



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

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

**CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA
HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA
SERVICIO DE ONCOLOGIA PEDIÁTRICA**



TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE ONCOLOGIA PEDIATRICA

**LA INMUNOHISTOQUIMICA EN EL DIAGNOSTICO DE LOS LINFOMAS EN
PEDIATRIA EN EL CMN LA RAZA EN EL PERIODO 2014-2015**

P R E S E N T A

JUAN CARLOS QUIROZ SILVA*

INVESTIGADOR RESPONSABLE

DRA. SUSANA ELIZABETH ANAYA AGUIRRE.

INVESTIGADORES ASOCIADOS

DRA. SANDRA ALICIA SANCHEZ FELIX

DR. MIGUEL ANGEL VILLASIS KEVEER

México, Distrito Federal a 05 de Agosto del 2016.

*Residente de 2do. Año de Oncología Pediátrica del HG CMN La Raza.



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.

IDENTIFICACION DE INVESTIGADORES

INVESTIGADOR PRINCIPAL:

Dra. Susana Elizabeth Anaya Aguirre

Enc. Jefatura de Oncología Pediátrica HG del CMN la Raza

E-mail: s311276@hotmail.com

Teléfono: 55 44 63 33 33

INVESTIGADORES ASOCIADOS

Dra. Sandra Alicia Sánchez Félix

Enc. División de Pediatría del HG del CMN la Raza

E-mail: polosan@infosel.net.mx

Teléfono: 555 451 0690

Dr. Miguel Angel Villasis Keever

Investigador Titular A

Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica CMNSXXI

E-mail:miguel_villasis@hotmail.com

Teléfono: 55 40 67 28 32

Dr. Juan Carlos Quiroz Silva

Residente de Oncología Pediátrica del HG CMN la Raza

E-mail: charlie_qs@hotmail.com

Teléfono: 55 3286 5256

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA
HOSPITAL GENERAL GAUDENCIO GONZALEZ GARZA
HOJA DE FIRMAS**

DRA. MARIA TERESA RAMOS CERVANTES
DIRECTORA DE EDUCACION E INVESTIGACION EN SALUD
DEL HG "DR GUADENCIO GONZALEZ GARZA" U.M.A.E. CMN "LA RAZA"

DRA SANDRA ALICIA SANCHEZ FELIX
MEDICO ONCOLOGO PEDIATRIA, ENC. DE LA DIVISION DE PEDIATRIA
DEL HG "DR GUADENCIO GONZALEZ GARZA" U.M.A.E. CMN "LA RAZA"

DRA SUSANA ELIZABETH ANAYA AGUIRRE
MEDICO ONCOLOGO PEDIATRIA, ENC. JEFATURA DE ONCOLOGIA
DEL HG "DR GUADENCIO GONZALEZ GARZA" U.M.A.E. CMN "LA RAZA"

DR. JUAN CARLOS QUIROZ SILVA
MEDICO RESIDENTE DE SEGUNDO AÑO DE ONCOLOGIA PEDIATRICA
DEL HG "DR GUADENCIO GONZALEZ GARZA" U.M.A.E. CMN "LA RAZA"

DR MIGUEL ANGEL VILLASIS KEEVER
INVESTIGADOR TITULAR A
UNIDAD DE INVESTIGACION DE EPIDEMIOLOGIA CLINICA CMNSXXI

INDICE

INDICE	5
RESUMEN	6
ANTECEDENTES.....	8
JUSTIFICACION	34
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	34
HIPOTESIS GENERAL	34
OBJETIVO GENERAL	35
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
MATERIAL Y MÉTODOS	35
DESCRIPCION DEL ESTUDIO	39
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	39
CONSIDERACIONES ÉTICAS	40
RECURSOS.....	41
RESULTADOS	41
DISCUSION	47
CONCLUSIONES	51
ANEXOS	52
HOJA DE RECOLECCION DE DATOS.....	52
BIBLIOGRAFÍA	53

RESUMEN

LA INMUNOHISTOQUIMICA EN EL DIAGNOSTICO DE LOS LINFOMAS EN PEDIATRIA EN EL CMN LA RAZA EN EL PERIODO 2014 - 2015

Autores: *Anaya-Aguirre Susana, Sánchez-Félix Sandra, Quiroz-Silva Juan Carlos, Villasís-Keever Miguel Ángel.*

Introducción:

La Inmunohistoquímica o Inmunocitoquímica es un método que combina técnicas inmunológicas, histológicas y bioquímicas y que se utiliza para la identificación de antígenos y proteínas específicos en tejidos o células, basado en reacciones antígeno-anticuerpo, facilitando así su observación mediante el microscopio de luz; es de utilidad para identificar el linaje o la estirpe celular de la neoplasia y en base a esto dirigir el tratamiento.

Objetivo:

Se determinó la importancia de la Inmunohistoquímica en el diagnóstico de linfomas en pacientes pediátrico en el CMN La Raza.

Material y métodos:

Tipo de estudio: Descriptivo retrospectivo. A todos los pacientes pediátricos con diagnóstico de Enfermedad de Hodgkin o Linfoma no Hodgkin que recibieron tratamiento en el servicio de oncología pediátrica del CMN la Raza en el periodo comprendido entre 2014 y 2015 se les realizó revisión de los expedientes clínicos, carnet de quimioterapia así como registros electrónicos médicos incluyendo edad, sexo, diagnóstico, Inmunohistoquímica y el tipo de tratamiento que recibieron para determinar la importancia de la identificación de la estirpe de la enfermedad en la toma de la decisión para tratamiento a seguir en la enfermedad de estos pacientes, en el servicio de oncología pediátrica durante el 2014 y 2015.

Análisis estadístico: Se determinó la sensibilidad y especificidad de la Inmunohistoquímica como prueba diagnóstica de los linfomas en pediatría y posteriormente se llevó a cabo el análisis estadístico, el cual se realizó determinando el índice de Youden (Y), para determinar el valor de la Inmunohistoquímica como prueba diagnóstica de los linfomas en pediatría.

Recursos e Infraestructura:

Se tomaron los datos de expedientes clínicos y electrónicos así como de los carnets de quimioterapia y se registraron todos los datos en la hoja de recolección de datos (anexo 1) por la doctora Susana Elizabeth Anaya Aguirre y el doctor Juan Carlos Quiroz Silva y posteriormente se registró en una base de datos electrónica, el doctor Miguel Ángel Villasis Kever realizó el análisis estadístico.

Resultados

De un total de 55 pacientes con linfoma no Hodgkin o con Enfermedad de Hodgkin, se excluyeron 20; 19 porque no se realizó estudio de Inmunohistoquímica y uno por no contar con la información completa. De esta forma, el análisis se realizó en 35 pacientes.

De acuerdo a nuestro análisis la Inmunohistoquímica tiene una **SENSIBILIDAD** del **96.9%** para diagnosticar linfomas en niños, (porcentaje de Inmunohistoquímica positiva en pacientes con diagnóstico de linfomas corroborado por biopsia de ganglio) y una **ESPECIFICIDAD** del **100%** para diagnosticar linfomas en niños, (Porcentaje de Inmunohistoquímica negativa en pacientes que no padecen de linfoma) (capacidad que tiene la prueba para detectar individuos sanos). De nuestros pacientes el Valor predictivo positivo **VPP** fue del **100%** (los niños que estando enfermos es decir con biopsia de ganglio positiva a linfoma dieron una Inmunohistoquímica positiva para linfoma) y de nuestros pacientes el valor predictivo negativo **VPN** fue del **66.6%** (los niños que no tuvieron biopsia positiva a linfoma pero que dieron positiva la prueba de Inmunohistoquímica). Y calculando el **Índice de Youden** que se refiere a la capacidad que tiene la Inmunohistoquímica como método diagnóstico para linfomas en pediatría fue del **96.9%**

Conclusión

La Inmunohistoquímica para el diagnóstico de linfomas en niños tiene una sensibilidad del 96.9%, una especificidad del 100% y un índice de Youden del 96.9%, por lo que concluimos que tiene una gran capacidad como método diagnóstico para este tipo de enfermedad.

ANTECEDENTES

INTRODUCCION

Los Linfomas representan un grupo heterogéneo de enfermedades del sistema linforreticular, ya sea de linaje B o T, que de acuerdo a características histológicas, clínicas, presentación nodal o extranodal e inmunohistoquímica se clasifican en dos grandes grupos; LINFOMA HODGKIN (LH) Y LINFOMA NO HODGKIN (LNH). (1, 2, 3, 4). A nivel internacional representan la tercera causa de Cáncer en la edad Pediátrica después de las Leucemias y Tumores del sistema Nervioso Central; y a nivel nacional ocupan la segunda causa de Cáncer Pediátrico después de las leucemias, ocupando así el 30% de las causas de cáncer en pediatría del cual el 60% corresponden a Linfoma No Hodgkin y el 40% al Linfoma Hodgkin. En cuanto a los grupos de edad, el LH afecta con mayor frecuencia a grupo de adolescentes 14-15 años, puede presentarse en edades más tempranas y es raro en menores de 5 años. El LNH se puede presentar en cualquier edad y es más frecuente en menores de 10 años. (2, 3, 4, 5, 6).

La inmunohistoquímica o inmunocitoquímica es un método que combina técnicas inmunológicas, histológicas y bioquímicas y que se utiliza para la identificación de antígenos y proteínas específicos en tejidos o células, basado en reacciones antígeno-anticuerpo, facilitando así su observación mediante el microscopio de luz. (7, 8, 9). Hace más de tres décadas se reconoció el hecho que las células linfoides pertenecen a distintos subgrupos, con expresión de diferentes antígenos, tanto de superficie como citoplasmáticos y con funciones inmunológicas distintas. Esto permitió el inicio de los estudios de inmunofenotipo en células malignas los cuales fueron hechos con técnicas de inmunología celular costosa, compleja y muy difícil de estandarizar. Alrededor de 1980 la situación cambió gracias al desarrollo, caracterización, y distribución comercial de anticuerpos poli y monoclonales capaces de detectar antígenos asociados con el linaje celular. Estos se utilizaban con técnicas de inmunofluorescencia o inmunohistoquímica (IHQ) en cortes congelados. Posteriormente, la aparición de anticuerpos que detectan antígenos en el tejido que fue fijado e incluido en parafina dió un vuelco enorme a toda esta tecnología, llegando actualmente a la automatización en el

procedimiento. En 1980 se incluían solamente 10 anticuerpos, actualmente se cuenta con 50 y existen 300 antígenos identificados como Cluster designation (CD). En la actualidad estos son de gran utilidad para el diagnóstico, tratamiento y pronóstico de los Linfomas y otras entidades oncológicas pediátricas ya que nos ayudan para hacer diagnósticos más certeros y dar terapias dirigidas como en el caso del Rituximab cuando se tiene CD 20 + lo que mejorará el pronóstico de éstas entidades en un futuro. (1, 7, 8)

El estudio del inmunofenotipo mejora la eficacia diagnóstica entre 10% y 45% para los tipos más frecuentes de linfomas. La comprensión del desarrollo, maduración y migración de los linfocitos proporciona la base para determinar el inmunofenotipo de los linfomas debido a las etapas de maduración de los linfocitos y por las macromoléculas que producen. Los linfomas producen antígenos que comparten características o semejan las etapas de maduración de los linfocitos. (7, 8, 9)

Además de la importancia diagnóstica también resulta de gran utilidad para comprender la histogénesis. La principal ventaja de esta técnica es la capacidad de ser usada en material fijado y procesado de forma rutinaria. Se puede aplicar en material de archivo de años anteriores. El hecho que pueda correlacionarse el resultado de la técnica con la histomorfología es también una característica importante ya que se puede estar seguro que los hallazgos que se interpretan como positivos o negativos están realmente asentados en las células tumorales. (7, 8, 9)

La interpretación de la IHQ requiere un amplio conocimiento de la histología, la distribución del antígeno en los tejidos y en las células (membrana, citoplasma, núcleo), así como los posibles artefactos que puedan afectar la calidad de la tinción. Así mismo para garantizar la calidad de la tinción se utilizan controles positivos y negativos. (7)

CLASIFICACION DE LOS LINFOMAS EN PEDIATRIA

La OMS clasifica a los Linfomas en Linfoma Hodgkin (LH) y Linfoma No Hodgkin (LNH), éstos a su vez se subclasifican de acuerdo a sus características clínicas, pero principalmente de acuerdo al grado de maduración (maduras-inmaduras) y linaje o células de origen (Células, B, T o Natural Killer). (1, 3, 8)

Con el examen morfológico se realiza la determinación de alteraciones anatómicas de la arquitectura en el compartimento linfoide; es decir los folículos de las células B (centro del folículo, manto o zona marginal) o regiones de las células T (áreas interfoliculares o senos). Si una población anormal está presente, se hace la determinación del tamaño de las células y las características nucleares (redondas, irregulares, cromatina dispersa, condensada o blástica, características de los núcleos), el componente reactivo asociado también puede ser importante. En las zonas extraganglionares la localización anatómica, la invasión epitelial o vascular o la presencia de necrosis zonal también puede ser importante para establecer el diagnóstico. En base a lo anterior se realizan las siguientes clasificaciones: (7,8)

LINFOMA HODGKIN

Se caracteriza por una proliferación clonal de Linfocitos B malignos y con menos frecuencia Linfocitos T rodeados por un número variable de células inflamatorias y fibrosis. Se divide en dos grupos; la variedad o Forma Clásica que a su vez se subdivide en 4 grupos ESCLEROSIS NODULAR (40-70%), CELULARIDAD MIXTA (30%), RICO EN LINFOCITOS (5%), DEPLECION DE LINFOCITOS (<5%). Y la forma No Clásica o Nodular con Predominio de Linfocitos (LH NPL-<5%). (1, 2, 7)

TABLA 1. CARACTERISTICAS DE LOS SUBGRUPOS HISTOLOGICOS DEL LINFOMA DE HODGKIN EN PEDIATRIA			
SUBGRUPO HISTOLOGICO	DIFERENCIAS PATOLOGICAS	EPIDEMIOLOGIA	SITIOS AFECTADOS Y CARACTERISTICAS CLINICAS
NODULAR CON PREDOMINIO DE LINFOCITOS (LH NPL)	Célula patognomónica: <i>Célula Linfocítica e Histiocítica</i> o <i>Pop Corn</i> . Borramiento de la arquitectura del ganglio por un infiltrado nodular de células B pequeñas con una red dendrítica folicular asociada y células grandes dispersas o agrupadas Transformación progresiva de los centros germinales.	Frecuente en niños pequeños. Proporción varones-mujeres 4:1 Rara vez se asocia a VEB.	Una sola región ganglionar, compromiso mediastinal raro, larga evolución antes del diagnóstico y recaída.
ESCLEROSIS NODULAR (EN)	Bandas de colágeno subdividen los ganglios linfáticos en nódulos que frecuentemente contienen una variante de las células de Reed Sternberg llamadas Células Lacunares. Citoplasma claro, núcleo multilobulado.	Adolescentes y adultos jóvenes	Ganglios supradiaphragmáticos, es común la presencia de tumor residual después del tratamiento ya que el colágeno no se contrae.
CELULARIDAD MIXTA (CM)	Las Células Reed Sternberg (RS) bi o multinucleadas se encuentran con un fondo de abundantes células reactivas normales (linfocitos, eosinófilos, histiocitos). Puede confundirse con Linfoma de Células T Periféricas. La cápsula generalmente está intacta. Puede haber focos de necrosis, pero mucho menos extensos que en la esclerosis nodular	Niños pequeños y adultos mayores. Asociación importante a VEB.	Síntomas B y ganglios infradiaphragmáticos. Puede afectar ganglios no contiguos.

RICO EN LINFOCITOS	Células Reed Sternberg es poco frecuente y tiene un fondo rico en linfocitos pequeños		Similar al de Celularidad Mixta.
DEPLECION DE LINFOCITOS	Raro, puede confundirse con LNH Anaplásico de Células Grandes. Tiene dos variantes fibrosis difusa y reticular. A diferencia de la variedad esclerosis nodular no se caracteriza por la presencia de bandas fibrosas y la fibrosis involucra células individuales no nódulos de células.	Común en pacientes con VIH.	Estadios avanzados con múltiples sitios afectados. Mal pronóstico.

BIOLOGIA DE LOS ANTIGENOS

PRINCIPALES ANTICUERPOS (CD 45, CD20, CD30 Y CD15)

La célula característica en el **LH NPL** es la *Célula Linfocítica e Histiocítica (LH)* o también conocida como Célula Pop Corn; que generalmente expresa CD45 (LCA - leukocyte common antigen), todos los casos expresan CD20. (7, 8)

En el caso del **LH Clásico** el *Imunofenotipo Tipo 1* lo representa el 24% que expresan CD 20 característico de las Células Linfocíticas e Histiocíticas, de igual manera son pocos los casos que expresan CD45. CD 20 es un Antígeno B de membrana que es adquirido tardíamente en estadios pre B de maduración y permanece en las células en el resto de su vida madura. Se pierde en la etapa de diferenciación terminal de células B a células plasmáticas. Es positivo en un subgrupo de células T. No en células mieloides. Es positivo en 12% de la variedad Esclerosis Nodular y 8% en la Celularidad Mixta. Sin embargo más del 90% de los casos de LH Clásico expresan CD30 (Ber-H2), un antígeno de superficie celular miembro de la familia del Factor de Necrosis Tumoral, su patrón de tinción es variable, ya sea en el aparato de golgi, citoplasma o principalmente en la membrana. La proteína latente de membrana 1 del VEB (VEB-LMP1) activa a

CD30 que a su vez activa al factor de transcripción NF-KB quien tiene efecto antiapoptótico y promueve la proliferación celular. De igual forma del 60 al 85% de los casos de LH Clásico expresan CD15 (Detectado por anticuerpos LM1) que es un antígeno mielomonocítico. CD15 y CD30 representan el **Immunofenotipo Tipo 2** con un 76% de los casos. (2, 3, 7) La expresión de CD15 se utiliza para diferenciar la expresión de CD30 en células reactivas o células similares a las células de RS en entidades como la mononucleosis infecciosa, las cuales generalmente son CD15-. Solo el 7% de los casos de LHC expresan CD45, por lo que su expresión en presencia de CD15 y CD30 no excluye el diagnóstico de LHC. (7, 10, 11, 12).

MARCADORES DEL CENTRO GERMINAL/POST-CENTRO GERMINAL (BCL-6, CD138, CD57)

Las Células LH derivan del Centro Germinal y expresan BCL-6, un factor de transcripción de los Centros Germinales de Células B, pero no expresan CD10. Tampoco expresan CD138, un proteoglicano asociado Post-Centro Germinal. Estas células generalmente se encuentran rodeadas de una población de células T de memoria (CD4+, CD57, CD45R+, CD45+) que generalmente están confinadas a la zona clara de los centros germinales de los folículos secundarios.(7)

SUPERFAMILIA TNF (CD40)

Adicionalmente al CD30, la Células RS del LHC, un antígeno que es característico de los Centros Germinales de las Células B, y su activación inhibe la apoptosis. (7)

MUM.1

MUM.1 (multiple myeloma oncogene-1) es una proteína de 50kDa, miembro de la familia de factores reguladores del interferón y factores de transcripción, se expresa en el núcleo y citoplasma de las células y en menor cantidad en los centros germinales, codifica la proteína MUM.1 es un excelente marcador para las

células clásicas de RS en combinación con CD30, y se usa en paneles que incluyen BCL-6 y CD138. (7)

ANTIGENO DE MEMBRANA EPITELIAL (EMA)

Se expresa en algunos casos de LH NPL (60%), pero no en LHC, generalmente también se expresa en el LNH Anaplásico de Células Grandes (95%). (7)

MARCADORES CITOTOXICOS Y DE CELULAS T (CD2, CD3, CD5, CD4, CD8, Granzyma B, Perforina, TIA-1)

5-20% de los casos de LHC tienen expresión variable de antígenos de Células B. La población de fondo en las Células de RS son generalmente linfocitos de inmunofenotipo cooperadores CD4+, las cuales forman rosetas alrededor de las células de RS. (7, 12)

VIRUS EBSTEIN BARR

El VEB se asocia a la etiología del Linfoma de Hodgkin, por lo tanto EBV-LMP1 o el RNA para VEB conocido como EBER puede detectarse hasta en el 50% de los casos de LHC, el VEB expresa LMP1 (que es una de sus proteínas latentes de membrana) la cual activa al NF-KB (factor nuclear) y MAPK que liberan proteínas antiapoptóticas como AP-1 y BCL-2 condicionando la inmortalización de la célula B al inhibir la apoptosis. La asociación del VEB es mayor en las variedades Celularidad Mixta y Depleción de linfocitos que en la Esclerosis Nodular. También existe mayor asociación con pacientes inmunocomprometidos y con VIH. La detección por IHQ de LMP-1 es específica pero no sensible para VEB, el método de elección para VEB es el FISH. (1, 2, 3, 7, 9)

MARCADORES DE CELULAS DENDRITICAS O CELULAS PRESENTADORAS DE ANTIGENOS: FASCINA

Las Fascina es un marcador relativamente nuevo en el caso del LHC, es una proteína de 55kD. Proteína de unión con actina expresada fundamentalmente por células dendríticas incluyendo a las células dendríticas medulares del timo, células

reticulares interdigitadas y células foliculares dendríticas de ganglios reactivos y de la pulpa blanca del bazo, células que revisten sinusoides esplénicas de la pulpa roja. Es útil en el diagnóstico diferencial de linfoma folicular versus hiperplasia folicular reactiva, porque el linfoma revela disminución o ausencia de células dendríticas. La Fascina es positiva en el centro germinal. Es positiva en la variedad Esclerosis Nodular. También puede ser positiva en infecciones inducidas por VEB. La sobreexpresión se observa en hiperplasia relacionada con HIV, Castleman y otros tipos de hiperplasia. (7)

Son positivas las células de RS y sus variantes en la EH. Su alta sobreexpresión le da un valor predictivo negativo pero no específico para el LHC. (7)

MARCADORES DE CELULAS B (CD79a) Y FACTORES DE TRANSCRIPCION (BSAP, Oct-2, BOB.1, JunB)

CD79 es una proteína dimérica transmembrana la cual junto con la inmunoglobulina de superficie es parte del complejo receptor de la Célula B. Es un marcador de Células B expresado desde el estadio pre-B de la diferenciación celular. Al igual que CD20 se expresa en casi todos los casos de LH NPL. En el caso del LHC se expresa en menos del 20% o puede no expresarse. (7)

La proteína activadora específica de Células B (**BSAP**) es un factor de transcripción expresado por células B y linfomas derivados de células B. Está codificada por el Gen PAX-5, se sobre expresa en la mayoría de los LHC, así como también en la Célula LH del LH NPL. Está presente en un 90-95% de los LHC por lo tanto podría utilizarse como confirmatorio. No se expresa en células T normales o malignas. (3, 7, 11, 12)

PAX 5. Es una proteína miembro de la familia de Factores de transcripción, codificado por el Gen PAX 5 localizado en el cromosoma 9p13, esta proteína PAX

5 es una proteína de linaje específico para células B (BSAP), por lo tanto su expresión en el caso del LH varía desde un 64% hasta un 95%; de tal manera que en el LHC la variedad CELULARIDAD MIXTA lo expresa en promedio en un 77% y la ESCLEROSIS NODULAR en un 50%. Su patrón de expresión es nuclear, en la variedad NPL puede expresarse hasta en un 90-95%.(3, 7, 14)

OCT-2 es un factor de transcripción que a su vez es coactivador de BOB.1/OFB.1 que se une a los octámeros de los genes de inmunoglobulina e induce la síntesis de inmunoglobulinas. Los centros germinales de las Células B normalmente muestran una fuerte tinción para OCT.2 Y BOB.1. Debido a que se derivan de los centros germinales, ambos marcadores son positivos en las células LH del LH NPL. Por otra parte en el caso del LHC sólo se expresan en aproximadamente 20%. (7)

JunB y c-Jun son parte de la familia de factores de transcripción de la Proteína Activadora 1 (AP-1). La AP-1 es estimulada de manera rápida y transitoria por señales extracelulares que activan las vías del factor de crecimiento y/o señales de estrés (por ejemplo la radiación UV) y promueve la progresión del ciclo celular inducida por mitógenos, así como regular la apoptosis. Las Células de RS del LHC expresan proteínas AP-1 que contienen JunB y c-Jun, por el contrario las células de LH NPL no la expresan o JunB se expresa en mínima cantidad. (7)

INMUNOGLOBULINAS (CADENAS J, IgD)

La Cadena J es una proteína ácida de 15kD sintetizada por las células B y células plasmáticas, que secretan inmunoglobulinas poliméricas. Se expresa en la mayoría de las células del LH NPL pero no en las células de RS del LHC donde hay disregulación de genes de inmunoglobulinas. La IgD se expresa en aproximadamente 27% de los casos de LH NPL con una distribución de células extrafoliculares y un fondo relativamente rico en células T y es prácticamente negativa en el LHC. (7, 13).

CD74

CD74 funciona como un modulador del Complejo Mayor de Histocompatibilidad Clase II y normalmente se expresa por una variedad de células, incluyendo células B y linfocitos T activados, macrófagos, células endoteliales activadas y células epiteliales. A pesar de que se expresa por las células RS del LHC no es específico, ya que también se expresa en algunos casos de Linfoma No Hodgkin. (7)

OTROS MARCADORES BIOLÓGICOS EN EL LINFOMA DE HODGKIN

Se ha demostrado la expresión incrementada de factores iniciadores de traslación eIF-4E y eIF-2alpha en las células del LH, pero no en los linfocitos circundantes, Un incremento en la expresión de eIF-4E puede llevar a una alta expresión de NF-KB. Las Células de RS tienen alta expresión de c-FLIP, el cual protege a las células de la apoptosis. Los Inhibidores de Metaloproteinasas de Tejidos (TIMP-1 y TIMP-2) son proteínas que tienen propiedades de inhibición de proteinasas y citocinas. TIMP-1 es primariamente activa en Células B y Linfomas de Células B y TIMP-2 es restringida para células T. Por lo tanto el LH expresa TIMP-1, con baja expresión de TIMP-2. TIMP-1 puede detectarse en tejidos congelados y ganglios donde produce una tinción primariamente con fondo difuso y co-localización con CD30. (7)

Galectina 1 (Gal-1) es un glicano inmunorregulador que se expresa en las células RS. Contribuye al desarrollo y mantenimiento de la inmunosupresión en el LH. (7)

CITOCINAS EN EL LINFOMA DE HODGKIN

Las características y hallazgos clínicos e histológicos en el Linfoma de Hodgkin se asocian con la expresión de citocinas y quimiocinas por las células tumorales. La mayoría de los casos se asocian con la expresión de miembros de la Familia de Receptores de Factor de Necrosis Tumoral (TNF α) y sus ligandos además de una

producción desbalanceada de citocinas Th2 y quimiocinas. El receptor de quimiocina CCR7 es un receptor que se expresa en células B, T y células dendríticas activadas y se ve implicado en la regulación de la migración de linfocitos órganos linfoides secundarios, se sobreexpresa en el LHC. (7)

TGF-beta y el Factor de Crecimiento de Fibroblastos Básico producido por las células del LH se asocia a la patogénesis de la variedad Esclerosis Nodular. La IL-13 y sus receptores frecuentemente se expresan en las células de RS y contribuyen a la producción de fibrosis mediada por el TGF-beta 1. La IL-5 es responsable de la eosinofilia. La producción de IL-10 por células neoplásicas y reactivas es significativamente más frecuente en los casos asociados a VEB y es responsable de la inmunosupresión permitiendo a la célula de RS evadir la respuesta inmune local. (1, 2, 3, 4, 7, 15)

Las proteínas STAT son miembros de la familia de Factores de transcripción responsables de señales de transducción y transcripción; STAT 3, STAT 5 Y STAT 6 generalmente se expresan en el LHC. STAT 5 es activada por la IL-21. (7)

ESPECIFICACIONES DE ANTICUERPOS

Los Ac más utilizados para el diagnóstico del LH son Ber-H2 (CD30), LeuM1 (CD15), LCA (CD45), L26 (CD20), CD75 (LN1), CD74 (LN2), PAX5, CD3, UCHL1 (CD45RO), ALK-1, fascina, y EBV-LMP1. Por lo tanto el inmunofenotipo clásico de las células de RS lo conforman CD30, CD15, PAX 5(BSAP) y FASCINA. CD20 solo está presente en un 20% de los casos. CD57 y EMA pueden utilizarse en el LH NPL. (7)

TABLA 2. INMUNOHISTOQUIMICA EN EL LINFOMA DE HODGKIN		
MARCADOR	LHC	LH NPL
CD30	++	-
CD15	+/-	-
CD20	-/+	++
CD79a	-/+	++
PAX5 (BSAP)	+/-	++
J-CHAIN	-	++
BOB.1	-/+	++
OCT.2	-/+	++
MUM.1	++	++
BCL-6	-	++
CD45	-	++
CD40	+	+
FASCINA	+	-

APLICACIONES TERAPEUTICAS

Algunos marcadores de inmunohistoquímica aparte de ser una herramienta útil en el diagnóstico, clasificación y pronóstico de los LH tienen aplicaciones como terapia blanco. (7, 8)

CD20 Y ANTICUERPOS MONOCLONALES (RITUXIMAB). Las células LH expresan CD20, lo cual ha sido de utilidad en el tratamiento con terapia dirigida de los casos de LH NPL desde finales de los años 90's, reportándose un número pequeño de efectos adversos a largo plazo. Se ha utilizado en combinación con regímenes habituales de quimioterapia y/o radioterapia mejorando la sobrevida y pronóstico. (7, 16)

CD40. Activa la secreción de citocinas, y la vía Fas- de la apoptosis. Su vía activa al NF-KB y factores de transcripción con liberación de IL-2, IL-6, IL-8, TNF, y GM-

CSF, lo que a su vez afecta la activación y proliferación de muchos componentes del sistema inmune. Esta activación del NF-KB es mediada por proteólisis del TRAF3, y un inhibidor de proteasas ha sido utilizado para bloquear esta vía. **Lacatumumab** es un anticuerpo monoclonal que se encuentra en fase de estudio como tratamiento en el LH (7, 17)

LINFOMA NO HODGKIN

Representan un grupo heterogéneo de enfermedades que resultan de la proliferación maligna de células de linaje linfocítico, ya sea de precursores B, T, células B maduras, con diferentes características biológicas, clínicas, que tienden a ser más sistémicos que los Linfomas Hodgkin, por lo general son difusos, no nodulares, de intermedio o alto grado, de origen linforreticular, puede haber afección de médula ósea, extraganglionar, o del Sistema Nervioso Central. En países desarrollados más del 80% de los niños con Linfoma No Hodgkin (LNH) pueden ser curados con esquemas de quimioterapia. (1, 2, 3, 4)

En niños y adolescentes existen 4 variedades más frecuentes, que difieren por su presentación clínica, historia natural, célula de origen, características genéticas, inmunofenotipo, pronóstico y respuesta al tratamiento. Esta clasificación fue descrita por la REAL (Revisión europea americana de linfomas) y revisada en el 2008 por la OMS. Los derivados de precursores T y menos frecuente de precursores B: **LINFOMA LINFOBLASTICO**; los derivados de células B maduras: **LINFOMA DE BURKITT, LINFOMA DIFUSO DE CELULAS B GRANDES**; y los linfomas de células T o células Nulas: **LINFOMA ANAPLASICO DE CELULAS GRANDES**. Estas características difieren de las presentaciones del adulto. Para este tipo de neoplasias la inmunohistoquímica en el diagnóstico es de gran utilidad ya que las características histológicas-morfológicas o el uso de un solo anticuerpo no es suficiente por lo que se utilizan diferentes paneles, y por otra parte la inmunohistoquímica es complementaria a la morfología. (1, 2, 3, 4, 5, 7)

TABLA 3. CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS, INMUNOLOGICAS, MOLECULARES, Y CITOGENETICAS EN LOS LNH				
	LINFOMA LINFOBLASTICO	LINFOMA DE BURKITT	L. DIFUSO DE CELULAS B GRANDES (DLBCL)	LINF. ANAPLASICO O DE CELULAS B GRANDES (ALCL)
TAMAÑO CELULAR	Pequeño o intermedio	Intermedio	Grande	Variable, pequeño a grande, multinucleado
CROMATINA NUCLEAR	Fina, blástica	Gruesa	Agrupada, vesicular	Agrupada, vesicular
NUCLEOLO	Ausente	Variable, discretamente múltiple	Variable, sólo prominente o poco visible	Variable
CITOPLASMA	Escaso	Moderadamente escaso con vacuolas prominentes	Moderado a abundante	Moderado a abundante
PATRON NODAL	Difuso, puede presentar patrón de cielo estrellado	Difuso, patrón de cielo estrellado	Difuso	Sinusoidal o difuso
INMUNOFENOTIPO	Precursores de células B (80%), precursores de células T (20%)	Células B maduras	Células B maduras	Células T, células nulas o CD30+.
GENETICA MOLECULAR	Receptores de células T (TCR) o rearrreglos de genes de IgG.	Rearreglos de genes de IgG	Rearreglos de genes de IgG	Rearreglos de TCR
CITOGENETICA	Células T: t(7;14), t(1;14), t(14;14), t(8;14), t(11;13), TAL-1 o rearrreglos del NOTCH Células B: hiperdiploidia, 21q adicional	t(8;14), t(8;22), t(2;8) Translocaciones del CMYC	Complejos anormales incluyendo anomalías numéricas y estructurales	t(2;5), translocaciones de ALK con cromosomas 1, 2, 3, y 17

BIOLOGIA DE LOS ANTIGENOS Y ANTICUERPOS

CELULAS B

CD 19

Es una glicoproteína Tipo I transmembrana de 95kDa que pertenece a la superfamilia de inmunoglobulinas y se expresa extensamente en las células B y en todos sus estadios de diferenciación. En las Células B, CD19 se asocia con CD21, CD81 Y CD225 formando un complejo de señales de transducción. Se expresa en la mayoría de las neoplasias de células B y en las células dendríticas foliculares. Se considera un blanco para la terapia dirigida con anticuerpos monoclonales. Se expresa en un 20% de los casos de Linfoma Linfoblástico. (2, 3, 7)

CD20

Se adquiere en la etapa final de la maduración de las células pre-B y permanece durante toda la etapa de diferenciación de las mismas y se pierde en la fase de células plasmáticas. Se reconoce por el anticuerpo *L26*, es fuertemente positivo en casi todos los linfomas de Células B maduros, y en menos de la mitad de los linfomas linfoblásticos, 24% de los linfomas de hodgkin clásicos. Como se comentó previamente su expresión es de gran utilidad como terapia blanco con anticuerpos monoclonales. Un subconjunto de células B precursoras de linfomas/leucemia también lo pueden expresar. Su nivel de expresión es muy variable, desde muy tenue en el caso los linfomas/leucemia hasta intenso en el caso de linfomas de células B maduras. Este antígeno es sensible a la descalcificación, por lo que pueden existir dificultades en las muestras tomadas de médula ósea. Adicionar otros marcadores de células B al panel de estudio puede ser de utilidad como PAX-5, CD19, CD79. Cabe señalar que en los pacientes que son tratados con rituximab estos últimos marcadores no se ven afectados por lo que son de utilidad para valorar respuesta a tratamiento. Es negativo en Linfomas/Leucemia de precursores B. (2, 3, 7, 16)

CD21

Sus antígenos son reconocidos por el componente C3d del complemento que media la fagocitosis de partículas recubiertas por complemento. Se encuentra en las células dendríticas foliculares y algunos linfocitos B. Es de utilidad para el Linfoma Folicular y para identificar las islas hiperplásicas y células dendríticas en el Linfoma de células T Angioinmunoblástico. (7)

CD22

Es una molécula transmembrana que inhibe señales para el receptor de células B, actuando como un interruptor molecular que cambia el destino de las células B estimuladas de la proliferación a la apoptosis. Su expresión es paralela a la de CD19. Se expresa en el Linfoma de Burkitt y en el Linfoma Difuso de Células Grandes. (2, 3, 7)

CD23

Es un receptor de baja afinidad para IgE y se expresa en plaquetas, eosinófilos, macrófagos activados, células dendríticas foliculares y células B maduras; por lo tanto puede expresarse en muchos linfomas de células B. Es de utilidad diagnóstica para la separación de linfomas de células linfocíticas pequeñas del linfoma de células del manto, siendo positivo en el primero. Marca fuertemente las células reticulares y dendríticas y de menor intensidad las zonas del manto. Este antígeno se está estudiando como terapia blanco. (7)

CD25

Funciona como un receptor de interleucina 2 de baja afinidad y puede encontrarse en células T activadas. Por lo que se expresa en linfomas de células T, en niveles bajos en Linfomas de células B, en particular en el linfoma linfocítico de células pequeñas y en la leucemia linfocítica crónica. (7)

CD79

Se compone de dos proteínas denominadas CD79a y CD79b. CD79a reconoce a la proteína Ig-alpha y CD79b reconoce a la proteína Ig-beta del componente antigénico del receptor de las células B. La expresión de CD79 precede rearrreglos del gen de Ig y de cadena pesada. Se expresa en la mayoría de Linfomas de Células B, leucemias agudas de precursores B y algunos mielomas los cuales son negativos a CD20 y CD45RA. Es un excelente marcador para células de linaje B, pero también se ha reportado positiva en lesiones que no son de linaje B, como en megacariocitos normales, leucemias mieloides agudas (67-87%). Existe una asociación con la expresión de CD79b en la Leucemia Linfocítica Crónica y la trisomía 12. Es positivo en el Linfoma NH tipo Difuso de Células Grandes hasta en un 98%. El CD7a es positivo en el Linfoma de Burkitt. Se utiliza como complemento al CD20. (1, 7, 8, 18, 19)

CD138

Es un proteoglicano heparan-sulfato transmembrana (tipo I), funciona como un receptor de la matriz extracelular que asiste la organización epitelial. Se expresa en las células plasmáticas y en la mayoría de las lesiones epiteliales benignas y malignas. (7)

DBA.44

Es un subconjunto de anticuerpos de células B que marca fuertemente en el caso de leucemia de células velludas, pero no es específico en el caso del LNH, sólo se encuentra en algunos casos de Linfomas de Células Grandes. (7)

INMUNOGLOBULINAS DE CADENAS LIGERAS

Las Ig de cadenas ligeras *kappa* y *lambda* se encuentran dentro de los marcadores más antiguos utilizados en el diagnóstico. Las células B maduras las producen en su superficie celular. Los rearrreglos genéticos normalmente producen dos veces más kappa que lambda, esta relación se mantiene en células normales o reactivas, pero se altera en las poblaciones malignas, teniendo una relación

mayor a 2:1. Muchas veces los tejidos en parafina no son sensibles para su detección. Siempre deben ser interpretadas a la par. (7)

FACTORES DE TRANSCRIPCION DE CELULAS B

Los factores de transcripción están involucrados en la diferenciación y procesos de activación de los linfocitos B y T en condiciones normales y neoplásicas. La mayoría de ellos se localizan en el núcleo de las células.

MUM1/IRF4

El oncogen de mieloma múltiple 1 y el factor regulador de interferón 4 se relacionan con la t(6;14)(p25;q32). Se expresa en el Linfoma Linfoblástico de Células B, LNH Difuso de Células Grandes (40%), Linfoma de Burkitt (20%), Mieloma Múltiple, LH clásico, LNH Anaplásico de Células Grandes y Linfoma periférico de células T, generalmente de moderado a intenso de un 20-30% de los casos. MUM 1 es un miembro de la familia de reguladores de los factores de transcripción. Normalmente se expresa en células plasmáticas, células B maduras, células T activadas. No es de utilidad para diferenciar los procesos malignos CD30+. Su coexpresión con BCL-6 es mayor en pacientes con VIH comparada con pacientes que no son portadores de VIH (7, 20)

PAX 5

Es un factor de transcripción que codifica para la proteína activadora específica de linaje B (BSAP), una molécula de 52kD, detectable solamente en etapas tempranas de la diferenciación de las células de linaje B, por lo tanto es iniciado en las células PRO-B, abundante en las PRE-B y células B maduras y ausente en las células plasmáticas. Es un excelente marcador de células Pan B o pan pre-B. En tejidos linfoides normales se expresa en el núcleo. Es positivo en el LNH Difuso de Células Grandes en más del 90% de los casos, (se ha reportado positividad hasta en un 70-90% de los LNH de células B). Se ha relacionado con la t(8:21) de la LMA. Por otra parte no se detecta en la variedad Anaplásica de células Grandes. Alteraciones en este gen también se han descrito en meduloblastomas,

astrocitomas y neuroblastomas. Su expresión se relaciona con la proliferación de las células tumorales, inhibición de la apoptosis, desarrollo y progresión tumoral. (7, 10, 14, 21, 22, 23)

OCT.2 Y BOB.1

OCT.2 Es un factor de transcripción de los Linfocitos B asociado al coactivador transcripcional BOB.1. Codifica genes de Ig que incluyen moléculas de CD20 y CD36. Se cree que juega un rol importante en la expansión y mantenimiento de las células B. Su expresión es baja en células B inmaduras, pero alta en células maduras, así como también en los centros germinales. Son positivos en las variedades Difuso de Células Grandes y Burkitt. (7)

CELULAS T

CD2

El receptor de las Rosetas E es un marcador amplio de células T. Algunas Células B tímicas también son positivas. Son positivas también las Células NK. (7)

CD3

El receptor de Antígenos de células T se une al complejo proteico CD3 de la membrana celular. El Ac reacciona con la mayoría de linfomas de células T, las excepciones son algunos Linfomas Anaplásicos, Células NK. Se considera específico de Células T. Su expresión citoplasmática en el Linfoma Linfoblástico de precursores B es considerado el primer marcador definitivo. Es negativo hasta en un 75% de los casos de LNH Anaplásico de células grandes. (1, 7, 13)

CD4

La molécula CD4 interactúa con el HLA Clase II durante el reconocimiento antigénico e induce un subconjunto cooperador e inductor de células T. Se encuentra también en las células de langerhans y otras células dendríticas. Está ausente en los timocitos inmaduros y se expresa en el desarrollo de las células T.

Los Linfomas Linfoblásticos de Células T presentan una expresión variable, mientras que los Linfomas de células T maduras son positivos con excepción de la Leucemia agresiva de células NK, linfoma de células NK extranodal. CD2 y CD4 son positivos en una cantidad considerable de casos de LNH Anaplásico. (1, 7, 13)

CD5

Es una molécula de transducción de señal presente en la superficie de la mayoría de los timocitos y en las células T periféricas inmaduras. Se encuentra también en un subconjunto de Células B pequeñas circulantes. (7)

CD7

Es de utilidad para la distinción de Micosis Fungoides, también está presente en neoplasias malignas de células no T incluyendo neoplasias NK y leucemia mieloide aguda. (1, 7)

CD8

El antígeno CD8 define un subconjunto de células T supresoras y citotóxicas. Se expresa conjuntamente con los CD4 en los timocitos, pero este estado permanece en sólo una pequeña porción de las células circulantes. La relación CD4/CD8 no es análoga como en el caso de las Ig de cadenas ligeras. Al igual que CD4 puede expresarse en los Linfomas linfoblásticos de precursores T. (7, 10)

FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN DE CELULAS T

T-BET

Las células T cooperadoras (TH) se dividen en dos grupos, TH1 encargadas de la hipersensibilidad y protección contra virus y patógenos intracelulares y las células TH2 encargadas de la producción de anticuerpos de las células B y la respuesta inmune frente a patógenos extracelulares. Ambas tienen distintas funciones y producción de citocinas específicas. T-box es expresada por las células T. T-bet (también conocida como Tbx21) es un factor de transferencia T-box TH1

específico que controla la expresión de citocinas TH1, interferón gamma. También se expresa por células B. Su expresión se ha estudiado en varios linfomas de células T (Linfoma angioinmunoblástico, Linfoma Linfoepitelioide, 25% de los linfomas Anaplásicos de Células Grandes): (7)

OTROS ANTICUERPOS DE UTILIDAD EN EL DIAGNOSTICO DE LINFOMAS NO HODGKIN

ALK

Es la proteína producida por el gen de la Kinasa del Linfoma Anaplásico identificado inicialmente en la t(2:5)(p23;q35) característica del Linfoma Anaplásico de Células Grandes (ALCL) actualmente expresado en un 60-90%. La proteína normalmente no es detectable fuera del SNC. Participa en el desarrollo embrionario del SNC, pero su expresión disminuye después del nacimiento. Esta expresión está desregulada por el gen NPM resultando en uno de los marcadores tumorales específicos en hematopatología. ALK es un receptor de Tirosin Kinasa (TRK) que se caracteriza por la unión a la nucleofosmina (NPM), lo cual se ha visto también en el desarrollo de varios tumores sólidos como el Neuroblastoma y Tumor miofibroblástico inflamatorio. En los últimos 10 años se han publicado 50 casos de Linfoma Difuso de Células Grandes, en la cual se ha documentado la fusión de genes ALK Y CLARITINA (CLTC-ALK), o NPM-ALK, estos pacientes también presentaron una morfología inmunoblástica-plasmablastica sin la expresión de marcadores de linaje B como CD20. El crizotinib se ha documentado como terapia blanco para los casos de tumores con expresión de ALK. La mayoría de tumores ALK positivos también lo son para EMA y CD30. (7, 24, 25, 26).

BCL1 (CICLINA D1)

PRAD1/Bcl-1 es un protooncogen descubierto inicialmente en el gen PTH en un subconjunto de adenomas paratiroides. Pertenece a la familia de ciclinas y se encuentra en el cromosoma 11q13. Su sobreexpresión se ha documentado en

tumores epiteliales. Por otra parte su expresión es limitada en linfomas, sobre todo en linfomas de células del manto, leucemias de células vellosas, y mieloma múltiple. El linfoma de células del manto se caracteriza por la t (11;14)(q13;q32). Sus niveles en estas neoplasias son menores que en los tumores epiteliales. (7)

BCL-2

Fue la primera proteína asociada a traslocaciones en el linfoma, aproximadamente $\frac{3}{4}$ partes de los linfomas foliculares presentan la t(14;18), la cual yuxtapone el BCL-2 al gen de la Ig de cadena pesada, resultando en sobreexpresión de BCL-2, la cual tiene una función antiapoptótica. Es positivo en un 45-50% de los LNH difusos de células grandes y de un 85-90% de los Linfomas Foliculares. Es negativo en el linfoma de Burkitt. Es positivo en el 80% de los carcinomas de tiroides. Normalmente está presente en el citoplasma de los folículos de los linfocitos B, ocasionalmente en los centros germinales y en varios linfocitos T. Si es positivo en folículos largos sugiere el diagnóstico de Linfoma, sin embargo si es positivo alrededor de los folículos sugiere hiperplasia folicular.(1, 7, 27)

BCL-6

Se expresa normalmente en los centros germinales de los linfocitos y sirve como una proteína reguladora transcripcional. En los ganglios normales se distribuye en un patrón recíproco a BCL-2. Se expresa en una variedad de linfomas de Células B, así como en el LH NPL. Está implicada en formación del centro germinal y la respuesta a antígenos dependiente de células T. Si es positiva se traduce que la célula de origen proviene del centro germinal. Es positiva en el Linfoma de Burkitt y en el Linfoma Difuso de Células Grandes. Es positiva en el 100% de los linfomas foliculares. (7, 27)

CD1a

Es un antígeno transmembrana que normalmente se encuentra en la corteza de los timocitos y las células de langerhans. Está presente en un subgrupo de linfomas linfoblásticos/leucemias de precursores T. (7)

CD10 (CALLA-Antígeno común de LLA)

Es una metalopeptidasa de zinc que se expresa en los progenitores linfoides tempranos y en los centros germinales. Siempre está presente en la superficie de las células de los linfomas linfoblásticos de precursores B y en el Linfoma de Burkitt y con menor frecuencia en los LL de precursores T. Algunos casos de Linfomas NH Difusos de Células Grandes son positivos. BCL-6 y CD10 son considerados marcadores de los centros germinales. Su intensidad va desde abundante y brillante en linfomas/leucemias de precursores B, pero es bastante baja en linfomas inmaduros. Está presente en casi todos los casos de LLA de células B asociado a las t(12;21), (9;22), (1;19). Regula péptidos como la endotelina 1, factor de crecimiento de fibroblastos, lo que proporciona actividad de supresión tumoral. (7, 10, 27).

CD11C

Es una proteína transmembrana tipo I que se expresa en monocitos, granulocitos y algunas células B, células dendríticas, macrófagos, y en la leucemia linfocítica crónica de células B. Se expresa abundantemente en monocitos y macrófagos. (7)

CD15

El hapteno X o Antígeno X de Lewis, identificado con el Ac LeuM1, se expresa en la célula RS del LH clásico, generalmente es negativo en el LNH, con excepción de algunos Leucemias anaplásicos de Células Grandes cutáneos y otros Linfomas de Células T periféricos. El patrón de tinción generalmente es en la membrana y paranuclear. (1,7)

CD43

Al parecer funciona como una molécula anti adhesiva, mediando la repulsión entre los leucocitos, también conocida como leucosialina. Su en los linfomas se relaciona en gran medida con la expresión de CD5, especialmente en la mayoría

de los tumores de células T y en menor proporción de células B como el Linfoma de Células Del Manto. Es un indicador de células B aberrantes, su coexpresión con CD20 se presenta en el Linfoma Linfocítico de células pequeñas. (7)

CD45

Es una proteína tirosin-fosfatasa de membrana presente en los leucocitos en varias isoformas. Su mRNA conduce a varias isoformas, RA, RB y RC, así como una forma sin ningún exón empalmado (RO), CD45RA está presente predominantemente en los linfocitos B. mientras que CD45RO está presente en las células mieloides y T. (7)

TABLA 4. REACTIVIDAD DE CD45			
	NHL	B	T
CD45/45RB	95%	97%	89%
CD45RA	60%	83%	6%
CD45RO	36%	4%	77%

CD52

Es una proteína presente en la mayoría de las células linfoides, este antígeno está en estudio como terapia blanco con anticuerpos monoclonales. Prácticamente todos los linfomas de células T y los de células B maduras expresan este antígeno. (7)

CD56

También conocida como una molécula de adhesión de células neurales, se expresa en la superficie celular, en las Natural Killers, células gliales y neuronas. Es positivo en las leucemias mieloides y monocíticas, discrasias de células plasmáticas, alteraciones en las células NK, tumores astrocíticos, así como tumores con diferenciación neuroendócrina. (7)

Ki 67

Reconoce una proteína nuclear involucrada en la proliferación celular. Se utilizan como una medida de fracción de crecimiento dividiendo en número de células positivas por todas las células presentes. Es una proteína nuclear o nucleolar presente en todas las células en proliferación durante las fases G1, S, G2 y mitosis del ciclo celular. Su porcentaje refleja la proporción de células tumorales que proliferan activamente. Se considera un índice alto si es mayor de 65-70%, y esto implica un marcador de peor pronóstico lo cual se ha documentado en los linfomas MALT y Difusos de Células Grandes. (1, 7, 28)

TdT (DEOXINUCLEOTIDIL TRANSFERASA TERMINAL)

Es una polimerasa de DNA activa durante el proceso de rearrreglos tempranos del gen de inmunoglobulina y receptor de células T (TCR), tanto en precursores B como T. Solamente los linfoblastos T y B marcan TdT. Tiene un patrón de tinción nuclear ya que está presente en el núcleo de las células del Linfoma Linfoblástico. Es un marcador específico para Linfoma/Leucemia Linfoblástica. (1, 7)

TABLA 5. INMUNOFENOTIPOS COMUNES DEL LNH	
LINFOMA LINFOBLASTICO/LEUCEMIA DE PRECURSORES B	CD19 +, CD79a +, CD10 +, TdT +, CD20 -/+, CD22 +/-, inmunoglobulina -
<ul style="list-style-type: none">• Morfológica e inmunofenotípicamente son la misma enfermedad.• Prácticamente todos los casos expresan TdT.• CD79a es un marcador de Linfomas B y de células pre-B.• Otros Ag encontrados son citoqueratinas, CD34, CD56 (NK).• BCL-2 puede estar presente y se utiliza para diagnostico diferencial con Linfoma de Burkitt/leucemia.	
TABLA 5. INMUNOFENOTIPOS COMUNES DEL LNH	
LINFOMA DE BURKITT	CD19+, CD20+, CD22+, CD10+/-, CD5-, CD23-
<ul style="list-style-type: none">• Usualmente es positiva I IgM de cadena pesada, con restricción de la Ig de cadena ligera.	

<ul style="list-style-type: none"> • La expresión de Cd20, Ig de superficie, y CD10 sugiere un origen del centro germinal. • Puede ser positivo BCL-2, pero es más frecuente en el DLBCL (adulto). • Ki 67 es casi siempre positivo en 100%. • CD43 está presente en el Burkitt y es negativo en el Burkitt Like. 	
LINFOMA DIFUSO DE CELULAS GRANDES	CD20+, CD22+ CD45RB+, PAX5+, CD19+, CD79+ (EXCEPTO EL LINFOMA MEDIASTINAL), CD5-/+ , CD10-/+
<ul style="list-style-type: none"> • Puede ser positivo CD30, se debe hacer diagnóstico diferencial con LH variedad NPL y con el LNH anaplásico. • Tienen alta actividad mitótica expresada por el Ki 67. • BCL-2 se puede presentar en 20-50% (pero es más frecuente en el adulto), cuando está presente es un factor de mal pronóstico. • Tiene mayor expresión de cMYC. • CD10 se expresa en un 25-50%. • BCL-6 se expresa en un 40-90%. • La mayoría presenta rearrreglos en la Ig de cadenas pesadas. 	
LINFOMA LINFOBLASTICO/LEUCEMIA DE PRECURSORES T	CD3+ (siempre CD3+citoplasmático), CD4/CD8 doble positivo o doble negativo, CD7+, TdT+, CD1a+/-, CD2+/-, CD5+/-, CD10-/+ , CD16-, CD57-, Antígeno B -
<ul style="list-style-type: none"> • La alteración cromosómica más frecuente involucra al gen TCR. • CD99 puede estar presente en los precursores T. • CD 2 puede ser positivo hasta en un 80% 	
LINFOMA ANAPLASICO DE CELULAS GRANDES	ALK+, CD30+, EMA+/-, CD45RB+/-, CD25+/-, CD3-/+ , CD15-/+ , CD43-/+ , CD45RO-/+ , CD 15-, CD68-, lisozima-, CD21-,
<ul style="list-style-type: none"> • CD45RB está presente en un 75-80% de los casos. • El inmunofenotipo de células T (CD3, CD43 o CD45RO) está presente en un 70% de los casos, linaje B en un 15%, B y T en un 5% y células nulas en un 10%. • El inmunofenotipo clásico es CD30+, CD45+ y CD15-. • ALK está presente hasta en un 90% de los casos pediátricos. • La expresión de EMA es focal en la mayoría de los casos. 	

JUSTIFICACION

Es necesaria la realización de estudios que describan la importancia de la Inmunohistoquímica en el diagnóstico de los linfomas en pediatría, con la finalidad de identificar el linaje o estirpe del linfoma en pacientes pediátricos para puntualizar que tan importante es al momento de tomar la decisión sobre el tratamiento.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como se ha mencionado con anterioridad los linfomas son la tercera causa de cáncer a nivel infantil, cuyo pronóstico y supervivencia se relaciona con factores como lo son la certeza diagnóstica del linaje celular, localización del tumor primario y Estadio al diagnóstico. Los factores ya mencionados se han documentado de forma confiable en estudios de centros oncológicos a nivel mundial. Con este proyecto se buscó conocer de forma específica la importancia de la Inmunohistoquímica como prueba diagnóstica de los pacientes pediátricos a los que se les tomó biopsia de ganglio y el reporte histopatológico reveló diagnóstico de linfoma en el servicio de oncología pediátrica del Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” del CMN LA RAZA.

PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Cuál es la importancia de la Inmunohistoquímica en el diagnóstico de niños con linfomas en el servicio de oncología de Centro médico La Raza?

HIPOTESIS GENERAL

El uso de la Inmunohistoquímica para la determinación del Inmunofenotipo en Linfomas tiene gran valor como prueba diagnóstica para niños con Linfomas.

OBJETIVO GENERAL

Se determinó la importancia de la Inmunohistoquímica como prueba diagnóstica en Linfomas en niños durante el periodo comprendido del 2014 al 2015.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Se determinó la sensibilidad y especificidad de la Inmunohistoquímica como prueba diagnóstica de enfermedad de Hodgkin en niños.

Se determinó la sensibilidad y especificidad de la Inmunohistoquímica como prueba diagnóstica de Linfoma no Hodgkin en niños.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Lugar donde se desarrollará el estudio: Servicio de Oncología Pediátrica, del Hospital General Dr. Gaudencio González Garza del Centro Médico Nacional La Raza, del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) de Junio a Septiembre del 2016.

Diseño de estudio: Estudio descriptivo retrospectivo.

Población de estudio: Pacientes pediátricos con diagnóstico de linfomas que recibieron tratamiento en esta unidad durante los años 2014 y 2015

Criterios de selección

a) Criterios de inclusión: Pacientes pediátricos con diagnóstico de linfomas en el periodo comprendido de enero del 2014 a diciembre del 2015.

b) Criterios de exclusión: Pacientes que hayan recibido tratamiento previo de quimioterapia y radioterapia en otro hospital.

c) Criterios de eliminación: Que no se obtengan datos completos del expediente clínico sobre el reporte de la Inmunohistoquímica dentro del reporte de patología clínica.

TAMAÑO DE LA MUESTRA:

Se analizaron los expedientes y reportes histopatológicos de todos los pacientes que tenían biopsia en el servicio de Oncología Pediátrica del Hospital General Gaudencio González Garza del Centro Médico Nacional La Raza por sospecha de Linfoma en el período comprendido de Enero 2014 a Diciembre del 2015 con reporte histopatológico de Linfoma No Hodgkin o Enfermedad de Hodgkin.

DEFINICIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	UNIDADES DE MEDICIÓN
INMUNOHISTOQUIMICA	<p>Procedimiento histopatológico que se basa en la utilización de un anticuerpo específico, previamente marcado mediante enlace químico con una enzima que puede transformar un sustrato en visible ²⁹</p>	<p>Técnica que permite identificar la localización de una sustancia específica tisular o citológica, de esta manera se pueden identificar los marcadores antigénicos característicos de una estipe celular</p>	Cualitativa	Nominal	<p>1)Linfoma no Hodgkin: a)Linfoblastico de células b b)Linfoblastico de células T</p> <p>2)Linfoma no Hodgkin a)de células b difuso b)de células T difuso</p> <p>3)Linfoma no Hodgkin a)Tipo burkitt células b b)Tipo Burkitt células t</p> <p>4)Linfoma no Hodgkin a)tipo de células grande con anaplasia b o t b)tipo de células grandes sin anaplasia b o t</p> <p>5)Enfermedad de Hodgkin : a)Inmunofenotip o I células histiociticas y linfocíticas marcan para CD20* b)Inmunofenotip o II células de</p>

					Red Stemberg que marcan cd15 o CD30*
TIPO HISTOLÓGICO DE LINFOMA NO HODGKIN EXTRAÑO DAL.	Patrón histológico de la lesión reconocida en tejido, que se caracteriza por proliferación de células malignas de linaje linfoide o histiocítico. ²⁹	Será el patrón histológico reportado en la biopsia.	Cualitativo	Nominal	1. Precursores linfoides. 2. Células B Maduras 3. Células T maduras.
SEXO	Se refiere a los conceptos sociales de las funciones, comportamientos, actividades y atributos que cada sociedad considera apropiados para los hombres y las mujeres. ²⁹	Femenino y Masculino, referido en historia clínica	Cualitativa	Nominal Dicotómica	1. Masculino 2. Femenino
EDAD	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo hasta su inclusión en el estudio. ²⁹	Edad en la que se realizó la biopsia, registrada en la historia clínica.	Cuantitativa discreta	Numérica.	1. 0-28 días (Recién nacido) 2. 29 días - 12 meses (lactante menor o infante) 3. 1-2 años (lactante mayor un año a un año 11 meses). 4. 2-4 años (preescolar)

					5. 4-9 años (escolar) 6. 9-16 años (adolescente)
LOCALIZACIÓN	El estudio del cuerpo humano se organiza por regiones siguiendo diversos criterios, primordialmente, una segmentación ordenada (Cabeza, cuello, tórax, abdomen, etcétera) ¹³⁰	Es el sitio anatómico donde se localiza el tumor que fue diagnosticado en el paciente	Nasofaringe abdomen, hueso, gónadas, piel, tiroides, etc.	Categórica	Cualitativa Nominal
ESTADIO	Referente a la extensión de un cáncer, es decir, hasta que órganos ha invadido ²⁹	Es el conocimiento de la extensión de la enfermedad con la finalidad de identificar la gravedad del mismo y en base a este establecer un tratamiento	1.-Estadio I 2.-Estadio II 3.-Estadio III 4.-Estadio IV	Nominal	Cualitativa
TRATAMIENTO POSTERIOR AL DIAGNÓSTICO.	Es el conjunto de medios de cualquier clase (higiénicos, farmacológicos, quirúrgicos o físicos) cuya finalidad es la curación o el alivio (paliación) de un padecimiento. ²⁹	Aquel referido en historia clínica	Cualitativo	Nominal	1. CIRUGÍA 2. QUIMIOTERAPIA. 3. RADIOTERAPIA 4. TRASPLANTE DE CELULAS TRONCALES HEMATOPOYÉTICAS.

DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO

A todos los pacientes pediátricos con diagnóstico de linfomas que recibieron tratamiento en el servicio de oncología pediátrica del CMN la Raza en el periodo comprendido entre 2014 al 2015 se les realizó revisión de los expedientes clínicos, carnet de quimioterapia así como registros electrónicos médicos incluyendo edad, sexo, diagnóstico histopatológico, Inmunohistoquímica y tratamiento que recibieron, se registraron estos datos en la hoja de recolección, después se vaciaron a una base de datos en Excel, posteriormente se calculó la sensibilidad y especificidad de la Inmunohistoquímica, para después calcular el Índice de Youden y determinar el valor o la importancia de la Inmunohistoquímica en el diagnóstico de pacientes pediátricos con enfermedad de Hodgkin y linfoma no Hodgkin.

ANALISIS ESTADISTICO

Análisis estadístico. El análisis estadístico se realizó determinando el índice de Youden (Y), este índice clínico fue propuesto por Youden para analizar la capacidad del método de diagnóstico usando un único valor en reemplazo de la forma dual de hacerlo (sensibilidad y especificidad). La idea es mezclar los dos índices anteriores para hacer el estudio de calidad. Se define como: $Y=Se+Es-1$. Varía de (-1) a (+1) si es inferior o igual a 0, la prueba no tiene valor informativo. La prueba es tanto mejor cuando el índice de Youden se acerca a 1.

Previo a este índice se determinara la Sensibilidad (porcentaje de resultados positivos en pacientes con diagnóstico de linfomas) **Sensibilidad (%)=VPx100/TE**

Especificidad, es el porcentaje de resultados negativos en pacientes que no padece la enfermedad. Valora la capacidad de una prueba para detectar correctamente individuos sanos, la especificidad es la probabilidad de que un individuo sano tenga un estudio negativo. **Especificidad (%)=VNx100/TNE.**

	PRUEBA POSITIVA	PRUEBA NEGATIVA	TOTAL
Pacientes enfermos	VP (niños que estando enfermos, es decir biopsia de ganglio+ dieron positiva la Inmunohistoquímica para diagnóstico de linfoma).	FN (niños que estando enfermos, es decir biopsia de ganglio+ dieron negativa la Inmunohistoquímica para diagnóstico de linfoma).	TE (Total de niños evaluados por biopsia de ganglio como positiva a linfomas).
Pacientes no enfermos	FP (niños que no tuvieron biopsia positiva a linfoma, pero que dieron positiva la prueba de Inmunohistoquímica).	VN (niños que no tenían biopsia de ganglio positiva a linfoma y dieron negativa la prueba de Inmunohistoquímica).	TNE (Total de niños evaluados por biopsia de ganglio que fue negativa a linfoma).
Total	TP (Total de niños con Inmunohistoquímica positiva a linfoma).	TN (Total de niños con inmunohistoquímica negativa a linfoma).	T (Total de niños evaluados por clínica como pble linfoma).

ASPECTOS ETICOS

Este tipo de estudio clínico descriptivo retrospectivo implica una investigación con riesgo mínimo de acuerdo al reglamento de investigación en salud ya que solo se va determinar la importancia o el valor de la Inmunohistoquímica en el diagnóstico de niños con enfermedad de Hodgkin y linfoma no Hodgkin.

Consentimiento Informado:

Dado a que se trata de una revisión de registros clínicos **NO REQUIERE CONSENTIMIENTO INFORMADO.**

FACTIBILIDAD

RECURSOS HUMANOS:

Pacientes pediátricos con cáncer (linfomas) que recibieron tratamiento citotóxico en CMN la Raza en el periodo comprendido de enero del 2014 a diciembre del 2015.

RECURSOS MATERIALES:

Hoja de recolección de datos, expedientes clínicos y electrónicos, carnet de quimioterapia, Base de datos en Excel, sistema SPSS para análisis estadístico.

RECURSOS FINANCIEROS: No requerido.

RESULTADOS

De un total de 55 pacientes con Linfoma no Hodgkin o con Enfermedad de Hodgkin, se excluyeron 20; 19 porque no se realizó estudio de Inmunohistoquímica y uno por no contar con la información completa. De esta forma, el análisis se realizó en 35 pacientes.

De acuerdo a nuestro análisis la Inmunohistoquímica tiene una **SENSIBILIDAD** del **96.9%** para diagnosticar linfomas en niños, (porcentaje de Inmunohistoquímica positiva en pacientes con diagnóstico de linfomas corroborado por biopsia de ganglio) y una **ESPECIFICIDAD** del **100%** para el diagnóstico de linfomas en niños, (Porcentaje de Inmunohistoquímica negativa en pacientes que no padecen de linfoma) (capacidad que tiene la prueba para detectar individuos sanos). De nuestros pacientes el Valor predictivo positivo **VPP** fue del **100%** (los niños que estando enfermos es decir con biopsia de ganglio positiva a linfoma dieron una Inmunohistoquímica positiva para linfoma) y de nuestros pacientes el valor predictivo negativo **VPN** fue del **66.6%** (los niños que no tuvieron biopsia positiva a linfoma pero que dieron positiva la prueba de Inmunohistoquímica). Y calculando el **Índice de Youden** que se refiere a la capacidad que tiene la Inmunohistoquímica como método diagnóstico para linfomas en pediatría fue del **96.9%**. Las características de los 35 pacientes se muestran a continuación en el Cuadro 1

Cuadro 1. Características generales de los 35 pacientes estudiados.

Característica	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Edad (años)	9 (2 – 15)*	
Sexo		
Masculino	21	60
Femenino	14	40
Diagnóstico de linfoma		
Linfoma Hodgkin (LH)	10	28.6
Linfoma no Hodgkin (LNH)	24	68.6
Negativo a linfoma	1	2.8
Diagnóstico histológico específico**		
LNH linfoblástico	13	39.3
LNH Burkitt	4	12.1
LNH células grandes anaplásico	2	6.1
LNH B difuso	3	9.1
LNH T difuso	1	3.0
LH celularidad mixta	4	12.1
LH nodular predominio linfocitos	2	6.1
LH esclerosis nodular	3	9.1
LH rico en linfocitos	1	3.0
Lugar de presentación**		
Cervical	9	27.3
Extranodal	8	24.2
Cervical y mediastino	6	18.2
Abdomen	4	12.1
Mediastino	4	12.1
Tórax	1	3.0
Tórax y abdomen	1	3.0
Estadio		
Estadio I	1	3.4
Estadio II	9	31.0
Estadio III	9	31.0
Estadio IV	10	34.5

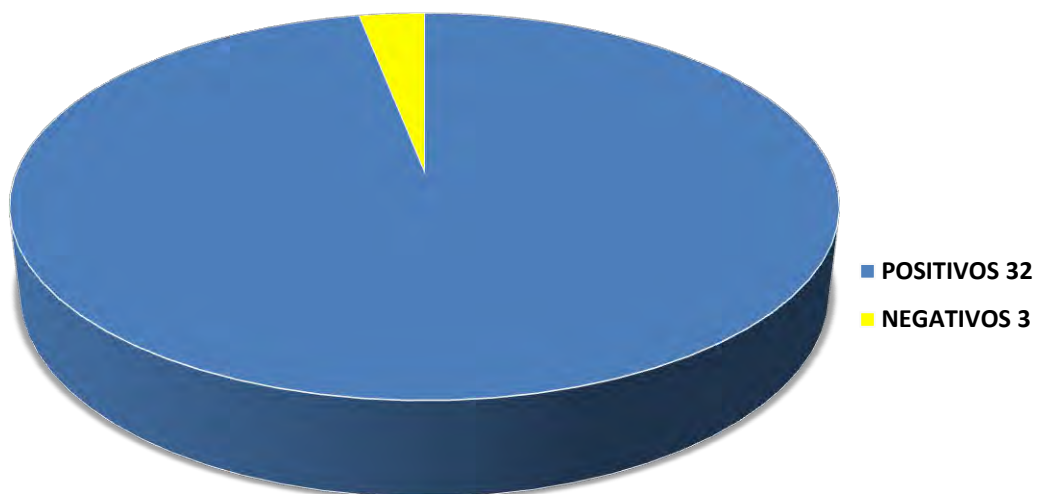
* Mediana (valor mínimo – valor máximo).

** n = 33

Cuadro 2. Comparación del diagnóstico para detección de linfoma entre histopatología e Inmunohistoquímica

		DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO BIOPSIA		
		<i>POSITIVO</i>	<i>NEGATIVO</i>	TOTAL
DIAGNÓSTICO POR INMUNOHISTOQUIMICA	<i>POSITIVO</i>	32	0	32
	<i>NEGATIVO</i>	1	2	3
	TOTAL	33	2	35

GRAFICA 1. COMPARACION DEL DIAGNOSTICO DE LINFOMA ENTRE HISTOPATOLOGIA E INMUNOHISTOQUIMICA



De acuerdo con el análisis como prueba diagnóstica (Cuadro 2), con la Inmunohistoquímica para detección de linfoma se obtuvieron los siguientes resultados:

Sensibilidad = 96.9%,

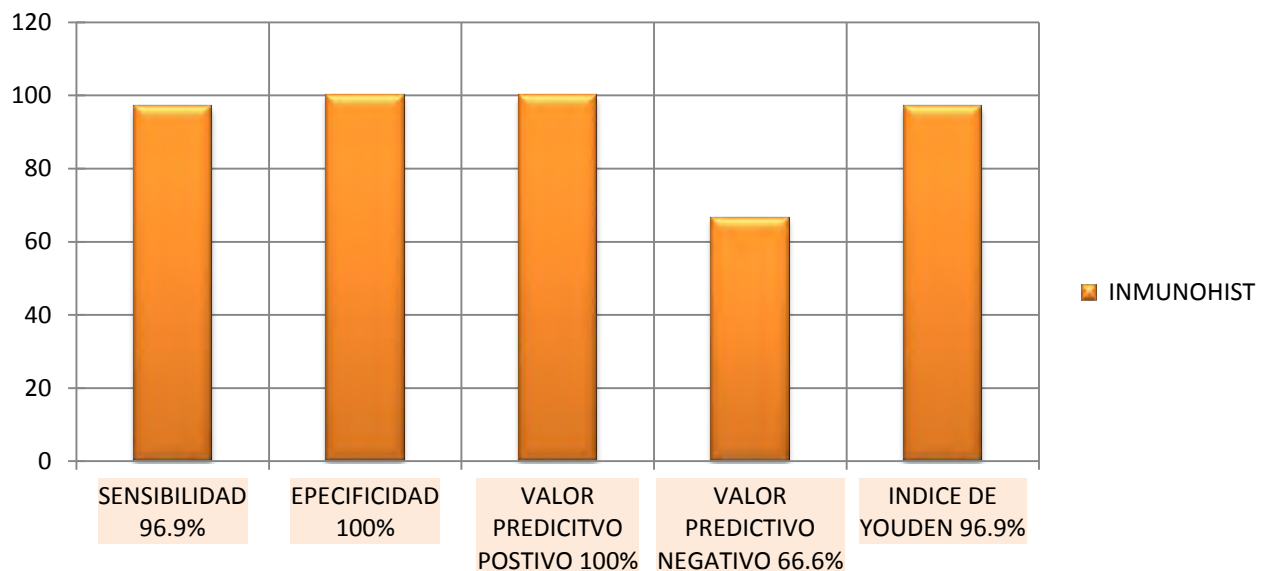
Especificidad = 100%,

Valor predictivo positivo = 100%

Valor predictivo negativo = 66.6%

Índice de Youden = 96.9%

GRAFICA 2. ANALISIS DE INMUNOHISTOQUIMICA COMO PRUEBA DIAGNOSTICA DE LINFOMAS EN NIÑOS

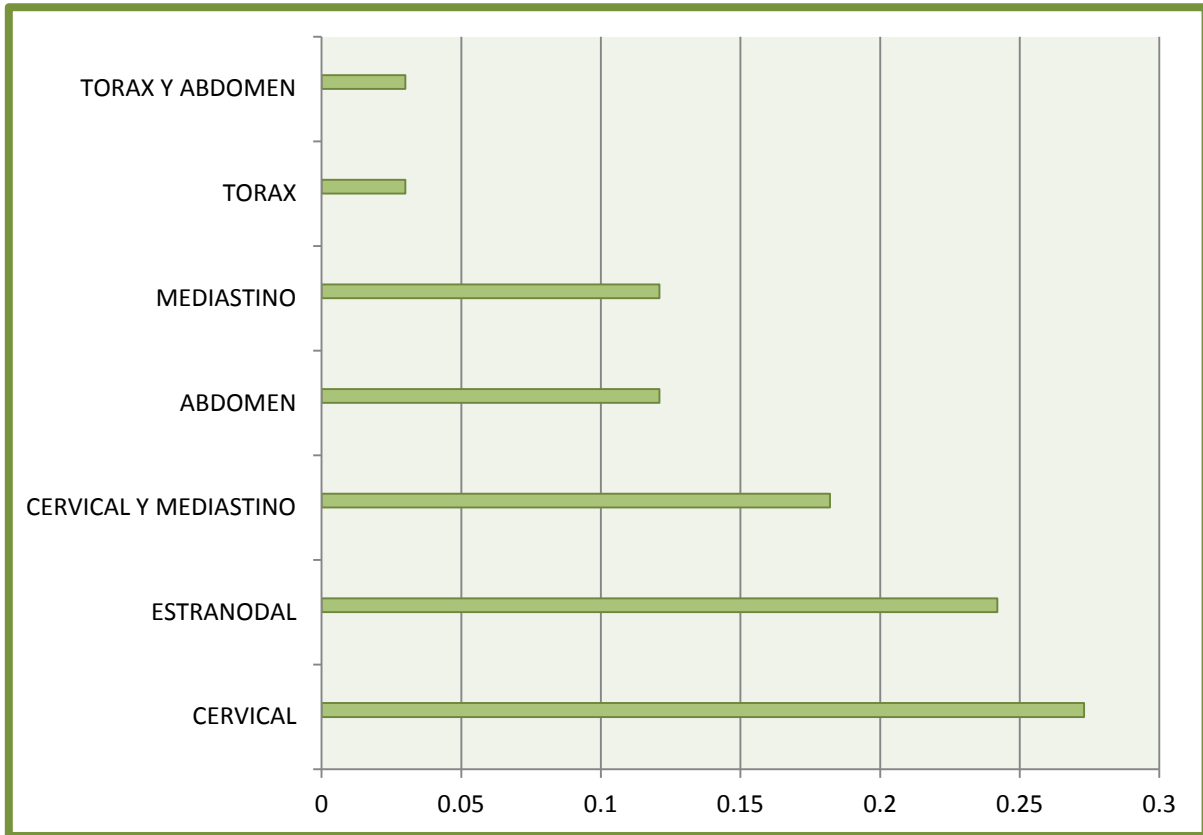


Cuadro 3. Concordancia del diagnóstico específico entre histopatología e Inmunohistoquímica, en 35 pacientes con linfoma.

Diagnóstico histopatológico	N	Diagnóstico Inmunohistoquímica	N
LNH linfoblastico	13	LNH linfoblastico cel. B	5
		LNH linfoblastico cel. T	7
		Negativo	1
LNH Burkitt	4	LNH Burkitt	3
		LNH anaplásico cel. grandes T	1
LNH células grandes anaplásico	2	LNH anaplásico cel. grandes T	1
		LNH células grandes B	1
LNH B difuso	3	LNH B difuso	2
		LNH anaplásico cel. grandes B	1
LNH T difuso	1	LNH T difuso	1
LH celularidad mixta	4	LH celularidad mixta	4
LH nodular predominio linfocitos	2	LH nodular predominio linfocitos	2
LH esclerosis nodular	3	LH esclerosis nodular	3
LH rico en linfocitos	1	LH rico en linfocitos	1
Negativo	2	Negativo	2

LH: linfoma Hodgkin, LNH: linfoma no Hodgkin

GRAFICA 3. DIAGNOSTICO ESPECIFICO POR INMUNOHISTOQUIMICA EN PACIENTES CON LINFOMA



DISCUSION

La Inmunohistoquímica (ICQ/IHQ) puede utilizarse sobre los siguientes tipos de especímenes:

- Citología exfoliativa
- Líquidos
- Improntas
- Biopsia por aspiración con aguja fina (BAAF)
- Monocapa
- Bloque celular

El método puede ser utilizado en frotis secos al aire, fijados en alcohol o procesados en cito centrifuga.

Técnica:

Los siguientes elementos son de suma importancia en el proceso de la técnica de Inmunohistoquímica:

- Fijación.
- Permeabilización.
- Recuperación antigénica.
- Almacenamiento.
- Tipos de anticuerpos.
- Método de detección del anticuerpo primario (estrepto-avidina-biotina, peroxidasa-antiperoxidasa etc.)

El éxito de la Inmunohistoquímica depende de:

Interpretar adecuadamente los hallazgos citológicos en relación con la información clínica y formularse una pregunta que pueda ser respondida apropiadamente por la Inmunohistoquímica, (Ej: Linfoma contra carcinoma).

Utilizar anticuerpos bien caracterizados cuya especificidad haya sido claramente definida bioquímicamente.

Evaluación de los resultados por un cito patólogo con experiencia en la morfología con microscopía de luz y con la información clínica.

Si los resultados de la Inmunohistoquímica no son concluyentes el diagnóstico debe ser hecho, con base en la impresión citológica con microscopía de luz. La elección de los anticuerpos para resolver un problema particular debe ser hecha con la siguiente base:

- Elegir un panel de anticuerpos es mejor que elegir uno solo.
- Si es posible debe elegirse anticuerpos que expresen la mayoría de las células y no solo en algunas (Ej. desmina contra mioglobina en un Rbdomiosarcoma).
- Para antígenos que ocurren como familias multigénicas es preferible usar anticuerpos monoclonales.

Por lo tanto el abordaje con Inmunohistoquímica debe ser individualizado para cada caso problema, ha sido de gran ayuda la construcción de algoritmos que permiten utilizar razonablemente los anticuerpos paso por paso, para iniciar con anticuerpos muy generales hasta cada vez más específicos de acuerdo al tumor que se sospecha.

Los problemas técnicos ocurren por múltiples razones, las más comunes son:

- Extendidos de mala calidad y mal fijados.
- Extendidos con mezcla de células malignas de diferentes partes del tumor y con células benignas.
- Diluciones inapropiadas.
- Condiciones del laboratorio inadecuadas que alteran la especificidad del anticuerpo.
- Expresión de marcadores ectópicos por una minoría de las células.
- Tumores que exigen diferentes vías de diferenciación y por lo tanto nunca podrán ser clasificados por Inmunohistoquímica.
- Especímenes en escasa cantidad.

Es crucial que el cito patólogo debe estar satisfecho con el número de células en las que va a basar su diagnóstico y no forzar un diagnóstico solo con algunas células.

Interpretación y limitaciones de la Inmunohistoquímica:

Al igual que en patología quirúrgica la selección del panel de anticuerpos (Ac), depende de una adecuada interpretación morfológica. Los Ac disponibles para citología pueden ser policlonales o monoclonales, así mismo su sensibilidad y especificidad es variable, por otra parte la diferenciación de muchos tumores ofrece un amplio espectro, por eso mismo es indispensable el uso de controles

positivos y negativos. El patrón de inmunotinción dependerá de la presencia de células neoplásicas, de la tinción de fondo y de la concentración del anticuerpo así como de la localización de la tinción (membrana, núcleo, citoplasma). Es importante tomar en cuenta que la heterogeneidad de la tinción es más la regla que la excepción.

Los Falsos Positivos pueden ser resultado de múltiples factores:

- Lo primero y más importante es que el cito patólogo no pueda distinguir entre células normales o reactivas de células neoplásicas sobre todo en extendidos con escaso material.
- Secado en cualquier paso de la reacción puede producir que el Ac se una en forma inespecífica, lo mismo sucede con la necrosis, células poco conservadas o estiradas.
- Debe tenerse mucha precaución con el fondo teñido sobre todo cuando se utilizan policlonales, puede haber una reacción cruzada, el Ac puede no ser tan específico como lo dice el fabricante, fijación inapropiada, bloqueo incompleto de la peroxidasa endógena o de la actividad de la biotina.
- Solo la experiencia y confianza en el Ac que se usa puede satisfacer al observador.

Los Falsos Negativos son también multifactoriales, las causas más frecuentes son:

- Fijación inapropiada que resulta en desnaturalización o enmascaramiento de los Antígenos.
- Concentraciones o muy altas o muy bajas.
- Recuperación insuficiente de Antígenos.
- Decoloración del pap.

LINFOMAS:

La BAAF es usualmente el primer método empleado en el diagnóstico de un ganglio linfático crecido, los principales diagnósticos diferenciales son: Linfomas de bajo grado contra hiperplasia, y la distinción de los linfomas de alto grado con carcinomas anaplásicos y sarcomas.

Tres marcadores son particularmente de ayuda: ACL, vimentina y CK. Estos marcadores son sensibles, específicos y complementarios. Independientemente del tipo, los linfomas son positivos para vimentina y negativos para CK en más del 80% de los casos. En términos generales, entre el 86 y el 100% de los linfomas son positivos para ACL, y el linfoma T es el más frecuentemente negativo para ACL. En general, si el ACL y la vimentina son positivos y la CK negativa podemos asumir que se trata de un linfoma no Hodgkin.

En el caso de que algunos de estos marcadores sean ambiguos o negativos se puede recurrir a un rearreglo génico específico.

La ICQ puede analizar tanto la clonalidad como el subtipo de linfoma utilizando marcadores para linfocitos B, T y monolitos; con este abordaje se confirma el diagnóstico original hasta en el 46% de los casos y lo modifica en el 24%. En muchos casos el análisis con ICQ es comparable en sus resultados con el del genotipo.

El antígeno de membrana epitelial (AME) es positivo en los linfomas anaplásicos Ki-1 (CD30) y en el 12% de otros LNH; también es positivo en las células de Reed-Sternberg y en los plasmocitomas.

Las células dendríticas de los centros germinales de los ganglios linfáticos reactivos y de los LNH son positivas para CK, esto contrasta con el resto de las células.

En resumen la expresión de los LNH puede ser:

- ACL positivo.

- Vimentina positivo.
- CK negativo.
- AME solo algunos tipos.

El panel sugerido para el estudio de los linfomas es: ACL, vimentina, CK, cadenas kappa/lambda, y marcadores de superficie B y T.

El inmunofenotipo de los linfomas se observa en la tabla 1.

Marcadores de Proliferación:

- Anticuerpos contra antígenos de proliferación han demostrado tener significado pronóstico en algunos tumores como: Ki67 en carcinoma de mama, cuya expresión se relaciona con negatividad para reaccionar a receptores de estrógenos, 22 o con los Ag NORs que permiten discriminar LNH de alto y bajo grado.
- Factor de crecimiento epidérmico (EGFR): En el caso del carcinoma gástrico solo el 3.8% son positivos cuando están en etapa temprana, contra el 34% en etapas avanzadas. En carcinoma de mama, la sobrevida libre de enfermedad y la sobrevida total es menor cuando el EGFR es positivo.

Receptores de estrógenos:

Este marcador es muy importante para predecir el comportamiento biológico, vaticinar recurrencias, y planeación del tratamiento, idealmente, los extendidos deben estar fijados en formol, acetona o metanol para mejores resultados. La sensibilidad es cercana al 100% y la especificidad es de 94%. Las ventajas de efectuar estos marcadores en citología son que, al igual que en tejido, se pueden predecir recurrencias, desarrollo de metástasis, y respuesta a tratamiento, con un procedimiento menos invasivo que la biopsia, con la ganancia adicional de que puede ser repetido múltiples veces durante el tratamiento.

Oncogenes:

La amplificación de N-myc en el neuroblastoma y del Her2neu en el carcinoma de mama se ha relacionado con un menor tiempo libre de enfermedad, rápida recurrencia, y menor supervivencia global; de igual forma es posible la determinación de p53.

Metástasis:

La utilidad de la IHQ para establecer sitio primario de las neoplasias ha sido demostrada en muchos órganos, principalmente para carcinomas prostáticos, tiroideos, pulmonar, hepático, entre otros, además de melanomas.

Experiencia del Hospital Universitario “Dr. José E. González” en Inmunohistoquímica.

En un estudio prospectivo de 406 casos consecutivos de especímenes citológicos estudiados con inmunocitoquímica para diagnóstico obtuvieron los siguientes resultados:

En 156 (38.4%) casos se contó con correlación histológica.

En el 78% la ICQ contribuyó al diagnóstico.

En 6% no contribuyó al diagnóstico.

- El problema más frecuente para solicitar ICQ (29%) fue establecer diagnóstico de metástasis.
- En 17% de los casos fue realizar panel de pronóstico, principalmente en los casos de carcinoma mamario.
- En 16% no fue posible establecer la variedad exacta de neoplasia.

En conclusión, el uso de la inmunocitoquímica es una ayuda diagnóstica que ha demostrado, al igual que en la patología quirúrgica, ser altamente sensible y específica, que nos ayuda a confirmar un diagnóstico presuntivo por microscopía

de luz, y solo en un pequeño porcentaje, a descartar lo inicialmente pensado por morfología.

Sin embargo, de la misma forma que en la patología quirúrgica, el estudio morfológico en conjunto con la correlación clínico-patológica y la experiencia, logran establecer un diagnóstico correcto; ninguna cantidad de inmunotinciones puede hacer llegar al diagnóstico correcto si no se combina con lo anteriormente dicho.

Inmunofenotipo de Linfomas

Linfoma de Hodgkin célula de Reed-Sternberg	
CD30	100% +
CD15	81% +
CD20	7% +
AME	+/-
Pan T	-
CD45	-

85% de exactitud
Liu Y Zhonghua. Xue Ye Xue ZA Zhi
2000;23:524-527

Linfoma B	Linfoma T
CD20	CD45RO (UCHL-1) CD3
Bcl 2, Bcl 6: LF	TdT: Linfoblastico
CD5+ Bcl 1: LM	CD5,CD7: LTP
EMA, Ki1: LA	CD56, CD57, TIA: LNK

Dask. Diagn Cytopathol 1999;21:240-249

Correlación Total: 98% ICQ vs CF
11% (útil en mezcla de células)
4% (útil en casos con abundante (necrosis)
 Simisir A. Diagn Cytopathol 1999;20: 278-84

CONCLUSIONES

De acuerdo a nuestro análisis la Inmunohistoquímica tiene una **SENSIBILIDAD** del **96.9%** y una **ESPECIFICIDAD** del **100%** para diagnosticar linfomas en niños. De nuestros pacientes el Valor Predictivo Positivo **VPP** fue del **100%** y el Valor Predictivo Negativo **VPN** fue del **66.6%** (Y calculando el **Índice de Youden** que se refiere a la capacidad que tiene la Inmunohistoquímica como método diagnóstico para linfomas en pediatría fue del **96.9%**. Por lo que concluimos que tiene una gran capacidad como método diagnóstico para este tipo de enfermedad.

ANEXOS

ANEXO 1

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

1. FOLIO	
2. FECHA DE CAPTURA DE DATOS.	
3. NOMBRE.	
4. AFILIACION.	
5. EDAD AL DIAGNOSTICO.	
6. SEXO	MASCULINO () FEMENINO ()
7. FECHA EN QUE SE TOMO BIOPSIA GANGLIO:	
8. INSTITUCION DONDE SE REALIZÓ EL DIAGNÒSTICO.	
9. SITIO ANATÒMICO AFECTADO (PRIMARIO).	
10. DIAGNOSTICO HISTOPATOLOGICO.	
11. INMUNOHISTOQUIMICA	
12. ESTADIO AL DIAGNOSTICO.	I () II () III () IV ().
13. TRATAMIENTO OTORGADO.	<ul style="list-style-type: none">• TIPO DE CIRUGIA: BIOPSIA () RESECCION PARCIAL () RESECCION COMPLETA ()• QUIMIOTERAPIA ()• RADIOTERAPIA ()• TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYETICOS()

BIBLIOGRAFÍA

1. Howard J. Weinstein, Melissa M. Hudson, Michael P. Link, *Pediatric Lymphomas*, Sprynger First Edition, 2007.
2. Philip Lanzkowsky, *Manual of Pediatric Hematology and Oncology Fifth Edition*, Academic Press, Elsevier, 2011.
3. Philip A. Pizzo, David G. Poplack, *Principles and Practice of Pediatric Oncology Seventh Edition*. Lippincott Williams & Wilkins 2016.
4. Stuart H: Orkin, David E. Fisher, A. Thomas Look, Samuel E. Lux, David Ginsburg, David G. Nathan, *Hematology and Oncology Of Infancy and Childhood*, Eighth Edition Elsevier, 2016.
5. Arturo Fajardo Gutierrez, Mario Enrique Rendón Macías, Juan Manuel Mejía Aranguré, *Epidemiología del Cáncer en niños mexicanos*, Rev. Med. Inst Mex Seguro Soc 2011; 49 (Supl 1): S43-S70.
6. Sonia B. Fernández Canton, Ernestina Araceli Zimbrón Romero, Graciela León Álvarez. *SINAVE/DGE/SALUD/Perfil epidemiológico de cáncer en niños y adolescentes en México*, 2011.
7. David J. Dabbs. *Diagnostic Immunohistochemistry 4Fth Edition*. Elsevier 2015. 5:137-151.
8. Russell A. Higgins, MD; Jennifer E. Blankenship, MD; Marsha C. Kinney, *Application of Immunohistochemistry in the Diagnosis of Non-Hodgkin and Hodgkin Lymphoma*. Arch Pathol Lab Med—Vol 132, March 2008.
9. David M. Parham, Joseph D. Khoury, M. Beth McCarville. *Pediatric Malignancies: Pathology and imaging*. Springer 2015.
10. Elaine S. Jaffe, Nancy Lee Harris, James W. Vardiman, Elias Campo, Daniel A. Arber. *Hematopathology*. Elsevier 2011.
11. Xiaohong (Mary) Zhang, PhD; Nadine Aguilera, *New Immunohistochemistry for B-Cell Lymphoma and Hodgkin Lymphoma*. Arch Pathol Lab Med—Vol 138, December 2014.
12. Harry L. Ioachim, L. Jeffrey Medeiros. *Lymph Node Pathology Fourth Edition*. Wolters Kluwer, Lippincott Williams and Wilkins. 2008.
13. Franziska C. Eberle, Hareesh Mani, and Elaine S. Jaffe, *Histopathology of Hodgkin's Lymphoma*. The Cancer Journal, Volume 15, Number 2, March/April 2009.
14. Ryan C McCune, Sergei I Syrbu and Mohammad A Vasef. *Expression profiling of transcription factors Pax-5, Oct-1, Oct-2, BOB.1, and PU.1 in Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas: a comparative study using high throughput tissue microarrays*. Modern Pathology (2006) 19, 1010–1018.
15. M. Sathiya and K. Muthuchelia. *Significance of Immunologic Markers in the Diagnosis of Lymphoma*. Academic J. Cancer Res., 2009, 2: 40-50.
16. Lauren S. Maeda and Ranjana H. Advani. *The emerging role for rituximab in the treatment of nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma*. Current Opinion in Oncology. Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins 2009.21:397–400.

17. Natalie S. Grover and Steven I. Park. Novel Targeted Agents in Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma Therapy. *Journal Pharmaceuticals*. 2015, 8, 607-636.
18. Tara L. Naylor¹, Huaping Tang, Boris A. Ratsch, Andreas Enns, Alice Loo, Liqing Chen, Peter Lenz, Nigel J. Waters, Walter Schuler, Bernd Dörken, Yung-mae Yao, Markus Warmuth, Georg Lenz, and Frank Stegmeier. Protein Kinase C Inhibitor Sotrastaurin Selectively Inhibits the Growth of CD79 Mutant Diffuse Large B-Cell Lymphomas. *American Association for Cancer Research*. 2011; 71:2643-2653.
19. Dennis P. O'Malley; Aaron Auerbach; Lawrence M. Weiss. Practical Applications in Immunohistochemistry. Evaluation of Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Related Large B-Cell Lymphomas. *Evaluation of Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Related Large B-Cell Lymphomas. Arch Pathol Lab Med—Vol 139, September 2015 1094-1105.*
20. Luciana Barreto, Denize Azambuja, José Carlos de Morai. Expression of immunohistochemical markers in patients with AIDS-related lymphoma. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2012;16(1):74-77.
21. Paulette Mhaweche-Fauceglia, Rhakee Saxena, Shaozeng Zhang, Luigi Terracciano, Guido Sauter, Arundhuti Chadhuri, Francois R Herrmann, Remedios Penetrante. Pax-5 immunoexpression in various types of benign and malignant tumours: a high-throughput tissue microarray analysis. *Journal Clinical Pathology* 2007;60: 709–714.
22. Mohamed M. Desouki; Ginell R.; Daniel Cherry; and John Lazarchick. PAX-5: A Valuable Immunohistochemical Marker in the Differential Diagnosis of Lymphoid Neoplasms. *Clinical Medicine & Research* 2010 Volume 8, Number 2: 84-88.
23. Hamid Tabrizchee, Armita Esmail, Sergio Cogliatti. Hodgkin Lymphoma and Anaplastic Variants of Non-Hodgkin Lymphoma. *Iranian Journal of Pathology* (2011)6 (4), 193-201.
24. J Okubo, J Takita, Y Chen, K Oki, R Nishimura, M Kato, M Sanada, M Hiwatari, Y Hayashi, T Igarashi and S Ogawa. Aberrant activation of ALK kinase by a novel truncated form ALK protein in neuroblastoma. *Oncogene*. www.nature.com/onc (2012) 31, 4667 – 4676.
25. Wei-ya Wang, Ling Gu, Wei-ping Liu, Gan-di Li, Hua-jun Liu, Zhi-gui Ma. ALK-positive extramedullary plasmacytoma with expression of the CLTC-ALK fusion transcript. *Pathology – Research and Practice* 207 (2011) 587– 591.
26. Robert Roskoski Jr. Anaplastic lymphoma kinase (ALK): Structure, oncogenic activation, and pharmacological inhibition. *Pharmacological Research* 68 (2013) 68– 94.
27. Simakando M, Kaile T, Korolova L, Malyangu E, Shibemba A. B-Cell Non Hodgkin's lymphoma characterisation by immunohistochemistry in Indigenous black Zambians. *Jour of Med Sc & Tech*; (January 2015). 4(1); 46 – 54.
28. Mehrdad Payandeh, Masoud Sadeghi, Edris Sadeghi. The Ki-67 index in non-Hodgkin's Lymphoma: Role and Prognostic Significance. *American Journal of Cancer Prevention*, 2015, Vol. 3, No. 5, 100-102.
29. Real Academia Española. Diccionario de la lengua española. 23ª edición. Editorial DRAE. Octubre 2014. Madrid, España.