



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO, OD

SECRETARIA DE SALUD

SERVICIO DE HEMATOLOGIA

**VALOR DE LA IMPRONTA DE GANGLIO LINFATICO EN EL
DIAGNOSTICO DE LAS NEOPLASIAS LINFOIDES**

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TITULO EN LA ESPECIALIDAD DE;

HEMATOLOGIA

PRESENTA

DRA CAROLINA PENICHE ALVARADO

ASESOR

DR. CHRISTIAN OMAR RAMOS PEÑAFIEL

JULIO 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

1. Antecedentes.....	4
2. Planteamiento del Problema.....	11
3. Justificación.....	12
4. Hipótesis.....	13
5. Objetivos.....	13
6. Diseño Metodológico.....	14
7. Resultados.....	17
8. Análisis y Discusión.....	18
9. Conclusiones.....	19
10. Referencias Bibliográficas.....	20
11. Anexo 1: Imágenes.....	24

ANTECEDENTES

La mayor parte de la información que actualmente sabemos sobre los cambios celulares de los procesos patológicos se ha dado a través del estudio microscópico, ya sea fijado, deshidratado, e integrado a bloques histológicos. Las primeras clasificaciones de los procesos linfoproliferativos fueron basados en los hallazgos morfológicos, sin embargo con el avance en el campo de los marcadores de inmunohistoquímica, surgieron conceptos nuevos que han completado el abordaje tradicional puramente morfológico para el diagnóstico de este tipo de neoplasias ^(1,2).

Las primeras descripciones de lo que actualmente reconocemos como linfoma fue contribución de Thomas Hodgkin (1882), Rudolph Virchow (con el término "linfosarcoma"), Carl Stenberg (1898) y Dorothy Reed (1902), quienes independientemente, describieron células gigantes bi o multinucleadas que llamaron Células de Reed-Stenberg (RS). Reed propuso que la presencia de estas células era suficiente para establecer diagnóstico de enfermedad de Hodgkin ⁽³⁾.

Fueron en estos primeros años en que se emplearon diferentes terminologías para definir los hallazgos morfológicos; pasando por "sarcoma de células reticulares" de Ewing, Oberling y Roulet, quienes cada uno describió tumores de células grandes, que se creyó que participaban de soporte al tejido linfoide, mas tarde, este término se utilizó para las neoplasias de células grandes. Posteriormente, la clasificación morfológica de Gall y Mallory (1941), basada en la revisión de su propia colección de 618 pacientes, reconociendo al linfoma folicular como una identidad clínica y morfológicamente distinta. Esta fue la primera clasificación de linfomas ampliamente utilizada en los Estado Unidos, incluyendo a la enfermedad de Hodgkin como un tipo separado de linfoma. Rappaport (clasificación de Rappaport, año 1956 y 1966), también describió hallazgos morfológicos, introduciendo los patrones nodular o difuso y cuatro categorías de "linfoma nodular": bien diferenciado linfocítico, pobremente diferenciado linfocítico, linfocítico mixto e histiocítico ^(3,4,5).

En la misma época, en 1966, Lukes y Butler publicó una nueva clasificación de la enfermedad de Hodgkin, reconociendo las categorías de esclerosis nodular y celularidad mixta. Así mismo se describió la variedad Linfoma Hodgkin de predominio linfocítico, en la cual se observó una variante de las células de Reed-Stenberg, conocidas como Células L&H o "células en palomitas de maíz" ⁽⁶⁾.

Fue a finales de 1960 y la década de 1970, cuando revolucionarios descubrimientos sobre la comprensión del sistema inmune, con el potencial de los linfocitos a proliferarse ante la respuesta a agentes mitógenos o antígenos y transformase en células grandes, así como la existencia de varios linajes diferentes de linfocitos (B, T y NK), irreconocibles morfológicamente, pero sí a través de antígenos de superficie o receptores, que dieron lugar a diferentes clasificaciones y conceptos basados en los hallazgos morfológicos como clínicos (clasificación de Kiel, Alemania en 1974), sin contar con un concepto universal. Esto condujo a confusión entre clínicos y patólogos, por lo que en 1982, se introdujo la clasificación de la

Formulación de trabajo (Working Formulation), resultado de un estudio internacional, multiinstitucional, auspiciado por el Instituto Nacional del Cáncer (NCI) de los EE.UU. que intentó evaluar la relativa utilidad de varios esquemas de clasificaciones, que estaban siendo utilizadas por diferentes investigadores y grupos de trabajo. Estaba basada en los aspectos morfológicos y no tomaba en cuenta los aspectos inmunofenotípicos, agrupando los linfomas en bajo, intermedio y alto grado de malignidad, de acuerdo a la correlación clínica de los casos incluidos en el estudio⁽³⁾.

Desde entonces, hubieron avances alimentados por contribuciones de la inmunología, la citogenética y la biología molecular, por lo que el Grupo Internacional de Estudio de los Linfomas (ILSG), en 1994, promulgó una nueva propuesta titulada: A Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasm (R.E.A.L.). Esta clasificación está basada en el principio de que una clasificación es una lista de entidades patológicas “reales”, que se definen por una combinación de morfología, inmunofenotipo, hallazgos genéticos y características clínicas (Blood, 1994). A partir de ésta y gracias al mayor entendimiento sobre la naturaleza, el origen y la identificación de los diferentes linajes de linfocitos B, T y NK, así como los avances sobre la participación de las anomalías genéticas en la proliferación de los linfomas; se logró introducir, por primera ocasión, dentro de la Organización Mundial de Salud, una clasificación para los tumores hematológicos y de tejido linfoide en el 2001. La publicación de la clasificación de la OMS en 2001 marcó el comienzo de una nueva era en la que todos los científicos, médicos, así como patólogos que participan en la investigación, diagnóstico y atención del paciente con linfoma, finalmente hablaran el mismo idioma. En el 2008, se realizó una actualización a la clasificación de la OMS para neoplasias hematológicas y tejidos linfoides, incluyendo hallazgos moleculares estudios y citogenéticos como la hibridación in situ de fluorescencia (FISH) para la detección de translocaciones comunes y re arreglos en el receptor de célula T (TCR) y las cadenas pesadas de las Ig. Esta clasificación es la que actualmente se encuentra vigente^(3,7,8).

En el transcurso del tiempo, hemos contado con diferentes técnicas de biopsia para el estudio morfológico. Entre los tipos de biopsia de ganglio linfático están: la aspiración por aguja fina, indicada en pacientes pediátricos con adenomegalías, pacientes con diagnóstico previo de malignidad ó cuando existe una contraindicación quirúrgica por acceso anatómico difícil (intratorácicas, intrabdominales o retroperitoneales). La incisional o por aguja gruesa (trucut), realizada principalmente cuando existe un plastrón adenomegálico voluminoso e infiltrante. La biopsia escisional, que se considera la más adecuada; así como las biopsia transoperatoria, realizadas principalmente en adenomegalias intrabdominales, intratorácicas y retroperitoneales^(1,9,10).

En un estudio poblacional holandés, la prevalencia de linfadenopatías no explicadas en la población general fue de 0.6%. La presencia de ganglios linfáticos menores de 1 cm pueden palparse en regiones cervical, axilar o inguinal en individuos sanos. En este estudio el 10% de los pacientes son enviados al especialista y solo 3.2% se les realizó biopsia⁽¹¹⁾.

En los adultos, las adenomegalias casi siempre son localizadas (75% de los casos) y predominantemente cervicales en más de la mitad de los casos; con frecuencia ocasionadas por neoplasias primarias o metastásicas, En el 25% de los casos están presentes de manera

generalizadas y debe considerarse la sospecha de enfermedad sistémica. La identificación de pacientes con linfadenopatías cervicales que requieren de una biopsia ganglionar es a menudo difícil. En la mayoría de los casos, se tratan de procesos autolimitados que no requieren tratamiento, en especial en niños. La ecusonografía es una herramienta de imagen no invasiva útil para la evaluación de ganglios linfáticos cervicales para diferenciar lesiones benignas de procesos linfoproliferativos malignos, aunque el subtipo no se puede determinar utilizando este examen; demostrando por Orita, Y et al (2011) una sensibilidad del 94%, con un 75% de especificidad ^(12,13,14).

La biopsia por aguja fina (BAAF) es el método diagnóstico de elección en el estudio inicial, ya que es sencillo, rápido, económico y generalmente con mínima o nula morbilidad. Sin embargo se requiere la evaluación de un citopatólogo experimentado que garantice que el material es adecuado. Las dificultades en el uso de la BAAF se relacionan con la falta o la errónea información clínica, muestras no representativas, la contaminación de las muestras por otros tejidos adyacentes a la lesión, artefactos provocados en el procesamiento y las técnicas de los exámenes complementarios. La precisión diagnóstica de linfoma utilizando aguja gruesa y / o BAAF han sido ampliamente reportado en los ganglios linfáticos profundos, en su mayoría por grupos europeos, y la tasa de precisión varía entre 70% y 98%, dependiendo de la habilidad para la realización de estos procedimientos. Para linfoma no Hodgkin (LNH) depende de encontrar una población relativamente monótona de células linfoides en el frotis y se ha reportado una tasa 67,5% a 86% en su subtipificación ^(15,16,17).

En la patología de rutina, muchos más nodos se ven con cambios reactivos en lugar de características malignas. Estas situaciones son de los obstáculos más comunes en la BAAF. Muchos de estos cambios reactivos pueden tener características atípicas y con frecuencia pueden confundirse con linfoma, por lo que es difícil diferenciar estos cambios benignos de los malignos. Una de las formas más comunes de la hiperplasia benigna linfocítica visto en los ganglios extirpados es la hiperplasia folicular reactiva. En la mayoría de los casos son bastante evidentes en el examen con hematoxilina y eosina, con poca necesidad de más estudios complementarios. Sin embargo, en algunos de estos casos son difíciles de distinguir del linfoma folicular por motivos histológicos ^(19,20). El proceso linfomatoso puede ser focal y no involucrar todos los nodos que parecen estar aumentados. En particular, los linfomas de bajo grado son difíciles de diagnosticar, incluso en una biopsia escisional. El patrón de los hallazgos arquitectónicos es muy importante para diagnóstico histológico y distinguir entre un proceso reactivo y un linfoma de bajo grado utilizando BAAF por sí sola es difícil. El patrón de lesiones reactivas es muy variable, dependiendo del grado de estimulación, el número y tamaño de los centros germinales y el sitio de la cual se toma la muestra. Si la muestra es aspirada desde el centro germinal, se observará fragmentos de tejido conjuntivo laxo de células reticulares dendríticas, centroblastos, centrocitos y linfocitos pequeños, mientras que los aspirados paracorticales se encontrará principalmente linfocitos de tamaño variable, inmunoblastos, células plasmáticas, histiocitos no específicos y células endoteliales. (Orell y Sterrett, 2005) ^(19,21).

El citodiagnóstico de linfoma de Hodgkin depende de la demostración de células Reed-Sternberg (RS) o las células de Hodgkin (H) en medio de un fondo reactivo que incluye

linfocitos de aspecto normal, eosinófilos, histiocitos, y de células plasmáticas. Las células clásicas de RS son bilobulados, trilobulados, o multinucleadas (con un prominente nucléolo en cada lóbulo o en un solo núcleo) y una cantidad variable de citoplasma celeste. El patrón de la cromatina es finamente reticulado y claro. Las células H son grandes, mononucleares, cuyas características citoplasmáticas, el patrón de la cromatina, y la apariencia nucleolar son similares a las células de RS. Existe poca evaluación crítica sobre la BAAF en cuanto a su utilidad en el diagnóstico de linfoma de Hodgkin, probablemente porque, distinta de las observaciones hechas en linfoma no Hodgkin, el número de células neoplásicas son relativamente pequeñas en relación a los linfocitos reactivos en el fondo ^(21,22,23).

Gupta et al, (1991) realizaron estudios concomitantes con BAAF y biopsias escisionales de los ganglios linfáticos en 100 pacientes de Delhi, India, encontrando en su serie, una precisión diagnóstica para la BAAF de 77% en las hiperplasias reactivas, 77% en la linfadenitis tuberculosa, 75% en linfoma no Hodgkin y 85% en casos de carcinoma metastásico. Por estas razones, la citología por aspiración con aguja fina (BAAF) es cada vez más aceptada como una herramienta útil en el modo inicial de la investigación del aumento de un ganglio linfático, incluso en los trastornos hematológicos para el diagnóstico de linfoma maligno ^(12,17,23, 24).

Por otro lado, la citología por impronta es una herramienta para el diagnóstico de varias lesiones por su rapidez, bajo costo y muy útil mientras se espera el resultado histopatológico, en especial en el caso de patologías malignas donde el diagnóstico es necesario de manera urgente. La impronta ofrece la ventaja que proveer excelentes detalles citológicos mientras que en los bloques congelados se aprecia la arquitectura y mayor número de células. Pese a esto, recientemente no ha habido mucho interés en el método de citología por impronta ^(21,24).

Las primeras descripciones sobre las preparaciones celulares fueron hechas por Dugeon y Patrick (1929), utilizando raspados de tejido fresco. Así, Dugeon y Barrett, estudiaron un gran número de tumores y concluyeron que es posible obtener una descripción precisa. Sunberg utilizó improntas de ganglios linfáticos en el diagnóstico de varios procesos patológicos. Tanapatchaiyapong introdujo una técnica modificada para realizar improntas de ganglio linfático, haciendo pasar el portaobjetos (laminillas de vidrio) por la cara del corte del ganglio y posteriormente teñirla con una concentración modificada de tinción de Wright-Giemsa. Él afirmó excelentes resultados ⁽²⁴⁾.

Kojima, et al (1996) obtuvo hallazgos característicos de la enfermedad por arañazo de gato en el frotis de la impronta ganglionar, con la presencia de células epiteliales confluyentes con dispersión cerca y en el centro de neutrófilos contra un fondo de células inflamatorias polimórficas con número variable de células linfoides de mediano a gran tamaño, con aspecto sugestivo de linfocitos B monocitoide ⁽²⁵⁾.

La lesión principal y más común que da lugar a la dificultad en el estudio citológico es el linfoma maligno en particular el linfoma no Hodgkin. O'Dowel et al (1985) y Stanni (1987) aportaron algunos criterios diagnósticos para linfadenitis reactiva. Según ellos, una población mixta de células linfoides con predominio de linfocitos pequeños junto con centroblastos y centrocitos asociados con las células reticulares dendríticas y macrófagos

favorece el diagnóstico de linfadenitis reactiva. Durante el pasado, se ha estudiado al linfoma por hallazgos citológicos. El primer caso reportado de la enfermedad de Hodgkin se diagnosticó por Guthrie (1921). Este informe fue seguido por Forkner (1927), Loeske y Gravel (1946), Meatheinghon Ackerman (1947) y Morrison y colaboradores (1952) ^(21,26).

Por lo general se observa que los casos falsos negativos de los linfomas son generalmente de tipo no-Hodgkin. Carter et al (1998) describe el papel de la citología en el linfoma e hizo hincapié en que es útil en el diagnóstico inicial del linfoma, así como para llegar a un diagnóstico en el enfermo terminal, para identificar enfermedades infecciosas y en la recurrencia y estadificación de linfomas ^(19,20,22).

Molyneux et al (1997) señaló las dificultades principales relacionadas en el diagnóstico de linfoma a través de la citología por impronta, destacando que a menudo es difícil diferenciar el linfoma no Hodgkin con los cambios reactivos y el linfoma de Hodgkin ⁽²¹⁾.

Los ganglios linfáticos son el sitio más común de metástasis de tumores malignos y, a veces constituyen la primera manifestación de la enfermedad. Esto puede ser causado por la propagación y el crecimiento de células cancerosas o hiperplasia reactiva ⁽²⁷⁾.

El papel de la citología por impronta en el diagnóstico de tumores benignos y lesiones malignas fue estudiada por varios investigadores, encontrando una exactitud diagnóstica del 94,3%, 78%, 92% y el 97%, respectivamente, por Scopa et al (1990), Molyneux et al (1997), Patra et al (2003) y Al - Mulhim et al (2004), mientras que la precisión diagnóstica, la sensibilidad y especificidad para tumores metastáticos se informó de que el 94%, 97% y 90%, respectivamente, por Anastasiadis (2000), el 96%, 90,8% y 92,1% en Motomura et al (2000), sin embargo, informes anteriores por Quill et al (1984) encontraron 93% de sensibilidad y 98% especificidad y la precisión diagnóstica fue de 99,3% en Bhabra et al (1989), 97,3% por Ogawa y col (1992) y el 98% por Fisher et al (1993) ^(21,22,24).

En un estudio realizado en Nigeria (Ademiluyi SA, et al, 1986), se evaluaron 50 casos de pacientes con adenopatías no relacionadas con leucemia; reportando que el diagnóstico histológico y el de la impronta ganglionar fueron idénticos en 33 (66%) casos. El grado de correlación entre los resultados de ambos métodos fue significativa ($r = 0.82$; $p < 0.01$). El nivel de coincidencia en el diagnóstico por impronta fue del 100% para el linfoma de Burkitt, 91.6% para la enfermedad de Hodgkin, y 84.6% para el carcinoma metastático; sin embargo tuvieron una pobre coincidencia, en el linfoma no Hodgkin (40.0%) y en la tuberculosis (30.77%). En el caso de los procesos granulomatosos como la tuberculosis, las características morfológicas descritas como la presencia de células gigantes de Langhan, son difíciles de identificar por estos métodos.

En otro estudio más reciente, por Arif SH, et al (2011), se incluyeron 102 casos, de los cuales el 71.59% ($n = 73$) eran de lesión inflamatoria, incluidas la linfadenitis tuberculosa (30,4%), linfadenitis inflamatoria crónica en un 40,21% ($n = 41$) y lesión aguda supurativa en 0,98% ($n = 1$), seguido por tumor metastático 14,69% ($n = 15$), de los cuales 12 casos correspondieron adenocarcinoma y 3 a carcinoma de células escamosas. Los tumores

primarios que incluyen tanto linfoma Hodgkin y linfoma no Hodgkin se presentó en un 13,72% ⁽²¹⁾.

En un estudio japonés, se evaluó la precisión de la citología por impronta para el diagnóstico de Linfoma de Hodgkin, la cual fue de 94% (32/34). En el presente estudio, de 34 casos que fueron confirmados histológicamente como linfoma de Hodgkin, 26 casos (76,5%) se diagnosticó de igual forma en el estudio citopatológico. Seis de los casos (17,6%) eran citológicamente sospecha, pero carecía de un diagnóstico definitivo. Sin embargo, la inmunohistoquímica de estos 6 casos corroboró el diagnóstico. De estos 6 casos, la variante las células en un caso se diagnosticó histológicamente como linfoma Hodgkin predominio linfocítico (LH-PL), e incluso mostró las palomitas de maíz", al igual que la celda la apariencia, pero no podía distinguirlas de las células neoplásicas de la variante rica de células T de la difuso linfoma de células B. En este tipo raro de linfoma no Hodgkin, sólo un pequeño número de grandes células neoplásicas están presentes en el fondo de reactivo. Las células T y las células neoplásicas grandes tienen morfológica características similares a" como palomitas de maíz", y las células de RS, por lo que es difícil llegar a un diagnóstico definitivo de HD-LP cito morfológicamente ⁽²⁸⁾.

Por último, dos casos (5,9%) fueron mal interpretadas como lesiones reactivas, a pesar de que fueron confirmados histológicamente como HD-NS y HD-LR, respectivamente. Carecían de las clásicas células RS en los materiales y la impronta demostró una escasez de las células mononucleares de forma irregular con grandes fina reticulada cromatina nucléolo y discreto en el fondo de las condiciones reactivas, como los pequeños linfocitos, eosinófilos, y / o lesiones granulomatosas. El diagnóstico común los errores están relacionados con grandes mononucleares neoplásica las células (es decir, las células H) y su diferenciación de inmunoblastos. La presencia de granulomas es común en HD, y linfadenopatías granulomatosas tan reactivos son una fuente potencial de confusión. Para evitarlo, siempre que sea un trastorno ganglionar granulomatosa se considera, un detallado búsqueda para excluir las células características de alta definición debe ser realizado ^(28,29).

Entre los observadores, se han observado variaciones en la precisión diagnóstica. Molyneux et al (1997), evaluó estas variaciones entre tres patólogos, encontrando una media del 78%. En el 61% de los casos con una impronta adecuada, los tres observadores colocaron a la impronta en la misma categoría diagnóstica como la histología, con el mayor número de errores para distinguir entre un proceso reactivo con linfoma no Hodgkin y entre linfoma Hodgkin con Linfoma No Hodgkin. Improntas ganglionar de enfermedades metastásicas eran generalmente las más distintivos de los casos, experimentando pocas dificultades. En este estudio, los resultados mostraron que existe una correlación estrecha con la final diagnóstica en casi el 80% de los casos, y la concordancia alcanzada entre observadores era moderada ($\kappa = 0,59$). Esto al compararlo con otros estudios citológicos como el frotis cervicovaginal en el estudio de atipia, mostró resultado favorecedores ⁽²⁹⁾.

Sin embargo, el diagnóstico histopatológico por biopsia escisional continua siendo el oro estándar para el diagnóstico de linfoma maligno en la mayoría de los centros, sin embargo con la aplicación de inmunohistoquímica para muestras de citología, la precisión diagnóstica de citopatología es significativamente mayor", y es equivalente a la de la histopatología en

muchas series. Por otra parte, los casos que son difíciles de para diagnosticar o clasificar usando la citología a menudo presentan dificultades similares cuando se utiliza histopatología ⁽²⁾. Esto lo reportó Molyneux, al realizar la variación interobservador, en donde se observó que las muestras que no pudieron ser valoradas por impronta, mostraron una fibrosis marcada ⁽²⁹⁾.

PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

En el estudio de pacientes con linfadenopatías localizadas o generalizadas, muchos son los abordajes de estudio de acuerdo a la presentación clínica.

La presencia de linfadenopatías es un motivo frecuente en la consulta médica, tanto en la atención primaria como en centros de referencia de segundo o tercer nivel de atención.

De acuerdo a los datos clínicos, se decide realizar biopsia en la mayoría de los casos.

La manera de abordaje se ha modificado con el tiempo, siendo la biopsia escisional considerada la estándar de oro para el diagnóstico definitivo. La desventaja de ésta es el costo y el tiempo de espera para contar con el resultado.

Al realizar improntas de la biopsia ganglionar, podemos contar con una preliminar diagnóstica que ofrece las ventajas en su rápida y fácil realización, es económica y se puede contar con un resultado en breve tiempo. Esto toma mayor importancia al enfrentarnos a casos urgentes, donde contar con un diagnóstico, es indispensable para el inicio del estudio de extensión y estadificación así como para la evaluación de la terapéutica.

En el departamento de morfología del servicio de hematología de nuestro hospital, se reciben improntas de las diferentes especialidades tanto médicas como quirúrgicas de los pacientes estudiados por adenopatías, por lo que evaluaremos la utilidad del método de citología por impronta para contar con un preliminar que permita al facultativo la toma de decisiones en el abordaje diagnóstico.

JUSTIFICACION

Las preparaciones de impronta tomadas de los ganglios linfáticos previas a su evaluación histológica, permiten brindar información sobre el posible diagnóstico antes de que los cortes de tejido permanentes se encuentren disponibles. En particular, el método ha sido de probada utilidad en la estadificación intraoperatoria de linfadenopatía y se ha utilizado como una alternativa a los cortes congelados. Otros estudios han descrito las características de varios tipos de linfoma no Hodgkin (LNH) en la citología por impronta. Aunque ha habido un incremento marcado en la literatura de trabajos relativos al diagnóstico citológico en muestras aspiradas o exfoliativas, no ha sido el mismo recién interés en el método de la citología de impronta ganglionar, a pesar de su larga historia como un método diagnóstico.

HIPOTESIS

Si los cambios citológicos de la impronta ganglionar que sugieren neoplasia linfoproliferativa (de tipo linfoma Hodgkin y Linfoma no Hodgkin) así como de enfermedad metastásica, se correlacionan con los hallazgos histopatológicos de la biopsia escisional, entonces la citología por impronta ganglionar puede ser empleada como una prueba de exclusión en el abordaje diagnóstico de neoplasias linfoproliferativas.

OBJETIVOS

GENERAL:

Determinar la sensibilidad y especificidad de la citología por impronta de la biopsia ganglionar con respecto al estudio histopatológico.

ESPECIFICOS:

Correlacionar los hallazgos citológicos de la impronta ganglionar con lo reportado en el estudio histológico.

Medir la variación interobservador e intraobservador entre las pruebas diagnósticas.

DISEÑO METODOLOGICO

Tipo de estudio: Descriptivo, Retrospectivo, Transversal.

Población y tamaño de la Muestra.

La población considerada fueron todas las improntas de biopsia ganglionar que hayan sido evaluadas en el departamento de morfología del Servicio de Hematología de nuestro hospital en el periodo comprendido entre enero del 2007 hasta junio del 2012.

Tamaño de la muestra: Para obtener un nivel de confianza de 99% y un error no mayor del 5%, se requiere evaluar por lo menos 207 improntas de biopsias ganglionares.

Criterios de Inclusión: Todas las improntas de biopsia ganglionar que cuenten con el reporte de histopatología definitivo.

Criterios de Exclusión: Aquellas improntas de biopsia ganglionar que no hayan sido evaluadas por el departamento de morfología del servicio de hematología.

Criterios de Eliminación: Aquellas improntas de biopsia ganglionar que no hayan podido ser evaluadas por mala técnica en su elaboración, destrucción del material, o por escaso materia

VARIABLES

Variable	Independiente/ Dependiente	Cualitativa/ Cuantitativa	Nominal/ Ordinal	Continua/ Discontinua	Unidades de medición
Citología de impronta ganglionar	Dependiente	Cualitativa	Ordinal		- Linfoma Hodgkin - Linfoma No Hodgkin - Hiperplasia Reactiva. - Metástasis secundarias -Normal
Resultado Histopatológico	Independiente	Cualitativa	Ordinal		- Linfoma Hodgkin - Linfoma No Hodgkin - Hiperplasia Reactiva - Metástasis secundarias - Normal
Observador	Dependiente	Cualitativa			
Sitio de obtención	Dependiente	Cualitativa	Nominal		-Cervical -Axilar -Supraclavicular -Inguinal -Anillo de Waldeyer -Retroperitoneal -Mediastinal

PROCEDIMIENTO

Este estudio se realizó en el departamento de morfología del servicio de Hematología de nuestro Hospital, en colaboración con el Servicio de Patología. Se revisaron todos los reportes citológicos de improntas de biopsia ganglionar que fueron recibidas en el periodo de estudio mencionado.

Técnica para la realización de la impronta ganglionar:

Las improntas fueron obtenidas de ganglios linfáticos recién extirpados. Los ganglios linfáticos fueron seccionados de forma sagital, se realizaron en promedio de 2 a 3 impresiones en laminillas de vidrio estériles y secadas a aire ambiente. Las improntas fueron teñidas con Wright-Giemsa y analizadas a 10x y 100x. El diagnóstico definitivo fue realizado mediante análisis de la pieza quirúrgica (ganglio linfático) y corroborado mediante tinciones de inmunohistoquímica. La pieza quirúrgica fue fijada y teñidas con hematoxilina-eosina (HE)

De los datos clínicos, se obtuvo, edad, sexo y sitio de obtención de la biopsia,

Los casos fueron asignados en cinco categorías: Linfoma de Hodgkin, Linfoma No Hodgkin, Proceso reactivo, metástasis secundarias y tejido normal. De los proceso linfoproliferativos, se subclasificarán de acuerdo a la Clasificación de la OMS 2008 para Neoplasias Hematológicas y tumores linfoides.

Análisis Estadístico:

Se determinó de forma inicial el índice Kappa para calcular la concordancia entre los dos observadores. Se consideró un valor de Kappa entre 0.4- 0.6 como una concordancia moderada. Posteriormente se determinó la sensibilidad y especificidad tanto para el estudio de impronta en general como para subgrupos específicos (Linfoma Hodgkin, carcinoma metastático) y finalmente valor predictivo positivo y valor predictivo negativo. Para el contraste de hipótesis se utilizó estadística no paramétrica mediante el análisis de chi-cuadrado consideró como significativo a un valor de p menor o igual a 0,005 (95% IC).

Definición Operacional:

$$\text{Sensibilidad: } \frac{\text{Verdaderamente Positivos}}{\text{Verdaderamente Positivos} + \text{Falsos negativos}} \times 100$$

$$\text{Especificidad: } \frac{\text{Verdaderamente Negativos}}{\text{Falsos Positivos} + \text{Verdaderamente Negativos}} \times 100$$

$$\text{Precisión Diagnóstica: } \frac{\text{Verdaderos Positivos} + \text{Verdaderos Negativos}}{\text{Verdaderos Positivos} + \text{Falsos Positivos} + \text{Verdaderos Negativos} + \text{Falsos Negativos}} \times 100$$

Verdaderos Positivos: Aquellos pacientes que se encontraron positivos en la prueba y quienes si tienen la enfermedad.

Falsos Positivos: Aquellos pacientes que no tienen la enfermedad y se encontraron positivos en la prueba.

Verdaderos Negativos: Aquellos con resultado negativo en la prueba y se encuentran sanos.

Falsos Negativos: Aquellos pacientes que tienen la enfermedad pero la prueba resultaron negativos.

Precisión Diagnóstica: Asignación de la impronta ganglionar a la misma categoría como su correspondiente “correcto” diagnóstico histopatológico.

Resultados

De los 251 casos, solo 199 cumplieron con los criterios de inclusión. Acorde al sexo la distribución fue homogénea (43.2% de los casos correspondieron al sexo femenino (n=86) y 56.8% (n= 113) al sexo masculino). La mediana de edad fue de 43 años (rango de 13 – 89años) con un promedio de 43.6 años.

Un 27.1 % de las improntas se consideró como reactivas (n=54), 16.1% se clasificó como Linfoma Hodgkin (n=32), 40.2% (n=80) como Linfoma No Hodgkin y un 16.6% (n=33) como carcinoma metastático.

Sensibilidad y Especificidad

De forma general la sensibilidad de la impronta de ganglio linfático fue del 88% (95% IC, rango 0.81-0.95) con una especificidad del 64% (95% IC, rango 0.55-0.73). El valor predictivo positivo fue 67% (95% IC, rango 0.59 – 0.76) con un valor predictivo negativo de 86% (95% IC, rango 0.79- 0.94) (Cuadro 1). Seleccionando al grupo en cual la impronta se considero sugerente de Linfoma Hodgkin (n=32), la sensibilidad fue del 50% (95% IC, rango 0.36- 0.64) con una especificidad del 50% (95% IC, rango 0.24 – 0.76), el valor predictivo positivo determinado fue del 78% (95% IC, rango 0.64 – 0.92) con un valor predictivo negativo del 22% (95% IC, rango 0.08 – 0.36). De los 33 casos reportados como carcinoma metastático por impronta la sensibilidad fue de 15% (95% IC, rango 0.01-0.28), con una especificidad de 67% (95% IC rango 0.29-1.04), el valor predictivo positivo fue del 67% (95% IC, rango 0.29 – 1.04) con un valor predictivo negativo de 15% (95%IC, rango 0.01-0.28).

Concordancia-interobservador

Se evaluó la concordancia inter-observador entre los dos médicos hematólogos que evalúan el estudio de impronta de ganglio linfático (Figura 1). El índice Kappa inter-observador fue de 0.467 considerándose acorde al puntaje establecido por Landis y Koch como un grado de acuerdo moderado (0,4-0,6).

Valor de la impronta de ganglio linfático

Se realizó estadística no paramétrica mediante el análisis de chi-cuadrado para corroborar la hipótesis. Para la muestra global el valor de p fue de 0.000* (95%,IC), al realizar subgrupos (Linfoma Hodgkin y carcinoma metastático) se obtuvieron resultados semejantes ($p = 0.000^*$, 95% IC).

Discusión y Conclusiones

El diagnóstico de todas las neoplasias linfoproliferativas ha evolucionado drásticamente gracias al uso de las tinciones de inmunohistoquímica el descubrimiento de alteraciones citogenéticas específicas o genes implicados en la proliferación y apoptosis (microarreglos). Gracias a esto tanto el diagnóstico como el pronóstico de los diversos subtipos de Linfomas se ha vuelto más certero. A pesar de todos estos avances, el análisis morfológico del ganglio linfático no ha sido aun remplazado. Desde hace más de 40 años el estudio morfológico preeliminar (impronta de ganglio linfático) ha sido una estrategia utilizada tanto por hematólogos y patólogos principalmente como diagnóstico diferencial debido a su facilidad y rapidez. Arif y cols describieron en su serie una sensibilidad y especificidad extremadamente alta (98.6% y 95.05% respectivamente) siendo mayor para las improntas que sugirieron carcinoma metastático (6). En algunos ensayos tanto la sensibilidad como la especificidad es semejante a lo descrito para la citología por aspiración con aguja fina (FNAC) (sensibilidad 92.7% y especificidad 98.5% con un valor predictivo positivo del 97.3%) (7). En algunos subtipos de linfoma debido a ciertas características morfológicas como lo es la presencia de células de Reed-Stenberg, la utilidad del análisis de la impronta es mayor (8). Desafortunadamente esta situación no sucede en el caso del Linfoma No Hodgkin (LNH) dada la complejidad morfológica de las diferentes variedades histológicas (9). En neoplasias no hematológicas, recientemente Lumachi y colaboradores estudiaron la utilidad del análisis de la impronta de un ganglio centinela en pacientes con estadios tempranos de cáncer de seno, reportando una sensibilidad y especificidad para la detección de metástasis del 75.7 y 100% respectivamente (10). En esta misma línea de cáncer, Safai y colaboradores reportaron un porcentaje de sensibilidad mayor (90%) en comparación con el gold estándar con muestras obtenidas durante el procedimiento quirúrgico (11). En nuestro estudio la sensibilidad fue aceptable pero contando con una especificidad moderada, acorde a lo esperado situaciones como el cáncer metastático contarían con una mayor especificidad. Por lo que concluimos 1) La impronta de ganglio linfático es un estudio aun de utilidad en el abordaje de las neoplasia linfoproliferativas pero consideramos que su principal valor es como diagnóstico diferencial con situaciones como el carcinoma metastático, 2) La concordancia entre nuestros observadores se consideró como moderada por lo que la sensibilidad y especificidad de la impronta dependiendo directamente de el grado de experiencia del observador. Esta técnica continuara perfeccionándose y consideramos que es parte importante dentro del abordaje de las neoplasias linfoproliferativas y de utilidad en especial para el personal médico en formación.

Tabla 1. Resultados del análisis de impronta de ganglio linfático y el reporte histopatológico final

	Biopsia Final		Total
	Negativa	Positiva	
Impronta POSITIVO	39 32.8%	80 67.2%	119 100%
Impronta NEGATIVO	69 86.3%	11 13.8%	80 100%

Tabla 2. Principales diagnósticos Histopatológicos finales

Diagnóstico final	Frecuencia (n=)	Porcentaje (%)
Hiperplasia linfoide	14	7
Linfoma Hodgkin	26	13.1
Linfoma No Hodgkin	67	33.7
Carcinoma Metastático	30	15.1
Estructura linfoide normal	59	29.6
Otros diagnósticos	3	1.5
Tuberculosis		
Histoplasmosis		

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Pineda Daboin KM y col. Patología Revista latinoamericana Volumen 46, núm. 1, enero-marzo, 2008
2. Kocjan G. Cytological and molecular diagnosis of lymphoma. *J Clin Pathol* 2005;58:561-7.
3. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Isaacson PG. Classification of lymphoid neoplasms: the microscope as a tool for disease discovery. *Blood*. 2008;112:4384-99.
4. Trumper LH, Brittinger G, Diehl V, Harris N-L. Non-Hodgkin's lymphoma: a history of classification and clinical observations. In: Mauch PM, Armitage JO, Coiffier B, Dalla-Favera R, Harris NL, eds. *Non-Hodgkin's Lymphomas*. Philadelphia, PA: Lippincott, Williams and Wilkins; 2004:3-19.
5. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues* (4th ed). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2008.
6. Barroso- Álvarez. Clasificaciones histopatológicas de los linfomas. *Rev Cubana Oncol* 1999;15(1):67-9.
7. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European- American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. 1994;84:1361-1392.
8. Rivas-Vera S. Clasificación de linfomas (OMS): pasado, presente y futuro *Gac Méd Méx*. 2002 138(1).
9. Pangalis GA, Vassilakopoulos TP, Boussiotis VA, Fessas P. Clinical approach to lymphadenopathy. *Semin Oncol* 1993;20:570-82.

10. Jeffers MD, Milton J, Herriot R, McKean M. Fine needle aspiration cytology in the investigation of non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Pathol* 1998;51:189-196
11. Orita Y, et al. Cervical lymph node extirpation for the diagnosis of malignant Lymphoma. *Surg Today*.
12. Habermann TM, Steensma DP, Lymphadenopathy. *Mayo Clin Proc*. 2000;75:723-732.
13. Williamson HA Jr. Lymphadenopathy in a family practice: A descriptive study of 249 cases. *J Fam Pract*. 1985; 20(5):449–52.
14. Das DK. Value and Limitations of Fine-Needle Aspiration Cytology in Diagnosis and Classification of Lymphomas: A Review. *Diagn Cytopathol*. 1999; 21(4):240-9.
15. Buley ID: Fine needle aspiration of lymph nodes. *J Clin Pathol* 1998, 51:881-885.
16. M D Jeffers, J Milton, R Herriot, M McKean. Fine needle aspiration cytology in the investigation of non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Pathol* 1998;51:189-196.
17. Amador-Ortiz, C et al. Combined Core Needle Biopsy and Fine-Needle Aspiration With Ancillary Studies Correlate Highly With Traditional Techniques in the Diagnosis of Nodal-Base d Lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2011;135:516-524.
18. Orell SR. Pitfalls in fine needle aspiration cytology. *Cytopathology* 2003, 14, 173–182.
19. Das DK. Value and Limitations of Fine-Needle Aspiration Cytology in Diagnosis and Classification of Lymphomas: A Review. *Diagn. Cytopathol*. 1999;21:240–249.

20. Good DJ, Gascoyne RD. Atypical Lymphoid Hyperplasia Mimicking Lymphoma. *Hematol Oncol Clin N Am* 23 (2009) 729–745.
21. Arif, S. H. Mohd Jaseem Hassan, Manu Jain, A. K. Verma, M. Naim, Role of Imprint Cytology in Diagnosis of Lymph Node Lesions. *Indian Medical Gazette*. 2011.
22. Koo CH, Rappaport H, Sheibani K, Pengalis GA, Nathwani BN, Winberg CD. Imprint cytology of non-Hodgkin's lymphomas based on a study of 212 immunologically characterised cases: correlation of touch imprints with tissue sections. *Hum Pathol* 1989; 20: 1–137.
23. Al – Mulhim A.S., Al Ghamdi A.M., Al- Marzooq Y.M., Hashish H.M., Mohammad H.A., Ali A.M., et al. The role of fine needle aspiration cytology and imprint cytology in cervical lymphadenopathy. *Saudi Med J*. 25 (7): 862 – 865, 2004.
24. Ademiluyi SA, Akinyanju OO, Mordi VP. Evaluation of lymph node imprint in rapid diagnosis of lymph node biopsy specimens. *JClin Pathol* 1986;39:688–9.
25. Kojima, Masaru, Nakamura, Shigeo, Koshikawa, Takashi *et al*. Imprint cytology of cat scratch disease: A report of eight cases. *APMIS*. 1996. 104 (5):389-394.
26. Chau I, Kelleher MT, Cunningham D et al. Rapid access multidisciplinary lymph node diagnostic clinic: analysis of 550 patients. *Br J Cancer*. 2003;88(3):354–61
27. Morris-Stiff G, Cheang P, Key S, Verghese A, Havard TJ. Does the surgeon still have a role to play in the diagnosis and management of lymphomas? *World J Surg Oncol*. 2008, 6:13
28. Funamoto Y et al .Diagnostic Accuracy of Imprint Cytology in the Assessment of Hodgkin's Disease in Japan *Diagn. Cytopathol*. 2005;33:20–5

29. Molyneux AJ, Attanoos RL, Coghill SB. The value of lymph node imprint cytodiagnosis: an assessment of interobserver agreement and diagnostic accuracy. *Cytopathology* 1997, 8, 256–64.

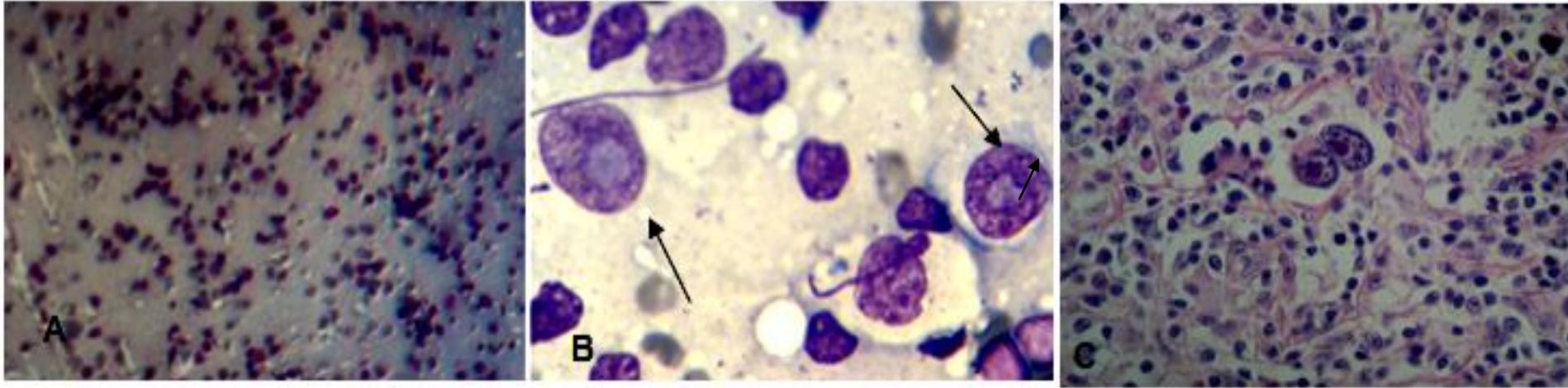


Figura 1. Linfoma Hodgkin Clásico. Variedad Celularidad Mixta. B. Se aprecian células grandes, mononucleares, nucléolo prominente con citoplasma claro, corresponde a Célula de Hodgkin (flechas) (Wright) C. Histopatología, se aprecia célula de Hodgkin. (H&E).

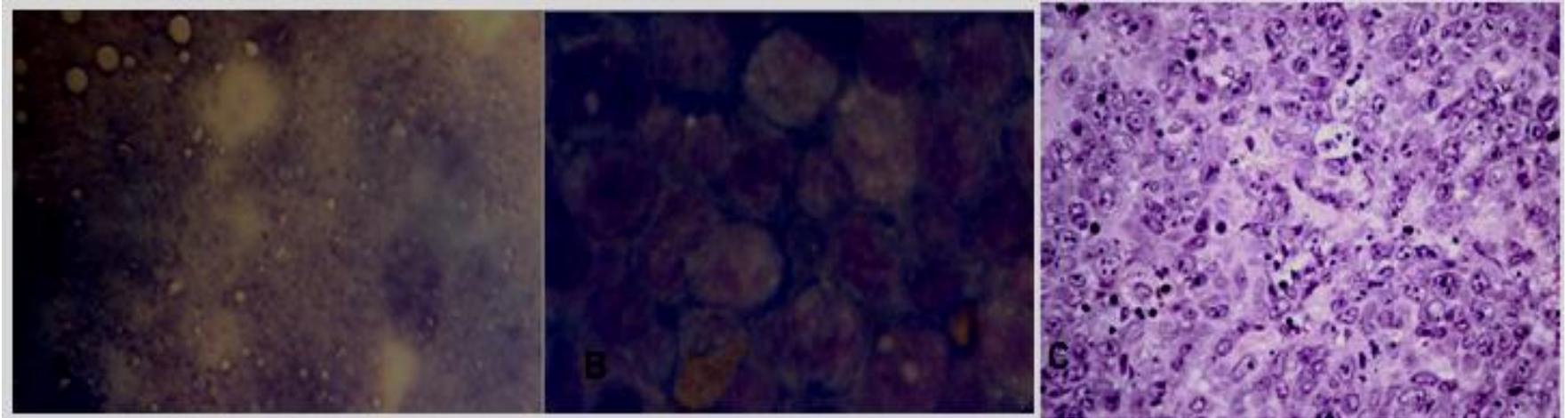


Figura 2. Linfoma No Hodgkin. Difuso de Células Grandes B. A. Campo 10X, patrón difuso. B. Campo 100X. Infiltración uniforme de linfocitos de tamaño grande (Wright). C. Histopatología (H&E).

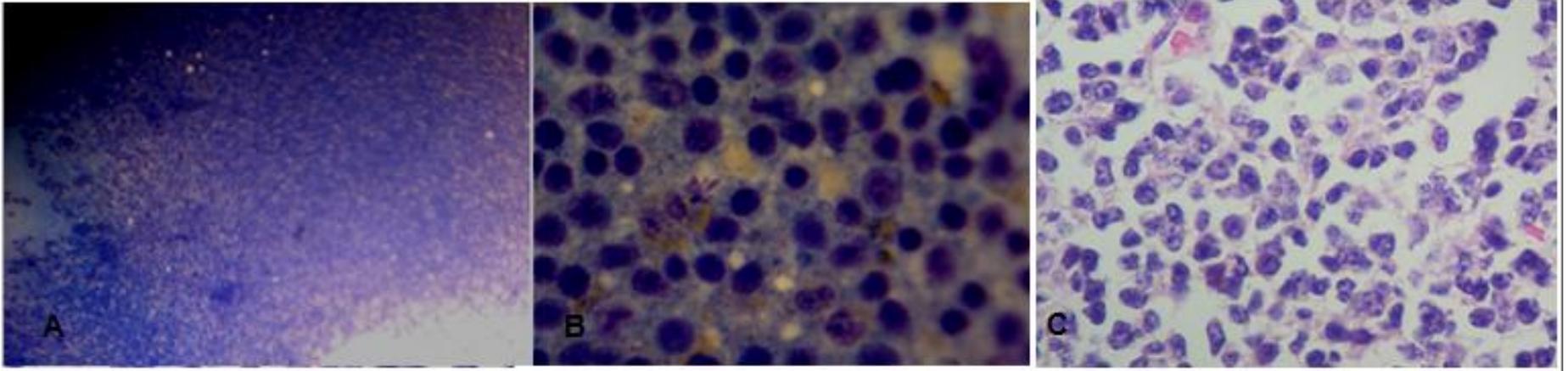


Figura 3. Linfoma No Hodgkin, Linfocitos Pequeños. Citología de Impronta ganglionar. A. Campo X 10x. B. Campo X100x, se aprecia población de linfocitos del mismo tamaño, de distribución difusa. (Wright) C. Histopatología (H&E)

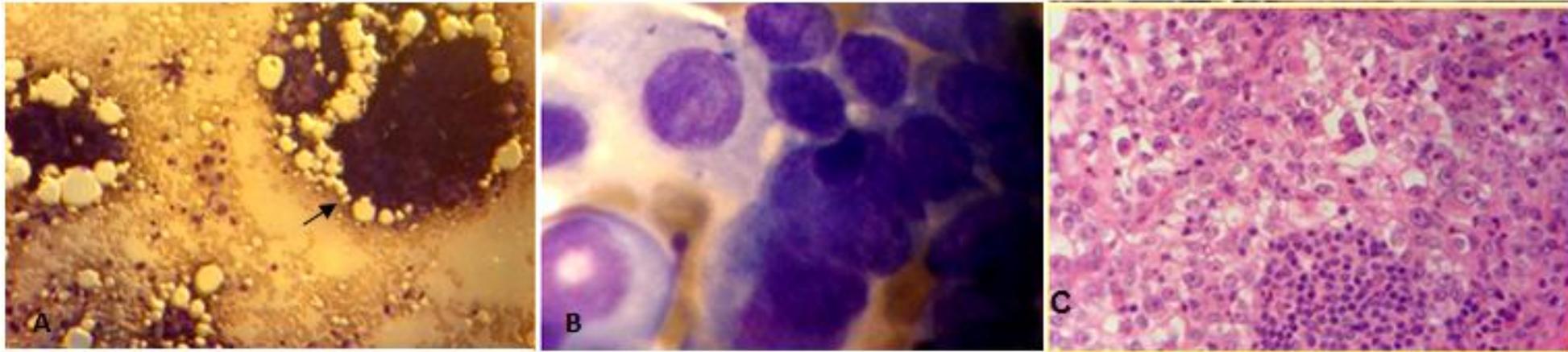


Figura 4. Citología por impronta ganglionar. A. Campo X10. Distribución celular formando Sincitios (flecha). B. Células Grandes, en acúmulos, en un paciente con carcinoma. (Wright). C. Histopatología (H&E), donde se aprecia células de aspecto epitelial.