

IMPORTANCIA DEL ESTUDIO CITOQUIMICO EN EL DIAGNOSTICO DEL LINFOMA DE BURKITT

INSTITUTO NACIONAL DE ONCOLOGIA Y RADIOBIOLOGIA

Lic. Enrique Rengifo*, Lic. Eloisa Le Riverend*, Dr. Santiago Quintero**, Dra. Marta Longchong***,
Lic. Relman Ruiz*, Téc. Tania Soler**** y Téc. Mirian Merino****

Rengifo, E. et al.: *Importancia del estudio citoquímico en el diagnóstico del linfoma de Burkitt.*

Se estudian 26 pacientes que padecen de tumores clínicamente compatibles con el diagnóstico de linfoma de Burkitt. El estudio histopatológico y citoquímico permitió establecer el diagnóstico certero en 9 casos. El resto de los casos correspondieron a linfoma linfocítico pobremente diferenciado y linfoma histiocítico, 2 entidades con las que es necesario establecer el diagnóstico diferencial de linfoma de Burkitt. En las improntas teñidas con May-Grunwald-Giemsa, en casos de linfoma de Burkitt, las células linfoides presentaron pequeñas vacuolas de tamaño uniforme distribuidas por el citoplasma a manera de collar o agrupadas en la región paranuclear, que se tiñen con colorantes para grasas neutras. El citoplasma basófilo y pironinofílico no presenta en general actividad alfa naftol acetato esterasa (ANAE) ni fosfatasa ácida y es paraamino salicílico (PAS) negativo. Los histocitos por su parte, presentaron con frecuencia gotas de grasas neutras y en algunos casos presentaron material PAS positivo en su citoplasma.

INTRODUCCION

En 1958 *Burkitt*¹ describió en niños africanos un linfoma de características muy particulares y en estudios epidemiológicos posteriores se postuló que por su distribución geográfica podría ser el primer tumor humano de origen viral.^{2, 3}

En 1964 *Epstein et al.*⁴ hallaron un virus en un cultivo de material de biopsia de un paciente que padecía de linfoma de Burkitt. Este virus actualmente se conoce como virus Epstein-Barr, agente causal de la mononucleosis infecciosa y se asocia fuertemente al tumor de Burkitt en niños africanos (variedad endémica),^{5, 6} no así en casos americanos, europeos o de otras latitudes (variedad no endémica).⁷ Además, ambas variedades difieren entre sí por la distribución etaria y él o los sitios de presentación.⁸

El linfoma de Burkitt es un linfoma indiferenciado a inmunoblastos B, de crecimiento particularmente rápido y muy sensible a la quimioterapia,⁹ que presenta un cuadro clínico inespecífico, similar al de otros tumores linforreticulares o de otra histogénesis.^{10, 11}

El cuadro histológico se caracteriza por la presencia de células linfoides B uniformemente inmaduras, que presentan un número variable de pequeñas vesículas claras, de

* Licenciado en Química. Investigador Auxiliar. Departamento de Biología.

** Especialista de I Grado en Anatomía Patológica.

*** Especialista de I Grado en Pediatría. Jefe de los Servicios de Oncopediatría.

**** Técnico Medio. Departamento de Biología.

tamaño uniforme, que corresponden a gotas de lípidos, junto a grandes histiocitos espumosos en cuyo citoplasma puede observarse restos celulares, distribuidos en forma tal que el cuadro histológico presenta un aspecto de cielo estrellado típico,^{1,12,13} no patognomónico, ya que puede observarse en otros tumores malignos, con los cuales es necesario establecer diagnóstico diferencial.^{12,14}

El objetivo del presente trabajo es informar nuestra experiencia en el estudio de 23 casos de linfomas extraganglionares, clínicamente compatibles con el linfoma de Burkitt, en 9 de los cuales se estableció diagnóstico certero de linfoma de Burkitt.

MATERIAL Y METODO

Del material de biopsia de 23 pacientes que presentaban tumores de localización extraganglionar, clínicamente compatibles con linfoma de Burkitt, se tomó un fragmento para su procesamiento en parafina, previa fijación en formol al 10 %, con el cual se obtuvieron cortes coloreados en hematoxilina y eosina. Con el otro fragmento se realizaron improntas seriadas. Además, se realizaron frotis de muestras de sangre periférica y/o médula ósea, a fin de realizar estudios etiológicos y citoquímicos, que comprendieron las siguientes técnicas:

1. Técnica de May Grunwald-Giemsa según *Forteza* (1964),¹⁵ en improntas y frotis secados al aire durante 1 hora.
2. Aceite rojo O (*Oil red o*) en propilen glicol según *Chayen et al.* (1969),¹⁶ en improntas secadas al aire.
3. Reacción PAS según *Hotchkiss y Mc Manus*, tomado de *Chayen et al.* (1969).¹⁶
4. Verde metilopironina de *Brachet* según *Spannkoff* (1966),¹⁷ en improntas fijadas en metanol absoluto durante 5 min.
5. Fosfatasa ácida según el método del Naftol Fosfato de *Grössner* (1958).¹⁸
6. Alfa naftol acetato esterasa según *Gomori* (1952).¹⁹

RESULTADOS

De los 23 tumores estudiados, 14 presentaron un patrón histológico en forma de *cielo estrellado*, dado por la presencia de histiocitos grandes y espumosos, que en general contienen detritus celulares en su citoplasma, rodeados de células linfoides inmaduras que constituyen el elemento tumoral.

De los casos que presentaron aspecto de *cielo estrellado*, 2 fueron descartados por presentar zonas de maduración de las células linfoides, lo que sugirió el diagnóstico de linfoma linfocítico pobremente diferenciado. En el otro, la intensa actividad fosfatasa ácida y alfa naftol acetato esterasa (ANAE), así como la presencia de gotas de lípidos de tamaño no uniforme, sugirieron el diagnóstico de linfoma histiocítico.

Los 11 casos restantes presentaron células linfoides uniformemente inmaduras, de citoplasma basófilo y pironinofílico, las cuales en las extensiones contenían en su citoplasma pequeñas gotas de lípidos de tamaño uniforme y distribuidas a manera de collar o en ocasiones agrupadas. Sin embargo, la observación en 2 de estos casos de pequeños gránulos ácido paraamino salicílico (PAS) positivos en el citoplasma de las células tumorales descartó el diagnóstico de linfoma de Burkitt.

La edad de los pacientes que padecían de linfoma de Burkitt osciló entre 4 y 14 años, para una media de 7,1. La proporción de pacientes según el sexo M/F fue de 1,7:1, seme-

jante a la observada en zonas endémicas. Todos los casos tenían color de la piel blanco, excepto uno que era mestizo. La localización del tumor varió y en ocasiones se observaron tumores múltiples, los sitios más frecuentemente afectados fueron los maxilares y el abdomen, aunque también se observó en nasofaringe, riñones y región intracraneal, 3 de nuestros casos se observaron en la provincia de Pinar del Río, 2 en Ciudad de La Habana, 1 en provincia La Habana, 1 en Ciego de Avila y 1 en Camagüey.

DISCUSION

El estudio citoquímico permitió realizar el diagnóstico diferencial, especialmente en los 14 casos que presentaron un cuadro histológico en forma de *cielo estrellado*. Además, se evidenció que para lograr un diagnóstico certero, es necesario realizar todas las técnicas citoquímicas recomendadas por la OMS,¹² aunque los estudios inmunohistoquímicos pueden ser de utilidad, al demostrar que las células tumorales son monoclonales tipo B.

El diagnóstico de linfoma histiocítico se favorece cuando existen variaciones en la tinción citoplasmática, más evidente en la tinción de verde metilopironina de Brachet, y las células tumorales presentan intensa actividad fosfatasa ácida y alfa-naftol acetato esterasa (ANAE) fluoruro de sodio resistente, ambas homogéneamente distribuidas por el citoplasma,²⁰ mientras que el linfoma linfocítico pobremente diferenciado se caracteriza por variaciones en el tamaño de los núcleos, que a veces presentan indentaciones. El citoplasma presenta pironinofilia no marcada o variable.²¹

Aunque en nuestra serie no observamos casos de leucemia linfoblástica aguda, ni de crisis blástica de leucemia mieloide crónica, éstas son 2 entidades a tener en cuenta en el diagnóstico diferencial del linfoma de Burkitt.¹²

El estudio serológico de nuestros pacientes²² demostró que todos los casos que presentaron toma de los huesos faciales tenían altos títulos de anticuerpos contra antígenos asociados al VEB (Virus de Epstein-Barr), característica de los casos africanos, aunque puede además observarse en zonas no endémicas.^{23,24} Fuera de Africa la localización abdominal es la más frecuente y el paciente puede no presentar anticuerpos anti VEB, o ser éstos muy bajos.^{25,26}

Los casos de linfoma de Burkitt con frecuencia aparecen agrupados (*cluster*), en las zonas endémicas²⁷ y en las no endémicas.²⁸ En nuestro estudio 4 pacientes presentaron cercanía geográfica, 2 en el mismo municipio en la provincia de Pinar del Río y 2 en el mismo municipio en Centro Habana. Los dos últimos aparecieron con 18 meses de diferencia, mientras que los observados en la provincia de Pinar del Río, aparecieron cercanos en espacio y tiempo, por lo que se consideraron como posible agrupamiento, además, existe la posibilidad de que hubiera otro caso en dicho municipio, el cual no tuvo confirmación citoquímica.

El presente estudio demuestra la existencia del linfoma de Burkitt en nuestro país, por lo que ante casos clínicamente sospechosos, debemos tomar medidas para realizar los estudios citoquímicos y/o inmunohistoquímicos para lograr un diagnóstico positivo y diferencial adecuado de un tumor muy sensible a la quimioterapia y que detectado a tiempo puede presentar mejor pronóstico que otros linfomas de la infancia.

SUMMARY

Rengifo, E. et al : *Importance of cytochemical study in the diagnosis of Burkitt's lymphoma.*

Twenty six patients suffering tumors clinically compatible with the diagnosis of Burkitt's lymphoma are studied. The histopathologic and cytochemical study allowed to establish a skillful diagnosis in nine cases. The remainder cases corresponded to poorly differentiated lymphocytic lymphoma and to histiocytic lymphoma. With these two entities is necessary to establish differential diagnosis of Burkitt's lymphoma. In the cases of Burkitt's lymphoma, in plates stained by Mey-Grünwald-Giemsa method, the lymphoid cells presented small vacuoles, uniform in size, distributed by the cytoplasm as a collar or clustered in the paranuclear region, which are stained with dyes for neutral fat. In general, the basophilic and pyroninophilic cytoplasm does not present alphanaphtol acetate esterase (ANAE) activity neither acid phosphatase and is negative para-aminosalicylic acid (PAS). The histocytes presented, frequently, drops of neutral fats and in some cases presented positive PAS in the cytoplasm.

RÉSUMÉ

Rengifo E. et al.: *Importance de l'étude cytochimique dans le diagnostic du lymphome de Burkitt.*

On étudie 26 sujets porteurs de tumeurs compatibles du point de vue clinique avec le diagnostic de lymphome de Burkitt. L'étude histopathologique et cytochimique a permis de poser le diagnostic certain dans 9 cas, le reste a correspondu à lymphome lymphocytaire faiblement différencié et lymphome histiocytaire. 2 entités avec lesquelles il faut établir le diagnostic différentiel du lymphome de Burkitt. Dans les cas de lymphome de Burkitt, les échantillons sur lesquels on avait utilisé la coloration de May-Grünwald-Giemsa ont présenté des cellules lymphoïdes à petites vacuoles de taille uniforme, distribuées en collier par le cytoplasme ou groupées dans la région paranucléaire, qui sont colorées avec les colorants pour les graisses neutres. Le cytoplasme basophile et pyroninophile, généralement ne présente pas d'activité alpha-naphtol acétate estérase (ANAE) ni phosphate acide, étant acide paraamino salicylique (PAS) négatif. Par ailleurs, les histocytes ont souvent présenté des gouttes de graisses neutres et dans certains cas, du matériel PAS positif dans le cytoplasme.

BIBLIOGRAFIA

1. *Burkitt D. A.*: A sarcoma involving the jaws in African children. *Br J Surg* 468: 218-233, 1958.
2. *Burkitt D. A.*: A children's cancer dependent on climatic factors. *Nature (Lond)* 194: 232-234, 1962.
3. *Harris R. J. C.*: A virus aetiology for Burkitt's tumors? *Int J Cancer* 2: 559-561, 1967.
4. *Epstein, M. A., B. G. Achong; Y. M. Barr*: Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet* I: 702-703, 1964.
5. *Henle, G. et al.*: Antibodies to Epstein-Barr virus in Burkitt's lymphoma and control groups. *J Natl Cancer Inst* 43: 1147-1157, 1969.
6. *Henle, G. et al.*: Antibodies to early Epstein-Barr virus induced antigens in Burkitt's lymphoma. *J Natl Cancer Inst* 46: 861-871.
7. *Pagano, J. S., C. H. Huang, P. H. Levine*: Absence of Epstein-Barr viral DNA in American Burkitt's lymphoma. *New Engl J Med* 289: 1395-1399, 1973.
8. *Levine, P. H. et al.*: The American Burkitt's Lymphoma Registry. Eight year's experience. *Cancer* 19: 1016-1022, 1982.
9. *Charmot G., F. Rodhain, J. M. Roze*: Lymphoma de Burkitt en pays tropical: épidémiologie et relations avec le paludisme. *Nouv Presse Med* 7: 277-279, 1978.
10. *Ziegler, J. L.*: Clinical features and treatment of childhood malignant lymphoma in Uganda. *Int J Cancer* 5: 415-425, 1970.
11. *Zeigler, J. L. et al.*: Differential diagnosis of Burkitt's lymphoma of the face and jaws. *Cancer* 27: 503-514, 1971.
12. *Berard, C. W. et al.*: WHO Memoranda: Histopathological Definition of Burkitt's Tumor. WHO 40: 601-607, 1969.

13. *Olweny, Ch. L. M. et al.*: Long-term experience with Burkitt's lymphoma in Uganda. *Int J Cancer* 26: 261-266, 1980.
14. *Kendrup C., G. Pallesen*: A clinico-pathological study of 13 Danish cases of Burkitt's lymphoma. *Scand J Haematol* 27: 99-107, 1981.
15. *Forteza C.*: Atlas of Blood Cytology. Barcelona, Ed. Toray, 1964. P. 3.
16. *Chayen, J., R. Bitensky; P. Leonard*: A Guide to Practical Histochemistry. Edinburgh, Oliver and Boyd, 1969.
17. *Spannhoff, L.*: Histoquímica práctica. Zaragoza, Acribia, 1964.
18. *Grössner W.*: Histochemischer Nachweis Hydrolytischer Enzyme Suit Hilfe der Asufar Batoffi-methode *Histochemie* 1: 48-96, 1958.
19. *Gomori G.*: Microscopic Histochemistry: Principles and Practice (University of Chicago Press, Chicago, 1952).
20. *Van Heerde P. et al.*: Non-Hodgkin's lymphoma. Immunohistochemical and electron microscopical findings in relation to light microscopy. A study of 74 cases. *Cancer* 46: 2210-2220, 1980.
21. *Berard, C. W., J. Cossman; E. S. Saffe*: Malignant lymphomas as tumours of the immune system. *Br J Cancer* 42: 1-19, 1980.
22. *Le Riverend E. et al.*: Detección y estudio de pacientes con linfoma de Burkitt en Cuba. Congreso de Pediatría VII Latinoamericano XIV Panamericano XVI Nacional. Libro de Resúmenes I: HO-10, Habana, Cuba, 1984.
23. *Zeigler J. L. et al.*: Detection of Epstein-Barr virus in American Burkitt's lymphoma. *Int J Cancer* 17: 701-706, 1976.
24. *Wockel, W. et al.*: Contribution to the true non-African Burkitt's lymphoma. *Zentralbl Allg Pathol* 126: 113-115, 1982.
25. *Levine, P. H., G. T. O'Connor, C. W. Berard*: Antibody to Epstein-Barr virus (EBV) in American patients with Burkitt's lymphoma. *Cancer* 30: 610-615, 1972.
26. *Levine, P. H. et al.*: The American Burkitt's lymphoma Registry. Eight year's experience. *Cancer* 49: 1016-1022, 1982.
27. *Biggar R. J., F. K. Nkrumah*: Burkitt's lymphoma in Ghana: urban-rural distribution, time-space clustering and seasonality. *Int J Cancer* 23: 330-336, 1979.
28. *Judson S. C.; W. Henle; G. Henle*: A cluster of EBV-associated American Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med* 297: 464-468, 1977.

Recibido: 28 de agosto de 1986. Aprobado: 20 de septiembre de 1986.

Dr *Enrique Rengifo*. Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología. Calle 29 y E, Vedado, municipio Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana 4, Cuba.