado según sospecha diagnóstica diferencial basada en la morfología detallada y comparativa y en el empleo de tinciones de hematoxilina y eosina y la prueba de Papanicolaou, fundamentalmente. Se enfatiza en identificar el número de mitosis y los signos de apoptosis, el microambiente inflamatorio y en la relación microambiente-células neoplásicas, respectivamente. Se plantean tres diferentes patrones de reconocimiento:

- a) de células pequeñas a medianas con numerosas mitosis
- b) con ocasional célula grande
- c) mixta

Se valora la presencia o no de polimorfismo celular, de microambiente inflamatorio no linfoide asociado al tumor y de atipia nuclear.^{7,8}

La integración de características clínicas diferenciales (la edad, el estadio, el sitio de presentación y el compromiso de médula ósea) y la sugerencia de empleo racional de marcadores para inmunocitoquímica o citometría de flujo, según sospecha diagnóstica, facilitan la subclasificación de estos linfomas mediante el estudio citopatológico interpretativo-integrador, que es menos costoso.^{4,9}

Definición de diferentes patrones de reconocimiento citomorfológicos:

1-Patrón citomorfológico de células linfoides pequeñas predominantes: más del 50% de células linfoides pequeñas presentes en los extendidos.

a) **Patrón citomorfológico de células linfoides pequeñas a medianas. Numerosas mitosis:** patrón no polimorfo, casi todas las células presentes son de mediano tamaño, hay numerosas mitosis atípicas e histiocitos con restos apoptóticos fagocitados.

b) **Patrón citomorfológico de células linfoides pequeñas con ocasional célula grande:** predominan las células pequeñas, las que representan el 80% o más de las células de los extendidos; las células grandes presentes representan menos de un 20% en los extendidos.

c) **Patrón citomorfológico de células linfoides pequeñas, mixto:** las células linfoides pequeñas representan de un 50-70% de las células, con células grandes interpuestas que representan de un 20-50% en los extendidos.

El tipo de muestreo fue no probabilístico, intencional por criterios.

Se toman como prueba de oro los resultados diagnósticos de las biopsias histopatológicas.

Se estableció la correlación citohistológica y fueron considerados como:

-Verdaderos positivos (VP): casos con diagnósticos citológicos de linfoma que histopatológicamente también lo fueron.

-Falsos positivos de linfoma (FPL): casos con diagnóstico citológico de linfoma que histológicamente no fueron linfomas.

-Verdaderos negativos (VN): casos con resultados citológicos negativos: hiperplasia reactiva y resultados histológicos negativos de malignidad linfoide o metastásica.

-Falsos negativos (FN): casos con diagnóstico citológico negativo que resultaron linfoma en el estudio histopatológico.

Fue evaluada la efectividad de la metodología con indicadores como la sensibilidad y la especificidad, así como la correspondencia entre enfermedades incluidas en el diagnóstico diferencial al aplicar la MDII con resultado conclusivo de las biopsias histopatológicas con inmunohistoquímica. El Comité de Ética de la institución avaló la realización de la investigación.

RESULTADOS

En cuanto a la modificación diagnóstica y a la correlación citohistológica al aplicar la metodología se encontraron once pacientes sospechosos inicialmente: siete con planteamiento de linfoma como diagnóstico más probable (primera posibilidad diagnóstica) que fueron confirmados histológicamente (7VPL) y cuatro con planteamiento de hiperplasia como primera posibilidad y linfoma como segunda, resultaron negativos histológicamente (4VN); no se constataron resultados falsos negativos. Siete casos con diagnóstico citológico positivo previo y posterior a la aplicación de la MDII (7VP) fueron interpretados con un patrón de reconocimiento definido en la metodología; se plantearon diagnóstico diferencial (DD) restringidos. Ocho casos con diagnóstico inicial de metástasis fueron reevaluados con la MDII e interpretados como metástasis con orígenes probables del tumor primario; la histopatología confirmó el diagnóstico en todos los casos. En dos casos con diagnóstico inicial positivo de células neoplásicas, linfoma versus metástasis, considerados en la MDII como linfomas como primera posibilidad diagnóstica, se planteó como DD linfoma de Burkitt, linfoma del manto blastoide y metástasis de carcinoma; la histología reveló que eran metástasis, considerados como falsos positivos de linfoma (2FPL).

Sensibilidad con respecto a linfomas = $\frac{VPL}{VPL + FNL} \times 100 = \frac{14}{14 + 0} = 100$

Sensibilidad 100

$\text{Especificidad} = \text{VN} / (\text{VN} + \text{FPL}) \times 100 = 4 / (4 + 2) \times 100 = 66.6$

Todos los casos diagnosticados como linfomas se correspondieron con enfermedades incluidas dentro de un estrecho marco diferencial y fueron referenciados, precisamente, como enfermedad neoplásica en un rango de 2-4; una de ellas coincidente con el diagnóstico histopatológico en todos los casos.

DISCUSIÓN

En los casos diagnosticados por la metodología como linfomas se identificaron patrones de reconocimiento citomorfológico que reducen el diagnóstico diferencial (DD), fundamentalmente los pertenecientes al patrón de células pequeñas predominantes, ejemplos:

- de células pequeñas predominantes mixto polimorfo con atipia y necrosis se plantean tres linfomas como DD: linfomas T: periférico (LTP nos), angioinmunoblástico (LAIT), linfoma leucemia T del adulto (L-LTA) y linfoma de la zona marginal nodal (LZMN)

- de células pequeñas predominantes con ocasionales células grandes, no polimorfo en cuatro casos, con dos DD a considerar: leucemia linfoide crónica-linfoma linfocítico pequeño (LLC-LLP) y linfoma de células del manto (LCM)

- de células pequeñas predominantes con ocasionales células grandes tipo Reed-Sternberg (RS), polimorfo en tres casos con DD que incluye a dos linfomas Hodgkin clásicos, esclerosis nodular y celularidad mixta (LHEN y LHCM)

- de células pequeñas predominantes mixto, dimórfico, en dos casos con un DD de linfoma folicular de bajo grado (LFG1-2)

- de células grandes predominantes en cuatro casos, uno con localización mediastinal con dos DD: linfoma de células grandes B mediastinal primario y LHEN sincitial y los otros tres casos con cuatro DD: linfoma difuso de células grandes B (LDCGB), linfoma folicular grado 3 (LFG3), linfoma anaplásico de células grandes (LACG) y linfoma Hodgkin con depleción linfocitaria (LHDL).

Los patrones de reconocimiento definidos en la MDII conducen a diagnósticos diferenciales con reducido número de neoplasias linfoides en un rango de 2-3 en el patrón de células pequeñas predominantes, el que ha sido desagregado en tres subgrupos; es el DD más conciso que en el patrón de células grandes predominantes, con cuatro diagnósticos diferenciales en tres de los casos.

Con el empleo de la MDII no se pueden subclasificar los linfomas, aunque sí se sugiere una indicación selectiva y racional de inmunomarcadores según la sospecha diagnóstica diferencial; se utilizan solo los necesarios y los más comúnmente usados. En Cuba, los diagnósticos citológicos de linfoma se informan como linfoma Hodgkin (LH); linfoma no Hodgkin (LNH) de células pequeñas, intermedias o de células grandes y LNH de bajo o alto grado en hospitales de referencia como el Hospital Clínico Quirúrgico "Hermanos Ameijeiras" y el Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología, de la Habana.

Se hace necesario conceder una importancia primordial al detallado y necesario estudio clínico (examen físico, anamnesis, interrogatorio y de laboratorio clínico) para

la correlación con el diagnóstico morfológico, con marcado énfasis en la edad y el sitio de localización nodal y extranodal. Con solo la edad del paciente y el sitio de localización se logra recortar aún más el diferencial; fue así en el caso de una mujer joven con tumor mediastinal en la que la única otra posibilidad diagnóstica al linfoma de célula grande mediastinal era el LHEN, y en los casos de linfoma de células pequeñas predominantes con ocasional célula grande en pacientes de edad avanzada, en los que las posibilidades eran LLC-LLP y LCM, -corresponden en histología a uno de cada tipo-. En los que se presentaron con patrón de células grandes predominantes la problemática diagnóstica no es relevante en cuanto a distinguir entre LDCGB y LFG3B, que se tratan de igual forma; el estudio inicial positivo con CD20 descarta el LHDL, menos frecuente, y el LACG.^{5, 9-11}

En otros trabajos basados solo en criterios citomorfológicos se hace referencia a la gradación citológica de los LNH en bajo grado, intermedio y alto, que también denota su importancia para el manejo clínico de los pacientes, especialmente en centros con disponibilidad limitada para la realización de técnicas auxiliares. Otros autores usan criterios citológicos para tipos específicos de linfomas, como el Hodgkin, sin tener que hacer estudios histológicos en muchos casos, cuando todos los criterios citológicos están presentes¹⁰⁻¹⁴ y algunos tienen experiencia en el diagnóstico diferencial entre tipos específicos de linfomas (linfoma Hodgkin versus LACG). En hospitales pediátricos la BAAF utilizada en tumores de cabeza y cuello es válida para el estudio de los linfomas. Los criterios citológicos tienen gran valor diagnóstico, junto a la histopatología, con ventajas y limitaciones en ambos métodos, como sucede con el estudio del medulograma y la biopsia de médula ósea.^{11,15}

La correlación citohistológica confirma una elevada precisión diagnóstica con una sensibilidad de 100, en 28 casos complejos, aún sin estudios de inmunofenotipaje y la reducción del diagnóstico diferencial y su coincidencia con el diagnóstico histopatológico definitivo, amerita su validación y aplicación como diagnóstico preliminar y como complemento de la biopsia histopatológica ganglionar (o ambos).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.Arber J. Diagnostic algorithm for clonality molecular testing in lymphoid proliferations. *J Mol Diagn.* 2000; 2(4): 178–90.
- 2.Mathur S, Dawar R, Verma K. Diagnosis and grading of non-Hodgkin's lymphomas on fine needle aspiration cytology. *Indian J Pathol Microbiol.* 2007 jan; 50(1): 46-50.
- 3.Onofre ASC, Pomjanski N, Buckstegge B, Böcking A. Immunocytochemical Typing of Primary Tumors on Fine-Needle Aspiration Cytologies of Lymph Nodes. *Diagn Cytopathol.* 2008 apr; 36(4): 207-15.
- 4.Mathiot C, Decaudin D, Klijanienko J, Couturier J, Salomon A, Dumont J. Fine-Needle Aspiration Cytology Combined With Flow Cytometry Immunophenotyping: Is a Rapid and Accurate Approach for the Evaluation of Suspicious Superficial Lymphoid Lesions. *Diagn Cytopathol.* 2006 jul; 34(7): 472-8.
5. Dey P. Role of ancillary techniques in diagnosing and subclassifying non-Hodgkin's lymphomas on fine needle aspiration cytology. *Cytopathology.* 2006 oct; 17(5): 275-87.

6. Rui L, Schmitz R, Ceribelli M, Staudt LM. Malignant Pirates of the Immune System. *Nature Immunology*. 2011; 12: 933–40.
7. Pathological Society of Great Britain and Ireland. *Jekyll and Hyde: the role of the microenvironment on the progression of cancer*. London: John Wiley & Sons; 2010.
8. Gregory CD, Pound JD. Cell death in the neighbourhood: direct microenvironmental effects of apoptosis in normal and neoplastic tissues. *J Pathol*. 2011 jan; 223(2): 177-94.
9. Zhang JR, Raza AS, Greaves TS, Cobb C. Fine-needle aspiration diagnosis of Hodgkin lymphoma using current WHO classification--re-evaluation of cases from 1999-2004 with new proposals. *Diagn Cytopathol*. 2006 jun; 34(6): 397-402.
10. Kolonic SO, Prasek-Kudrna K, Roso V, Radic-Kristo D, Planinc-Peraica A, Dzebro S, et al. Value of fine-needle aspiration cytology in diagnosis of Hodgkin's lymphoma and anaplastic large cell lymphoma: one centre experience. *Coll Antropol*. 2010 mar; 34(1): 309-13.
11. Hamid GA, Hanbala N. Comparison of bone marrow aspiration and bone marrow biopsy in neoplastic diseases. *Gulf J Oncolog*. 2009 jul; (6): 41-4.
12. Caraway NP, Katz RL. Lymph Nodes. In: Koss LG, Melamed MR. *Koss diagnostic cytology and its histopathologic bases*. Philadelphia: Lippincott; 2006. p. 1186-1228.
13. Xianfeng F, Zhao FX. Pitfalls in diagnostic hematopathology – Part II. *Int J Clin Exp Pathol*. 2010; 3(1): 40.
14. Alam K, Khan R, Jain A, Maheshwari V, Agrawal S, Chana RS, et al. The value of fine-needle aspiration cytology in the evaluation of pediatric head and neck tumors. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2009; 73(7): 923-7.
15. Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphomas: implications for clinical practice and translational research. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009: 523-31.

DEL AUTOR

1. Especialista de I y II Grados en Anatomía Patológica. Profesor Auxiliar Hospital "Mártires del 9 de abril", Sagua la Grande, Villa Clara.