


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure, likely a saint or historical figure, surrounded by various symbols including a crown, a cross, and a shield. The text "UNIVERSITAS CONSPICUA CAROLINA ACADÉMIA COACATEMALA" is inscribed around the perimeter of the seal.

**EVALUACION DE B-2-MICROGLOBULINA, DESHIDROGENASA  
LÁCTICA SÉRICA TOTAL E ISOENZIMA 3 DE DHL EN PACIENTES  
CON LINFOMA NO-HODGKIN**

Informe Final de Tesis

Presentado por:

Juan Carlos Garrido Tánchez

Para optar al título de

Químico Biólogo

Guatemala, noviembre de 1,999

DEDICO ESTA TESIS

A MI MADRE

Mujer de invaluable corazón, quien desde hace 30 años ha sido fuente de amor, cariño, dedicación, comprensión y sobre todo, de incondicional apoyo. Mil gracias mamá.....

## AGRADECIMIENTOS

Al Sr. Doctor Julio César García Pérez, por su apoyo y comprensión.

Al Dr. Mario Fredy Sandoval Castañeda por su valiosa asesoría.

Al personal de los servicios de Quimioterapia y Patología del Instituto Nacional de Cancerología de Guatemala, por su incondicional colaboración.

## INDICE

<b>1. RESUMEN</b>	1
<b>2. INTRODUCCION</b>	2
<b>3. ANTECEDENTES</b>	3
3.1 Definición de linfoma	3
3.2 Definición de linfoma no-Hodgkin	3
3.3 Epidemiología	3
3.4 Etiología	5
3.5 Presentación	10
3.6 Cuadro clínico	13
3.7 Clasificación	14
3.8 Diagnóstico	24
3.9 Biopsia de médula ósea	26
3.10 Factores pronósticos	27
3.11 Alteraciones cromosómicas	34
<b>4. JUSTIFICACIONES</b>	36
<b>5. OBJETIVOS</b>	37
<b>6. HIPOTESIS</b>	38
<b>7. MATERIALES Y METODOS</b>	39
7.1 Universo de trabajo	39
7.2 Muestra	39

7.3 Grupo control	39
7.4 Medios	39
7.5 Procedimientos	41
7.6 Diseño estadístico	45
<b>8. RESULTADOS</b>	<b>47</b>
<b>9. DISCUSION DE RESULTADOS</b>	<b>54</b>
<b>10. CONCLUSIONES</b>	<b>57</b>
<b>11. RECOMENDACIONES</b>	<b>58</b>
<b>12. REFERENCIAS</b>	<b>59</b>
<b>13. ANEXOS</b>	<b>74</b>

## 1. RESUMEN.

El presente trabajo de investigación de tesis evaluó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de la deshidrogenasa láctica sérica total (DHL), isoenzima 3 de DHL (I-3-DHL) y beta-2-microglobulina (B-2-M) en pacientes con diagnóstico histológico de linfoma no-Hodgkin.

Para tal efecto, se realizó una recolección de muestras sanguíneas en 23 pacientes de diversas edades y ambos sexos que presentaban dicha patología. Además, se utilizó un grupo control conformado por 23 personas sin antecedentes oncológicos. Las metodologías empleadas fueron: la determinación enzimática para la DHL, electroforesis en bandas de acetato de celulosa para la I-3-DHL y la técnica de ELISA para la B-2-M.

Los datos personales y clínicos de cada paciente se recolectaron en una boleta previamente diseñada, en la cual también se incluyeron los resultados de las pruebas. Los resultados se analizaron estadísticamente empleando tablas de contingencia y comparaciones descriptivas.

Los resultados mostraron que la prueba con mayor sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo fue la I-3-DHL, independientemente de la variedad histológica y grado de malignidad de la lesión. Así mismo se encontró que la B-2-M fue la prueba con menor puntaje en dichos índices estadísticos.

Esto nos permite concluir que de las tres pruebas estudiadas, la I-3-DHL, se relaciona directamente con la presencia de linfoma no-Hodgkin de presentación clínica nodal, y con lesiones de alto grado de malignidad.

Se recomienda efectuar estudios posteriores en los que se incluyan otro tipo de neoplasias hematológicas, así como diversos estadios clínicos, ya que así se validaría su uso como factores pronósticos de la enfermedad.

## 2. INTRODUCCION.

En las últimas décadas se ha observado un incremento acentuado en la incidencia de los linfomas no-Hodgkin a nivel mundial. Dicho incremento se ha asociado a una mayor exposición a diferentes agentes químicos ó farmacológicos, virus oncogénicos - humanos y animales, estados de inmunosupresión ( ya sea adquirida, congénita o iatrogénica), y en gran medida a los avances en las técnicas y métodos de diagnóstico.

Hasta el momento la piedra angular en el diagnóstico de los linfomas no-Hodgkin son las características estructurales celulares del tejido u órgano afectado. En 1,982 se propuso la unificación de los elementos más relevantes de las clasificaciones histológicas existentes, y se formuló la Clasificación de Trabajo (Working formulation). Esta clasificación agrupa a los linfomas no-Hodgkin en 10 sub-tipos histológicos, los cuales a su vez se encuentran organizados en 3 grupos pronósticos de malignidad.

La importancia de esta clasificación de trabajo, reside en que se basa exclusivamente en criterios citológicos tisulares, sencillos, claros y altamente reproducibles. Sin embargo, adolece en brindar información acerca de las características clínicas y extensión de la enfermedad.

Es por ello que se hace necesario evaluar factores pronósticos como la deshidrogenasa láctica sérica total, la isoenzima 3 de deshidrogenasa láctica y la B-2-microglobulina, las cuales son derivados protéicos sintetizados en mayor cantidad como resultado de procesos de inducción de replicación celular, sin interferir con los mismos la edad, sexo ni condición física del paciente.

En nuestro país no se habian realizado estudios con estos factores pronósticos, por lo que se pretendió determinar los mismos mediante las técnicas de enzimología para la deshidrogenasa láctica sérica total, electroforesis en membrana de acetato de celulosa para la isoenzima 3 de DHL y la metodología de ELISA para la B-2-microglobulina.

Dichas técnicas fueron escogidas con base en su fácil montaje y estandarización, bajo costo, además de su exactitud y precisión. Todo esto en conjunto nos brindó resultados confiables, con los cuales se pretendió establecer una asociación predictiva entre éstos y la infiltración a médula ósea, presentación clínica (nodal y/o extra-nodal), grado de malignidad y sub-tipo histológico.

### **3. ANTECEDENTES.**

#### **3.1 DEFINICION DE LINFOMA.**

Los linfomas son neoplasias malignas que se caracterizan por ser de origen monoclonal, adoptar la forma de lesiones tumorales densas, y estar compuestas principalmente por linfocitos, histiocitos, sus precursores y derivados (1).

#### **3.2 DEFINICION DE LINFOMA NO-HODGKIN.**

Son un grupo heterogéneo de malignidades linfoproliferativas con diferentes patrones de comportamiento y de respuesta al tratamiento. Usualmente se originan en el tejido linfoide y se diseminan a otros órganos. Se clasifican de acuerdo al tipo de célula linfoide predominante y el tipo de arquitectura del órgano afectado.(1)

#### **3.3 EPIDEMIOLOGIA.**

La incidencia de los linfomas no-Hodgkin se ve influenciada por diversos factores, entre los cuales podemos mencionar: la edad, sexo, raza, distribución geográfica, estado socioeconómico e inclusive, los sistemas de recolección de datos.

De acuerdo a los registros estadísticos del Instituto Nacional de Cáncer (NCI de Estados Unidos de América) los linfomas no-Hodgkin constituyen el sexto tipo de cáncer entre todas las neoplasias malignas (2,3), así como la sexta causa de muerte por cáncer en ese país (3).

La incidencia total de los linfomas no-Hodgkin ha sufrido un incremento acentuado en las últimas cuatro décadas, lo cual pone de manifiesto lo importante que ha sido la asociación de dicha neoplasia y la inmunodeficiencia inducida por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Sin embargo dicha asociación no explica la totalidad del incremento observado (3).

Mediante el procedimiento de encuestas epidemiológicas, se ha podido establecer



que en algunos pacientes con linfoma no-Hodgkin se pueden delimitar factores de riesgo asociados a los hábitos alimenticios, entre los cuales podemos mencionar el consumo de carnes rojas o salitradas, fumar tabaco, beber cerveza o aguardiente (4).

En cuanto a la susceptibilidad genética y los linfomas no-Hodgkin, se ha propuesto que en familias (1er. grado de consanguinidad) con alto riesgo de desarrollar linfoma no-Hodgkin, con o sin compromiso de la función inmune, existe un momento específico de exposición, en el cual es más probable que se inicie el proceso oncológico (5). Además se ha demostrado que el riesgo intrafamiliar de padecer linfoma no-Hodgkin, se asocia directamente con la historia de linfoma y cánceres hematológicos en parientes en 1er. grado de consanguinidad, acentuándose el mismo en hombres de 45 o más años de edad. Sin embargo no existe asociación alguna con historia familiar de cáncer pulmonar, mama, próstata, colon, piel, hígado, estómago, cerebro, tiroides o mieloma (6).

En cuanto a la distribución por grados de malignidad y grupos étnicos, se ha demostrado una tendencia al alza de los linfomas no-Hodgkin de bajo grado de malignidad al incrementarse la edad, 16.8 por ciento en las edades de 15 a 34 años, a 32.4 por ciento en las edades de 65 a 74 años, aunque se observa declinación a los 75 o más años de edad (23.2 por ciento). Los linfomas de grado intermedio son más frecuentes en ancianos, 46.6 y 49.4 por ciento a los 65 a 74 años y a los 75 o más años de edad, respectivamente. La incidencia de linfomas de alto grado, tiende a declinar con la edad, interrumpiéndose únicamente en los grupos de mayor edad. En cuanto a la localización extranodal, no hay relación significativa entre ésta y algún grupo etario (7).

En Guatemala, el último censo oncológico nacional publicado (1,994) registra 83 pacientes con linfoma no-Hodgkin, de los cuales 47 (56.6 por ciento) y 36 (43.4 por ciento) pertenecían al sexo masculino y femenino, respectivamente. En cuanto a grupos etarios, en orden descendente de incidencia, se distribuyen así: 13.25 por ciento en el grupo de 45-49 años, 12.05 por ciento en el grupo de 65-69 años, 9.64 por ciento en el grupo de 60-64 años y 8.4 por ciento en el grupo de 20-24 años (8).

En cuanto a las variedades histológicas (sin indicar el tipo de clasificación histológica utilizada), se presentaron 28 casos de linfoma maligno (33.2 por ciento), 23 casos de linfoma maligno linfocítico poco diferenciado (27.7 por ciento), 8 casos de linfoma maligno linfocítico bien diferenciado (1.2 por ciento), 6 casos de linfoma maligno mixto linfocítico-histiocítico (7.2 por ciento), 5 casos de linfoma maligno del centro folicular de células no hendidas y tumor tipo Burkitt (6 por ciento), 4 casos de linfoma maligno tipo inmunoblástico (4.8 por ciento), 2 casos de linfoma maligno tipo plasmacitoide (2.4 por ciento), y

1 caso de linfoma maligno linfocítico con diferenciación intermedia, y linfoma maligno de células centrolímbicas hendidas (1.2 por ciento) (8).

En cuanto al tipo de presentación, los ganglios linfáticos son los sitios anatómicos predominantemente afectados con 53 casos (63.85 por ciento), y los sitios extra-nodales con 30 casos (36.15 por ciento). Estos últimos se distribuyen así: fosas nasales, senos nasales, oído medio e interno con 4 pacientes cada uno (4.8 por ciento), recto, unión recto-sigmoidea, conducto anal, ano y orofaringe con 3 casos cada uno (3.6 por ciento) (8).

### 3.4 ETIOLOGIA.

La causa precisa de los linfomas no-Hodgkin es desconocida. La heterogeneidad de esta neoplasia hace presumir una amplia variedad de factores etiológicos, los cuales por sí solos o bien asociados pueden dar origen a dicha neoplasia. Entre éstos podemos mencionar: la radiación, sustancias químicas y enfermedades virales.

#### 3.4.1. Radiación.

La radiación ha sido reconocida desde hace mucho tiempo como una causa de cáncer. Se ha estimado que del 1 a 3 por ciento de cánceres son causados por la misma (9).

Los cánceres inducidos por radiación pueden deberse a 3 tipos de exposición:

- a. Tipo natural: Dentro de ésta podemos mencionar la radiación cósmica y terrestre, las cuales en ningún momento son prevenibles. Sin embargo, la de mayor importancia, es la del radón, la cual puede ser reducida, especialmente en casa, pero no eliminada del todo (9).
- b. Tipo médico: La utilizada con fines terapéuticos. Debido a la importancia de los beneficios que brinda, la estrategia de prevención es minimizar la exposición a la misma (9).
- c. Tipo ocasional: Aquí podemos mencionar, la radiación por las bombas atómicas de Japón (9).

La radiación es un agente genotóxico, que produce cambios biológicos a nivel celular y molecular, los cuales se presentan en organismos eucariotas como cambios moleculares (sublesiones) en el DNA de doble cadena, que combinados producen lesiones, y por ende, el desarrollo del cuadro oncológico (10,11).

La relación dosis respuesta para la inducción de cáncer por radiación, es bastante específica para cada tejido. La evidencia sugiere que:

1. la inducción del evento inicial es dependiente del tipo de célula, ya que el tamaño, el número de "blancos" y cómo la célula maneja la lesión inicial, difiere entre tipos celulares.
2. hay marcadas diferencias dentro de tejidos, en cómo las lesiones iniciales se expresan y proceden para convertirse en lesiones cancerosas (12).

Las mutaciones inducidas por la radiación resultan primariamente de cambios estructurales a gran escala en el DNA, siendo éstas el resultado de la delección cromosómica, especialmente en genes específicos de la regulación del tejido (13), re-arreglos y recombinación homóloga (10).

Se ha postulado que la radiación de tipo médico no es un potente inductor de tumores malignos secundarios, ya que la exposición es localizada, y la dosis a los tejidos normales es mínima, además de que la radiación tiende a ser citotóxica y no mutagénica (10).

En cuanto a la predisposición genética a cánceres inducidos por radiación, se postula que:

1. los genes predisponentes a cáncer (aquellos en los que las mutaciones germinales predisponen a cáncer) están presentes en el genoma humano. Estos genes son responsables no sólo de los raros síndromes de cáncer familiar sino de una proporción de cánceres comunes. Al menos 21 de estos genes han sido clonados (incluyendo 9 genes supresores de tumores, 11 genes de reparación de DNA y 1 proto-oncogén). Además al menos 8 genes putativos supresores de tumores han sido localizados en cromosomas específicos.
2. estos genes juegan un papel crucial en el control de la proliferación celular, muerte celular programada (apoptosis) y/o una u otra vía de reparación del DNA. Consecuentemente, las mutaciones de estos genes "liberan" a las células de las restricciones impuestas por ellos, resultando en crecimiento de tipo canceroso.

3. hasta el momento , la evidencia de aumento de la sensibilidad de los genotipos predisponentes a cáncer por cánceres inducidos por radiación son limitados. Sin embargo, hay alguna evidencia que asume que los genotipos de aquellos predispuestos a cáncer pueden incrementar su riesgo por cánceres inducidos por radiación (14).

### 3.4.2. Sustancias químicas.

Los compuestos químicos como los ácidos fenoxiacéticos, clorofenos, dioxinas, solventes orgánicos, bifenilos policlorinados, clordano y las drogas inmunosupresoras, han sido postulados como factores de riesgo. Aunque no se ha establecido plenamente que los linfomas no-Hodgkin sean causados por dichas sustancias, la evidencia experimental y las observaciones clínicas indican que existe una estrecha relación entre éstas y el correcto funcionamiento del sistema inmune (15).

El interés en un posible papel de los pesticidas en la etiología de los linfomas no-Hodgkin, se deriva de la observación en granjeros , los cuales poseen un elevado riesgo de padecer LNH debido a que se encuentran expuestos a virus oncogénicos transportados por animales, así como a estimulación antigénica crónica, lo cual puede aumentar dicho riesgo (16).

La evidencia más fuerte entre exposición ambiental y linfoma no-Hodgkin, se tiene en los colorantes para cabello, los cuales se cree que causan el 20 por ciento de los casos de linfoma no-Hodgkin en mujeres (16).

### 3.4.3. Infecciones virales.

En cuanto a la etiología infecciosa, no existe una relación causa-efecto plenamente demostrada. Sin embargo el hallazgo de DNA y/o proteínas virales en tejidos neoplásicos, sugiere que los virus podrían jugar un papel oncogénico relevante. Dentro de los virus con mayor evidencia de un papel importante en la etiología de los linfomas no-Hodgkin encontramos a : el virus de la hepatitis C, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el virus del Epstein-Barr (VEB), el virus humano del herpes tipo-8 y el virus humano linfotrópico de células T-tipo 1 (17).

#### **3.4.3.1. Virus de la Hepatitis C y linfoma no-Hodgkin.**

El virus de la hepatitis C es considerado como hepatotrópico y linfotrópico (18, 19), lo cual se sustenta en el hallazgo de proteínas virales en pacientes con cáncer hepático primario y linfoma hepático primario, los cuales pueden ser producidos por daño celular directo o bien, por estímulo antigénico exógeno continuo (20).

Por otro lado, se enfatiza que los órganos linfoides pueden ser sitio de infecciones por dicho virus, ya que se han encontrado proteínas virales en la linfadenopatía hiperplásica reactiva, indicando que dicha infección precede la transformación neoplásica (21,22). Además se ha propuesto la asociación de este virus y la crioglobulinemia mixta, la cual en algunos pacientes evoluciona hacia un linfoma no-Hodgkin maligno de células B (19,23).

#### **3.4.3.2. Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y linfoma no-Hodgkin.**

Durante la última década del siglo XX se ha incrementado el número de pacientes con SIDA, lo cual ha hecho emerger o re-emerger algunos padecimientos oncológicos que usualmente no se asociaban a inmunodeficiencia. Dentro de éstos podemos mencionar: el sarcoma de Kaposi, los linfomas no-Hodgkin y el cáncer cervical. Se ha demostrado claramente que la mayoría de dichas neoplasias son inducidas por virus dentro del contexto de la inmunodeficiencia, y que dichos padecimientos se acompañan de infección viral persistente (24).

Los linfomas no-Hodgkin en pacientes con SIDA, son de 2 tipos histopatológicos predominantes, ambos originándose en los linfocitos B: linfomas tipo Burkitt y linfomas difusos de células grandes (25). Dichos linfomas surgen en el 80 por ciento de una forma sistémica, ya sea nodal o extranodal, y en el 20 por ciento como linfomas primarios del sistema nervioso central (26).

#### **3.4.3.3. Virus del Epstein-Barr (VEB) y linfoma no-Hodgkin.**

A través de técnicas de biología molecular se ha encontrado que el 21.74 por ciento de pacientes con linfoma no-Hodgkin, poseen en las lesiones malignas fragmentos de DNA del virus del Epstein-Barr (27), sugiriéndose así su asociación con los linfomas

no-Hodgkin de células T y B (28). Este virus representa el prototipo de virus oncogénico implicado en la linfomagénesis (29).

Históricamente el VEB fue inicialmente identificado en casos de linfoma tipo Burkitt endémico (LBe) en niños africanos, sin embargo el espectro de los linfomas no-Hodgking infectados con dicho virus, incluye el linfoma-Burkitt esporádico (LBs) y los LNH relacionados a SIDA (29,30-33).

Al infectar los linfocitos B, el genoma del VEB es transportado dentro del núcleo, donde se presenta predominantemente como una molécula circular extra-cromosómica (episoma) (29).

La relevancia patogénica de este virus se sustenta en:

- a. que el VEB es capaz de alterar significativamente el crecimiento de las células B, tanto in vitro como in vivo (29).
- b. los LNH infectados con el VEB, presentan una forma simple de VEB terminal fusionado, lo cual valida la hipótesis de que la infección ha precedido y por lo tanto, contribuido a la expansión clonal neoplásica (30,32).
- c. una fracción de los LNH infectados con el VEB expresan las proteínas codificadas por el VEB, LMP-1 y EBNA-2, las cuales son agentes transformadores de células B (31).

#### **3.4.3.4. Virus del Herpes Humano tipo 8.**

Este es un gamma herpes virus inicialmente identificado en tejidos de pacientes con Sarcoma de Kaposi relacionado a SIDA, y subsecuentemente demostrado que infecta virtualmente al 100 por ciento de pacientes con este tipo de sarcoma, una fracción importante de pacientes con la enfermedad multicéntrica de Castleman, y todos los casos de BCBL (34-39).

Este virus es linfotrópico, ya que se encuentra en linfocitos tanto in vitro como in vivo (34,35,37,39-41). Las células de linfoma infectadas con HHV-8 poseen el genoma viral en forma de episoma, desplegando una restricción marcada en la expresión de los genes virales, lo cual sugiere un patrón de infección latente. Al aplicarse el estímulo apropiado, las células infectadas cambian del estado latente al productivo ó lítico, donde ocurre la replicación viral (42).

El HHV-8 transporta varios genes que pueden comportarse como oncogenes, incluyendo un gen homólogo al de las ciclinas celulares tipo D y varios genes productores de moléculas, presentando estos gran homología con las citocinas celulares y quimocinas (41-44).

### **3.5 PRESENTACION.**

Los linfomas no-Hodgkin usualmente se originan en el tejido linfoide y de aquí se pueden diseminar hacia otros órganos. Por lo tanto su patrón de comportamiento y por ende su presentación son poco predecibles. Se han establecido dos patrones de presentación: primario nodal y primario extra-nodal.

#### **3.5.1 Linfoma no-Hodgkin primario nodal.**

Aunque la linfadenopatía es relativamente común como presentación primaria de linfoma, hay un sin número de condiciones que se caracterizan por linfadenopatía. Entre estas podemos mencionar muchas enfermedades benignas y malignas, así como de tipo primario o metastásicas.

En el diagnóstico diferencial de las adenopatías, las producidas por infecciones usualmente se asocian con nódulos suaves o dolorosos; los procesos alérgicos o autoinmunes presentan nódulos suaves, elásticos; los linfomas presentan nódulos firmes ocasionalmente elásticos.

La adenopatía puede ser localizada o solitaria (restringida a un área de nódulos linfáticos), limitada a varios sitios adyacentes, o generalizada. Este último patrón a menudo se presenta en pacientes con linfoma, en tanto los carcinomas tienden a diseminarse a nódulos linfáticos contiguos o de otras regiones (47).

#### **3.5.2 Linfoma no-Hodgkin primario extra-nodal.**

Se refiere a la presentación localizada del linfoma dentro de un tejido extra-nodal y se cree que es el sitio de origen del mismo, aunque esté presente la linfadenopatía regional. El término implica que la diseminación de la enfermedad no es clínicamente evidente (47).

Se ha establecido que el 22 por ciento de pacientes con linfoma no-Hodgkin, presentan enfermedad primaria extranodal. El sitio extra-nodal más comunmente afectado es el tracto gastrointestinal (50 por ciento) (48).

### 3.5.2.1. Linfoma Gastrointestinal (LGI).

Estos tienden a permanecer localizados por largos periodos de tiempo, a menudo diseminándose a médula ósea, de aquí que respondan favorablemente a la terapia local. Los estudios han demostrado que son monoclonales, capaces de diseminarse y, de transformarse a linfomas de alto grado más agresivos (49). Este tipo del linfoma ha sido asociado con gastritis inducida por *Helicobacter pylori*. (50).

Dentro del espectro de los LGI, los de estómago se presentan en el 55-70 por ciento de los casos; le sigue el linfoma intestinal, que usualmente toma el ileon (20-35 por ciento), por último los linfomas colo-rectales (5-10 por ciento) (51-55).

En el intestino se presentan 3 tipos de linfomas: linfoma de células B, el cual se presenta en pacientes de edad avanzada y se asemeja al linfoma gástrico; el linfoma de células T, descrito en pacientes con enfermedad celíaca ( enteropatía sensible al gluten) (56-58). Por último el IPSID, que se ha presentado en Africa del norte, Africa del sur, India, lejano este y América central (59-61). Se postula que ésta enfermedad conlleva la proliferación clonal de linfocitos B productores de la cadena pesada de la Ig A. Los IPSID ocurren frecuentemente en adolescentes y adultos jóvenes, y afecta más a menudo a hombres que a mujeres. Los pacientes presentan síntomas de malabsorción; la enfermedad afecta a todo el intestino, tomando predominantemente el yeyuno y duodeno (47).

Los síntomas varían dependiendo del sitio y extensión del mismo. Cuando la lesión se establece en el Tracto gastrointestinal superior, los pacientes presentan anorexia, dolor, sangrado gastrointestinal superior y náusea; la distensión abdominal, náusea, vómitos, diarrea y sangrado intestinal bajo, son signos típicos de afección intestinal. Los síntomas de obstrucción intestinal son comunes en los linfomas de células B del ileon; sin embargo, los síntomas de malabsorción son característicos de los linfomas de células T intestinales e IPSID (47).

Los síntomas B son poco comunes. La pérdida de peso asociada a anorexia, dolor o síntomas obstructivos son frecuentes y, a menudo se relacionan con la presentación primaria más que con los síntomas de linfoma per se (47).



Los procedimientos radiológicos identifican el sitio y naturaleza de la enfermedad. Dentro del estómago, el linfoma afecta más a menudo el antro pilórico, seguido del cuerpo y por último al cardias. Las lesiones pueden ser polipoides, ulcerativas o bien, visualizarse como engrosamientos difusos de las paredes estomacales, dando origen a rigidez y alteraciones de la textura de la mucosa (47).

### **3.5.2.2. Linfoma de cabeza y cuello.**

#### **3.5.2.2.1. Linfoma en el anillo de Waldeyer.**

Característicamente los hombres se ven más afectados que las mujeres (1.5 a 2.0:1), ocurriendo más frecuentemente después de los 50 años de edad. Las formas de presentación más frecuentes son la disfagia, obstrucción de las vías aéreas, bloqueo de la trompa de Eustaquio, masas y adenopatías en cuello. Los síntomas B son poco comunes.

La mayor parte de los tumores son difusos, del tipo de células grandes predominantemente de grado intermedio de malignidad (62).

#### **3.5.2.2.2. Linfoma en senos paranasales y cavidad bucal.**

Ocurren comunmente en hombres, siendo más frecuentes después de los 50 años. Las características de presentación más comunes incluyen obstrucción nasal indolora, secreción nasal, hemorragia, "lagrimeo", edema facial ó lesiones en paladar (63).

Los tumores comunmente son difusos, del tipo de células grandes, incluyendo lesiones inmunoblásticas. Los tumores de bajo grado son raros (64).

#### **3.5.2.2.3. Linfoma de las glándulas salivales.**

Se presenta más a menudo en mujeres y ocurre en personas con más de 50 años. La glándula parótida es la más afectada (80 por ciento casos) seguida de la glándula

salival sub-mandibular. La presentación es usualmente el de una masa asintomática (65).

Los tumores son comunmente de células B de bajo grado (65).

#### 3.5.2.2.4. Linfoma de tiroides.

Constituyen del 2.5 a 3 por ciento de todos los linfomas no-Hodgkin y el 5 por ciento de las malignidades tiroideas. Las mujeres se ven más afectadas, principalmente después de los 60 años. Los pacientes presentan agrandamiento acelerado en cuello, causando obstrucción local y síntomas infiltrativos. Los tumores son de gran tamaño y las adenopatías en cuello son comunes (66).

La asociación predictiva de tiroiditis linfocítica crónica pre-existente (Enf. de Hashimoto) y el subsecuente linfoma, está bien establecido (67).

Más del 80 por ciento de los linfomas de tiroides son del tipo de células grandes difuso (grado intermedio). Los tumores de bajo grado son poco frecuentes (66).

#### 3.5.2.3. Linfoma de hueso.

Constituye menos del 5 por ciento de las presentaciones extra-nodales localizadas. La relación hombre-mujer es de 1.6:1 presentándose en promedio a los 46 años (68).

Los pacientes presentan dolor localizado, edema de tejidos blandos, masas ó fracturas patológicas (67). Los huesos largos son el sitio de presentación más común siendo el fémur, tibia, espina, iliaco, húmero y escápula los más afectados(69).

El 75 por ciento de éstos tumores son de grado intermedio (difuso mixto ó de células grandes) (70).

### 3.6 CUADRO CLINICO.

Los linfomas no-Hodgkin generalmente se presentan como padecimientos con

múltiples adenopatías diseminadas, las cuales obedecen al origen multicéntrico de los mismos, y sintomatología evidente (71).

Las manifestaciones clínicas dependen del sitio primario de la enfermedad, presentándose las mismas en el 54.4 por ciento de los pacientes con enfermedad primaria nodal y, en el 45.6 por ciento de pacientes con enfermedad primaria extra-nodal (72). Dichas manifestaciones no sólo dependen del sitio anatómico afectado sino de la variedad histológica del linfoma, siendo poco sintomáticos los tipos nodulares y de células bien diferenciadas, y muy sintomáticos aquellos donde predominan las células poco diferenciadas y un patrón difuso, como el observado en los tipos histiocíticos y los pobremente diferenciados (71).

El sistema de clasificación clínica de Ann Arbor es comunmente utilizado en pacientes con Enfermedad de Hodgkin. En éste sistema, los estadios I, II, III, y IV, pueden ser sub-clasificados en dos categorías: A y B. Los síntomas B se definen como fiebre de etiología no infecciosa mayor a 38 °C, sudoración profusa nocturna y/o pérdida de peso mayor al 10 por ciento del peso basal durante 6 meses. Aquellos pacientes que no presentan alguno de los síntomas B se clasifican como A (73).

Dentro de los hallazgos clínicos más relevantes encontramos la linfadenopatía (78 por ciento) (74,75), siendo los ganglios linfáticos de cuello e ingle los más comunmente afectatados (76); seguidamente se presenta la fiebre (33.08 por ciento), pérdida de peso (31.62 por ciento), anemia (30.14 por ciento) y trombocitopenia (14.3 por ciento) (74,75).

En cuanto al grado de malignidad, los nódulos linfáticos de más de 2 cms. de diámetro, la hepatomegalia, la esplenomegalia y la duración de la linfadenopatía mayor a 6 meses, se relacionan con linfomas de bajo y grado intermedio de malignidad. Sin embargo, los episodios febriles son más comunes en los linfomas no-Hodgkin de alto grado de malignidad (77). Cabe notar que la esplenomegalia es un hallazgo clínico poco frecuente en los linfomas no-Hodgkin, independientemente del tipo histológico (78).

### 3.7 CLASIFICACION.

Los linfomas no-Hodgkin representan un grupo diverso de malignidades que tienen en común, un origen de células linfoides. Estos desórdenes son heterogéneos en su comportamiento clínico, apariencia morfológica, origen celular, etiología y patogénesis (79).

Históricamente, el tratamiento de los pacientes con linfoma no-Hodgkin había sido cuestionado, ya que se adolecía de un sistema de clasificación uniforme. Se contaban con por lo menos cinco sistemas diferentes de clasificación histológica de los linfomas no Hodgkin, la clasificación nacional británica para la investigación de linfomas (BNLI), la clasificación de Kiel de los linfomas no-Hodgkin, la clasificación de Lukes-Collins, la clasificación de la Organización Mundial de la Salud para los linfomas malignos, y la clasificación de Rappaport (80).

En 1982 se formuló una clasificación de consenso (Working formulation), la cual tomaba los elementos más relevantes de las clasificaciones anteriores y los reunía en una sola ( ver Anexo No. 1 ). Dicha clasificación propone 10 diferentes tipos histológicos de linfoma no-Hodgkin (80), los cuales se encuentran agrupados en 3 diferentes grupos pronósticos, basados en diferentes grados de malignidad. Dichos grados de malignidad se definen así: bajo grado de malignidad, con una supervivencia promedio de 6 años, grado intermedio de malignidad, con una supervivencia promedio de 3.5 años y, alto grado de malignidad con una supervivencia promedio de 1.4 años (80,81).

### **3.7.1. Bajo grado de malignidad.**

#### **3.7.1.1. Linfoma maligno, linfocítico pequeño.**

##### **3.7.1.1.1. Patología.**

En general el patrón es difuso con cambios en la arquitectura debido a la presencia de linfocitos pequeños o medianos, los cuales presentan mínimas variaciones en el tamaño y forma de su núcleo, y en la mayoría de los casos con ausencia de figuras mitóticas. Un vago patrón nodular puede ser observado, debido a acúmulos de células grandes con núcleo redondo vesicular y uno o dos nucleolos prominentes (linfocitos transformados, linfoblastos, parainmunoblastos). Estos acúmulos son llamados "centros de proliferación" (80).

##### **3.7.1.1.2. Aspectos inmunológicos.**

Inmunológicamente los linfomas linfocíticos pequeños (LLP) son casi idénticos a

otros desórdenes linfoproliferativos como la leucemia linfocítica crónica (LLC) y la Macroglobulinemia de Waldenstrom. Muchos pacientes con LLP presentan linfocitosis absoluta y compromiso de médula ósea indistinguible de LLC.

En la mayoría de los casos, las manifestaciones de las dos entidades se traslapan, y el diagnóstico se basa en el sitio primario de afección, por ejemplo, si la característica primaria es un nódulo linfático el caso se considera LLP; si el sitio primario afectado es la sangre periférica y médula ósea, la enfermedad se considera LLC (47).

La mayoría de las células en la LLC y LLP ( más de 95 y 80 por ciento respectivamente) son células tipo B monoclonales, que expresan el antígeno CD5 , una proteína de superficie de 6.7 Kilodaltons (82-88). La sub-población CD5 positiva de células B, es del 15 por ciento en individuos normales (89).

Los LLP expresan los antígenos pan de células B, CD19, CD22, CD20 de baja densidad e Ig de Superficie (92). Además de éstos antígenos pan de células B, se ha demostrado recientemente que los LLP y la LLC expresan el antígeno CD-23 (blast-2a, una glicoproteína de membrana de 50 KD) la cual sirve como receptor de baja-afinidad para la Ig E y CD43, una proteína de membrana rica en ácido siálico de 95 KD, conocida como "leukosialina". La co-expresión de CD5, CD23, CD43 y la falta de expresión de CD10, tipifica los LLP y la LLC (83,91)

#### **3.7.1.1.3. Biología molecular.**

Las células B en los LLP y la LLC, representan la expansión clonal de una única célula B, de aquí que exhiba re-arreglos de los genes de Ig H y cadenas-L. Los cambios moleculares para ambas entidades son heterogéneos e incluyen re-arreglos que envuelven diferentes sitios cromosómicos y oncogénes, incluyendo bcl-1, bcl-2 y bcl-3, deleciones, adiciones, y translocaciones de los cromosomas 14,11,12,13 y 16 (92-98).

Recientemente se ha demostrado que la deleción de 6 (q21;q23) es la anomalía citogenética más común en LLP (99,100).

#### **3.7.1.2. Linfoma maligno folicular, predominantemente de células pequeñas hendidas.**

### **3.7.1.2.1. Patología.**

El patrón es predominante o parcialmente folicular. Los folículos son relativamente uniformes en tamaño y forma, y adolecen de un prominente y bien definido límite linfóide, comprimiendo así las regiones linfoides intervenidas, las cuales pueden contener células neoplásicas. Los macrófagos usualmente se encuentran ausentes y no hay evidencia celular de polarización dentro de los folículos, los cuales se componen predominantemente de células pequeñas con escaso citoplasma. Estas células son usualmente un poco más grandes que los linfocitos y poseen núcleos irregulares con indentaciones prominentes y planos lineales hendidos. El patrón de cromatina es grueso y los nucleolos son pequeños e incóspicuos. El citoplasma raramente puede ser identificado (80).

### **3.7.1.3. Linfoma maligno folicular mixto, de células pequeñas hendidas y células grandes.**

#### **3.7.1.3.1. Patología.**

Una categoría de células mixtas ha sido incluida para abarcar aquellos casos de linfoma folicular en los cuales no es claro el dominio de un tipo celular sobre otro. Las células grandes pueden tener núcleo hendido y son frecuentemente de dos a tres veces el diámetro de los linfocitos normales, presentando núcleo vesicular. En el tipo no hendido se encuentran de uno a tres nucleolos apostados a la membrana nuclear(80).

Los linfomas foliculares, compuestos de células pequeñas hendidas ó, la mezcla de células pequeñas hendidas y grandes, constituyen aproximadamente el 40-45 por ciento de los linfomas no-Hodgkin en adultos (101,102). Aunque el curso clínico inicial es a menudo indolente, las células neoplásicas se encuentran ampliamente distribuidas, incluyendo la médula ósea y sangre periférica (101).

#### **3.7.1.3.2. Aspectos inmunológicos.**

El inmunofenotipo de los linfocitos malignos en los linfomas foliculares, sugiere que se derivan de las células B del centro germinal normal (102,103). Las células expresan Ig M de superficie u ocasionalmente, Ig G e Ig con cadena L monoclonal.

Además de los marcadores de las células B, CD19, CD20, CD22, éstas expresan frecuentemente CD10 y fallan en expresar CD5. (47).

### **3.7.1.3.3. Biología molecular.**

La t(14;18) (q32;q21) es la translocación más común en las malignidades hematológicas, presentándose en el 85 por ciento de los linfomas foliculares y el 20 por ciento de los linfomas difusos de células B (105,106).

### **3.7.2. Grado intermedio de malignidad.**

#### **3.7.2.1. Linfoma maligno folicular, predominantemente de células grandes.**

##### **3.7.2.1.1. Patología.**

La mayoría de células neoplásicas encontradas en los folículos son grandes hendidas, idénticas a aquellas descritas en el tipo mixto folicular, aunque las células grandes no hendidas usualmente predominan. Las figuras mitóticas son usualmente numerosas. Un patrón parcialmente folicular se encuentra más a menudo en este tipo que en otros linfomas foliculares. La esclerosis en banda produce un arreglo particular de células, la cual es una característica prominente, especialmente en las áreas difusas (80).

#### **3.7.2.2. Linfoma maligno, difuso de células pequeñas hendidas.**

##### **3.7.2.2.1. Patología.**

Este tipo representa la contraparte difusa de los linfomas foliculares de su correspondiente tipo celular (células centrofoliculares hendidas pequeñas). Las figuras mitóticas varían, pero son más frecuentes que las observadas en el tipo folicular (80).

### **3.7.2.3. Linfoma maligno, difuso de células pequeñas y grandes.**

#### **3.7.2.3.1. Patología.**

Esta categoría representa un grupo heterogéneo de linfomas de composición celular mixta. Algunas de éstas, en las cuales los linfocitos pequeños son del tipo celular hendido, pueden representar la contraparte difusa de los linfomas foliculares del tipo celular mixto de células pequeñas hendidas y células grandes(80).

### **3.7.2.4. Linfoma maligno difuso de células grandes.**

#### **3.7.2.4.1. Patología.**

Los linfomas de éste tipo pueden estar compuestos de células grandes hendidas o nó, ó una de las dos puede predominar. Los linfomas de células grandes pueden contener pequeños linfocitos con núcleo hendido o indentado. Si el proceso es focalmente dominado por las células no hendidas, se denomina del tipo no hendido(80).

Las células hendidas difieren de las no hendidas no sólo en la apariencia de sus membranas nucleares, sino en la cantidad del citoplasma y la prominencia de sus nucleolos. Las células grandes no hendidas usualmente poseen un estrecho borde de citoplasma, el cual puede ser anfofilico, basofílico o piraninofílico. Su núcleo vesicular contiene uno o más nucleolos prominentes, típicamente situados en la membrana nuclear, en el eje más corto del núcleo oval (80).

#### **3.7.2.4.2. Aspectos generales.**

Es el tipo más común de LNH en el mundo occidental, presentándose en el 40 por ciento de los LNH de células B que ocurren en la población en general (107). Esta entidad puede aparecer de novo ó, alternativamente se puede desarrollar de la transformación histológica de un linfoma folicular (82, 108-114).



#### **3.7.2.4.3. Inmunología.**

Estos linfomas representan una expansión clonal de células B maduras, con múltiples características fenotípicas de centroblastos del centro germinal (82).

#### **3.7.2.4.4. Biología molecular.**

Se ha establecido claramente que este tipo de linfoma se asocia con lesiones moleculares específicas que envuelven proto-oncogenes y genes supresores de tumor.

Estudios citogenéticos han demostrado que las alteraciones cromosómicas que afectan la banda 3q27 son frecuentes en este tipo de linfoma (115-117). La clonación de los puntos de quiebre en los cromosomas de casos con translocación entre 3q27 y el loci Ig, llevaron a la identificación de una región genómica envuelta en la mayoría de LNH de células grandes tipo B, la cual se descubrió que aloja al gen llamado BCL-6 (118-122).

### **3.7.3 Alto grado de malignidad.**

#### **3.7.3.1. Conceptos generales.**

Los linfoma no-Hodgkin convencionalmente clasificados como linfomas de alto grado incluyen el Linfoma difuso de células grandes, el linfoma anaplásico de células grandes, el linfoma Burkitt, el linfoma linfoblástico y los linfomas no-Hodgkin asociados a SIDA (82, 123).

En la patogénesis de los LNH de alto grado se pueden observar lesiones en el DNA, fallas en los mecanismos de regulación de citocinas y estimulación de los receptores de células B por antígenos.

#### **3.7.3.2. Biología molecular.**

Las lesiones genéticas envueltas en los LNH de alto grado son representadas por la activación de protooncogenes, alteración de los genes supresores de tumores e infecciones de la clona tumoral por virus oncogénicos (115).

#### **3.7.3.2.1. Activación de proto-oncogenes.**

El principal mecanismo de activación de proto-oncogenes en los LNH de alto grado, es la translocación de cromosomas. Dichas translocaciones están constituidas por recombinaciones recíprocas y balanceadas entre dos sitios específicos de determinado cromosoma (124).

#### **3.7.3.2.2. Inactivación de loci supresores de tumores.**

La disrupción de los loci supresores de tumores en los LNH de alto grado ocurren a través de la delección de un alelo y la inactivación del otro por mutación. A la fecha el único gen supresor de tumores implicado en la patogénesis de los linfomas de alto grado es el p53 (125,126). Además estos linfomas de alto grado frecuentemente presentan delecciones cromosómicas específicas (115), siendo la más frecuente de estas la que ocurre en el brazo largo del cromosoma 6 (6q) (127).

#### **3.7.3.2.3. Infecciones virales.**

Los virus oncogénicos de los LNH de alto grado están representados por 2 herpes virus: el virus del Epstein-Barr (29) y el Herpes virus humano tipo 8 (36). Ambos virus presentan su actividad transformadora al introducir oncogenes potenciales dentro de la célula huésped.

#### **3.7.3.3.1. Linfoma maligno de células grandes, inmunoblástico.**

##### **3.7.3.3.1. Patología.**

Los inmunoblastos poseen núcleo redondo u oval y , uno o más nucleolos prominentes situados centralmente, los cuales pueden ser basofílicos o eosinofílicos. Los linfomas de células grandes que presentan células plasmáticas prominentes/predominantes, se catalogan como del tipo de células plasmáticas.

En esta clasificación los linfomas inmunoblásticos han sido subdivididos en plasmacitoides y de células claras, basándose en sus características citoplasmáticas. Una categoría adicional, el linfoma inmunoblástico polimorfo, ha sido incluido para abarcar el amplio espectro de linfomas de células T informado en Japón.

La variante plasmacitoide posee un núcleo excéntrico con abundante citoplasma anfófilico/basofílico e intensamente pironinofílico. El núcleo de la variante de células claras, es central y rodeado por abundante citoplasma claro con poca pironinofilia; su cromatina es fina y bien distribuida, presentando uno o más nucleolos pequeños. La variante polimorfa abarca una mezcla de células linfoides pequeñas y atípicas con núcleos torcidos y células claras grandes las cuales pueden ser pleomórficas y multinucleadas o hiperlobuladas (80).

#### **3.7.3.4. Linfoma maligno, linfoblástico.**

##### **3.7.3.4.1. Patología.**

Los linfomas linfoblásticos son asociados con borramiento difuso de la arquitectura. Las células neoplásicas respetan los planos del tejido, y pueden impartir una apariencia lobular (no folicular). El patrón de "cielo estrellado" puede ser prominente debido a los macrófagos dispersos homogéneamente entre los linfoblastos (80).

Los linfoblastos son usualmente de tamaño uniforme, cuyo núcleo es menor que el de un inmunoblasto pero mayor que el de un linfocito pequeño (80).

#### **3.7.3.5. Linfoma maligno de células pequeñas no hendidas.**

##### **3.7.3.5.1. Patología.**

Esta categoría engloba no solo el tumor Burkitt sino los linfomas, los cuales han sido designados como indiferenciados, del tipo no-Burkitt (80).

El núcleo de las células pequeñas no hendidas es mayor que el de un linfocito pequeño. Como lo define el boletín de la Organización Mundial de la Salud, el núcleo en el tumor de Burkitt es uniforme en tamaño y similar al de los macrófagos. Son usualmente redondos y presentan una leve indentación. La membrana nuclear es prominente y la cromatina gruesamente reticulada se distribuye irregularmente dentro de una paracromatina relativamente clara. De dos a cinco nucleolos prominentes son usualmente evidentes. Las células neoplásicas pueden aparecer cohesivas, pero cada una posee un borde distintivo de citoplasma, el cual es anfílico/basofílico e intensamente pironofílico. Las mitosis son numerosas y el patrón de "cielo estrellado" es prominente, aunque no patognomónico de linfoma Burkitt (80).

Los linfomas que presentan variaciones nucleares y pleomorfismo no considerado aceptable para el tumor Burkitt, y que previamente se designaban indiferenciados del tipo no-Burkitt, deben ser tipificados como linfomas malignos, del tipo de células pequeñas no hendidas. Estas células incluyen aquellas cuyo tamaño oscila entre 15 y 35  $\mu\text{m}$ . con formas bizarras o gigantes. La membrana nuclear es delicada y su cromatina está finamente dispersa alrededor de un único nucleolo. El citoplasma puede ser anfílico y cohesivo, pero comúnmente es pálido y escaso (80).

#### **3.7.3.5.2. Conceptos generales.**

Los linfomas tipo Burkitt se clasifican en 2 variantes epidemiológicas: LBs y LBe (82). El LBs se presenta en Norteamérica y Europa, representando 1/3 de los linfomas pediátricos. Los LBe se presentan primariamente en Africa Ecuatorial y Papua-Nueva Guinea, donde los LB se presentan en el 50 por ciento de niños con cáncer. Los casos en los que se presenta infiltración masiva de médula ósea y sangre periférica, se denominan LLA tipo 3, de acuerdo a la clasificación Franco-Americo-Británica para las leucemias linfocíticas agudas (LLA) (82).

#### **3.7.3.5.3. Biología molecular.**

Estas 3 variantes comparten una historia genética común, representada por la translocación cromosómica entre c-myc y uno de los loci Ig.

### 3.7.3.5.3.1. Ruptura en 8q24 y C-MYC.

Las roturas de cromosoma en 8q24 se encuentran en el 100 por ciento de LBs, LBe y LLA-L3 (82). Todas estas llevan a la des-regulación en la expresión del proto-oncogen c-myc (128). Dependiendo del locus Ig, el gen c-myc puede verse envuelto en tres translocaciones distintas (128, 129-133).

En 80 por ciento de los casos la translocación envuelve la Ig M, llevando a t(18;14) (q24;q32); en el restante 20 por ciento de los casos, el c-myc se yuxtapone a Ig K, llevando a t(2;8) (p11;q24) (15 % casos), ó a Ig L, llevando a t(8;22) (q24;q11) (5 por ciento de casos).

El protooncogen c-myc es un importante regulador central que determina la proliferación, diferenciación y muerte celular (134-137).

Además de las translocaciones c-myc, en la patogénesis molecular de los linfomas Burkitt, se presenta la infección de la clona tumoral por el virus del Epstein Barr, inactivación del gen supresor de tumores p53 y la delección de 6q.

La infección por el virus del Epstein-Barr ocurre virtualmente en todos los casos de LBe y en aproximadamente el 30 por ciento de casos de LBs (29,31).

La inactivación de p53 se detecta aproximadamente en 30-40 por ciento de casos, independientemente de su origen geográfico o de la presencia de infección por virus del Epstein-Barr (125).

### 3.7.4 Misceláneos.

En esta formulación el término linfoma compuesto implica dos tipos bien demarcados de linfoma no-Hodgkin, o la rara asociación de Enfermedad de Hodgkin con linfoma no-Hodgkin dentro de un mismo órgano o tejido. El pronóstico depende del componente de mayor grado de malignidad, aunque la médula ósea se vea comprometida con el componente de menor grado de malignidad (80).

## 3.8 DIAGNOSTICO.

El diagnóstico de linfoma sólo puede sustentarse con el estudio histológico del ganglio linfático o tejido de la lesión sospechosa. De aquí se deduce la importancia de un hematopatólogo experimentado y de los correctos procedimientos citológicos (71, 138).

### 3.8.1 Biopsia de ganglio linfático.

La biopsia de ganglio linfático está indicada en toda adenopatía que se presente sin causa aparente, toda vez se hayan descartado las causas infecciosas, virales ó químicas ( ver Anexo No. 2 ).

Nó serán objeto de biopsia aquellas adenopatías agudas sino las de tipo crónico, con duración mayor ó igual a 4 semanas , por lo que el ganglio linfático a elegir debe ser aquel con mayor tiempo de evolución.

En cuanto al sitio anatómico de la biopsia, son de elección las adenopatías supraclaviculares, del triángulo posterior del cuello y las epitrocleares; las adenopatías axilares son adecuadas pero presentan el problema de la dificultad quirúrgica, además de que en la mayoría de los casos se debe de realizar bajo anestesia general (71).

Hasta donde sea posible las adenopatías inguinales y submaxilares no deben utilizarse, debido a que usualmente presentan inflamación inespecífica que enmascara el cuadro histológico del eventual linfoma, o por otro lado son origen de diagnósticos falsos positivo. Por otro lado, los nódulos de áreas sometidas a radioterapia previa no son deseables (71,138).

Las adenopatías de la cadena cervical posterior no deben de ser utilizadas para biopsia ya que con el procedimiento quirúrgico con relativa frecuencia se produce daño del nervio espinal, que lleva fácilmente a parálisis de la cintura escapular; estas adenopatías deben reservarse para casos en que la sospecha es muy alta y no hay otro sitio para realizar la biopsia y se tiene que correr el riesgo (71).

El buen manejo de la biopsia durante el acto quirúrgico y después de ésta es de vital importancia para el diagnóstico histológico, por lo cual todo ganglio linfático debe de procesarse de la siguiente forma:

- a. Seccionarlo longitudinalmente
- b. Sobre una lámina portaobjetos obtener impresiones para ser coloreadas

c. Fijarlo adecuadamente en formol para evitar autólisis (70)

### 3.8.2 Diagnóstico de linfoma en ausencia de adenopatías.

En ocasiones el cuadro clínico puede ser muy sugestivo de linfoma, pero no se encuentran adenopatías periféricas adecuadas para realizar el estudio. Cuando al examen clínico se encuentran signos sospechosos de compromiso medular o hepático está indicado realizar una biopsia de médula ósea o de hígado; cuando se encuentran lesiones en mediastino de aspecto linfomatoso la biopsia de grasa pre-escalénica derecha puede ser suficiente para establecer el diagnóstico; si ésta es negativa y la sospecha es muy grande, está justificado indicar una toracotomía diagnóstica o biopsia a través de la mediastinoscopia. Si a pesar de esto no es posible establecer el diagnóstico, lo más prudente es observar al paciente en espera de que aparezca alguna adenopatía adecuada para estudio. La laparotomía no se recomienda de rutina a no ser que el paciente presente alguna patología abdominal evidente (71).

### 3.9 BIOPSIA DE MEDULA OSEA.

Todo paciente con diagnóstico histopatológico de linfoma no-Hodgkin debe ser sometido a biopsia de médula ósea por punción percutánea, ya que el hallazgo de positividad es de gran importancia clínica, terapéutica y de pronóstico. De aquí que la biopsia medular debe ser el primer estudio especializado que se realice.

En promedio, el 30 por ciento de los pacientes con linfoma no-Hodgkin presentan infiltración neoplásica a médula ósea al momento del diagnóstico (139), siendo ésta más frecuente en los linfomas no-Hodgkin de alto grado de malignidad (140).

En cuanto a la variedad histológica, la infiltración medular es más frecuente en el tipo folicular de células hendidas pequeñas (57 por ciento), el difuso mixto de células grandes y pequeñas (56 por ciento) y el linfoblástico (56 por ciento) (139).

En la evaluación citológica de la biopsia de médula ósea en pacientes con linfoma no-Hodgkin se sugiere el uso de los siguientes 5 patrones celulares: intersticial, nodular, parches, mixto nodular-parches y difuso (141).

El patrón paratrabecular predomina en los linfomas de bajo grado y grado interme-

dio de malignidad, en tanto el patrón difuso o intersticial se presenta frecuentemente en los de alto grado de malignidad (139). La fibrosis medular se presenta en el 58 por ciento de biopsias positivas y en el 94 por ciento de las lesiones, siendo considerado un buen marcador de infiltración medular (141).

En cuanto a la infiltración uni o bilateral, se propone que en los grupos A-C (clasificación de trabajo) la infiltración unilateral asciende al 8.8 por ciento, y en los grupos D-G y H asciende al 10.1 y 8.5 por ciento respectivamente (142).

Los pacientes con infiltración medular a menudo presentan síntomas B, hepatomegalia así como diseminación hematogena, la cual es directamente proporcional a la extensión de dicha infiltración medular (139). Esto significa que la infiltración linfomatosa a médula ósea y a sangre periférica, podrían ser parámetros útiles, al evaluar la agresividad clínica y el curso de la enfermedad (140).

### **3.10. FACTORES PRONOSTICOS.**

Debido a que la Clasificación de Trabajo para los linfomas no-Hodgkin se basa únicamente en características citológicas, no puede brindar aplicación clínica alguna si no se acompaña de factores pronósticos que evalúen los diversos aspectos relacionados a dicha enfermedad. Podemos dividir a los factores pronósticos en 4 categorías:

- a. Los relacionados al paciente: edad al momento del diagnóstico
- b. Los relacionados al tumor: estadio, tamaño de la masa tumoral, diseminación, sitios extranodales, deshidrogenasa láctica sérica total, isoenzimas de DHL y B-2-microglobulina
- c. Los relacionados al huesped-tumor: estado del paciente, síntomas B, niveles de albúmina, secreción de interleucina
- d. Los relacionados al médico: tipo de tratamiento y dosis (143)

#### **3.10.1. Factores pronósticos relacionados al tumor.**

La deshidrogenasa láctica sérica total, las isoenzimas de DHL y la Beta-2-microglobulina son pruebas bioquímicas que en diversos estudios han sido importantes como variables independientes de pronóstico, ya que se encuentran directamente relacionadas con la masa tumoral, y no con factores externos a la biología celular oncológica (144).



De aquí que se hallan propuesto algunos modelos de riesgo basados en dichas pruebas, con los cuales se pretende mejorar la terapéutica, evaluar las remisiones completas y recaídas (145-147)

### 3.10.1.1. Deshidrogenasa láctica sérica total e isoenzimas.

La deshidrogenasa láctica (DHL) es una enzima tisular ubicua, que cataliza la reducción de piruvato a lactato, utilizando nicotin-amida-adenosin-difosfato como co-factor. La DHL tiene un peso molecular de 140,000 daltons y es un tetrámero compuesto de 4 sub-unidades, con peso molecular de 35,000 daltons cada una. Las sub-unidades son de 2 formas, H (corazón) y M (músculo), las cuales se combinan para formar las 5 isoenzimas de DHL: HHHH-1, HHHM-2, HHMM-3, HMMM-4 y MMMM-5 (148).

La DHL se encuentra en el citosol de todas las células humanas, y por lo tanto no posee especificidad diagnóstica si no fuese por las isoenzimas. Las isoenzimas son formas múltiples (isómeros) de una familia de enzimas, que catalizan la misma reacción bioquímica. Cada isoenzima posee una afinidad diferente por sustratos y cofactores, habilidad de ser inhibidas por agentes específicos, propiedades físicas y propiedades bioquímicas, sin embargo todas las isoenzimas de una familia en particular no difieren en su tamaño molecular (148).

Los cambios en el medio ambiente de las células se suscitan durante el proceso ontogénico, principalmente por destrucción y regeneración, ó aún como resultado del desarrollo de estados de malignidad. Es aquí donde las isoenzimas proveen de flexibilidad metabólica a los organismos, permitiéndoles interactuar de una manera eficiente en los diversos micro-ambientes (148).

En cuanto a la localización de las isoenzimas de DHL se postula que la DHL 1 y 2 se encuentran principalmente en corazón y globulos rojos, la DHL 5 en músculo esquelético e hígado, y DHL 2 y 3 en pulmones (148).

La concentración sérica de DHL aumenta en varios cánceres, y el incremento puede representar un marcador pronóstico de enfermedad y un buen indicador del grado de crecimiento de la masa tumoral (149).

Durante el proceso de activación de los linfocitos T, la sub-unidad M de la DHL comienza a incrementarse cuando las células entran en la fase temprana del ciclo celular, lo cual se demuestra al observar la intensidad de la tinción inmunohistoquímica en di-

chos linfocitos en fase S/G2/M. La sub-unidad M disminuye cuando los linfocitos activados regresan a su estado basal. Dicho fenómeno se observa de igual forma en la sub-unidad H (150).

En linfocitos B, tanto la sub-unidad H como la M de DHL, aumentan después de la activación, y la intensidad de la tinción inmunohistoquímica se correlaciona directamente con el porcentaje de células en fase S/G2/M (150).

Los niveles de DHL se encuentran significativamente elevados en los linfomas no-Hodgkin, tanto del tipo histiocítico como linfocítico (151); por lo cual se le ha postulado como un factor pronóstico independiente (152-156).

De acuerdo a los valores pre-tratamiento de la DHL sérica total, se pueden definir 3 niveles: nivel 1 (dentro de límites normales), menor a 250 UI/L; nivel 2 (moderadamente incrementado) 250-500 UI/L; y nivel 3 (aumento alto) mayor de 500 UI/L. Los valores normales se asocian con mejor respuesta a la terapia y mayor sobrevida, independientemente del tipo histológico y estadio clínico, mientras que los valores altos confieren un mal pronóstico (157-159).

En cuanto al grado de malignidad, la DHL sérica total es significativa en los linfomas de bajo, alto y grado intermedio (159,160). Sin embargo, los linfomas no-Hodgkin de alto grado de malignidad presentan mayor contenido de enzima tanto intracelular como sérica, en comparación con los de bajo grado. Este hallazgo podría explicar en parte la relación de alta concentración de DHL sérica total y mal pronóstico. También es posible que el estadio de la enfermedad se relacione con los niveles de DHL sérica total, debido a que una mayor masa tumoral libera mayor cantidad de enzima (162).

La actividad de DHL sérica total disminuye a valores normales en todos los casos de remisión completa, pero también en caso de remisión parcial, sugiriendo que la medición de la actividad de dicha enzima es de uso limitado al detectar y monitorear enfermedad residual mínima, de aquí la importancia de evaluar isoenzimas (149,163).

En cuanto a las isoenzimas, la DHL 2 y 5, no presentan diferencia alguna en pacientes normales, con enfermedad activa o en remisión completa; la DHL 1 se encuentra reducida, y la DHL 3 y 4 aumentadas en pacientes con enfermedad activa. Tanto la DHL sérica total como las isoenzimas DHL 1 y 4 se ven influenciadas por el estadio, sub-grupo histológico y presencia de síntomas generales. En contraste la DHL 3 permanece elevada, independientemente de dichos factores. Por lo tanto, la DHL 3 es un marcador confiable de presencia de enfermedad en cualquier caso, y la DHL sérica total se relaciona con la diseminación de la misma (163). Por otro lado, se propone que los

pacientes con DHL sérica total elevada y predominio de isoenzimas 2 y 3, deben ser estudiados con TAC abdominal y aún con laparotomía explorativa, ya que es muy probable el hallazgo de linfoma maligno oculto (165,166).

En pacientes que han sido monitoreados con DHL sérica total después de recibir quimioterapia y haber alcanzado la remisión completa, se ha encontrado que dicha enzima se eleva mucho tiempo antes de que se manifieste clínicamente la recaída, por lo cual se ha sugerido su utilidad para definir precozmente las mismas (167).

Las determinaciones seriadas de DHL sérica total, nos muestran que los valores elevados pre-tratamiento, han descendido a valores normales al alcanzarse la remisión completa (168). Se han detectado niveles elevados de DHL sérica total en 49 por ciento de pacientes que presentan recaídas (8.5 meses en promedio antes de presentarse la misma). Esto nos permite, tanto el identificar precozmente el resurgimiento de la neoplasia, como el instaurar el tratamiento cuando la masa tumoral aún es de bajo volumen (167).

#### **3.10.1.1.1. Fundamento de las determinaciones enzimáticas.**

Las enzimas se determinan por su actividad más que por su concentración, ya que existen en cantidades muy pequeñas en los líquidos biológicos y tienen una gran semejanza química. La actividad enzimática se expresa en unidades que habitualmente representan una de las siguientes cosas:

- a. el incremento de uno de los productos
- b. el descenso en la concentración del sustrato
- c. el índice de cambio en la concentración del sustrato o enzima

La tasa de cambio de cualquiera de éstos constituye una medida del índice de reacción (169).

#### **3.10.1.1.2. Métodos.**

Se han aplicado para el análisis de esta enzima métodos espectrofotométricos y colorimétricos. Con el método espectrofotométrico se determina la cuantía de la variación en la concentración de NADH (DPNH). La reacción puede determinarse

siguiendo la desaparición del NADH (piruvato + NADH → lactato + NAD) a un pH de 7.4 ó la aparición del NADH (lactato + NAD → piruvato + NADH) a un pH de 8.8 ó mayor (169).

### 3.10.1.2. Beta-2-microglobulina.

La Beta 2 microglobulina (Beta 2M) es un polipéptido de bajo peso molecular (11,800 daltons) asociado de una forma no covalente con las cadenas pesadas de los antígenos de histocompatibilidad clase I (HLA -A,B,C) en la superficie de casi todas las células (169). El fenotipo que facilita la exfoliación de la Beta 2M de la superficie celular, es independiente de los alotipos específicos de las cadenas pesadas Ig G (171).

Dicha proteína se filtra libremente en el glomérulo, siendo reabsorbida en un 99.9 por ciento, y metabolizada en el tubulo proximal del glomerulo renal (170,172).

El aumento en la producción de Beta 2M, resultando en niveles séricos elevados de la misma, se ha informado en pacientes con malignidades del sistema linforeticular (170), disminuyendo la misma durante el tratamiento citostático y/ó en remisión, e incrementándose en las recaídas. De aquí que se proponga que la Beta 2M refleje el tamaño de la masa tumoral existente (172).

En algunos casos los niveles de Beta 2M se han correlacionado positivamente con los conteos linfocitarios absolutos en sangre periférica o con las cantidades de infiltrados de células mononucleares en tejidos sometidos a biopsia. Esto aunado a la demostración de que los linfocitos T activados liberan Beta 2M en cultivo, soportan la hipótesis de que el incremento en la producción de Beta 2M in vivo, podría resultar de una activación inespecífica de linfocitos (170).

Para fines diagnósticos se ha postulado el siguiente esquema: niveles menores a 2.5 mg/L, indican la posibilidad de malignidad hematológica; de 2.5 a 5 mg/L indican desórdenes linf o mielo-proliferativos, enf. viral ó inmunológica, y por último niveles mayores de 5.00 mg/L indican malignidad linfoproliferativa (173).

Se ha postulado que la Beta 2M es uno de los factores pronósticos independientes más significativos, ya que proporciona información acerca del estado de proliferación del desorden (171), así como de respuesta al tratamiento, duración de remisión y supervivencia (174,175).

Se ha encontrado una asociación significativa entre Beta 2M y estado de la enfermedad, hepatomegalia e infiltración a médula ósea. Sin embargo no se ha encontrado asociación alguna entre Beta 2M y grupo histológico, esplenomegalia, nódulos linfáticos mayores de 5 cms. de diámetro, conteo de linfocitos o presencia de síntomas B (176).

Se propone que la Beta 2M separa adecuadamente a los pacientes con LNH en bajo, intermedio y alto grado de riesgo (176), ya que en estadios más avanzados o en la infiltración hepática se encuentran valores séricos más altos (178,179).

En cuanto a la remisión completa, únicamente el 36 % de pacientes con niveles de 3.0 mg/L o más, y el 71 por ciento de pacientes con niveles menores de 3.0 mg/L la alcanzaron (180). Sin embargo en pacientes con LNH primario gástrico, que presentaron niveles altos ( mayores de 3.5 microgramos /ml.), se observó una sobrevida libre de recaídas de 36 meses, la cual no se observó en pacientes con valores normales (181).

#### **3.10.1.2.1. Fundamento de la determinación enzimática de B-2-M.**

El empleo de enzimas como marcadores inmunoquímicos para su utilización en los análisis de enlace competitivo, fue descrito por primera vez por Avrameas en 1,971. El término ELISA fue usado por primera vez por Engvall y Perlman. Este significa análisis de inmunoabsorción enzimática.

Su clasificación depende de:

- a. el compuesto a determinar, es decir antígeno ó anticuerpo
- b. reactivo marcado
- c. la naturaleza competitiva o nó del análisis
- d. el método de separación de los reactivos unidos o libres

Existen varios criterios importantes para determinar la selección de un marcador enzimático en particular, entre otros:

- a. el número de recambios o de moléculas de sustrato que se convierten en producto por lugar enzimático/ unidad de tiempo
- b. pureza
- c. sensibilidad
- d. facilidad y velocidad de detección

- e. ausencia de factores que puedan interferir en el líquido que hay que analizar
- f. grupos reactivos potenciales
- g. estabilidad
- h. idoneidad para un ELISA homogéneo

Existen dos tipos fundamentales de ELISA: el heterogéneo y el homogéneo.

### **3.10.1.2.1.1. ELISA heterogéneo.**

En este sistema la reacción antígeno-anticuerpo no modifica la actividad del marcador enzimático.

La elección de la fase de separación en este procedimiento sólo se encuentra limitada por el gran tamaño del marcador enzimático. Entre los métodos aceptables se encuentran la precipitación doble de anticuerpo, el empleo de antígeno o anticuerpo en fase sólida ó la utilización de perlas como las de agarosa o poliacrilamida.

Los tipos de ELISA heterogéneos más frecuentes son:

- a. ELISA competitivo para el antígeno
- b. análisis inmunozimométrico
- c. análisis inmunozimométrico de 2 lugares
- d. análisis en "sandwich" para detección de anticuerpos
- e. análisis inmunozimométrico doble de anticuerpos para determinación de antígenos (169).

#### **3.10.1.2.1.1.1. Análisis inmunozimométrico de dos lugares (análisis en sandwich para antígenos).**

Se inicia incubando un anticuerpo en fase sólida con el antígeno que hay que medir. Después de un lavado se añade el anticuerpo marcado enzimáticamente. La actividad enzimática registrada es proporcional a la concentración existente de antígeno.

Este método resulta útil para determinar antígenos complejos y se puede emplear sólo para aquellos capaces de unirse al menos a 2 anticuerpos (169).

### 3.11 ALTERACIONES CROMOSOMICAS.

A través de investigaciones oncogenéticas se han identificado 2 clases de genes asociados a neoplasias, los oncogenes y los genes supresores de tumores (182).

En los últimos años, ha sido posible identificar múltiples alteraciones cromosómicas clonales en pacientes con linfoma no-Hodgkin, llegando a informarse estas hasta en el 90 por ciento de los mismos (183).

Se han informado múltiples asociaciones entre cariotipo y sub-tipo histológico, pero ninguna de ellas ha sido específica. Esto se explica en parte a que la Clasificación de trabajo no representa enfermedades individuales, además de que algunos tipos de linfomas pueden ser clasificados en 2 o más grupos. Por otro lado una determinada categoría puede contener varias entidades con distinta etiología, características cariotípicas y fenotípicas, y de comportamiento clínico.

#### 3.11.1. Linfoma linfocítico pequeño.

La anomalía cromosómica más común es la trisomía del cromosoma 12, la cual se detecta en aproximadamente 20 por ciento de los casos; siendo la misma la única anomalía citogenética encontrada en la mitad de los pacientes con este sub-tipo histológico de linfoma no-Hodgkin. Dicha trisomía no ha sido informada en ningún otro sub-tipo histológico (115).

En el 13 por ciento de pacientes se ha encontrado delección terminal o intersticial del brazo largo del cromosoma 11 (115). Debido a que no se acompaña de cambios adicionales es altamente específica de este sub-tipo histológico (184). Se especula que en dicha región se encuentra un gen supresor de tumor.

Un pequeño grupo de pacientes presenta delección del brazo largo del cromosoma 14, donde se especula que podría residir un segundo gen supresor de tumores (92).

#### 3.11.2. Linfoma difuso de células pequeñas hendidas.

La translocación  $t(11;14)(q13;q32)$  fue informada hace 15 años, y hasta el momento es la más consistente en dicha sub-variedad histológica (185,186).

### 3.11.3. Linfomas difusos con componentes celulares grandes.

El hallazgo más reciente ha sido la caracterización del oncogen BCL6 ó LAZ3, que se encuentra localizado en la banda q27 del cromosoma 3, y que está implicado en la génesis de dichas variedades histológicas. Basados en el análisis cariotípico, la frecuencia de alteraciones 3q27 se ha estimado en un 8 y 13 por ciento de todos los casos de linfoma no-Hodgkin (119,121).

Recientemente se han descrito dos sub-grupos citogenéticos de linfomas difusos de células grandes, los cuales presentan alteraciones en el cromosoma 9. En el primero se observan deleciones intersticiales 9q, siendo la región 9q31-32 comunmente perdida. El segundo grupo presenta diferentes translocaciones en las bandas 9q11 y 9q13 (187).

### 3.11.4. Linfomas linfoblásticos.

La mayoría de estos linfomas que presentan aberraciones citogenéticas, presentan  $inv(14)(q11q32)$  y varias translocaciones, principalmente en las bandas 14q11, 7p15 y 7q35 (188).

### 3.11.5. Linfoma de células pequeñas no-hendidadas.

En los linfomas tipo Burkitt se observa una alta incidencia de re-arreglos en el gen MYC, debido a la presencia de la translocación  $t(8;14)(q24;q32)$  ó alguna de sus variantes (189).

En los linfomas no-Burkitt se ha encontrado la translocación  $t(14;18)$  ó re-arreglos en el gen BCL2 (190).



#### 4. JUSTIFICACIONES.

Debido al avance en la terapéutica oncohematológica muchas de las entidades patológicas consideradas incurables o de mal pronóstico, se han convertido en enfermedades potencialmente tratables e inclusive curables.

Los linfomas no-Hodgkin se encuentran entre los padecimientos oncológicos que actualmente ofrecen una buena posibilidad de sobrevida libre de enfermedad, siempre que sean correctamente diagnosticados y adecuadamente evaluados los factores pronósticos.

Para realizar un buen diagnóstico histológico se debe contar con una clasificación sencilla, reproducible y bien definida, por lo cual se propone la Clasificación de Trabajo (working formulation) para los linfomas no-Hodgkin. Debido a que esta clasificación se basa únicamente en características citológicas, se hace necesario el evaluar diversos factores, que nos brinden información acerca del pronóstico y mejor tratamiento a elegir.

Los factores pronósticos se dividen en: los relacionados al paciente, a la biología tumoral, a la relación tumor-huésped y los relacionados al médico. Dentro de éstos, se postula que los más importantes son los relacionados a la biología tumoral, ya que únicamente dependen del comportamiento intrínseco de la clona neoplásica.

En el presente estudio se proponen dos factores pronósticos independientes relacionados a la biología tumoral: la deshidrogenasa láctica sérica total, la isoenzima 3 de DHL y la beta-2-microglobulina. Se desea establecer la relación de dichas pruebas con el grado de malignidad, la variedad histológica, síntomas constitucionales B e infiltración a médula ósea.

Dichas pruebas se proponen ya que en Guatemala no existe ningún estudio acerca de las mismas y los linfomas no-Hodgkin, además de que son de bajo costo, fácil implementación y proporcionan información acerca de la replicación celular, la posibilidad de metástasis e inclusive, la respuesta al tratamiento.

## 5. OBJETIVOS.

### 1. Generales.

Determinar cuantitativamente los niveles séricos de Beta-2-microglobulina, deshidrogenasa láctica sérica total e isoenzima 3 de DHL en pacientes con linfoma no-Hodgkin.

### 2. Específicos.

- a. Establecer los niveles de Beta-2-microglobulina, deshidrogenasa láctica sérica total e isoenzima 3 de DHL, en una muestra de personas guatemaltecas sin antecedentes oncológicos.
- b. Determinar la relación existente entre la Beta-2-microglobulina, la deshidrogenasa láctica sérica total, la isoenzima 3 de DHL y el tipo de presentación clínica, variedad histológica y su correspondiente grado de malignidad (según la Clasificación de Trabajo).
- d. Comparar los resultados de la Beta-2-microglobulina, la deshidrogenasa láctica sérica total, la isoenzima 3 de DHL con la presencia de infiltración neoplásica en médula ósea.

## 6. HIPOTESIS.

- A. Los pacientes con diagnóstico histopatológico de linfoma no-Hodgkin presentan niveles séricos más altos de deshidrogenasa láctica sérica total, isoenzima 3 de DHL y Beta-2-microglobulina, que los pacientes normales.
- B. Los niveles de deshidrogenasa láctica sérica total, isoenzima 3 de DHL y Beta-2-microglobulina son directamente proporcionales al grado de malignidad del linfoma no-Hodgkin.
- C. Tanto los pacientes con infiltración neoplásica a médula ósea como aquellos con presentación clínica extra-nodal, exhiben valores altos de deshidrogenasa láctica sérica total, isoenzima 3 de DHL y Beta-2-microglobulina, independientemente del tipo histológico y grado de malignidad.

## **7. MATERIALES Y METODOS**

### **7.1. Universo de Trabajo.**

Los criterios de inclusión para la selección del universo de trabajo son: todo paciente, de cualquier sexo, edad, origen étnico y clase social, que se presente al Servicio de Consulta Externa del Instituto Nacional de Cancerología de Guatemala, con signos y/o síntomas sugestivos de linfoma.

### **7.2. Muestra.**

Pacientes diagnosticados por el Departamento de Patología del Instituto Nacional de Cancerología de Guatemala, según la Clasificación de trabajo (Working formulation), con linfoma no-Hodgkin de cualquier tipo histológico.

### **7.3. Grupo Control.**

Personas de ambos sexos, de cualquier edad, origen étnico y clase social, sin padecimientos neoplásicos pasados ó actuales.

### **7.4. Medios.**

#### **7.4.1. Recursos humanos.**

Tesista que presenta el trabajo de investigación: Juan Carlos Garrido Tánchez

Asesor de tesis: Dr. Mario Fredy Sandoval Castañeda

#### **7.4.2. Recursos materiales.**

##### **7.4.2.1. Institucionales.**

Departamento de Oncología médica, laboratorio clínico y patología del Instituto nacional de Cancerología de Guatemala

#### 7.4.2.2. Equipo de laboratorio.

- Espectrofotómetro marca Boehringer Mannheim 4010
- Lector de ELISA fotométrico multicanal marca Hyperion
- Centrifuga de 6 tubos marca Beckton-Dickinson
- Cámara electroforética CGA
- Fuente de poder CGA
- Cámara húmeda
- Incubadora marca Memmert
- Densitómetro Cellomatic Junior CGA
- Refrigerador de 6 pies marca Cetrón
- Termo-congelador de nitrógeno líquido

#### 7.4.2.3. Materiales.

- Bandas de Acetato de celulosa SEPRAPHORE III 1x6 pulg. Gelman Instrumen Company
- Tubos de ensayo marca Pyrex 10x100
- Frascos de vidrio con tapón de rosca de 5 ml. de capacidad
- Algodón absorbente para uso clínico
- Jeringas descartables de 10 ml.
- Ligadura para extracción sanguínea venosa
- Guantes de látex descartables
- Pipeta automática marca Human de vol. variable de 5-50 ul.
- Pipeta automática marca Oxford de vol. fijo de 10 ul.
- Pipeta automática marca Extend de vol. variable de 40-200 ul.
- Pipeta automática marca Brand de vol. variable de 0.5-5 ml.
- Puntas plástica para pipeta automática según volumen
- Palillo de madera de 10 cms. de largo con punta redonda
- Reloj cronómetro
- Gradilla de acero inoxidable para 72 tubos de 10x100
- Descartador de agujas y jeringas marca Beckton-Dickinson

#### 7.4.2.4. Reactivos.

- Alcohol etílico al 70 %
- Reactivo para la determinación fotométrica de la Deshidrogenasa láctica sérica total marca Boehringer Mannheim
- Reactivo para la determinación mediante electroforesis en membrana de acetato de celulosa, de isoenzimas de deshidrogenasa láctica marca Sigma
- Reactivo para la determinación por el método de ELISA de B-2-microglobulina sérica marca Quorum

## 7.5. Procedimientos.

### 7.5.1. Recolección de muestras sanguíneas.

A cada uno de los pacientes y sujetos control ( 23 en cada grupo), se le extrajeron una muestra de sangre de 8 ml. aproximadamente. A la vez se requirió la información personal y clínica la cual se anotó en la boleta de registro de pacientes ( ver Anexo No. 3 ).

Seguidamente se procedió a procesar dichas muestras, congelando el suero en termo con nitrógeno líquido, para luego llevar a cabo los siguientes ensayos: B-2-microglobulina, deshidrogenasa láctica sérica total e isoenzimas de DHL.

### 7.5.2. Procedimiento para la determinación fotométrica de deshidrogenasa láctica sérica total (191).

#### 7.5.2.1. Material de muestra.

Suero, plasma con heparina o EDTA.

#### 7.5.2.2. Límite de dilución.

Para un tiempo de medición de 3 minutos:

Hg 365 nm.	Cambio/min. = 0.050
Hg 334/340 nm.	Cambio/min. = 0.100

#### 7.5.2.3. Método de determinación:

Longitud de onda: Hg 365nm., 340 nm. ó 334 nm..

Cubeta: 1 cm. de paso de luz

Temperatura: 25 °C, 30 °C, 37 °C. Antes del uso, llevar la solución reactiva a la temperatura de medición.

Pipetear en la solución reactiva:

	Temperatura de medición	
	25° / 30° C	37° C
Suero/Plasma	0.10 ml.	0.05 ml.

Mezclar, verter la solución en una cubeta. Leer la extinción después de aprox. 30 seg. y disparar simultáneamente el cronómetro. Repetir la lectura después de exactamente 1,2, y 3 minutos.

De las diferencias de extinción por minuto (Cambio de E/min.) formar el valor medio y emplearlo en el cálculo.

#### 7.5.2.4. Cálculo.

Actividad de la Deshidrogenasa láctica sérica total en la muestra:

	<b>Hg 365 nm.</b>	<b>Hg 340 nm.</b>	<b>Hg 334 nm.</b>
U/L (25°/30°C)	9118 x E/min.	4921 x E/min.	5016 x E/min.
U/L (37°C)	17941 x E/min.	9683 x E/min.	9871 x E/min.
ukat/L (25°/30°C)	152 x E/min.	82 x E/min.	83.6 x E/min.
ukat/L (37° C)	299 x E/min.	161.4 x E/min.	164.5 x E/min.

Factores de conversión de temperatura para suero humano:

	<b>25°C</b>	<b>30°C</b>	<b>37°C</b>
a 25° C	1	0.75	0.5
a 30° C	1.34	1	0.67
a 37° C	2	1.49	1.

#### 7.5.2.5. Intervalos de referencia:

Adultos

	<b>25° C</b>	<b>30° C</b>	<b>37° C</b>
U/L	< 240	< 322	< 480
ukat/L	< 4.00	< 5.37	< 8.00

### 7.5.3. Procedimiento para la determinación por medio de electroforesis en membrana de acetato de celulosa, de isoenzimas de deshidrogenasa láctica (192).

#### 7.5.3.1. Procedimiento para la separación electroforética de isoenzimas de deshidrogenasa láctica.

a. Llenar los recipientes apropiados, con solución amortiguadora (buffer) fría

- b. Preparar e instalar adecuadamente la membrana de acetato de celulosa
- c. Aplicar las muestras con el aplicador indicado por el proveedor de membranas (una aplicación de 5 ul. es suficiente).
- d. Aplicar un voltage de 250 volts por 25 minutos
- e. Preparar la solución de tinción (Cellu-Stain) de la siguiente forma:
  - Agregar 5 ml. de agua destilada a un vial de reactivo de tinción. Mezclar.
  - A la solución preparada en el inciso anterior agregar 5 ml. de buffer de incubación-Mezclar.
- f. Utilizando una membrana seca de acetato de celulosa, preparar una tira de tinción de la siguiente forma:
  - Agregar 1 ml. de solución de tinción sobre una lámina porta-objetos
  - Colocar la membrana seca de acetato de celulosa sobre la solución
  - Permitir que la membrana se sature completamente en la oscuridad
  - Utilizar la membrana saturada en los siguientes 10 minutos
- g. Al finalizar los 25 minutos de electroforesis, remover la membrana y colocarla boca-abajo sobre la superficie de la membrana de acetato de celulosa saturada con la solución de tinción. Evitar la formación de burbujas de aire entre membranas.
- h. Colocar el par de tiras en cámara húmeda, en la oscuridad y a 37 °C por 30 minutos
- i. Separar la membrana de tinción de la membrana de muestras y sumergir ambas en ácido acético al 5 % por 1 minuto
- j. Sumergir de nuevo las membranas en ácido acético al 5 % por 5 minutos
- k. Remover las membranas y secarlas a temperatura ambiente



### 7.5.3.2. Procedimiento para la lectura por medio de Densitómetro de las bandas de isoenzimas de deshidrogenasa láctica.

- a. Colocar la banda de acetato de celulosa teñida y completamente seca en la cámara de lectura
- b. Introducir las UI/L de DHL sérica total de la muestra a la cual se desea determinar la isoenzima 3 de DHL.
- c. Obtener el porcentaje y las UI/L. de la isoenzima 3 DHL

### 7.5.4. Procedimiento para la determinación por medio de la metodología ELISA de Beta-2-microglobulina (193).

#### 7.5.4.1. Preparación de reactivos y muestras.

- Llevar todos los reactivos y muestras a temperatura ambiente (20-25 °C)
- Diluir las muestras y controles de la siguiente forma: mezclar 10 ul. de suero ó control con 1.0 ml. de diluyente de muestras

#### 7.5.4.2. Realización de la prueba:

- Colocar el número de pozos a utilizar
- Dispensar 5 ul. de standards, muestras diluidas y controles diluidos en los pozos respectivos
- Dispensar 200 ul. de diluidor de muestras en cada pozo y mezclar por 10 segundos.
- Incubar la placa por 30 minutos a 37 °C
- Al final del tiempo de incubación descartar el contenido de los pozos en un contenedor de desechos biológicos adecuado
- Lavar 5 veces los pozos con agua destilada
- Remover las gotas de agua residuales sacudiendo suavemente la placa sobre papel absorbente
- Dispensar 200 ul. del reactivo conjugado-enzima a cada pozo, mezclar por 10 seg.
- Incubar por 30 minutos a 37 °C
- Repetir pasos 5, 6 y 7
- Dispense 200 ul. de solución TMB sustrato a cada pozo, mezclar por 10 seg.
- Incubar en la obscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20-25 °C)
- Parar la reacción añadiendo 50 ul. de solución de parado a cada pozo

- Mezclar suavemente por 30 segundos, y asegurarse que el color azul cambie completamente a amarillo
- Leer la densidad óptica inmediatamente ( no más de 10 minutos) a 450 nm.

#### 7.5.4.3. Cálculo de resultados.

Calcular los valores de absorbancia promedio para cada lote de estándares de referencia, muestras y controles. Construir una curva standard al graficar la absorbancia media de cada standard de referencia contra su concentración en ug./ml.. Utilizar los valores promedio de absorbancia de cada muestra para determinar la correspondiente concentración de Beta-2-microglobulina.

#### 7.5.4.4. Valores esperados y sensibilidad.

Los valores esperados de B-2-microglobulina en pacientes sanos es de 2.0 ug./ml.. La concentración mínima detectable se estima en 0.1 ug./ml..

### 7.6 Diseño estadístico.

#### 7.6.1. Determinación del número y tipo de muestra.

El presente estudio es del tipo prospectivo, el cual utiliza un tipo de muestreo por conveniencia. El número mínimo de sujetos experimentales es de 18 , los cuales se calcularon mediante el uso de la siguiente fórmula matemática:

$$n = \frac{pqNC/d}{1 + 1/85(pqNC/d - 1)}$$

incidencia: 0.03

probabilidad de error: 0.1

El grupo control se seleccionó utilizando un muestreo pareado, con el cual se muestrearon igual número de sujetos.

#### 7.6.2. Análisis estadístico.

El análisis estadístico se basa en el uso de tablas de contingencia, las cuales confrontan los resultados obtenidos (valor normal versus niveles elevados) en una prueba determinada ( determinación de deshidrogenasa láctica sérica total, isoenzima 3 de DHL y Beta-2-microglobulina ) contra la presencia o ausencia de linfoma no-Hodgkin según sus grados de malignidad.

LINFOMA NO-HODGKIN	RESULTADO DEL	ANALISIS	TOTAL
	Normal	Elevado	
Ausente	A	B	A+B
Presente	C	D	C+D
Total	A+C	B+D	E

Mediante las mismas se determinará la sensibilidad ( proporción de enfermos con resultado elevado ), especificidad ( proporción de personas sanas con resultado normal ), y valor predictivo para cada una de las pruebas ( proporción de pacientes con la enfermedad y prueba con resultado elevado, y proporción de personas sanas con resultado normal ).

Sensibilidad:  $D/C+D$

Especificidad:  $A/A+B$

Valor predictivo positivo:  $D/B+D$

Valor predictivo negativo:  $A/A+C$

## 8. RESULTADOS.

En el presente estudio se evaluaron la deshidrogenasa láctica sérica total (DHL), isoenzima 3 de deshidrogenasa láctica (I-3-DHL) y Beta-2-microglobulina (B-2-M) como factores pronósticos en pacientes con diagnóstico histológico de linfoma no Hodgkin. A dichos factores se les determinó su sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo.

Los resultados obtenidos se presentan en las tablas No. 1 a la 5. Así mismo se realizó el análisis estadístico de las tres pruebas, recopilándose los datos del mismo en la tabla No. 6 y anexos No. 4 al 6 .

En la tabla No. 1 observamos que la relación hombre/mujer ( H/M ) en el grupo experimental es de 1.09, en contraposición al grupo control ( tabla No. 2 ) en la que observamos una relación H/M de 0.64. En cuanto a edades, el grupo experimental presenta una edad media de 52.2 años con un rango de 7 a 80 años, en tanto el grupo control presenta una edad media bastante menor, 30 años, pero con un rango de edades muy similar ( 7-76 años ). Se observa un claro predominio de la presentación clínica extra-nodal (65.2 %), así como de las lesiones de alto (43%) y grado intermedio de malignidad (39%).

La tabla No. 3 presenta los resultados de la determinación de DHL en pacientes con diagnóstico histológico de linfoma nó-Hodgkin, y su relación con la presentación clínica, síntomas B, grado de malignidad de la lesión e infiltración neoplásica a médula ósea. Podemos observar que el 52.2 % y 34.8 % de personas del grupo experimental y control, respectivamente, presentan niveles elevados de DHL sérica total.

Se evidencia que el 62.5 % y el 46.7 % de pacientes con presentación clínica nodal (PCN) y extra-nodal (PCEN), respectivamente, presentan niveles altos de DHL. Así mismo, el 100 % y el 25 % de pacientes con y sin síntomas B, presentan valores elevados de la misma.

Con respecto al grado de malignidad, aquellos con grado intermedio presentan niveles elevados en un 66.7 %, seguidos de los de alto grado con 50 % y por último los de bajo grado con 33.3%. Por último, el 50 % de pacientes con infiltración neoplásica a médula ósea y el 35.7 % sin la misma, muestran niveles elevados de DHL .

Tabla No. 1. Información clínica y resultados de pruebas de laboratorio realizadas en pacientes con diagnóstico histológico de linfoma no-Hodgkin.

Regis- tro médico	Sexo	Edad (años)	Presen- tación clínica	Sinto- mas B	Tipo histoló- gico	Grado de malig- nidad	Aspira- do/Bio- psia médu- la ósea	DHL total (UI/L)	Isoen- zima 3 de DHL (UI/L)	B-2-M (ug./ml.)
188115	M	7	EN	+	LMLP	Bajo	ND/ND	377	145	2.4
187991	F	16	EN	ND	LDCG	Alto	ND/NC	224	68	3.3
62772	F	68	EN	ND	LDCG	Alto	NC/ND	318	101	3.9
189097	F	75	N	ND	LDCG	Alto	ND/ND	667	205	1.4
146776	M	60	EN	ND	LCPyGP	Interme- dio	ND/ND	481	164	1.7
189117	M	78	N	ND	LCPyGP	Interme- dio	ND/ND	362	101	2.2
189383	M	66	EN	ND	LDCG	Alto	ND/ND	572	190	2.2
189240	M	60	EN	ND	LDCG	Alto	ND/ND	235	72	1.9
189179	M	12	N	ND	LDCPH	Interme- dio	E/NC	375	137	1.8
188087	M	32	EN	-	LDCG	Alto	E/ND	189	66	1.2
187771	M	77	EN	ND	LDCG	Alto	E/NC	226	77	8.4
189074	M	41	EN	ND	MF	Miscelá- neo	NC/NC	232	84	7.3
189658	F	46	EN	ND	LMCPH	Bajo	ND/NC	119	67	1.3
188119	F	54	N	+	LDCGnH	Interme- dio	ND/NC	1138	409	2.3
190084	F	41	N	-	LMLP	Bajo	NC/NC	184	48	1.5
189725	M	65	N	ND	LDCPH	Interme- dio	E/ND	184	94	1.3
190540	F	47	EN	ND	LDCG	Alto	NC/NC	1535	682	1.5
189782	F	40	EN	-	LDCGnH	Interme- dio	E/ND	208	79	1.6
187876	M	80	EN	ND	LDCPH	Interme- dio	NC/ND	261	85	5
191198	F	57	EN	ND	LDCG	Alto	NC/NC	81	40	0.6
191267	F	78	N	ND	LDCPnH	Interme- dio	NC/I	142	32	2.3
191459	M	48	EN	+	LDCGnH	Interme- dio	ND/ND	1130	428	2.5
191645	F	52	N	-	LDCG	Alto	NC/I	292	106	0.9

EN extra-nodal  
N nodal  
ND no determinado  
NC normocelular  
E eosinofilia  
I infiltración a médula ósea

LMLP linfoma maligno linfocítico pequeño  
LDCG linfoma difuso de células grandes  
LCPyGP linfoma de células pequeñas y grandes polimórfico  
LDCPH linfoma difuso de células pequeñas hendidas  
MF micosis fungoide  
LMCPH linfoma maligno de células pequeñas hendidas  
LDCGnH linfoma difuso de células grandes no hendidas  
LDCPnH linfoma difuso de células pequeñas no hendidas

La tabla No. 4 resume los resultados obtenidos al evaluar la I-3-DHL en pacientes con diagnóstico histológico de linfoma nó-Hodgkin, y su relación con las variables clínicas e histológicas ya mencionadas.

Se aprecia que el 86.9 % y 21.7 % de sujetos del grupo experimental y control, respectivamente, presentan niveles elevados. El 100 % de pacientes con PCN y el 62.5 % con PCEN, presentan niveles elevados de I-3-DHL. Así mismo, el 100 % y 75 % de pacientes con y sin síntomas B, presentan valores altos.

Tabla No. 2. Información clínica y resultados de pruebas de laboratorio realizadas en personas del grupo control.

No. Registro	Sexo	Edad (años)	DHL total (UI/L)	Isoenzima 3 de DHL (UI/L)	B-2-M (ug./ml.)
1	F	24	83	21	2.2
2	F	33	121	38	1.4
3	M	19	186	48	6
4	F	35	165	40	0.4
5	F	42	237	61	0.35
6	M	18	305	88	2.15
7	F	46	400	106	3.2
8	F	23	232	75	1.95
9	M	29	121	29	0.95
10	M	20	351	92	1.65
11	F	45	295	75	0.65
12	M	7	159	43	6
13	M	29	190	41	4.6
14	M	17	495	121	9.1
15	F	20	137	45	1.6
16	M	39	349	87	2.1
17	F	21	217	53	2.4
18	F	25	181	46	0.1
19	M	60	72	29	3.4
20	F	76	170	44	0.6
21	F	19	219	58	2.3
22	F	25	275	72	1.2
23	F	22	310	90	1.65
X		30.2	229	61	2.4
DS		15.6	105.4	26.7	2.2
Rango		7-76	72-495	21-121	0.1-9.1

Tabla No. 3. Deshidrogenasa láctica sérica total y diversos factores clínicos e histológicos en pacientes con diagnóstico de linfoma no-Hodgkin.

DHL total (UI/L)	Presentación clínica	Síntomas B	Grado de malignidad	Infiltración a médula ósea
377	EN	-	Bajo	ND/ND
224	EN	ND	Alto	ND/NC
318	EN	ND	Alto	NC/ND
667	N	ND	Alto	ND/ND
481	EN	ND	Intermedio	ND/ND
362	N	ND	Intermedio	ND/ND
572	EN	ND	Alto	ND/ND
235	EN	ND	Alto	ND/ND
375	N	ND	Intermedio	E/NC
189	EN	-	Alto	E/ND
226	EN	ND	Alto	E/NC
232	EN	ND	Misceláneo	NC/NC
119	EN	ND	Bajo	ND/NC
1138	N	+	Intermedio	ND/NC
184	N	-	Bajo	NC/NC
184	N	ND	Intermedio	E/ND
1535	EN	ND	Alto	NC/NC
208	EN	-	Intermedio	E/ND
261	EN	ND	Intermedio	NC/ND
81	EN	ND	Alto	NC/NC
142	N	ND	Intermedio	NC/I
1130	EN	+	Intermedio	ND/ND
292	N	-	Alto	NC/I

X 414  
 DS 372.1  
 Rango 81-1535

En cuanto al grado de malignidad, el 100 % de pacientes con alto grado, el 77.8 % con grado intermedio y el 66.7 % con bajo grado de malignidad presentan niveles elevados de dicha isoenzima.

Con respecto a la infiltración a médula ósea, el 50 % de pacientes que la padecen y el 92.9 % de pacientes sin ella presentan valores elevados.

Tabla No. 4. Isoenzima 3 de deshidrogenasa láctica y diversos factores clínicos e histológicos en pacientes con diagnóstico de linfoma no-Hodgkin.

Isoenzima 3 de DHL (U/L)	Presentación clínica	Síntomas B	Grado de malignidad	Infiltración a médula ósea
145	EN	+	Bajo	ND/ND
68	EN	ND	Alto	ND/NC
101	EN	ND	Alto	NC/ND
205	N	ND	Alto	ND/ND
164	EN	ND	Intermedio	ND/ND
101	N	ND	Intermedio	ND/ND
190	EN	ND	Alto	ND/ND
72	EN	ND	Alto	ND/ND
137	N	ND	Intermedio	E/NC
66	EN	-	Alto	E/ND
77	EN	ND	Alto	E/NC
84	EN	ND	Misceláneo	NC/NC
67	EN	ND	Bajo †	ND/NC
409	N	+	Intermedio	ND/NC
78	N	-	Bajo	NC/NC
94	N	ND	Intermedio	E/ND
682	EN	ND	Alto	NC/NC
79	EN	-	Intermedio	E/ND
85	EN	ND	Intermedio	NC/ND
40	EN	ND	Alto	NC/NC
56	N	ND	Intermedio	NC/I
428	EN	+	Intermedio	ND/ND
106	N	-	Alto	NC/I

X 153.7  
 DS 152.8  
 Rango 40-682

La tabla No. 5 recopila los resultados de la evaluación de la B-2-M y su relación con los factores clínicos y patológicos anteriormente descritos.

De ésta se deduce que la B-2-M se encontró elevada en el 47.8 % de sujetos, tanto del grupo experimental como en el control. Se observan valores elevados en el 53.3% de pacientes con PCEN, el 100 % que presentan síntomas B, 55.5 % con lesiones de



grado intermedio de malignidad y 40 % con lesiones de alto grado de malignidad. Así mismo, en el 50 % de pacientes con infiltración a médula ósea se encuentran valores elevados.

Tabla No. 5. Beta-2-microglobulina y diversos factores clínicos e histológicos en pacientes con diagnóstico de linfoma no-Hodgkin.

B-2-M (ug./ml.)	Presentación clínica	Síntomas B	Grado de malignidad	Infiltración a Médula ósea
2.4	EN	+	Bajo	ND/ND
3.3	EN	ND	Alto	ND/NC
3.9	EN	ND	Alto	NC/ND
1.4	N	ND	Alto	ND/ND
1.7	EN	ND	Intermedio	ND/ND
2.2	N	ND	Intermedio	ND/ND
2.2	EN	ND	Alto	ND/ND
1.9	EN	ND	Alto	ND/ND
1.8	N	ND	Intermedio	E/NC
1.2	EN	-	Alto	E/ND
8.4	EN	ND	Alto	E/NC
7.3	EN	ND	Misceláneo	NC/NC
1.3	EN	ND	Bajo	ND/NC
2.3	N	+	Intermedio	ND/NC
1.5	N	-	Bajo	NC/NC
1.3	N	ND	Intermedio	E/ND
1.5	EN	ND	Alto	NC/NC
1.6	EN	-	Intermedio	E/ND
5	EN	ND	Intermedio	NC/ND
0.6	EN	ND	Alto	NC/NC
2.3	N	ND	Intermedio	NC/I
2.5	EN	+	Intermedio	ND/ND
0.9	N	-	Alto	NC/I

X 2.54  
DS 1.9  
Rango 0.6-8.4

Tabla No. 6. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de DHL, I-3-DHL y B-2-M en pacientes con diagnóstico histológico de linfoma no-Hodgkin.

PRUEBA	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VALOR PREDICTIVO POSITIVO	VALOR PREDICTIVO NEGATIVO
D.H.L.	0.52	0.65	0.6	0.58
I-3-D.H.L.	0.87	0.78	0.8	0.86
B-2-M	0.48	0.52	0.5	0.5

Se puede apreciar en la Tabla No. 6 un resumen de los indicadores estadísticos evaluados en este estudio. De los tres factores pronósticos evaluados, la I-3-DHL presenta la mayor sensibilidad (0.87), especificidad (0.78), valor predictivo positivo (0.8) y negativo (0.86); en contraposición la B-2-M presenta la menor sensibilidad (0.48), especificidad (0.52), valor predictivo positivo (0.5) y negativo (0.5). La DHL presenta valores intermedios a los descritos para las pruebas anteriores.

## 9. DISCUSION DE RESULTADOS.

Inicialmente , hay que aclarar que debido a que algunos de los expedientes médicos revisados adolecían de datos clínicos relevantes como la presencia de síntomas B y resultados de aspirado/biopsia de médula ósea, no fue posible realizar inferencias estadísticas adecuadas.

En cuanto a la incidencia de linfoma no-Hodgkin en la población guatemalteca, observamos que la relación H/M es de 1.09, lo cual nos muestra que la probabilidad de padecer dicha enfermedad es similar en ambos sexos. Por otro lado, el espectro de edades en las cuales se presenta dicha neoplasia va de los 7 a 80 años, observándose que al igual que en estudios europeos y estadounidenses, esta neoplasia predomina en pacientes por arriba de los 40 años (19 casos).

Con respecto al tipo de presentación clínica al momento del diagnóstico, se observa que predomina la PCEN ( 65 % ) , lo cual confirma el comportamiento impredecible de diseminación característico de los linfomas no-Hodgkin.

En cuanto al grado de malignidad de la lesión se deduce que en los pacientes del sexo masculino predomina el grado intermedio de malignidad (50 %), y en el sexo femenino el alto grado de malignidad (54.5 %). Esto más que relacionado a las características biológicas propias de cada sexo podría estar relacionado a los factores de riesgo propios de cada individuo, como el uso de colorantes para tinción del cabello, exposición a radiaciones e infecciones por agentes virales.

El primer factor pronóstico abordado es la DHL (tabla No. 3), enzima inespecífica, que brinda un estimado del volumen de la masa tumoral. En este estudio se encontró que las lesiones de alto y grado intermedio de malignidad presentan los valores promedio más altos ( 616.8 y 624.5 UI/L respectivamente), lo cual confirmaría que aquellas lesiones con altos índices de proliferación, diseminación e infiltración son más susceptibles a presentar anomalías genéticas, como la relacionada a valores elevados de esta enzima ( t(11,14) (q13,q32) ).

En cuanto a la presentación clínica observamos que los pacientes con presentación clínica nodal presentan más frecuentemente valores elevados de DHL (62.5 %). Sin embargo esto no significa que pueda predecir el potencial de diseminación de la lesión, ya que únicamente el 50 % de pacientes con infiltración a médula ósea presentan valores elevados de la misma.

En cuanto a la presencia de síntomas B, sabemos que éstos se relacionan con la anomalía genética 6q 11-16, la cual podría hacer más susceptible a la célula a cambios genéticos secundarios como el relacionado con niveles altos de DHL.

Otro de los factores pronósticos estudiados fue la I-3-DHL, fracción proteica de la DHL íntimamente relacionada a los procesos proliferativos de linfocitos. La tabla No. 4 nos muestra que la presentación clínica nodal y el alto grado de malignidad de la lesión, correlacionan en un 100 % con valores altos de I-3-DHL, lo cual pone de manifiesto que dicha isoenzima se produce en linfocitos con altas tasas de replicación celular situados en el entorno nodal. Sin embargo esta isoenzima no se relaciona con otros entornos tisulares ni con el potencial invasivo de la célula tumoral, ya que en el 92 % de pacientes estudiados que no presentaban infiltración neoplásica a médula ósea se encontraron valores elevados de la misma.

En cuanto a la presencia de síntomas B, concluimos que no existe relación significativa, ya que tanto en pacientes con y sin estos síntomas ( 100 y 75 % respectivamente) se encontraron valores altos. Esto hace pensar que dichos síntomas podrían estar relacionados a la acción de ciertas proteínas producidas por la célula tumoral al ingresar al ciclo celular de replicación y no al potencial proliferativo de la misma.

Por último, se analiza la relación de la B-2-M con los linfomas no-Hodgkin. Esta proteína se encuentra asociada a los antígenos de histocompatibilidad clase I en la mayoría de células humanas. Debido a que el complejo mayor de histocompatibilidad se asocia a la presentación de antígenos extraños a los receptores de células T, se postula que la presencia de células linfomatosas aumenta la expresión de B-2-M, con lo cual se activaría la respuesta inmunológica mediada por linfocitos citotóxicos.

En el presente estudio se observó que la presentación clínica extra-nodal, la cual se relaciona con una mayor masa tumoral, exhibe niveles elevados en el 53.3 % de los casos. Esta asociación es interesante, ya que se observaron niveles elevados de B-2-M en lesiones patológicas con grado intermedio ( 55.5 % ) y alto de malignidad ( 40 %), las cuales se presentan frecuentemente de forma extra-nodal, debido al gran potencial proliferativo que poseen. Sin embargo, no se observó una relación consistente entre la B-2-M y la presencia de infiltración neoplásica a médula ósea, ya que tanto en pacientes que la presentaron ( 50 %) como aquellos sin ella ( 42.9 %) mostraban valores elevados.

En cuanto a la presencia de síntomas B, observamos que el 100 % de pacientes que los presentan poseen niveles elevados de B-2-M. Esto se podría deber a que la

activación del sistema inmune a través del mecanismo celular citotóxico produce dichos síntomas, ya sea de forma directa o bien a través de mediadores bioquímicos secundarios a la misma.

En el presente estudio se realizó el análisis estadístico mediante el uso de tablas de contingencia, a través de las cuales se evaluó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de cada una de las pruebas. De la tabla No. 3 deducimos que la I-3-DHL presenta la mayor sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo. Esto es sumamente importante, ya que nos permite deducir que dicha neoplasia se asocia con alguna anomalía celular o genética puntual, la cual hace que se produzcan directa o indirectamente niveles altos de dicha isoenzima.

En el caso de la DHL, observamos que presenta valores estadísticos intermedios entre la I-3-DHL y la B-2-M, lo cual nos indica que en el caso de encontrar valores altos, el diagnóstico de linfoma no-Hodgkin debería de establecerse a través de estudios especializados ( tomografía axial computarizada, linfangiografía ).

La B-2-M presenta los valores estadísticos más bajos de los tres factores evaluados, lo cual indica que la elevación de dicha proteína se relaciona indirectamente a la presencia de dicha neoplasia, lo que podría ser resultado de la activación inespecífica del sistema inmune o bien, encontrarse asociado a un síndrome paraneoplásico.

## 10. CONCLUSIONES.

- 10.1 No existe diferencia estadísticamente significativa entre la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la DHL y la B-2-M, al ser evaluadas en pacientes con diagnóstico histológico de linfoma no-Hodgkin.
- 10.2 Las concentraciones séricas de I-3-DHL son las más relacionadas a la presencia de linfoma no-Hodgkin, independientemente del grado de malignidad, presentación clínica, presencia de síntomas B ó infiltración a médula ósea.
- 10.3 Las concentraciones altas de DHL se encuentran principalmente en pacientes con linfoma no-Hodgkin de presentación clínica nodal, síntomas B y lesiones de grado intermedio de malignidad.
- 10.4 La I-3-DHL se relaciona directamente con la presentación clínica nodal y con lesiones de alto grado de malignidad.
- 10.5 La activación específica del mecanismo celular de respuesta inmune, es la posible causa de los valores elevados de B-2-M observados .

## 11. RECOMENDACIONES.

- 11.1 Se recomienda realizar estudios en los cuales la DHL, I-3-DHL y la B-2-M sean evaluadas durante el curso del tratamiento quimio/radioterapéutico, así como en las fases de remisión y recaída. Esto encaminado a validar su valor pronóstico.
- 11.2 Se hace necesario el realizar estudios de los tres factores pronósticos ya mencionados en pacientes con diversos tipos de neoplasias hematológicas, ya que debe investigarse la posible utilidad de éstos en dichas neoplasias.
- 11.3 Se recomienda estudiar las posibles anomalías genéticas asociadas a valores altos de DHL, I-3-DHL y B-2-M en pacientes con linfoma no-Hodgkin.
- 11.4 Se recomienda diseñar una boleta de recolección de datos específica para pacientes con diagnóstico histológico de linfoma no-Hodgkin, la cual debe incluir las variables clínicas, radiográficas, bioquímicas e inmunológicas pertinentes.

**12. REFERENCIAS.**

1. Robbins S., et al., eds. Patología estructural y funcional. 3a. ed. México, D.F.: Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V., 1987, pag. 653
2. Ristic S, et al. Non-Hodgkin's lymphoma: morphologic, immunologic and cytogenetic classification. *Srp Arh Celok Lek* 1,996;124: 276-282
3. Smith MR. Non-Hodgkin's lymphoma. *Curr Probl Cancer* 1,996;20:6-77
4. De Stefani E, et al. Tobacco, alcohol, diet and risk of non-Hodgkin's lymphoma: a case control study in Uruguay. *Leuk Res* 1,998;22:445-452
5. Siebert R, et al. Familial Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma: different patterns in first-degree relatives. *Leuk Lymphoma* 1,997;27:503-507
6. Zhu K, et al. Non-Hodgkin's lymphoma and family history of malignant tumors in a case control study (United States). *Cancer Causes Control* 1,998;9:77-82
7. Carbone A, et al. Pathological and immunophenotypic features of adult non-Hodgkin's lymphomas by age group. *Hum Pathol* 1,997;28:580-587
8. Liga nacional contra el cáncer. Registro Nacional de Cáncer de Guatemala, Informes de años 1,993 y 1,994. 1,997 286 p.
9. Hoel DG. Ionizing radiation and cancer prevention. *Environ Health Perspect* 1,995;103:241-243
10. Little JB. Cellular, molecular, and carcinogenic effects of radiation. *Hematol Oncol Clin North Am* 1,993;7:337-352
11. Rossi HH, Zaider M. Compound dual radiation action. I. General aspects. *Radiat Res* 1,992;132:178-183
12. Fry RJ. Effects of low doses of radiation. *Health Phys* 1,996;70:823-827
13. Weichselbaum RR, et al. An important step in radiation carcinogenesis may be inactivation of cellular genes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1,989;16:277-282



14. Sankaranarayanan K, Chakraborty R. Cancer predisposition, radiosensitivity and the risk of radiation-induced cancers. I. Background. *Radiat Res* 1,995;143:121-143
15. Hardell L, Axelson O. Environmental and occupational aspects on the etiology of non-Hodgkin's lymphoma. *Oncol Res* 1,998;10:1-5
16. Pearce N, Bethwaite P. Increasing incidence of non-Hodgkin's lymphoma: occupational and environmental factors. *Cancer Res* 1,992;52:5496S-5500S
17. Delson G, et al. Histogenesis of malignant lymphomas. *Rev Prat* 1,993;43:1627-1632
18. Brind AM, et al. Non-Hodgkin's lymphoma and Hepatitis C virus infection. *Leuk Lymphoma* 1,996;21:127-130
19. Luppi M, et al. Hepatitis C virus infection in subsets of neoplastic lymphoproliferations not associated with cryoglobulinemia. *Leukemia* 1,996;10:351-355
20. Ohsawa M, et al. Hepatitis C viral genome in a subset of primary hepatic lymphomas. *Mod Pathol* 1,998;11:471-478
21. Sansonno D, et al. Detection and distribution of hepatitis C virus-related proteins in lymph nodes of patients with type II mixed cryoglobulinemia and neoplastic or non-neoplastic lymphoproliferation. *Blood* 1,996;88:4638-4645
22. Catassi C, et al. High prevalence of hepatitis C virus infection in patients with non-Hodgkin's lymphoma at the onset. Preliminary results of an italian multicenter study. *Recenti Prog Med* 1,998;89:63-67
23. Ferric, et al. Viruses and cancers: possible role of hepatitis C virus. *Eur J Clin Invest* 1,997;27:711-718
24. Brockmeyer N, Barthel B. Clinical manifestations and therapies of AIDS associated tumors. *Eur J Med Res* 1,998;3:127-147
25. Penkowa M, Hansen PB. AIDS related non-Hodgkin's lymphomas. Clinical picture and prognosis. *Ugeskr Laeger* 1,998;160:2685-2688
26. Knowles DM. Molecular pathology of acquired immunodeficiency syndrome related non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Diagn Pathol* 1,997;14:67-82

27. Kuljic-Kapulica N. Detection of Epstein-Barr virus DNA in malignant lymphomas. *Vojnosanit Pregl* 1,997;54:465-468
28. Quintanilla-Martinez L, et al. Primary non-Hodgkin's lymphoma of the intestine: high prevalence of Epstein-Barr virus in mexican lymphomas as compared with European cases. *Blood* 1,997;89:644-651
29. Kieff E, Leibowitz D. Oncogenesis by Herpes virus. In Weinberg RA (ed.): *Oncogenesis and the molecular origin of cancer*. Cold spring harbor, NY, cold spring harbor laboratory press, 1,989, p 259
30. Ballerini P, et al. Multiple genetic lesions in acquired immunodeficiency syndrome related non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1,993; 81:166-170
31. Hamilton SJ, Pallesen G. A survey of Epstein-Barr virus gene expression in sporadic non-Hodgkin's lymphoma. *Am J Pathol* 1,992;140:1315-1318
32. Neri A, et al. Epstein-Barr virus infection precedes clonal expansion in Burkitt's and acquired immunodeficiency-associated lymphoma. *Blood* 1,991;77:1092-1094
33. Zurhausen H, et al. EBV-DNA in biopsies of Burkitt tumors and anaplastic carcinomas of the nasopharynx. *Nature* 1,970;228:1056-1061
34. Carbone A, et al. Kaposi's sarcoma associated Herpes virus DNA sequences in AIDS related and AIDS unrelated lymphomatous effusions. *Br J Haematol* 1,996;94:533-537
35. Cesarman E, et al. Kaposi's sarcoma associated Herpes virus like DNA sequences in AIDS related body cavity based lymphomas. *N Engl J Med* 1,995;332:1186-1190
36. Chang Y, et al. Identification of Herpes virus like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science* 1,994;266:1865-1868
37. Gaidano G, et al. Distribution of human Herpes virus 8 sequences throughout the spectrum of AIDS-related neoplasia. *AIDS* 1,996;10:941-945
38. Gaidano G, et al. Human Herpes virus type 8 (HHV-8) in haematologic neoplasia. *Leuk Lymphoma* 1,997
39. Pastore C, et al. Distribution of Kaposi's sarcoma herpes virus sequences among lymphoid malignancies in Italy and Spain. *Br J Haematol* 1,995;91:918-924

40. Cesarman E, et al. In vitro establishment and characterization of two acquired immunodeficiency syndrome related lymphoma cell lines (BC-1 and BC-2) containing Kaposi's sarcoma associated Herpes virus like (KSHV) DNA sequences. *Blood* 1,995;86:2708-2714
41. Gaidano G, et al. Establishment of AIDS related lymphoma cell lines from lymphomatous effusions. *Leukemia* 1,996;10:1237-1239
42. Renne R, et al. Lytic growth of Kaposi's sarcoma associated Herpes virus (human herpes virus-8) in culture. *Nature Med* 1,996;2:342-347
43. Arvanitakis L, et al. Kaposi's sarcoma associated Herpes virus (KSHV/HHV-8) ORF-74 encodes a constitutively active G-protein coupled-receptor that is expressed in Kaposi's sarcoma and primary effusion lymphoma. *Blood* 1,996;88 (suppl 1):2059-2063
44. Chang Y, et al. Cyclin encoded by KS Herpes virus. *Nature* 1,996;382:410-413
45. Moore PS, et al. Molecular mimicry of human cytokine and cytokine response pathway genes by KSHV. *Science* 1,996;274:1739-1744
46. Nador RG, et al. Expression of Kaposi's sarcoma associated herpes-virus (KSHV/HHV-8) cyclin and G-protein coupled receptor genes during latent and lytic replication in primary effusion lymphoma (PEL) cell lines. *Blood* 1,996;88(suppl 1):6359-6362
47. Canellos GP, Lister TA, Sklar JL. *The Lymphomas*. 1st. ed. Philadelphia, USA: W.B. Saunders Company, 1,998. 581 p.
48. Manoharan A, et al. Primary extranodal non-Hodgkin's lymphoma. *Pathology* 1,986;18:413-417
49. Chan J, et al. Relationship between high-grade lymphoma and low-grade B-cell mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma (MALToma) of the stomach. *Am J Pathol* 1,990;136:1153-1157
50. Wotherspoon AC, et al. *H. pylori* associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet* 1,991;338:1175-1179
51. D'Amore F, et al. Clinicopathological features and prognostic factors in extra-nodal

- non-Hodgkin's lymphomas: Danish LYFO study group. *Eur J Cancer* 1,991;27:1201-1205
52. Contreary K, et al. Primary lymphoma of the gastrointestinal tract. *Ann Surg* 1,980;191:593-598
  53. Weingrad DN, et al. Primary gastrointestinal lymphoma: a 30 year review. *Cancer* 1,982;49:1258-1263
  54. Lewin KJ, et al. Lymphomas of the gastrointestinal tract: a study of 117 cases presenting with gastrointestinal disease. *Cancer* 1,978;42:693-699
  55. Azab MB, et al. Prognostic factors in primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma: a multivariate analysis, report of 106 cases, and review of the literature. *Cancer* 1,989;64:1208-1212
  56. Spencer J, et al. Enteropathy associated T-cell lymphoma (malignant histiocytosis of the intestine) is recognized by a monoclonal antibody (HML-1) that defines a membrane molecule on mucosal lymphocytes. *Am J pathol* 1,988;132:1-9
  57. Swinson CM, et al. Coeliac disease and malignancy. *Lancet* 1,983;1:111-116
  58. Chott A, et al. Peripheral T-cell lymphomas of the intestine. *Am J Pathol* 1,992;141:1361-1367
  59. Al-Mondhiry H. Primary lymphomas of the small intestine: east-west contrast. *Am J Hematol* 1,986;22:89-93
  60. Alpha-Chain Disease and related small intestinal lymphoma: a memorandum. *Bull WHO* 1,976;54:615-618
  61. Khojasteh A, et al. Immunoproliferative small intestinal disease: A "third world" lesion. *N Engl J Med* 1,983;308:1401-1405
  62. Liang R, et al. Management of stage I-II diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma of the Waldeyer's ring: combined modality therapy versus radiotherapy alone. *Hematol Oncol* 1,987;5:223-226
  63. Liang R, et al. Nasal lymphoma: a retrospective analysis of 60 cases. *Cancer* 1,990;66:2205-2209

64. Campo E, et al. Non-Hodgkin's lymphoma of nasal cavity and paranasal sinuses. *Am J Clin Pathol* 1,991;96:184-189
65. Gleeson MJ, et al. Lymphomas of the salivary glands. *Cancer* 1,986;58:699-703
66. Laing RW, et al. The significance of MALT histology in thyroid lymphoma: A review of patients from the BULI and Royal Marsden Hospital. *Clin Oncol* 1,994;6:300-304
67. Holm LE, et al. Cancer risks in patients with chronic lymphocytic thyroiditis. *N Engl J Med* 1,985;312:601-605
68. Rathmell AJ, et al. Localized lymphoma of bone: prognostic factors and treatment recommendations. The princess Margaret Hospital Lymphoma group. *Br J Cancer* 1,992;66:603-606
69. Bacci G, et al. Primary lymphoma of bone: long term results in patients treated with vincristine-adriamycin-cyclophosphamide and local radiation. *J Chemother* 1,991;3:189-194
70. Ostrowski ML, et al. Malignant lymphoma of bone. *Cancer* 1,986;58:2646-2650
71. Restrepo A, et al. *Hematología*. 4a. ed. Medellin, Colombia: Corporación para Investigaciones Biológicas, 1,992. 395 p (p 206-222)
72. Zhang YJ. Pathologic and immunohistochemical study of non-Hodgkin's lymphoma. *Chung Hua Ping Li Hsueh Tsa Chih* 1,993;22:275-278
73. Fernández-Rañada JM. *Terapia en Oncohematología*. 2a. ed. Madrid, España: Harcourt-Brace, 1,998. 394 p (p 154)
74. García-Zueco JC, et al. Non-Hodgkin's lymphomas. I. Clinico-biological features of 307 cases. *Sangre (Barc)* 1,992;37:331-336
75. Ahmad M, et al. Non-Hodgkin's lymphoma. Clinico-Pathological pattern. *J Pak Med Assoc* 1,992;42:205-207
76. Ding SL, et al. Non-Hodgkin's lymphoma in adults: a clinico-pathological study of 169 cases. *J Formos Med Assoc* 1,990;89:1017-1022
77. Planinc-Peraica A, et al. Relation between clinical parameters and histologic findings in

- patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Acta Med Jugosl* 1,991;45:231-244
78. Nair S, et al. Non-Hodgkin's Lymphoma presenting with prominent splenomegaly clinicopathologic diversity in relation to immunophenotype. *Acta Oncol* 1,997;36:725-727
  79. Jaffe ES, et al. An overview of the classification of non-Hodgkin's lymphomas: an integration of morphological and phenotypical concepts. *Cancer Res* 1,992;52:5447S-5452S
  80. The non-Hodgkin's Lymphoma pathologic classification project. National Cancer Institute sponsored study of classifications of non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer* 1,982;49:2112-2135
  81. Krueger GR, et al. A new working formulation of non-Hodgkin's lymphomas. A retrospective study of the new NCI classification proposal in comparison to the Rappaport and Kiel classifications. *Cancer* 1,983;52:833-840
  82. Harris NL, et al. A revised European American classification of lymphoid neoplasms: A proposal from the international lymphoma study group. *Blood* 1,994;84:1361-1363
  83. Chan JCK, et al. A proposal for classification of lymphoid neoplasms (by the international lymphoma study group ). *Histopathology* 1,994;25:517-520
  84. Spier CM, et al. Immunophenotypes in "well-differentiated" lymphoproliferative disorders, with emphasis on small lymphocytic lymphoma. *Hum pathol* 1,986;17:1126-1129
  85. Harris NL, Bhan AK. B-cell neoplasms of the lymphocytic, lymphoplasmacytoid, and plasma cell types: Immunohistologic analysis and clinical correlation. *Hum pathol* 1,985;16:829-833
  86. Medeiros LJ, et al. "Well differentiated" lymphocytic neoplasms immunologic findings correlated with clinical presentation and morphologic features. *Am J Pathol* 1,987;129:523-526
  87. Thaler J, et al. Diagnostic and prognostic value of immunohistological bone marrow examination. Results in 212 patients with lymphoproliferative disorders. *Blut* 1,987;54:213

88. Sundeen JT, et al. CD5 expression in small lymphocytic malignancies: correlations with clinical presentation and sites of disease. *Am J Surg Pathol* 1,992;16:130-132
89. Kipps TJ, et al. High frequency expression of a conserved K light chain variable region gene in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1,987;84:2916-2918
90. Zukerberg LR, et al. Diffuse low grade B-cell lymphomas: four different clinical distinct sub-types defined by a combination of morphologic and immunophenotypic features. *Am J Clin Pathol* 1,993;100:373-377
91. Balata A, Shen B. Immunophenotyping of sub-types of B-chronic (mature) lymphoid leukemia. *Cancer* 1,992;70:2436-2439
92. Levine EG, et al. There are differences in cytogenetic abnormalities among the histologic sub-types of the non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1,985;66:1414-1417
93. Koduru PRK, et al. Cytogenetic and histologic correlations in malignant lymphomas. *Blood* 1,987;69:97-100
94. Fifth International Workshop on chromosomes in leukemia-lymphoma correlation of chromosome abnormalities with histologic and immunologic characteristics in non-Hodgkin's lymphoma and adult T cell leukemia-lymphoma. *Blood* 1,987;70:1554-1561
95. Whang-Peng J, et al. Sequential analysis of 43 patients with non-Hodgkin's lymphoma: clinical correlations with cytogenetic histologic immuno phenotyping, and molecular studies. *Blood* 1,995;85:203-206
96. Offit K, Chagonti RSK. Chromosomal aberrations in non-Hodgkin's lymphoma: biological and clinical correlations. *Hematol Oncol Clin North Am* 1,991;5:853-855
97. Offit K, et al. t(9;14) (p13;q32) denotes a subset of low grade non-Hodgkin's lymphoma with plasmacytoid differentiation. *Blood* 1,992;80:2594-2597
98. Schouten HC, et al. Chromosomal abnormalities in untreated patients with non-Hodgkin's lymphoma: association with histology, clinical characteristics, and treatment outcome. *Blood* 1,990;75:1841-1843
99. Offit K, et al. Clinical and morphologic features of B-cell small lymphocytic lym-

- phoma with del (6) (q21q23). *Blood* 1,994;83:2611-2614
100. Datta T, et al. Chromosome analysis in chronic lymphocytic leukemia and related B-cell neoplasms. *Cancer Genet Cytogenet* 1,991;55:49-51
  101. Jones SE, et al. Non-Hodgkin's lymphomas IV: clinicopathologic correlation in 405 cases. *Cancer* 1,973;31:806-808
  102. Newell JR, et al. Incidence of lymphoma in the US classified by the Working formulation. *Cancer* 1,987;59:857
  103. Mann RB, et al. Malignant lymphomas: a conceptual understanding of morphologic diversity. *Am J Pathol* 1,979;94:105-108
  104. Jaffe ES. Follicular lymphomas: possibility that they are benign tumors of the lymphoid system. *J Natl Cancer Inst* 1,983;70:401-403
  105. Fukujara S, et al. Chromosome abnormalities in poorly differentiated lymphocytic lymphoma. *Cancer Res* 1,979;39:3119-3122
  106. Yunis JJ, et al. Multiple recurrent genomic defects in follicular lymphoma. *N Engl J Med* 1987;316:79-84
  107. Weisenburger DD. Pathological classification of non-Hodgkin's lymphoma for epidemiological studies. *Cancer Res* 1,992;52:5456-5460
  108. Acker B, et al. Histologic conversion in the non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Oncol* 1,983;1:11-16
  109. Cullen MH, et al. Histological transformation of non-Hodgkin's lymphoma: A retrospective study. *Cancer* 1,979;44:645-648
  110. Ersboll J, et al. Follicular low-grade non-Hodgkin's lymphoma: long term outcome with or without tumor progression. *Eur J Haematol* 1,989;42:155-159
  111. Garvin AJ, et al. An autopsy study of histologic progression in non-Hodgkin's lymphoma: 192 cases from the National Cancer Institute. *Cancer* 1,983;52:393-397
  112. Hubbard SM, et al. Histologic progression in non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1,982;59:258-263



113. Risdall R, et al. Non-Hodgkin's lymphoma: A study of the evolution of the disease based upon 92 autopsied cases. *Cancer* 1,979;44:529-532
114. Woda B, Knowles DM. Nodular lymphocytic lymphoma eventuating into diffuse histiocytic lymphoma. *Cancer* 1,979;43:303-307
115. Mitelman F. Catalog of chromosome aberrations in Cancer. 4th. ed. New York, Wiley-liss, 1,991
116. Bastard C, et al. Translocations involving band 3q27 and Ig gene regions in non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1,992;79:2527-2532
117. Offit K, et al. t(3;22)(q27;q11), a novel translocation associated with diffuse non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1,989;74:1876-1879
118. Baron BW, et al. Identification of the gene associated with the recurring chromosomal translocations t(3;14)(q27;q32) and t(3;22)(q27;q11) in B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1,993;90:5262-5266
119. Kerckaert JP, et al. LAZ3, a novel zinc finger encoding gene, is disrupted by recurring chromosome 3q27 translocations in human lymphoma. *Nature Genet* 1,993;5:66-69
120. Miki T, et al. Molecular cloning of the break point for 3q27 translocation in B-cell lymphomas and leukemias. *Blood* 1,994;83:217-221
121. Ye BH, et al. Alterations of bcl-6, a novel zinc finger gene, in diffuse large cell lymphoma. *Science* 1,993;262:747-750
122. Ye BH, et al. Cloning of bcl-6, the locus involved in chromosome translocations affecting band 3q27 in B-cell lymphoma. *Cancer Res* 1,993;53:2732-2735
123. Gaidano G, Dalla-Favera R. Molecular pathogenesis of AIDS related lymphomas. *Adv Cancer Res* 1,995;67:113-116
124. Look AT. Oncogenic role of "master" transcription factors in human leukemias and sarcomas: a developmental model. *Adv Cancer Res* 1,995;67:25-29
125. Gaidano G, et al. p53 mutations in human lymphoid malignancies: association with Burkitt lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*

1,991;88:5413-5417

126. Hollstein M, et al., p53 mutations in human cancers. *Science* 1,991;253:49-54
127. Gaidano G, et al. Deletions involving two distinct regions of 6q in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1,992;80:1781-1784
128. Dalla-Favera R. Chromosomal translocations involving the c-myc oncogene in lymphoid neoplasia. In Kirsch IR (ed.) *The causes and consequences of chromosomal aberrations*. Boca Raton, CRC press, 1,993, p312
129. Dalla-Favera R, et al. Human c-myc oncogene is located on the region of chromosome 8 that is translocated in Burkitt lymphoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1,982;79:7824-7832
130. Dalla-Favera R, et al. Translocation and rearrangements of the c-myc oncogene in human undifferentiated B-cell lymphomas *Science* 1,983;219:963-967
131. Davis M, et al. Chromosome translocations can occur on either side of the c-myc oncogene in Burkitt lymphoma cells. *Nature* 1,984;30:286-291
132. Hollis GF, et al. A variant translocation places the lambda immunoglobulin genes 3' to the c-myc oncogene in Burkitt's lymphoma. *Nature* 1,984;307:752-757
133. Taub R, et al. Translocation of c-myc gene into the immunoglobulin heavy chain locus in human Burkitt lymphoma and murine plasmacytoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1,982;79:7837-7843
134. Bissonette RP, et al. Apoptotic cell death induced by c-myc is inhibited by bcl-2. *Nature* 1,992;359:552-557
135. Evan GI, et al. Induction of apoptosis in fibroblasts by c-myc protein. *Cell* 1,992; 69:119-124
136. Fanidi A, et al. Cooperative interaction between c-myc and bcl-2 proto-oncogenes. *Nature* 1,992;359:554-558
137. Shi Y, et al. Role for c-myc in activation induced apoptotic cell death in T-cell hybridomas. *Science* 1,992;257:212-216

138. Block J eds. *Oncology. USA: Willey Medical Publications, 1,982. 350 p. (p 119-136)*
139. Lai HS, et al. Bone marrow involvement in non-Hodgkin's lymphoma. *Taiwan I Hsueh Hui Tsa Chih* 1,989;88:114-121
140. Rajic M, et al. Incidence of lymphoma cells in the bone marrow and peripheral blood in patients with non-Hodgkin's type lymphoma. *Srp Arh Celok Lek* 1,989;117:27-37
141. Hernández-Nieto L, et al. Bone marrow biopsy in non-Hodgkin's lymphoma: experience with 259 samples. *Sangre (Barc)* 1,989;34:271-277
142. Luoni M, et al. Bone marrow biopsy for the staging of non-Hodgkin's lymphoma: bilateral or unilateral trephine biopsy? *Tumori* 1,995;81:410-413
143. Coiffier B, Lepage WE. Prognostic factors in large cell lymphomas. *Leuk Lymphoma* 1,993;10:57-60
144. Díaz-Maqueo JC, et al. Prognosis determination in patients with malignant lymphoma. *Rev Invest Clin* 1,989;41:235-239
145. Velásquez WS, et al. Risk classification as the basis for clinical staging of diffuse large cell lymphoma derived from 10 year survival data. *Blood* 1,989;74:551-557
146. Rodríguez J, et al. A proposal for a simple staging system for intermediate grade lymphoma and immunoblastic lymphoma based on the tumor score. *Ann Oncol* 1,992;3:711-717
147. Danieu L, et al. Predictive model for prognosis in advanced diffuse histiocytic lymphoma. *Cancer Res* 1,986;46:5372-5379
148. Kaplan L, Pesce A. *Clinical chemistry. 2 ed. St. Louis, Missouri, USA: The C.V. Mosby Company, 1,989. 1149 p (p 417,789-791)*
149. D'Angelo G, et al. Clinical significance of the determination of lactate dehydrogenase in acute leukemia and non-Hodgkin's lymphoma. *Minerva Med* 1,989;80:549-552
150. Pau L, et al. Lactate dehydrogenase (LDH) isoenzymes and proliferative activity of lymphoid cells- an immunocytochemical study. *Clin Exp Immunol* 1,991;86:240-245
151. Ferraris AM, et al. Serum lactic Dehydrogenase as a prognostic tool for

- non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1,979;54:928-932
152. Jagannath S, et al. Stage IV diffuse large cell lymphoma: a long term analysis. *J Clin Oncol* 1,985;3:39-47
  153. Schneider RJ, et al. Prognostic significance of serum lactate dehydrogenase in malignant lymphoma. *Cancer* 1,980;46:139-143
  154. Martinsson U, et al. Prognostic relevance of serum markers in relation to histopathology, stage and initial symptoms in advanced low-grade non-Hodgkin's lymphomas. *Eur J Haematol* 1,988;40:289-298
  155. López-Guillermo A, et al. Large cell lymphoma: a study of prognostic factors and assesment of five recently proposed predictive systems. *Leuk Lymphoma* 1,993; 10:101-109
  156. Cowan RA, et al. Prognostic factors in high and intermediate grade non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Cancer* 1,989;59:276-282
  157. Endrizzi L, et al. Serum lactate dehydrogenase (LDH) as a prognostic index for non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1,982;18:945-949
  158. Barlogie B, et al. High serum levels of lactic dehydrogenase identify a high grade lymphoma like myeloma. *Ann Intern Med* 1,989;110:521-525
  159. Velásquez WS, et al. Stages I and II diffuse large cell lymphomas: prognostic factors and long term results with CHOP-bleo and radiotherapy. *Blood* 1,991;77:942-947
  160. García-Zueco JC, et al. Non-Hodgkin's lymphomas. II. Analysis of the prognostic factors in a series of 307 patients. *Sangre (barc)* 1,992;37:337-344
  161. Suarez CR, et al. Serum LDH values in childhood acute leukemias and non-Hodgkin's lymphoma. *Med Pediatr Oncol* 1,984;12:89-92
  162. Vezzoni MA, et al. Lactate dehydrogenase levels in cellular extracts of human malignant lymphomas. *Tumori* 1,983;69:279-282
  163. Fasola G, et al. Serum LDH concentration in non-Hodgkin's lymphomas. Relationship to histologic type, tumor mass, and presentation features. *Acta Haematol* 1,984;72: 231-238

164. Ricerca BM, et al. Serum lactate dehydrogenase isoenzyme pattern in non-Hodgkin's lymphomas. *Int J Biol Markers* 1,988;3:237-242
165. Rotenberg Z, et al. Elevation of serum lactic dehydrogenase levels as an early marker of occult malignant lymphoma. *Cancer* 1,984;54:1379-1381
166. Csako G, et al. Serum total and isoenzyme lactate dehydrogenase activity in american Burkitt's lymphoma patients. *Am J Clin Pathol* 1,982;78:712-717
167. Aviles A, et al. Value of serum beta-2-microglobulin as an indicator of early relapse in diffuse large cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 1,993;9:377-380
168. Hagberg H, et al. Serum beta-2-microglobulin in malignant lymphoma. *Cancer* 1,983;51:2220-2225
169. Todd-Sanford-Davidson. *Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio*. 8a. ed, 1,988, Cap. 14 y 38 tomo II, Salvat editores S.A.
170. Revillard JP, et al. Beta-2-microglobulin and Beta-2-microglobulin binding proteins in inflammatory diseases. *Eur J Rheumatol Inflamm* 1,982;5:398-405
171. Nakao Y, et al. Genetic and clinical studies of serum Beta-2-microglobulin levels in haematological malignancies. *Clin Exp Immunol* 1,981;46:134-141
172. Hansen PB, Olsen NV. Beta-2-microglobulin in medical disease. *Ugeskr Laeger* 1,989;151:2960-2962
173. Clement F. Beta-2-microglobulin. *Schweiz Med Wochenschr* 1,983;113:838-843
174. Suki S, et al. Risk classification for large cell lymphoma using lactate dehydrogenase, Beta-2-microglobulin and Thymidine Kinase. *Leuk Lymphoma* 1,995;18:87-92
175. Swan F Jr., et al. A new serologic staging system for large cell lymphomas based on initial Beta-2-microglobulin and Lactate dehydrogenase levels. *J Clin Oncol* 1,989;7:1518-1527
176. Anderson H, et al. Serum Beta-2-microglobulin in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1,983;19:327-331
177. Aviles A, et al. Beta-2-microglobulin level as an indicator of prognosis in diffuse large cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 1,992;7:135-138

178. Pavlidis AN, et al. Serum tumor markers in non-Hodgkin's lymphomas and chronic lymphocytic leukemia. *Int J Biol Markers* 1,993;8:14-20
179. Johnson PW, et al. Beta-2-microglobulin: a prognostic factor in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphomas. *Br J Cancer* 1,993;67:792-797
180. Litam P, et al. Prognostic value of serum beta-2-microglobulin in low-grade lymphoma. *Ann Intern Med* 1,991;114:855-860
181. Aviles A, et al. Prognostic value of serum beta-2-microglobulin in primary gastric lymphoma. *Hematol Oncol* 1,991;9:115-121
182. Johansson B, et al. Cytogenetic deletion maps of hematologic neoplasms: circumstantial evidence for tumor suppressor loci. *Genes Chromosomes Cancer* 1,993;8:205-218
183. Pirc-Danoewinata H, et al. Karyotype and prognosis in non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia* 1,994;8:1929-1939
- 184 Mrózek K, Bloomfield CD. Cytogenetics of indolent lymphomas. *Semin Oncol* 1,993;20:47-52
- 185 Fleischman EW, Prigonina EL. Karyotype peculiarities of malignant lymphomas. *Human Genet* 1,977;35:269-272
- 186 Van Den Berghe H, et al. A new characteristic karyotypic anomaly in lymphoproliferative disorders. *Cancer* 1,979;44:188-191
187. Offit K, et al. Clusters of chromosome aberrations are associated with clinico-pathologic subsets of non-Hodgkin's lymphoma. *Genes Chromosom Cancer* 1,993; 7:1-5
188. Kaneko Y, et al. Chromosomal and immunophenotypic patterns in T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) and lymphoblastic lymphoma (LBL). *Leukemia* 1,989; 3:886-890
189. Magrath I. Molecular basis of lymphomagenesis. *Cancer Res* 1,992;52:5529s-5533s
190. Lee MS, et al. The gene located at chromosome 18 band q21 is rearranged in uncultured diffuse lymphomas as well as follicular lymphomas. *Blood* 1,987;70:90-93

191. Boehringer-Mannheim. Lactate dehydrogenase EC. 1.1.1.27., Doc. Tec. 1,997. 2p.
192. Sigma Diagnostics. Lactate dehydrogenase isoenzymes electrophoretic fractionation and colorimetric detection of lactate dehydrogenase isoenzymes. Doc. Tec. 705-EP, 1,989. 15p.
193. Quorum Diagnostics Inc. Quorum EIA B-2-microglobulin. Enzyme-immunoassay for the quantitative determination of B-2-microglobulin in human serum. Doc. Tec., 1,997. 4p.

**13. ANEXOS.**

Anexo No. 1  
Clasificación de Trabajo para los Linfomas  
no-Hodgkin

---

---

Bajo Grado

---

- a. Linfoma maligno linfocítico pequeño  
Consistente con LLC  
Plasmacitoide
- b. Linfoma maligno, folicular, predominantemente de células pequeñas hendidas  
Areas difusas  
Esclerosis
- c. Linfoma maligno, folicular, mixto, de células pequeñas hendidas y células grandes  
Areas difusas  
Esclerosis

---

---

Grado Intermedio

---

- d. Linfoma maligno, folicular, predominantemente de células grandes  
Areas difusas  
Esclerosis
- e. Linfoma maligno, difuso, de células pequeñas hendidas  
Esclerosis
- f. Linfoma maligno, difuso, mixto, de células pequeñas y grandes  
Esclerosis  
Células epitelioides



- g. Linfoma maligno, difuso, de células grandes
  - Células hendidas
  - Células no hendidas
  - Esclerosis

---

---

Alto grado

---

- h. Linfoma maligno, de células grandes, inmunoblástico
  - Plasmacitoide
  - Células claras
  - Polimorfo
  - Células epitelioides
- i. Linfoma maligno, linfoblástico
  - Células convolutas
  - Células no convolutas
- j. Linfoma maligno, de células pequeñas no hendidas
  - Burkitt
  - Áreas foliculares

---

---

Misceláneos

---

- Compuestos
  - Micosis fungoide
  - Histiocítico
  - Plasmacitoma extra-medular
  - No clasificable
  - Otros
- 
-

Anexo No. 2  
Indicaciones para biopsia de nódulo linfático

- 
- Síntomas constitucionales (pérdida de peso, fiebre y sudoración nocturna) sin explicación alguna
  - Adenopatía persistente (mayor de 2-3 semanas)
  - Aumento en el tamaño de los nódulos linfáticos por varias semanas
  - Aparición de nódulos linfáticos adicionales
  - Alto riesgo de SIDA ó VIH
  - Resultados anormales en pruebas sanguíneas (anemia, velocidad de sedimentación aumentada, deshidrogenasa láctica sérica total o química hepática) sin explicación
  - Radiografía anormal de tórax (adenopatía en mediastino)
-

## Anexo No. 3

**BOLETA DE RECOLECCION DE INFORMACION AL EVALUAR  
B-2-MICROGLOBULINA, DESHIDROGENASA LACTICA SERICA TOTAL  
E ISOENZIMA 3 DE DHL EN PACIENTES CON LINFOMA NO-HODGKIN**

**INFORMACION Y RESULTADOS**

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha nacimiento \_\_\_\_\_  
 Edad: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_  
 Domicilio: \_\_\_\_\_  
 Telefono: \_\_\_\_\_ No. Registro médico \_\_\_\_\_

**INFORMACION CLINICA**

Linfadenopatía \_\_\_\_\_ Pérdida de peso \_\_\_\_\_ Síndrome vena-cava-sup. \_\_\_\_\_  
 Esplenomegalia \_\_\_\_\_ Sudoración nocturna \_\_\_\_\_ Síntomas GI \_\_\_\_\_  
 Hepatomegalia \_\_\_\_\_ Fiebre \_\_\_\_\_ Síntomas cutáneos \_\_\_\_\_  
 Cansancio \_\_\_\_\_ Anorexia \_\_\_\_\_ Otros \_\_\_\_\_

**DIAGNOSTICO PATOLOGICO**

Pieza o tejido: \_\_\_\_\_  
 Diagnóstico histológico: \_\_\_\_\_  
 Grupo pronóstico: \_\_\_\_\_

**BIOPSIA/ASPIRADO DE MEDULA OSEA**

**PRUEBAS DE LABORATORIO**

B-2-microglobulina: \_\_\_\_\_  
 Deshidrogenasa láctica sérica total: \_\_\_\_\_  
 Isoenzima 3 de DHL: \_\_\_\_\_

Anexo No. 4 . Tabla de contingencia para la deshidrogenasa láctica sérica total.

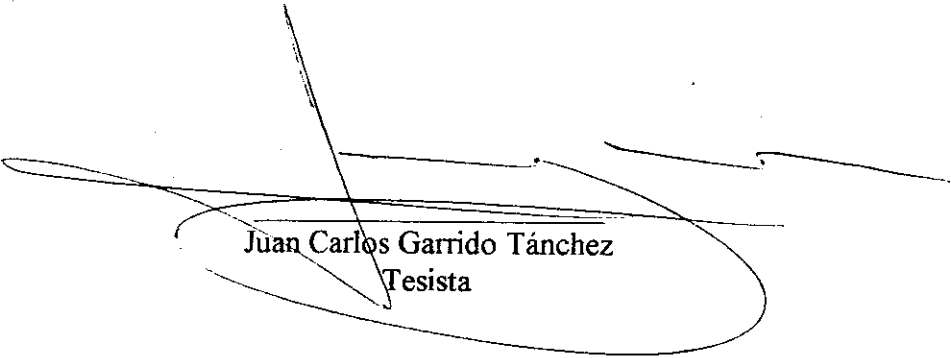
	<b>NORMAL</b>	<b>ELEVADO</b>	<b>TOTAL</b>
Linfoma no-Hodgkin	11	12	23
Sanos	15	8	23
<b>TOTAL</b>	26	20	46

Anexo No. 5 . Tabla de contingencia para la isoenzima 3 de deshidrogenasa láctica sérica total.

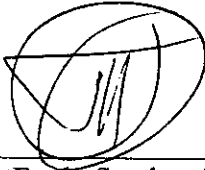
	<b>NORMAL</b>	<b>ELEVADO</b>	<b>TOTAL</b>
Linfoma no-Hodgkin	1	22	23
Sanos	17	6	23
<b>TOTAL</b>	18	28	46

Anexo No. 6 . Tabla de contingencia para la Beta-2-microglobulina.

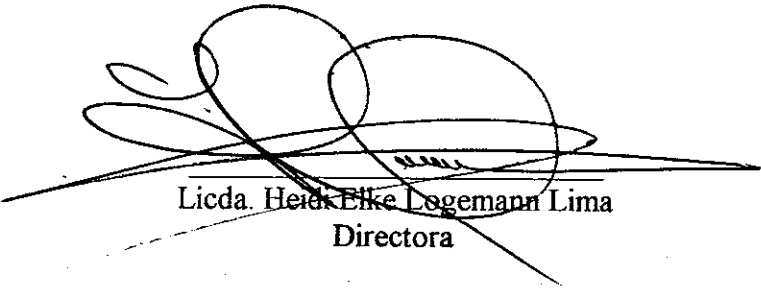
	<b>NORMAL</b>	<b>ELEVADO</b>	<b>TOTAL</b>
Linfoma no-Hodgkin	12	11	23
Sanos	12	11	23
<b>TOTAL</b>	24	22	46



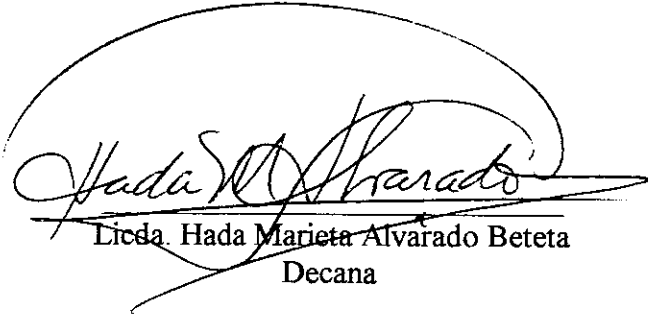
Juan Carlos Garrido Tánchez  
Tesisista



Dr. Mario Fredy Sandoval Castañeda  
Asesor de tesis



Licda. Heidi Elke Logemann Lima  
Directora



Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta  
Decana