

Linfoma anaplásico de células grandes CD-30 positivo-rico en neutrófilos.

Estudios de inmunohistoquímica en dos niños

DRA. DIANA CORTÉS AGUILAR *, DR. SERGIO MORENO JIMÉNEZ **, DR. REYNALDO FALCÓN ESCOBEDO ***, DR. HELIODORO CORONADO ***, DR. PEDRO MÉNDEZ SAHIDA ****, DR. CARLOS ORTIZ HIDALGO *°

RESUMEN

Introducción. El linfoma anaplásico de células grandes es una neoplasia que inicialmente se identificó por inmunomarcación con anticuerpo Ki-1 (CD-30/BerH2), también conocido como linfoma "Ki-1". Se han informado variantes morfológicas de linfoma anaplásico, entre ellas la recientemente descrita "rica en neutrófilos" informada hasta hoy solamente en pacientes adultos. **Casos clínicos.** Caso 1. Niño de cinco años que presentó adenomegalias cervicales bilaterales de cuatro meses de evolución. Caso 2, niña de ocho años, con tumor en tejidos blandos en cara anterior del tórax, de evolución desconocida. Histológicamente ambos presentaron linfoma anaplásico de células grandes con numerosos neutrófilos. **Conclusión.** Se informan dos casos en niños de linfoma anaplásico de células grandes "rico en neutrófilos". Esta variante se caracteriza por la presencia de polimorfonucleares, sin necrosis. Los casos informados en la literatura han sido de inmunofenotipo T y nulo. Posiblemente las citocinas tengan importancia en el mecanismo de reclutamiento de células acompañantes de esta neoplasia. Se desconoce si esta variante tiene pronóstico diferente.

Palabras clave: Linfoma anaplásico de células grandes, neutrófilos, citocinas, neoplasia.

ABSTRACT

Introduction. Anaplastic large cell lymphoma was originally identified by immunostaining with Ki-1 antibody (CD-30/BerH2), and is also known as "Ki-1 lymphoma". Different morphological subtypes have been recognized in anaplastic large cell lymphoma. Recently a "neutrophil rich" variant was described which so far, has only been reported in adults. **Case reports.** Case 1. A 5-year old male with cervical adenopathies, for four months. Case 2. An eight year old female with soft tissues tumor of the chest; the clinical course is unknown. Both cases showed histological characteristics of anaplastic large cell lymphoma with numerous neutrophils scattered throughout the neoplasia without necrosis. **Conclusion.** We report two pediatric cases of neutrophil rich variant of anaplastic large cell lymphoma. In this variant the neutrophil infiltration without necrosis is a hallmark of the disease. All previous reported cases have shown "T" and null phenotype. Cytokines are probably important in the mechanism for cell recruitment associated with lymphoma. The prognosis of this subtype of anaplastic large cell lymphoma in children is unknown.

Key words: Anaplastic large cell lymphoma, neutrophil, citokines, neoplasm.

INTRODUCCIÓN

En 1985 Stein y cols. describieron por primera vez una neoplasia maligna, derivada de células linfoides pleomórficas activadas, positivas al marcador Ki-1 (CD-30/BerH2), hoy conocido como linfoma anaplásico de células grandes (LACG) CD30+¹. Desde su inclusión en la clasificación de Kiel y luego en la "Revised European American Lymphoma" (REAL) Classification, se han publicado diversos estudios de esta entidad sobre su histogénesis, inmunohistoquímica,

* Departamento de Patología Quirúrgica. Centro Médico Hospital ABC México

** Departamento de Cirugía

*** Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto. San Luis Potosí, México

**** Departamento de Patología. IMSS León Guanajuato, México

*° Departamento de Histología. Universidad Panamericana

Correspondencia: Dr. Carlos Ortiz Hidalgo. Departamento de Patología. Hospital ABC Sur 136 Esq. Observatorio. México D.F. 10020 Tel. y Fax. 52 30 81 71 correo electrónico: cortiz@abchospital.com

Recibido: Marzo, 2000. Aceptado: Septiembre, 2000.

genética, biología molecular y comportamiento clínico^{2,9}.

Existe una forma primaria del LACG que se presenta de novo y otra secundaria en pacientes con historia previa de otros linfomas, como linfoma de Hodgkin y micosis fungoides³. Los LACG fueron descritos inicialmente como enfermedad ganglionar con compromiso cutáneo y en menor frecuencia, extracutáneo^{1,4}. Posteriormente, se informó que los casos de LACG primarios cutáneos, a diferencia del resto de los linfomas anaplásicos, pueden tener curso indolente y posiblemente corresponden a lo que anteriormente se conocía como "histiocitosis atípica regresiva"¹⁰. Morfológicamente se conocen ocho tipos histológicos que incluyen la variante de células claras y basófilas, la pleomórfica, la monomórfica y la sarcomatoide entre otras^{11-13,16}. Además hay casos de LACG con numerosos histiocitos y recientemente una variante "rica en neutrófilos"¹⁴⁻¹⁶. Por inmunomarcación los LACG presentan positividad a CD-30 (BerH2/Ki-1), EMA, p80 y ALK^{2,9}. Se ha sugerido, con base en estudios genéticos e inmunohistoquímicos y en el comportamiento clínico, separar los LACG en dos grupos: 1) aquellos de presentación en niños y 2) los que se manifiestan en la edad adulta^{6,7,9}. Recientemente, otros investigadores han propuesto que estos linfomas integren una entidad diferente dentro de los linfomas no Hodgkin y se identifiquen como "linfomas ALK positivos o alkomas", debido a la presencia del inmunomarcador de reciente aparición ALK-1 que traduce la alteración translocación t(2;5)(p23; q35) que se expresa hasta en 70% de los LACG⁸.

Informamos dos casos de LACG CD-30 positivos primarios en niños en los que se identificaron histológicamente numerosos neutrófilos, alternando con las células linfoides neoplásicas; variante morfológica de reciente descripción (LACG rico en neutrófilos)^{15,16}.

INFORME DE LOS CASOS

Caso 1. Niño de cinco años, sin antecedentes heredofamiliares y personales relevantes para su padecimiento actual. Su padecimiento se inició cuatro meses antes del diagnóstico. Presentó adenomegalias cervicales bilaterales, fiebre no cuantificada y dificultad respiratoria. Exploración física: estertores en ambos campos pulmonares y hepatoesplenomegalia. Los exá-

menes de laboratorio mostraron hipoalbuminemia; el resto de la exploración fue normal. Se practicó biopsia de ganglio cervical. Evolucionó con incremento del número de adenopatías cervicales. En la radiografía de tórax se observaron lesiones nodulares similares a metástasis.

Caso 2. Niña de ocho años sin antecedentes heredofamiliares relevantes. Se presentó con un tumor en los tejidos blandos de la cara anterior del tórax, con tiempo de evolución desconocido. No se detectó compromiso ganglionar ni hepatoesplénico. Los exámenes de sangre periférica y médula ósea fueron normales. Le apareció una úlcera en cara anterior de tórax y falleció con múltiples lesiones líticas en cráneo, pelvis y huesos largos.

Los cortes histológicos fueron teñidos con hematoxilina y eosina. Se realizaron reacciones de inmunohistoquímica con anticuerpos monoclonales y el método ABC (Avidina-biotina-peroxidasa), como cromógeno DAB (diaminobencidina). Los anticuerpos utilizados fueron CD-45/LCA (Dako, Carpintería, CA), CD-30/BerH2Ki-1 (Dako, Carpintería, CA), CD-15/Leu M1 (Dako, Carpintería, CA), CD-45RO/UCHL-1 (Dako, Carpintería, CA), CD-3 (Dako, Carpintería, CA), CD-20/L-26 (Dako, Carpintería, CA), Antígeno de Membrana Epitelial/EMA (Dako, Carpintería, CA).

Las características histológicas fueron similares en ambos casos. Se identificó una neoplasia formada por células linfoides grandes, de citoplasma abundante, eosinófilo o levemente basófilo, de bordes definidos. Los núcleos eran grandes, de contorno irregular, algunos de aspecto reniforme o abigarrado, cromatina grumosa con uno o dos nucléolos pequeños. Estas células se disponían a manera de mantos y agregados no cohesivos, alternando con población de células linfoides pequeñas y medianas, correspondientes a centrocitos y algunos centroblastos residuales, así como escasas células plasmáticas y eosinófilos (Fig. 1). Dentro de estas láminas de células neoplásicas se distinguieron agregados de neutrófilos, que en su mayoría formaban grupos y en menor cantidad, se veían dispersos. Los neutrófilos ocupaban aproximadamente el 60% de la celularidad en un campo de alto poder (40x) (Figs. 2 y 3). No se observaron zonas de necrosis.

Las reacciones de inmunohistoquímica mostraron

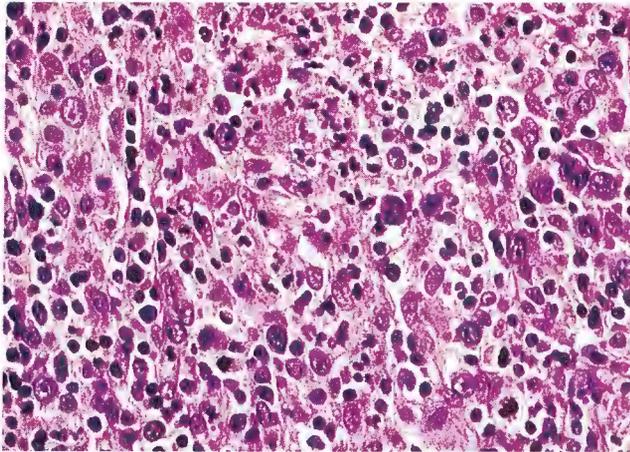
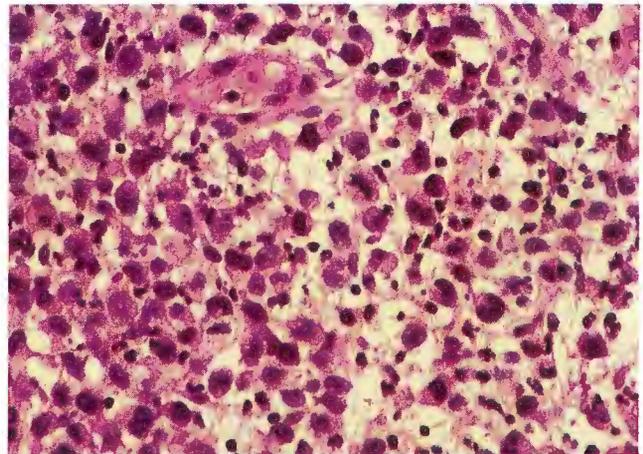
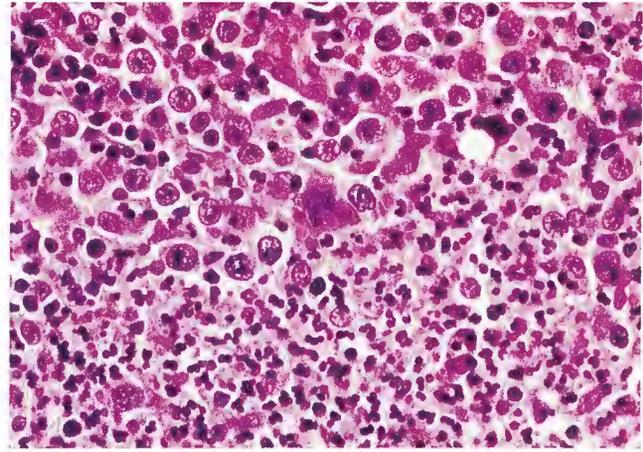


Fig. 1. Linfoma anaplásico de células grandes rico en neutrófilos. Obsérvese la presencia de células pleomórficas con nucléolos prominentes y citoplasma; abundantes neutrófilos.



Figs. 2 y 3. Linfoma anaplásico de células grandes rico en neutrófilos. La Fig. 2 corresponde al caso 1. Se observan agregados de neutrófilos a diferencia de la figura 3 que corresponde al caso 2, en donde los neutrófilos se encuentran dispersos.

positividad en las células grandes neoplásicas para CD-30 (BerH2) en membrana y área paranuclear (zona del aparato de Golgi) (Fig. 4). Además estas células resultaron positivas para CD-45 (LCA). El caso 1 no expresó marcadores B (CD-20) ni T (CD-3 y CD-45RO) y en el caso 2 las células grandes resultaron positivas para marcador Pan T (CD-3). La abundancia de neutrófilos se resaltó con CD-15. Las demás reacciones se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Reacciones de inmunohistoquímica

Anticuerpo	Inmuno reacción	
	Caso 1	Caso 2
CD-45 (LCA)	+	+
CD-30 (BerH2)	+	+
EMA	-	+
CD-15 (LeuM1)	-	-
CD-45RO (UCHL-1)	-	+
CD-30	-	+
CD-20 (L-26)	-	-

Ambos casos corresponden histológicamente a linfoma anaplásico de células grandes CD-30 (+) rico en neutrófilos^{15,16}.

DISCUSIÓN

Los linfomas anaplásicos de células grandes CD-30+ se presentan desde la infancia hasta la octava década de la vida^{4,6}. El 70% tienen fenotipo T, 20% fenotipo B y 10% son nulos⁴. En el grupo pediátrico el LACG representa del 3.6 a 10.6% de los linfomas, con preferencia por el sexo masculino y en el 60% de los casos se manifiesta con enfermedad extraganglionar¹⁷. Hasta hoy se han descrito ocho variantes histológicas de linfoma anaplásico que incluyen la variante monomórfica, la de células pálidas y basófilas, la sarcomatoide, la microvellosa, la linfohistiocítica, la de

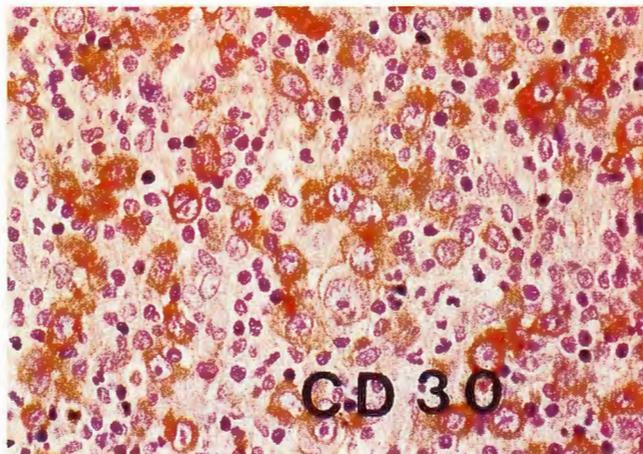


Fig. 4. Linfoma anaplásico de células grandes rico en neutrófilos. Inmunomarcación para CD-30 (BerH2).

células pequeñas, la parecida al linfoma de Hodgkin y la rica en neutrófilos^{6,11-16}. Esta última fue descrita por Mann y cols. en 1995, quienes en una serie de 20 casos de LACG, encontraron seis con numerosos neutrófilos¹⁵, que presentaron numerosos polimorfonucleares neutrófilos, sin necrosis, que varió de 5% a más del 50% de las células, observados en un campo de 40x. Todos los casos fueron positivos a CD-30; cuatro fueron fenotipo T y los dos restantes, fenotipo B. Sólo dos casos se asociaron a neutrofilia periférica y un caso fue HIV positivo. Cuatro de los casos fueron vistos inicialmente por lesiones dérmicas. La edad varió de 24 a 72 años¹⁵. Un caso de histología similar (rico en neutrófilos) y con fenotipo T, fue informado en un paciente de 56 años con tumor testicular¹⁸. En otro caso se informó la manifestación de un LACG en una niña de 10 años, con fenotipo de células nulas que se asoció a neutrofilia periférica y curso clínico agresivo, pero no se describió neutrofilia tisular¹⁹. Es interesante que en este último caso a través de cultivo de células neoplásicas y por detección con inmunoensayo enzimático, se identificó la producción de factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) por las células del linfoma, lo que fue interpretado como la causa de la neutrofilia.

La causa de la neutrofilia concomitante con la neoplasia no se conoce con precisión. Sabemos que los neutrófilos son células cuya función principal es microfagocitaria.²⁰ Actúan en procesos inflamatorios

agudos y tienen la capacidad de migrar en respuesta a estímulos establecidos por gradientes químicos. Esta función conocida como quimiotaxis, puede ser iniciada por una serie de sustancias como las proteínas del complemento, leucotrienos y citocinas²⁰. Las citocinas son proteínas y glicoproteínas de bajo peso molecular secretadas principalmente por linfocitos y macrófagos²⁰. Se clasifican de acuerdo a sus funciones en interleucinas, interferones, factores de necrosis tumoral, factores estimuladores de colonias, factores transformadores del crecimiento y otros^{20,21}. Las citocinas actúan individualmente o en conjunto con otras sustancias reguladoras, de manera sinérgica o antagónica, en varios procesos inflamatorios y reparativos. En condiciones normales o reactivas, las células contienen pequeñas cantidades de citocinas y su síntesis se realiza en circunstancias fisiológicas, reguladas por un mecanismo de retroalimentación²¹. En los linfomas, las células neoplásicas tienen la capacidad de producir anormalmente citocinas^{16,21}. Esta producción puede alterarse si el mecanismo de inhibición por retroalimentación no opera adecuadamente, lo que lleva a una síntesis aumentada de estas proteínas, con los consiguientes efectos tisulares; entre otros, manifestarse por la presencia de población celular no neoplásica (acompañante de la neoplásica) como fibroblastos, neutrófilos, eosinófilos e histiocitos^{16,21}. Las citocinas, además del efecto citoclésico, pueden tener actividad paracrina o autocrina que regula el crecimiento y la diferenciación en la célula neoplásica²¹. Algunos ejemplos del papel que juegan estas sustancias en las características clínicas e histopatológicas de los linfomas se presentan en la hipergammaglobulinemia y plasmocitosis asociada al linfoma de células T periférico tipo linfadenopatía angioinmunoblástica; en la reacción de células T observada en los linfomas de células B ricos en células T y en la fibrosis y reacción celular que acompaña al linfoma de Hodgkin²¹. También pueden intervenir en el crecimiento y diferenciación, efecto que ha sido atribuido a la interleucina 6 (IL-6) en la diferenciación plasmocitoide del linfoma linfoplasmocítico, de la leucemia crónica y del linfoma de linfocitos pequeños²¹. Un efecto modulador de la diferenciación y proliferación celular se ha estudiado en el linfoma de Hodgkin y en el linfoma anaplásico de células grandes (LACG)

mediado por la interleucina 2 y 6 (IL-2, IL-6) para el primero y por la interleucina 9 (IL-9) para ambos linfomas. De manera análoga, la expresión de estas sustancias está presente en las reacciones celulares que acompañan a entidades benignas. Tal es el caso de la variante de células plasmáticas de la enfermedad de Castleman y en la hiperplasia linfoide, presente en la artritis reumatoide^{16,21}.

El infiltrado celular que acompaña al linfoma anaplásico no ha sido bien estudiado. En investigaciones previas, se había sugerido que el infiltrado de leucocitos (neutrófilos, eosinófilos) podría ser un posible criterio de diferenciación entre los linfomas anaplásicos (LACG) y el linfoma de Hodgkin (la escasez de linfocitos y granulocitos en LACG) pero advirtiéndose que no era un parámetro discriminador específico⁵. Hoy sabemos que los LACG también pueden secretar linfocinas y reclutar linfocitos, histiocitos, células plasmáticas y neutrófilos, como se vio en nuestros dos casos¹⁶.

En el linfoma de Hodgkin la presencia de población reactiva acompañante mediada por citocinas liberadas por las células de Reed Sternberg y posteriormente por las células reactivas, ha sido bien definida²¹. En esta variante "rica en neutrófilos del LACG" es posible postular un hecho semejante al linfoma de Hodgkin, donde una reacción mediada por citocinas como la IL-9, G-CSF y el TCF-B (factor transformador del crecimiento beta), al interactuar entre ellas y otras citocinas podría mediar el reclutamiento de neutrófilos¹⁶. Por otro lado las citocinas ejercen una actividad moduladora del crecimiento y diferenciación, lo que podría correlacionarse con la amplia gama morfológica de este grupo de linfomas y que tal vez guarda relación con su conducta biológica²¹.

En conclusión se estudiaron dos niños con "LACG rico en neutrófilos" positivo al CD-30 y EMA, con inmunofenotipo de células nulas en un caso y "T" en el otro caso; esta variante no había sido descrita en pacientes pediátricos. El paciente más joven informado tenía 24 años^{15,16}. Las implicaciones pronósticas de esta variante en este grupo de edad se desconocen.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Stein H, Mason DY, Gerdes J, O'Connor N, Wainscoat J, Lennert K, et al. The expression of the Hodgkin's disease associated antigen Ki-1 in reactive and neoplastic lymphoid tissue: evidence that Reed-Sternberg cells and histiocytic malignancies are derived from activated lymphoid cells. *Blood* 1985;66:848-58
2. Chadburn A, Cesarman E, Jagirdar J, Subar M, Mir R, Knowles D. CD-30 (Ki-1) positive anaplastic large cell lymphomas in individuals infected with the human immunodeficiency virus. *Cancer* 1993;72:3078-9
3. Kaudewitz P, Stein H, Dallenbach F, Eckert F, Bieber K, Burg G, Braun-Falco O. Primary and secondary cutaneous Ki-1 + (CD-30) anaplastic large cell lymphomas. Morphologic, immunohistologic and clinical characteristics. *Am J Pathol* 1989;135:359-67
4. Chott A, Kaserer K, Augustin I. Ki-1 positive large cell lymphoma: a clinicopathologic study of 41 cases. *Am J Surg Pathol* 1990;14:439-48
5. Leoncini L, Dei Vecchio MT, Kraft R. Hodgkin's disease and CD-30 positive anaplastic large cell lymphomas, a continuous spectrum of malignant disorders. A quantitative morphometric and immunohistologic study. *Am J Pathol* 1990;137:1047-57
6. Nakamura S, Shiota M, Nakagawa A. Anaplastic large cell lymphoma: a distinct molecular pathology entity. A reappraisal with special reference to p80 NPM/ALK expression. *Am J Surg Pathol* 1997;21:1420-32
7. Lamant L, Meggetto F, Saati TA, Brugieres L, Bressac B, Delsol G, et al. High incidence of the t(2,5) (p23;q35) translocation in anaplastic large cell lymphoma and its lack of detection in Hodgkin's disease. Comparison of cytogenetic analysis, reverse transcriptase-polymerase chain reaction, and p80 immunostaining. *Blood* 1996;87:284-91
8. Benharroch D, Lamant L, Brugieres L, Morris SW, Mason DY, Delsol G, et al. ALK-positive lymphoma: a single disease with a broad spectrum of morphology. *Blood* 1998;91:2076-84
9. Pulford K, Lamant L, Morris SW, Butler LH, Delsol G, Manson DY, et al. Detection of anaplastic lymphoma kinase (ALK) and nucleolar protein nucleophosmina (NPM)-ALK proteins in normal and neoplastic cells with the monoclonal antibody ALK1. *Blood* 1997;89:1394-404
10. Kaneko Y, Frizzera G, Edamura S, Maseki N, Sakurai M, Komada Y, et al. A novel translocation t(2; 5) (p23; q35) in childhood phagocytic large T-cell lymphoma mimicking malignant histiocytosis. *Blood* 1989;73:806-13
11. Kinney MC, Collins RD, Greer JP, Whitlock JA, Sioutos N, Kadin ME. A small-cell predominant variant of primary Ki-1 (CD-30) + T-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 1993;17:859-68
12. Chan JKC, Buchanan R, Fletcher CDM. Sarcomatoid variant of anaplastic large-cell Ki-1 lymphoma. *Am J Surg Pathol* 1990;14:983-8
13. Chan JKC, Ng CS, Hui PK, Leung TW, Lo ESF, Lau WH, McGuire LJ. Anaplastic large cell Ki-1 lymphoma: delineation of two morphological types. *Histopathology* 1989;15:11-34

14. Pileri S, Falini B, Delsol G. Lymphohistiocytic T-cell lymphoma anaplastic large cell lymphoma CD-30+/Ki-1+ with high content of reactive histiocytes. *Histopathology* 1990;16:383-91
15. Mann KP, Hall B, Kamino H, Borowitz MJ, Ratach H. Neutrophil-rich Ki-1 positive anaplastic large-cell malignant lymphoma. *Am J Surg Pathol* 1995;19:407-16
16. McCluggage WG, Walsh MY, Bharucha H. Anaplastic large cell malignant lymphoma with extensive eosinophilic or neutrophilic infiltration. *Histopathology* 1998;32:110-5
17. Reiter A, Schrappe M, Tiemann M. Successful treatment strategy for Ki-1 anaplastic large-cell lymphoma of childhood: a prospective analysis of 62 patients enrolled in three consecutive Berlin-Frankfurt-Munster group studies. *J Clin Oncol* 1994;12:899-908
18. Akhtar M, Al Daye F, Siegrist K, Ezzat A. Neutrophil-rich Ki-1 positive anaplastic large cell lymphoma presenting as a testicular mass. *Mod Pathol* 1996;9:812-5
19. Nishihira H, Tanaka Y, Kiwasaga H, Sasaki Y, Fujimoto J. Ki-1 lymphoma producing G-CSF. Case report. *Br J Haematol* 1991;80:556-7
20. Snyderman R, Uhuig RJ. Chemoattractant stimulus-response coupling. En Gallin JI, et al Eds. *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates* 2nd Ed. New York Raven Press 1992;pp421-41
21. Hsu SM, Waldron JW, Hsu PL, Hough AJ. Cytokines in malignant lymphomas: review and prospective evaluation. *Hum Pathol* 1993;24:1040-57

**CONGRESO CONMEMORATIVO DEL 30 ANIVERSARIO
DEL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA
ORGANIZADO POR LA ASOCIACIÓN MÉDICA DEL
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

Del 8 al 10 de noviembre del 2000

Sede: Auditorio del Instituto Nacional de Pediatría

Informes

Asociación Médica del Instituto Nacional de Pediatría.
Insurgentes Sur 3700-C, Col. Insurgentes Cuicuilco,
CP 04530, tel./fax (directo): 5606-7933 o 5606-0002 ext. 245.
Unidad de Congresos del Instituto Nacional de Pediatría.
Tel. (directo): 5606-3300 o 5606-0002 ext. 192

Trabajos libres

Fecha límite para su recepción: 31 de agosto del 2000
Premios al primero, segundo y tercer lugar