



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACION SUR DEL DISTRITO FEDERAL
UMAE DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI

**“FRECUENCIA DE LINFOMAS NO HODGKIN Y USO DE LA
INMUNOHISTOQUIMICA PARA SU CLASIFICACION EN LA U.M.A.E.
HOSPITAL DE PEDIATRIA CMN SIGLO XXI, DEL 2005 AL 2009”**

No De Folio: F- 2010-3603-9

TESIS

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
ESPECIALIDAD EN ANATOMÍA PATOLÓGICA

PRESENTA:

DRA. MARIA DE LOS ANGELES MACIAS CLAVIJO

ASESOR DE TESIS:

DRA. ALICIA RODRIGUEZ VELASCO



MEXICO, D.F.

FEBRERO 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



REGISTRO NACIONAL DE TESIS DE ESPECIALIDAD

IMSS

Delegación: SUR DEL DISTRITO FEDERAL Unidad de adscripción: UMAE DE ESPECIALIDADES CMN SXXI

Asesor Nombre: DRA. ALICIA RODRIGUEZ VELASCO Matrícula 3499308

Paterno: MACIAS Materno: CLAVIJO Nombre: MARIA DE LOS ANGELES

Matrícula: 99377303 Especialidad: ANATOMIA PATOLOGICA Fecha Grad: 28/02/2010

Título de la tesis:

“FRECUENCIA DE LINFOMAS NO HODGKIN Y USO DE LA INMUNOHISTOQUIMICA PARA SU CLASIFICACION, EN LA U.M.A.E. HOSPITAL DE PEDIATRIA CMN SIGLO XXI, DEL 2005 AL 2009”.

RESUMEN:

INTRODUCCION: Las leucemias, los linfomas y los tumores del SNC tienen la mayor incidencia en las diferentes neoplasias de la edad pediátrica. En los niños, las neoplasias de estirpe linfoide, principalmente las No Hodgkin (LNH) tienen una epidemiología y morfología significativamente diferentes a las de la edad adulta. Comprenden un grupo heterogéneo de neoplasias, pero los que predominan en la niñez son: linfoma linfoblástico de células precursoras B o T (LBL), linfoma de Burkitt (BL) y linfoma de células grandes anaplásico (ALCL). La inmunohistoquímica (IHQ) no está al alcance de manera rutinaria dentro del estudio anatomopatológico en países en desarrollo como el nuestro e incluso dicho estudio se lleva a cabo más con fines de investigación que de diagnóstico, mientras que para diagnóstico, clasificación y tratamiento la IHQ permite obtener datos muy precisos. Ya que en nuestro hospital la IHQ no tiene muchos años que empezó a utilizarse de manera rutinaria como herramienta para el diagnóstico de los linfomas; nuestro propósito es estudiar la frecuencia con la que se presentan los LNH en la edad pediátrica y registrar los casos de LNH que se les ha realizado IHQ durante los últimos cinco años. **MÉTODO:** Se trata de un estudio observacional, descriptivo, retrospectivo y transversal, en la U.M.A.E. Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI. El universo de trabajo está constituido por 79 casos diagnosticados como LNH, registrados en la base de datos del servicio de Anatomía Patológica, durante un periodo de 5 años (1 de Enero del 2005 al 31 de Diciembre del 2009), se eliminaron 9 casos, cuatro de ellos debido que en el seguimiento se confirmó el diagnóstico de leucemia y el resto por ser casos diagnosticados por el método de BAAF (Biopsia por aspiración con aguja fina), por lo que el grupo final lo constituyeron 70 casos de LNH. Se recavaron las laminillas teñidas con HyE y la IHQ realizada en ese entonces de dichos casos. Del expediente clínico se obtuvieron los datos necesarios: edad, género y topografía de la lesión. Se revisaron los casos por un sólo patólogo. El análisis estadístico es descriptivo. **RESULTADOS:** De los 70 casos de LNH se encontraron 10 T-LBL, dos B-LBL, ocho BL, cuatro ALCL, ALK+, 23 casos en donde el subtipo de linfoma no se concretó, 16 casos diagnosticados como linfoma/leucemia y siete casos con dificultad diagnóstica. Se encontró también que el 57% de los casos diagnosticados como LNH se les realizó IHQ. **CONCLUSIONES:** Es de suma importancia clasificar adecuadamente los casos de LNH ya que su tratamiento depende en gran medida del diagnóstico correcto, apoyándonos sobretodo en la inmunohistoquímica.

PALABRAS CLAVES:

1) Neoplasias pediátricas 2) LNH pediátricos 3) Inmunohistoquímica 4) Características clínicas 5) Tratamiento

Pags: 27 Ilus: 9

Tipo de Investigación: _____

Tipo de Diseño: _____

Tipo de Estudio: _____

AGRADECIMIENTOS.

A **DIOS** POR PERMITIRME REALIZAR MIS SUEÑOS.
A MIS PADRES, **HILDA Y MANUEL** POR EL APOYO INCONDICIONAL.
A **EDGAR** POR TENER LA PALABRA EXACTA PARA LEVANTARME.
A **EDGAR ELIAS** POR SER FUENTE DE MI INSPIRACIÓN.
A MIS HERMANAS **LIBERTAD Y CLAUDIA** POR ESTAR PRESENTES SIEMPRE.

A LA **DRA, ALICIA RODRIGUEZ** POR SU PACIENCIA Y DEDICACION.

*Quise decirte: Hermana, duele bastante,
es cierto, todo lo que se alcanza, pero duele más
no tener nada.*

CLAUDIA MACIAS CLAVIJO.

1. DATOS DEL ALUMNO (Autor)	1. DATOS DEL ALUMNO (Autor)
Apellido paterno: Apellido materno: Nombre: Teléfono: Universidad: Facultad o escuela: Carrera: No. De cuenta:	Macías Clavijo María de los Angeles 53 19 92 12 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Medicina Anatomía Patológica 508218387
2. DATOS DEL ASESOR	2. DATOS DEL ASESOR
Apellido paterno: Apellido materno: Nombre:	Rodríguez Velasco Alicia
3. DATOS DE LA TESIS	3. DATOS DE LA TESIS
Título: No. de páginas: Año:	“Frecuencia de Linfomas No Hodgkin y uso de la inmunohistoquímica para su clasificación, en la U.M.A.E. Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI, del 2005 al 2009” 33 2011.

ÍNDICE

	Página
1. RESUMEN.....	9
2. INTRODUCCION.....	10
2.1. Antecedentes	
2.2. Planteamiento del problema	
3. OBJETIVOS.....	19
3.1 Generales.	
3.2 Específicos.	
4. MATERIAL Y MÉTODO.....	20
4.1 Diseño del estudio.	
4.2 Universo de trabajo.	
4.3 Variables de estudio.	
4.4 Descripción operativa.	
4.5 Selección de la muestra.	
4.5.1 Tamaño de la muestra.	
4.5.2 Criterios de selección.	
4.5.2.1 Criterios de inclusión.	
4.5.2.2 Criterios de no inclusión.	
4.5.2.3 Criterios de exclusión.	
5. RESULTADOS.....	22
6. DISCUSIÓN.....	26
7. CONCLUSIONES.....	29
8. ANEXOS.....	30
9. REFERENCIAS.....	32

1. RESUMEN

“FRECUENCIA DE LINFOMAS NO HODGKIN Y USO DE LA INMUNOHISTOQUIMICA PARA SU CLASIFICACION, EN LA U.M.A.E. HOSPITAL DE PEDIATRIA CMN SIGLO XXI, DEL 2005 AL 2009”

INTRODUCCION: Las leucemias, los linfomas y los tumores del SNC tienen la mayor incidencia en las diferentes neoplasias de la edad pediátrica. En los niños, las neoplasias de estirpe linfoide, principalmente las No Hodgkin (LNH) tienen una epidemiología y morfología significativamente diferentes a las de la edad adulta. Comprenden un grupo heterogéneo de neoplasias, pero los que predominan en la niñez son: linfoma linfoblástico de células precursoras B o T (LBL), linfoma de Burkitt (BL) y linfoma de células grandes anaplásico (ALCL). La inmunohistoquímica (IHQ) no está al alcance de manera rutinaria dentro del estudio anatomopatológico en países en desarrollo como el nuestro e incluso dicho estudio se lleva a cabo más con fines de investigación que de diagnóstico, mientras que para diagnóstico, clasificación y tratamiento la IHQ permite obtener datos muy precisos. Ya que en nuestro hospital la IHQ no tiene muchos años que empezó a utilizarse de manera rutinaria como herramienta para el diagnóstico de los linfomas; nuestro propósito es estudiar la frecuencia con la que se presentan los LNH en la edad pediátrica y registrar los casos de LNH que se les ha realizado IHQ durante los últimos cinco años. **MÉTODOS:** Se trata de un estudio observacional, descriptivo, retrospectivo y transversal, en la U.M.A.E. Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI. El universo de trabajo está constituido por 79 casos diagnosticados como LNH, registrados en la base de datos del servicio de Anatomía Patológica, durante un periodo de 5 años (1 de Enero del 2005 al 31 de Diciembre del 2009), se eliminaron 9 casos, cuatro de ellos debido que en el seguimiento se confirmó el diagnóstico de leucemia y el resto por ser casos diagnosticados por el método de BAAF (Biopsia por aspiración con aguja fina), por lo que el grupo final lo constituyeron 70 casos de LNH. Se recavaron las laminillas teñidas con HyE y la IHQ realizada en ese entonces de dichos casos. Del expediente clínico se obtuvieron los datos necesarios: edad, género y topografía de la lesión. Se revisaron los casos por un sólo patólogo. El análisis estadístico es descriptivo. **RESULTADOS:** De los 70 casos de LNH se encontraron 10 T-LBL, dos B-LBL, ocho BL, cuatro ALCL, ALK+, 23 casos en donde el subtipo de linfoma no se concretó, 16 casos diagnosticados como linfoma/leucemia y siete casos con dificultad diagnóstica. Se encontró también que el 57% de los casos diagnosticados como LNH se les realizó IHQ. **CONCLUSIONES:** Es de suma importancia clasificar adecuadamente los casos de LNH ya que su tratamiento depende en gran medida del diagnóstico correcto, apoyándonos sobretodo en la inmunohistoquímica.

PALABRAS CLAVES:

1)Neoplasias pediátricas 2)LNH pediátricos 3)Inmunohistoquímica 4)Características clínicas 5)Tratamiento

2. INTRODUCCION.

2.1 ANTECEDENTES.

Durante 1996 las neoplasias malignas en la edad pediátrica se encontraron dentro de las primeras cinco causas de mortalidad en niños mexicanos de 1 a 14 años de edad, que a saber fueron: 1. Accidentes; 2. Neumonía e influenza; 3. Enfermedades infecciosas intestinales; 4. Tumores malignos; 5. Malformaciones congénitas, y 6. Deficiencias de la nutrición.¹

En general, las neoplasias en los niños se agrupan en 12 categorías: I) leucemias; II) linfomas y otras neoplasias reticuloendoteliales; III) tumores del sistema nervioso central; IV) tumores del sistema nervioso simpático; V) retinoblastoma; VI) tumores renales; VII) tumores hepáticos; VIII) tumores óseos; IX) tumores de los tejidos blandos; X) tumores de células germinales, trofoblásticas y otras neoplasias gonadales; XI) carcinomas y otras neoplasias epiteliales malignas, y XII) otras neoplasias malignas inespecíficas. 1

El Dr. Fajardo (Fajardo y cols) menciona que, a su vez, Parkin y cols. en un estudio colaborativo de 68 países, dieron a conocer la incidencia específica de diferentes neoplasias de la edad pediátrica. La mayor incidencia fue para las Leucemias y los tumores del SNC. En ese estudio se hizo notar que existe distribución geográfica diferente para algunos tipos de neoplasias y los autores informan los tres patrones principales de distribución: 1) estadounidense/europeo, 2) latinoamericano y 3) africano. Sin embargo, para las neoplasias malignas de estirpe linfoide parece no haber diferencia en cuanto a la distribución geográfica ya que se encuentra dentro de los dos primeros lugares en cualquiera de los tres patrones. Información semejante es dada a conocer por Kaatsch.²

Tanto en los niños como en los adultos, las neoplasias malignas de estirpe linfoide se dividen básicamente en dos grandes grupos: linfomas no Hodgkin (LNH) y linfoma de Hodgkin (HL). Nosotros nos ocuparemos solamente de las primeras, éstas tienen una epidemiología y morfología considerablemente diferentes a las de los adultos. Los LNH comprenden un grupo heterogéneo de neoplasias y la distribución de los subtipos con base en la Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de tumores del tejido hematopoyético y linfoide, del 2008, son significativamente diferentes en niños y adultos. Los LNH que predominan en la niñez son: linfoma linfoblástico de células precursoras B o T (LBL), linfoma de

Burkitt (BL) y el linfoma de células grandes anaplásico (ALCL), mientras que la frecuencia del linfoma de células B grande difuso (DLBCL) se incrementa con la edad.³ Las siglas son las correspondientes a sus nombres en inglés. La clasificación de los LNH con base en su frecuencia se muestra en el **(cuadro1)**.⁴

Conforme a la OMS, la mayoría de los linfomas en los niños se originan en células precursoras (inmaduras) de fenotipo T o B, con predominio del primero (T) en el 70 a 80 % de los casos, pueden ser lesiones nodales o extranodales y son sólidas. El término linfoma es usado cuando el proceso es confinado a una masa sin o con mínima evidencia de afectación de la sangre periférica (SP) o médula ósea (MO), mientras que si la misma célula (precursora) forma parte de más del 25 % de la celularidad de la médula ósea (MO) y la sangre periférica (SP) el termino apropiado es el de leucemia.⁵

Los subtipos de LNH de la niñez exhiben diferencias significativas en términos de su biología molecular y características clínicas las cuales son de importancia para determinar las estrategias terapéuticas.³ Estas neoplasias afectan, sobre todo, a niños en el segundo y tercer lustros de la vida. Su localización es predominantemente extraganglionar, y al momento del diagnóstico generalmente se encuentran en etapa clínica avanzada (III ó IV) debido a que su comportamiento biológico es muy agresivo. Sin embargo, es muy importante tratar de hacer el diagnóstico oportunamente, o sea en etapa clínica temprana, debido a que cuando se siguen los protocolos modernos de tratamiento más del 70% de los pacientes se curan.⁴

Desde el punto de vista histopatológico, la mayor parte de estas neoplasias son difusas.⁴ La variedad morfológica debe establecerse, actualmente, con base no sólo en la morfología de las células sino que también con los hallazgos de inmunohistoquímica. Aunque se sabe que la cinética del ciclo celular da lugar a comportamiento biológico y por lo tanto clínico diferentes; como el de mayor propensión que tienen el linfoma linfoblástico (LBL) y el linfoma de Burkitt (BL), para afectar médula ósea y sistema nervioso central, los estudios de citogenética no se llevan a cabo de manera rutinaria dentro del estudio anatomopatológico ordinario, debido a que con la IHQ se puede tener un diagnóstico de alta precisión.³

CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS LINFOMAS MÁS FRECUENTES DE LOS NIÑOS.

LINFOMA LINFOBLASTICO (LBL).

Los Linfomas linfoblásticos de fenotipos B o T se originan de células precursoras (linfoblastos), tienen características cito-morfológicas indistinguibles entre ellas. Estas neoplasias afectan, sobre todo a niños en el segundo y tercer lustros de la vida. En la mayoría de los casos (25 a 50 %) los LBLs en niños son de células T. En frotis o improntas los blastos varían de pequeños con citoplasma escaso, núcleos redondos o irregulares, cromatina condensada y nucleolo inconspicuo a células grandes con citoplasma moderado, ocasionalmente vacuolado, núcleos redondos o irregulares, cromatina dispersa y múltiples nucleolos prominentes.⁵

LINFOMA LINFOBLASTICO B (B-LBL).

B-LBL constituye el 10% de los LBL, es más frecuente en menores de 18 años de edad y predomina en hombres 2.5 a 1. Se presenta de forma primaria afectando sitios nodales y extranodales: piel, tejidos blandos y hueso, las masas mediastinales son infrecuentes. La presentación en cabeza y cuello son comunes. Puede afectar MO y SP, pero el porcentaje de linfoblastos debe de ser menor del 20%. Pacientes en etapa clínica temprana son asintomáticos. En nódulos linfoides el patrón difuso o paracortical es menos común, el patrón de fila india en la infiltración de los tejidos blandos es común, las figuras mitóticas son numerosas. En algunos casos puede haber patrón en “cielo estrellado” focal. En la mayoría de los casos de B-ALL/LBL hay anormalidades citogenéticas, y en algunos son entidades específicas con características fenotípicas y pronóstico único, como: t(9;22) (q34;q11.2);BCR-ABL, t(v;11q23);MLL, t(12;21) (p13;q22);TEL-AML1 (ETV6-RUNX1), con Hiperdiploidia, con Hipodiploidia, t(5;14) (q31;q32);IL3-IGH, t(1;19) (q23;p13.3);E2A-PBX1 (TCF3-PBX1). Tiene pronóstico favorable, mejor en niños que en adultos.⁵

LINFOMA LINFOBLASTICO T (T-LBL).

El T-LBL comprende el 85 - 90% de todos los linfomas linfoblásticos. Frecuente en adolescentes, varones, pero puede verse en cualquier grupo de edad. La presentación más frecuente es mediastinal: timo y ganglios (supradiaphragmáticos), y extranodales (casi siempre secundaria): piel, amígdalas, hígado, bazo, SNC y testículos. Esta localización (mediastino anterior) y la expresión nuclear por medio de IHQ de la enzima *terminal deosynucleotidyl transferase* (TdT), característica de los timocitos, sugiere que la

mayoría de los LBLs son de células T. Puede afectar MO y SP, pero el porcentaje de linfoblastos es menos del 20%. Se presentan con una masa en mediastino anterior de rápido crecimiento, la dificultad respiratoria y el derrame pleural son comunes. En ganglios linfáticos la afección es difusa y hay invasión capsular, las figuras mitóticas son numerosas. Algunas veces puede verse un patrón multinodular producido por el tejido fibroso, imitando un linfoma folicular o un patrón en "cielo estrellado" que recuerda al linfoma de Burkitt. En el timo; hay un reemplazo extenso del parénquima. Con base en su inmunofenotipo puede ser subclasificado en las diferentes etapas de diferenciación intratímica. La anormalidad citogenética más común afecta al sitio alfa y delta del receptor TCR de las células T, en el locus 14q11.2, pero también puede afectar el sitio beta del receptor TCR en el locus 7q35, el sitio gamma del receptor TCR en el locus 7p14-15. El pronóstico depende de la edad del paciente, del estadio y los niveles de LDH. Los marcadores para estatificarlo adecuadamente se muestran a continuación: *Pro-T*: cCD3 +, CD7 +, CD2 -, CD1a -, CD34 +/-, CD4 y CD8; *Pre-T*: cCD3+, CD7+, CD2+, CD1a-, CD34 +/-, CD4 y CD8; *Cortical T*: cCD3+, CD7+, CD2+, CD1a+, CD34 -, CD4 y CD8+; *Medular T*: cCD3+, CD7+, CD2+, CD1a-, CD34 -, CD3 superficie +, solo es + uno CD4 o CD8.5

LINFOMA DE BURKITT (BL)

Es un linfoma de células B maduras. Tiene tres variantes clínicas: endémica, esporádica y asociada a inmunodeficiencia. *Endémica*: Se presenta en África ecuatorial, es común en niños, la edad pico va de los 4 a los 7 años, es más frecuente en varones (2:1), el genoma del virus de Epstein Barr se encuentra presente, afecta sitios extranodales: ileo distal, ciego, omento, gónadas, riñón, huesos largos, tiroides, glándulas salivales y mama, en el 50% de los casos la mandíbula y otros huesos faciales son los sitios de presentación. *Esporádica*: Se presenta en todo el mundo, en niños y adultos jóvenes, más común en hombres (2-3:1), el virus de Epstein Barr puede detectarse en el 30%, la mayoría se presentan como masas abdominales y la región íleo-cecal es la localización más frecuente; sin embargo, los ovarios, riñón y mama también son afectados. *Asociado a inmunodeficiencia*: En asociación con el VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana), el virus de Epstein Barr esta asociado en el 25-40%, aparece tempranamente en el VIH aún cuando la cuenta de células T CD4+ se han altas, la localización nodal es frecuente, así como en la médula ósea. En las tres variantes puede afectarse el Sistema Nervioso Central y algunas veces pueden afectar la MO como una leucemia, pero la SP no se encuentra infiltrada, la afectación mediastinal y en el anillo de Waldeyer son raras, la presentación en el ganglio linfático se presenta más

frecuentemente en adultos. Morfológicamente, son células de tamaño mediano, núcleos más pequeños que los de los histiocitos con cromatina densa y dispersa, con múltiples nucleolos paracentrales, citoplasma basófilo el cual contiene vacuolas lipídicas, con un patrón de crecimiento difuso y monótono, “patrón en cielo estrellado” dado por macrófagos benignos, la diferenciación plasmocitoide es común en los estados de inmunodeficiencia. Desde el punto de vista morfológico el BL se diferencia de LBL porque sus células son ligeramente más grandes, tienen núcleo ovoideo no cerebroide, con dos a cinco nucleolos aparentes y citoplasma basofílico, en los frotis y con tinción de rojo oleoso el citoplasma muestra vacuolas lipídicas. Las células expresan niveles moderados de inmunoglobulinas de superficie. Las células tumorales muestran reordenamiento clonal de las cadenas pesadas y ligeras de las Ig. La mayoría tienen la translocación Myc. Presentan otras alteraciones genéticas y epigenéticas. Es altamente agresivo, pero potencialmente curable. Los factores de mal pronóstico son: afectación a MO y a SNC, niveles séricos altos de LDH.⁵

LINFOMA DE CELULAS GRANDES ANAPLASICO (ALCL) ALK +

Linfoma de células T maduras. Frecuente en niños. 10 al 20% de los linfomas pediátricos. Predomina en hombres. Afectación nodal y extranodal: piel, hueso, tejidos blandos, pulmón e hígado, raro en intestino y SNC. Citoplasma abundante, núcleo pleomórfico, reniforme y excéntrico. Las características morfológicas oscilan de células pequeñas a células muy grandes. Cinco patrones morfológicos: común, linfocítico, células pequeñas, Hodgkin-like y compuesto. Existen otros patrones histológicos que pueden tener células gigantes multinucleadas, células monomórficas, células en anillo de sello o características sarcomatoides. Translocación del gen ALK, las translocaciones y proteínas fusionadas que afectan ALK, la más frecuente es t(2;5) entre el gen ALK y la nucleofosmina (*NPM*). Diagnóstico diferencial: ALCL, ALK (-), ALCL cutáneo (C-ALCL), otros subtipos de linfoma de células B o T con características anaplásicas y CD 30(+) (DLBCL, anaplásico, LH, PTCL-nos). Pronóstico favorable comparado con los ALK (-). Translocación del gen ALK.⁵

CARACTERISTICAS INMUNOHISTOQUIMICAS DE LOS LINFOMAS PEDIATRICOS MÁS

FRECIENTES⁶

MARCADORES DE INMUNOHISTOQUIMICA		TIPO DE LINFOMA			
MARCADOR	CUALIDADES	LINFOMA LINFOBLASTICO		LINFOMA DE BURKITT	LINFOMA ANAPLASICO DE CELULAS GRANDES ALK+
		T	B		
CD1a	Células presentadoras de antígenos.	+/-			
CD2	Todos los linfocitos T y células NK.	+/-			+ (70%)
CD3	Específico de células T	+			Negativo en el 75%
CD4	Timocitos, linfocitos helper, monocitos, macrófagos, granulocitos y células de Langerhans	+/-			+ (70%)
CD5	Timocitos, mayoría de células T.	+/-		negativo (+ en el 20%)	+ (70%)
CD7	Células T pro-timocitos y timocitos.	+			
CD8	Células T citotóxicas, levemente para células NK.	+/-			Negativo
Tdt	Células B y T precursoras.	+	+	Negativo (+ en el 20%)	
CD99	Marcador de precursores de células T	+	+		
CD10	Células del centro germinal (precursores B o T), granulocitos maduros	+/-	+	+	
PAX5	Se expresa en linfocitos pro, pre y linfocitos B maduros.		+		
CD13	Marcador mieloide	+ en 19 a 32%	+/-		
CD33	Marcador mieloide	+ en 19 a 32%	+/-		
CD19	Marcador de células B (centro germinal y zona del manto)		+/-	+	
CD20	Marcador de células B maduras, pero no células plasmáticas.		+/-	+	
CD22	Células B precursoras y maduras.		+	+	
CD23	Células B activadas de los centros germinales.			Negativo (+ en el 20%)	
CD24	Células precursoras de células B o T.		+		

CD30	Células linfoides. Altamente reactivo en células grandes, débilmente o negativas en células pequeñas.				+
CD45	Presente en la superficie de casi todas las células hematolinfoides		negativo		+/-
CD45RO	Isoforma de CD45, se encuentra en timocitos y células T.				+/-
CD79a	Marcador de células B (de los linfocitos pre-B a las células plasmáticas maduras).		+/-		
Kappa/Lambda	Monoclonalidad en la proliferación de células B.			+	
Bcl-6	Marcador de células del centro germinal.			+	
BEV	Células infectadas con el VEB			+	
Bcl-2	Linfocitos B pequeños del manto y zona marginal y algunas células T.			Negativo (+ en el 20%)	Negativo
ALK	Proteína, se expresa en tejidos normales durante la embriogénesis y sólo tiñe células gliales, neuronas y células endoteliales del SNC.				+

El diagnóstico oportuno y preciso es importante debido a que estas neoplasias progresan rápidamente y es por su comportamiento maligno y agresivo por lo que requiere quimioterapia agresiva.³

En el diagnóstico diferencial de los linfomas no Hodgkin en pacientes pediátricos hay que considerar, principalmente, los denominados “tumores malignos de células redondas pequeñas y azules”, los cuales incluyen: sarcoma de Ewing (tumor neuroectodérmico primitivo periférico) (CD99+, CD45-), rhabdomyosarcoma (ALK positivo, CD30 y EMA negativo), neuroblastoma, osteosarcoma de células pequeñas y tumor desmoplásico de células redondas pequeñas. También deben incluirse en el diagnóstico diferencial otras neoplasias malignas, aun cuando sean poco frecuentes o excepcionales, tales como: carcinoma indiferenciado, leucemia aguda no linfocítica, melanoma y tumor de células de Merckel. En los linfomas que afectan los ganglios linfáticos deben considerarse, además, las diferentes linfadenitis secundarias a estimulaciones antigénicas, principalmente las de origen viral que en un momento dado

pueden confundirse con linfomas.⁴ Si la morfología del linfoma, la clínica y la IHQ nos hacen pensar en otro subtipo de linfoma (LNH y HL) que con menos frecuencia afectan a los niños, se debe hacer el diagnóstico diferencial (**Anexo 2**). Una categoría limítrofe está entre el linfoma de Burkitt clásico y el DLBCL para lo que la nueva clasificación de la OMS (2008) incluye una entidad provisional llamada “linfoma B, no clasificable con características intermedias entre DLBCL y linfoma de Burkitt”. Muchos de los linfomas de este grupo, agrupados anteriormente como “burkitoides” o Burkitt- *like*, presentan características clínicas agresivas y muestran translocación tanto de gen 8q24/MYC como del BCL2 (doble Hit de Knudson). Éste es un grupo heterogéneo que no es considerado una entidad separada, pero es útil para clasificar casos que no cumplan con los criterios diagnósticos del linfoma de Burkitt clásico o el DLBCL. La mejor herramienta con la que cuenta el patólogo actualmente para dicha tarea es precisamente la IHQ.⁴

De los más de 50 tipos de linfomas que se han descrito sólo tres, de los diez que se presentan en la edad pediátrica, son frecuentes y por lo tanto, el panel de IHQ que se tiene que utilizar para precisar su diagnóstico en ellos no es muy amplio y debe estar al alcance de cualquier servicio de patología de un hospital pediátrico de tercer nivel de atención.^{7, 8} Sin embargo ésta no está al alcance de manera rutinaria dentro del estudio anatomopatológico en países en desarrollo como el nuestro e incluso dicho estudio se lleva a cabo más con fines de investigación que de diagnóstico, mientras que para diagnóstico, clasificación y tratamiento la IHQ permite obtener datos muy precisos.³ En éste hospital, la inmunohistoquímica (IHQ) no hace mucho tiempo que empezó a utilizarse de manera rutinaria como herramienta de apoyo para el diagnóstico preciso de los linfomas; nuestro propósito es estudiar la frecuencia con la que se presentan los LNH en la edad pediátrica, si se les ha realizado IHQ a todos los casos de linfoma durante los últimos cinco años y ver si es posible que se sigan las recomendaciones propuestas en la última clasificación de la OMS para el diagnóstico de los LNH.

2.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Los linfomas en México, son las segundas neoplasias más frecuentes en niños, están precedidas sólo por las leucemias y seguidas por los tumores del sistema nervioso central. En los niños, el comportamiento biológico de los linfomas varía de un tipo histopatológico a otro y por lo tanto el tratamiento dependerá principalmente de dicha variante. La OMS ha propuesto una clasificación actual de los linfomas y para ello se presenta a la IHQ como una herramienta fundamental; sin embargo, en países en desarrollo y con pocos recursos tecnológicos como el nuestro, no se lleva a cabo el estudio por medio de la IHQ de los linfomas, en dichos casos, da lugar a diagnósticos equivocados y por lo tanto a tratamientos inapropiados. De ahí que las preguntas de investigación son las siguientes:

¿Cuál es la frecuencia de los LNH en la U.M.A.E. Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI, durante un periodo de 5 años?

¿A cuántos casos de LNH pediátricos se les ha realizado IHQ durante los últimos cinco años?

3. OBJETIVOS.

3.1 Generales.

- Indagar la frecuencia de los casos de Linfoma no Hodgkin en la UMAE, Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI, en un periodo de 5 años.
- Registrar la IHQ que se ha realizado a los casos de Linfoma no Hodgkin en la UMAE, Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI, en un periodo de 5 años.

3.2 Específicos.

- Describir los subtipos de Linfomas no Hodgkin y características clínicas en los casos diagnosticados como LNH.
- Describir el número casos de Linfomas no Hodgkin a los que se les realizó la IHQ.

4. MATERIAL Y METODOS.

4.1 Diseño del estudio.

Observacional, descriptivo, retrolectivo y transversal.

4.2 Universo de trabajo.

Esta constituido por el total de pacientes pediátricos diagnosticados como linfoma no Hodgkin, registrados en el servicio de Anatomía Patológica de la UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI, durante un periodo de 5 años (1 de Enero del 2005 al 31 de Diciembre del 2009).

4.3 Variables de estudio.

- Características clínicas: edad, sexo y topografía de la lesión.
- Diagnóstico anatomopatológico.
- Inmunohistoquímicas.

4.4 Descripción operativa.

- Características clínicas: Conjunto de manifestaciones clínicas de los linfomas.
- Diagnóstico anatomopatológicos: Se trata del diagnóstico que se encuentra en el reporte del estudio histopatológico.
- Inmunohistoquímica: Se refiere al método de evaluación utilizada para algunas neoplasias.

4.5 Selección de la muestra.

4.5.1 Tamaño de la muestra.

No es necesario estimar un tamaño de muestra ya que se incluirán todos lo casos diagnosticados como linfoma no Hodgkin del servicio de Anatomía Patológica, de la UMAE Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI, durante el tiempo especificado.

4.5.2 Criterios de selección.

4.5.2.1 Criterios de inclusión.

- Derechohabientes del IMSS.
- Niños entre 1 a 18 años de edad.
- Ambos sexos.
- Niños con diagnóstico histopatológico de linfoma no Hodgkin.
- Casos recibidos del 2005 al 2009.

4.5.2.2 Criterios de no inclusión.

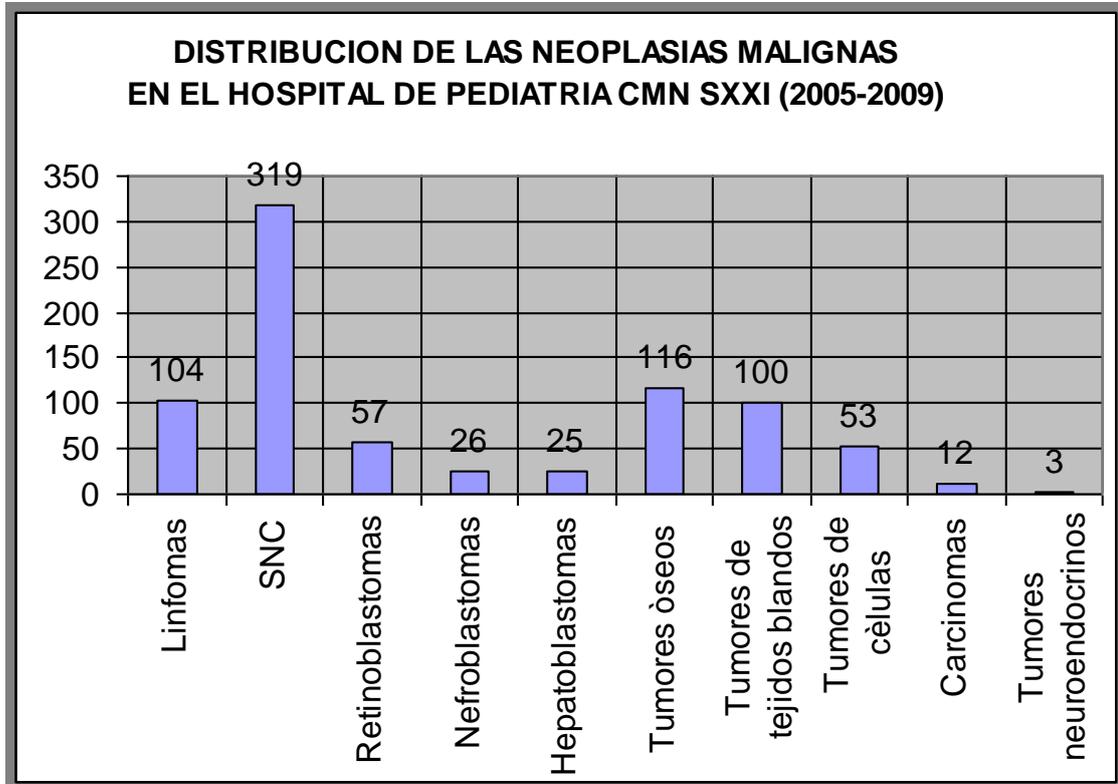
- No derechohabientes del IMSS.
- Casos con diagnóstico de linfoma de Hodgkin.

4.5.2.3 Criterios de exclusión

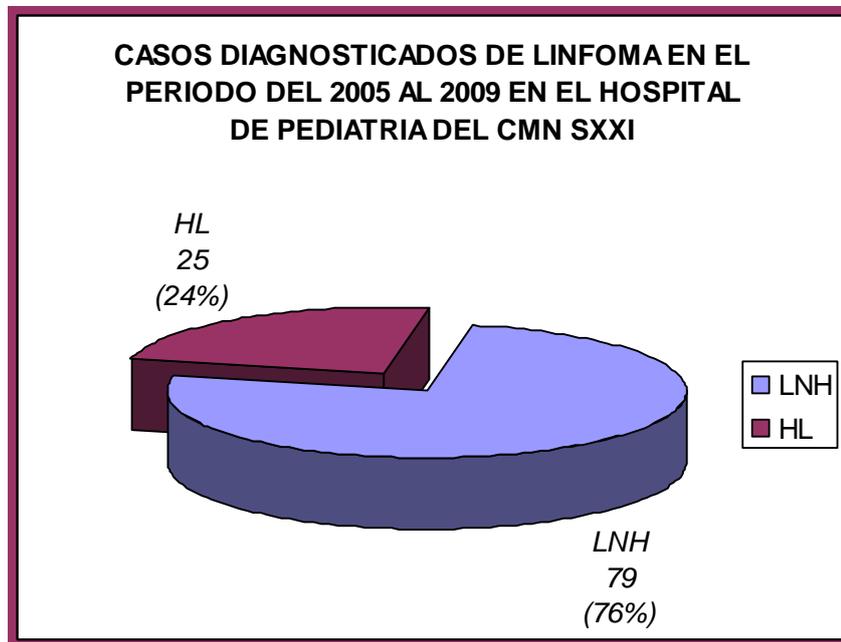
- Aquellos pacientes que durante el estudio el diagnóstico inicial de linfoma sea descartado.
- Pacientes con diagnóstico de Linfoma obtenido por Biopsia por Aspiración con Aguja Fina (BAAF).
- Casos con diagnóstico comprobado de Leucemia.

5. RESULTADOS.

De la base de datos del servicio de Anatomía Patológica de la UMAE Hospital de Pediatría CMN SXXI, se identificaron 8265 estudios histopatológicos revisados en un periodo de 5 años; (del 1º de Enero del 2005 al 31 de Diciembre del 2009), de los cuales el 8.4 % (696) corresponden a neoplasias malignas y de éstas 104 corresponden a casos que fueron diagnosticados y tratados como Linfoma. El diagnóstico de linfoma se hizo en la mayoría de los casos tras el estudio anatómo-patológico de una biopsia o de la resección quirúrgica de una masa abdominal o mediastínica y en algunos casos tras el estudio de líquido ascítico o de un derrame pleural. El resto de las neoplasias malignas fueron los siguientes: se encontraron 319 tumores del sistema nervioso central, 57 retinoblastomas, 26 tumores renales, 25 tumores hepáticos, 116 tumores óseos, 100 tumores de los tejidos blandos, 3 tumores neuroendocrinos, 53 tumores de células germinales, trofoblásticas y otras neoplasias gonadales; de las cuales 12 fueron gonadales, 39 extragonadales y 22 del SNC, y 12 carcinomas y otras neoplasias epiteliales malignas; las localizaciones más frecuentes fueron tiroides, colon, riñón, glándula adrenal e hígado.

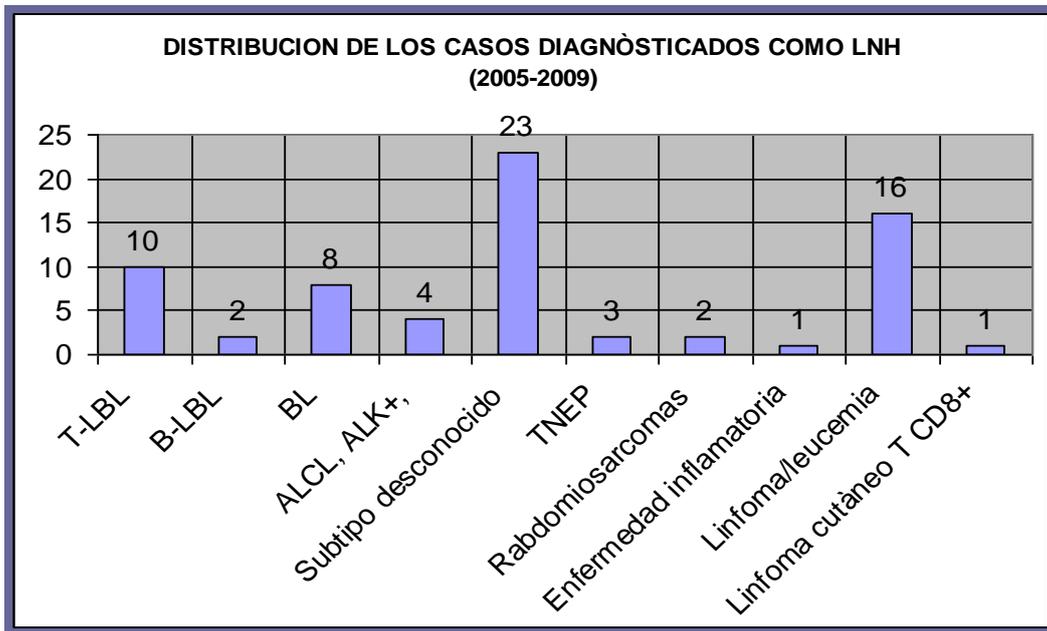


De los 104 casos de linfoma que se obtuvieron, en esta revisión sólo se estudiaron los casos de LNH; por lo tanto, no se incluyeron al estudio los casos con diagnóstico de linfoma de Hodgkin (n=25). Se lograron coleccionar 79 casos de LNH.

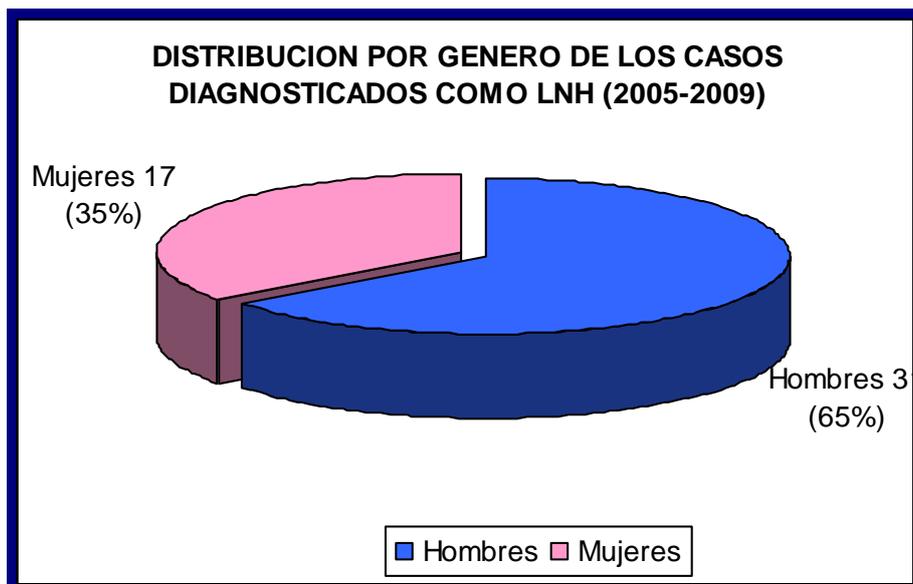


Se recabaron las laminillas de todos los casos de LNH, teñidas con HyE y la IHQ realizada en ese entonces para cada caso. Del expediente clínico se obtuvieron los datos necesarios: edad, género y topografía de la lesión. Los datos se consignaron en la hoja de “recolección de datos” (**anexo 2**). Posteriormente, se revisaron por un solo patólogo todos los casos mediante microscopia de luz y se registro cuantos casos contaban con la IHQ. De los 79 casos de LNH hubo 20 casos con diagnóstico de linfoma/leucemia y de éstos se excluyeron cuatro casos; debido a que en el seguimiento de los mismos se confirmo el diagnóstico de leucemia; por lo que sólo quedaron 16, también se excluyeron del estudio los casos diagnosticados por el método de BAAF sin bloque celular; 5, ya que por falta de material no hubo manera de corroborar el diagnóstico por IHQ. Con lo que se obtuvieron en total 70 casos de LNH para su revisión y análisis. De éstos, se encontraron: 10 T-LBL, dos B-LBL, ocho BL, cuatro ALCL, ALK+, 23 casos en donde el subtipo de linfoma no se concreto ya sea por que no se les realizó IHQ o la IHQ realizada fue confusa y, siete casos con dificultad diagnóstica ya que inicialmente fueron reportados como LNH y con base en los hallazgos de la IHQ se demostró que tres de cuatro casos fueron tumores neuroectodérmico primitivo (TNEP), el restante resulto ser un LBL, dos rabdomiosarcomas y, uno con enfermedad inflamatoria, los cuales son parte del diagnóstico diferencial con LNH; así como también, se encontraron 16

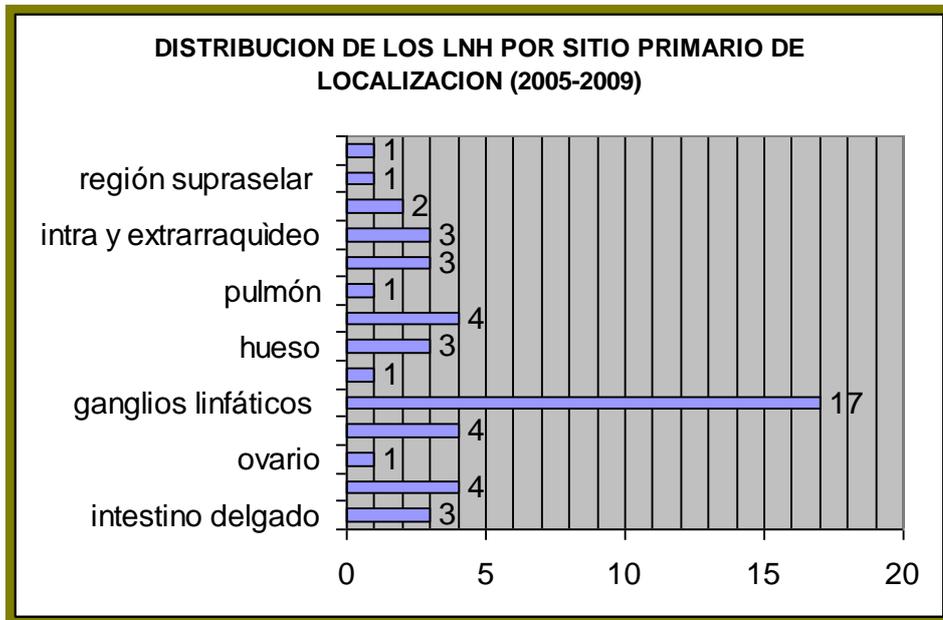
casos con el diagnóstico de linfoma/leucemia. Un caso fue reportado como Linfoma cutáneo T epidermotrópico citotóxico CD8 (+), en un niño de 16 años de edad.



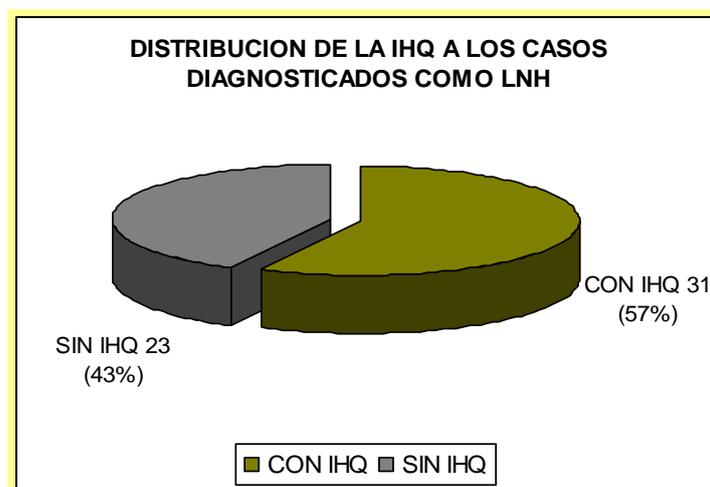
La edad de los 48 casos diagnosticados como LNH (excluyendo los casos de linfoma/leucemia, TNEP, rabdomyosarcoma, y enfermedad inflamatoria) varía de 1 a 16 años de edad con una media de 9.9 años y su distribución por género fue de 31 hombres (64.5%) y 17 mujeres (35.4%).



Dentro de las localizaciones de los diferentes subtipos de LNH se encontraron: tres en intestino delgado, dos en válvula ileocecal, dos en intestino grueso, uno en ovario, cuatro en retroperitoneo, 17 en ganglios linfáticos, uno en riñón, tres en hueso, cuatro en mediastino, uno en pulmón, tres en hueso maxilar, uno en la región extrarraquídeas, dos en la región intrarraquídea, dos en bazo e hígado y, uno en la región supraselar.



La IHQ también fue estudiada; sin embargo, no a todos los casos reportados como linfoma se les realizó ésta misma; por falta de material (anticuerpos) o por que la IHQ realizada no fue concluyente, por lo que dificulto clasificarlos dentro de un subtipo de LNH. Los casos diagnosticados como LNH que se les realizó IHQ, independientemente del diagnóstico final, fueron 31 (57%), y los casos a los que no se les realizó IHQ y que el diagnóstico fue hecho solamente con hematoxilina y eosina (HyE) fueron 23 (43%).



6. DISCUSION.

De acuerdo a los resultados arrojados por nuestro estudio la neoplasia en niños que más se presentan en el Hospital de Pediatría del CMN SXXI son las del SNC lo cual difiere con lo publicado en la literatura mundial, los segundos en frecuencia serian los tumores óseos y los linfomas; los primeros se ubican en el octavo lugar de acuerdo a algunas publicaciones internacionales.

Dentro de los linfomas, se observó que son más frecuentes los LNH que HL; sin embargo, no se pudo obtener el tipo de LNH más frecuente ya que al 47% de los casos diagnosticados como LNH no se les realizo IHQ para inmunotipificarlos y colocarlos adecuadamente dentro de un subtipo de LNH. Este porcentaje de casos sin clasificar es demasiado alto y preocupante, ya que se relaciona con el índice de recaídas por elegir de manera inadecuada el esquema de tratamiento a seguir. Así mismo se observo que los LNH se presentan con mayor frecuencia en el género masculino y la edad varía de 1 a 15 años de edad, datos que concuerdan con publicaciones similares. El sitio primario de presentación más frecuente, sin distinguir el subtipo de linfoma, fue ganglio.

La clasificación y evaluación de los linfomas no Hodgkin es fundamental, no sólo con el propósito de conocer en nuestro medio la epidemiología precisa de los LNH, sino debido a que el régimen de tratamiento debe ser diferente para cada subtipo.

Antes de la difusión de la utilidad de la IHQ, la cito e histomorfología eran los recursos que utilizaban los patólogos para la clasificación de los LNH, sin embargo con el advenimiento de la IHQ se ha vuelto imperativo la inmunotipificación básica ya que como hemos mencionado ello tiene implicaciones de tratamiento que permite en la mayoría de los casos la clasificación y colocación correcta de los pacientes en un subgrupo de tratamiento. Sin embargo; de acuerdo a la clasificación de la OMS (2008) la citogenética es requerida para el diagnóstico certero. La identificación de las translocaciones cromosòmicas por medio de la citogenética en los subtipos es decisiva en el diagnóstico; sin embargo, el método de hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH) es un método válido para visualizar las translocaciones cromosòmicas ya conocidas. En algunos casos pueden ser detectadas por reacción en

cadena de la polimerasa (PCR). Si este abordaje no es posible, el diagnóstico se basa en la biopsia teñida con HyE y en la inmunohistoquímica la cual debe de estar disponible con una amplia gama de anticuerpos.

Anderson JR (1993), en el estudio que realizó en el cual compara dos modalidades de quimioterapia LSA₂-L₂ (ciclofosfamida, vincristina, metotrexate, daunorubicina, prednisona, citarabina, tioguanina, asparaginasa, carmustin, hidroxiurea) *versus* COMP (ciclofosfamida, vincristina, metotrexate, prednisona) reveló tres principales hallazgos: 1) Los regimenes de quimioterapia diferente ejercen efectos distintos en los subtipos de LNH pediátricos, 2) Las diferencias en la eficacia del tratamiento se ven principalmente en estadios avanzados y 3) la eficacia del tratamiento en estadios avanzados es más marcada en pacientes con LBL y LB. Al mismo tiempo la tasa de supervivencia libre de eventos no fue diferente entre los regimenes de tratamiento en pacientes con Linfoma de células grandes.⁹

Hasta hace poco, fueron propuestos dos métodos distintos para estratificar la terapia en los LNH pediátricos uno es de acuerdo al subgrupo histológico y el otro de acuerdo al estadio en el que se encuentra, éste mismo lo han dividido en enfermedad con estadio localizado y enfermedad con estadio avanzado; sin embargo, un estudio aleatorizado del grupo de cáncer de los niños, demostró que incluso en pacientes con enfermedad localizada tuvieron efectos distintos a las estrategias terapéuticas múltiples en subgrupos histológicos diferentes. Actualmente hay tres principales subgrupos de LNH pediátricos que se han caracterizado con respecto a la estrategia terapéutica: LBL de células precursoras B y T, BL y ALCL. Los protocolos terapéuticos para ALL (Leucemia linfoblástica), se basan en la continua exposición a citostáticos durante un periodo largo de tiempo, éstos son eficaces para el tratamiento de niños con LBL. En contraste, ciclos de quimioterapia a dosis altas, repetidas a tiempos breves han demostrado ser más exitosos en el tratamiento de pacientes con BL/ B-ALL y también altamente eficaz para el tratamiento de pacientes con DLBCL. Los pacientes con ALCL han tenido resultados comparables con cualquiera de estas estrategias terapéuticas, sin embargo el ALCL se le ha considerado como un grupo de tratamiento separado, ya que los parámetros pronósticos son distintos, ya que tiene una mayor probabilidad de supervivencia después de la recaída comparado con otros subtipos. Otro subtipo de LNH en niños más raro, incluye el Linfoma de células T/natural killer periférico (PTCL/NK), en el cual el tratamiento óptimo aún no se ha establecido. Éste y otros subtipos de LNH raros, como el linfoma de células B grande mediastinal primario (tímico) (PMLBL) y linfoma folicular (juvenil) (FL) son candidatos para tratamientos específicos.³

En la U.M.A.E. Hospital de Pediatría del CMN SXXI, el abordaje de los pacientes se inicia con: historia clínica, cuadro clínico, exploración física, laboratorios (biometría hemática, DHL, pruebas de función hepática, frotis de sangre periférica y química sanguínea), estudios de imagen y medicina nuclear (gamagrama óseo con Tc 99, para infiltración a hueso), aspirado de médula ósea, biopsia de hueso, biopsia de ganglio y estudio de LCR (líquido cefalorraquídeo).

El tratamiento de los LNH varía de acuerdo al subtipo histológico y la duración del tratamiento va de 24 a 36 meses de acuerdo al estadio en que se encuentra el paciente y del género del paciente, ya que el tratamiento de las mujeres dura hasta 2 años 6 meses y el de los hombre se prolonga hasta los 3 años. En el *BL (Linfoma Burkitt)* la quimioterapia por inducción es a base del esquema de Murphy y el mantenimiento se da con CHOP (Ciclofosfamida, Antracíclico, Vincristina y Prednisona)/6MCP (6 mercaptopurina)/MTX, DI (dosis intermedias). En el *Linfoma de células grandes anaplásico, ALK + (ALCL, ALK+)* la quimioterapia se inicia con CHOP (Ciclofosfamida, Antracíclico, Vincristina y Prednisona), esto como inducción a la remisión, y para mantenimiento se usa CHOP más Bleomicina cada 21 días. En el *Linfoma linfoblástico (LBL)*, la inducción a la remisión se inicia con L-asparaginasa, Prednisona, Antracíclico, Ciclofosfamida y Vincristina, las dosis de mantenimiento se administran cada 21 días con CHOP/6MCP y cada 12 semanas con MTX a dosis intermedias (sólo durante el primer año de tratamiento). También se administra quimioterapia intratecal profiláctica a la infiltración del SNC, con triple droga: MTX, Hidrocortisona y Antracíclico, cada semana hasta completar 6 dosis y luego cada 12 semanas durante 2 años; si el LCR sale positivo a células neoplásicas la quimioterapia intratecal es dos veces por semana hasta que el LCR sea negativo. Si todavía queda duda de que el paciente se encuentra libre de neoplasia, se realiza RT-PCR al aspirado de médula ósea y sangre periférica para detectar translocaciones específicas de cada subtipo de LNH.¹⁰

7. CONCLUSIONES.

Es de suma importancia clasificar adecuadamente los casos de LNH ya que su tratamiento depende en gran medida del diagnóstico correcto, apoyándonos sobretodo en la inmunohistoquímica, la cual debe estar al alcance del servicio de patología de un hospital pediátrico de tercer nivel de atención, ya que influye directamente sobre las remisiones y la quimioresistencia que puedan adquirir por un mal manejo inicial, el cual va ligado a la mortalidad.

8. ANEXOS.

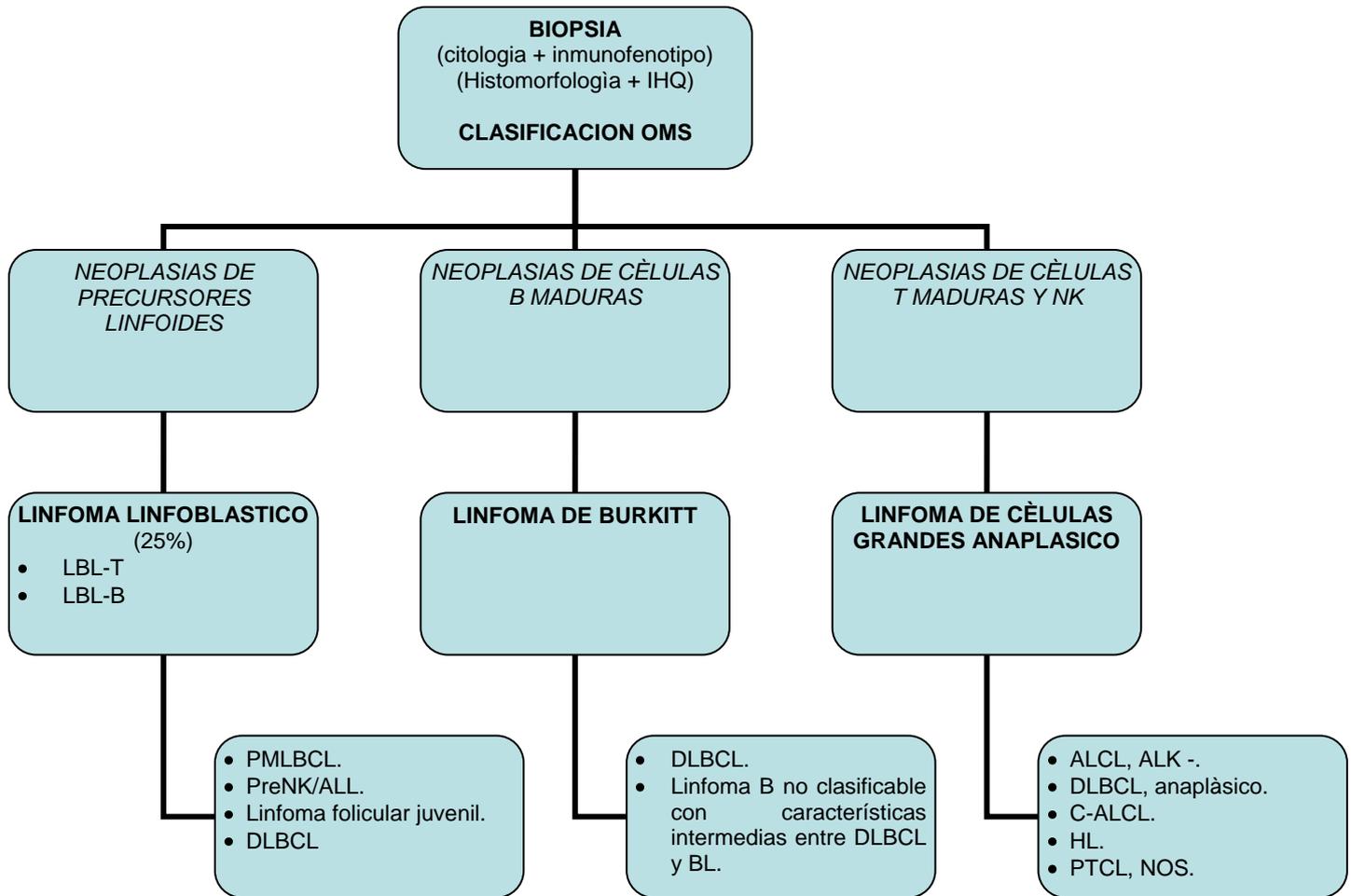
CUADRO 1.

CLASIFICACIÓN DE LOS LINFOMAS NO HODGKIN DE LA EDAD PEDIÁTRICA, CON BASE EN SU FRECUENCIA (Keyla MP).

LINFOMAS NO HODGKIN EN NIÑOS		
<i>FRECUENTES</i>	<i>POCO FRECUENTES</i>	<i>OCASIONALES</i>
Linfoma-leucemia linfoblástica	Linfomas foliculares	Micosis fungoide
Linfoma de Burkitt	Linfoma de células B grande difuso, variedad anaplásica.	Linfomas del tejido linfoide asociado a mucosas.
Linfoma de células grandes anaplásico, ALK+.		Linfoma difuso de células pequeñas hendidas, centrofoliculares. Plasmocitoma, mieloma múltiple.

ANEXO 1.

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL DE LOS PRINCIPALES LINFOMAS PEDIATRICOS CON OTROS SUBTIPOS DE LINFOMA. 3



Abreviaciones: T-LBL; linfoma linfoblástico de células precursoras T, PTCL; linfoma de células T periférico, DLBCL; linfoma de células B grande difuso, ALCL; linfoma de células grande anaplásico, B-LBL; linfoma linfoblástico de células precursoras B, PMLBL; linfoma de células B grande mediastinal (timico) primario, C-ALCL; linfoma de células grandes anaplásico cutáneo, HL; linfoma de Hodgkin, PTCL, NOS; linfoma cutáneo de células T periférico, sin patrón específico.

ANEXO 2

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FOLIO QX. _____

NOMBRE: _____ BIOPSIA _____

FILIACION _____ EDAD: _____ SEXO: _____

CARACTERÍSTICAS CLINICAS.

FIEBRE _____ DISMINUCIÓN DE PESO _____ ADENOMEGALIAS _____

OTROS SINTOMAS Y SIGNOS

CARACTERISTICAS HISTOPATOLÓGICAS.

1.- INMUNOHISTOQUIMICA INICIAL.

DIAGNOSTICO INICIAL _____

2.- INMUNOHISTOQUIMICA ACTUAL.

DIAGNOSTICO ACTUAL _____

9. REFERENCIAS.

¹ Fajardo GA. Cáncer en el niño, Epidemiología descriptiva. 2001. Ed. Cuéllar, Méx. pp 29-50, 53-70.

² Kaatsch P. Epidemiology of childhood cancer. Cancer Treat Rev. 2010;36:277-85.

³ Reiter A. Diagnosis and treatment of childhood non-Hodgkin lymphoma. Hematology. 2007; 285-96.

⁴ Keyla MP, Rosas GM, Rosas UA. Linfomas no Hodgkin en pacientes pediátricos: características clínicas, histológicas, inmunofenotípicas y genotípicas. Patología. Revista Latinoamericana. 2007;45:169-78.

⁵ Steven HS, Elias C, Nancy LH, Elaine SJ, Stefano AP, Harald S, Jurgen T, James WV. WHO, Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.2008. Ed. WHO. pp 167-176, 233-267, 309-317, 321-334.

⁶ Paul WB. An Immunohistochemical vade mecum. 100046.1102@compuServe.com. May, 2008.

⁷ Clive R. Taylor, MA, MD, DPhil. App. The WHO Classification of Lymphomas: Cost-effective Immunohistochemistry using a deductive reasoning “Decision Tree” approach part II: The decision tree approach: Diffuse patterns of proliferation in lymph nodes. Immunohistochem Mol Morphol. 2009;17:470-82.

⁸ Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphomas: implications for clinical practice and translational research. *Hematology* 2009:523-31.

⁹ Anderson JR, Jenkin RD, Wilson JF, et al. Long-term follow-up of patients treated with COMP or LSA₂L₂ therapy for childhood non-Hodgkin's lymphoma: a report of CCG-551 from the childrens Cancer Group. *J Clin Oncol.* 1993; 11:1024-1032.

¹⁰ Philip AP, David GP. *Principles and Practice of Pediatric oncology.* 2006. 5ta Ed, Lippincott Williams and Wilkins. Pp722-747.