



DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LAS CÉLULAS LINFOIDES ATÍPICAS EN SANGRE PERIFÉRICA.

Dra. Anna Merino.

Servicio de Hemoterapia-Hemostasia. Centro de Diagnóstico Biomédico. Hospital Clínic de Barcelona.

INTRODUCCION

La observación al microscopio de las células de sangre periférica (SP) es fundamental para la orientación diagnóstica de un gran número de enfermedades hematológicas y no hematológicas. Entre las enfermedades hematológicas que podemos detectar en SP se hallan las neoplasias linfoides y muy especialmente, por su elevada frecuencia, la leucemia linfática crónica.

A continuación se describen los tipos de linfocitos que circulan en SP, su origen, las características del folículo linfoide y de la celularidad que lo constituye, las principales neoplasias linfoides B y T y su más reciente clasificación según la Organización Mundial de la Salud (OMS), haciendo hincapié en los rasgos morfológicos más relevantes que nos ayudan a realizar el diagnóstico diferencial entre las diferentes entidades. También se cita brevemente la *linfocitosis B policlonal persistente*, síndrome del que no se conoce con certeza si representa una linfocitosis benigna o con posibilidad de transformación neoplásica, y por último se describe brevemente el mieloma múltiple.

Existen dos tipos fundamentales de linfocitos: los linfocitos T (T de timo), responsables de la inmunidad celular y los linfocitos B (B de *Bursa de Fabricio* en las aves), responsables de la inmunidad humoral. Los linfocitos T poseen un receptor de membrana constituido por dos subunidades ($\alpha\beta$ o $\gamma\delta$), donde tiene lugar el reconocimiento antigénico. Los linfocitos T primitivos experimentan un proceso de maduración en el timo, que elimina a los linfocitos T que responden a antígenos propios.

El organismo, a través del sistema inmunitario, es capaz de generar una respuesta eficaz ante un antígeno extraño. Si se produce la nueva entrada del antígeno al organismo, se genera una respuesta altamente específica contra dicho antígeno (memoria inmunológica).

En el adulto la médula ósea constituye el **órgano linfoide primario**, donde tiene lugar la formación de células linfoides a partir de células madre hematopoyéticas pluripotentes. En los **órga-**

nos linfoides secundarios (ganglios linfáticos, bazo y sistema linfoide asociado a piel y mucosas) es donde tiene lugar la generación de nuevos linfocitos, a partir de la estimulación antigénica de otras células linfoides. En los órganos linfoides secundarios las poblaciones celulares están organizadas en zonas B y zonas T según el predominio de células que las constituyen, aunque se pueden encontrar linfocitos T en las zonas B y viceversa.

FOLÍCULO LINFOIDE

La intensa recirculación de los linfocitos B por los órganos secundarios del sistema folicular favorece su contacto con los diferentes antígenos que acceden al organismo. En los ganglios linfáticos más cercanos al lugar de acceso del antígeno tiene lugar el reconocimiento antigénico y la transformación de dichos linfocitos en células B memoria, que son las responsables de la secreción de anticuerpos. El folículo linfoide está formado por:

1. Una zona periférica o **manto** folicular constituido por linfocitos pequeños de cromatina madura que todavía no han sufrido la transformación blástica.
2. Una zona central o **centro germinal** con células linfoides blásticas.
3. Una **zona marginal**: en determinados órganos linfoides (bazo, ganglios mesentéricos, placas de Peyer) el folículo linfoide contiene una tercera capa más externa denominada zona marginal, constituida por células linfoides que probablemente corresponden a células de memoria.

En el centro germinal del folículo linfoide ganglionar, el linfocito B interacciona con estímulos antigénicos, y experimenta cambios morfológicos tales como la aparición de características propias de las células inmaduras (centroblasto), y la presencia de una única hendidura en el núcleo (centrocito). También en el centro germinal tienen lugar mutaciones a nivel de la región variable de las inmunoglobulinas, que modifican la afinidad de los anticuerpos producidos por las células hacia los antígenos.

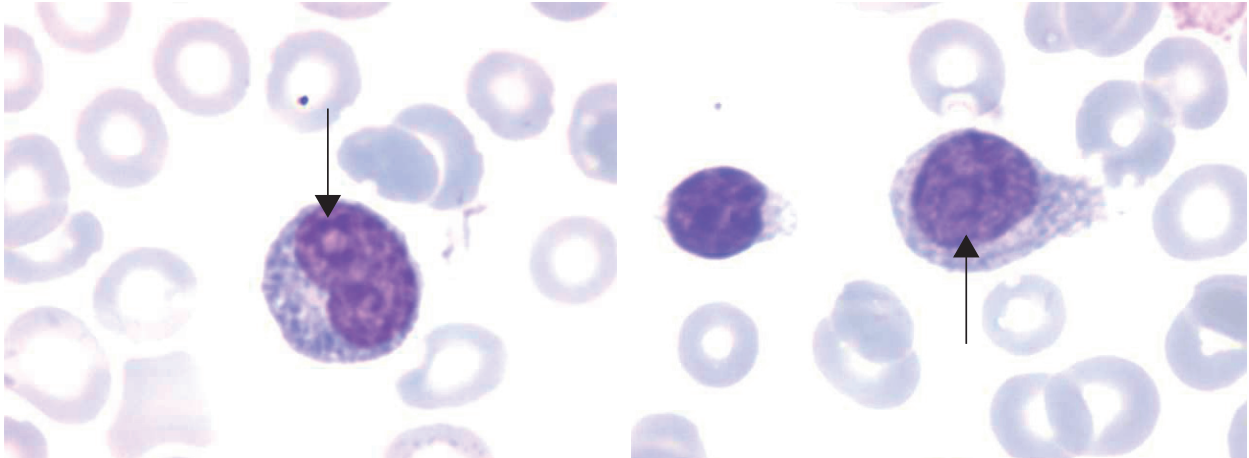
Las células no hendidas o **centroblastos** son de mayor tamaño que los centrocitos y poseen un núcleo de perfil redondeado (sin incisuras), de cromatina laxa (1-3 nucleolos) y con un citoplasma amplio y basófilo. Los nucleolos muestran el característico **ribete cromatínico perinucleolar** o marcado reforzamiento de la cromatina que dibuja el perímetro o margen del nucleolo (Figuras 1 y 2).

Los **centrocitos** muestran una elevada relación núcleo-citoplasmática debido a que el citoplasma es muy escaso, aunque en la variedad grande dicho citoplasma es moderado. El núcleo presenta una cromatina condensada, sin nucleolos visibles (Figuras 3 a 6). Un aspecto morfológico muy típico de los centrocitos es la presencia de una hendidura muy pronunciada en el centro del núcleo (perfil nuclear *“en grano de café”*).

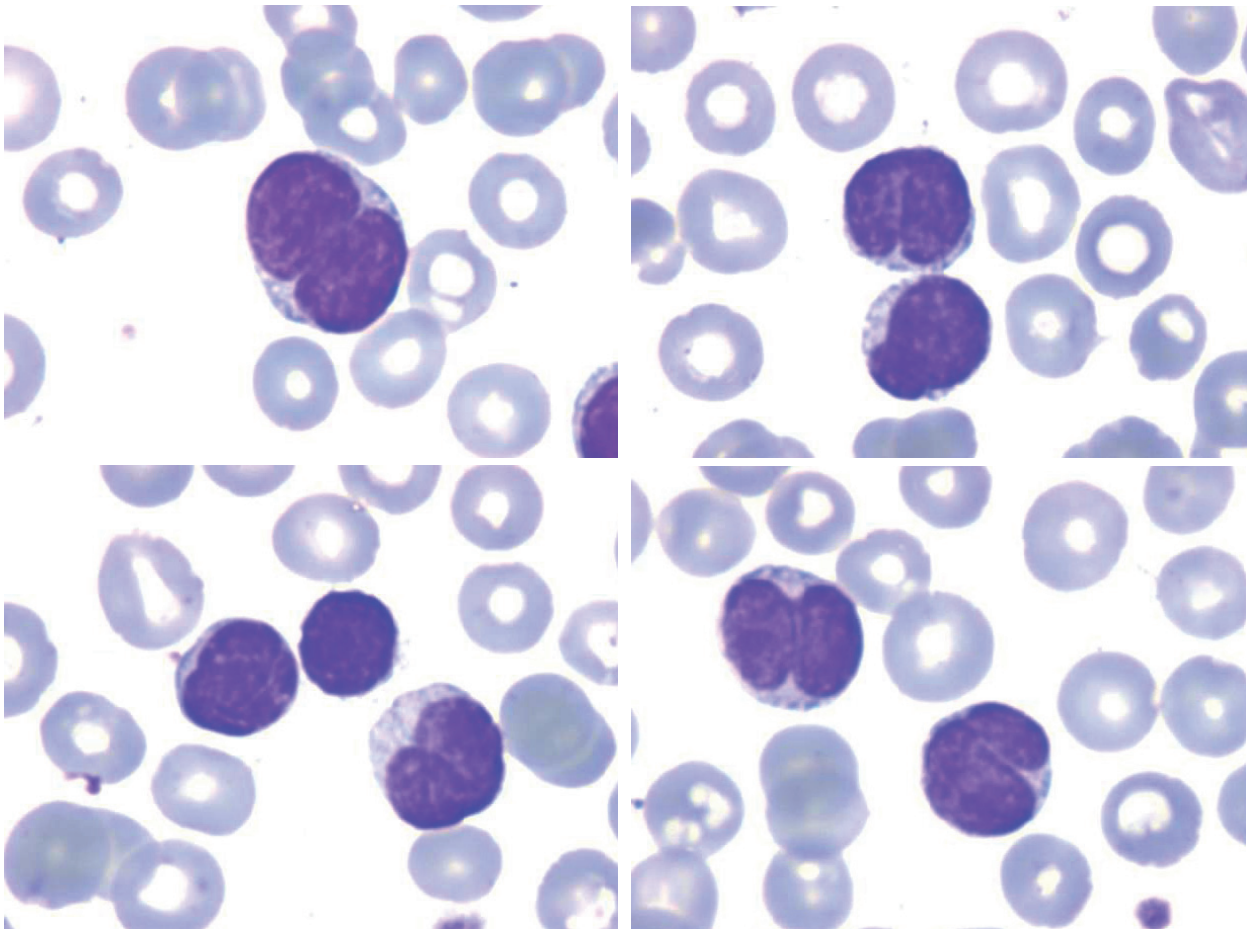
El linfocito B, cuando se encuentra fuera del folículo linfoide, se transforma en un inmunoblasto y en una célula plasmática, o en un linfocito B dotado de memoria inmunológica. **Los linfocitos B con memoria inmunológica** residen mayoritariamente en las zonas marginales

del folículo linfoide y muestran un perfil nuclear redondeado o irregular de cromatina poco condensada, así como un citoplasma moderadamente abundante y de tonalidad pálida en la tinción con May Grünwald-Giemsa (MGG).

Las células plasmáticas que se forman fuera del folículo linfoide se dirigen de nuevo a la médula ósea.



Figuras 1 y 2. Centoblastos: linfocitos de mediano tamaño y con un núcleo de cromatina laxa cuyo nucleolo (flechas) muestra un marcado ribete cromatínico perinucleolar (reforzamiento de la cromatina a lo largo del perímetro del nucleolo).



Figuras 3 a 6. Centrocitos en sangre periférica: células linfoides de muy escaso citoplasma. El núcleo es de perfil irregular debido a la presencia de una hendidura central, y posee una cromatina condensada.

NEOPLASIAS LINFOIDES

Los síndromes linfoproliferativos crónicos (SLPC) son neoplasias linfoides que pueden manifestar expresividad leucémica, *en cuyo caso se observa la presencia de células linfoides atípicas en sangre periférica*.

Las clasificaciones de las **neoplasias linfoides** se basaron en un principio en las características fundamentalmente morfológicas y citoquímicas de las células proliferantes. Con posterioridad las clasificaciones se modificaron debido a la incorporación de nuevas técnicas, tales como el inmunofenotipo, la citogenética y la biología molecular, que han aportado nuevos conocimientos y han hecho posible la separación de las neoplasias linfoides en entidades bien diferenciadas. La clasificación más reciente es la de la OMS (Organización Mundial de la Salud) del año 2008.

El folículo linfoide se encuentra en la zona paracortical del ganglio linfático. Tal como se muestra en la Figura 7, según el origen de las células que proliferan en el ganglio linfático varía el tipo de neoplasia linfoide que se origina.

Las neoplasias linfoides de tipo B y T constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades con características clínicas y biológicas diferenciadas, en ocasiones compartidas, lo que dificulta su correcto diagnóstico. En los síndromes linfoproliferativos de naturaleza B debe demostrarse la **clonalidad** de la celularidad neoplásica mediante la detección de sólo una de las cadenas ligeras de las inmunoglobulinas kappa (κ) o lambda (λ), lo que se denomina restricción de cadenas. Por el contrario, en las linfocitosis reactivas, una parte de los linfocitos expresan cadenas κ y otros expresan cadenas λ .

Para el diagnóstico diferencial de estas entidades es imprescindible el análisis citológico, inmunofenotípico, citogenético y molecular, así como el estudio histológico de la médula ósea y de los ganglios linfáticos. A continuación solamente describiremos las neoplasias linfoides que más frecuentemente se leucemizan a sangre periférica, comentando las características morfológicas de las células linfoides atípicas en cada una de las diferentes patologías.

En la Tabla 1 se enumeran las características inmunofenotípicas generales de las neoplasias linfoides de estirpe B. La Tabla 2 muestra las alteraciones genéticas y moleculares que más frecuentemente se asocian a los diferentes subtipos histológicos de neoplasias linfoides B.

	IgS	CD5	CD20	CD23	CD79b	CD510	CD11c	FMC7	CD25	CD103
LLC	+	++	+	++	-/+	-	-/+	-/+	-	-
LPL	++	-/+	+	-/+	+	-	-/+	++	-	-
TRICOLEUCEMIA	++	-	++	-	++	-	++	++	++	++
MANTO	++	++	++	-	++	-	-	-	-	-
FOLICULAR	++	-	++	-	++	++	-	-	-	-
LINFOPLASMOCÍTICO	++	-	++	-	++	-	-/+	-/+	-/+	-
ESPLENICO	++	-/+	++	-	++	-	-/+	-/+	-/+	-/+

Tabla 1. Características inmunofenotípicas de las células linfoides atípicas características de los diferentes tipos de neoplasias linfoides B. LLC: Leucemia linfática crónica, LPL: leucemia prolinfocítica, IgS: inmunoglobulinas de superficie.

Subtipo histológico	Citogenética	Gen implicado
FOLICULAR	t(14;18)	BCL-2
MANTO	t(11;14)	Ciclina D1
BURKITT	t(8;14)	c-myc
LINFOPLASMOCÍTICO	t(9;14)	PAX-5
ANAPLÁSICO Ki-1+	t(2;5)	NPM/ALK
MALT	t(11;18)	AP12/MALT1
LDCG-B <i>de novo</i>	3q27	BCL-6

Tabla 2. Alteraciones citogenéticas y moleculares de las diferentes neoplasias linfoides B. LDCGB: linfoma difuso de células grandes B.

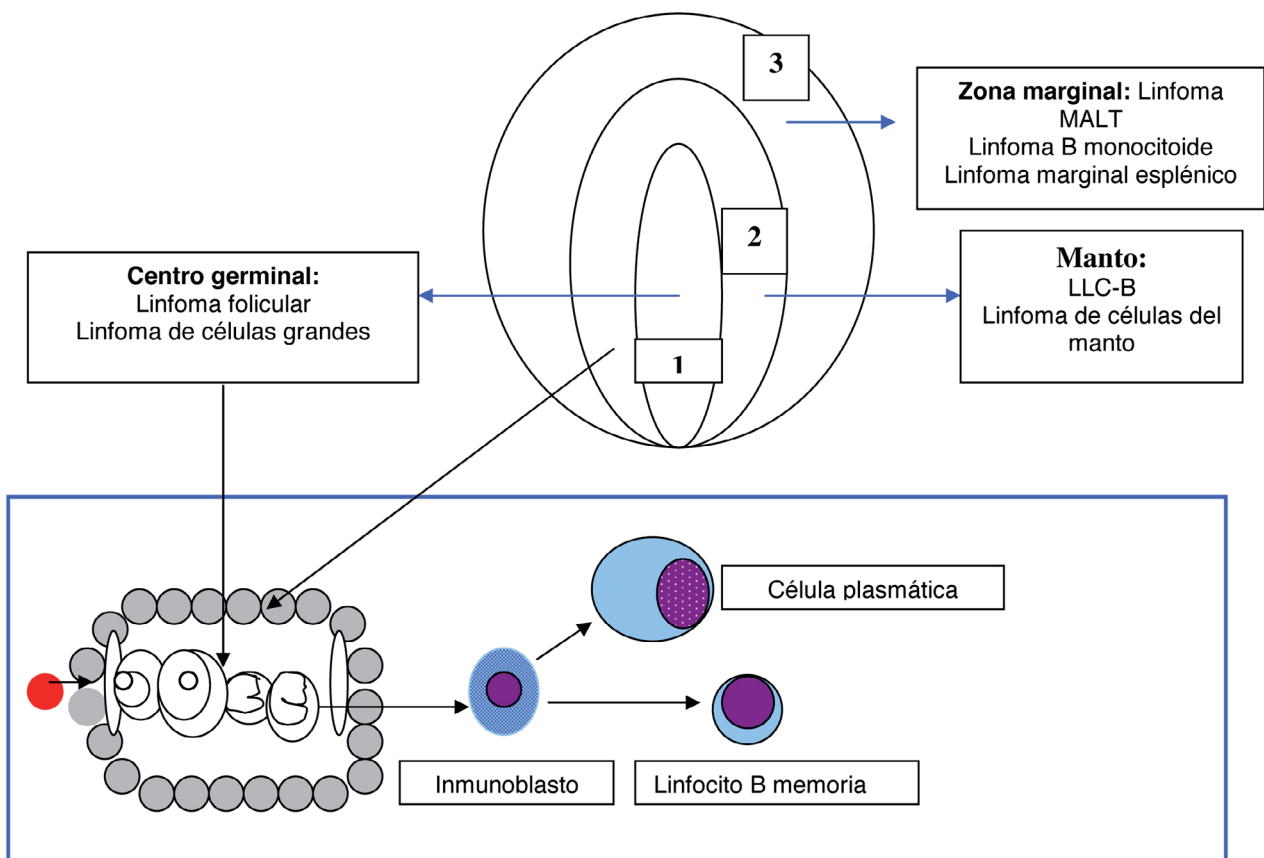


Figura 7. Representación esquemática del folículo linfóide constituido por: 1) centro germinal, 2) zona del manto y 3) zona marginal. En la parte inferior del gráfico se muestra de forma también esquemática la transformación morfológica del linfocito B durante su paso por el centro germinal, así como la maduración posterior a linfocito B memoria o a célula plasmática.

NEOPLASIAS LINFOIDES DE ESTIRPE B

Las neoplasias linfoides de estirpe B engloban proliferaciones clonales de células linfoides B en todas sus etapas de diferenciación. Al parecer, las alteraciones del sistema inmune pueden favorecer la presentación de este tipo de neoplasias. También determinados agentes infecciosos pueden tener un papel importante en el desarrollo de algunos tipos de neoplasias linfoides de tipo B: *virus de Epstein-Barr* en el linfoma de Burkitt endémico, *herpes virus-8 / virus del sarcoma*

de Kaposi en el linfoma de cavidades, *virus de la hepatitis C* en el linfoma linfoplasmocítico o el *Helicobacter pylori* en el linfoma gástrico.

La clasificación de las neoplasias linfoides según la OMS diferencia las de bajo grado, alto grado y muy alto grado de malignidad. De entre todas ellas explicamos a continuación aquellas que pueden manifestarse en SP.

NEOPLASIAS LINFOIDES DE BAJO GRADO DE MALIGNIDAD

LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA DE CÉLULAS B

La leucemia linfática crónica (LLC) es la leucemia más frecuente de los adultos en Europa y EEUU. No se ha podido demostrar que la exposición a determinados agentes químicos, radiaciones o virus puedan jugar un cierto papel en el desarrollo de esta enfermedad. Sin embargo, factores **genéticos** pueden estar relacionados con este tipo de leucemia, ya que existe una incidencia más elevada de leucemias linfoides o linfomas en los familiares de pacientes con LLC.

La LLC es una proliferación monoclonal, en la mayoría de los casos de linfocitos B de escasa capacidad de multiplicación, de aspecto maduro y de vida media muy larga por un defecto de la apoptosis (muerte celular programada). Debido a ello, los linfocitos se acumulan e invaden los ganglios linfáticos, la médula ósea y la SP. Ello conlleva el hallazgo de adenopatías, esplenomegalia y hepatomegalia en la exploración clínica de estos pacientes, aunque en las etapas iniciales de la enfermedad los hallazgos clínicos pueden ser mínimos y el diagnóstico suele efectuarse a través de una analítica de rutina. Así, su expresión clínica es muy variable y pueden verse desde formas de más de 20 años de evolución, a otras muy agresivas de menos de un año de evolución. La edad mediana de supervivencia se sitúa alrededor de los 10 años. La LLC es muy rara en pacientes con edades inferiores a los 40 años y su incidencia aumenta extraordinariamente con la edad. La edad media de presentación es de 65 años con un predominio en varones.

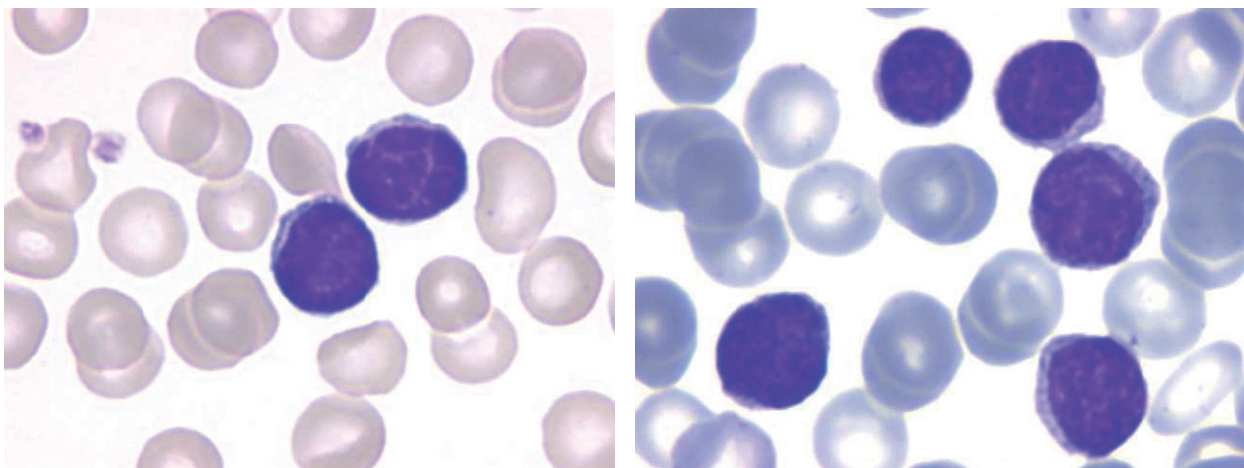
En todos los casos la LLC cursa con **un aumento de linfocitos en sangre periférica** ($>5 \times 10^9/L$). Los leucocitos suelen registrar cifras superiores a $10 \times 10^9/L$ y, en ocasiones, pueden ser muy elevados ($300 \times 10^9/L$). La hemoglobina y las plaquetas pueden ser normales o estar disminuidas. La anemia, cuando existe, suele ser normocítica y normocrómica. También puede instaurarse una anemia hemolítica autoinmune (10 % de los casos), en cuyo caso se observan alteraciones de la morfología eritrocitaria, tales como la presencia de esferocitos, policromasia y algún eritroblasto, junto a una prueba de Coombs positiva. Puede instaurarse además una trombopenia de origen autoinmune.

Morfología: Los linfocitos de la LLC son de pequeño tamaño y de cromatina madura y condensada de aspecto "grumelée" (apelotonada en varios grumos separados por franjas de cromatina más clara). La relación núcleo-citoplasmática es elevada, el contorno nuclear es redondeado y el citoplasma no muestra granulación visible (Figuras 8 y 9). Los linfocitos que proliferan son anormalmente frágiles, por lo que se rompen con mucha facilidad durante la realización de la

extensión, constituyendo lo que se denominan *sombras nucleares de Gumprecht* (Figura 10). Se han identificado dos variantes morfológicas en la LLC, en función de la proporción de linfocitos atípicos (centrocitos, centroblastos o prolinfocitos) que se observan en SP (Figuras 11 y 12):

- a) En la LLC **típica**, la proporción de linfocitos atípicos no supera el 10 % y la mayoría de células linfoides son de tamaño pequeño y cromatina madura y condensada (grumelée) sin nucleolo visible.
- b) En la LLC **atípica**, junto a una mayoría de linfocitos de pequeño tamaño y cromatina madura y condensada, se observa una proporción superior al 10 % de prolinfocitos, o superior al 15 % de linfocitos de núcleo hendido y/o rasgos morfológicos linfoplasmocíticos. La presentación de una morfología linfocitaria atípica es un factor pronóstico importante (adverso) con respecto a la progresión de la enfermedad.

En la LLC en **transformación** o *síndrome de Richter*, el porcentaje de prolinfocitos en sangre periférica se sitúa entre un 11-54 %, o bien se observa la presencia de un porcentaje significativo de células con rasgos morfológicos inmunoblásticos, de gran tamaño y núcleo de cromatina laxa e inmadura.



Figuras 8 y 9. Linfocitos de morfología característica de un síndrome linfoproliferativo crónico tipo LLC: tamaño pequeño, citoplasma escaso y núcleo de perfil redondeado de cromatina madura y condensada ("grumelée").

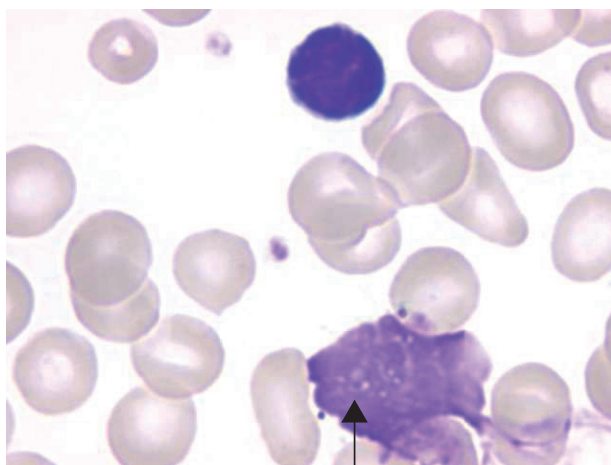


Figura 10. Sombras nucleares de Gumprecht debido a la fragilidad de los linfocitos en la LLC (flecha).

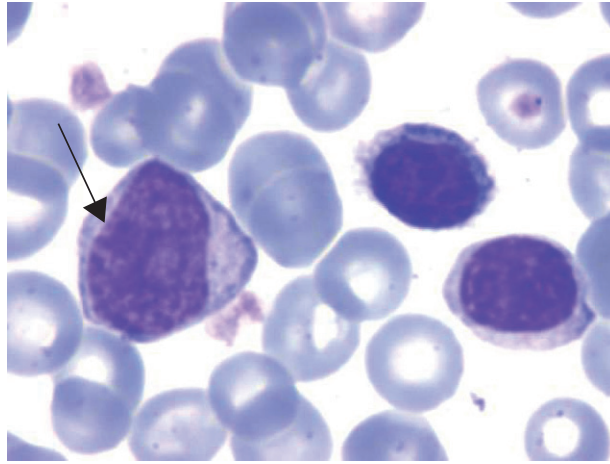


Figura 11. Centroblasto (flecha) junto a linfocitos maduros característicos de la leucemia linfática crónica.

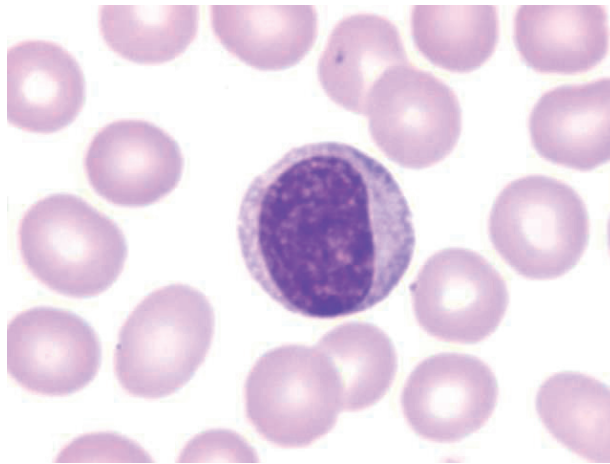


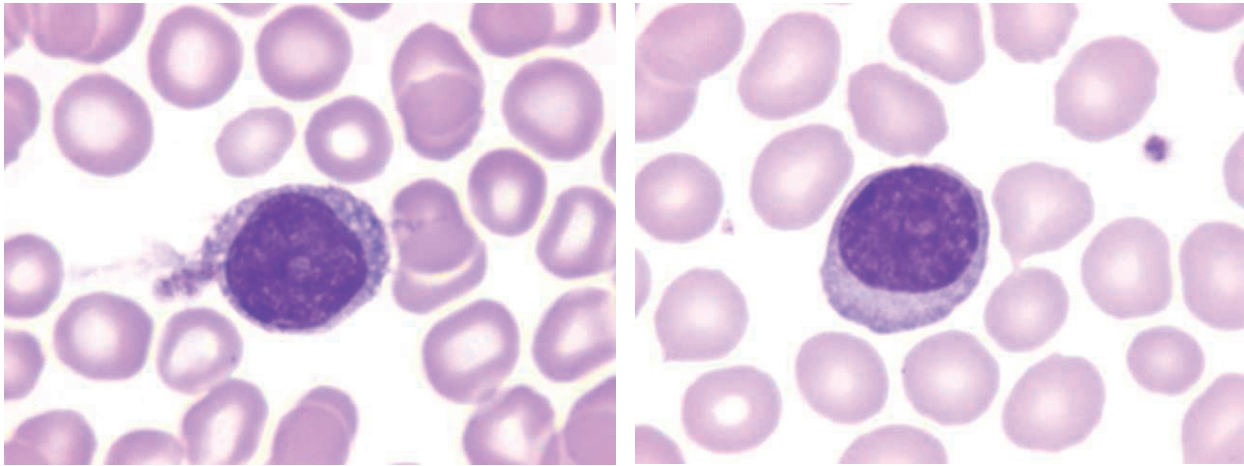
Figura 12. Prolinfocito en sangre periférica en una leucemia linfática crónica.

El diagnóstico diferencial de la LLC debe realizarse con otras neoplasias linfoides, tales como el linfoma folicular, el linfoma esplénico con linfocitos vellosos circulantes, el linfoma del manto o la leucemia prolinfocítica T. El perfil inmunológico típico de la LLC consiste en la expresión de antígenos de línea B (CD19, CD20, CD21, CD23) con coexpresión de CD5.

LEUCEMIA PROLINFOCÍTICA B

En el 75 % de los casos, la leucemia prolinfocítica B (LPL-B) se debe a una proliferación monoclonal de células B, que clínicamente se manifiesta por esplenomegalia y hepatomegalia marcadas. Constituye alrededor del 1 % del total de SLPC con expresión leucémica. En sangre periférica suele existir anemia y trombocitopenia, una **leucocitosis** media superior a $100 \times 10^9/L$ y un aumento de **prolinfocitos** superior al 55 %.

Morfología: El prolinfocito es una célula de tamaño mayor al del linfocito normal. El núcleo, de contorno regular y de cromatina condensada, muestra un nucleolo visible sin ribete perinucleolar preferentemente en posición central (Figuras 13 y 14). El diagnóstico diferencial de la LPL-B se realiza con la transformación prolinfocítica de la LLC, que se caracteriza por la aparición en sangre periférica de prolinfocitos (11-55 %). Los prolinfocitos B expresan intensamente inmunoglobulinas de superficie, CD20, CD22, CD70b y FMC7 y son negativos para el CD23.



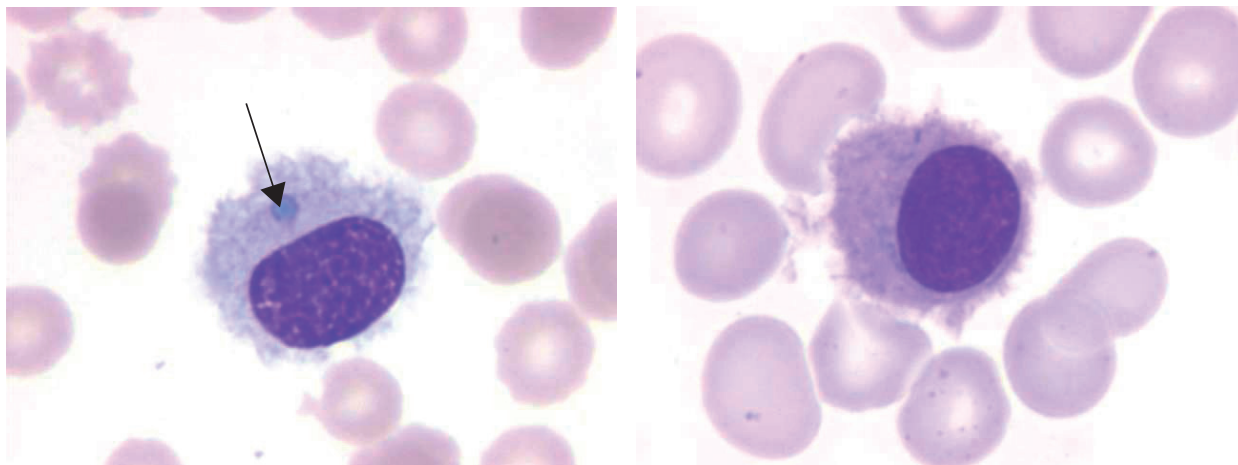
Figuras 13 y 14. Prolinfocitos en sangre periférica en una leucemia prolinfocítica B. Obsérvese que el nucleolo, a diferencia de los centroblastos, no muestran el ribete cromatínico perinucleolar.

TRICOLEUCEMIA

La tricoleucemia o *hairy cell leukaemia* (HCL) es una neoplasia de linfocitos B postfoliculares típica de la edad adulta, más frecuente en varones y que se caracteriza por la presencia de una **pancitopenia**, esplenomegalia y ausencia de adenopatías. Constituye el 2 % de los SLPC con expresión leucémica y usualmente se acompaña de anemia normocítica y **monocitopenia**. En una etapa más avanzada de la enfermedad puede observarse neutropenia.

Morfología: Las células linfoides características de la tricoleucemia son de mayor tamaño que los linfocitos normales (10-18 μm de diámetro). El núcleo es de perfil redondeado o lobulado, de posición mayoritariamente central y de cromatina laxa, la mayoría de las veces con ausencia de nucleolo visible. El citoplasma muestra una tonalidad azul-grisácea y un aspecto hialino y, de forma característica, presenta unas **vellosidades muy típicas** (largas y numerosas proyecciones a modo de pelos) que rodean el perímetro de la célula linfoide (Figuras 15 y 16). En algunos casos se observa, cerca del borde celular, una inclusión citoplasmática constituida por dos líneas paralelas de aspecto basófilo constituyendo el denominado **complejo ribosómico lamelar**. Este complejo puede identificarse más fácilmente mediante microscopía electrónica de transmisión y se trata de una estructura tubular constituida por la asociación ordenada de lamelas y ribosomas.

Las células linfoides características de la tricoleucemia se presentan en pequeños porcentajes en sangre periférica, por lo que su visualización puede resultar una tarea laboriosa debido a la leucopenia asociada a esta entidad. Por el contrario, en la tricoleucemia variante el porcentaje de linfocitos atípicos suele superar el 20 %. El diagnóstico diferencial de la HCL debe realizarse con la tricoleucemia variante y con otros SLPC, especialmente con el linfoma esplénico con linfocitos vellosos circulantes. Los tricoleucocitos son mayoritariamente positivos para la fosfatasa ácida tartrato resistente (FATR) y expresan CD11c, CD25, FMC7, CD103 y CD123.

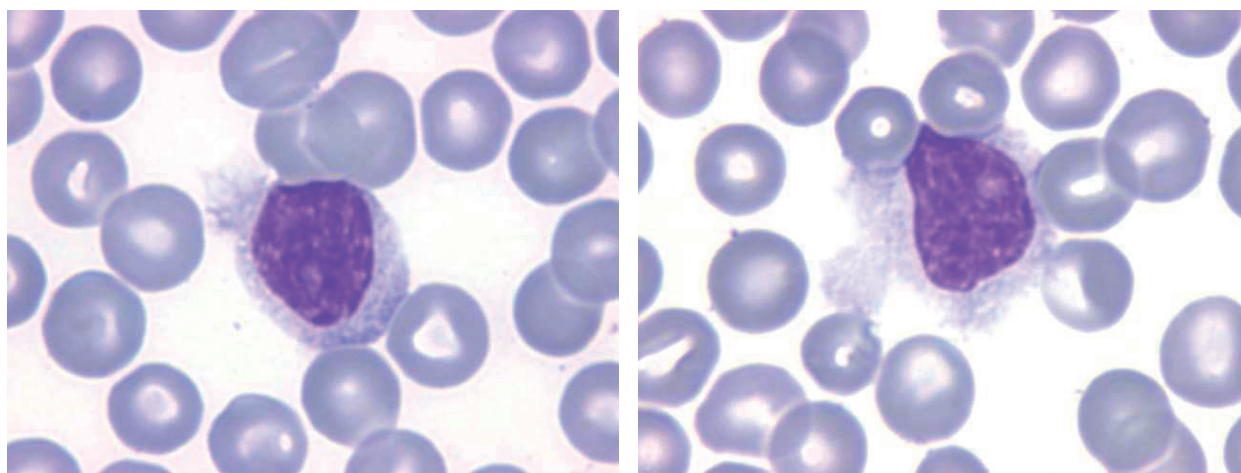


Figuras 15 y 16. Tricoleucocitos en sangre periférica. El núcleo es de perfil redondeado o lobulado, de cromatina laxa y ocasionalmente con un nucleolo visible. El citoplasma muestra una tonalidad azul-grisácea con vellosidades muy típicas (largas y numerosas proyecciones a modo de pelos). Puede contener alguna inclusión de probable naturaleza fagocítica (flecha).

TRICOLEUCEMIA VARIANTE

La tricoleucemia variante representa un 10 % del total de casos de HCL. Existen algunas características que diferencian a esta entidad de la HCL: 1) el recuento de leucocitos suele ser elevado (de $50 \times 10^9/L$ o más), 2) el porcentaje de células atípicas en sangre periférica es más numeroso y 3) no se acompaña de monocitopenia.

Morfología: Las células linfoides atípicas muestran en este caso las vellosidades citoplasmáticas descritas para los tricoleucocitos, pero en comparación con éstos: a) la relación núcleo-citoplasmática es mayor, b) el **nucleolo** es claramente visible y c) el grado de basofilia citoplasmática es también mayor (Figuras 17 y 18). Los linfocitos atípicos de la tricoleucemia variante son negativos para la FATR y para el CD25 y CD103.



Figuras 17 y 18. Tricoleucemia variante. Obsérvese la presencia de un nucleolo y la basofilia citoplasmática.

LINFOMA LINFOPLASMOCÍTICO / MACROGLOBULINEMIA DE WALDESTRÖM

El linfoma linfoplasmocítico, o macroglobulinemia de Waldeström, suele afectar a los ganglios linfáticos, en ocasiones al bazo y a otros órganos linfoides y, menos frecuentemente, se extiende a médula ósea y sangre periférica. Es una entidad en la que se asocia una gammapatía monoclonal, o paraproteinemia de tipo **IgM**, a una proliferación monoclonal e infiltración de los órganos hematopoyéticos por células de aspecto linfocitoide o linfoplasmocítico de tipo B. En la extensión de sangre periférica se puede observar con frecuencia la presencia de **hematíes en pilas de moneda** debido al componente M. La cifra de leucocitos suele ser normal y suele apreciarse una moderada anemia normocítica y normocrómica. El análisis citológico de SP pone de manifiesto la presencia de monocitosis y eosinofilia.

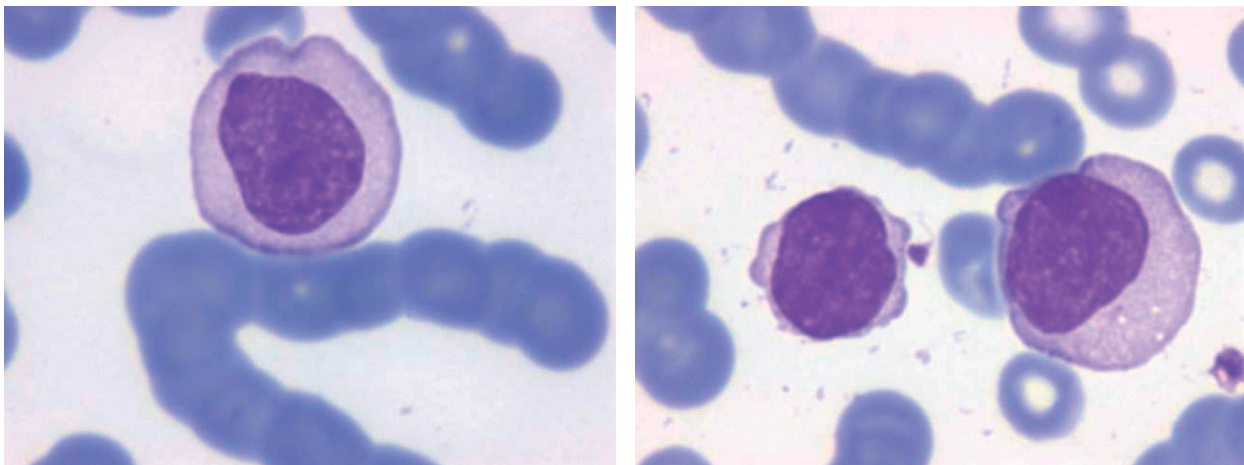
Morfología: La linfocitosis es frecuente y los linfocitos tienden a presentar un núcleo excéntrico de cromatina poco condensada y un citoplasma amplio y marcadamente basófilo (Figuras 19 y 20).

La incidencia del linfoma linfoplasmocítico muestra un predominio en edades avanzadas.

Las células que proliferan en esta entidad son:

1. Linfocitos de tamaño pequeño.
2. Linfocitos de aspecto linfoplasmocítico (tamaño variable, núcleo de posición excéntrica de cromatina madura y citoplasma moderadamente amplio y basófilo).
3. Células plasmáticas.

Las células linfoides expresan marcadores de línea B pero, a diferencia de la LLC, son CD5 negativas.



Figuras 19 y 20. Linfocitos de aspecto linfoplasmocitoide: tamaño mediano-grande, núcleo mayoritariamente excéntrico de cromatina poco condensada y citoplasma amplio y basófilo. Obsérvese la presencia de hematíes en pilas de moneda debido a una gammapatía monoclonal (IgM).

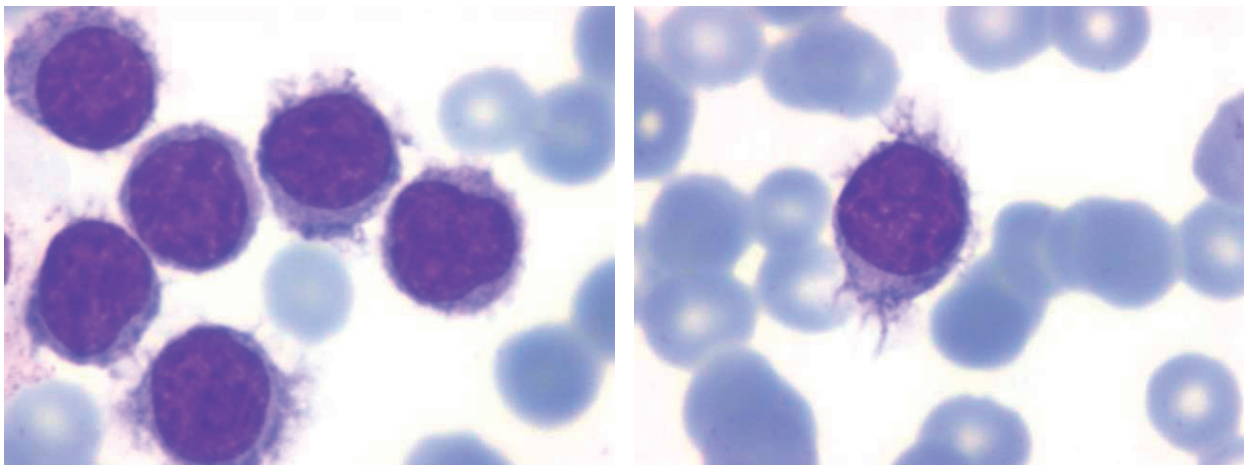
LINFOMA ESPLÉNICO DE LA ZONA MARGINAL: LINFOMA ESPLÉNICO CON LINFOCITOS VELLO-SOS CIRCULANTES

El linfoma esplénico con linfocitos vellosos circulantes (SLVL) constituye menos de un 1 % de

los SLPC con expresión leucémica en sangre periférica. Cursa con esplenomegalia gigante (con infiltración de la pulpa roja y blanca) en ausencia de adenopatías y puede acompañarse de trombocitopenia autoinmune. El recuento de leucocitos es variable, con valores entre 3 y $38 \times 10^9/L$.

Morfología: Los **linfocitos de aspecto vellosos** son de tamaño mayor al del linfocito normal y muestran una elevada relación núcleo-citoplasmática. El núcleo es de perfil redondeado u ovalado, con tendencia a la excentricidad, de cromatina condensada y con presencia ocasional de nucleolo. El citoplasma es basófilo, de tamaño variable y de su membrana parten pequeñas prolongaciones distribuidas de forma irregular a lo largo de su perímetro, aunque se concentran preferentemente en un polo de la célula (Figuras 21 y 22).

En ocasiones, debido a la presencia de una **paraproteína** (en 1/3 de los pacientes puede observarse una pequeña banda monoclonal en suero u orina) los hematíes pueden adoptar una disposición en "pilas de moneda". **En dos terceras partes de los casos el diagnóstico del SLVL se realiza en base a la observación morfológica de las células linfoides en sangre periférica**, junto al inmunofenotipo. El número de linfocitos atípicos suele ser superior al 25 %, a diferencia de la tricoleucemia que se acompaña generalmente de una menor expresividad en sangre periférica. El diagnóstico diferencial se realiza con la LLC, la tricoleucemia, el linfoma folicular y el linfoma linfoplasmocítico. Las células linfoides del SLVL expresan antígenos de línea B y además son CD22, CD24 y FMC7 positivos, junto a CD5, ciclina D1, CD103 y CD10 negativos.



Figuras 21 y 22. Linfocitos vellosos de mayor tamaño respecto al linfocito normal, con un núcleo de perfil redondeado de cromatina condensada, aunque puede visualizarse ocasionalmente un nucleolo. El citoplasma es basófilo y de su membrana parten pequeñas prolongaciones distribuidas de forma irregular a lo largo del perímetro de la célula, preferentemente localizadas en un polo de la célula.

LINFOMA FOLICULAR

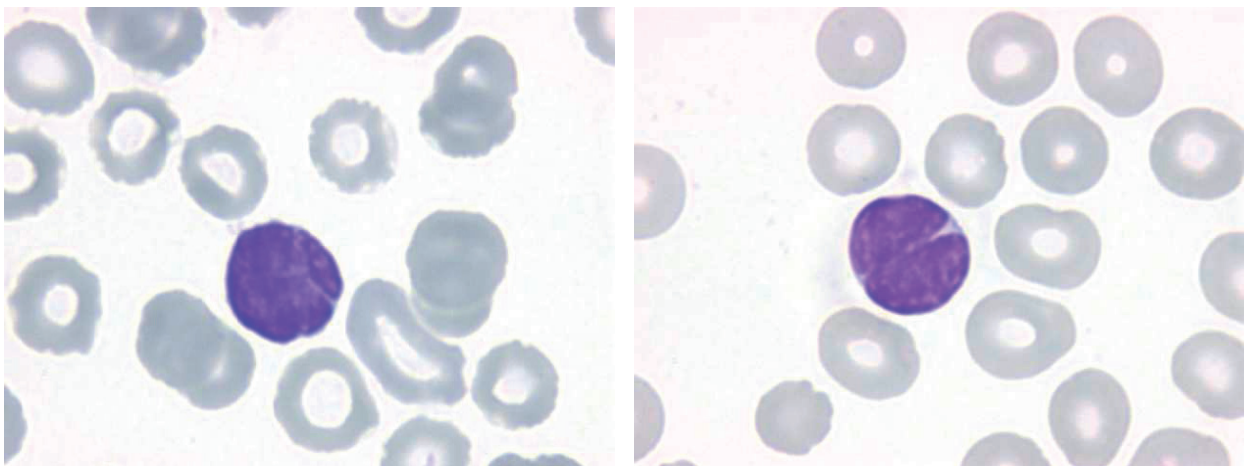
El linfoma folicular (LF), o linfoma centrocítico/centroblástico, se desarrolla preferentemente en los ganglios linfáticos, aunque puede extenderse al hígado y al bazo. La médula ósea se afecta en un 40 % de los casos. Es una neoplasia del folículo linfoide secundario, por lo que

cuando el linfoma folicular se leucemiza es posible observar en SP todas las células que lo constituyen, mayoritariamente centrocitos y centroblastos.

Constituye el 70 % de todos los LNH y la edad máxima de incidencia corresponde a la sexta década de la vida, con un ligero predominio del sexo femenino. El recuento de leucocitos puede hallarse normal o elevado y, aunque la cifra de hemoglobina y de plaquetas suelen ser normales, puede desarrollarse una anemia y una trombocitopenia cuando la enfermedad progresa. En los casos leucemizados se observa en sangre periférica la presencia de células que muestran un alto grado de polimorfismo.

Morfología: Mayoritariamente los linfocitos atípicos del LF son de tamaño pequeño-mediano, con elevada relación núcleo-citoplasmática y un núcleo que suele mostrar un perfil irregular. La cromatina es uniformemente condensada y el citoplasma es muy escaso o inaparente y débilmente basófilo (Figuras 23 y 24). El pronóstico global es relativamente favorable, con un curso clínico indolente. El diagnóstico diferencial se realiza con la LLC y con el linfoma del manto.

Las células linfoides atípicas expresan inmunoglobulinas de superficie, antígenos de línea B, son FMC7 y CD10 positivas y negativas para CD5 y CD43.



Figuras 23 y 24. Linfocitos de morfología característica del linfoma folicular: tamaño pequeño, muy escaso citoplasma y núcleo de perfil irregular.

NEOPLASIAS LIFOIDES B DE ALTO GRADO DE MALIGNIDAD

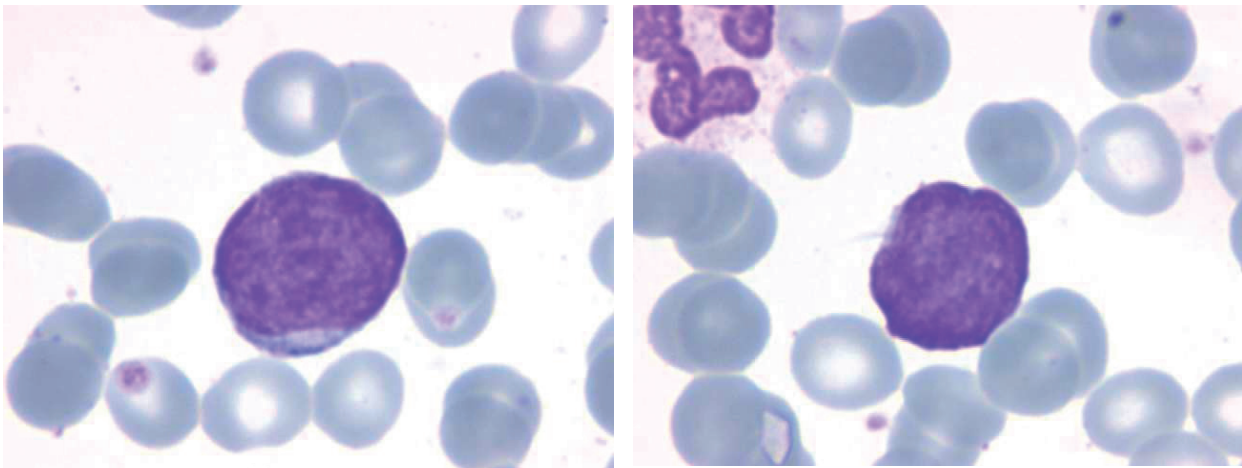
LINFOMA DEL MANTO

En el linfoma del manto existe una proliferación de linfocitos B maduros, cuyo origen se sitúa en las células B pregerminales de los ganglios linfáticos. La edad mediana de presentación es a los 60 años, con un predominio en varones. Clínicamente se manifiesta por la presencia de adenopatías (supradiaphragmáticas y/o infradiaphragmáticas) y hepato-esplenomegalia en la mitad de los casos. La médula ósea suele afectarse precozmente y en un 25 % de los pacientes las células linfomatosas se leucemizan a SP.

Morfología: Las células linfoides atípicas muestran un tamaño variable, entre mediano y pequeño, y un cierto grado de polimorfismo. La relación núcleo-citoplasmática es variable y el perfil nuclear es mayoritariamente irregular (Figuras 25 y 26). Algunas células tienen aspecto centrocítico y, en otras, la cromatina puede ser laxa e incluso mostrar un nucleolo visible. La OMS ha reconocido diferentes variedades morfológicas en el linfoma del manto. Entre ellas destacan las denominadas “blastoides”, que incluyen:

- Variedad blástica, de elevado nivel proliferativo.
- Variedad pleomórfica, con mayor heterogeneidad celular.

El pronóstico de esta enfermedad está relacionado con el grado de proliferación de las células linfoides, que es mayor en la variedad blástica, y que depende de la presencia de mutaciones en proteínas reguladoras del ciclo celular.



Figuras 25 y 26. Aspecto morfológico típico de los linfocitos en un linfoma del manto leucemizado: tamaño variable, núcleo de perfil mayoritariamente irregular (variedad pleomórfica) y cromatina que puede ser condensada o, en ocasiones, laxa e inmadura (variedad blástica).

El diagnóstico diferencial se realiza con la LLC, con otros LNH y con la transformación prolinfocítica de la LLC. Las células neoplásicas expresan inmunoglobulinas de superficie, CD5, Cd19, CD20, CD22, CD79a y son CD10 y CD23 negativas.

NEOPLASIAS LINFOIDES B DE MUY ALTO GRADO DE MALIGNIDAD

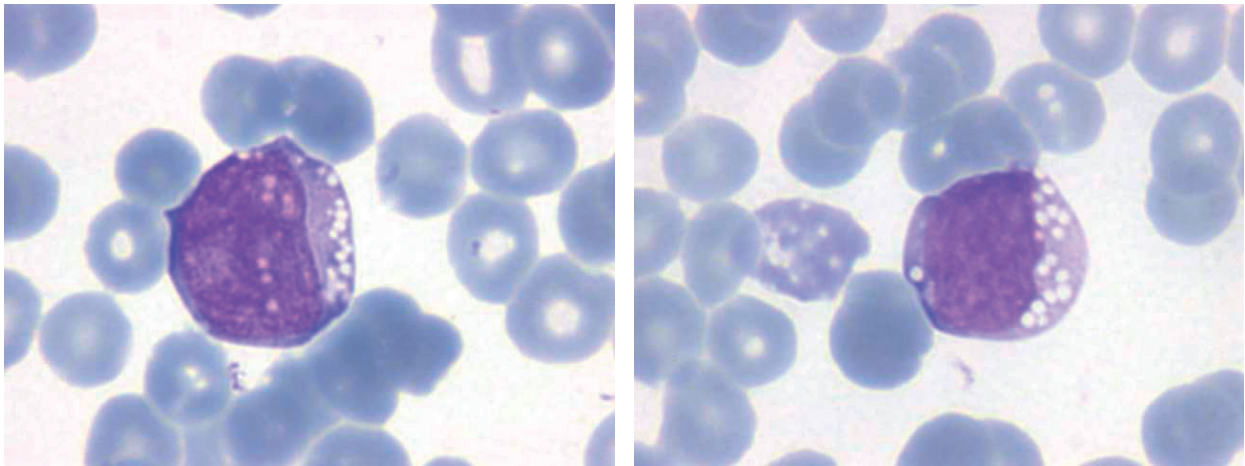
LINFOMA DE BURKITT:

El linfoma de Burkitt puede presentarse como un linfoma de localización preferentemente extranodal, o bien como una leucemia aguda. Su denominación se debe a que fue descrito por Burkitt en 1958 en niños centroafricanos. Se caracteriza por la presencia de masas tumorales en la mandíbula, la órbita, el retroperitoneo y el ovario, con escasa o nula participación ganglionar o esplénica. El **virus de Epstein-Barr** se detecta en todos los casos africanos (el tumor incide especialmente en áreas con paludismo endémico). Esta variante *endémica* afecta predominantemente a niños de 4-7 años.

Morfología: Las células blásticas del linfoma de Burkitt corresponden a las que se describen en el subtipo LAL₃ de la clasificación FAB. La célula que prolifera es de tamaño pequeño o mediano, con un núcleo de perfil redondeado de cromatina laxa e inmadura y con nucleolos visibles. El citoplasma es intensamente basófilo y contiene vacuolas lipídicas (Figuras 27 y 28).

El linfoma de Burkitt *no africano* se presenta en pacientes de mayor edad. Se asocia a una menor incidencia facial y a una mayor participación de los ganglios abdominales del tracto digestivo. La aparición de adenopatías periféricas es frecuente y no es excepcional la afectación medular (8-16 % de los casos). La leucemización puede aparecer al inicio del proceso, o bien en su fase terminal.

El linfoma de Burkitt puede ser también la primera manifestación clínica en pacientes con infección por el virus VIH y síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Las células tumorales expresan inmunoglobulinas de superficie con restricción de cadenas ligeras y son CD19, CD20, CD21, CD22, CD10 y CD79a positivas. El antígeno de proliferación Ki67 suele ser positivo.



Figuras 27 y 28. Linfoma de Burkitt leucemizado. Obsérvese la intensa basofilia y la presencia de vacuolas citoplasmáticas y nucleares en las células blásticas.

NEOPLASIAS LINFOIDES DE ESTIRPE T

Los síndromes linfoproliferativos de línea T son menos frecuentes que los de estirpe B. Su diagnóstico requiere el análisis inmunofenotípico de las células proliferantes, el análisis citogenético y el examen histológico de ganglios, piel u otros tejidos. La clasificación de la OMS diferencia a las neoplasias de estirpe T según su forma de presentación: leucémica, ganglionar o extra-ganglionar.

LEUCEMIA PROLINFOCÍTICA T

La leucemia prolinfocítica T (LPL-T) es una enfermedad poco frecuente y de curso clínico muy agresivo, con una edad mediana de presentación alrededor de los 65 años y que suele acompañarse de una gran esplenomegalia, hepatomegalia y adenopatías. Los pacientes suelen presentar una **leucocitosis** (cifra de leucocitos superior a $100 \times 10^9/L$) con marcada linfocitosis.

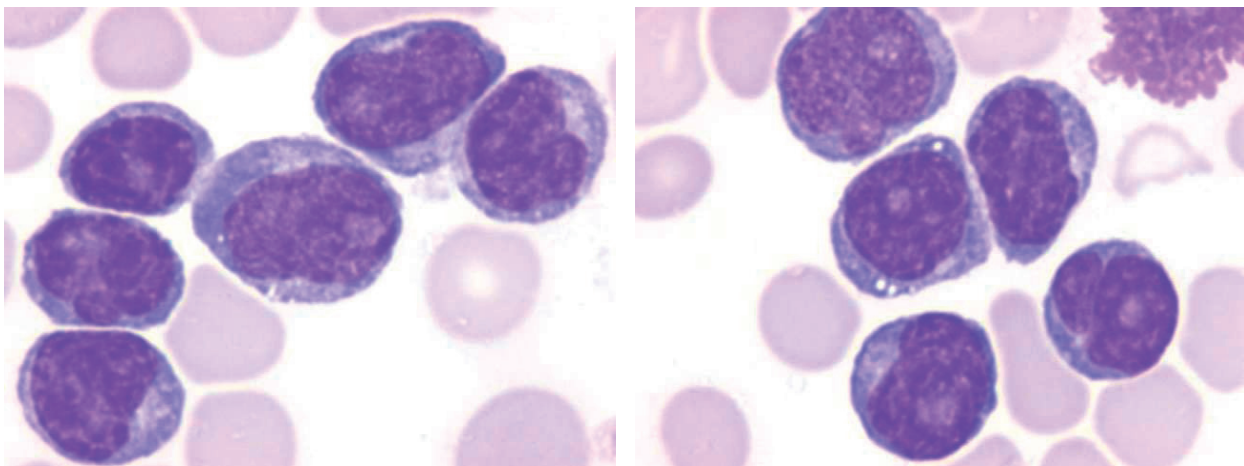
En una tercera parte de los pacientes se observa anemia y trombopenia, que pueden ser secundarias a la infiltración de la médula ósea y/o a la existencia de hiperesplenismo. En algunos casos (20 %) puede existir una **infiltración cutánea** en forma de infiltrado eritematoso difuso o localizado, nódulos o eritrodermia. La biopsia de las lesiones cutáneas pone de manifiesto la existencia de una infiltración dérmica linfóide **sin epidermotropismo** (infiltración linfóide que respeta la epidermis).

Para el diagnóstico de la LPL-T es de gran utilidad la observación de las células linfoides en una correcta extensión de sangre periférica teñida con MGG.

Morfología: Los linfocitos suelen ser de tamaño pequeño-mediano y con una elevada relación núcleo-citoplasmática. El núcleo es de perfil mayoritariamente irregular, de cromatina densa y con un único nucleolo marcadamente visible (Figuras 29 y 30). El citoplasma es escaso, intensamente basófilo, agranular, y muestra un perfil poco delimitado.

Las diferencias morfológicas principales entre los prolinfocitos B y T son:

1. El grado de basofilia citoplasmática es superior en los prolinfocitos T.
2. El perfil nuclear es más irregular en los prolinfocitos T.



Figuras 29 y 30. Prolinfocitos de línea T. Obsérvese el tamaño pequeño-mediano, la irregularidad nuclear, la presencia de un marcado nucleolo visible y de un citoplasma escaso, basófilo y agranular.

Los prolinfocitos T son CD2, CD5 y CD7 positivos, CD3 positivos débiles, CD4 positivos y CD8 negativos.

LINFOMA CUTÁNEO T / SÍNDROME DE SÉZARY

El linfoma cutáneo T (también denominado micosis fungoide) es una enfermedad frecuentemente diagnosticada por los dermatólogos, ya que afecta primariamente a la piel. La incidencia de esta enfermedad es preferentemente en la edad adulta y senil. Es una entidad poco frecuente, ya que constituye únicamente el 0,5 % de los LNH. Las lesiones cutáneas se manifiestan en forma de prurito intenso, eritrodermia, hiperqueratosis, tumores e hiperpigmentación y en

etapas más avanzadas existe afectación ganglionar. También puede extenderse a hígado, bazo y un 10 % de los linfomas cutáneos de tipo T se leucemizan a SP.

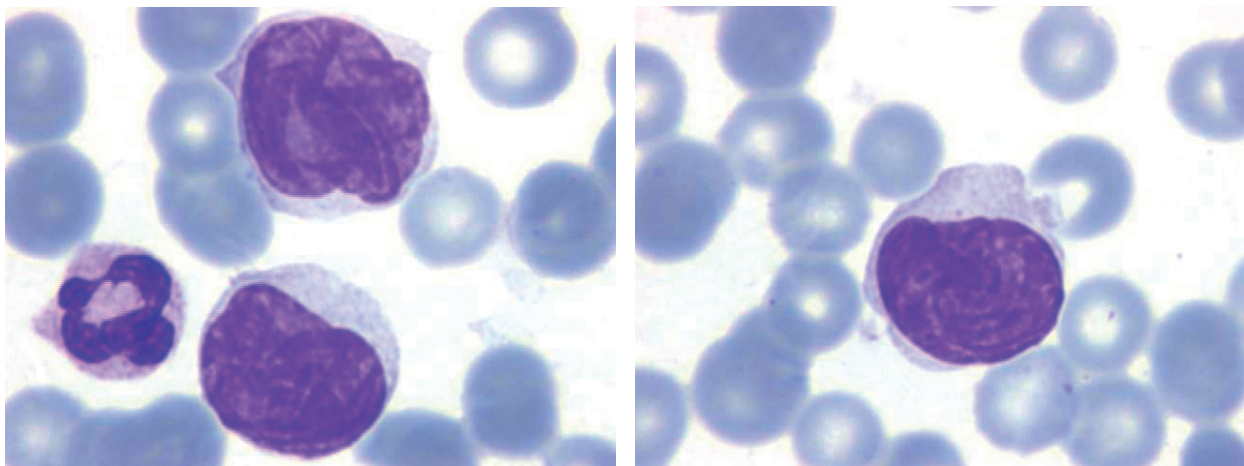
La variante leucémica de la micosis *fungoide* se denomina **síndrome de Sézary** y se caracteriza por la afectación de piel, ganglios linfáticos y sangre periférica con la presencia de células de aspecto **cerebriforme**, tamaño relativamente pequeño y contorno nuclear irregular (Figuras 31 y 32). Se han descrito dos subtipos:

- a) La célula de Sézary pequeña (**célula de Lutzner**), que corresponde a la variante morfológica de linfocitos de tamaño pequeño y con alteraciones nucleares poco pronunciadas.
- b) La célula de Sézary grande, que presenta un tamaño similar al del monocito y su núcleo ocupa la mayor parte de la célula. Dicho núcleo presenta un perfil redondo u ovalado y, de forma característica, muestra evidentes surcos o pliegues que se superponen recordando las "circunvoluciones cerebrales" (célula **cerebroide**). No presenta nucleolos visibles.

En el síndrome de Sézary la cifra de leucocitos suele ser normal aumentada, lo que es más frecuente en la variante de célula pequeña, y se acompaña frecuentemente de **eosinofilia**.

El inmunofenotipo de las células del síndrome de Sézary corresponde al del linfocito maduro. Son CD2, CD3 y CD4 positivas y CD8, CD7 y CD25 negativas. A nivel molecular existe un reordenamiento del receptor de la célula T en la mayoría de los casos.

Se han descrito cariotipos complejos y formas tetraploides e hipertetraploides en la variante grande, e hiperdiploides en la variante de célula de Sézary pequeña.



Figuras 31 y 32. Células de Sézary, cuyo núcleo presenta unos pliegues o surcos característicos en la cromatina y que recuerdan a las "circunvoluciones cerebrales".

LINFOCITOSIS B POLICLONAL PERSISTENTE

La linfocitosis B policlonal persistente es un síndrome que se caracteriza por la presentación de una linfocitosis, con linfocitos binucleados en sangre periférica (alrededor de un 3 %), elevación sérica policlonal de IgM y se diagnostica predominantemente en mujeres (87 %) con

antecedentes de infección por el virus de Epstein-Barr, frecuentemente **fumadoras**, y en asociación al antígeno de histocompatibilidad HLA-DR7.

Los linfocitos suelen ser de tamaño mediano-grande, con el citoplasma amplio y basófilo (semejantes a los que acompañan a las infecciones víricas). Es característico de la linfocitosis B policlonal persistente el hallazgo de **linfocitos binucleados o bilobulados** (Figura 33).

Los linfocitos atípicos son de fenotipo inmunológico B y de naturaleza policlonal. La linfocitosis suele remitir con el abandono del tabaco. No se conoce con certeza si este síndrome representa una linfocitosis benigna, o existe la posibilidad de transformación o progresión neoplásica.

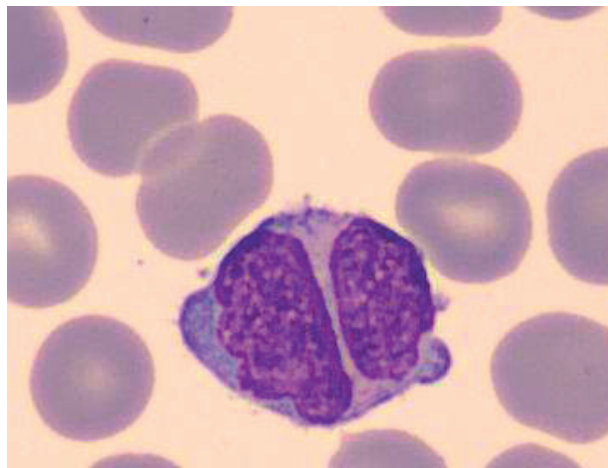


Figura 33. Linfocito binucleado en una linfocitosis B policlonal persistente.

MIELOMA MÚLTIPLE

El mieloma múltiple (MM) es una proliferación clonal de células plasmáticas, que se acumulan en la médula ósea y a nivel óseo, y que segregan inmunoglobulinas anormales denominadas paraproteínas. Es más frecuente su aparición en la edad adulta y avanzada y se caracteriza por la presencia de anemia, dolores óseos junto a lesiones osteolíticas y fracturas patológicas, hipercalcemia y fallo renal. En suero se detecta un aumento monoclonal de inmunoglobulinas (IgG en un 50 % de los casos e IgA en un 20 %). En un 75 % de los pacientes se detecta un aumento monoclonal de cadenas ligeras de bajo peso molecular en orina, lo que se denomina proteinuria de Bence-Jones. La elevación de determinados parámetros bioquímicos, tales como la β 2- microglobulina o la proteína C reactiva se asocia a un pronóstico más desfavorable. En el MM es frecuente la infiltración de la médula ósea por cifras de células plasmáticas superiores al 10 %.

El recuento de leucocitos y plaquetas es normal o bajo y suele observarse una **anemia** normocrómica y normocítica. En algunos casos las paraproteínas son crioglobulinas, lo que puede interferir en los valores de los recuentos automáticos tal como se ha comentado en anteriores capítulos. La observación de la extensión de sangre periférica muestra los hematíes formando "pilas de moneda", debido al aumento de la concentración de inmunoglobulinas. Ocasional-

mente puede verse en sangre periférica alguna célula plasmática con un citoplasma intensamente basófilo y un núcleo excéntrico (Figura 34).

Las células plasmáticas observadas en sangre periférica en el MM pueden mostrar una morfología normal o bien atípica con las siguientes alteraciones morfológicas:

- 1) Relación núcleo-citoplasmática elevada.
- 2) Núcleo de cromatina laxa e inmadura con nucleolo visible.
- 3) Presencia de figuras mitóticas.
- 4) Binuclearidad o disociación madurativa núcleo-citoplasmática.

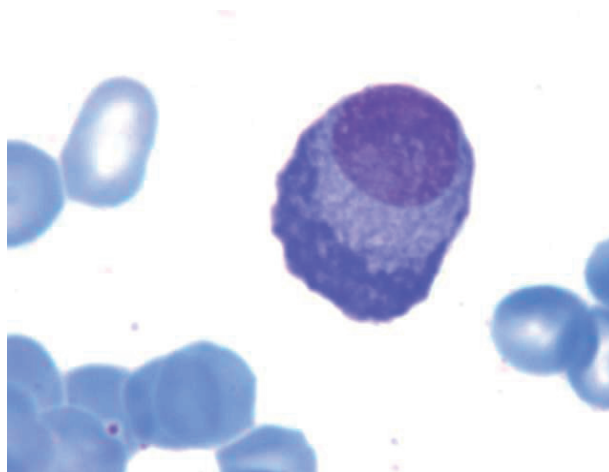


Figura 34. Célula plasmática inmadura en sangre periférica en un mieloma múltiple. Obsérvese el arcoplasma

Aunque el citoplasma de las células plasmáticas es intensamente basófilo, en ocasiones puede mostrar una tonalidad rosada por acúmulo de mucoproteínas en el retículo endoplásmico rugoso. Las células plasmáticas que muestran estas características se denominan **células plasmáticas flameadas**, con positividad intensa al ácido periódico de Schiff (PAS) por su alto contenido en carbohidratos. En el MM es frecuente asimismo la observación de inclusiones azurófilas de naturaleza inmunoglobulínica en el citoplasma de las células plasmáticas, especialmente en el MM de tipo **IgA**.

Las células plasmáticas del MM muestran un contenido elevado de fosfatasa ácida y β -glucuronidasa y son CD38 y CD138 positivas, con expresión monoclonal de inmunoglobulina citoplasmática. Sin embargo, el CD19 es negativo y la expresión de CD27 es variable.

BIBLIOGRAFIA

1. **Arcaini L, Paulli M, Boveri E, Magrini U, Lazzarino M.** Marginal zone-related neoplasms of splenic and nodal origin. *Haematologica* 2003;88(1): 94-107.
2. **Drach J, Kaufmann H, Urbauer E, Schreiber S, Ackermann J, Huber H.** The biology of multiple myeloma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000;126: 441-447.
3. **Florensa L, Navarro JT, Pérez-Vila ME, ..., Merino A, Vallespi T y Woessner S.** Linfocitosis B policlonal persistente: estudio de 35 casos. *Med Clin (Barc)* 2011; 136(13):565-573.
4. **Mallett RB, Matutes E, Catovsky D, Maclennan K, Morimer PS, Ho CA.** Cutaneous infiltration in T-cell prolymphocytic leukaemia. *Br J Dermatol* 1995;132(2):263-266.
5. **Matutes E.** T- prolymphocytic leukaemia. *Cancer Control* 1998; 5(1) 19-24.
6. **Matutes E, Morilla R, Owusu-Ankomah K, Houliham A, Meeus P, Catovski D.** The immunophenotype of hairy cell leukemia (HCL). Proposals for a scoring system to distinguish HCL from B-cell disorders with hairy or villous lymphocytes. *Leuk Lymphoma* 1994;14(1):57-61.
7. **Matutes E, Wotherspoon A, Catovsky D.** The variant form of hairy-cell leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2003;16(1):41-56.
8. **Matutes E, Brito-Babapulle V, Swansbury J, Ellis J, Morilla R, Dear C, Sempere A, Catovsky D.** Clinical and laboratory features of 78 cases of T- prolymphocytic leukemia. *Blood* 1991;78(12): 3269-3274.
9. **Merino A.** Manual de Citología de Sangre Periférica. Ed Acción Médica. Madrid, 2005.
10. **Montserrat E, Rozman C.** Chronic lymphocytic leukemia: Present status. *Ann Oncol* 1995; 6:219-235.
11. **Rozman C, Woessner S, Feliu E, Lafuente R, Berga L.** *Cell Ultrastructure for Hematologists*. Editorial Doyma. Barcelona, 1993.
12. **Schmid C, Kirkham N, Diss T, Isaacson PG.** Splenic marginal zone cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 1992;16: 455-456.
13. **Serrano S, Sans-Sabrafen J, Besses C, Domínguez D.** Linfomas Malignos no Hodgkinianos. Bases Citoevolutivas y Funcionales. Clasificación y Descripción de sus Distintas Variedades. En: *Hematología Clínica*. Sans Sabrafen J, Besses C, Vives Corrons JL, Castillo R, Woessner S. Editorial Harcourt. Cuarta edición. Madrid, 2002.
14. **Sharpe RW, Bethel KJ.** Hairy cell leukemia diagnostic pathology. *Hematotol Oncol Clin North Am* 2006;20:1023-1049.

15. **Summers TA, Jaffe ES.** Hairy cell leukemia diagnostic criteria and differential diagnosis. *Leukemia Lymphoma* 2011;52: 6-10.
16. **Swerdlow SH, Campo Elías, Harris NL.** WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC Press, 2008.
17. **Woessner S, Florensa L.** *La Citología Óptica en el Diagnóstico Hematológico*. Cuarta edición. Ed Acción Médica. Madrid, 2006.

EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO COMITÉ DE EDUCACIÓN

M. Rodríguez (*presidente*), D. Balsells, R. Deulofeu, M. Gassó, J.A. Lillo, A. Merino, A. Moreno, MC. Villà

ISSN 1887-6463

Noviembre 2012 (recibido para publicación junio 2012)