



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA**

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD

HOSPITAL DE PEDIATRÍA DE CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

**“LINFOMA NO HODGKIN. FRECUENCIA DE INMUNOFENOTIPO DETECTADO POR
HISTOQUÍMICA, EN NIÑOS ATENDIDOS EN EL HOSPITAL DE PEDIATRÍA DE
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI.”**

**TESIS DE POSTGRADO PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN
PEDIATRÍA**

PRESENTA

Jorge Arturo Ríos Aguilar

Tutor: Dr. Enrique Lopez Aguilar



México Distrito Federal

Octubre de 2014



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.

Asesor de Tesis: Dr. Enrique Lopez Aguilar (1)

Telefono: 5521299768

Correo electrónico: onco_lab@yahoo.com.mx

Asesor metodológico: Dra. Ana Carolina Sepúlveda Vildosola (2)

Telefono: 57612594

Correo electrónico: ana.sepulvedav@imss.gob.mx

Colaboradores: Dra. Alicia Georgina Siordia Reyes (3)

Teléfono: 5532242128

Correo electrónico: georginasiordia@hotmail.com

1. Jefe del servicio de oncología médica del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI.
2. Directora de educación e investigación en salud del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI.
3. Jefe del departamento clínico de patología del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI.



Dirección de Prestaciones Médicas
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud



Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3603
HOSPITAL DE PEDIATRIA, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, D.F. SUR

FECHA **24/04/2014**

DR. JAVIER ENRIQUE LÓPEZ AGUILAR

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

LINFOMA NO HODGKIN. FRECUENCIA DE INMUNOFENOTIPO DETECTADO POR HISTOQUIMICA, EN NIÑOS ATENDIDOS EN EL HOSPITAL DE PEDIATRIA DE CMN SXXI.

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2014-3603-24

ATENTAMENTE

DR.(A). HERMILO DE LA CRUZ YAÑEZ

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3603

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL



PRESIDENTE. DRA. MARÍA GUADALUPE MIRANDA NOVALES



SECRETARIA. DRA. JULIA ROCÍO HERRERA MÁRQUEZ

SINODALES



DR. MARIO ENRIQUE RENDÓN MACÍAS



DRA. MARTHA VALDEZ SÁNCHEZ

ÍNDICE GENERAL

Portada.....	1
Resumen.....	7
Antecedentes.....	8
Planteamiento del problema.....	16
Justificación.....	16
Objetivos.....	16
Tipo de estudio.....	17
Material y métodos.....	17
Criterios de selección.....	17
Tamaño de muestra.....	17
Variables.....	18
Análisis estadístico.....	22
Resultados.....	23
Discusión.....	29
Limitaciones del estudio.....	33
Propuestas.....	33
Conclusiones.....	34
Bibliografía.....	35
Anexos.....	37

**LINFOMA NO HODGKIN. FRECUENCIA DE INMUNOFENOTIPO DETECTADO POR
HISTOQUÍMICA, EN NIÑOS ATENDIDOS EN EL HOSPITAL DE PEDIATRÍA DE
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI.**

RESUMEN.

Introducción: El linfoma no Hodgkin (LNH) infantil es el tercer tumor maligno más frecuente en niños y es una causa importante de muerte en nuestro país. El estudio histopatológico es el estándar de oro para el diagnóstico de LNH. Sin embargo, es la clasificación por inmunofenotipo la que ha permitido que se logren mejores tasas de supervivencia en países desarrollados al ser incluida dentro de la estratificación pronóstica en estos pacientes. El Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI es un hospital de referencia para pacientes con esta neoplasia procedentes de diferentes estados del país. Hasta el momento no se ha realizado un estudio acerca de la relación entre el subtipo histológico de LNH y la expresión de marcadores de Inmunofenotipo en pacientes pediátricos atendidos en este hospital, por lo que determinar el inmunofenotipo mediante histoquímica representaría el primer paso para realizar dicho estudio.

Objetivo: Determinar la frecuencia de subtipos de linfoma no Hodgkin de acuerdo a la expresión de marcadores de Inmunofenotipo en niños mexicanos atendidos en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Tipo de estudio: Transversal, descriptivo, retrospectivo.

Población de estudio: Pacientes con diagnóstico de linfoma No Hodgkin confirmado mediante estudio histopatológico diagnosticados entre el 1 de enero de 2005 al 31 de diciembre de 2012.

Metodología: Se realizó una revisión de los archivos de patología del Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional Siglo XXI desde el año 2005 al 2012, identificando a todos los pacientes con diagnóstico de Linfoma No Hodgkin, recabándose en el expediente clínico la información sobre la edad del paciente, sexo, y el resultado de inmunohistoquímica realizado por el servicio de patología, se determinó mediante frecuencias simples los subtipos más frecuentes de Linfoma No Hodgkin, así como las frecuencias de expresión de proteínas de superficie.

Resultados: en el presente estudio encontramos que los pacientes con diagnóstico de Linfoma no Hodgkin los subtipos histológicos más frecuentes de acuerdo a la clasificación de la OMS fue en primer lugar el Linfoma de Burkitt con un 37.2% (n= 18) en segundo lugar el Linfoma Linfoblástico con un 30.2% (n=14) y en tercer lugar el linfoma de células grandes en un 24.4% (n=12) un 8.2% no se logró diferenciar mediante inmunohistoquímica. De los subgrupos de Linfoma No Hodgkin el más frecuente fue el linfoma anaplásico con 90.5% (n=11) seguido del Linfoma de células pequeñas no hendidas con 81.2% (n=15) en tercer lugar el linfoma de células T y B precursoras con 50% cada uno (n=17). Los marcadores de superficie los resultados encontrados son muy similares a lo reportado en la literatura internacional.

ANTECEDENTES

El cáncer en niños es una causa importante de muerte en menores de 15 años. En México el cáncer ocupa el segundo lugar entre las causas de muerte en niños de 1 a 15 años, solo superado por los accidentes [1]. La leucemia es el cáncer más frecuente en niños mexicanos, seguida por los tumores del sistema nervioso central y en tercer lugar los linfomas [2, 3].

Los linfomas son un grupo de enfermedades malignas que se originan de la proliferación clonal de linfocitos [4]. Se dividen en dos grandes grupos, enfermedad de Hodgkin (EH) y Linfomas No Hodgkin (LNH), ambos con importantes diferencias biológicas e histopatológicas. El subgrupo más frecuente de linfomas lo constituye el LNH y sobre el cual centraremos el presente trabajo.

EL linfoma no Hodgkin es un grupo de neoplasias malignas con características diferentes a la enfermedad de Hodgkin, Adicionalmente, en esta neoplasia (LNH), se han logrado avances importantes en la histopatología, inmunología citogenética y en la biología molecular resultando en un mejor conocimiento de la biología de este tipo de cáncer [5].

Epidemiología

Epidemiología Mundial

El linfoma no Hodgkin (LNH) es el tercer tumor maligno de mayor frecuencia en pediatría, y representa aproximadamente el 7% de cáncer en niños y jóvenes menores de 20 años de edad. En los Estados Unidos se diagnostican cerca de 800 nuevos casos de linfoma no Hodgkin cada año. La incidencia de LNH es aproximadamente 10 casos por millón cada año. El pico de mayor incidencia es en la segunda década de la vida, y ocurre con menor frecuencia en niños menores de 3 años de edad (Tabla 1) [3, 4].

Tabla 1. Distribución de los grupos de edad de aparición de linfoma no Hodgkin (LNH) de acuerdo a subgrupos

Subgrupo de LNH	Incidencia de LNH por millón de personas por año							
	Hombres				Mujeres			
	Grupos de edad (años)				Grupos de edad (años)			
	<5	5-9	10-14	15-19	<5	5-9	10-14	15-19
Burkitt	3.2	6	6.1	2.8	0.8	1.1	0.8	1.2
Linfoblástico	1.6	2.2	2.8	2.2	0.9	1	0.7	0.9
LBGD	0.5	1.2	2.5	6.1	0.6	0.7	1.4	4.9
Otros	2.3	3.3	4.3	7.8	1.5	1.6	2.8	3.4

LBGD. Linfoma de células B grandes y difusas. Otros. Mayor parte de linfoma de células anaplásicas. LNH. Linfoma no Hodgkin. Percy et al. [2]

Epidemiología Local

En el año 2007, el Fajardo-Gutiérrez, et al., realizaron una revisión de la incidencia de cáncer en niños mexicanos. Dichos autores registraron 2663 casos nuevos de cáncer durante el periodo de 1996-2002 atendidos en el Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional Siglo XXI y Centro Médico Nacional la Raza del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Reportaron que dentro del grupo de linfomas, el subgrupo más frecuente fue el linfoma no Hodgkin lo cual es concordante con estudios realizados en otros países. La incidencia de LNH en dicho estudio vario entre 3 y 12.8 casos por millón de niños menores de 15 años, referida en su estudio como una de las tasas de incidencia más altas a nivel mundial [1]. En Canadá y Estados Unidos la incidencia de LNH en niños es de 3.9 y 7.6 por millón de niños menores de 15 años respectivamente; mientras que en América del Sur la incidencia varía entre 4 y 9 casos por millón de niños menores de 15 años. La incidencia de LNH reportada para el Distrito Federal fué de 8.9 por millón de niños menores de 15 años [5].

Clasificación de los LNH

La clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha sido recientemente actualizada, esta clasificación se basa en las características clínicas, morfológicas, inmunofenotipo, características moleculares y citogenéticas de la enfermedad (Tabla 2). Cabe mencionar que existe una amplia variación en la información disponible para cada enfermedad, algunas entidades son definidas sobre sus características clínicas y morfológicas, mientras otras son definidas por sus características moleculares o genéticas. Actualmente, la morfología y el inmunofenotipo (determinado por inmunohistoquímica o por citometría de flujo) constituyen las piedras angulares del diagnóstico de LNH. En algunos casos especiales se requiere recurrir a métodos diagnósticos como la citogenética [6].

Tabla 2. Clasificación de los subtipos de Linfoma No Hodgkin en niños de la Organización Mundial de la Salud 2008

Subtipo de Linfoma No Hodgkin	Frecuencia
Neoplasias linfoideas precursoras	
Linfoma linfoblástico T	15%–20%
Linfoma linfoblástico B	3%
Neoplasias de células B maduras	
Linfoma de Burkitt	35%–40%
Linfoma de células B largas y difusas	15%–20%
Linfoma de células B mediastinal primario	1%–2%
Linfoma folicular pediátrico	Raro
Linfoma pediátrico Nodal de zona marginal	Raro
Neoplasias de células T maduras	
Linfoma de células anaplasicas, ALK positivo	15%–20%
Linfoma de células T periféricas	Raro

ALK, anaplastic lymphoma kinase; NHL, non-Hodgkin lymphoma.

Otra clasificación utilizada es la que agrupa los tres subtipos histológicos principales de Linfoma No Hodgkin en niños (Tabla 3)

Tabla 3. Clasificación del Linfoma No Hodgkin Infantil.

LINFOMA NO HODGKIN	SUBTIPO
LINFOMA LINFOBLASTICO	Linfoma linfoblástico de células T precursoras
	Linfoma linfoblástico de células B precursoras
LINFOMA DE BURKITT	Linfoma de células pequeñas no hendidas
	Linfoma Burkitt Símil.
LINFOMA DE CÉLULAS GRANDES	Linfoma anaplásico de células grandes
	Linfoma difuso de células B grandes

Referencia 7.

Diagnóstico de LNH

El diagnóstico de las neoplasias linfoides en primer lugar se realiza en forma clínica y de laboratorio, consecutivamente debe ser corroborado mediante biopsia y el tejido ser analizado por patólogos entrenados, la observación directa del material histológico obtenido puede conducir al diagnóstico del linfoma así como al subtipo del mismo, sin embargo se requiere de experiencia del observador. Existe un alto grado de variabilidad inter e intraobservador en el diagnóstico de los subtipos histológicos del linfoma no Hodgkin, esta variabilidad probablemente se deba a que en los países subdesarrollados se clasifica en su mayoría por morfología celular y existe retraso en determinar el inmunofenotipo [8].

La evaluación diagnóstica completa y clasificación en todos los casos es esencial no solo para la correcta asignación de los pacientes a los regímenes de tratamiento establecidos en la actualidad, sino también para su posterior identificación de subtipos biológicamente distintos que en el futuro requieran diferente tratamiento [9].

Los métodos diagnósticos principales son la morfología, inmunofenotipo, y el análisis citogenético, en la mayoría de los casos, con la realización de estos tres métodos diagnósticos se realiza una correcta clasificación de los pacientes a los grupos apropiados de tratamiento, se puede establecer por procedimientos poco invasivos como biopsia de ganglio periférico o aspirado con aguja fina [10].

Importancia del Inmunofenotipo en LNH

Se conoce que el análisis del inmunofenotipo es útil, necesario y actualmente imprescindible adjuntarlo al diagnóstico morfológico. La interpretación del inmunofenotipo debe realizarse siempre, como respuesta a las interrogantes planteadas por los hallazgos clínicos y morfológicos. El estudio de un único marcador linfoide o un grupo, seleccionado en forma inadecuada pueda dar origen a confusión y errores. El estudio del inmunofenotipo mejora la eficacia diagnóstica entre un 10 y 45% respecto al estudio morfológico [11].

Para determinar el inmunofenotipo se cuenta con tres métodos distintos: la citometría de flujo en suspensiones celulares, la Inmunohistoquímica en material fresco y la inmunohistoquímica en material fijado e incluido en parafina. Los antígenos que se detectan se pueden dividir en dos grandes grupos: los de superficie o receptores y los citoplasmáticos o nucleares, los primeros se enmascaran cuando el tejido se fija y se incluye en parafina, mientras que los segundos se preservan más.

Citometría de Flujo

La citometría de flujo está consolidada como una herramienta útil tanto en el diagnóstico como en el seguimiento de los pacientes afectados por neoplasias Hematolinfoides, su principal valor radica en la facultad de conjugar la lectura rápida y simultánea de varios y complejos parámetros de manera objetiva y precisa en un muy alto número de células, permite además combinar el estudio de la expresión antigénica y el contenido de Ácido Desoxirribonucleico celular en su fase S lo que demuestra las características del ciclo exclusivamente en las células tumorales y contribuye a estimar su potencial replicativo.

Las limitaciones de esta técnica refieren fundamentalmente a situaciones en las que el material a procesar contiene escasas células tumorales, las que en el transcurso del procesamiento resultan destruidas o eliminadas, lo que puede provocar falsos negativos [12, 13].

Inmunohistoquímica.

El advenimiento de métodos de recuperación antigénica permite actualmente la aplicación de la inmunohistoquímica a casi cualquier tejido para resolver problemas de diagnóstico [14]. La Inmunohistoquímica brinda evidencia adicional de si son células que corresponden a un linfoma y además determinar su estirpe celular, esto es, diferenciar entre aquellas de tipo B o T o células citolíticas naturales, lo que permite diferenciar entre los subtipos de linfoma; como por ejemplo el Linfoma linfoblástico de células B del linfoma difuso de células grandes de tipo B o el linfoma difuso de células B grandes rico en células T del linfoma de Hodgkin tipo esclerosis nodular, en estos casos, la expresión de algunos genes y proteínas como el TDT (terminal deoxynucleotidyl transferasa) o marcadores germinales como el bcl-6 son de gran utilidad al determinarse por Inmunohistoquímica. [11]. La inmunohistoquímica corresponde a un grupo de técnicas de inmunotinción que permite demostrar una variedad de antígenos presentes en las células o tejidos utilizando anticuerpos marcados, estas técnicas

se basan en la capacidad de los anticuerpos de unirse específicamente a los correspondientes antígenos, la reacción es visible sólo si el

Anticuerpo está marcado con una sustancia que absorbe o emite luz o produce coloración.

Las técnicas de inmunohistoquímica enzimática permiten una localización más precisa de las reacciones, ya que la tinción es permanente y estable, puede ser evaluada con microscopio de luz, el material puede archivarse por años sin pérdida de la intensidad de la reacción. Los anticuerpos monoclonales han permitido aumentar la especificidad y sensibilidad de esta técnica. Desventajas: presencia de reacción inespecífica, los reactivos requieren estandarización precisa y estricto control de calidad y los resultados de esta técnica están sometidos a interpretación del patólogo.

Los estudios inmunohistoquímicos en su aplicación a linfomas, requieren del empleo de grupos de anticuerpos monoclonales, policlonales o ambos, los cuales en lo posible deben incluir CD 3/CD45RO, CD20/CD79a, CD30, ALK, CD10/BCL-2, CD5, CD15, CD23, CICLINA DI, CD68, CD38/CD138, EMA y mieloperoxidasa/CD43, entre otros anticuerpos. (Tabla 4) (13, 15). En la tabla 4 mostramos los antígenos determinados por inmunohistoquímica del linfoma no Hodgkin infantil [11].

El procedimiento que se realiza en nuestro hospital para inmunohistoquímica en tejido fijado e incluido en parafina es el siguiente: Las laminillas del estudio se realiza con sistema peroxidasa-antiperoxidasa, se realizan cortes de 3 a 4 μ m de tejido incluido en parafina, previamente fijados en formol amortiguado al 10%, utilizando porta objetos con poly-L lysina. (0.1% en agua destilada). El tejido es desparafinado en la estufa a 56° C durante 30 minutos y rehidratado desde xilol hasta agua destilada pasando por alcoholes a concentraciones menores (5 minutos en cada uno de las soluciones). Posteriormente se efectúa la recuperación antigénica con DAKO target retrieval solution al 10% durante 10 minutos en olla express. Una vez que se enfría (temperatura ambiente) se retira del recuperador y se enjuaga con agua destilada ó PBS. La peroxidasa se bloquea por 10 minutos con DAKO peroxidase blocking al 3% (se mantiene cubierto para evitar el contacto con la luz) y se lava con agua destilada ó PBS.

Los cortes se incuban en cámara húmeda durante 20 minutos con los anticuerpos primarios: Anti- CD3 (DAKO, monoclonal, clona F7238), anti- CD4 (DAKO, monoclonal, clona 4B12), Anti-CD8 (DAKO, monoclonal, clona C8/144B), anti-CD10 (CALLA, DAKO, monoclonal, clona 56C6), anti-CD20 (DAKO, monoclonal, clona L26), anti- CD-30 (DAKO, monoclonal, clona Ber-He), CD246, (DAKO, monoclonal, clona ALK-1) y anti-TdT(DAKO, policlonal) .

El anticuerpo primario se detecta con un anticuerpo secundario biotinilado. Una vez aplicado, se incuba durante 30 minutos con streptavidina conjugada (peroxidasa de rábano). Posteriormente se revela con el cromógeno diamino-bencidina (DAB) por 5 minutos y finalmente se contrasta con hematoxilina. El tejido se deshidrata con alcoholes de menor a mayor concentración (70%, 90% y 100%) y xilol. Las preparaciones se montan con resinas

(entelán). En cada caso se incluye un control positivo conocido (ganglios hiperplásicos, apéndice o casos de linfomas con expresión a los diferentes anticuerpos).

Tabla 4. Inmunohistoquímica en células tumorales en niños con Linfoma no Hodgkin.

marcador	LBL-T	LBL-B	Burkkit	DLBCL	ALCL
TdT	+	+	-	-	-
CD19	-	+	+	+	-
CD20	-	+/-	+	+	-
CD79a	-	+	+	+	-
Bcl-6	-	-	+	+/-	-
CD1a	+/-	-	-	-	-
CD3	-/+	-	-	-	-/+
CD4	-/+	-	-	-	-/+
CD5	+/-	-	-	-/+	-/+
CD7	+/-	-	-	-	-/+
CD8	-/+	-	-	-	-/+
CD56	-	-	-	-	-/+
CD10	+/-	+/-	+	+/-	-
CD30	-	-	-	-/+	+
ALK	-	-	-	-	+
Bcl2	-	-	-	+/-	-
Ki67	+	+	+	+	-
LBL-T linfoma linfoblástico de células T precursoras, LBL-B linfoma linfoblástico de células B precursoras, DLBCL linfoma difuso de células B grandes, ALCL linfoma anaplásico de células grandes, + positivo, - negativo, +/- frecuentemente positivo, -/+ ocasionalmente positivo.					

A continuación mostramos los artículos más recientes publicados en donde se determinó el inmunofenotipo por histoquímica con tejido fijado e incluido en parafina (Tabla 5).

Tabla 5. Estudios realizados que demuestran la importancia de la Inmunohistoquímica en el diagnóstico de las neoplasias linfoides.

Autor	Tipo y periodo de estudio	No. de pacientes	Objetivo del estudio	Resultados sobresalientes
Shih-Sung Chuang, et al [16].	Retrospectivo 2007	28	Diferenciar el linfoma de Burkitt del Linfoma Linfoblástico difuso de tipo B por Histoquímica.	El inmunofenotipo típico de CD10/bcl-2/bcl-6 se observó en 24 de 28 con linfoma de Burkitt comparado con 1 de 16 con linfoma Linfoblástico (P < .001)
Daniel Buxton, et al [17].	Prospectivo 1995-2008	160	Determinar la frecuencia de expresión de CD99 en el LACG.	De 160 casos, 103 fueron positivos para CD99, (64.4%) de los casos con linfoma de Anaplásico de células grandes.
Robert E. Hutchinson, Et al [18].	Prospectivo 1992- 2000	20	Evaluación por Inmunohistoquímica del LNH T en niños.	El fenotipo para células T fue determinado por positividad para CD3, CD45Ro, CD43 y negatividad para CD20.
S. Al-Humood, et al [19].	Retrospectivo 2013-2014	44	Investigar la prevalencia de infección por Virus Epstein Barr en el Linfoma de células B grandes difusas mediante el uso de Inmunohistoquímica, hibridación y PCR.	LMP-1 fué positivo (detección de virus Epstein Barr) en 6.9% de los casos, mientras que con PCR fue de 18.2% Mostrando superioridad, sin embargo estos métodos diagnósticos no se encuentran disponibles en todos los hospitales por lo que la búsqueda mediante inmunohistoquímica se continúa recomendando en países subdesarrollados.
Ozlem Canoz, et al [20].	Retrospectivo 1998-2003	353	Determinación de BCL-3 en neoplasias linfoides por inmunohistoquímica.	De 172 linfomas de células B 10 (6%) fueron positivos para BCL-3, 23(26%) para linfoma de células B grandes y difusas, 1 de 17 (6%) para el linfoma de células pequeñas, 1 de 26 (4%) para el linfoma folicular.
Miettinen M [21].	Retrospectivo 1992	200	Determinar la frecuencia de expresión de CD30 (Ki-1) mediante Inmunohistoquímica.	CD30 fue más frecuente en el Linfoma No Hodgkin frente al de Hodgkin, 5 de 37 en linfoma de células grandes, fue positivo en 6 de 17 del linfoma linfocitario, 3 de 8 casos en el linfoma periférico de células T.
Yago RT, et al [22].	Junio 2003 al febrero 2010	270	Analizar y clasificar mediante Inmunohistoquímica los casos diagnosticados de Linfoma maligno y compararlo con los datos mundiales.	205 (76%) fueron LNH y 65 (24%) LH, de los LNH 91% fueron de células B, 9% de células T, el más común del LNH fue el linfoma de células B grandes difuso con 52.2%, seguido por el linfoma de Burkitt con 14.6%. Del LH 48% fue de tipo esclerosis nodular y 37% de celularidad mixta.
Dennis Wright, et al [23].	Retrospectivo 1996	308	Revisar las características clínicas e histopatológicas de todos los casos de linfoma No Hodgkin infantil.	308 casos analizados, 293 fueron categorizados como LNH. 42.2% fueron linfoma de Burkitt, 27.2% linfoma Linfoblástico y 15.1% linfoma anaplásico de células grandes.
Aihua Li, et al [24].	Retrospectivo 2012	22	Identificar los antígenos de células tumorales, con anticuerpos monoclonales de conejo por Histoquímica.	Los anticuerpos monoclonales de conejo para células B CD19, CD20, CD21, CD23, CD79a, Kappa, Lambda, Bcl-2, BOB.1, c-Myc, FOXP1, MUM1, PAX5, y PU.1 mostraron alta especificidad y sensibilidad en reconocer las proteínas de expresión de células B.

Abreviaciones: LNH. Linfoma No Hodgkin, LH. Linfoma Hodgkin, LACG. Linfoma Anaplásico de Células Grandes, OMS. Organización mundial de la Salud.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, el estudio de inmunohistoquímica es un elemento imprescindible para diagnóstico, clasificación y tratamiento de los pacientes pediátricos con linfoma No Hodgkin. En México hay pocos estudios que traten sobre la inmunohistoquímica y su papel en el diagnóstico y clasificación de los niños con Linfoma. El Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional siglo XXI es un hospital de tercer nivel de atención médica y centro de referencia para niños con LNH; sin embargo se desconoce la caracterización inmunofenotípica de los pacientes con linfoma no Hodgkin tratados en este hospital por lo que nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuáles es la frecuencia de los diferentes tipos de linfoma no Hodgkin de acuerdo a su expresión inmunofenotípica en la población del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI?

JUSTIFICACIÓN.

Al realizar el presente estudio pretendemos observar el impacto de la inmunohistoquímica en el diagnóstico de linfoma no Hodgkin en la población infantil de nuestro hospital de pediatría de Centro Médico Nacional siglo XXI, dando paso a nuevas investigaciones posteriores para comparar incluso con otros métodos diagnósticos, así como determinar en qué lugar nos encontramos en inmunohistoquímica y compararlo a nivel nacional e internacional.

OBJETIVOS:

1. Describir la frecuencia de linfoma no Hodgkin diagnosticado mediante técnica de inmunohistoquímica durante el periodo de estudio y describir los marcadores que se expresan para cada subtipo de linfoma.

SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS.

TIPO DE ESTUDIO.

Transversal, descriptivo, retrolectivo.

POBLACIÓN DE ESTUDIO:

Pacientes a los que se les realizó diagnóstico de linfoma no Hodgkin en el Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional Siglo XXI durante el período del 01 de enero del 2005 al 31 de diciembre del 2012.

CRITERIOS DE SELECCIÓN.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

1. Pacientes con diagnóstico clínico de linfoma No Hodgkin
2. Contar con estudio histopatológico realizado en el Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional Siglo XXI.
3. Menores a 17 años de edad

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

1. Pacientes quienes no cuenten con estudio de inmunohistoquímica

TAMAÑO DE MUESTRA

Muestreo por conveniencia.

Se incluyeron todos los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión en el periodo de estudiado.

DEFINICIÓN DE VARIABLES.

VARIABLE DEPENDIENTE.

No cuenta con variable dependiente por ser un estudio descriptivo.

VARIABLES INDEPENDIENTES

GÉNERO

Definición conceptual: asignación de acuerdo a fenotipo en hombre o mujer.

Definición operacional: se asignará 1= si es hombre y 2= si es mujer

Tipo de variable: universal, cualitativa, nominal, dicotómica.

EDAD

Definición conceptual: cantidad de años y meses cumplidos a la fecha del diagnóstico de linfoma no Hodgkin.

Definición operacional: se determinara el número de años y meses cumplidos de acuerdo a la fecha de nacimiento descrita en la historia clínica y se agruparan de la siguiente forma: 0 – 3, 4 – 6, 7 - 9, 10 – 12, 13 -15, >16 años.

Tipo de variable: universal, cuantitativa, razón.

LINFOMA

Definición conceptual: grupo de enfermedades malignas que se originan de la proliferación clonal de linfocitos, se divide en dos grandes grupos, la enfermedad de Hodgkin y el No Hodgkin.

Definición operacional: se determinaran los principales subgrupos de linfoma no Hodgkin infantil en Linfoma Linfoblástico, tipo Burkitt y Linfoma de células Grandes.

Tipo de variable: cualitativa, nominal, policotómica.

ANTI-CD3

Definición conceptual: El CD3 es expresado por células T periféricas, linfocitos y células NK, estando presente en la gran mayoría de los linfomas de estirpe T

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes a 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

ANTI CD4

Definición conceptual: anticuerpo que reacciona contra una glicoproteína expresada en la superficie de Linfocitos T ayudadores, monocitos, macrófagos y células dendríticas

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes de 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

ANTI CD8

Definición Conceptual: anticuerpo que reacciona contra antígenos expresados en células T normales y tumorales.

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes de 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

ANTI CD 10

Definición Conceptual: anticuerpo que reacciona contra el antígeno CD 10 (CALLA) normalmente expresado en Hematogonias, células de tipo B, y en algunos linfocitos sobre nódulos linfáticos afectados por hiperplasia reactiva y en Linfoma No Hodgkin de linaje B

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes de 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

ANTI-CD20

Definición conceptual: Anticuerpo que reacciona contra antígenos de células B normales y neoplásicas

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes de 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

ANTI-CD30

Definición conceptual: anticuerpo que reacciona contra el antígeno Cd30 expresado en células tumorales derivadas de Linfocitos B maduros como el Linfoma difuso de células B y Linfoma Anaplásico

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes de 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

CD246

Definición Conceptual: Anticuerpo que reacciona con ALK que se encuentra presente en la mayoría de los linfomas de células anaplasicas

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes de 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

ANTI TdT

Definición conceptual: anticuerpo que se expresa durante el estadio de diferenciación de Linfocitos B y T, se encuentra ausente en neoplasias de células B maduras como Linfoma difuso de células B y linfoma de Burkitt.

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes de 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

ANTI CD45

Definición conceptual: Anticuerpo que reacciona contra proteínas del tipo tirosinfosfatasa que se expresan en prácticamente todas las células hematolinfoides y sus precursores.

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes de 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

ANTI CD68

Definición conceptual: Anticuerpo que reacciona contra la proteína CD68, que se observa en todas las células de linaje monocito /macrófago y por lo tanto en sus respectivas neoplasias. Es positivo en un subgrupo de linfomas no Hodgkin con tinción en patrón punto. Es útil para evaluar la distribución de los Histiocitos en cualquier proliferación linfoides.

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes de 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

ANTI CD99

Definición conceptual: Anticuerpo que reacciona contra el CD99, que es una glicoproteína de superficie. Positivo en 70% de linfomas linfoblásticos y 40% de los linfomas no Hodgkin de bajo grado B. Los linfocitos tímicos son CD99 positivos.

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes de 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

ANTI CD 79

Definición conceptual: Anticuerpo que reconoce una proteína del receptor de células B asociado con la expresión de superficie de inmunoglobulinas. Se expresa desde las células B más inmaduras hasta las células plasmáticas. Positivo en todos los neoplasmas de células B y solo 50% de los neoplasmas de células plasmáticas. La mayoría de linfomas T son negativos

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes de 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

BCL-6

Definición conceptual: Es una proteína reguladora de la transcripción, se expresa en células B del centro germinal normal. En los linfomas B tiene una localización en el núcleo de las células neoplásicas originadas del centro germinal, se pierde con la progresión del linfoma

folicular. Se reconoce en 18 a 45 % de los Linfomas de células B grandes, en linfomas foliculares, Burkitt y en 50% de linfomas linfocíticos.

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes de 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

BCL-2

Definición conceptual: Proteína que disminuye la tasa de muerte celular afectando la apoptosis. Es positivo en 85% de linfomas foliculares, en 60 a 80% de linfomas de zona marginal (células B). Es negativo en linfoma de Burkitt.

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes de 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

ANTI-CD5

Definición conceptual: Anticuerpo que reacciona contra una molécula involucrada en la traducción de señales presente en la superficie de los timocitos y células T periféricas inmaduras, se observa en 80-90% de casos positivos en la leucemia linfocítica crónica y el linfoma linfocítico y más del 90% de los linfomas de manto, positivo en 10% de los linfomas foliculares, negativo en el Burkitt.

Definición operacional: Se valorará la expresión a nivel citoplasmático en tejidos incluidos en parafina, en cortes de 3 micras de espesor para su manejo con soluciones químicas y con tinciones de inmunohistoquímica.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica: positivo, negativo.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis descriptivo y se calcularon frecuencias, medianas y rangos como medidas de desviación estándar mediante el programa estadístico SPSS versión 21.

RESULTADOS.

Durante el periodo comprendido entre el 1 de enero de 2005 al 31 de diciembre de 2012 en el servicio de Oncología del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS se registraron un total de 86 pacientes nuevos con diagnóstico de Linfoma No Hodgkin confirmado mediante estudio histopatológico. El 23% correspondía a pacientes diagnosticados en el año 2005 y un 15.1% a pacientes diagnosticados en el 2009. La distribución de diagnósticos por año se muestra en la Tabla 6. De los pacientes registrados sólo el 55.8% (n=48) contaban con estudio de inmunohistoquímica, por lo que estos representaron el total de la muestra del presente estudio, Lo que significó una pérdida del 44.2% de los pacientes.

Tabla 6. Pacientes con diagnóstico de linfoma no Hodgkin registrados por el Servicio de Oncología del Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI durante el periodo de 2005 – 2012

Año de diagnóstico	Población Total		Pacientes con IH*	
	n=86	%	n=48	%
2005	20	23.3	9	18.7
2006	10	11.6	5	10.4
2007	8	9.3	4	8.4
2008	12	14	4	8.4
2009	13	15.1	8	16.6
2010	8	9.3	4	8.4
2011	6	7.0	5	10.4
2012	9	10.5	9	18.7
Total	86	100	48	100

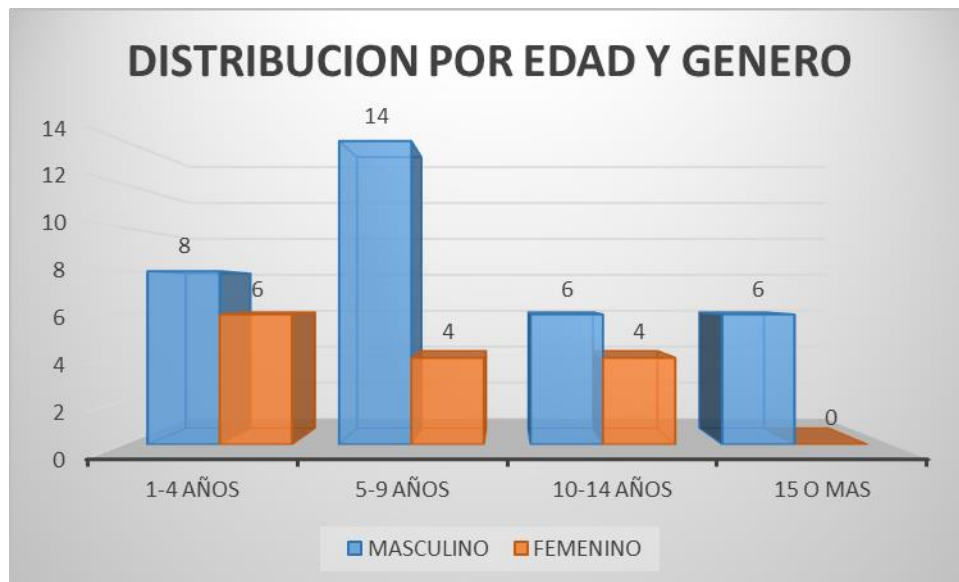
*IH = Inmunohistoquímica.

El sexo masculino representó el 70.9% (n=34) de la población, mientras que el sexo femenino se observó en el 29.1%(n=14) de los casos para una relación masculino/femenino de 2.4 .

El paciente de menor edad al momento de la confirmación del diagnóstico de Linfoma tenía 1 mes y el de mayor edad 16 años, con una media de 8 años. La media de edad en el sexo masculino correspondió a 8 años mientras que la media en el sexo femenino fue de 6 años.

Se distribuyó a los pacientes por rangos de edad, con predominio del rango 5 a 9 años en el sexo masculino, la información se resume en la figura 1.

Figura 1. Gráfico de distribución de acuerdo a grupos por edad y género



De los 48 pacientes incluidos en el estudio, 18 (37.2%) correspondió a linfoma de Burkitt, 14 (30.2%) linfoma linfoblástico, 12 (24.4%) fueron de linfoma de células grandes (Tabla 7). En 4 pacientes (8.2%) no fue posible su clasificación por marcadores de inmunohistoquímica, que fueron registrados como indeterminado.

Tabla 7. Distribución de los grupos principales de LNH según la clasificación de la OMS.

Grupo de LNH	Número de pacientes (n=48)	%
Linfoma Linfoblástico	14	30.2
Linfoma Burkitt	18	37.2
Linfoma de células grandes	12	24.4
Linfoma indeterminado	4	8.2
Total	48	100

LNH. Linfoma No Hodgkin. OMS. Organización mundial de la salud.

Linfoma linfoblástico:

El sexo predominante fue el masculino con un 88.5% (n=12); la mediana de edad fue de 8 años con un rango entre 1 mes a 16 años. En relación a los subgrupos del linfoma linfoblástico el 50% (n=7) de los pacientes correspondían al linfoma linfoblástico de células T precursoras y el otro 50% (n=7) al linfoma linfoblástico de células B precursoras (Tabla 8).

De los 7 pacientes con diagnóstico de Linfoma linfoblástico de células T, 5 (80%) expresaron CD3 en su estudio inmunohistoquímico, 7 pacientes (100%) fueron CD4 y CD8 positivos, 50% expresaron CD99, 7 (100%) positivos para CD5, en 2 (28.5%) pacientes se expresó TDT. Los pacientes con diagnóstico de linfoma linfoblástico B, 7 (100%) fueron negativos para CD3, y CD4, mientras que los 7(100%) fueron positivos para CD10, CD20, 7 pacientes (100%) fueron positivos para CD79.

Tabla 8. Frecuencia por subtipos histológicos diagnosticados por inmunohistoquímica, de 44 pacientes pediátricos atendidos en el hospital de pediatría de CMN Siglo XXI.

<i>Grupo de LNH</i>	<i>Subgrupo de LNH</i>	<i>n (%)</i>
<i>Linfoma Linfoblástico</i>	Células T precursoras	7 (50)
	Células B precursoras	7 (50)
<i>Linfoma Burkitt</i>	Células pequeñas no hendidas	15 (81.2)
	Burkitt Símil	3 (18.8)
<i>Linfoma de células grandes</i>	Linfoma anaplásico	11 (90.5)
	Linfoma Difuso	1 (9.5)

CMN: Centro Médico Nacional, LNH: linfoma No Hodgkin

Linfoma Burkitt:

El sexo masculino representó el 59.4% (n=19) mientras que el sexo femenino el 40.6% (n=13) de los pacientes. La mediana de edad fue de siete años con rango de un mes a 16 años. El subgrupo más frecuente de linfoma Burkitt fue el Linfoma de células pequeñas no hendidas con el 81.2% (n=15) de los casos (Tabla 8).

El estudio de inmunohistoquímica mostró que 18 (100%) pacientes con diagnóstico de linfoma no Hodgkin tipo Burkitt expresaron antígeno CD10, por subtipos, el Linfoma de células pequeñas no hendidas 11 pacientes (71%) expresaron CD20, 5 (33%) pacientes fueron positivos para TdT, 7(50%) pacientes positivos para CD99 y 15(100%) positivos para Bcl-6, mientras que el Burkitt símil 3 pacientes (100%) fueron positivos para CD20 (tabla 9).

Linfoma de células grandes:

De la misma manera que para los dos tipos de linfomas previos, el sexo masculino fue el más frecuentemente observado: el 75% (n=9) pacientes mientras que el sexo femenino representó el 25% (n=3) pacientes. La mediana de edad observada fue de 11 años (1-16 años). El linfoma anaplásico fue el subgrupo más frecuente con el 90.5%(n=11) y el linfoma difuso fue el menos frecuente con un 9.5%(n=1) (Tabla 8).

De los 11 pacientes con diagnóstico de linfoma Anaplásico, 11 expresaron CD30, 4 pacientes (36.3%) expresaron CD20, al igual que CD99, 9 pacientes (84%) expresaron antígeno ALK, y 11 (100%) fueron positivo para CD45 (Tabla 9).

Linfoma indiferenciado:

En los registros del servicio de patología se encontró que 4 (8.2%) pacientes fueron clasificados como linfoma indiferenciado debido a que los marcadores de inmunohistoquímica no eran concluyentes para determinar el Inmunofenotipo específico de los pacientes.

En cuanto a algunos marcadores importantes en el linfoma Infantil como el de EBV (virus Epstein Barr, por sus siglas en inglés) éste fue positivo en 2 casos de linfoma anaplásico de células grandes y negativo en los otros grupos de linfoma.

Tabla 9. Frecuencia de inmunofenotipo distribuido por subtipo histológico de Linfoma No Hodgkin.

ANTÍGENO	TOTAL	LINFOMA T	LINFOMA B	ANAPLASICO	BURKITT	DIFUSO	OTROS
CD3	9	5		3	1		
CD4	7	7					
CD8	8	7		1			
CD10	20	2	7		10		1
CD20	29		7	4	11	7	
CD30	13	1		11	1		
TDT	9	2	1		5	1	
ALK	12			9			3
CD45	5		1	3		1	
CD68	4			1		3	
CD99	13			4	7	2	
CD79	7		7				
BCL 6	15				15		
BCL 2	2					2	
CD5	7	7					

Otros: casos en los que no se logró diagnosticar el subtipo de linfoma por inmunohistoquímica.

DISCUSIÓN.

El linfoma No Hodgkin a nivel mundial representa alrededor del 6% de todos los cánceres en niños (26) en Estados Unidos se diagnostican alrededor de 800 casos por año.

El diagnóstico de Linfoma requiere del estudio histopatológico donde realizar la Inmunohistoquímica mejora la eficacia diagnóstica entre un 10 y un 45% respecto al estudio morfológico; aporta además aspectos complementarios detectando variantes que tienen trascendencia pronóstica y aún terapéutica (27).

En México un estudio realizado por el Dr. Mejía, et al en el año 2005 (28) reportó mayor frecuencia de Linfoma No Hodgkin entre los tres y los seis años de edad, con pico más importante a los tres años de edad en el sexo femenino, en nuestro estudio pudimos identificar los picos de mayor incidencia entre los 0-3 años y 7-9 años de edad, lo cual es concordante con el estudio epidemiológico (28), el grupo de edad con mayor frecuencia de linfoma No Hodgkin fue entre los 0 y 6 años, coincide con lo reportado a nivel internacional (29). La relación hombre, mujer fue de 2.4:1 a diferencia de lo que se reporta a nivel mundial de 3:1; esto se podría explicar por el tamaño de muestra de nuestro estudio (30).

En el presente estudio encontramos que el Linfoma tipo Burkitt fue el más frecuente de todos los tipos de linfoma no Hodgkin, en segundo lugar el linfoma Linfoblástico, seguido del Linfoma de células Grandes de tipo Anaplásico, siendo en orden de frecuencia lo que se reporta a nivel internacional. (31)

Molineux et al. reportaron una frecuencia del 30% para el linfoma tipo Burkitt (31) lo cual es concordante con nuestro estudio donde reportamos una frecuencia del 37.2% para esta neoplasia. En cuanto a la edad se menciona un pico de frecuencia entre los 5 y 10 años a nivel mundial (32) mientras que en otro estudio realizado en México la mayor incidencia reportada es entre los dos y seis años (28), sin embargo dentro de nuestro estudio se registra un pico de frecuencia entre los 7 y 9 años, edades comprendidas en el rango reportado a nivel mundial.

En un estudio realizado por Pagano et al. El inmunofenotipo típico en los pacientes con linfoma no Hodgkin de tipo Burkitt esporádico fue: CD10+, CD19, 20, 22, 79 a, CD23 -, SIgM + (33), en nuestro estudio se comprobó la expresión de CD10 y CD20, sin poderse realizar el resto de los marcadores, debido a la falta de marcadores antigénicos.

En nuestro estudio el linfoma Linfoblástico se observó con una frecuencia de 30.2%, y un pico de incidencia a los 9 años. A nivel mundial el linfoma Linfoblástico se reporta con una frecuencia del 20% y predomina entre los 13 y 16 años (34) nuestros resultados no son coincidentes con lo comentado en la literatura, debido muy probablemente a que en nuestro estudio solo se encuentran incluidos los pacientes referidos al hospital de Pediatría de Centro

Médico Nacional siglo XXI, que representa solo una parte de la población total de pacientes con Linfoma No Hodgkin en nuestro país. En cuanto a los subtipos de linfoma linfoblástico, tanto el linfoma de células T precursoras como el de células B precursoras tuvieron una frecuencia del 50% lo que difiere de lo reportado en un estudio realizado por Burkhardt B. et al. (35) en el cual el Linfoma de células T tiene una frecuencia de un 32%; en otro estudio Buxton et al. (18) reportaron una frecuencia para el linfoma de células T de 85-90% aproximadamente y un 10 % para el de células B, la causa de la variación en la incidencia se desconoce al no haberse encontrado hasta el momento factores de riesgo atribuibles para el desarrollo de esta enfermedad (18). A nivel mundial es el Linfoma de células T el de mayor predominio. En lo que se refiere al inmunofenotipo que encontramos en nuestra población de estudio coincide con lo reportado en la literatura en donde se menciona CD3, CD4, CD8 y TdT positivos, y negativo para CD20 (36).

Para el Linfoma de Células B grandes observamos una frecuencia de 24.4%, con predominio entre los 10 y 15 años de edad; en la literatura internacional se refiere el predominio en el grupo de los adolescentes con una frecuencia de 10 a 20% de todos los linfomas no Hodgkin en niños (37) En un estudio epidemiológico realizado en México en 1999 por el Dr. Fajardo et al. (38) se menciona mayor frecuencia en los adolescentes para el linfoma de células B grandes, por lo que nuestros resultados tienen características similares a lo reportado a nivel mundial y nacional. La razón del porque este subtipo de Linfoma predomina en la adolescencia se desconoce.

Dentro del grupo de Linfoma de células grandes, se encuentra el Linfoma de células Anaplasicas, un subtipo de linfoma no Hodgkin importante en niños. En nuestro estudio representó el 90.5% de la frecuencia contra un 9.5% del subtipo de Linfoma Difuso de células B. En la literatura se menciona al linfoma de células Anaplasicas con una frecuencia de 10 a 20% de todos los tipos de linfoma en la edad pediátrica (39) lo que coincide con nuestros resultados. La expresión de proteínas celulares para este subtipo de linfoma No Hodgkin fue similar a lo referido en la literatura (31) con CD30+, CD45+, CD15 +/-, CD68 negativo, EMA negativo.

De los antígenos celulares que se expresan en células de linfocitos T: el **CD3** se observó en el 80% de los linfomas Linfoblástico T y 100% de Linfoma difuso, mientras que fue negativo en el 100% del linfoma Linfoblástico B; en la literatura se reporta positivo en el 75-80% de los linfomas T y negativo en linfomas B, nuestro resultado es concordante con lo descrito (40). El **CD4** en nuestra población de estudio se expresó en el 100% de linfoma Linfoblástico T, lo que es coincidente con lo descrito con positividad para linfocitos T y negatividad para linfocitos B (41). De igual manera el **CD8** se encontró en el 100% del linfoma Linfoblástico T y 100% de linfoma difuso, mencionándose que este marcador se expresa además en los linfocitos T citotóxicos y T supresores y un subgrupo de células NK (16) esto también es lo más frecuente en los estudios de Inmunohistoquímica realizados en nuestro hospital.

De los antígenos que identifican a los linfocitos B, el **CD10** se expresó en el 100% de linfoma Linfoblástico B y 100% de linfoma de Burkitt, este marcador también conocido como CALLA, es positivo en el 90% de leucemia Linfoblástica aguda de células B, 94% de linfomas de Burkitt, no Burkitt y Linfoblástico B (42) como se puede apreciar es muy similar a lo que encontramos en el estudio inmunohistoquímico de nuestro hospital en pacientes con linfoma Burkitt y Linfoblástico B. El antígeno **CD20** se expresó en el 100% de linfoma Linfoblástico B, 71% en el linfoma de células pequeñas no hendidas, 100% del tipo No Burkitt y 100% en el linfoma difuso, este marcador es positivo en 95-98% de los linfomas de células B maduras, es negativo para linfomas T; estos resultados de nuestro estudio son similares a lo descrito en la literatura; sin embargo se considera un antígeno inespecífico por lo que siempre se debe de complementar con otros marcadores B como **CD79a** y/o **CD22** para poder clasificar a los linfomas (40). Con respecto a **CD30**, en nuestro estudio este fue positivo en 100% de los linfomas anaplásico por lo que concuerda con lo reportado en la literatura donde se refiere que es positivo en casi el 100% de linfomas anaplásicos (40).

El antígeno TdT se encontró en el 75% de las biopsias con diagnóstico de linfoma de células B, lo que es esperado en el linfoma linfoblástico de células B, de acuerdo a lo reportado en la literatura; sin embargo encontramos que fue negativo en el 100% de los linfomas de células T, lo que no es concordante ya que lo esperado es positividad en el linfoma de células T (43). Estos resultados son desconcertantes sin embargo existen causas que pudieran explicarlo desde la técnica con la que se realiza la inmunohistoquímica hasta la interpretación del observador.

El antígeno ALK define el linfoma anaplásico en el 80% de los casos pediátricos, además se sobre expresa cuando existe la traslocación t(2:5) (44). En nuestro estudio se encontró positividad en un 50% de los linfomas de células T, en el 100% del linfoma de células pequeñas no hendidas y 84% del linfoma anaplásico.

El marcaje celular por el antígeno CD45 lo encontramos positivo en el 75% de los linfomas de células B y en el 100% del linfoma de células grandes, tanto anaplásico como difuso, mientras que fue negativo en el 100% del linfoma de Burkitt, esto es acorde a lo publicado en series europeas donde reportan un 97% de positividad en linfomas de células B y 90% de linfomas T, siendo además positivo en la inmensa mayoría de los linfomas No Hodgkin por lo que no ayuda al diagnóstico diferencial (45).

El antígeno CD79 se observó positivo en el 100% del linfoma Linfoblástico B, lo que coincide a lo reportado en la literatura donde se describe a este marcador en prácticamente todas las neoplasias de células B tanto maduras como inmaduras (45). Para CD99 encontramos expresión en 50% de linfoma Linfoblástico T, lo que es acorde a lo referido para este marcador celular que reporta positividad en un 70% (40).

En cuanto a Bcl-6 se menciona en la literatura su expresión en el 18 a 45% de los linfomas de células difusas, en Burkitt y en el 50% de los linfomas linfoblásticos (46). En nuestro estudio se expresó en el 100% de los linfomas de células pequeñas no hendidas, sin embargo

no fue posible la aplicación del antígeno en todos los que tenían el diagnóstico de linfoma de células difusas o Linfoblástico, por lo que no podemos comparar lo observado, salvo en linfoma Burkitt lo cual concuerda con lo referido en la literatura.

Para Bcl-2 este fue positivo en el 100% de linfoma Linfoblástico T y en el linfoma de Burkitt en ambos subtipos; la sobre expresión de esta proteína está presente en una amplia variedad de células neoplásicas hematolinfoides y tumores sólidos (40) es positivo en el 85% de linfomas foliculares, 20 a 40% de linfoma de células grandes, negativo en el linfoma de Burkitt, esto no es acorde con el resultado histopatológico para Bcl-2 en la población de nuestro hospital, esto como se dijo anteriormente es dependiente al 100% de la técnica y de la interpretación del observador, siendo muchas veces el grosor del corte el que llega a condicionar la mayor parte de los falsos positivos al existir estructuras sobrepuestas.

El CD5 se expresó en el 100% del linfoma Linfoblástico T, lo que es concordante con la literatura que describe que este antígeno es positivo en las células T inmaduras (47).

Finalizamos este análisis, comentando que nuestros pacientes incluidos en este estudio, no son el total de pacientes que ingresan a nuestro hospital de pediatría, sin embargo, el diagnóstico de Linfoma No hodgkin infantil se continua realizando por la observación directa de las células de los tejidos tumorales, y a criterio del observador, decide si realiza procedimiento de inmunohistoquímica o No, en caso de existir duda diagnóstica, esto es por la limitación en la disposición de los marcadores antigénicos.

En los países desarrollados, la Inmunohistoquímica es un procedimiento de rutina en todo paciente con diagnóstico de alguna neoplasia hematolinfoide.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO.

1. El tipo de estudio descriptivo- retrolectivo, representa una limitación importante para los resultados.
2. La población de estudio de nuestro hospital no es una muestra representativa para la población general.
3. Los resultados en el diagnóstico anatomopatológico dependen de los cito tecnólogos los cuales realizan los cortes de los tejidos y la manipulación de los marcadores. Por lo que la observación y el diagnóstico por el patólogo se puede ver entorpecida al enfrentarse a tejidos gruesos, mayores de 3 micras, que condicionan error al interpretar un antígeno como positivo.
4. La limitación de los recursos materiales, pues la falta de los marcadores necesarios para establecer el diagnóstico diferencial entre las diferentes neoplasias hematolinfoides contribuyó a la pérdida de 44 % de los casos en nuestro estudio.

PROPUESTAS:

1. Consideramos en base a los resultados de este estudio que sería de gran utilidad el realizar inmunofenotipo en todos los pacientes con diagnóstico de neoplasias hematolinfoides, ya que incluso en nuestro hospital en el que se encuentran patólogos altamente capacitados, existen dudas interobservador, por lo que al realizarse la inmunohistoquímica se tendría mayor certeza diagnóstica.
2. Incrementar los esfuerzos para que se dirijan más recursos para la investigación de las enfermedades hematolinfoides de nuestro hospital, tanto al diagnóstico como al tratamiento.

CONCLUSIONES.

1. La frecuencia del inmunofenotipo por inmunohistoquímica en pacientes con diagnóstico de Linfoma No Hodgkin del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI es la siguiente: Burkitt 37.2%, Linfoma linfoblástico 30.2%, linfoma de células grandes 24.4%
2. La importancia que tiene el determinar el inmunofenotipo de Linfomas radica en realizar un diagnóstico de certeza, imprescindible para el tratamiento dirigido que varía de acuerdo al subtipo histológico así como determinar el pronóstico de los pacientes.
3. El estudio de Inmunohistoquímica se debe realizar en forma rutinaria en todos los casos de diagnóstico de Linfoma.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- Fajardo Gutiérrez A, Juárez S, Miranda G, Padilla V, Cruz R, Mejía JM. Incidencia general y específica de cáncer en niños derechohabientes del IMSS, Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2007; 45 (6): 579-592
- 2- Percy C, Smith M, Linnet M, Ries A, Friedman L. Lymphomas and reticuloendothelial neoplasms. National Cancer Institute. 2011;35-50
- 3- American Cancer Society.(2014).Cancer Facts & Figures 2014. (ed)Atlanta:Editor
- 4- Pizzo P, Poplack D, (2011). Principles and Practice of Pediatric Oncology (6ta ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- 5- Mann G, Attarbaschi A, Burkhardt B, Niggli G, Klapper W, Ludwig W, et al. Clinical characteristics and treatment outcome of infants with non-Hodgkin lymphoma. British Journal of Haematology 2007; 139:443-449
- 6- Matthew J, Andrew D. Overview of lymphoma diagnosis and management. Radiol Clin N Am 2008; 46(2):175-198
- 7- Swerdlow S, Campo E, Harris N. World Health Organization classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. International Agency for Research on Cancer (IARC) Press. Lyon, France: 2001.
- 8- Landmann O, Zimmermann M, Moser O, Graf N, Suttorp M. Secondary non-Hodgkin lymphoma in children and adolescents after childhood cancer other than NHL. British Journal of Haematology 2008;143:387-394
- 9- David J, Randy D. Classification of Non-Hodgkin's lymphoma. Hematology Oncology Clin N Am 2008; 22:781-805
- 10- Reiter A. Diagnosis and treatment of childhood Non-Hodgkin Lymphoma. Hematology 2007;1:285-296
- 11- Salzburg J, Burkhardt B, Zimmermann M. Diagnosis and treatment of childhood Non-Hodgkin lymphoma. Hematology 2007; 21:201-206
- 12- Cortelazzo S, Ponzoni M, Ferreri, A, Hoelzer D. Lymphoblastic lymphoma. Crit Rev Oncol Hematol 2011;79(3):330-343
- 13- Ferry JA. Burkitt's lymphoma: Clinic pathologic features and differential diagnosis. The Oncologist 2006;11:375-383
- 14- Oudejans J, Vandervalk P. Immunohistochemical classification of B cell neoplasms. J Clin Pathol 2003; 56:193
- 15- Ghafar A, Telbany M, Mahmoud H, Sakhawy Y. Immunophenotyping of chronic B-cell neoplasms: flow cytometry versus immunohistochemistry. Hematology 2012;4(3):6-11
- 16- Hans C, Wiesenberger D, Greiner T, Gascoyne R, Delabie J, Ott G, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large b-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. Blood 2004;103:275-282

- 17- Shih-Sung C, Hongtao Ye, Ming-Qing D, Chin-Li L, Ahmet D, Pin-Pen H, et al. Histopathology and immunohistochemistry in distinguishing Burkitt Lymphoma from diffuse large B-cell lymphoma with very high proliferation index and with or without a starry-sky pattern. *Am J Clin Pathol* 2007;128:558-564
- 18- Buxton D, Bacchi C, Gualco G, Weiss L, Zuppan C, Rowsell E, et al. Frequent expression of CD99 in anaplastic large cell lymphoma. A clinic pathologic and immunohistochemical study of 160 cases. *Am J Clin Pathol* 2009;131:574-579
- 19- Hutchison R, Laver J, Chang M, Muzzafar T, Desai S, Murphy S, et al. Non-anaplastic peripheral T-cell lymphoma in childhood and adolescence: a children's oncology group study. *Pediatric Blood Cancer* 2008;51:29-33
- 20- Al-Humood S, AlQallaf A, Shemmari S, Al-Faris L, Al-Ayadhy B. Genetic and immunohistochemical characterization of Epstein-Barr virus associated diffuse large B-cell lymphoma. *Acta Haematol.* 2014;131:1-10
- 21- Canoz O, Rassidakis G, Admirand J, Jeffrey M. Immunohistochemical detection of BCL-3 in lymphoid neoplasm: a survey of 353 cases. *Mod Pathol* 2004; 17: 911-917
- 22- Miettinen M. CD30 distribution, immunohistochemical study on formaldehyde fixed, paraffin-embedded Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas. *Arch Pathol Lab Med* 1992;116(11): 1197-1201
- 23- Yago R, Sulayvani F, Al-Allawi N. Malignant lymphoma in northern Iraq: a retrospective analysis of 270 cases according to the world health organization classification. *Indian J Cancer* 2011; 48:446-451
- 24- Wright D, Mckeever P, Carter R. Childhood non-Hodgkin lymphomas in the United Kingdom: findings from the UK children's cancer study group. *J Clin Pathol* 1997; 50:128-134
- 25- Aihua Li, Smith A, Nand A, Munagala A, Frolkis M, Chen T. A Panel of rabbit monoclonal antibody for immunophenotyping of lymphoma. *Journal of histotechnology* 2012; 35:31-35
- 26- Gatta G, Botta L, Rossi S, Aareleid T, Bielska-Lasota M, Clavel J, et al. Childhood cancer survival in Europe 1999-2007: results of EURO CARE-5-a population based study. *The Lancet Oncology* 2014; 15(1): 35-47
- 27- Mbulaiteye S, Biggar RJ, Bhatia M, Linet P, Devesa S. Sporadic childhood Burkitt lymphoma incidence in the United States during 1992–2005. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53(3): 366–370
- 28- Mejía J, Flores A, Juárez M, Vázquez L, Games E, Pérez S, et al. Edad de aparición de los diferentes tumores malignos en la infancia. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2005; 43(1): 25-37
- 29- Waarnker R, Isaacson P,(2001). Immunohistochemical analysis of lymphoid tissue in neoplastic hematopathology. (ed). Lippincott Williams Wilkins. Philadelphia. Cap 4:227-253
- 30- Moreno F, Loria D, Abriata G, Terracini B. Childhood cancer: incidence and early deaths in Argentina, 2000-2008. *European Journal of Cancer* 2013; 49:465-473

- 31- Molyneux E, Rochford R, Griffin B, Newton R, Graham J, Menon G, et al. Burkitt's lymphoma. *Lancet* 2012; 379:1234-1244
- 32- Zelenetz A, Abramson J, Advani R, Andreadis C, Bartlett N, Bellam N, et al. Non-Hodgkin's Lymphomas. *J Natl Compr Canc Netw*. 2011; 9: 485-560
- 33- Pagano L, Caira M, Giovanna C, Fianchi V, Fianchi L. Clinical aspects and therapy of sporadic Burkitt lymphoma. *Medit J Hemat Infect Dis* 2009; 1(2): 235-306
- 34- Schmidt E, Burkhardt B. Lymphoblastic lymphoma in childhood and adolescence. *Pediatr Hematol Oncol* 2013; 30(6):484-508
- 35- Burchhardt B, Zimmermann M, Oschlies I. The impact of age and gender on biology, clinical features and treatment outcomes of non-Hodgkin lymphoma in childhood and adolescence. *Br J Haem* 2005;131:39-49
- 36- Chu P, Chang K, Arber D, Weiss L. Immunophenotyping of hematopoietic neoplasms. *Semin Diagn Pathol* 2000;17(3): 236-256
- 37- Samochatova E, Maschan A, Shelikhova L, Myakova N, Belogurova M, Khlebnikova O, et al. Therapy of advanced stage mature B cell lymphoma and leukemia in children and adolescents with rituximab and reduced intensity induction chemotherapy (B-NHL 2004M protocol): the results of a multicenter study. *The Lancet Oncology* 2013; 20: 124-133
- 38- Fajardo G, Mejía J, Hernández C, Mendoza S, Garduño E, Martínez G. Epidemiología descriptiva de las neoplasias malignas en niños. *Rev Panam Salud Publica* 1999; 6(2):75-88
- 39- Smith M, Seibel N, Altekruse S. Outcomes for children and adolescents with cancer: Challenges for the twenty-first century. *J Clin Oncol*. 2010;28(15):2625-2634
- 40- Chu P, Chang K, Arber D, Weiss L. Immunophenotyping of hematopoietic neoplasms. *Semin Diagn Pathol* 2000, 17 (3): 236- 256
- 41- Seidal T, Balaton A, Battifora H. Interpretation and quantification of immunostains. *Am J Surg Pathol* 2001; 25(9): 1204-1207
- 42- Arber D, Weiss L. CD10: a review. *Appl Immunohistochem* 1997;5:125-140.
- 43- Chilosi M, Pizzolo G. Review of terminal deoxynucleotidyl transferase. *Appl Immunohistochem* 1995;3:209-221
- 44- Burkhardt B, Oschlies I, Klapper W, Zimmermann M, Woessmann W, Meinhardt, A, et al. Non Hodgkin's lymphoma in adolescents: experiences in 378 adolescent NHL patients treated according to pediatric NHL-BFM protocols. *Leukemia* 2011; 25:153-160
- 45- Oschlies I, Klapper W, Zimmermann M, Krams M, Wacker H, Burkhardt B, et al. Diffuse large B-cell lymphoma in pediatric patients belongs predominantly to the germinal-center type B-cell lymphomas: a clinic pathologic analysis of cases included in the German BFM (Berlin-Frankfurt-Munster) multicenter trial. *Blood* 2006;107(10):4047-4052

- 46- Capello D, Vitolo U, Pasqualucci L, Quatrone S, Migliaretti G, Fassone G, et al. Distribution and pattern of bcl-6 mutations throughout the spectrum of B cell neoplasia. *Blood* 2000; 95: 651-659
- 47- Dorfman D, Shahsafaei A. Usefulness of new CD5 antibody for the diagnosis of T-cell and B-cell lymphoproliferatives disorders in paraffin sections. *Mod Pathol* 1997; 10 (9):859-86

ANEXOS

1. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

FECHA: _____

NOMBRE: _____

NO. DE SEGURIDAD SOCIAL: _____

EDAD: _____ EDAD AL DIAGNOSTICO: _____

GENERO: _____

DIAGNOSTICO CLÍNICO: _____

DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO: _____

NO. DE ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO: _____ EXPEDIENTE: _____

DIAGNOSTICO	RESULTADO DE INMUNOHISTOQUIMICA

OBSERVACIONES: