

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	1
LINFOMAS	6
IMATUROS	6
LINFOMAS B	9
LINFOMA DE HODGKIN	46
LINFOMAS T	57
ABORDAGEM AO DOENTE	81
LINFOMA NÃO HODGKIN	81
LINFOMA HODGKIN	89
CASOS “CINZENTOS”	91
DISCUSSÃO E CONCLUSÃO.....	92
AGRADECIMENTOS.....	92
BIBLIOGRAFIA.....	93

INTRODUÇÃO

As neoplasias linfóides têm um espectro clínica que varia entre as mais indolentes e as mais agressivas das neoplasias humanas. Estes cancros surgem de células do sistema imunitário em diferentes estádios de diferenciação, podendo apresentar-se como uma leucemia (isto é, envolvimento primário do sangue e medula óssea) ou como um linfoma (um tumor sólido do sistema imunitário), embora esta apresentação não seja estanque (podendo ocorrer, mais frequentemente, transformação de um linfoma numa leucemia).

Os linfomas representam cerca de 5% das neoplasias diagnosticadas por ano nos EUA. De acordo com o último estudo (1992-2001) de vigilância epidemiológica americano, (SEER – *Surveillance Epidemiology End Results*), as neoplasias linfóides apresentam uma incidência de 33.65 por 100000 pessoas por ano, cabendo às neoplasias B 26.13, 1.79 para as neoplasias T e 2.67 para o linfoma de Hodgkin (Fig. 1 e 2)⁸³.

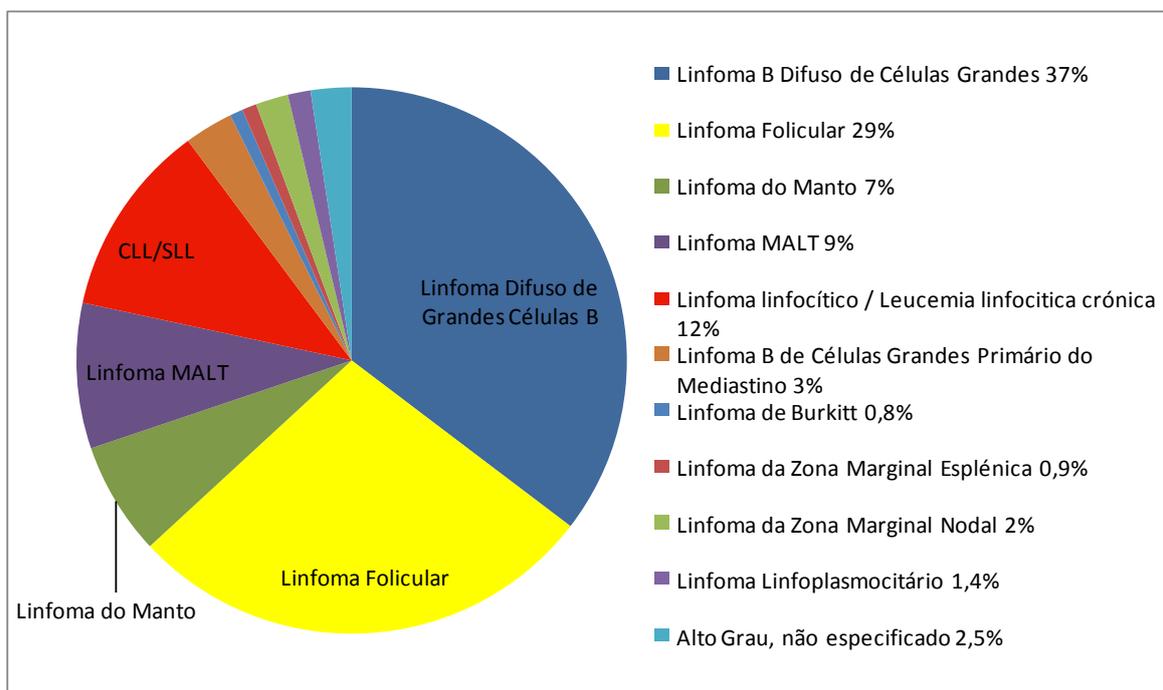


Fig.1 – Frequência relativa dos linfomas B nos adultos. Embora haja variações geográficas e étnicas acentuadas, o linfoma difuso de grandes células B e o linfoma folicular são os mais comuns, independentemente daqueles factores. *Adaptado de 83*

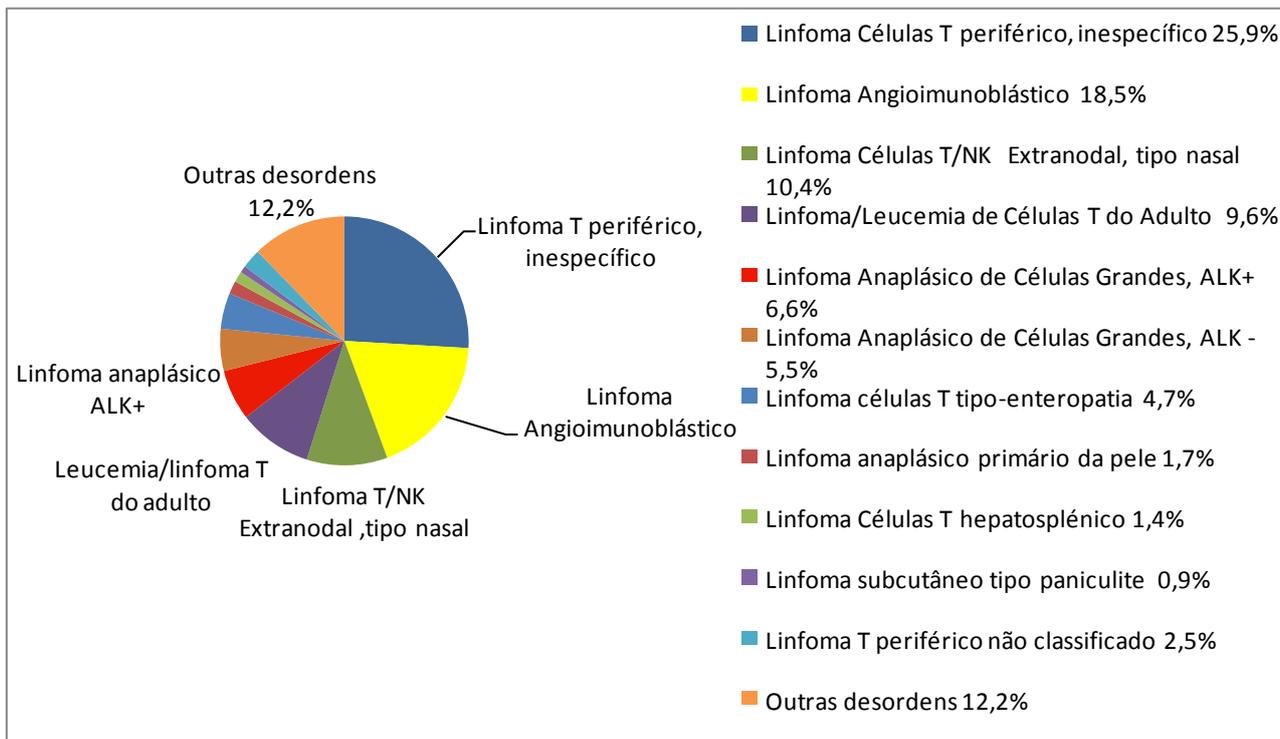


Fig.2 – Frequência relativa dos linfomas T nos adultos. Independentemente das variações geográficas, o linfoma T periférico, inespecífico e o linfoma angioimunoblástico, são os mais prevalentes a nível internacional. Note-se que o linfoma de células T tipo-enteropatia era utilizado como um termo genérico que englobava o linfoma T associado a enteropatia bem como outros linfomas T de envolvimento intestinal. Adaptado de 83

Em 1832, Thomas Hodgkin descreveu, numa publicação intitulada “*On Some Morbid Appearances of the Absorbant Glands and the Spleen*”, uma entidade clínica caracterizada pelo aumento dos gânglios linfáticos e esplenomegália, não sendo compatível com nenhuma entidade infecciosa conhecida à data. Vinte e quatro anos depois, Samuel Wilks descreveu 15 casos semelhantes, usando pela primeira vez o termo Doença de Hodgkin. Em 1845, Binnet e Virchow descrevem, duma maneira independente, os primeiros casos de leucemia. O último, dezanove anos depois, define o conceito de linfoma, denominando-o “leucemia aleucémica”. Mas foi só em 1942 que Gall e Mallory

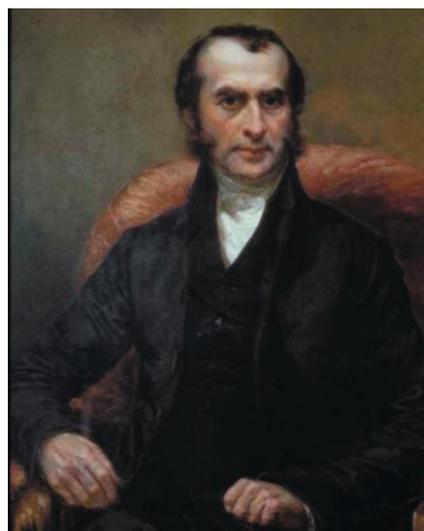


Fig. 3 -Thomas Hodgkin 1798-1866

introduziram uma tentativa sistematizada de classificação dos linfomas, baseada em critérios

clinicopatológicos.³ Desde então, vários sistemas de classificação foram desenvolvidos; em 2001, a Organização Mundial de Saúde (OMS) introduziu uma nova classificação construída a partir da REAL e da FAB.⁶⁴ Revista em 2008, esta tem por base a morfologia, imunofenotipagem (quadro 1 e 2), citogenética, patologia molecular, bem como a clínica e alguns aspectos da etiologia e patogénese. Também dá relevo à origem celular de cada neoplasia, sendo actualmente o método padrão de classificação de todas as neoplasias hematológicas (quadro 3).

Este trabalho tem por base a classificação da OMS das neoplasias hematopoiéticas e dos tecidos linfóides (2008) e pretende abordar os linfomas, abrangendo os quadros clínicos e as características definidas pela Anatomia Patológica.

Quadro 1– Imunofenótipos das neoplasias B maduras mais comuns. *Adaptado de 83*

Neoplasia	sIg/cIg	CD5	CD10	CD23	CD43	CD103	BCL6	IRF4/ MUM1	Ciclina D1	Anexina A1
Leucemia Linfocítica Crónica	+/-/+	+	-	+	+	-	-	(+CP)	-	-
Leucemia Pró-linfocítica	+/-;+	-	+	-	-/+	-	-	+*	-	-
Linfoma da Zona do Manto esplénico	+/-/+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leucemia de células pilosas	+/-	-	-	-	-	+	-	-	+/-	+
Mieloma	-;+	-	-/+	-	-/+	-	-	+	-/+	-
Linfoma de MALT	+;+/-	-	-	-/+	-/+	-	-	+*	-	-
Linfoma Folicular	+/-	-	+/-	-/+	-	-	+	-/+**	-	-
Linfoma do Manto	+/-	+	-	-	+	-	-	-	+	-
LDBCL	+/-;-/+	-a	-/+b	NA	-/+	NA	+/-b	+/-***	-	-
Linfoma de Burkitt	+/-	-	+	-	+/-	NA	+	-/+	-	-

+ , >90% dos casos; +/- , >50% dos casos; -/+ <50% dos casos; . CP, centros proliferativos; a – alguns podem ser positivos; b – linfomas do centro germinativo expressam CD10 e BCL6; * , componente de célula plasmática positivo; **, alguns graus 3a e 3b; NA – não aplicável; *** linfomas do tipo de células B activadas são positivos para este marcador. LDBCL: Linfoma B Difuso de Células Grandes

Quadro 2 – Imunofenótipos das neoplasias T/NK mais comuns. *Adaptado de 83*

Neoplasia	CD3	CD4	CD8	CD7	CD5	CD2	TIA1	GranzimaB Perforina	CD30	CD25	CD56	CD16	CD57	BCL6	CD10	EBV	EMA
Leucemia pró-linfocítica T	+	+	+/-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leucemia linfocítica granular de grandes células T	+	-	+	-/+	-/+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Linfoma/ leucemia de células T do adulto	+	+	+	-	+	+	-	-	-/+	++	-	-	-	-	-	-	-
Leucemia agressiva de células NK	+c	-	-/+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
Linfoma extranodal NK/T, tipo nasal	+c	-	-/+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
Linfoma associado a enteropatia	+	-	-/+	+	-	+	+	+	-/+	-/+	-/+f	-	-	-	-	-	-/+
Linfoma hepatosplénico	+* [”]	-	+/-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Linfoma de células T subcutâneo tipo paniculite	+	-	+	+	-/+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Micose fungóide/S. Sézary	+	+	-/+	-/+	+/-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Linfoma cutâneo $\gamma\delta$	+*	-	-/+	-/+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Doenças linfoproliferativas CD30+ primárias da pele	+	+	-	-	+/-	+	+	-/+	+	+	-	-	-	-	-	-	+/-
Linfoma angioimunoblástico	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	-h	-
Linfoma de células T periférico, inespecífico	+	+/-	-/+	-/+	-/+	+	-	-	-/+	-	-	-	-g	-g	-g	-	-
Linfoma de grandes células anaplásico ALK+	-/+	+/-	-/+	-/+	+/-	+/-	+	+	++	++	+/-	-	-	+	-	-	++
Linfoma de grandes células anaplásico ALK-	+/-	+/-	-/+	-/+	+/-	+/-	+/-	+/-	++	++	+/-	-	-	-	-	-	+

c – CD3 citoplasmático restrito (CD3 ϵ); *, receptor T $\gamma\delta$; [”]uma minoria expressa o receptor $\alpha\beta$; f – expresso no tipo 2 ou monomórfico; g – um subtipo deste linfoma é derivado de células foliculares auxiliares, facto pelo qual expressam CD57, CD10, Bcl6; h – vírus não se encontra nas células neoplásicas mas está quase sempre presente na população de células B de fundo.

Quadro 3 – Classificação 2008 da OMS das neoplasias linfóides. *Adaptado de 40,55,69,74,83*

Neoplasias Linfóides Precursoras	
Leucemia/Linfoma B Linfoblástico, Inespecífico	
Leucemia/Linfoma B Linfoblástico, com anomalias genéticas recorrentes	
Leucemia/Linfoma T Linfoblástico	
Neoplasias de células B maduras	
Leucemia Linfocítica Crónica/ Linfoma Linfocítico	
Leucemia prolinfocítica de células B ^o	
Linfoma da Zona Marginal Esplénica	
Leucemia de células pilosas ^o	
Linfoma/leucemia de células-B esplénico, inespecífico	
Linfoma Linfoplasmocítico	
Doença das cadeias pesadas ^o	
Neoplasias de plasmócitos ^o	
Linfoma da Zona Marginal extranodal do tecido linfóide associado à mucosa (MALT)	
Linfomas da Zona Marginal Nodal	
Linfoma Folicular	
Linfoma Cutâneo Primário do Centro Folicular	
Linfoma Células do Manto	
Linfoma B Difuso de Células Grandes, Inespecífico	
☞ Linfoma B de Células Grandes Rico em Linfócitos T/histiócitos	
☞ Linfoma B Difuso de Células Grandes primário do SNC	
☞ Linfoma B Difuso de Células Grandes primário da pele, tipo da perna	
☞ Linfoma B Difuso de Células Grandes do idoso, EBV+	
	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Granulomatose linfomatóide ▶ Linfoma B de Células Grandes Primário do Mediastino ▶ Linfoma B de Grandes Células intravascular ▶ Linfoma B de Grandes Células B, ALK+ ▶ Linfoma Plasmablástico ▶ Linfoma B de Células Grandes que surge na doença de Castleman multicentrica, associada à positividade para HHV8 ▶ Linfoma primário dos derrames ▶ Linfoma Burkitt
	Linfoma B, não classificado, com características intermédias entre o Linfoma Difuso de Grandes Células B e o de Burkitt
	Linfoma B, não classificado, com características intermédias entre o Linfoma Difuso de Grandes Células B e o Linfoma de Hodgkin Clássico
Linfoma de Hodgkin	
Predomínio linfocítico nodular	
Clássico	
- Esclerose Nodular	- Rico em linfócitos
- Celularidade mista	- Depleção linfocitária
Neoplasias de células T maduras	
Leucemia pró-linfocítica de células T ^o	Micose fungóide
Linfocítica granular de grandes células T ^o	Síndrome de Sézary
Desordens linfoproliferativas crónicas de células NK ^o	Desordens linfoproliferativas de células T CD30+ primárias da pele
Leucemia de células NK agressiva ^o	- Linfoma de grandes células anaplásico cutâneo
Desordens linfoproliferativas de células T EBV+ da infância ^o	- Papulose linfomatóide
Linfoma/leucemia células T do adulto	
Linfoma de células T/NK extranodal, tipo nasal	
Linfoma de células T associado a enteropatia	
Linfoma de células T hepatoplénico	
Linfoma subcutâneo de células T tipo paniculite	
Linfomas Células T periféricos primários da pele, subtipos raros	
- Linfoma de células T $\gamma\delta$ primário da pele	
- Linfoma de células T CD8+ citotóxico epidermotrópico	
agressivo, primário da pele	
- Linfoma de células T CD4+ de pequeno/médio tamanho, primário da pele	
	Linfoma periférico de células T, inespecífico
	Linfoma de células T angioimunoblástico
	Linfoma anaplásico de células grandes, ALK +
	Linfoma anaplásico de células grandes, ALK-
<p>^oNão são considerados linfomas facto pelo qual não serão desenvolvidos; imunofenótipo encontra-se nos quadros 1 e 2. A azul: entidades provisórias/novas (comparativamente à edição 2001) ☞ Subtipos de Linfomas B Difusos de Células Grandes ▶ Outros linfomas de células grandes O linfoma Blástico de células NK é actualmente considerado de origem dendrítica, encontrando-se no grupo das neoplasias mielóides com a designação de “Neoplasia de células dendríticas plasmocitóide blástica”.</p>	

LINFOMAS

Linfoma B Linfoblástico

Neoplasia morfológicamente semelhante à leucemia linfoblástica aguda B, sendo consideradas pela classificação da OMS, espectros diferentes da mesma doença⁸³, embora existam algumas diferenças (Quadro 4).⁵⁸

Quadro 4 – Diferenças entre o linfoma e a leucemia linfoblástica aguda. Adaptado de 58

	Linfoma Linfoblástico	Leucemia Linfoblástica Aguda
Frequência	10% dos linfomas linfoblásticos	85% das leucemias linfoblásticas agudas
Pacientes com <18anos	64%	75%
Envolvimento medular	0% (<25% blastos)	100%
Envolvimento mediastínico	4%	1%
Envolvimento cutâneo	33%	1%
Envolvimento do SNC	5%	1-3%
TdT +	92%	>90%
CD10 +	89%	80-90%
Anomalias citogenéticas mais comuns	21q22 (?)	Hiperdiploidia; t(12;21);t(v;11q23);t(9;22), hipodiploidia; t(5,14); t(1;19)

As células imaturas (fig.4) possuem um tamanho médio/pequeno, com citoplasma basofílico escasso, sendo o núcleo redondo, irregular ou circunvoluto, cromatina condensada e nucléolo imperceptível ou pequeno,^{56,58,83} embora possam possuir um citoplasma maior, por vezes com vacúolos, nucléolos proeminentes e cromatina dispersa. Podem ainda existir grânulos azurofílicos grosseiros. Apresentam um padrão difuso no gânglio linfático ou noutro tecido. As figuras mitóticas são frequentes,⁸³ podendo existir um padrão de “céu estrelado” focal ou difuso.⁵⁶

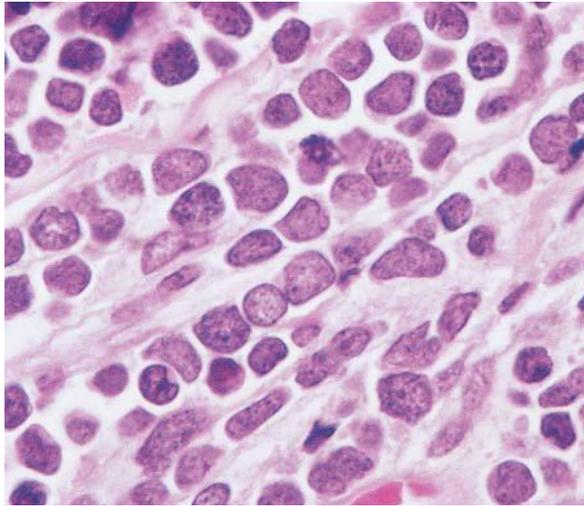


Fig.4 – Tumor na face. Linfoblastos uniformes, de dimensões médias, com um núcleo redondo/ligeiramente irregular e cromatina fina. Retirado de 58

As células neoplásicas são negativas para mieloperoxidase, podendo demonstrar grânulos grosseiros na presença de PAS. Respeitando as suas origens, os linfoblastos são normalmente positivos para os marcadores de linhagem B CD19, CD79a citoplasmático e CD22 citoplasmático, para CD10, CD22 superfície, TdT, CD34, CD24, Igμ citoplasmática e PAX5 (quadro 5).⁸³

Quadro 5 - Imunofenotipagem do B-LBL. Adaptado de 51,58

Antigénio	% de casos (positivos/ n°. de casos estudados)
TdT	92 (61/66)
HLA-DR	100 (58/58)
CD19	97 (38/39)
CD20	62 (30/48)
CD10	89 (56/63)
CD79a	96 (22/23)
CD34	64 (14/22)
CD45	62 (16/26)
CD99	75 (6/8)
CD179a ^o	90 (9/10)
CD179b ^o	73 (8/11)
PAX5	Frequentemente positivo

^o Ausente em neoplasias B maduras, linfoblastos T, tumores mieloides extra-medulares e sarcoma de Ewing

Por vezes, podem surgir marcadores mielóides (CD13, CD33 ou mesmo marcação para mieloperoxidase),⁵⁶ ou Ig de superfície, o que, por si só, não deve excluir o diagnóstico de B-LBL.⁸³ É de realçar que esta neoplasia pode ser positiva para CD99, anteriormente considerado um marcador exclusivo do sarcoma de Ewing o que, associado à sobreposição do grupo etário de maior incidência, à possível localização óssea do linfoma e à morfologia semelhante, pode originar erros de diagnóstico.^{13,51}

Diagnóstico diferencial

Linfoma T Linfoblástico

Sarcoma de Ewing

Linfoma do Manto variante Blastóide

Sarcoma Mielóide

Linfoma T Linfoblástico

Neoplasia cujas células são morfológicamente indistinguíveis do seu parente de linhagem B. O gânglio linfático encontra-se invadido difusamente, embora a invasão paracortical poupando os centros germinativos possa ocorrer. Por vezes, observa-se um padrão multinodular, simulando o linfoma folicular (fig.5). No timo existe igualmente uma destruição do parênquima. Por vezes ocorre um infiltrado eosinofílico abundante, podendo estar associado a eosinofilia, hiperplasia mielóide e a anomalias citogenéticas (8p11.2).

A marcação para a fosfatase ácida alcalina é focal. As células são TdT+, CD99+, CD34+ e CD1a+ e expressam, variavelmente, CD2, cCD3, CD5, CD7, CD4e CD8 (podendo ocorrer a co-expressão dos últimos). A presença de CD79a (10%), CD13 ou CD33 (19-32%) não devem, por si só, excluir este linfoma.⁸³

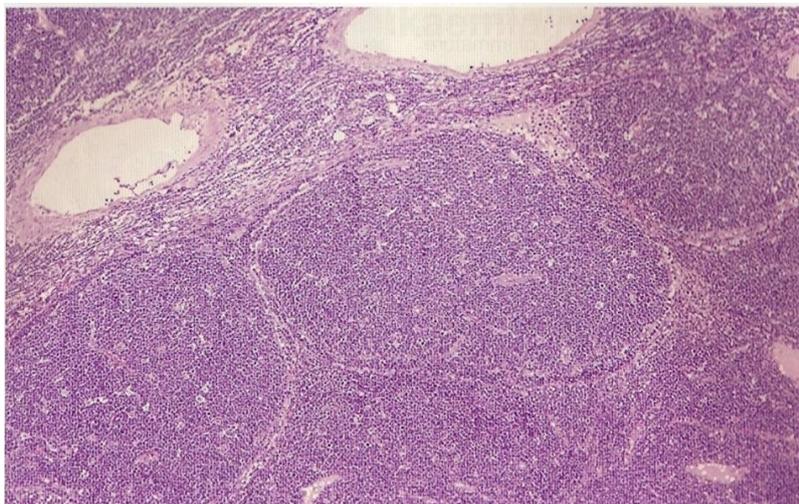


Fig.5 – Padrão pseudo-folicular. *Adaptado de 83*

Linfoma de Células do Manto

Neoplasia composta por células linfóides de pequeno/médio tamanho com contornos nucleares irregulares, possuindo a translocação *CCND1*.⁸³ Embora anteriormente fosse considerado um linfoma de baixo grau e indolente, actualmente é considerado um linfoma agressivo.¹⁵ Provavelmente origina-se de células B periféricas da zona do manto interna, principalmente de células *naive* pré-centro germinativo.⁸³

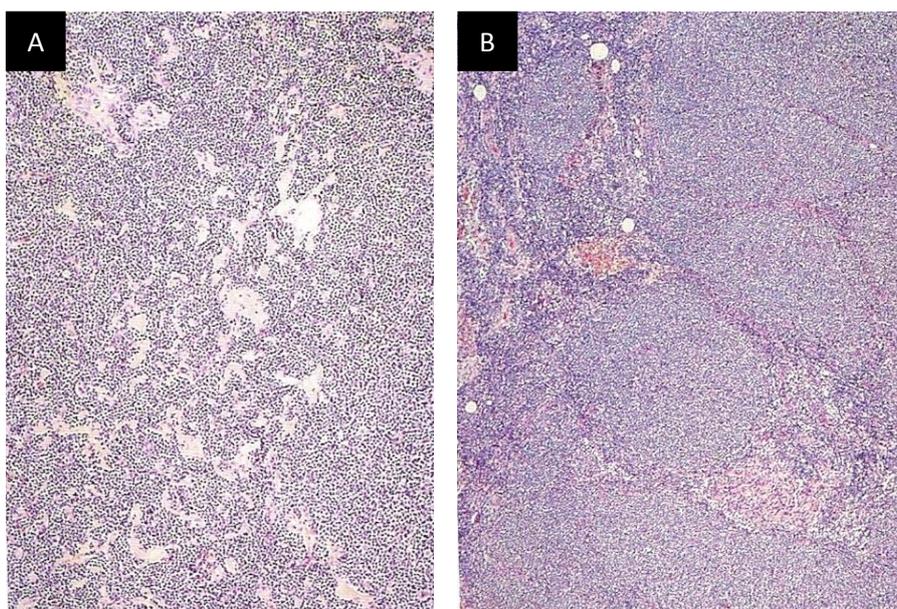


Fig.6 – (A) destruição difusa da arquitectura, com vasos hialinizados típicos; (B) padrão vagamente nodular. *Adaptado de 83*

Classicamente, as células neoplásicas assemelham-se a uma população monótona de centrócitos (origem do seu antigo nome, linfoma centrocítico), com um padrão de proliferação vagamente nodular, difuso, de zona do manto ou, mais raramente, folicular (fig.6 e 7). Por vezes está restrito à zona interna do manto (linfoma “*in situ*”)⁸³.

O seu tamanho é pequeno/médio, com um núcleo (ligeira ou marcadamente) irregular, cromatina moderadamente dispersa, nucléolo visível mas não proeminente e citoplasma pálido e escasso.^{15,83,87} Esta citologia está presente em 87,5% doentes.⁸⁷ Células neoplásicas transformadas semelhantes a centroblastos, imunoblastos ou paraimunoblastos ou centros de proliferação estão ausentes. Por vezes podem-se visualizar alguns histiócitos epitelióides dispersos, podendo originar um aspecto de “céu estrelado”.⁸³ Existem outras variantes (quadro 6) com significado diagnóstico e prognóstico, sendo este pior nas variantes pleomórfica e blastóide.⁸³

A existência de pequenos vasos hialinizados é uma importante pista diagnóstica.⁸³

Quadro 6 – variantes do Linfoma do Manto. Adaptado de 83, 87

Variante clássica
População monótona de células
Núcleo pequeno/médio, indentado, com cromatina moderadamente dispersa
Citoplasma pálido e escasso
Variantes agressivas
Blastóide: células semelhantes a linfoblastos com cromatina dispersa e um elevado índice mitótico (pelo menos 20-30/por 10 campos de elevada ampliação)
Pleomórfica: as células são pleomórficas, mas a maioria são grandes com o contorno nuclear oval ou irregular, citoplasma pálido e nucléolo proeminente (pelo menos em algumas células)
Outras variantes
Pequenas células: linfócitos pequenos e redondos com cromatina mais condensada, assemelhando-se ao linfoma linfocítico de pequenas células mas sem pró-linfócitos ou paraimunoblastos.
Tipo Zona Marginal: Focos proeminentes de células monocitóides, com um citoplasma abundante e pálido. Por vezes estes focos mais pálidos assemelham-se a centros de proliferação da leucemia linfocítica crónica/linfoma linfocítico de pequenas células.

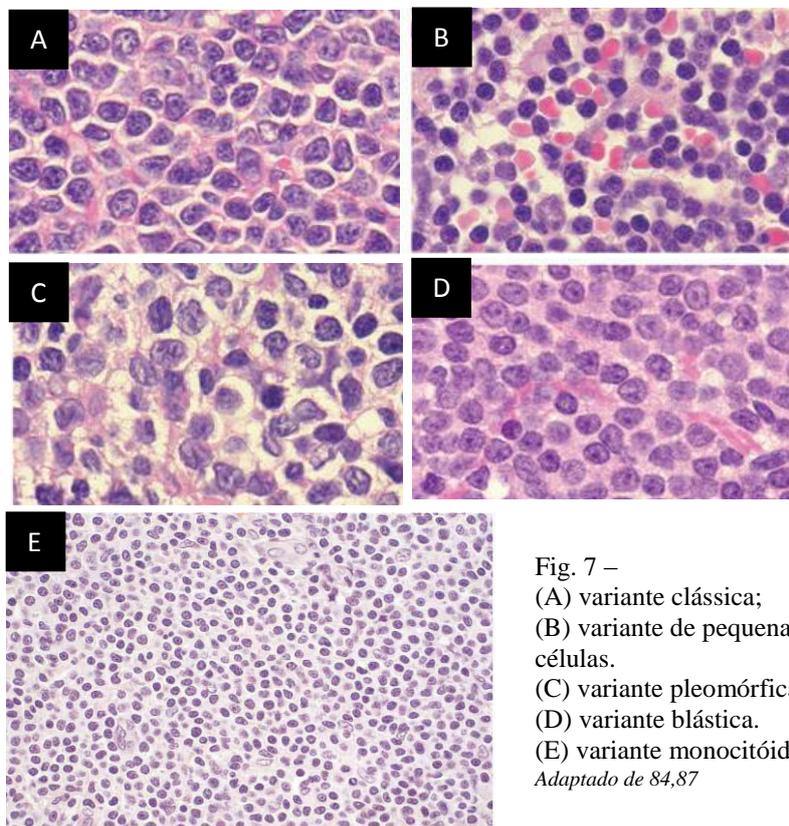


Fig. 7 –
(A) variante clássica;
(B) variante de pequenas
células.
(C) variante pleomórfica.
(D) variante blástica.
(E) variante monocitóide
Adaptado de 84,87

As células neoplásicas expressam intensamente IgM/IgD de superfície, sendo mais frequente a restrição lambda, são CD5+ e CD43+ (tal como na leucemia linfocítica crónica/linfoma linfocítico²¹), FMC-7+ mas CD23– (estes dois últimos ajudam à distinção com a leucemia linfocítica crónica/linfoma linfocítico²¹). Também não expressam CD10 nem BCL-6. Todos os casos são BCL-2+.⁸³

A característica genética determinante deste tipo de neoplasia é a translocação t(11;14)(q13;q32) a qual provoca a expressão desregulada da ciclina D1 pela justaposição desta com promotores dos genes na cadeia pesada das imunoglobulinas.¹⁵ Este é considerado o primeiro evento genético. A detecção da ciclina D1 por imunohistoquímica tem uma sensibilidade baixa (69-100%) e pode estar presente na leucemia de células pilosas ou noutros linfomas B de baixo grau. Assim sendo, a pesquisa da translocação t(11;14) por FISH é o melhor método para caracterizar esta neoplasia, salvaguardando o facto de esta poder surgir no mieloma múltiplo, no linfoma esplénico com linfócitos vilosos e leucemia pró-linfocítica B.¹² Casos com uma morfologia típica e ciclina D1+ poderão não necessitar de mais

investigação diagnóstica (fig.8).

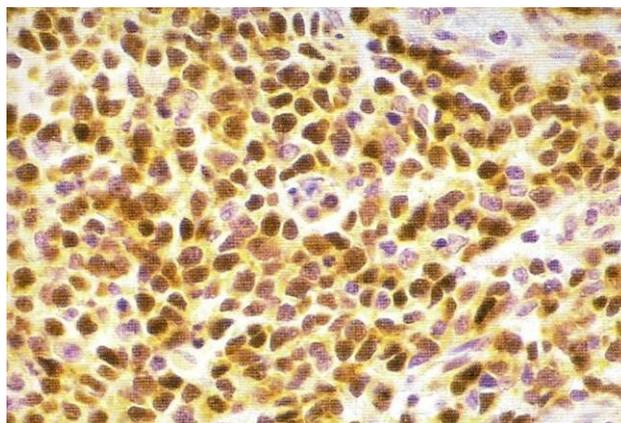


Fig.8 – Marcação imunohistoquímica da ciclina D1 mostrando uma forte positividade nuclear.
Adaptado de 83

Embora existam casos raros ciclina D1 e t(11;14) negativos, a maioria dever-se-á provavelmente a diagnósticos incorrectos. Este diagnóstico deverá ser efectuado na presença duma neoplasia com características clínicas e morfológicas típicas dum linfoma do manto mas sem a presença da sua principal característica. Normalmente, estes casos são imunohistoquimicamente positivos para Ciclina 2 ou 3. A desregulação destas ciclinas dever-se-á a fenómenos epigenéticos e não a alterações genéticas (inutilizando a FISH com o intuito diagnóstico). Realça-se o facto que outros linfomas de baixo grau, negativos para ciclina D1, poderão ser positivos para estas moléculas.³⁴

Os genes da imunoglobulina estão rearranjados, de acordo com a sua possível origem celular. Na maioria destes tumores não ocorreu a hipermutação somática da região variável. Contudo, em cerca de 27% dos casos esta ocorre, duma maneira não aleatória, sugerindo alguns dos casos desta doença heterogénica terão surgido de células expostas ao centro germinativo, existindo algum antigénio que inicie e/ou perpetue a neoplasia.¹⁸

Diagnóstico diferencial

Leucemia Linfocítica Crónica/Linfoma Linfocítico

Linfoma Folicular

Linfoma B Linfoblástico (variante blastóide)

Linfoma da Zona Marginal (variante monocitóide)

Leucemia Pró-linfocítica (variante blastóide)

Linfoma Folicular

Linfoma composto por células B do centro germinativo (centrócitos e centroblastos), de onde se origina, possuindo, pelo menos parcialmente, um padrão folicular. Áreas difusas compostas por células tipo blásticas deverão ser consideradas zonas de linfoma difuso de grandes células B.⁸³

Existem 2 tipos de células: os centrócitos (células clivadas) e os centroblastos (células grandes não clivadas), sendo obrigatória a presença destes^{83, 93}. Os centrócitos são células pequenas/médias, com um núcleo angulado, alongado ou clivado, nucléolo imperceptível e um citoplasma escasso; os centroblastos apresentam-se como células grandes, pelo menos 3 vezes maiores que os linfócitos, núcleo oval ou redondo, cromatina vesicular, 1 a 3 nucléolos periféricos e com uma pequena orla de citoplasma.⁸³ É importante distingui-los das células foliculares dendríticas, as quais possuem núcleo semelhante a um grão de café, um nucléolo central e uma membrana nuclear mais delicada.^{83,99} Em aproximadamente 10% dos casos existe uma zona à periferia dos folículos, com células semelhantes às da zona marginal ou de aparência monocitóide. Estas fazem parte do clone neoplásico.⁸³ A ausência de uma zona do manto residual ajuda à distinção com o linfoma da zona marginal.⁹⁶

O Linfoma Folicular de grandes células clivadas³⁸ e o de pequenos centroblastos⁹⁶ não são entidades reconhecidas pela OMS. Contudo, existe uma menção à possibilidade dos centroblastos possuírem um núcleo irregular/lobulado assemelhando-se a centrócitos grandes.

Existe ainda a hipótese de, em casos raros, assemelharem-se a linfoblastos.⁸³

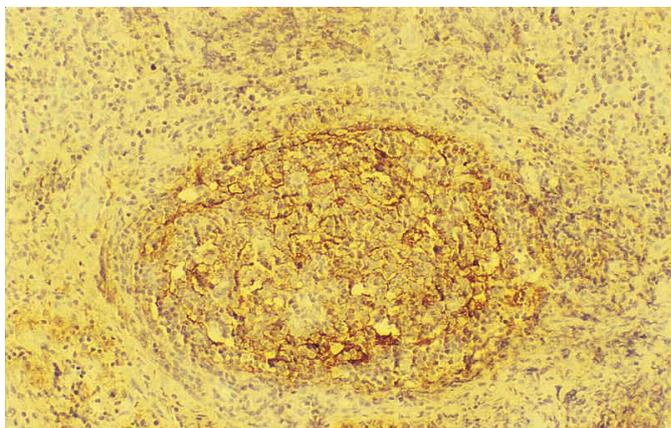
A contagem ou estimativa, num campo de ampliação elevada, do número absoluto de centroblastos em 10 folículos neoplásicos representativos (traduzindo-se por número de centroblastos/0,159mm²) classifica o linfoma folicular em 3 graus ([quadro 7](#)), embora a distinção entre grau 1 e 2 não tenha relevância clínica. Podem existir áreas de grau 3 num gânglio predominantemente acometido com áreas de grau 1-2, devendo-se fazer um diagnóstico separado de linfoma grau 3, estimando a percentagem de cada componente. A maioria dos casos são de baixo grau (80-90%). Nas crianças, o grau 3 predomina.⁸³

Quadro 7 – Graus e padrões do Linfoma Folicular. *Adaptado de 83*

Grau	Definição
1-2 (baixo grau)	0-15 centroblastos por campo de ampliação elevada
1	0-5 centroblastos por campo de ampliação elevada
2	6-15 centroblastos por campo de ampliação elevada
3	>15 centroblastos por campo de ampliação elevada
3A	Centrócitos presentes
3B	“Toalha” uniforme de centroblastos
Padrão	Proporção folicular
Folicular	>75%
Folicular e difuso	25-75%
Focalmente folicular	<25%
Difuso	0%
Áreas difusas com >15 centroblastos por campo de ampliação elevada , no seio de um linfoma folicular (independentemente do grau) devem ser classificadas de linfoma difuso de grandes células B (atribuindo a cada uma determinada percentagem).	

O padrão folicular é o mais comum ([fig.10,11,12](#)), caracterizando-se e diferenciando-se da hiperplasia reaccional devido à destruição completa da arquitectura nodal, com folículos compactados, pobremente definidos e com uma zona do manto muito ténue ou ausente. Não existe polarização nem estão presentes corpos tingíveis nos macrófagos (contrariamente ao

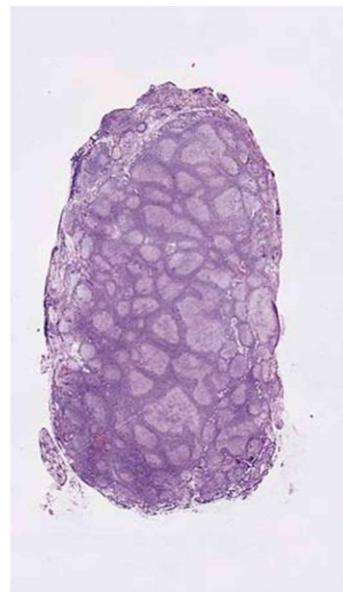
folículo secundário).^{83,96} Nas áreas difusas é comum existir esclerose.^{83,93} Por vezes os folículos adquirem uma forma bizarra, confundindo-se com áreas difusas. A marcação (CD21/CD23) para as células dendríticas foliculares ajuda a esta distinção (fig.9).⁸³



© 2006 Elsevier Inc.

Fig.9 – Marcação para CD21 demonstra um elevado número de células dendríticas no interior do folículo neoplásico.

www.pathconsultddx.com



© 2006 Elsevier Inc.

Fig.10 – Linfoma Folicular

www.pathconsultddx.com

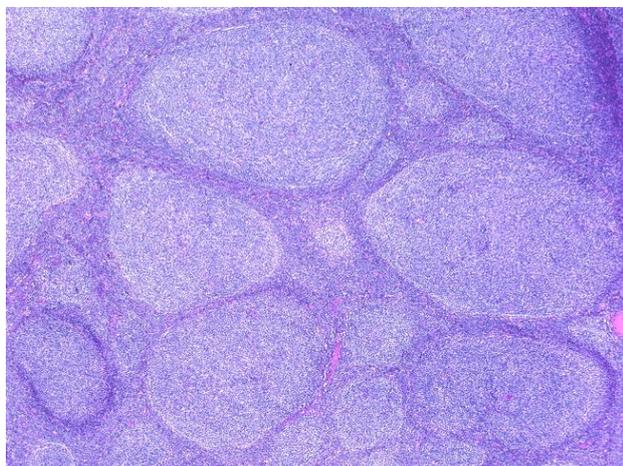


Fig.11 – Linfoma Folicular, padrão folicular.

www.webpathology.com

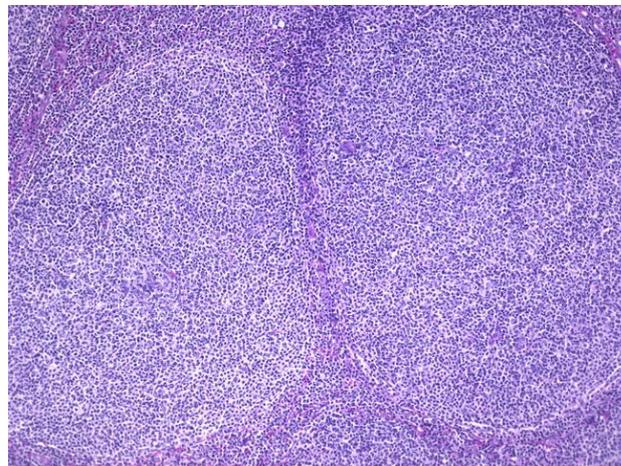


Fig.12 – Linfoma Folicular. Os nódulos neoplásicos são mais numerosos e mais próximos do que aqueles observados em situações reaccionais. www.webpathology.com

As áreas interfoliculares podem conter células neoplásicas semelhantes a centrócitos mais pequenos, sem que isso signifique um componente difuso.⁸³

Encontra-se descrito um padrão exclusivamente difuso composto predominantemente

de centrócitos, com alguns centroblastos, os quais deverão ser imunofenotipicamente e/ou geneticamente característicos. Contudo, a maioria das vezes este padrão deve-se a uma biopsia insuficiente.⁸³

A classificação anteriormente referida aplica-se a fragmentos obtidos por biopsia. Contudo, é possível classificar quanto ao grau através da análise citológica de aspirados de agulha fina, existindo um paralelismo entre a graduação citológica e histológica (**quadro 8**). É necessário realçar que os centroblastos são mais frágeis e poderão não se conservar. Uma grande vantagem desta técnica é a obtenção de múltiplas amostras de tecido ganglionar e extra-nodal sem submeter o indivíduo a outras tantas biopsias cirúrgicas. A principal desvantagem é a ausência de informação quanto à arquitetura/padrão do linfoma.⁹⁹ Embora áreas difusas estejam associadas a um pior prognóstico (embora seja ainda obscuro o interesse clínico se se tratar de um linfoma de grau 1-2 e se estas áreas forem compostas essencialmente por centrócitos⁸³), não influenciam decisões terapêuticas (contrariamente à graduação). A associação da aspiração por agulha fina com a citometria de fluxo e a FISH torna esta técnica útil no diagnóstico e graduação deste linfoma.⁹⁹

Quadro 8 – Graduação citológica do linfoma folicular. *Adaptado de 99*

Grau	Definição
1-2	Predomínio de centrócitos Centroblastos <20% da população linfóide total [•] Padrão folicular em esfregaços e blocos celulares.
3	Centroblastos ou células transformadas >40% da população linfóide total [•] Algumas células grandes pleomórficas Por vezes áreas em “toalha” compostas por centroblastos, em blocos de células
[•] 20-40% - indeterminado	

A região para-trabecular da medula óssea encontra-se acometida por células neoplásicas semelhantes àsquelas da região interfolicular. As mesmas células podem surgir no sangue.⁸³

As células neoplásicas expressam imunoglobulinas à sua superfície (IgM+/-,

IgD>IgG>IgA) bem como antígenos associados a células B (CD19, CD20, CD22, CD79a).^{83,93} No entanto, um estudo por Souvay et al (2005) demonstrou que o padrão de expressão, por citometria de fluxo, pode estar alterado, sendo as células neoplásicas mais brilhantes para CD20 (do que as reaccionais) e, de entre as CD10+, a expressão de CD19 encontra-se reduzida.⁷⁶ A positividade para CD10 (embora possam ser negativos, principalmente se grau 3B^{83,96}) ajuda à distinção com o linfoma da zona marginal, bem como para BCL-6 (nuclear), em conformidade com a sua origem, auxilia à distinção com outras neoplasias não relacionadas com o centro germinativo (linfoma do manto, da zona marginal, B-CLL e leucemia de células pilosas). Normalmente são negativos para CD5 e CD43, ajudando à diferenciação com leucemia linfóide crónica e com o linfoma do manto.⁹³ A proteína MUM1/IRF4 encontra-se ausente.⁸³

No futuro, a marcação para HGAL e LMO2, proteínas associadas a células B do centro germinativo, poderá ser útil no diagnóstico deste linfoma.⁹⁸

A positividade para a proteína anti-apoptótica BCL-2 é uma marca deste linfoma e, embora não seja específica, diferencia-o dos folículos reactivos, encontrando-se em cerca de 80-90% dos graus 1-2 e apenas 50% dos grau 3.⁸³ Alteração genética normalmente subjacente está presente até 90% dos linfomas foliculares de grau 1-2,⁸³ implicando a justaposição do gene BCL-2 (18q21) com o gene da cadeia pesada da imunoglobulina (IgH – 14q32), o que resulta no aumento da transcrição da BCL-2.³⁶ Este rearranjo genético é considerado o evento inicial (ocorrendo durante o rearranjo dos genes Ig^{93,98}) e, embora não seja imprescindível para o diagnóstico³⁶, é a “marca genética” do linfoma folicular. Contudo, pode ser detectado em 25 – 75% de indivíduos saudáveis,⁸³ e em 20-30% de casos de linfoma difuso de grandes células B. O método de detecção mais sensível é a FISH.³⁶ Os linfomas foliculares negativos para esta translocação (tendencialmente grau 3B), apresentam frequentemente alterações envolvendo o oncogene BCL6.⁹⁶

Recentemente Mantei e Wood (2009) demonstraram que a redução significativa da expressão do CD38 nas células neoplásicas (em 2/3 dos casos) ajuda à sua distinção, por citometria de fluxo, dos fenómenos reactivos.⁶⁰

O micro-ambiente envolvente parece influenciar o comportamento do linfoma. De facto, a marcação imunohistoquímica positiva para CD68 (associado a macrófagos) implica um pior prognóstico. Por seu lado, a marcação positiva para CD4 e FoxP3 (implicando um aumento dos linfócitos T reguladores) está associado a um bom prognóstico.⁹⁸ Encontram-se ainda descritas diversas alterações, passíveis de alterar o prognóstico. A título de exemplo, um cariótipo complexo ou mutações no TP53 acarretam um desfecho mais sombrio. No entanto, apenas o grau do linfoma e a sua fracção de proliferação são actualmente utilizados na prática clínica para definir estratégias terapêuticas.⁸³

Diagnóstico diferencial

Hiperplasia folicular reaccional

Linfoma B Difuso de Células Grandes (se grau 3B)

Outros linfomas de baixo grau

Linfoma Cutâneo Primário do Centro Folicular

Neoplasia das células do centro folicular (centrócitos e um número variável de centroblastos), com um padrão de crescimento folicular, difuso ou ambos (podendo apresentar uma sequência destes), poupando a epiderme. Ao contrário das hiperplasias cutâneas, este linfoma apresenta uma proliferação monótona de células BCL-6+ numa rede de células dendríticas CD21+, com a ausência de corpos tingíveis nos macrófagos bem como duma zona

do manto definida. As células são CD20+, CD79a+ e BCL-6+ mas Ig-, CD5-, CD43-, IRF4/MUM1- e Fox-P1- (quadro 9). Nos padrões foliculares ainda se observa positividade para CD10. A marcação para BCL-2 pode ser (fracamente) positiva. Uma positividade acentuada, juntamente com CD10+, deve levantar a suspeita dum linfoma folicular nodal com envolvimento extranodal.

Quadro 9 – Diferenças entre o linfoma cutâneo primário do centro folicular e o linfoma difuso de células grandes cutâneo primário, tipo da perna. *Adaptado de 83*

Característica	Linfoma cutâneo primário do centro folicular	Linfoma difuso de células grandes cutâneo primário, tipo da perna
CD20	+	+
CD79a	+	+
Ig	-	+
BCL-6	+	+
CD10	+/-	-
BCL-2	-/+	++ (- 10%)
IRF4/MUM1	-	++ (- 10%)
FoxP-1	-	++

Um padrão difuso monótono de células grandes deve ser classificado como linfoma difuso de células grandes cutâneo primário, tipo da perna, independentemente da sua localização.⁸³

Linfoma Difuso B de Células Grandes

O linfoma difuso de grandes células B (DLBCL) composto por células B provenientes do centro germinativo ou duma fase posterior a este (activadas) com pelo menos o dobro do tamanho dum linfócito (ou em alternativa, um núcleo de dimensões iguais ou superiores ao do macrófago), possuindo um padrão de crescimento difuso.⁸³

Existem diversas entidades relacionadas com o linfoma difuso de grandes células B inespecífico. Este também se encontra dividido em termos morfológicos, imunofenotípicos e moleculares. (quadro 10)

Quadro 10 – Variantes do Linfoma Difuso de Grandes Células B, Inespecífico. *Adaptado de 83*

<p><u>Variantes morfológicas comuns</u> Centroblástico Imunoblástico Anaplásico</p> <p><u>Variantes morfológicas raras</u>^o</p> <p><u>Subgrupos moleculares</u> Tipo centro germinativo Tipo célula B activada</p> <p><u>Subgrupos imunohistoquímicos</u> CD5 positivo Tipo centro germinativo Tipo não-centro germinativo</p>
<p>^o Em casos raros, pode existir um estroma mixóide ou uma matriz fibrilar. Podem existir ainda formações de pseudo-rosetas. Ocasionalmente as células são em fuso ou em anel de sinete. Grânulos citoplasmáticos, microvilosidades e junções intercelulares podem ser observadas.</p>

No padrão de apresentação mais habitual, a arquitectura dos gânglios linfáticos encontra-se completamente destruída pela proliferação, “em toalha”, de grandes células atípicas (fig.13). Bandas finas de esclerose são frequentes. Mais raramente, a arquitectura pode estar parcialmente alterada, podendo afectar apenas a área interfolicular ou, menos comumente, a zona sinusoidal (fig.14).^{42,83} A variante centroblástica (fig.15) é a mais comum, sendo constituída por células de médio/grande tamanho, com um núcleo

oval/redondo, cromatina vesiculosa, 2 a 4 nucléolos ligados à membrana nuclear e citoplasma escasso. O núcleo pode ser multilobulado (habitualmente em localizações ósseas).⁸³ Os centroblastos podem estar misturados com células de nucléolo único, central e proeminente, possuidoras duma maior quantidade de citoplasma (imunoblastos).^{42,83} O predomínio destas últimas células (>90%) define a variante imunoblástica. Algumas das células desta variante podem adquirir características plasmocitóides,⁸³ com um núcleo mais excêntrico e um citoplasma mais eosinofílico, podendo alguns autores denominá-la variante plasmacitoide,⁴² sendo necessário diferenciá-la do Linfoma Plasmablástico ou de mielomas imaturos.⁸³ A variante anaplásica é constituída por células grandes ou mesmo muito grandes, núcleo muito pleomórfico, por vezes coesivas e/ou com um crescimento sinusoidal, podendo assemelhar-se a um carcinoma indiferenciado.^{42,83} Qualquer das variantes descrita pode conter um número variável de histiócitos e/ou linfócitos T, sendo necessário diferenciá-las do subtipo distinto que é o Linfoma B de Células Grandes Rico em Linfócitos T/Histiócitos.⁸³

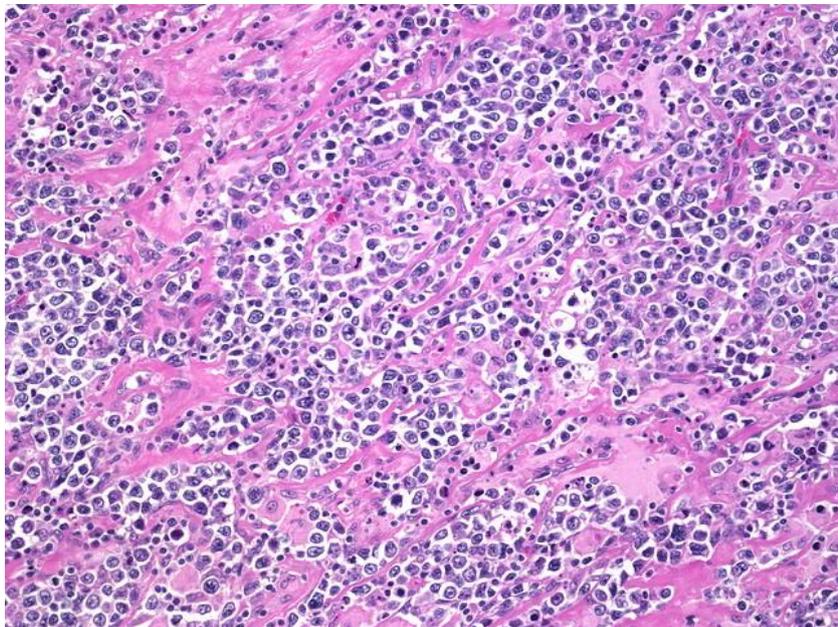
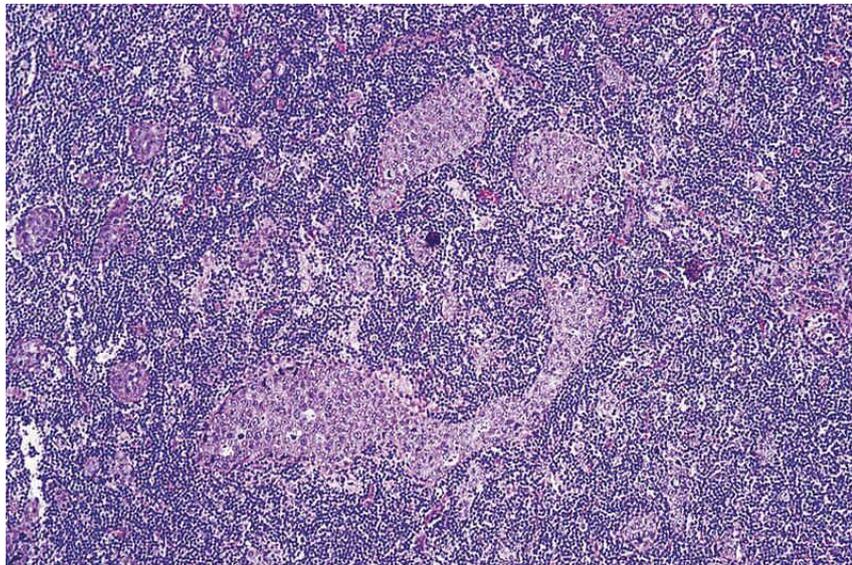


Fig.13 – Linfoma Difuso de Grandes Células B. Centroblastos “em toalha” separados por áreas de esclerose www.webpathology.com



© 2006 Elsevier Inc.

Fig.14 – Linfoma B Difuso de Células Grandes com um padrão sinusoidal simulando um carcinoma metastático.

www.pathconsultddx.com

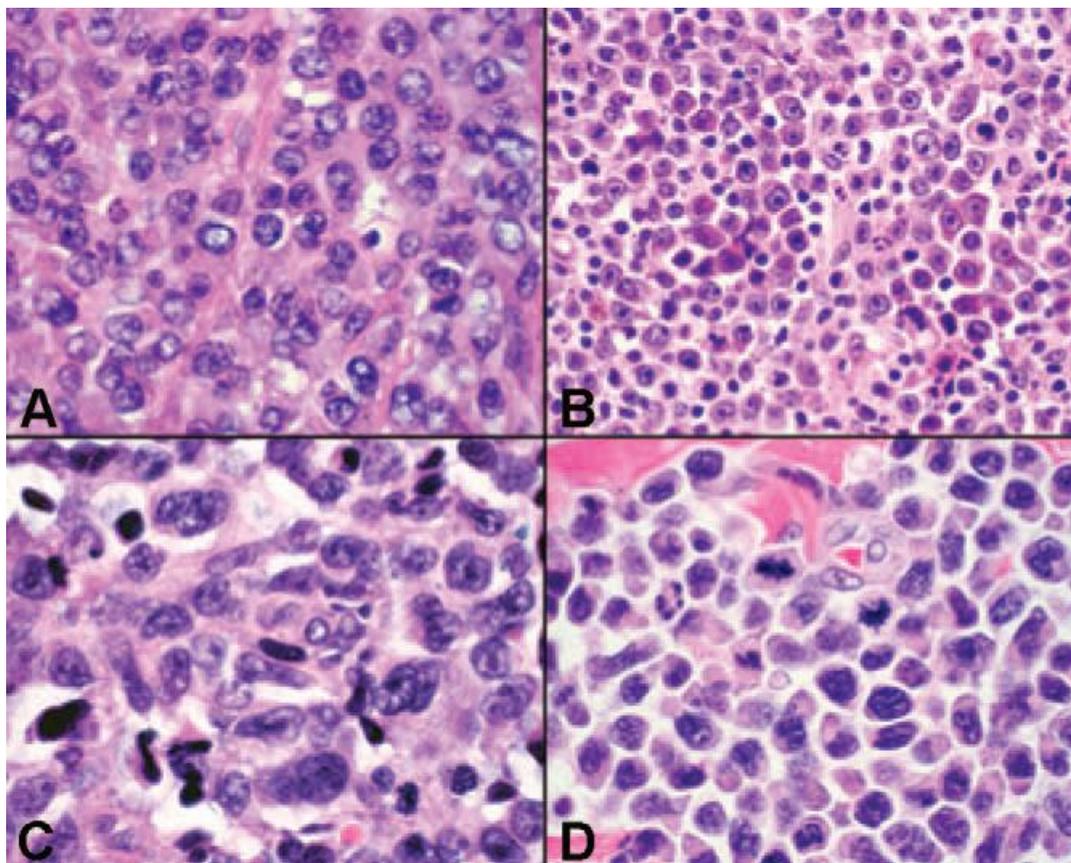


Fig.15 – Linfoma B Difuso de Células Grandes. (A) variante centroblastica; (B) variante imunoblástica; (C) Variante Anaplásica; (D) variante plasmacitóide. Retirado de 42

Em termos práticos, o Linfoma B Difuso de Células Grandes pode ser diagnosticado

com base na morfologia e na positividade para CD20; nos casos raros em que este é negativo, a positividade para CD79a revelará o diagnóstico.⁴² A imunoglobulina de superfície e/ou citoplasmática é positiva em 50-75% dos casos (IgM>IgG>IgA). A sua apresentação citoplasmática não se associa à expressão de marcadores mielóides como o CD38 ou CD138, facto que associado à negatividade (90%) para o vírus Epstein-Barr (EBER), ajuda à distinção com o linfoma plasmablastico.^{42,83} Devido à marcação positiva para CD5 em 10% dos casos,^{27,83} a qual pode surgir *de novo* ou dever-se à transformação de Richter, e a uma morfologia semelhante, pode ser necessário confirmar a negatividade para ciclina D1 para a distinção com o linfoma do manto, variante blastóide.^{42,83}

A incidência da positividade para CD10 (30-60%), IRF4/MUM1 (36-65%) e de BCL-6 (60-90%) varia amplamente. Realça-se a positividade conjunta (50%) de BCL-6 e de IRF4/MUM1, os quais são mutuamente exclusivos no centro germinativo normal.⁸³ Rearranjos envolvendo o gene BCL-6 (3q27) são observados até 25% -30% dos casos.^{27,83}

O CD30 pode ser fracamente expresso na variante anaplásica.²⁷

A proteína BCL-2 pode ser expressa até 75% dos casos,²⁷ devendo-se, por exemplo, a fenómenos de amplificação do gene BCL-2 (presentes até 30% dos casos),⁷⁰ ocorrendo frequentemente numa maneira independente da translocação t(14;18). Esta encontra-se presente 30% dos doentes, sendo praticamente exclusiva do imunofenótipo derivado do centro germinativo.¹⁰

Usando *microarray* de cDNA, foi possível identificar 3 subgrupos de expressão genética, sendo o primeiro semelhante ao perfil numa célula B do centro germinativo (GCB), o segundo semelhante a uma célula B activada (ou pós-germinativo) e um terceiro grupo mais heterogénio. Os dois últimos partilham o mesmo prognóstico sombrio, facto pelo qual foram incorporados (não-GCB). Hans et al (2004), tentando tornar esta divisão menos dispendiosa e

mais acessível, descreveram um paralelismo entre a determinação imunofenotípica de CD10, BCL-6, IRF4/MUM1 e os perfis genéticos determinados (fig.16,17),³⁷ embora esta correlação não seja perfeita nem tenha implicações terapêuticas.⁸³

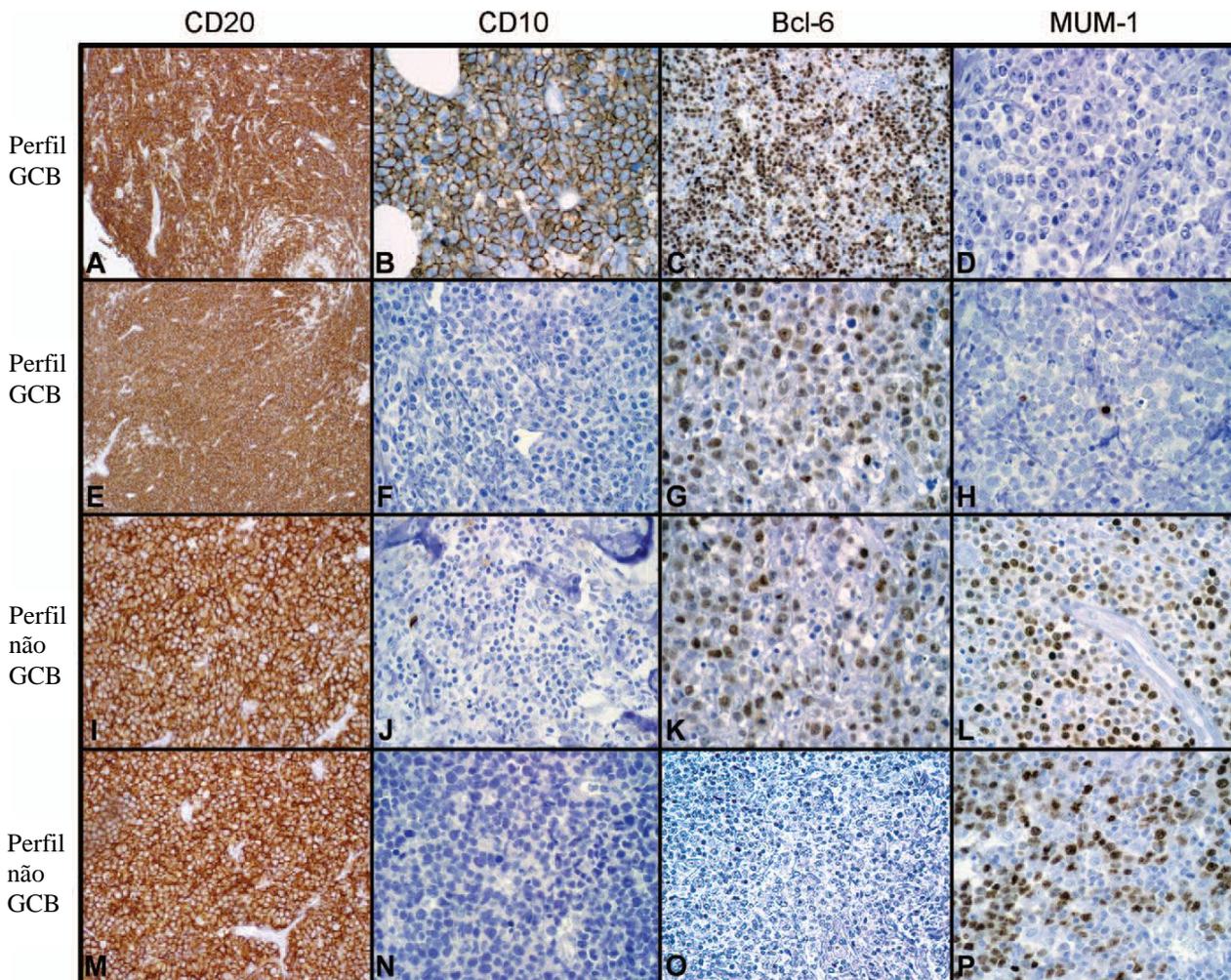


Fig.16 – Imunohistoquímica do perfil do centro germinativo (GCB) e não-GCB. (A-D) Perfil GCB com CD10 membranar e/ou BCL6 nuclear (MUM1-). (E-H) apresentação alternativa do mesmo perfil. (I-L) e (M-P) alternativas para a apresentação do perfil não-GCB, sempre com CD10- e com MUM1+. Adaptado de 42

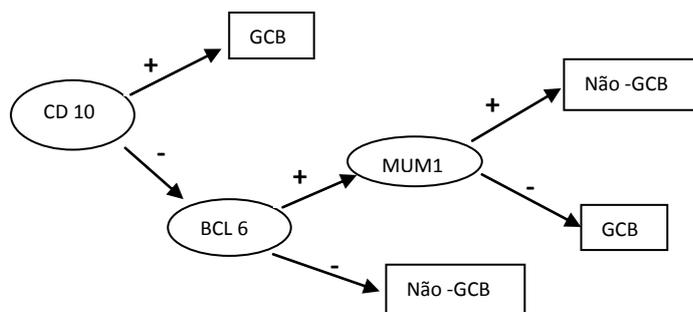


Fig.17 – Distinção imunohistoquímica entre o perfil do centro germinativo (GCB) e não-GCB. Retirado de 42.

A negatividade para citoqueratinas (carcinoma), S100, HMB-45 e Melan A (melanoma) ajuda no diagnóstico com outras neoplasias de células grandes.⁴²

Diagnóstico diferencial

Linfoma de Burkitt

Linfoma Folicular grau 3b

Linfoma Anaplásico de Células Grandes

Linfoma B de Células Grandes Rico em Linfócitos T/Histiócitos

Subtipo raro do linfoma difuso de grandes células,¹ caracterizado patologicamente por <10% de células malignas, isoladas e dispersas, por vezes semelhantes a centroblastos ou imunoblastos, outras vezes imitando as células Reed-Sternberg do Linfoma de Hodgkin Clássico, outras ainda parecendo-se com as células “em pipoca” da variante nodular de predomínio linfocítico do Linfoma de Hodgkin (em 37% dos doentes surge mais do que um tipo de célula neoplásica), envoltas numa população reactiva de linfócitos T e um número variável de histiócitos.^{1,83}

A arquitectura ganglionar está destruída por um padrão difuso, embora por vezes possa ser vagamente nodular.⁸³

O seu principal diagnóstico diferencial é com a variante nodular de predomínio linfocítico do Linfoma de Hodgkin, com a qual partilha grande parte dos marcadores imunofenotípicos (exceptuando talvez o PU.1), diferenciando-se essencialmente pelo padrão morfológico e pela população reactiva ([quadro 19](#)).¹

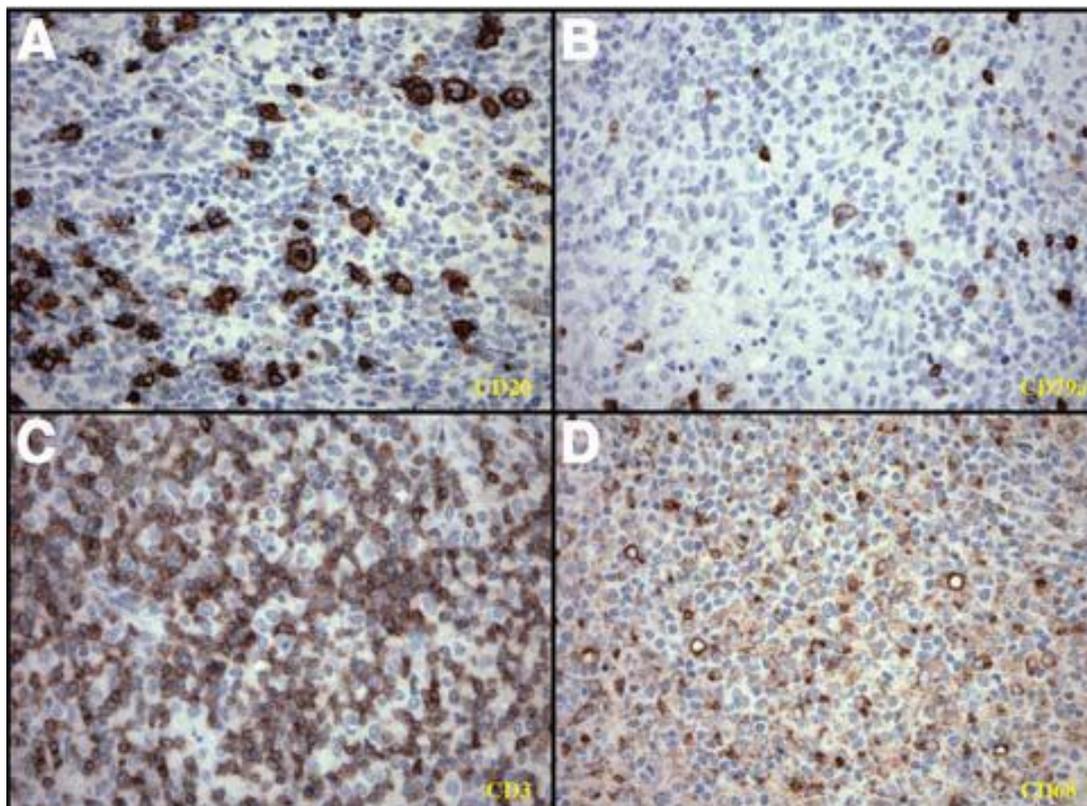


Fig.18 – Linfoma de grandes células B rico em linfócitos T/histiócitos. (A) e (B) Marcação para CD20 e CD79a mostrando células dispersas. (C) Os linfócitos T e (D) os histiócitos são realçados pelo CD3 e CD68 respectivamente. *Retirado de 1*

Esta diferenciação é essencial uma vez que o tratamento destas neoplasias difere. Embora existam algumas evidências que esta variante do Linfoma de Hodgkin possa, ao fim de 15 a 20 anos, transformar-se num linfoma B de células grandes, nomeadamente o referido,¹⁰² é provável que ambos se originem, dum maneira independente, dum clone maligno dum célula B do centro germinativo.¹

Linfomas B agressivos EBV positivos e ricos em células reactivas T deverão ser classificados nas doenças EBV positivas.⁸³

Linfoma B de Células Grandes Primário do Mediastino

Linfoma de grandes células cuja origem provável será uma célula B tímica medular

(asteróide).^{61,83} Morfologicamente, existe uma proliferação difusa de células de médio/grande tamanho, com citoplasma abundante e pálido e com um núcleo quase redondo ou oval (fig.19). Por vezes as células são pleomórficas e/ou possuem núcleos multilobulados, assemelhando-se às células de Reed-Sternberg.⁸³ Tem estroma fibrosante que circunda as células neoplásicas em 50% dos casos embora por vezes a biopsia compreenda zonas que se assemelham a timoma ou a tumor de células germinais.^{61,83} Por vezes associa-se a necrose. Normalmente expressa antígenos B (CD19,CD20, CD22 e CD79a) mas, caracteristicamente, não possui imunoglobulina de superfície (quadro 19)⁸³.

O CD30 marca em 80% dos casos mas fraca e heterogeneamente, comparativamente ao Linfoma de Hodgkin.⁸³ A positividade para MAL (fig.20) em 70% dos casos ajuda à sua diferenciação com o último.⁶¹ Também podem ser positivas para CD54 e CD95 e co-expressarem TRAF1 e REL nuclear.⁸³ Ganhos no cromossoma 9q24 são observados até 75% dos indivíduos, embora não haja nenhum marcador genético característico. Rearranjos do BCL2, BCL6 ou MYC são raros ou inexistentes.⁸³

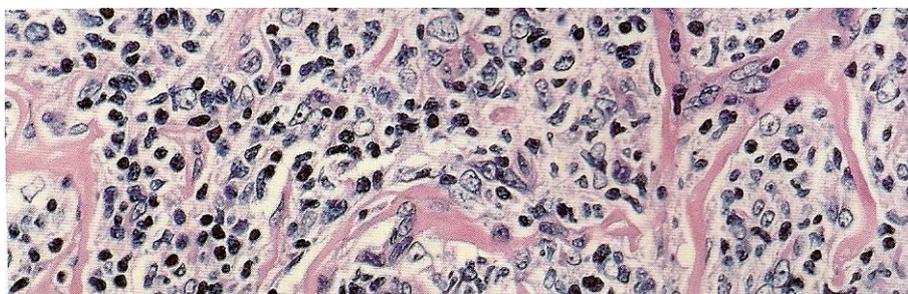


Fig.19 – Linfoma B de Células Grandes Primário do Mediastino com o seu aspecto clássico, com células claras e fibrose intersticial. *Adaptado de 83*

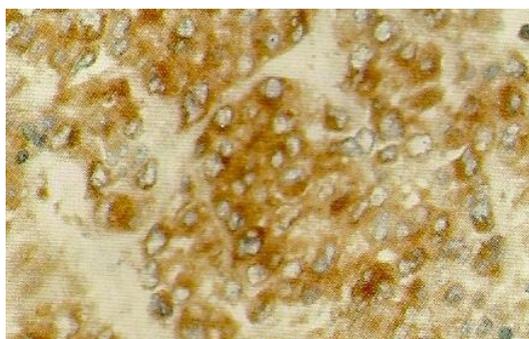


Fig.20 – As células marcam para MAL, com reforço citoplasmático. *Adaptado de 83*

Outros Linfomas/Variantes

O **DLBCL Primário do Sistema Nervoso Central (SNC)** representa todos os linfomas primários intra-cerebrais e intra-oculares. Excluem-se deste diagnóstico os linfomas da dura, linfoma de grandes células intravascular, linfomas com evidência de doença sistêmica ou secundários bem como linfomas associados a imunodeficiências. O tumor intraparenquimatoso demonstra células tipo-centroblásto num padrão difuso, com localização perivascular. Grandes áreas de necrose podem estar presentes, assim como histiócitos espumosos. Para além dos marcadores B, existe uma forte expressão para IRF4/MUM1.

O **DLBCL Primário da Pele, tipo da perna, (quadro 9)** é um linfoma cutâneo composto exclusivamente por grandes células B transformadas (centroblastos e imunoblastos) não-epidermotrópicas.

O **Linfoma B de Células Grandes Intravascular** é um linfoma extranodal raro com crescimento selectivo no lúmen dos vasos, particularmente capilares, com excepção das artérias maiores e veias. Células neoplásicas grandes manifestando os marcadores B são encontradas no lúmen dos vasos. Linfomas NK ou T devem ser separados desta entidade.

O **Linfoma B de Células Grandes, ALK+** é uma neoplasia raríssima (menos de 40 casos reportado possuindo células neoplásicas do tipo-imunoblasto, com um crescimento monomórfico sinusoidal, sendo fortemente positivas para ALK restrita a um padrão granular citoplasmático. Também são fortemente positivas para EMA, podendo expressar marcadores de células plasmáticas (CD138 e VS38). São negativas para marcadores de células B e T (CD3,CD20,CD79a), sendo-o igualmente para CD30. Expressão citoplasmaticamente IgA>IgG. Pelo facto de poderem ser positivos para citoqueratina e fracamente CD45+ podem ser confundidos com um carcinoma.

O **DLBCL EBV+ do idoso** é morfológicamente dividido (sem importância clínica)

em polimorfo, com um espectro alargado de células B maduras, e linfoma de grandes células (células aparentemente transformadas). Ambos podiam conter células tipo Hodgkin e Reed-Sternberg. O CD10 e o BCL6 são normalmente negativos, identificando-se o LMP1 (94%) e o EBNA-2 (28%) em células grandes.

O **DLBCL associado à inflamação crónica** é morfológicamente semelhante ao seu parente não específico. Imunofenotipicamente pode assemelhar-se, embora haja uma porção de casos que apresentem diferenciação plasmocitóide (CD20-; CD79a-; IRF4/MUM1+ e CD138+). Por vezes surgem marcadores T. O EBV encontra-se numa latência tipo III (EBER+; LMP1+/EBNA-2+).

O **Linfoma Plasmablástico** tem um espectro morfológico que varia duma proliferação difusa a coesa de células tipo-imunoblasto àquelas com diferenciação plasmocitoide. Nestes últimos é necessário diferenciar do mieloma plasmablástico, ajudando à diferenciação uma elevada taxa de proliferação, localização extranodal, antecedentes de imunodeficiência, presença de EBV (*in situ* por EBER 60-75%) por parte do primeiro. Um fenótipo de plasmócito (CD138+; CD38+; Vs38c+; IRF4/MUM1+; CD45-; CD20-; PAX5- (ou fracamente+)) é comum. O CD56 é negativo na localização oral, embora possa ser positivo fora desta. Outras características são o CD79a+, cIg+, EMA+, CD30+, Ki67>90%, EBER+.

O **Linfoma Primário dos Derrames** apresenta-se como uma efusão serosa, sem massa tumoral. As células variam desde imunoblastos grandes, a plasmablástos, a anaplásicas, algumas assemelhando-se às células de Reed-Sternberg. Existe uma ausência dos marcadores B, da imunoglobulina (superfície ou citoplasmática) e do BCL6. Pode exibir HLA-DR, CD30, CD38, Vs38c, CD138. A pesquisa do LANA (ORF3) (proteína de latência do HHV8) é útil. Podem existir tumores extra-cavitários os quais podem apresentar marcadores B e imunoglobulinas.

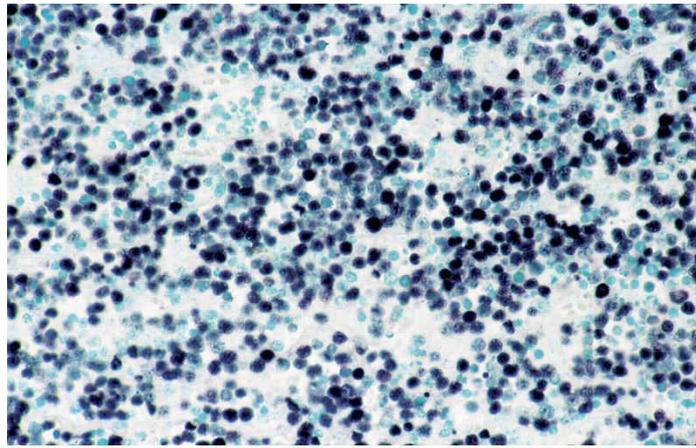
O **Linfoma B de Células Grandes surgindo da doença de Castleman multicêntrica associada ao HHV8** é uma neoplasia composta de células linfóides, infectadas pelo HHV8, que se assemelham a plasmablastos que expressam fortemente cIgM (embora as células interfoliculares possam ser cIgA) associada a restrição λ , e que surge numa doença de Castleman multicêntrica. Estes linfomas não possuem hipermutação somática das imunoglobulinas, ao contrário do linfoma plasmablastico. Apresentam LANA-1 nuclear, CD20+/-, CD79a-, CD138-, CD38-/+, CD27- e EBER-. A expansão de plasmablastos no seio numa doença de Castleman, com destruição da arquitectura nodal e esplénica anuncia o aparecimento deste linfoma. Ao contrário do linfoma de efusão primário extracavitário, é EBV- e é IgM+.

A **Granulomatose Linfomatoide** é uma doença linfoproliferativa angiocêntrica e angiodestrutiva que envolve sítios extranodais (principalmente pulmão), composta por células grandes B EBV+ misturadas com células T reactivas, encontrando-se associada a imunodeficiências (HIV, síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome linfoproliferativa ligada ao X). Por não se tratar dum linfoma, não será desenvolvida.⁸³

Linfoma de Burkitt

Descrito no Uganda pelo Dr. Dennis Burkitt,⁶⁷ em 1958,¹⁶ o linfoma homónimo (LB) é considerado um dos mais agressivos LNH, com um tempo de duplicação de 24 a 48 horas.³¹ É composto por células de dimensões médias e monomórficas, possuindo caracteristicamente uma translocação envolvendo o gene MYC.⁸³

Tem a sua origem em células B do centro germinativo ou em células pós-germinativas.⁸³



© 2006 Elsevier Inc.

Fig.21 – Hibridização *in situ* para EBER demonstrando o genoma do EBV
www.pathconsultdx.com

As células neoplásicas são de dimensões médias (12μ),⁷² possuindo um padrão de crescimento difuso e monótono (fig.22), possuindo numerosas mitoses. O seu núcleo é semelhante ou mais pequeno que o dos histiócitos,⁸³ sendo redondo a oval, sem pregas ou clivagens,⁷² contendo uma cromatina imatura, finamente granular e múltiplos nucléolos basofílicos paracentrais.⁸³ O citoplasma é moderadamente abundante embora sofrer alguma retracção aquando da fixação com formaldeído, tornando o seu contorno mais “quadrado”. Devido à riqueza em RNA, é profundamente basófilico.³¹ Normalmente contem vacúolos de lípidos.⁸³

O padrão em “céu estrelado” é característico, sendo criado pela ingestão de corpos apoptóticos pelos macrófagos (fig.23).^{72,83}

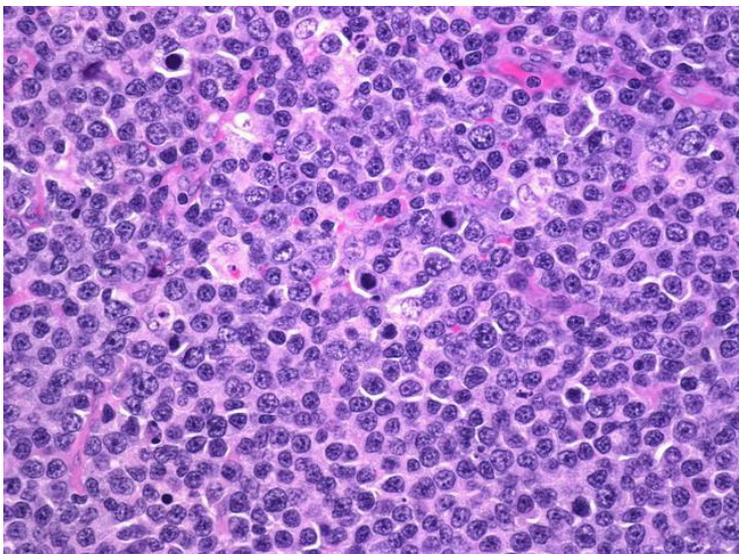


Fig.22 – Repare-se na uniformidade da população neoplásica.
www.webpathology.com

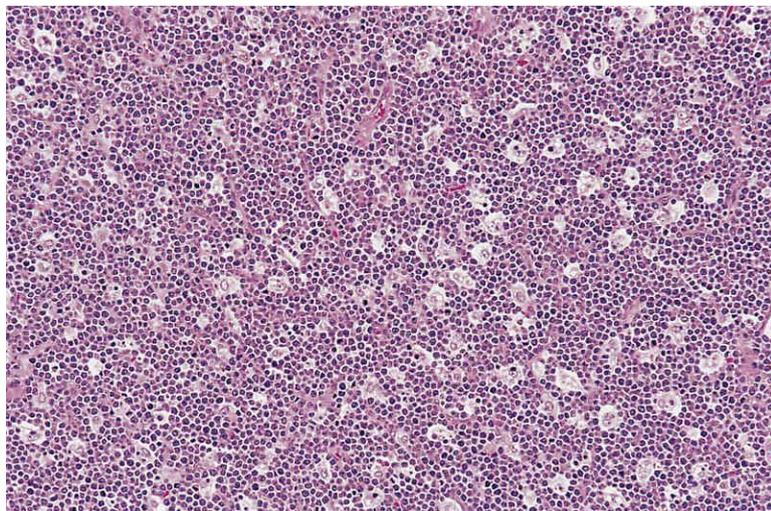


Fig.23 – Padrão em “célula estrelada”
www.pathconsultddx.com

© 2006 Elsevier Inc.

Os casos que se desviassem das características morfológicas normais, mais comumente em adultos, por conterem um aumento na irregularidade e/ou um ligeiro pleomorfismo nuclear, podendo conter um nucléolo único/proeminente, eram anteriormente classificados como casos “atípicos” ou “Burkitt-like”. Uma vez que estes casos são molecularmente semelhantes aos “típicos”, esta divisão morfológica deixou de existir “formalmente” na actual classificação da OMS. Igualmente cessou a designação formal de variante plasmacitóide,^{40,83} embora exista a referencia a esta diferenciação, mais comum nos estados imunodeprimidos, com um citoplasma basofílico excêntrico e um nucléolo único proeminente.⁸³

As células neoplásicas expressam moderada a fortemente IgM de superfície, antígenos B (CD19, CD20, CD22 e CD79a), bem como CD10 (forte), BCL-6, CD38, CD77 e CD43^{31,40,83}. O índice de proliferação (Ki67) é quase 100%⁸³ ou pelo menos 90% das células (fig.24).⁴⁰

A marcação para BCL-2 deve ser negativa. Contudo em cerca de 20% dos casos, principalmente em adultos, pode ser fracamente positiva. Nestes casos, as outras características do linfoma de Burkitt devem estar presentes, nomeadamente a translocação característica, bem como a ausência de translocações do BCL-2 ou do BCL-6 (sendo esta

obrigatória).⁸³

As células tumorais são negativas para TdT o que ajuda na diferenciação com o linfoma linfobástico. A negatividade para a Ciclina D1 exclui, à partida, a variante blastóide do linfoma do manto. A hiperplasia folicular florida pode-se assemelhar morfológicamente ao linfoma de Burkitt, com muitos blastos e corpos apoptóticos nos macrófagos. Igualmente, o imunofenótipo dum centro folicular reactivo (CD10+, BCL-6+, BCL-2-) é semelhante ao desta neoplasia. A demonstração duma imunoglobulina monotípica favorece o processo maligno.³¹

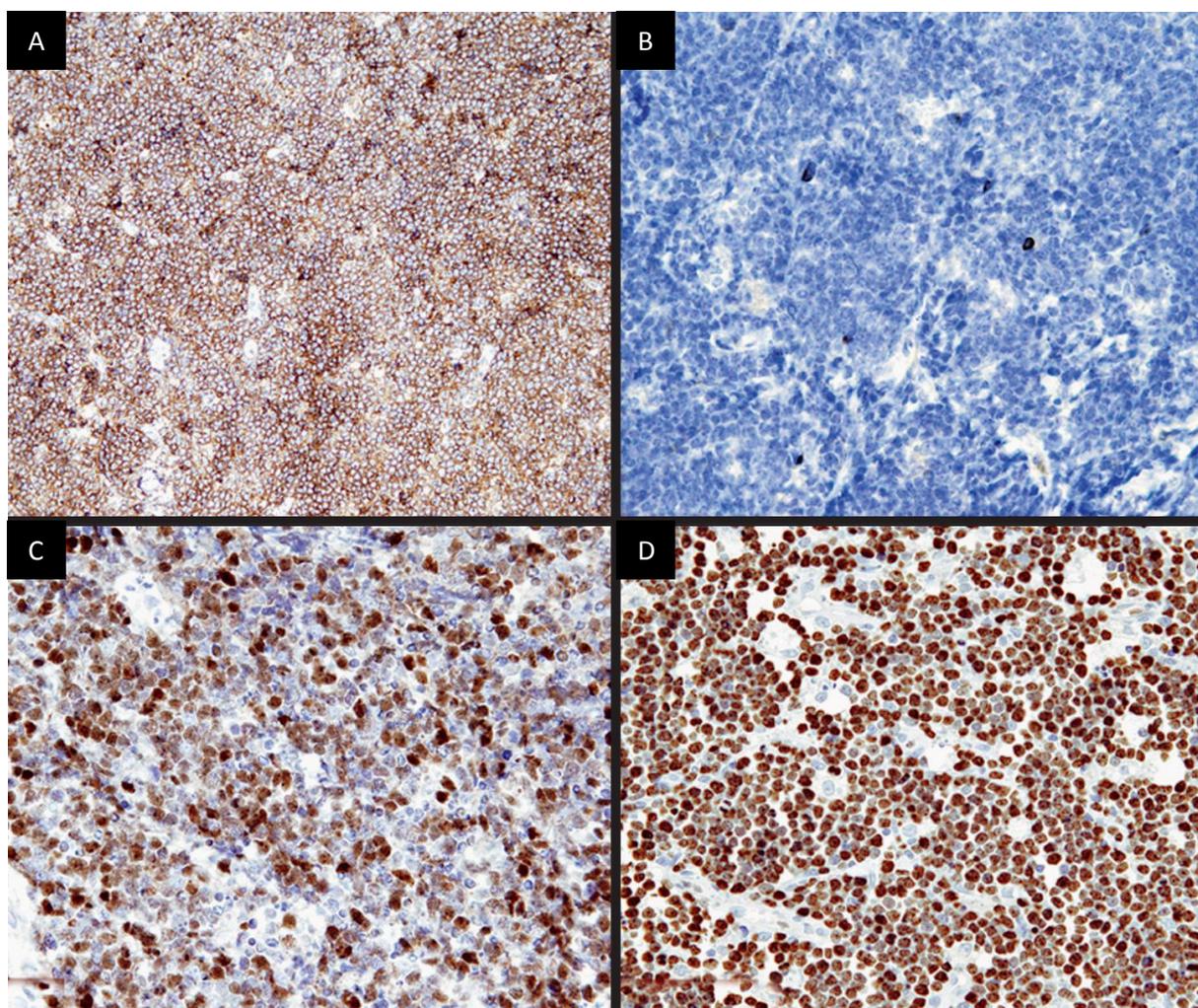


Fig.24 – Linfoma de Burkitt (A) CD10+; (B) BCL2-; (C) BCL6+; (D) fracção de proliferação de quase 100% com Ki67. Retirado de 20

A marcação imunohistoquímica para MYC não tem utilidade diagnóstica. Contudo, o

rearranjo do seu gene (8q24) com o gene da cadeia pesada da imunoglobulina (14q32) em 80% dos casos é a “marca” desta neoplasia. Esta pode ser detectada por FISH. Em 15% dos casos esta ocorre com o gene da cadeia leve kappa (2p11) e em 5% dos casos com o gene da cadeia leve lambda (22q11).⁷² Contudo, o linfoma de grandes células difuso B possui em 5-15% dos doentes um rearranjo do gene MYC. Este também pode ser encontrado, infreqüentemente, no linfoma folicular, no linfoma do manto e no mieloma. Estas translocações ocorrem com o gene da cadeia leve ou com outros genes que não os da imunoglobulina, enquadrados num cariótipo complexo (contrariamente à relativa simplicidade do Burkitt).³¹

É curioso referir que o ponto de quebra do cromossoma 8 e do 14 varia consoante a variante epidemiológica.¹⁶ Em 10% dos casos a translocação do gene MYC pode não ser demonstrada por FISH, podendo ser detectada por outros métodos, desconhecendo-se a razão pela qual isto acontece.⁸³ Em casos raros, este rearranjo pode estar ausente, existindo outros mecanismos alternativos para aumentar a expressão do MYC.⁴⁰

Em crianças, o diagnóstico de Linfoma de Burkitt poderá ser feito apenas com base na morfologia e na imunofenotipagem. No entanto, nos adultos é provavelmente prudente avaliar a existência do rearranjo do MYC, recordando que a morfologia é comumente atípica neste grupo etário. Igualmente precavida será a exclusão de rearranjos dos genes BCL-2 ou BCL-6 (o que é contraditório com o diagnóstico proposto) uma vez que a incidência do linfoma de Burkitt diminui com a idade e a de casos limítrofes aumenta.⁴⁰

Diagnóstico diferencial

Linfoma B Difuso de Células Grandes

Linfoma B Linfoblástico

Linfoma B Células do Manto, variante blastóide

Hiperplasia folicular florida

Leucemia Linfocítica Crônica/ Linfoma Linfocítico

Neoplasia caracterizada pela acumulação de linfócitos B CD5+ no sangue, medula óssea e órgãos linfóides secundários. Como leucemia, caracteriza-se, na ausência de envolvimento de tecidos extramedulares, com $\geq 5 \times 10^9/L$ linfócitos monoclonais de imunofenótipo compatível no sangue durante pelo menos 3 meses.⁸³ A infiltração medular deixou de ser um critério de diagnóstico.⁴⁴ O termo linfoma é reservado para uma contagem linfocitária $< 5 \times 10^9/L$, linfadenopatia e sem pancitopenias derivadas da invasão medular.⁸³

No sangue, os linfócitos apresentam-se com um elevado ratio núcleo/citoplasma, citoplasma escasso, cromatina condensada e sem nucléolo (fig.25).⁴⁴ Células em “mancha” são comuns. A proporção de pró-linfócitos é normalmente $< 2\%$, embora, em casos mais agressivos, possa ser maior; casos com $> 55\%$ devem favorecer o diagnóstico de leucemia pró-linfocítica.⁸³

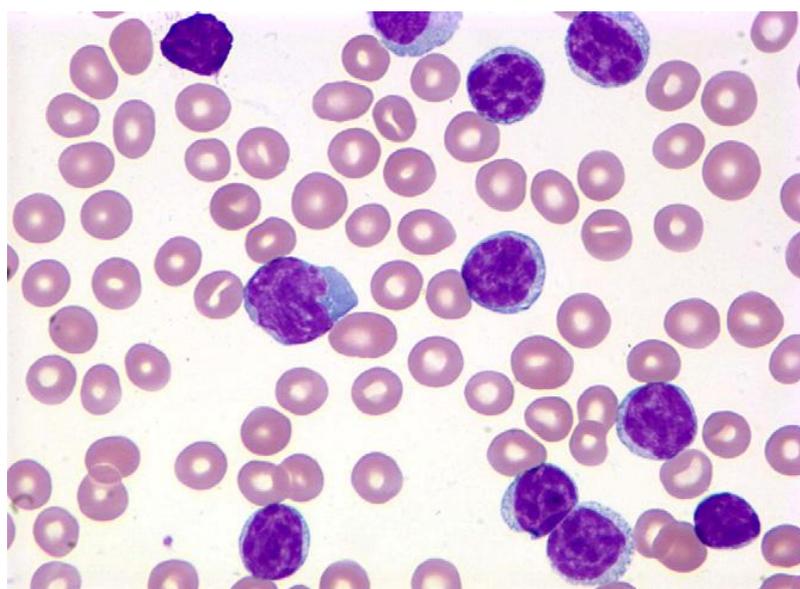


Fig.25 – Leucemia Linfocítica Crônica. Retirado de 44

A medula óssea é invadida por um padrão nodular, intersticial ou difuso. Os gânglios linfáticos apresentam destruição da arquitetura por um padrão vagamente nodular (pseudofolicular), com áreas escuras de linfócitos maduros neoplásicos alternam com áreas claras (centros de proliferação) compostos de pró-lymfócitos (células pequenas/médias com cromatina relativamente condensada e um pequeno nucléolo) e paraimunoblastos (células maiores, com núcleo redondo a oval, cromatina dispersa, um nucléolo central eosinofílico e citoplasma basofílico) (fig.26).^{44,83} No baço, o envolvimento da polpa branca é proeminente.⁸³

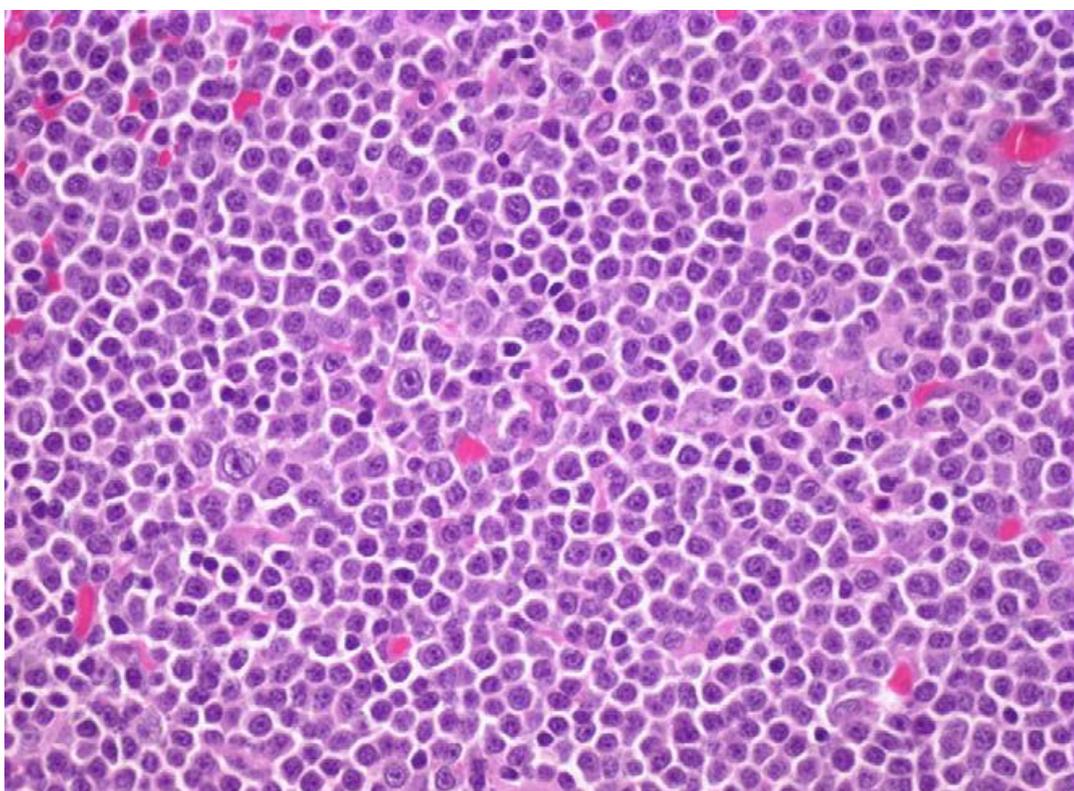


Fig.26 – Zonas claras alternando com zonas escuras. *Referência 44*

As células neoplásicas marcam fracamente para Ig superfície (IgM/IgD), com expressão fraca de CD19 e CD20 e positivas para CD79a,CD5,CD22,CD23,CD43 e CD11c.⁴⁴ São negativas para CD10 e FMC7. Embora seja ciclinaD1-, esta pode ser detectada em algumas células do centro proliferativo. Existem casos atípicos como CD5-.⁸³

Não existem marcadores genéticos específicos. As alterações mais comuns são del 13q14 (>50% dos casos), trissomia 12 (10-20%) e deleções 11q22-q23 (10-20%).³⁵

Diagnóstico diferencial

Linfoma do manto

Leucemia pró-linfocítica

Linfoma Folicular

Linfoma da Zona marginal

Leucemia de células pilosas

Linfomas da Zona Marginal

Linfomas indolentes cuja origem provável se encontra na região mais externa do folículo linfóide, denominada zona marginal, presente no baço, nos gânglios linfático ou no tecido linfóide mucoso.⁴⁸ Este termo compreende 3 entidades heterogênicas distintas: linfoma da zona marginal nodal, linfoma da zona marginal esplénica e linfoma da zona marginal extranodal do tecido linfóide associado à mucosa (MALT).

Linfoma MALT

Neoplasia extranodal composta por pequenas células B morfológicamente heterogênicas, incluindo células da zona marginal (tipo centrócitos), células monocitóides, pequenos linfócitos e imunoblastos ou tipo centroblastos dispersos. Por vezes existe diferenciação plasmacitóide. O infiltrado neoplásico encontra-se na zona marginal dos folículos reactivos, estendendo-se para a região interfolicular. As células neoplásicas invadem o epitélio nos tecidos epiteliais, formando lesões linfo-epiteliais ([fig.27a](#)).⁸³

As células neoplásicas cercam os folículos reactivos, externamente à zona do manto, “espalhando-se para fora” formando áreas confluentes (fig.27b).

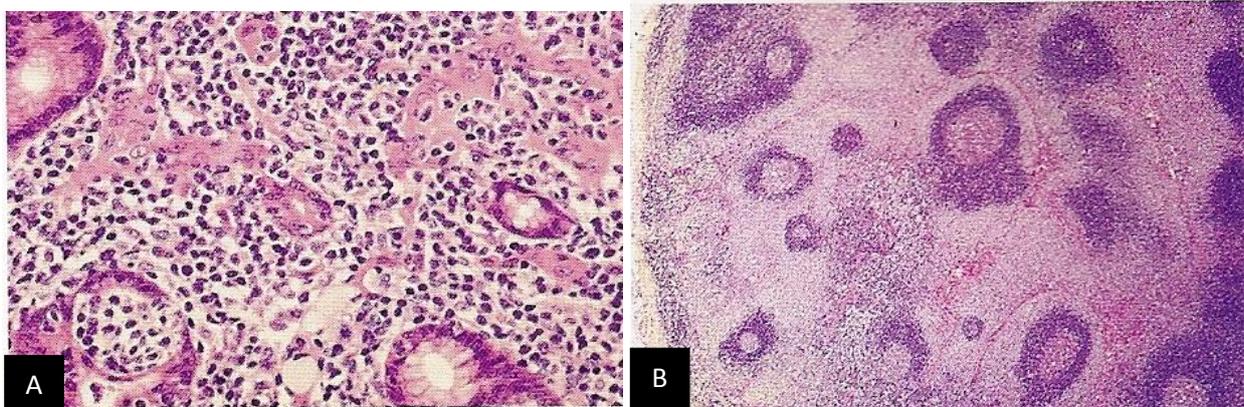


Fig.27 – (A) Linfoma MALT gástrico com lesões linfo-epiteliais. (B) Gânglio linfático gástrico com um infiltrado neoplásico na zona marginal, extravasando para fora desta. *Retirado de 83*

Caracteristicamente assemelham-se a centrócitos de dimensões pequenas/médias, com um núcleo ligeiramente irregular com cromatina moderadamente dispersa e nucléolo perceptível. O seu citoplasma é relativamente abundante. Quando se acumula, confere às células uma morfologia monocitóide. Alternativamente as células podem assemelhar-se a pequenos linfócitos.⁸³ Cerca de 1/3 dos casos existe uma diferenciação plasmacitóide, conferindo-lhes uma morfologia igual a plasmócitos normais, existindo, por vezes, inclusões citoplasmáticas ou corpos de Dutcher no núcleo.³² Esta variante morfológica é mais comum nos linfomas cutâneos e quase constante na doença intestinal imunoproliferativa e na tiróide.⁸³

Nos tecidos glandulares, particularmente no estômago e nas glândulas salivares, agregados de 3 ou mais células neoplásicas da zona marginal infiltram e destroem as glândulas ou ductos, formando as lesões linfoepiteliais.^{32,83} Estas lesões são úteis, principalmente no estômago, para o diagnóstico diferencial com um infiltrado reactivo.³²

É comum identificar folículos reactivos remanescentes, por vezes com infiltrados de células neoplásicas. Esta colonização folicular é normalmente realizada por células neoplásicas morfológicamente da zona do manto, embora também ocorra por células tipo

plasmócitos ou células grandes.³² Em casos extremos, pode-se assemelhar ao linfoma folicular.⁸³ Na tiróide, a colonização do lúmen dos folículos tiroideus forma uma lesão linfoepitelial denominada “*MALT-ball*”.³²

O linfoma de MALT é composto predominantemente por células pequenas. Células de grandes dimensões semelhantes a centroblastos ou imunoblastos podem existir mas devem ser uma minoria.⁸³ A sua proliferação em toalha ou em agregados confluentes representa um linfoma difuso de grandes células B.^{32,83} Alguns autores requerem agregados de pelo menos 20 destas células para definir a transformação. Caso estas células se encontrem dispersas, podem representar 5 a 10% ou mesmo 20% da população geral, não se encontrando este facto associado a um pior prognóstico.³²

O termo “linfoma de MALT de alto grau” não deve ser utilizado.⁸³

A medula óssea é afectada principalmente num padrão nodular, seguindo-se um padrão intersticial. O padrão sinusoidal é raro. Em 83% dos casos observam-se 2 padrões.⁴⁵

As células neoplásicas expressam IgM, embora também possam ser IgA ou IgG+. Existe uma restrição na cadeia leve (a doença intestinal imunoproliferativa não a possui). Tipicamente as células são CD20+, CD79a+, CD5 – (diferenciando-o do linfoma do manto) e CD23- (ajudando ao diagnóstico diferencial com a leucemia linfocítica crónica), CD10 – (diferente dos linfomas foliculares), CD11c+/- (fraco), CD43+/-^{59,83} e Bcl-2+ (embora este se possa perder aquando a colonização dos folículos). A marcação para citoqueratinas pode ajudar a identificar as lesões linfoepiteliais.³²

A fluxometria de fluxo pode ser útil no seu diagnóstico. No entanto, pode ser difícil distinguir entre os linfomas foliculares CD10-. A intensidade para CD19 (reduzida nos últimos) pode orientar o diagnóstico.⁵³

Os genes das imunoglobulinas estão rearranjados e possuem hipermutações somáticas,

compatíveis com uma origem pós-germinativa, semelhante a uma célula B de memória.⁸³

As translocações t(11;18) (API-2/MALT1), t(14;18) (IgH/MALT1), t(1;14) (BCL-10/IgH) e t(3;14) (FOX-P1/IgH) são observadas com em diferentes percentagens, nos linfomas de MALT.¹⁴ Pelo menos as 3 primeiras parecem contribuir para o desenvolvimento tumoral através da activação da via NF-kB.^{28,32} De realçar o facto da t(11;18) estar associada a uma ausência de resposta do linfoma à erradicação do *Helicobacter pylori*,^{59,83} acontecendo o mesmo com a translocação t(1;14). Outras anomalias como a trissomia 3, 12 ou 18 são frequentemente encontradas.¹⁴

Diagnóstico diferencial

Hiperplasia reactiva

Outros linfomas de baixo grau

Linfoma da Zona Marginal Esplénica

Linfoma indolente de células B composto por pequenos linfócitos os quais rodeiam ou, mais comumente, destroem os centros germinais da polpa branca esplénica (fig.28) e fundem-se com uma zona periférica (marginal) composta por células de dimensões pequenas/médias, com citoplasma abundante claro (células tipo zona marginal), com alguns blastos dispersos. Pode existir uma diferenciação plasmocítica. A polpa vermelha encontra-se sempre invadida.⁸³

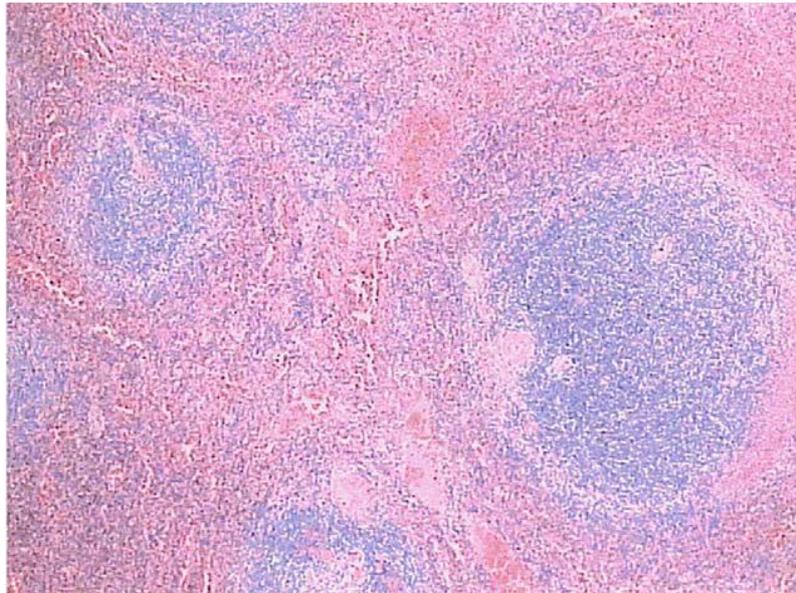


Fig.28 – Polpa branca esplênica invadida por células neoplásicas. *Retirado de 68*

Na medula óssea o padrão nodular é o mais comum, embora o padrão intra-sinusoidal e a presença de centros germinativos bem definidos são muito característicos (fig.29).⁴⁵

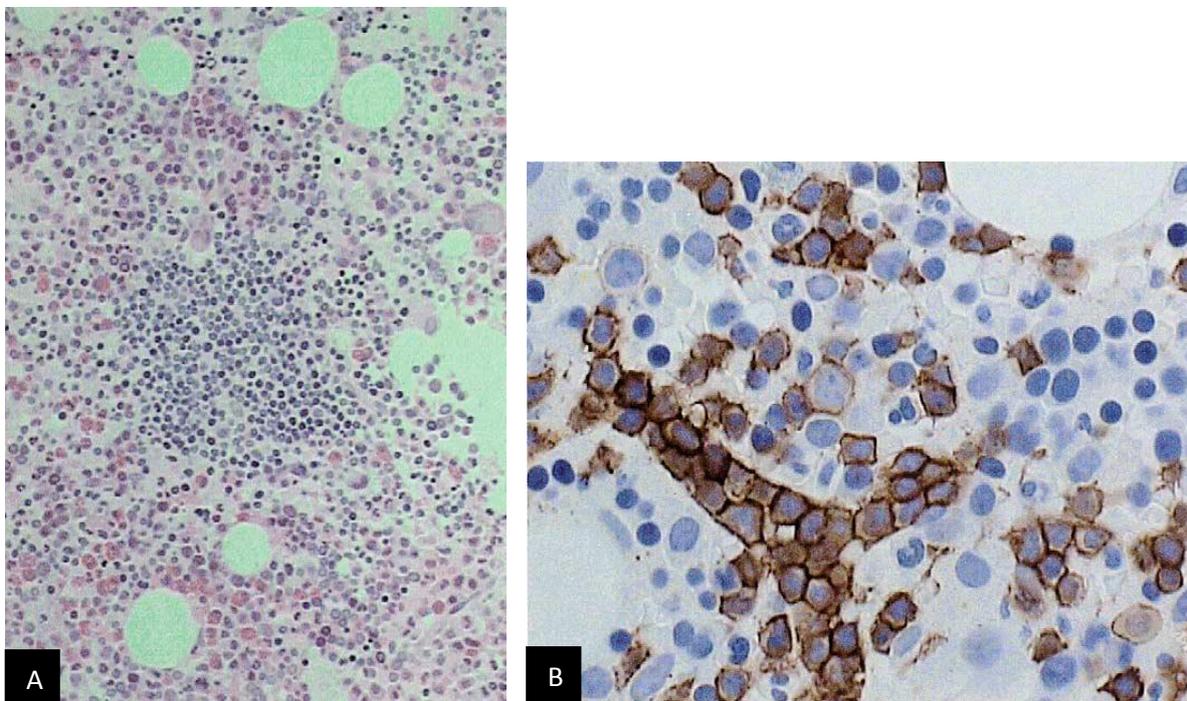


Fig.29 – (A) Medula óssea com infiltração nodal; (B) infiltração sinusoidal (marcação para CD20)
Retirado de 68

Em 15% dos casos de envolvimento sanguíneo, encontram-se linfócitos com protusões citoplasmáticas polares (fig.30).⁸⁵

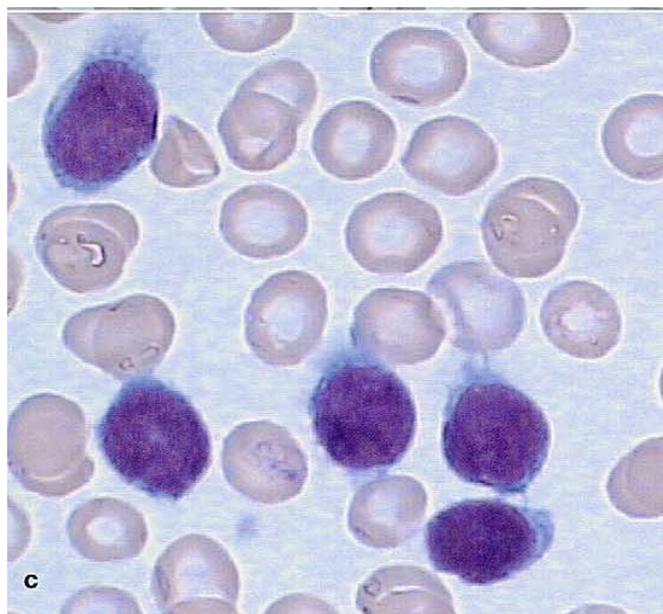


Fig.30 – células com vilosidades de localização polar.
Retirado de 68

Imunofenotipicamente, este linfoma é semelhante aos linfomas MALT, exceptuando o facto das células neoplásicas poderem apresentar-se IgD+, o que pode estar associado à ausência de mutações nos genes das imunoglobilinas e a um pior prognóstico.⁴⁸ A ausência de marcação para Anexina A1, Ciclina D1, CD5, CD10 e BCL-6 ajuda a excluir a leucemia de células pilosas, linfoma do manto, leucemia linfocítica crónica e o linfoma folicular, respectivamente.⁸³ A expressão de CD11c em citometria de fluxo está muito associada a este linfoma, embora não seja específica.⁵³

Entre várias alterações citogenéticas descritas, a perda alélica do cromossoma 7q31-32 é observada em 40% dos casos. Não se observa a translocação t(11;18).⁸³

Linfoma da Zona Marginal Nodal

Linfoma nodal de células B que morfológicamente se assemelha ao envolvimento nodal pelos linfomas de MALT ou Marginal esplénico, mas sem evidência destes.⁸³

As células neoplásicas envolvem os folículos reactivos e expandem-se para as regiões interfoliculares. Pode ocorrer colonização folicular. Por vezes um difuso pode ser observado.⁸³ Foram propostos 2 padrões de crescimento: um tipo esplénico, com um padrão nodular células IgD+, e tipo MALT, com um padrão parafolicular e perivascular/perisinusoidal e células IgD-. O primeiro estaria relacionado com um estágio mais localizado e sem envolvimento da medula óssea. Esta divisão ainda não é consensual.⁸

O tumor é composto por células da zona marginal (tipo centrócito e monocitóide), plasmócitos e células B transformadas.⁸³ Nalguns casos estas células grandes podem representar >20% da população, sem alteração no prognóstico, desde que se mantenham dispersas e não formem agregados em toalha.⁸ A transformação para um linfoma difuso pode ocorrer (num estudo 16%).⁴⁸ Por vezes pode ocorrer uma diferenciação plasmocitóide, tornando difícil o diagnóstico diferencial com o linfoma linfoplasmocítico ou mesmo o plasmocitoma nodal.⁸³ Imunofenotípicamente é semelhante aos outros linfomas marginais.

Linfoma Linfoplasmocítico

Neoplasia de pequenos linfócitos B, linfócitos plasmacitóides (células com citoplasma abundante e basofílico mas com núcleo tipo-linfócito)⁹⁴ e plasmócitos, com ou sem corpos de Dutcher (pseudo-inclusões intranucleares PAS+), que na maioria dos doentes se associa à macroglobulinemia de Waldenström (WM). Esta define-se como um linfoma linfoplasmocítico com envolvimento da medula óssea, associado a uma gamopatia monoclonal IgM (seja qual for a concentração desta).⁸³

A invasão medular caracteriza-se por um infiltrado predominantemente de pequenos linfócitos misturados com um número variável de plasmócitos e linfócitos plasmacitóides, num padrão nodular, difuso e/ou intersticial.⁸³ O aumento de mastócitos é característico.⁹⁴

A arquitectura nodal encontra-se preservada (embora tal possa não acontecer), com sinusóides dilatados com material PAS+. A região intersinusal encontra-se invadida por um infiltrado relativamente monótono de linfócitos pequenos, plasmócitos e linfócitos plasmocitóides. O aumento de mastócitos e de hemossiderina é característico. Os centros de proliferação têm de estar ausentes.

As células apresentam Ig superfície+, IgM citoplasmática+, IgD-, CD20+, CD5-, CD10-, CD103- e CD23-. Os plasmócitos são CD138+.⁸³

Não existe nenhuma alteração genética característica e, embora a t(9;14) tenha sido descrita em 50% dos casos,⁹⁴ a classificação da OMS considera-a rara ou mesmo inexistente.⁸³

A doença da cadeia pesada γ é considerada uma variante deste linfoma, com um curso clínico mais agressivo.⁸³

Outras Neoplasias de Células B

Quadro 11 Adaptado de 83

	Leucemia prolinfocítica de células B	Leucemia de células pilosas	Linfoma/leucemia de células-B esplênico	
			Linfoma difuso de pequenas células-B da polpa vermelha esplênica	Variante semelhante à leucemia de células pilosas
Definição	Neoplasia de células B, afectando medula óssea, sangue e baço. Prolinfócitos tem de exceder 55% das células linfóides circulantes	Neoplasia indolente de pequenas células linfóides B maduras, com núcleo redondo e citoplasma abundante com projecções “pilosas”. Envolve a medula óssea, sangue e polpa vermelha do baço	Neoplasia de células pequenas, envolvendo difusa e monomorficamente a polpa vermelha. Ausência de substituição folicular (dd com SMZL) Sangue envolvido por células tipo-pilosas (semelhantes ao SMZL) Sinusóides medulares afectados. Diagnóstico de exclusão	Semelhante à Leucemia de células pilosas com variações “citoematológicas” (leucocitose, presença de monócitos, células com nucléolo proeminente ou blásticas ou com núcleo irregular), variações imunofenotípicas (ausência de CD25, anexinaA1 ou TRAP) ou resistência à terapêutica convencional daquela neoplasia (cladribina).
Características clínicas	>60anos Esplenomegália massiva; Linfocitose >100.000x10 ⁹ /L	>50anos Monocitopenia Punção medular “seca”	>40anos 10% dos linfomasB em esplenectomia. Esplenomegália massiva	>45 anos Afecta baço (polpa vermelha), medula óssea (sinusóides) e sangue. Raramente, gânglios linfáticos e fígado .
Imunofenotípagem				
TRAP (<i>tartrate-resistant acid phosphatase</i>)		++	-	-/+ (fraco)
Ig	++ (+/-IgM;IgD)	+	+ (IgG+/IgD-/+; por vezes IgM+)	++ (IgG)
Antígenos B (CD20,CD79a)	+	+	+	+
CD5	-/+ (fraco)		-/+	
CD10		-	-	
Anexina A1	-	++	-	-
CD23	-/+ (fraco)		-	
T-bet		+		
DBA.44 (CD72)		+	+	+
CD11c		+	-/+	+
CD25		+	-	-
CD123		+	-/+	-
CD103		+	-/+	+
CiclinaD1	-	+(fraco)		
FMC7		+		+
Prognóstico		>90% aos 10anos. 30% desenvolve neoplasia (tiróide, LNH, CHL) nos próximos 25 anos.	Doença indolente e sem cura, com boa resposta após esplenectomia	Curso indolente mas com sobrevivência prolongada. Resposta favorável ao Rituximab e anti-CD22.
Comentários	Não tem t(11;14)	Medula óssea pode ser hipocelular (dd anemia aplásica). AnexinaA1 é específica mas tem de ser expressa com marcadores B, (células mielóides e T também a contém)		

Linfoma de Hodgkin

O linfoma de Hodgkin contabiliza 30% dos linfomas. Encontra-se dividido em duas entidades: o linfoma de Hodgkin de predomínio linfocítico nodular (NLPHL) e o linfoma de Hodgkin clássico. As suas variantes partilham as seguintes características:

- 1) Surgem em gânglios linfáticos, preferencialmente cervicais;
- 2) A maioria manifesta-se em jovens adultos;
- 3) Contêm um pequeno número de células neoplásicas dispersas num infiltrado inflamatório de células acessórias não-neoplásicas;
- 4) As células neoplásicas estão circundadas por linfócitos, formando uma roseta.⁸³

Linfoma de Hodgkin de Predomínio Linfocítico Nodular

Neoplasia monoclonal de células B com uma proliferação nodular ou difusa e nodular, com células grandes dispersas denominadas “em pipoca” ou de “predomínio linfocítico”.⁸³ É um subtipo de linfoma de Hodgkin embora se diferencie da variante clássica em termos de morfologia, fenótipo, genótipo e clínica ([quadro 19](#)).⁷³

Provavelmente originar-se-á de células do centro germinativo no estágio de diferenciação centroblastico.⁸³

A arquitectura do gânglio linfático encontra-se parcial ou totalmente substituída por um infiltrado nodular ou nodular e difuso ([fig.31](#)) de infiltrado de pequenos linfócitos⁸³ (essencialmente células B,⁶⁶ com algumas células T, principalmente perto de vénulas epitelióides adjacentes⁸⁸), histiócitos ou histiócitos epitelióides⁰. Contrariamente à variante clássica, os eosinófilos, plasmócitos e neutrófilos são raros ([fig.32](#)).⁶⁶ A existência duma

variante puramente difusa é controversa.⁸³

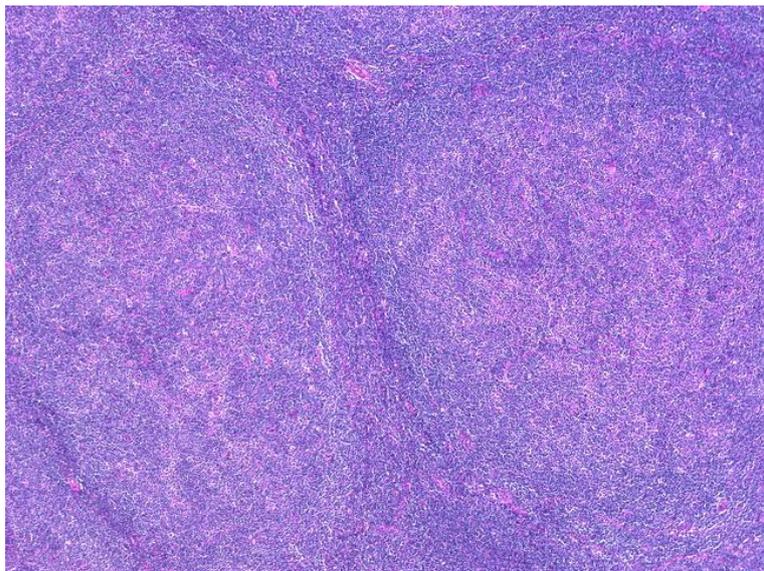


Fig.31 – Linfoma de Hodgkin de predomínio linfocítico nodular
www.webpathology.com

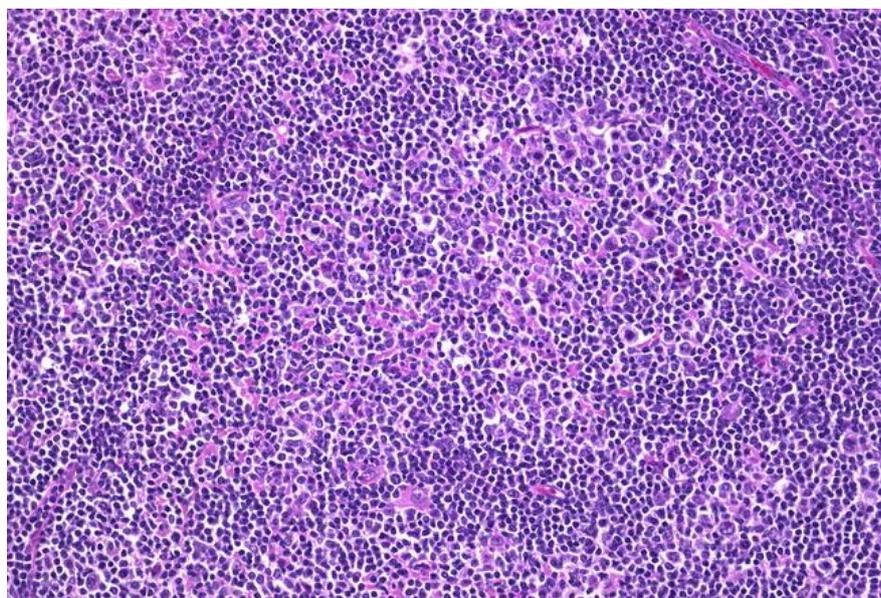


Fig.32 – Realce-se o elevado número de linfócitos e a ausência de células RS, fibrose, eosinófilos, neutrófilos e de plasmócitos. www.webpathology.com

As células de predomínio linfocítico encontram-se dispersas; são grandes, núcleo polilobulado (o que extremado originou o termo “em pipoca”), cromatina finamente dispersa, nucléolos múltiplos, muitas vezes adjacentes à membrana nuclear (fig.33).^{73,83} O citoplasma é escasso, sendo basofílico em Giemsa.⁷³ No entanto, por vezes, podem ser morfológicamente indistinguíveis das células de Reed-Sternberg⁸³ ou mesmo das células lacunares.⁷³

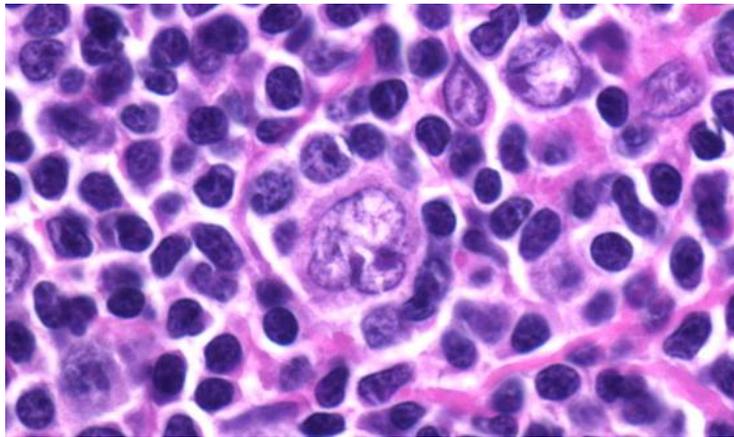


Fig.33 – Célula de predomínio linfocitário (‘‘em pipoca’’). www.webpathology.com

A esclerose é infrequente (9%), embora possa surgir nas recorrências (44%).⁸³

A existência dum nódulo é suficiente para excluir o linfoma de grandes células B rico em linfócitos T/histiócitos (T/HRBCL).⁸³

As células são positivas para CD45, CD20, CD22, CD79a, BCL-6 cadeia J e, na maioria dos casos EMA (*epithelial membrane antigen*).^{66,83} Contrariamente à variante clássica, os marcadores OCT-2, BOB.1 e AID (*activation-induced diaminase*) são expressos nas células neoplásicas, ao passo que a marcação para CD15 e CD30 é negativa.⁸³ No entanto alguns blastos reactivos extra-foliculares (de menores dimensões comparativamente às células neoplásicas), podem positivar para anti-CD30.⁷³

A expressão de PU.1 ajuda na distinção com o T/HRBCL, onde se encontra reduzida/ausente.⁶⁶ O estudo das populações celulares acessórias acentuam as diferenças com este linfoma de grandes células: os linfócitos policlonais com fenótipo da zona do manto (IgM e IgD+) estão presentes, o ambiente folicular é mantido (documentado pela marcação das células foliculares dendríticas) (fig.34) e as células T são CD4+/CD57+, (fig.35) cercando comumente as células neoplásicas (rosetas), ao passo que as células T do T/HRBCL são células T CD8+, com predomínio de histiócitos.^{66,83}

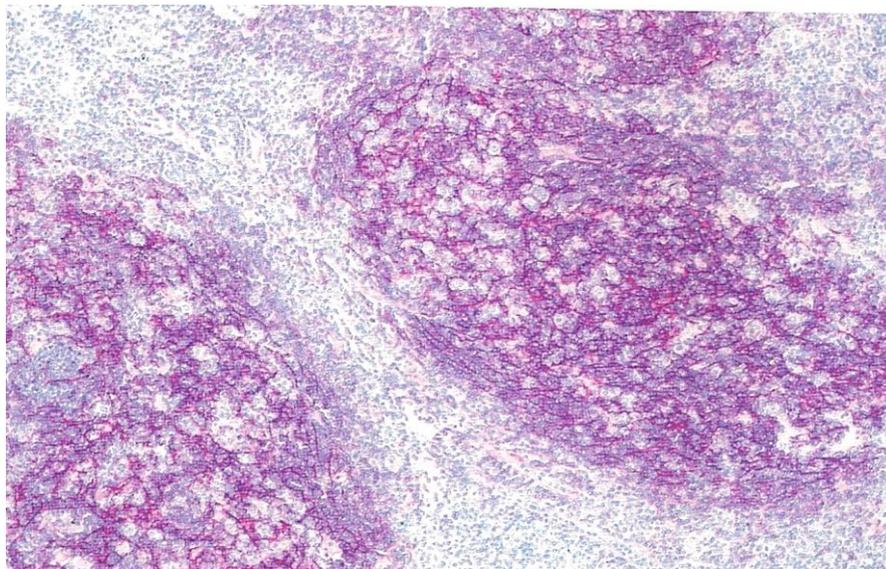


Fig.34 – Marcação para CD21, realçando as células foliculares dendríticas . *Retirado de 83*

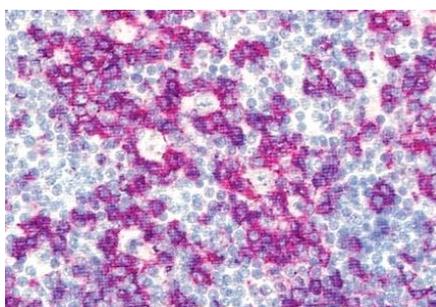


Fig.35 – Marcação para CD57 realçando as células T circundando as células neoplásicas .
Retirado de 83

Rahemtullah et al (2006) documentaram, por citometria de fluxo, um aumento das células duplamente positivas para CD4+/CD8+ (pelo menos 10% da população celular na maioria dos casos), numa tentativa de relatar alterações/padrões sugestivos do diagnóstico deste linfoma. Embora esta variação não fosse específica, sugerem que este achado, combinado com eventuais alterações citológicas, devem alertar para este linfoma. Realçaram ainda o facto de poder ocorrer o diagnóstico incorrecto duma neoplasia precursora T (as células detectadas eram CD1a e/ou TdT negativas).⁷⁵

Os genes das imunoglobulinas estão rearranjados. Hipermutações somáticas aberrantes são observadas em 80% dos casos.⁸³

Linfoma de Hodgkin Clássico

Neoplasia composta por células mononucleares (Hodgkin) ou multinucleares (Reed-Sternberg (RS)) residindo num infiltrado contendo uma mistura variável de células não-neoplásicas (linfócitos pequenos, eosinófilos, neutrófilos, histiócitos, plasmócitos e fibroblastos). Com base na morfologia das células malignas e/ou na população acessória, foram descritos 4 subtipos histológicos: rico em linfócitos (LRCHL), esclerose nodular, celularidade mista (MCCHL) e depleção linfocitária (LDCHL).⁸³

A célula de RS ([fig.36](#)) é a marca principal do linfoma de Hodgkin, embora normalmente representem menos de 1% do infiltrado celular.⁵⁴ São grandes, medindo entre 20-60µm de diâmetro, com citoplasma abundante e ligeiramente basofílico e possuem pelo menos 2 núcleos redondos, de cromatina pálida, com uma membrana nuclear proeminente e por vezes irregular, sendo obrigatório a presença de pelo menos um nucléolo, normalmente acidófilo, cobrindo 50% da área nuclear, em cada um dos lobos nucleares.^{73,83} Por vezes existe uma área perinuclear semelhante a uma inclusão viral.⁸³

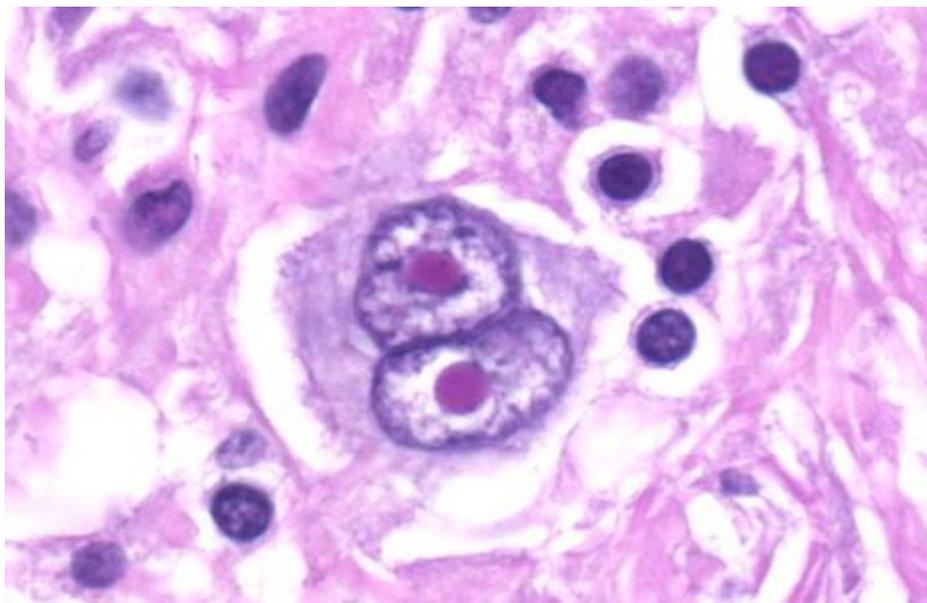


Fig.36 –Célula de Reed-Sternberg.
www.webpathology.com

A arquitectura nodal encontra-se destruída por um número variável de células de RS misturadas num fundo inflamatório.⁸³

Na variante **nodular**, um padrão nodular proporcionado por bandas de colagénio cercado pelo menos um nódulo (fig.38), acompanhando-se dum espessamento da cápsula ganglionar, pode por vezes ser observado macroscopicamente^{73,83} (fig.37). O tecido fibrótico possui uma birrefringência verde à luz polarizada (não observado na variante LDCHL).⁷³



Fig.37 – Macroscopia dum linfoma de Hodgkin do timo, variante esclerose nodular.
www.pathconsultddx.com

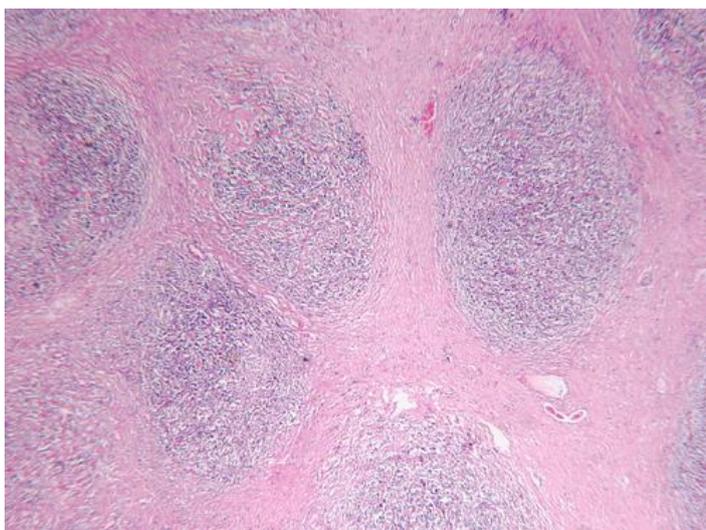


Fig.38 – Esclerose Nodular.
<http://www.flickr.com>

As células de RS tendem a ter um núcleo mais lobulado mas com lóbulos mais pequenos, nucléolos menos proeminentes e uma quantidade maior de citoplasma. Este sofre uma retracção aquando da fixação com formaldeído, originando uma lacuna no local da célula (facto que dá o nome às células lacunares, características deste subtipo histológico) (fig.40).⁸³ Encontra-se descrita uma fase celular na qual as bandas de colagénio não são tão manifestas embora exista uma clara tendência para um padrão nodular e as células lacunares encontram-se à periferia dos nódulos ou cercando os folículos residuais.⁷³ Esta fase não se encontra descrita na Classificação da OMS.⁸³ Uma variante sincicial (fig.39,40) pode ser observada até 16% dos casos, na qual existem agregados proeminentes de células lacunares, podendo associar-se a necrose central, assemelhando-se a um granuloma necrotizante.^{73,83} Esta variante tem uma clínica mais agressiva estando associada a estádios mais avançados em 88% dos doentes. Pode ser facilmente confundida com um NHL, metástase de melanoma, sarcoma ou carcinoma, ou tumor germinativo.⁷³

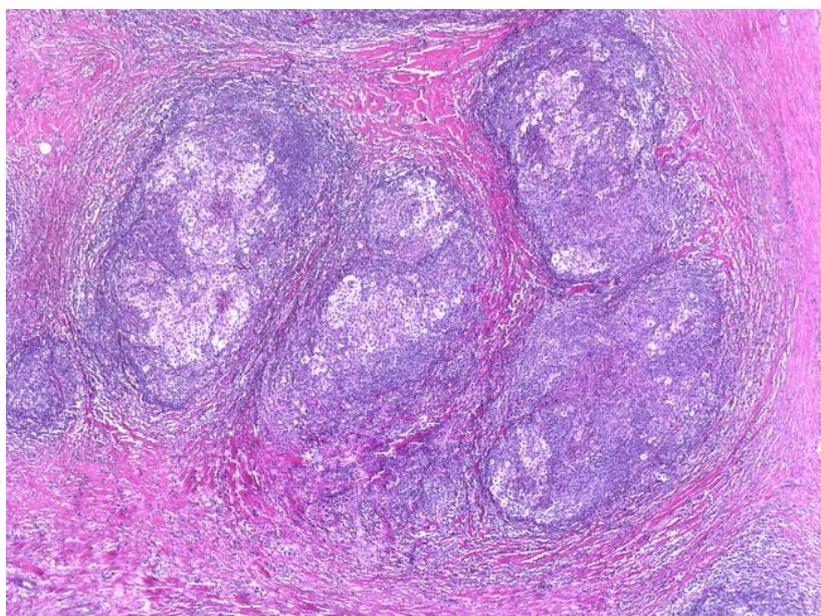


Fig.39 – Variante sincicial, com agregados coesos de células lacunares.
www.webpathology.com

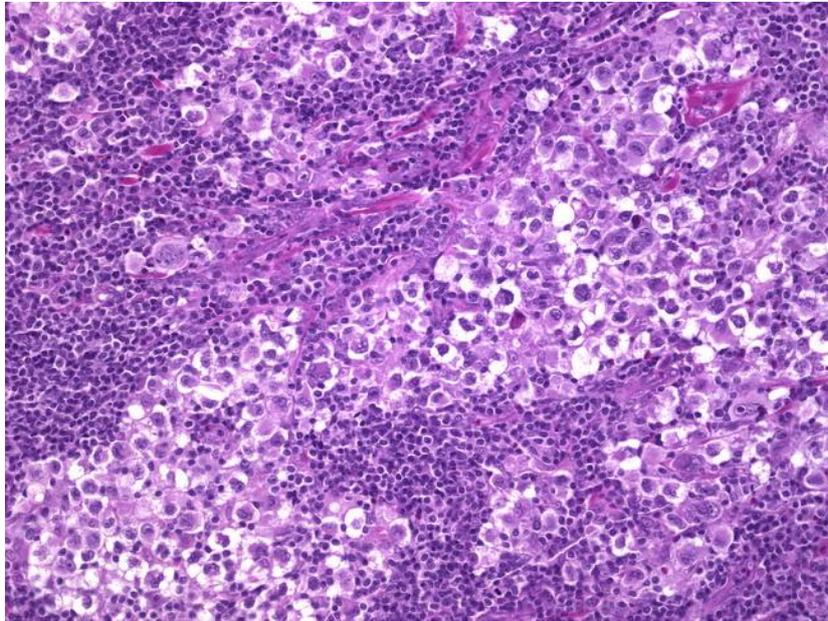


Fig.40 – Variante sincicial, em pormenor, com várias células lacunares.
www.webpathology.com

Estão descritos alguns sistemas de gradação. Recentemente von Wasielewski et al (2003) descreveu um baseado na eosinofilia (>5% de todas as células ou agregados em mais de 5 campos de ampliação), depleção linfocitária (<33% de todos os linfócitos dum campo) e na atipia das células RS (>25%). Casos contendo pelo menos um eram considerados SCCHL de alto risco.⁹⁵ A OMS não reconhece a necessidade clínica da aplicação destes graus, exceptuando em investigação.⁸³

No subtipo **MCCHL** (fig.41) a arquitectura nodal encontra-se apagada por um infiltrado misto de eosinófilos, neutrófilos, histiócitos, plasmócitos (podendo predominar um destes) e células RS típicas. Algum grau de fibrose intersticial pode ser observado mas sem bandas largas de colagénio ou sem espessamento da cápsula ganglionar.⁸³ Uma variante interfolicular pode ser observada, com as células RS em volta de folículos reactivos. Estes podem se assemelhar àqueles observados da Doença de Castleman com hialinização vascular.⁷³ Por vezes os histiócitos podem adquirir feições epitelióides (principalmente nos casos EBV+), podendo formar agregados tipo granulomas ou mesmo granulomas.⁸³

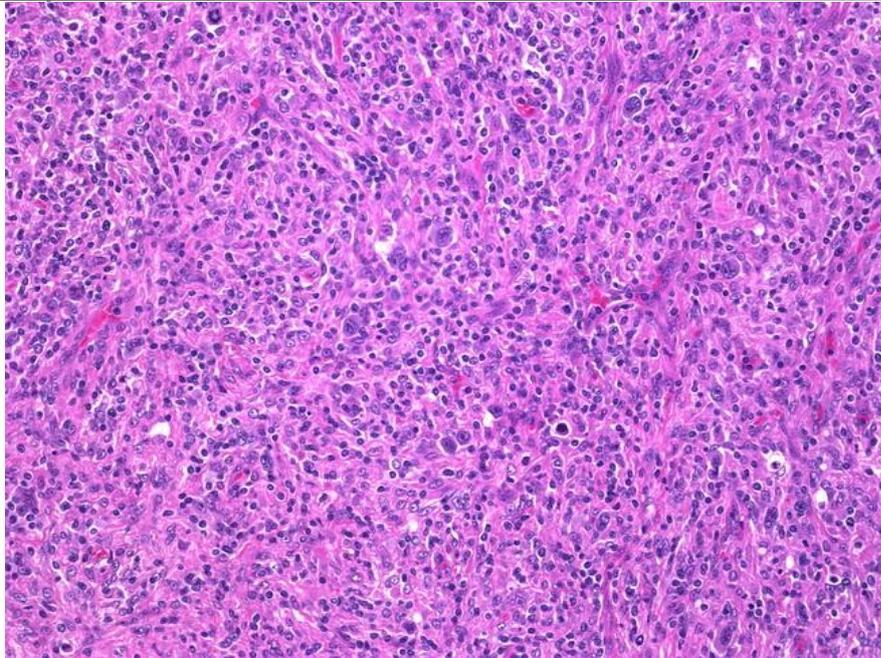


Fig.41 – Variante celularidade mista. Observam-se células RS, num fundo com eosinófilos, plasmócitos, linfócitos e células mononucleares. www.webpathology.com

A variante **LRCHL** (fig.42) contém células RS e Hodgkin dispersas num meio rico em pequenos linfócitos organizados numa maneira nodular ou, menos comumente, difusa, constatando-se a ausência de neutrófilos e eosinófilos.⁸³

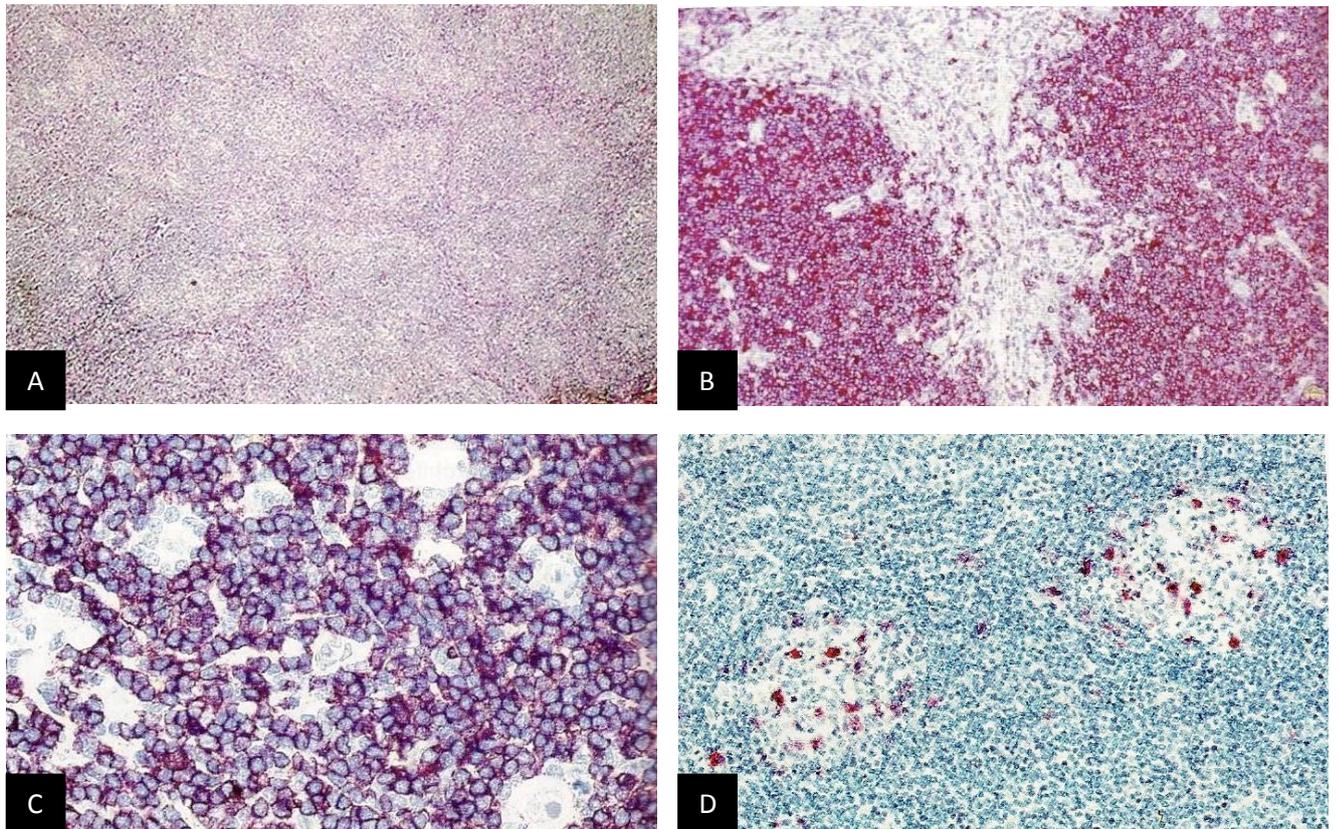


Fig.42 – (A) padrão nodular. (B) Inúmeros linfócitos B (CD20+). Os “buracos” contêm células RS. (C) Em pormenor, células B (CD20+) e células RS (CD20-) circundadas por células T (CD20-). (D) Marcação para CD57 revela algumas células mas sem formarem rosetas. *Retirado de 83*

A aparência do subtipo **LDCHL** pode variar bastante embora seja constante a existência duma predominância das células RS em relação aos linfócitos de fundo (fig.43). Em alguns casos, pode assemelhar-se ao MCCHL mas com um maior número de células tipo.⁸³ Outras vezes, assume uma variante fibrótica, com uma proliferação proeminente e difusa de fibras de reticulina⁷³ (com ou sem a proliferação de fibroblastos),⁸³ com tendência a englobar células neoplásicas únicas e associando-se à deposição de material amorfo (pré-colagénio) em volta dos sinusóides⁷³ e com um reduzido número de células RS.⁸³ Por vezes surge um padrão sarcomatóide com um número muito aumentado de células RS⁷³ pleomórficas,⁸³ por vezes “mumificadas”; os linfócitos pequenos, granulócitos, plasmócitos e histiócitos encontram-se em número reduzido. São encontrados com frequência focos de necrose.⁷³

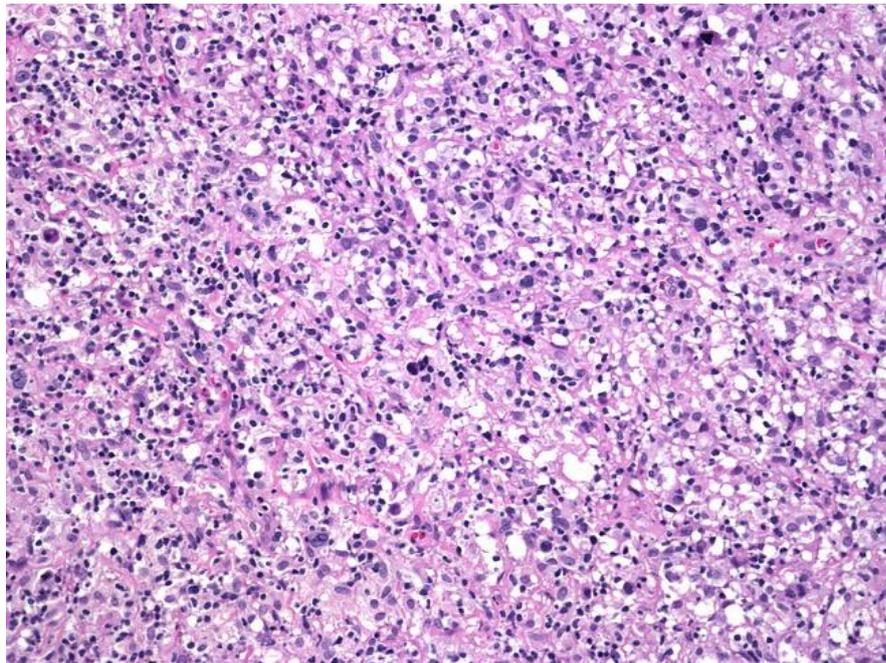


Fig.43 – Variante de deplecção linfocitária, com numerosas células RS, e alguns eosinófilos, neutrófilos e macrófagos. www.webpathology.com

Independentemente do subtipo histológico, as células RS são positivas para CD30 (>98% embora a sua intensidade possa variar de caso para caso e mesmo dentro de cada amostra)⁷³ e CD15 (75-85%), normalmente num padrão membranar com acentuação da área de Golgi.⁸³ Este tipo de positividade é quase exclusivo de neoplasias linfóides (exceptuando o

carcinoma embrionário; um tipo de positividade difuso é característico do carcinoma nasofaríngeo indiferenciado, melanoma e carcinoma pancreático).⁷³

A negatividade é usual para CD45, EMA, OCT-2 e BOB.1 (auxiliando assim ao diagnóstico diferencial com o NLPHL), e constante para a cadeia J, CD75, PU.1 e CD138.

Em 30-40% dos casos, o CD20 pode ser detectado, embora apenas num pequeno conjunto de células⁸³ e geralmente em casos EBV-.⁷³

A positividade para PAX5 é frequente (95%) embora numa intensidade inferior àquela das células B reactivas. Esta expressão (juntamente com a negatividade para EMA) auxilia à distinção com o linfoma de grandes células anaplásico.⁸³

Em 5% dos casos observa-se uma positividade para pelo menos um marcador T (CD2>CD4>CD3>CD5>CD8). Denote-se que se trata numa expressão aberrante já que a maioria destes casos possui rearranjo dos genes das imunoglobulinas (manifestando a sua origem B, mais concretamente do centro germinativo) e apenas uma pequena percentagem (<1%) dos linfomas de Hodgkin apresentam rearranjos do receptor T (indicando uma origem T).⁸⁹

Ao nível genético não existem alterações específicas conhecidas. Contudo, ganhos nas sub-regiões cromossómicas 2p, 9p e 12q bem como amplificações na banda 4p16, 4q23-24 e 9p23-24 são recorrentes. A translocação t(5;12) encontra-se ausente.⁸³

Linfoma T Angioimunoblástico

Linfoma T periférico caracterizado por doença sistêmica, um infiltrado polimorfo envolvendo o gânglio linfático, com uma proeminente proliferação das vénulas de endotélio alto e das células foliculares dendríticas.⁸³

A arquitectura nodal é parcial ou completamente destruída por um infiltrado interfolicular, confinado principalmente à região paracortical, com os seios medulares frequentemente preservados e dilatados.⁴³ O infiltrado é constituído principalmente por linfócitos pequenos/médios, com um citoplasma claro/pálido, membranas celulares distintas e atipia celular mínima, num fundo inflamatório composto, em número variável, por linfócitos pequenos reactivos, eosinófilos, plasmócitos, histiócitos e raras células tipo-RS EBV+⁸³ (fig.44).

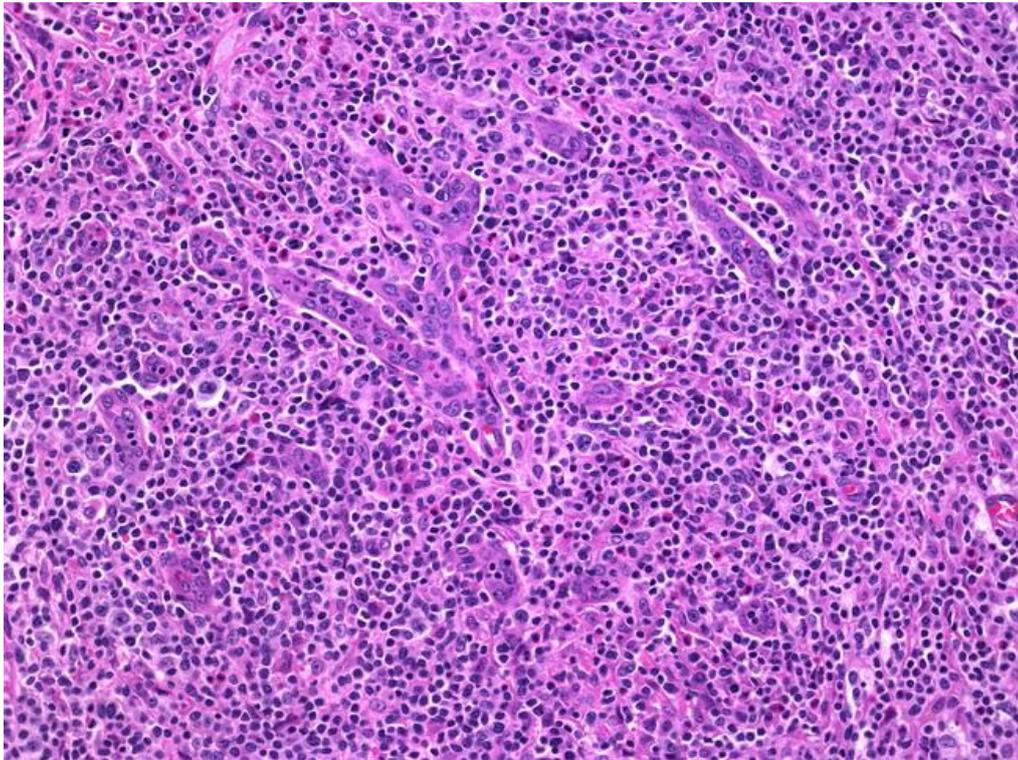


Fig.44 –Realça-se a marcada proliferação dos vasos sanguíneos.
www.webpathology.com

As células neoplásicas podem formar pequenos agregados em volta dos folículos e das

vénulas de endotélio alto.⁸³ Em 50% dos casos podem-se encontrar pequenos agregados ou mesmo proliferações “em toalha” de imunoblastos atípicos, principalmente nas áreas perivasculares (fig.45).⁴³ Em casos menos avançados, pode-se observar folículos hiperplásicos sem zonas do manto (17%) ou folículos atróficos (fig.45) (28%⁶³ – assemelhando-se à doença de Castleman⁸³). Nestes casos, os agregados de células claras são mais raros, dificultando o diagnóstico.⁶³

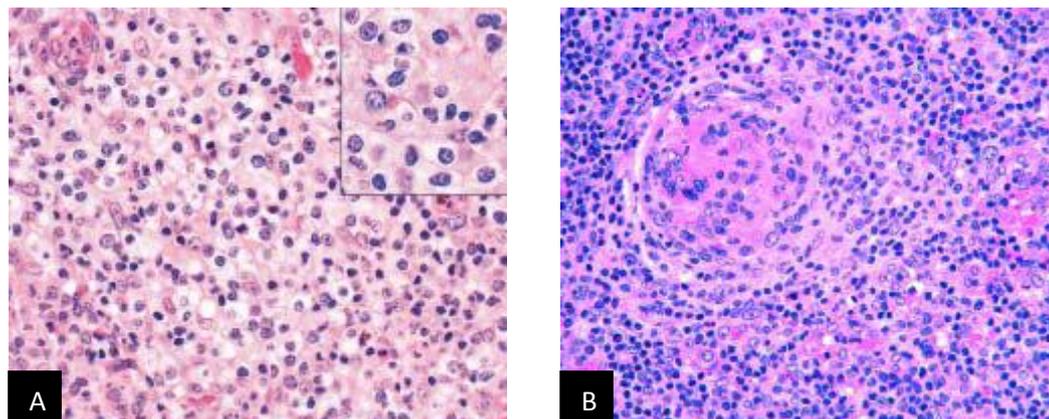


Fig.45 – (A) Agregado de grandes células claras. (B) Centro germinativo atrófico .
Retirado de 63

A marca histológica deste linfoma é a proliferação marcada das vénulas de endotélio alto, acompanhada igualmente duma multiplicação extrafolicular marcada das células dendríticas foliculares,⁶³ envolvendo os vasos, dando a sensação de centros germinativos “apagados”⁴³ (fig.46).

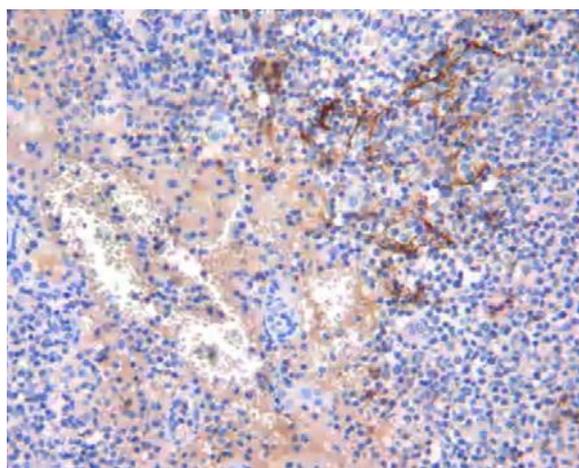


Fig.46 – Células dendríticas (CD21+) extendendo-se dos vasos sanguíneos originando um centro germinativo “apagado” .
Retirado de 43

Merchant et al (2006) relataram ainda a extensão do infiltrado neoplásico para a gordura perinodal (83%), bem como uma distribuição irregular periférica de pequenos linfócitos B residuais, na margem da expansão neoplásica, demonstrada pelo CD20+ em 67% dos casos. Este padrão é mais pronunciado aquando da destruição completa da arquitectura nodal e contrasta com aquele que é tipicamente observado noutros infiltrados paracorticais (linfoma T periférico, linfoma de Hodgkin e infecções virais) nos quais os folículos reactivos residuais ou os agregados primários de linfócitos B com contornos redondos encontram-se distorcidos mas relativamente intactos.⁶³

A relação entre o envolvimento limitado paracortical deste linfoma e a variante folicular do linfoma de células-T inespecífico necessita de ser esclarecida.⁸³

As células neoplásicas contabilizam uma pequena fracção do infiltrado (5-30%).⁴³ Expressam antígenos T como o CD3, CD2 e o CD5 e, na maioria dos casos, CD4 (embora numerosas células reactivas CD8+ possam estar presentes).⁸³ No entanto, a perda aberrante de um ou mais marcadores T é característica duma neoplasia T. A perda/expressão reduzida do CD3 foi documentada em 61% dos casos, quer analisando “visualmente” as lâminas, quer por citometria de fluxo. Igualmente, a perda de CD7 também ocorre. Outra característica destas neoplasias é a expressão aberrante dum marcador. A expressão de CD10 (em células CD4+) é observada numa pequena população de células (7-30%) em cerca de 90% dos casos e foi sugerida como específica deste tumor.⁶³ No entanto, Stacchini et al (2007) documentou, por citometria de fluxo, a sua presença aberrante em 2 casos de linfoma de células-T inespecífico. Igualmente a co-expressão CD4+/CD10+ foi detectada numa pequena população fisiológica de todos os casos controlos, tornando este fenótipo muito sensível para o linfoma angioimunoblástico mas pouco específico.⁸¹

Outros marcadores do centro germinativo como o SAP e PD-1 são expressos em 95% dos linfomas.⁴³

A positividade para CXCL13 é quase sempre detectada, embora também esteja presente em 30% dos linfomas de células-T inespecíficos. Encontra-se virtualmente ausente do linfoma de grandes células anaplásico.⁴³

Os genes do receptor T encontram-se rearranjados numa maneira clonal em 75-90% dos casos.⁸³

Provavelmente, só a biopsia ganglionar consegue estabelecer o diagnóstico correcto. Mesmo assim, existe um erro inicial até metade dos casos.⁴³

Diagnóstico diferencial

Hiperplasia da zona-T

Outros linfomas T

Doença multicêntrica de Castleman

Linfoma de Hodgkin

Linfoma difuso de grandes células B

Linfoma Anaplásico de Células Grandes, ALK+

Linfoma de células T constituído por células linfóides grandes, com citoplasma abundante, um núcleo pleomórfico em forma de rim/ferradura, com a expressão de CD30, uma translocação envolvendo o gene *ALK* e consequente expressão da proteína homónima.⁸³

O ALCL-ALK+ demonstra uma grande variabilidade histológica.^{62,83} Contudo, as “células características” estão presentes em todas as variantes,⁸³ com um núcleo em forma de rim/ferradura, excêntrico o qual envolve uma área paranuclear (Golgi) eosinofílica.⁶² Estas células são tipicamente grandes, embora também possam ser pequenas, mantendo as restantes

características citológicas. Estas células podem conter pseudo-inclusões nucleares provocadas por uma invaginação da membrana nuclear (fig.47).⁸³

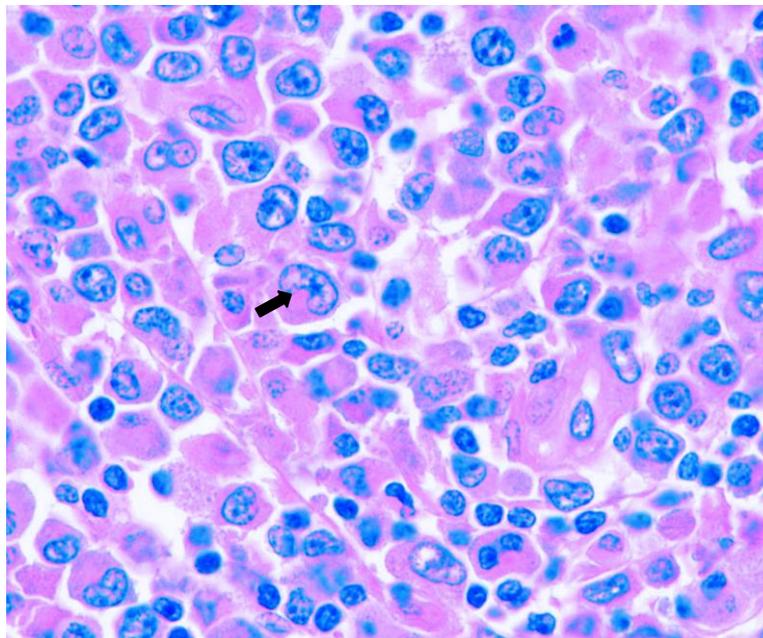


Fig.47 – Linfoma Anaplásico de Células Grandes, variante clássica. Célula “característica” (seta). *Adaptado de 62*

Encontram-se descritos vários padrões morfológicos. Na variante clássica (60%), as células tumorais são grandes, bizarras,⁶² com um citoplasma abundante que pode ser claro, basofílico ou eosinofílico,⁸³ e com um núcleo irregular⁶² e muitas vezes múltiplos em forma de coroa, assemelhando-se às células RS. A cromatina encontra-se finamente condensada ou dispersa, com múltiplos nucléolos pequenos e basofílicos.⁸³ As células crescem numa forma coesiva e envolvem particularmente os seios medulares (principalmente em casos de envolvimento nodal parcial)^{62,83} simulando uma metástase tumoral (fig.48).⁸³

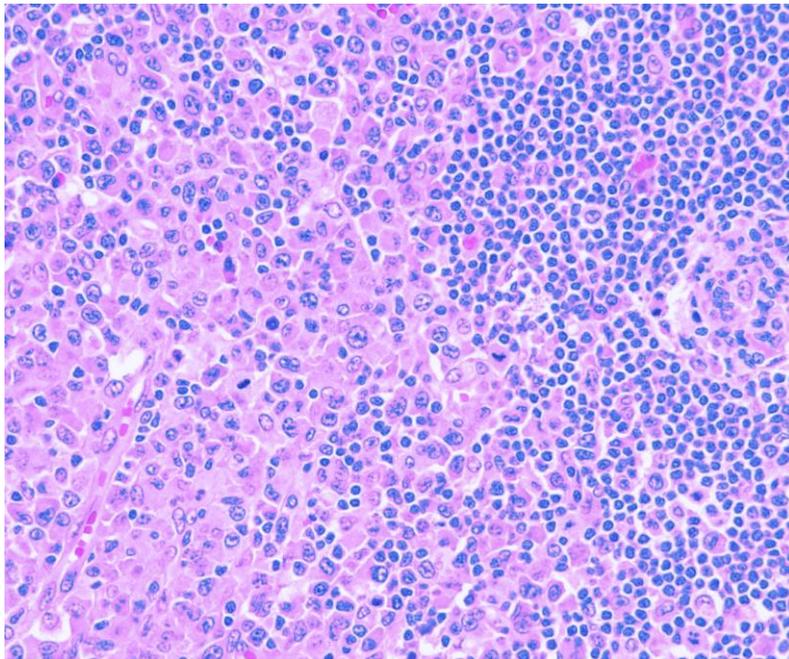


Fig.48 – Linfoma Anaplásico de Células Grandes, variante clássica. Envolvimento paracortical. Retirado de 62

A variante linfo-histiocítica (10%) é composta por células neoplásicas ligeiramente mais pequenas que as comuns e formando agregados envolta dos vasos linfáticos, misturadas com inúmeros histiócitos reactivos, ocasionalmente com sinais de eritrofagocitose.⁸³

A variante de pequenas células (5-10%), demonstra uma população de tamanho pequeno/médio e núcleo irregular. Por vezes este encontra-se centralmente localizado, sendo envolvido por um citoplasma pálido (células em “ovo estrelado”); outras vezes, células tipo anel de sinete são observadas. As “células características” estão presentes em torno dos vasos. É comum o diagnóstico erróneo de linfoma de células T periférico, inespecífico.⁸³ As duas últimas variantes surgem quase exclusivamente em crianças.⁴⁶

Um padrão tipo-Hodgkin (3%) é semelhante à esclerose nodular.⁸³

Por vezes observa-se um padrão monomórfico composto por células de tamanho médio/grande⁶² e núcleo redondo, predominantes ou misturadas com células pleomórficas.⁸³ No padrão sarcomatóide (<1%) as células são fusiformes, semelhantes àquelas do sarcoma.⁶²

O padrão de infiltração medular é, normalmente, intersticial, sendo raro um vagamente nodular.²⁶

As células neoplásicas expressam fortemente CD30 confinado à membrana e à zona paranuclear (Golgi), numa aparência tipo alvo (fig.49).⁶² Nas células tumorais mais pequenas, a expressão deste pode ser mais fraca ou mesmo nula. Na variante de pequenas células, a marcação é mais forte nas células maiores localizadas perto dos vasos.⁰

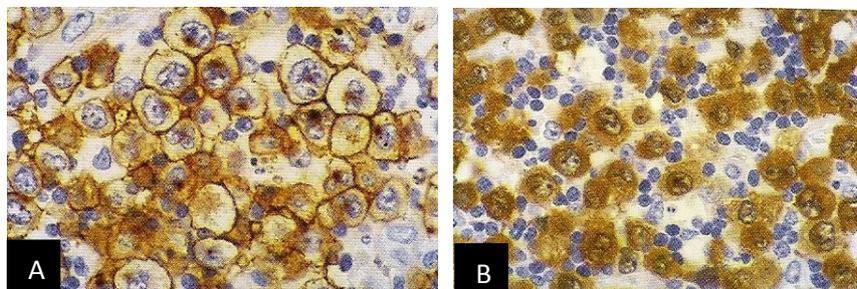


Fig.49 – (A) Marcação forte para CD30 membranar e no Golgi. (B) ALK+ na região nuclear, nucleolar e citoplasmática, correspondo à translocação t(2;5). Retirado de 83

Até à data, pelo menos 9 translocações envolvendo o locus *ALK* (2p23) foram caracterizadas.^{62,83} A t(2;5)(p23;q35) é a mais comum (75-80%), condicionando uma marcação citoplasmática e nuclear da *ALK* (fig.49).⁶² A fusão daí resultante, NPM-*ALK*, tem propriedades oncogénicas.⁸³ A rara (<1%) translocação t(2;17) condiciona uma expressão citoplasmática granular da *ALK*,⁸³ necessitando de fazer o diagnóstico diferencial com o DLBCL-*ALK*+ o qual, embora possa apresentar uma invasão sinusoidal e expressarem EMA, têm características imunoblásticas, por vezes com diferenciação plasmocitóide, expressão IgA mas não CD30 nem moléculas citotóxicas ou antígenos T.⁶² A t(X;2) confina a *ALK* à membrana enquanto que outras translocações incomuns têm tendência a demonstrar uma marcação citoplasmática difusa.⁸³ O melhor método de detecção destas translocações poderá ser a FISH uma vez que detectar o locus *ALK* embora não defina qual a variante envolvida. Em contrapartida, a PCR-RT pode detectar a t(2,5) mas não detecta outras variantes.⁶²

O rabiomiossarcoma e o tumor miofibroblástico inflamatório também expressam *ALK* mas não CD30.⁸³

O ALCL-*ALK*+ mostra uma positividade para moléculas citotóxicas como o TIA1,

granzima B e a perforina.^{62,83} Frequentemente demonstra uma expressão aberrante do imunofenótipo T, comumente sendo negativos para D3, CD5 ou receptor celular T. O CD4 é expresso mais frequentemente que o CD8, embora ambos possam ser negativos.⁶² Alguns linfomas demonstram um fenótipo “nulo”, sugerindo uma origem celular NK. Embora tal possa ser possível, a maioria destes é de linhagem T, apresentando rearranjos do receptor T.^{62,83}

O ALCL-ALK⁺ é negativo para BCL-2 e para EBV. Embora possa expressar outras moléculas (clusterina, fosfatase SHP1, BCL6, C/EBP, serpinA1, fascina), estas não têm utilidade diagnóstica.⁸³

Diagnóstico diferencial

Hiperplasia da zona-T

Outros linfomas T

Linfoma de Hodgkin

Linfoma B de células grandes, ALK⁺

Rabdomiossarcoma e o tumor miofibroblástico inflamatório

Linfoma Anaplásico Células de Grandes, ALK-

Entidade provisória indistinguível morfológicamente do seu homónimo ALK⁺, com o qual compartilha a expressão do CD30, com o mesmo padrão. Esta divisão deve-se primariamente ao facto da negatividade para ALK surgir em indivíduos mais velhos e se associar a um pior prognóstico.

Como referido, a morfologia é idêntica ao ALCL-ALK⁺, embora as células

neoplásicas tendam a ser maiores e mais pleomórficas e/ou possuam um ratio núcleo/citoplasma maior (algo que dificulta a distinção com o linfoma de células T periférico, inespecífico (PTCL,NOS) embora este possua células de pequeno/médio tamanho numa população mais homogénia, sem agregados em “toalha” ou um padrão de infiltração sinusoidal).

A perda dos marcadores T, a positividade para CD30, EMA e marcadores citotóxicos são mais comuns do que no PTCL,NOS. Por outro lado, a ZAP70 encontra-se quase sempre expressa no PTCL,NOS (92%) ao passo que é rara em ambos ALCL. O EMA é mais raro (83% vs 43%) que no ALK⁺⁹⁷ e o CD43 é quase sempre expresso.

A semelhança morfológica com o linfoma de Hodgkin (principalmente com a variante pobre em linfócitos)⁹⁷ obriga à negatividade do PAX5 e do EBV para o diagnóstico de ALCL-ALK-. A positividade para CD15 deve também levar a suspeita de CHL embora alguns PTCL,NOS (principalmente se fortemente CD30+, embora seja duvidoso se tais não devam ser classificados como ALCL-ALK-) possam-no expressar.

A distinção com o linfoma ALCL cutâneo é essencialmente clínica.

O prognóstico do ALCL-ALK- é mais favorável que o PTCL,NOS. Contudo, a distinção entre ambos não tem implicações clínicas significativas.⁸³

Linfoma Periférico de Células T, Inespecífico

Categoria que engloba todas as neoplasias de células maduras T, nodais ou extranodais, que não se enquadram noutra qualquer entidade.

Os gânglios linfáticos encontram-se infiltrados na zona paracortical ou difusamente.⁸³

Na maioria das vezes (fig.50), o infiltrado é composto por numerosas células de dimensões médias/grandes, com um núcleo irregular, pleomórfico, hipercromático ou vesicular, possuindo um nucléolo proeminente⁸³ com uma quantidade moderada dum citoplasma claro.⁷⁷ No entanto o espectro citológico extremamente variável desde altamente polimórfico a monomórfico. Podem ser observadas células tipo Reed-Sterberg.⁸³

Na medula óssea, a citologia e o fenótipo frequentemente imita o local inicial de diagnóstico. Nenhum padrão de envolvimento é específico.²⁶

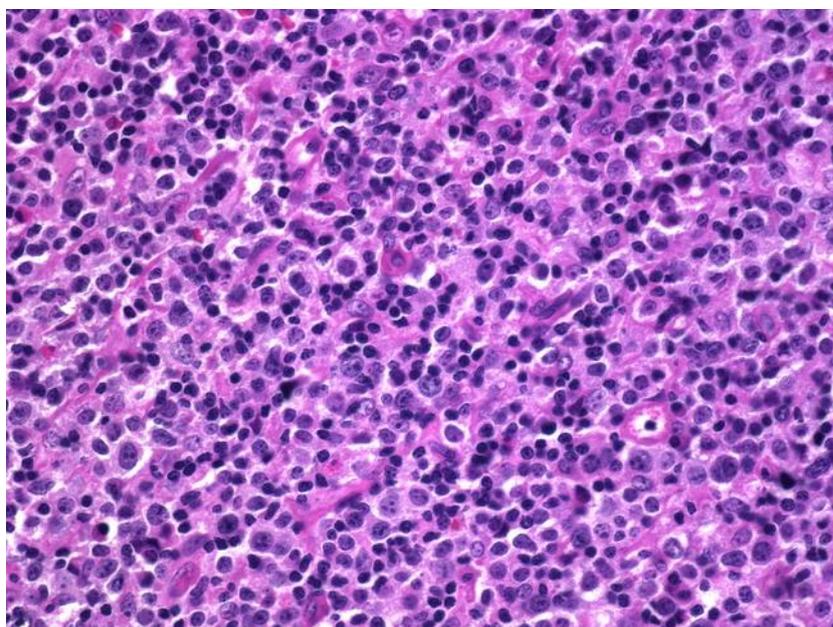


Fig.50 – Células neoplásias de dimensões médias/grandes. Linfócitos, plasmócitos, eosinófilos e histiócitos compõem a população acessória. www.webpathology.com

Existem 3 variantes morfológicas. A linfoepitelióide (Linfoma de Lennert) tem um crescimento difuso, ou menos comumente, interfolicular. As células neoplásicas são pequenas, com agregados confluentes de histiócitos epitelióides e de alguns blastos (fig.51). Podem existir células tipo RS EBV+. A positividade para CD8 é maioritária.

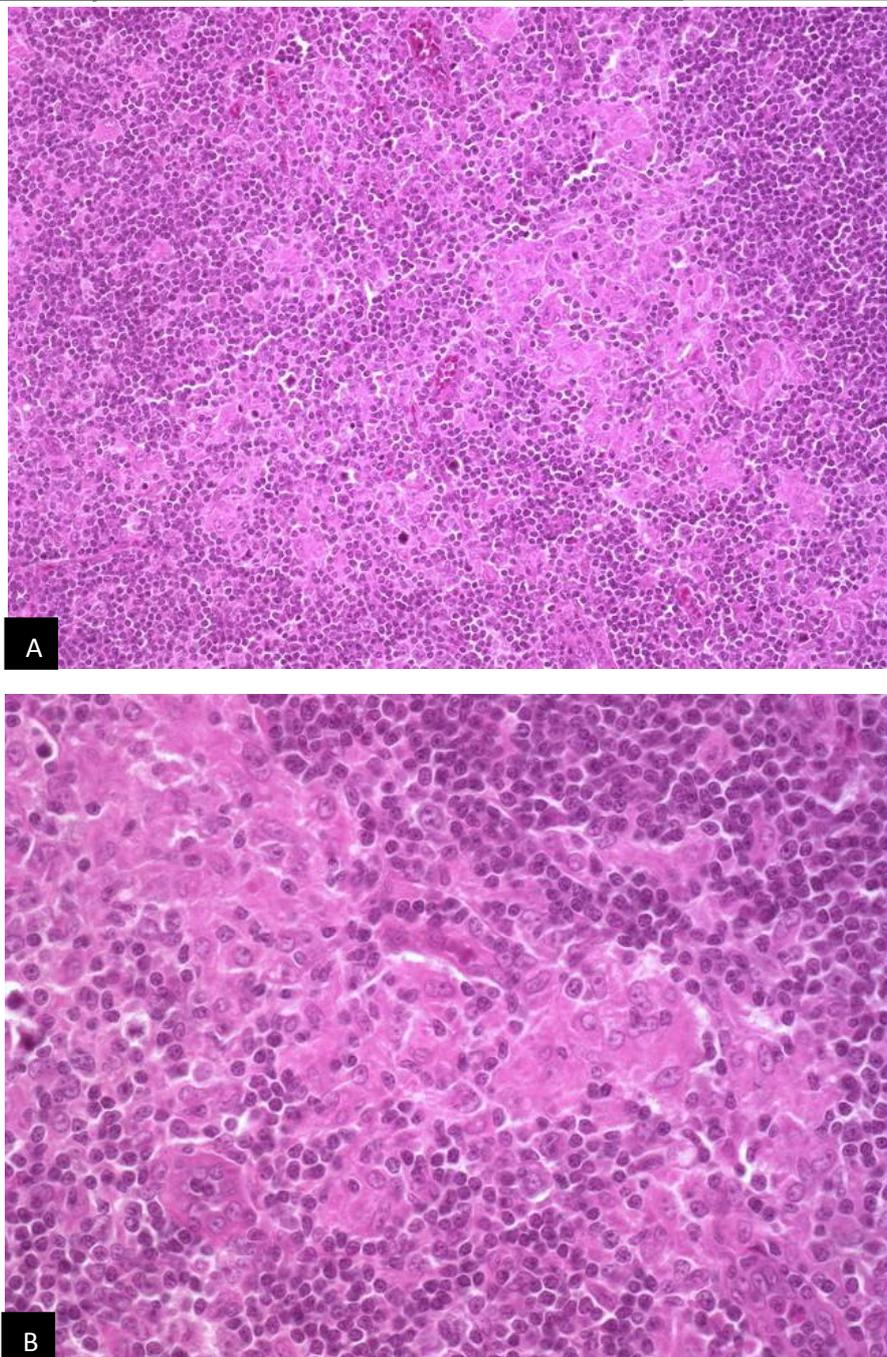


Fig.51 – Linfoma de Lennert.(A) Inúmeros histiócitos agregados (zonas mais claras). (B) Maior ampliação demonstrando os histiócitos e células neoplásias de dimensões pequenas demonstrando pouca atipia.
www.webpathology.com

A variante de zona T é caracterizada pelo crescimento de pequenas células com pouca atipia ao longo de toda a zona interfolicular, facilmente confundidos com um processo benigno paracortical. O curso da doença parece ser mais indolente.⁸³ A variante folicular foi recentemente descrita e introduzida na nova edição do livro da OMS.⁵⁵ Caracteriza-se por um agregado intrafolicular de pequenas células claras imitando o linfoma folicular, por um

pequeno agregado nodular num fundo de centros germinativos progressivamente transformados, imitando o NLPHL ou por zonas perifoliculares aumentadas/agregados nodulares envolvendo os folículos hiperplásicos, assemelhando-se ao linfoma da zona marginal nodal. Um fenótipo semelhante ao linfócito T folicular auxiliar (CD10+, BCL-6+, PD1+, CXCL13+) é observado, sendo necessário efectuar o diagnóstico diferencial com o linfoma angioimunoblástico.⁸³

Não existe nenhum marcador característico. A perda dum marcador T é frequente, principalmente o CD7.⁷⁷ O fenótipo CD4+/CD8- predomina nos casos nodais.⁸³ Os casos duplamente positivos ou duplamente negativos são mais raros (10%). A cadeia beta do receptor celular T (β F1) é usualmente expressa, ajudando à diferenciação com os linfomas $\gamma\delta$ e NK. Pode ser encontrada uma positividade aberrante para CD20 e/ou CD79a.⁰ A expressão dos antígenos pode variar com o tempo.⁷⁷

Linfoma de Células T/NK Extranodal, Tipo Nasal

Linfoma predominantemente extranodal associado ao EBV e caracterizado por um fenótipo citóxico, por dano/destruição vascular e por necrose proeminente.

As características histológicas são semelhantes, independentemente da localização da neoplasia.⁸³ Morfologicamente, este tumor exhibe um crescimento angiocêntrico e angiodestrutivo, associado a áreas de necrose geográfica e ulceração. Citologicamente, as células variam de pequenas a grandes e anaplásicas, sendo frequentemente acompanhadas dum fundo inflamatório de plasmócitos, histiócitos e eosinófilos (fig.52).³⁹ No entanto, na maioria dos casos o linfoma é composto por células de dimensões médias ou por uma mistura

de pequenas e grandes células. O núcleo é comumente irregular, podendo ser alongado. A cromatina é granulada excepto nas grandes células onde pode ser vesiculosa. Os nucléolos são imperceptíveis ou pequenos. O citoplasma é duma quantidade moderada, claro ou pálido, por vezes demonstrando grânulos azurofílicos (Giemsa). As figuras mitóticas são facilmente reconhecidas.⁸³

A variante de células pequenas e aquelas misturadas com células inflamatórias podem simular um processo reactivo, principalmente se a biopsia for pequena. A infiltração do osso septal do nariz é extremamente incomum em processos inflamatórios, sendo indicativa dum processo tumoral.³⁹

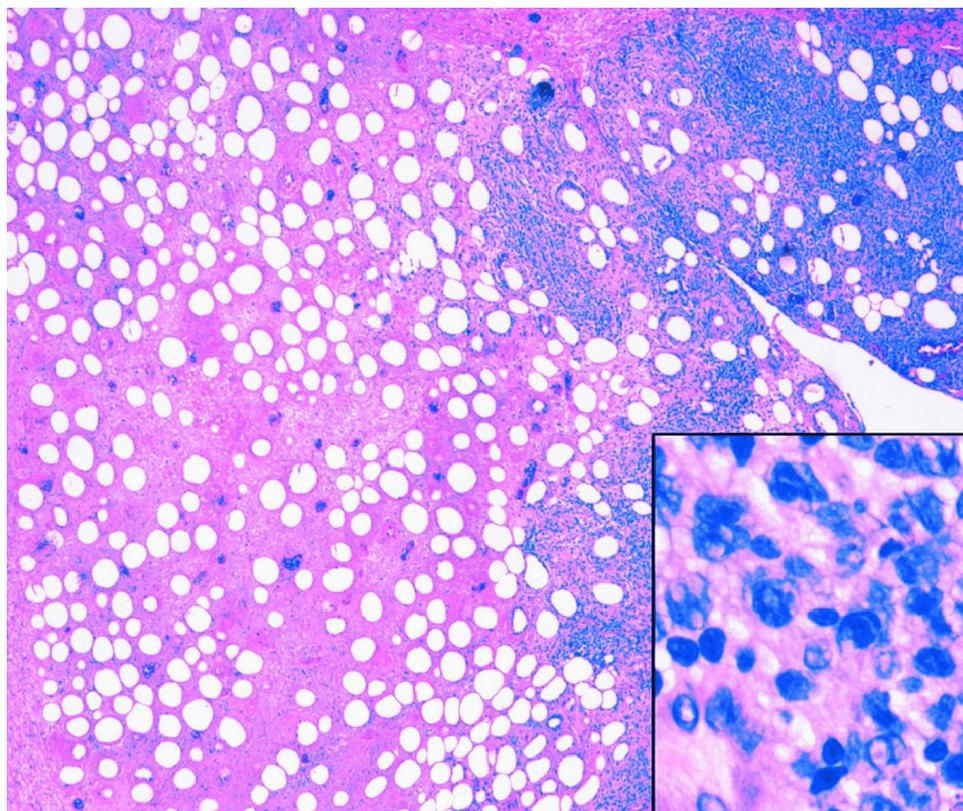


Fig.52 – Tumor extende-se difusamente para o tecido subcutâneo, com áreas de necrose. Em ampliação, células neoplásicas pleomórficas de tamanho médio/grande. *Retidado de 50*

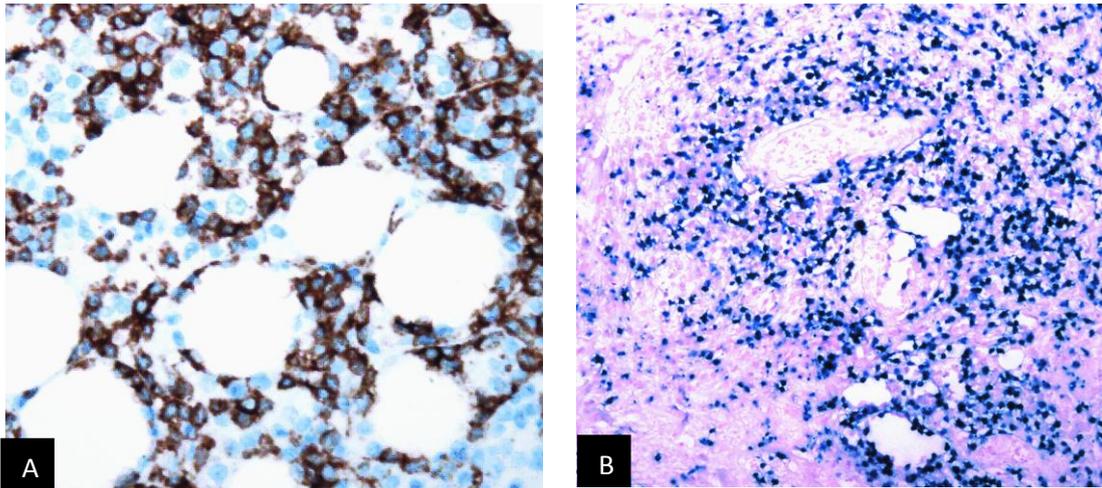


Fig.53 –As células são CD56+ (A) e EBV+ (B). Retidado de 50

O linfoma pode ser acompanhado dum hiperplasia pseudoepiteliomatosa do epitélio sobrejacente podendo simular um carcinoma escamoso.

De acordo com a definição, o EBV (sendo a detecção de EBER mais fidedigna que a LMP1) e as moléculas citotóxicas (como a granzima B, TAI1 e perforinas) estão presentes.⁸³ O imunofenótipo típico assemelha-se ao das células NK normais (CD2+,CD56+, CD3superfície-) embora sejam CD7 e CD16 -. No entanto o CD3ε é positivo citoplasmaticamente (fig.53).³¹ Outros antígenos NK ou T são negativos (CD4, CD8, CD5, TCRδ, βF1 e CD57). Os genes do receptor T normalmente não estão rearranjados.⁸³

Características aberrantes como negatividade para CD3ε ou para CD56 ou ainda rearranjo dos genes do receptor celular T podem ser observados em 20-30% dos casos.⁹ O diagnóstico de Linfoma de células T/NK extranodal deve ser colocado com algum cepticismo perante a negatividade para EBV.⁸³ Hasserjian e Harris (2007) propuseram um modelo de diagnóstico, demonstrando a complexidade deste linfoma (fig.54).³⁹

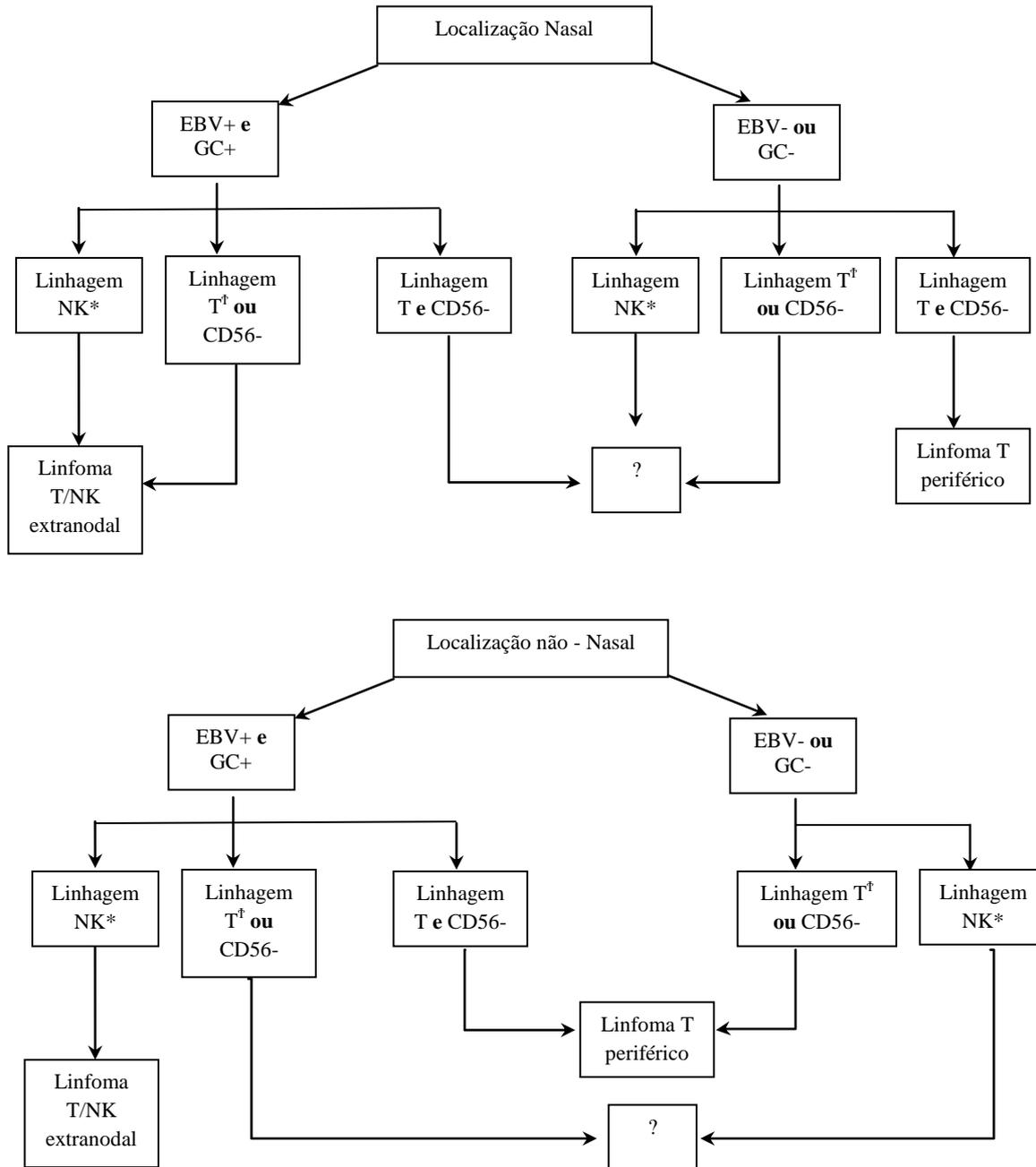


Fig.54 – Esquema proposto para classificação do linfoma NK/T extranodal. *Linhagem NK: genes do TCR não-rearranjados, CD3-, CD5-,CD56+. †Linhagem T CD3+,CD5+ e/ou rearranjo dos genes do TCR. GC: grânulos citotóxicos. Adaptado de 39

Linfoma de Células T Associado a Enteropatia

Linfoma intestinal de linfócitos intra-epiteliais com vários graus de transformação mas

normalmente tendo grandes células linfóides, num contexto inflamatório. A mucosa intestinal adjacente demonstra atrofia das vilosidades, hipertrofia das criptas e linfocitose intra-epitelial. Envolve frequentemente o jejuno proximal.⁸³

Na maioria dos casos, as células tumorais apresentam-se relativamente monótonas, de tamanho médio/grande, com núcleo redondo/angular e vesicular, nucléolo proeminente e citoplasma moderado/abundante e pálido (fig.55). Numa minoria de doentes, as células são pleomórficas, assemelhando-se ao linfoma anaplásico. Um fundo inflamatório contendo eosinófilos e histiócitos pode estar presente.⁸³

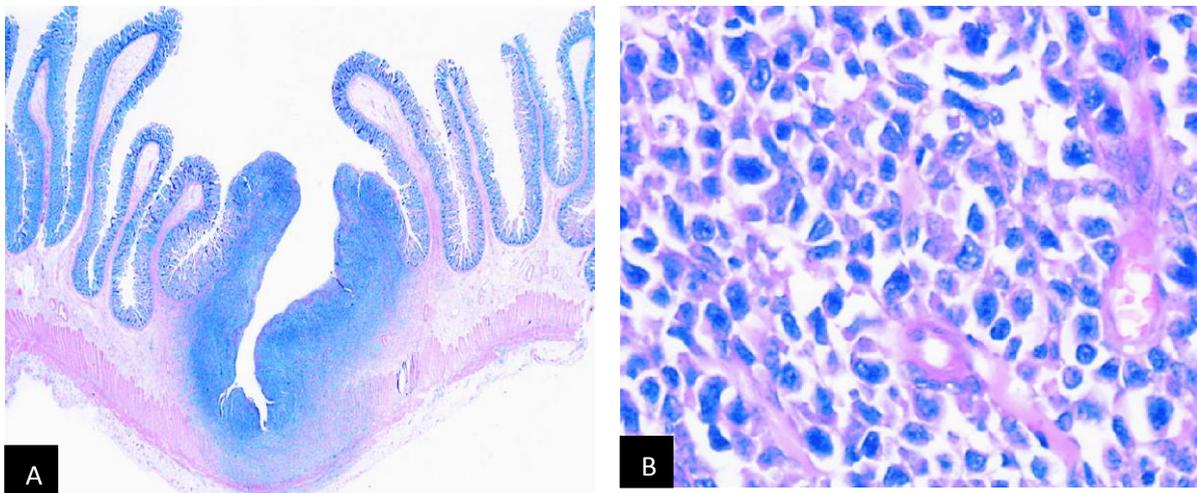


Fig.56 – (A) Ressecção jejunal demonstrando mucosa ulcerada e um infiltrado transmural de (B) células pleomórficas de tamanho médio/grande. Retirado de 101

As células neoplásicas são CD3+,CD5-,CD56-, CD8-/+(20%), TIA1+, CD4-, TCRβ+/-, CD103+.^{83,101} Os linfócitos intra-epiteliais demonstram um fenótipo semelhante ao linfoma.⁸³

Uma variante monomórfica composta de células de dimensões médias é descrita em 10-20% dos casos. O fundo inflamatório está ausente,⁸³ bem como podem estar (50%) as alterações da mucosa típicas da enteropatia.¹⁰¹ As células tumorais são >90% CD56+ e 80% CD8+.⁸³

Ganhos no 9q33-q34 são a marca genética deste linfoma (até 70%), sendo raros noutras neoplasias. A sua pesquisa por FISH pode ter valor diagnóstico.¹⁰¹ As deleções 16q12.1 são igualmente frequentes.⁸³

Micose Fungóide

Linfoma cutâneo epidermotrópico caracterizado pelo infiltrado de linfócitos T de dimensões pequenas/médias, com um núcleo cerebriforme.

As máculas iniciais são as lesões mais difíceis de diagnosticar, sendo necessário uma correlação clinicopatológica, recorrendo frequentemente a múltiplas biopsias.⁵⁰ São observados infiltrados liquenóides ou “tipo em banda” superficiais compostos de linfócitos e histiócitos.⁸³ Células atípicas (com núcleo cerebriforme e grande – 7-9µm) envoltas num halo localizam-se na epiderme, colonizando a camada basal (fig.57).⁵⁰ Em placas típicas, o epidermotropismo é acentuado, observando-se por vezes colecções intraepiteliais de células atípicas – microabscessos de Pautrier (fig.57). Nos tumores, os infiltrados tornam-se mais difusos, localizando-se na derme e abandonando a epiderme, mostrando um espectro de pequenas, médias ou grandes células cerebriformes, acompanhadas de blastos (se estes são >25% da população, ocorreu transformação histológica).⁸³

As células são tipicamente CD2+, CD3+, TCRβ+, CD5+, CD4+ e CD8- (por vezes positivo em crianças), CD7-, CLA+ e proteínas citotóxicas +/- (principalmente em tumores).⁸³ Entre outras neoplasias, a expressão de CD4 e o epidermotropismo são observados na leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL). A irregularidade nuclear marcada, a expressão uniforme de CD25 e uma história de residência em áreas endémicas é indicativo da última.⁵⁰

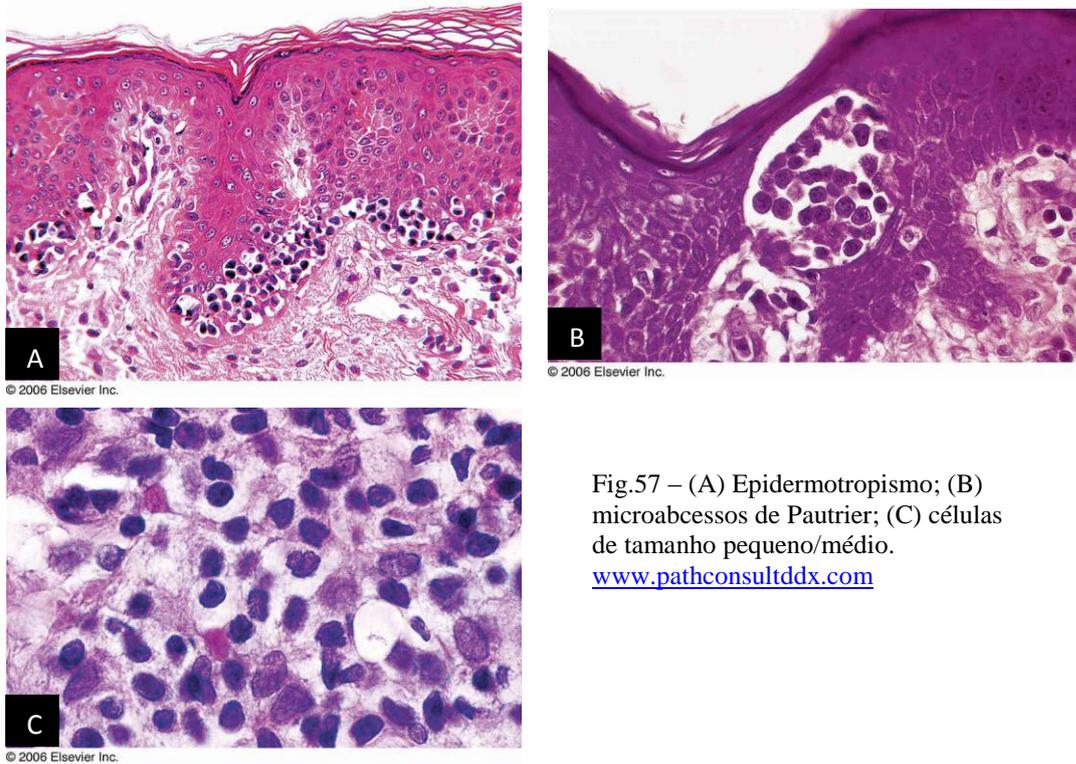


Fig.57 – (A) Epidermotropismo; (B) microabscessos de Pautrier; (C) células de tamanho pequeno/médio. www.pathconsultddx.com

A variante foliculotrópica é relativamente comum, observando-se células cerebriformes circundando e invadindo o epitélio dos folículos pilosos, poupando o epitélio superficial. A degeneração mucinosa dos folículos e da derme é frequente.^{50,83}

A reticulose pagetóide (doença de Woringer-Kolopp) é uma variante localizada na qual as células, frequentemente CD8+, exibem um marcado epidermotropismo (camada basal). O tipo disseminado deve corresponder a um linfoma T CD8+ epidermotrópico agressivo.⁸³

A variante da pele frouxa granulomatosa é caracterizada pelo desenvolvimento de pregas cutâneas nas zonas de flexura (coxa e axila). A biopsia revela linfócitos pequenos/médios associados a células gigantes multinucleares (20-30núcleos).⁵⁰

Linfoma de Células T Hepatosplênico

Neoplasia extranodal e sistêmica derivada de células T citotóxicas $\gamma\delta$ (embora possa ser $\alpha\beta$),⁸³ na qual observa-se a invasão dos sinusóides hepáticos, esplênicos e medulares por células linfóides médias.^{83,92} No entanto, um padrão intersticial medular com um componente blástico pode ser observado em casos avançados. A polpa branca esplênica encontra-se reduzida/ausente.⁹²

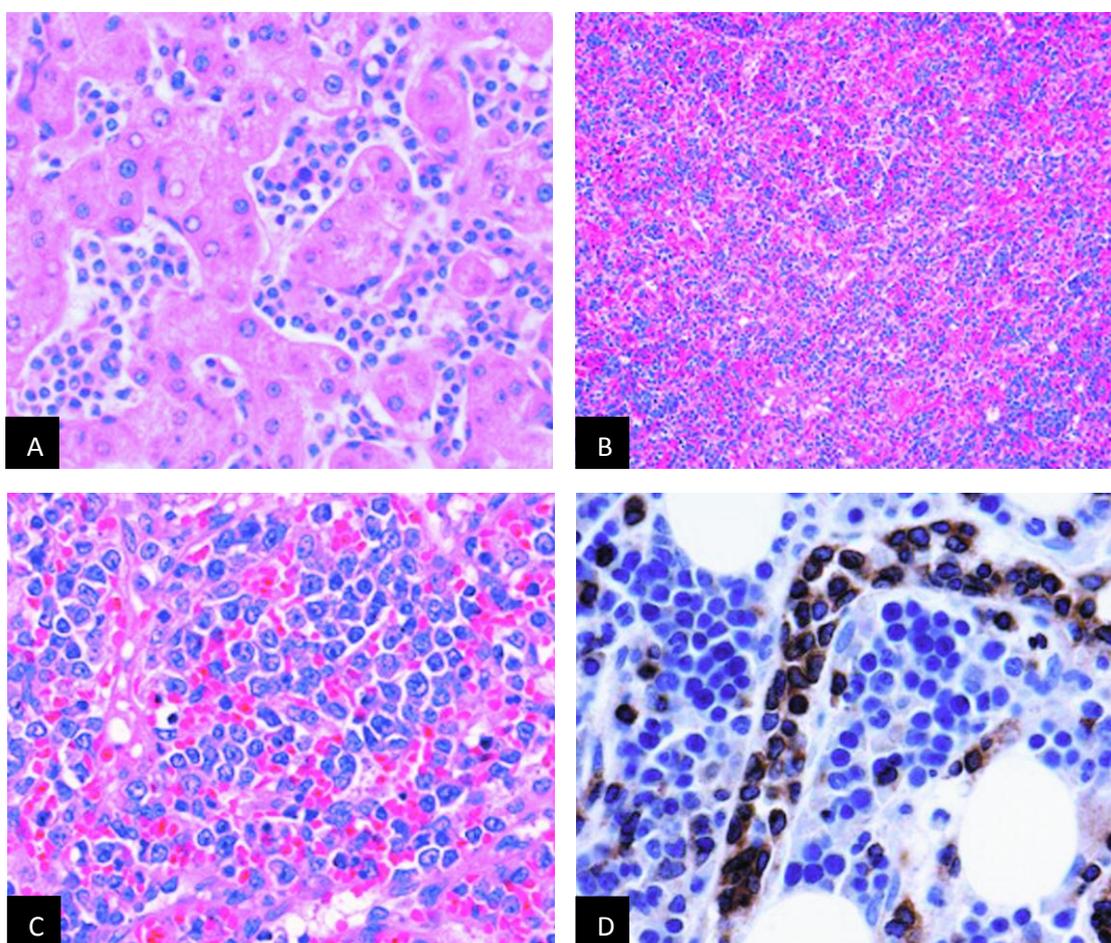


Fig.58 – Invasão dos sinusóides hepáticos (A), esplênicos (B e C) e medulares (com marcação para CD3) (D). Retirado de 92

As células têm um padrão citotóxico inativo, com expressão para TIA-1 mas negativas para perforina e granzima B. A presença da granzima M indica a sua origem em células da imunidade inata.⁹² Apresentam-se também CD3+, TCR δ 1+, TCR $\alpha\beta$ -, CD56+/-,

CD4-, CD8-/+ e CD5-.⁸³ A expressão do TCR $\gamma\delta$ é facilmente detectada por citometria de fluxo mas pode ser difícil em material processado e fixado.⁹²

O isocromossoma 7q é detectado na maioria dos casos, podendo ter valor diagnóstico.⁹²

Linfoma de Células T Subcutâneo Tipo Paniculite

Linfoma T citotóxico que infiltra preferencialmente o tecido subcutâneo. Os casos com um receptor T $\gamma\delta$ foram excluídos classificação de 2008 da OMS.

A infiltração é lobular, poupando os septos, a derme e a epiderme. As células neoplásicas variam de tamanho, embora dentro do mesmo caso, o tamanho é relativamente constante. O citoplasma é pálido e o núcleo é hiper Cromático e irregular (fig.59).⁸³

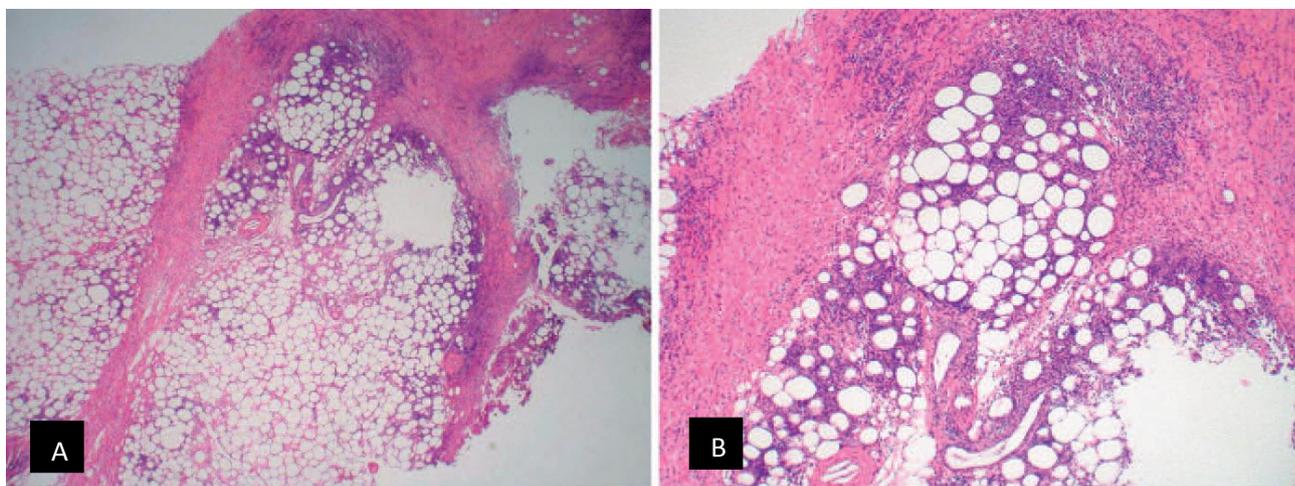


Fig.59 – (A) Infiltração das áreas lobulares do tecido subcutâneo (B) Ampliação.
Retirado de 71

A circundação de células lipídicas por células neoplásicas CD8+ é uma pista diagnóstica útil (fig.60). Ocasionalmente pode-se observar fenómenos de vasculite, mas a angiodestruição não é característica.⁷¹

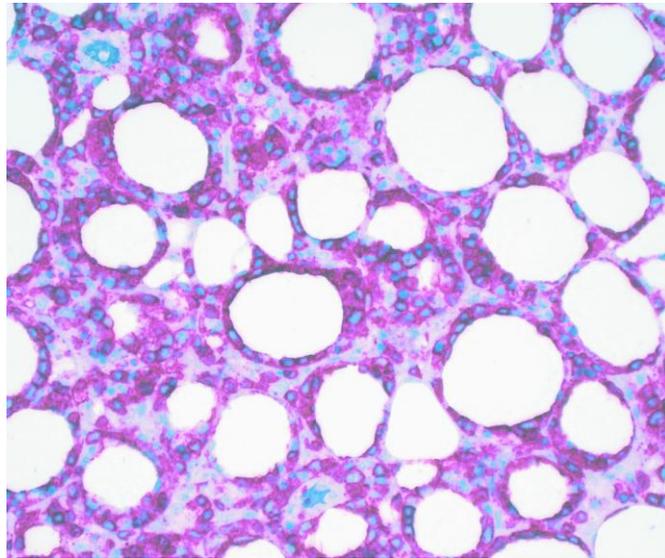


Fig.60 –células CD8+ a circundarem as células de gordura. *Retirado de 50*

Uma mistura de histiócitos reactivos, por vezes com vacúolos, pode estar presente. Os plasmócitos estão tipicamente ausentes (ao contrário das paniculites benignas). Necrose e cariorrexis (destruição com fragmentação do núcleo celular) são comuns; a última é característica e ajuda à distinção com outros linfomas (fig.61).⁸³

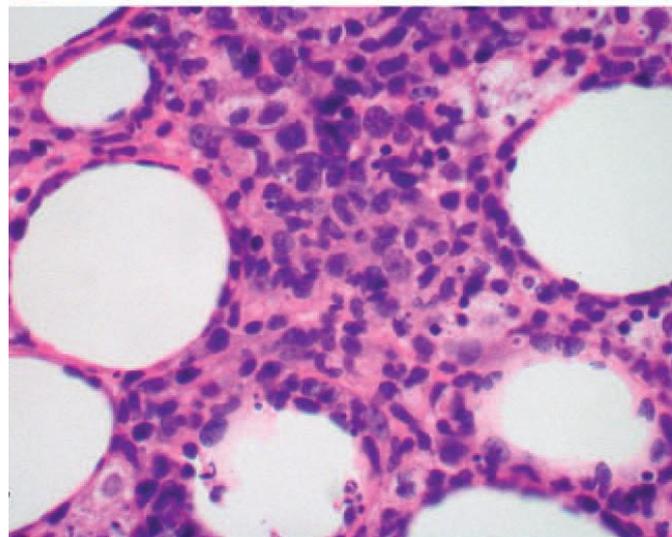


Fig.61 – Células em apoptose e restos de cariorrexis misturados com linfócitos atípicos e alguns histiócitos. *Retirado de 71*

As células neoplásicas são CD8+, com moléculas citotóxicas (granzima B, perforina, TIA1), β F1+ e CD56-.⁸³ Nas paniculites benignas observam-se agregados de células CD20+, misturadas com células CD3+/CD4+ ou CD8+ em iguais proporções (predomínio ligeiro das CD4+). As células só ocasionalmente são TIA1+.⁷¹

Outros Linfomas Cutâneos

Quadro 12 Adaptado de 83

	Desordens linfoproliferativas de células T CD30+ primárias da pele		Linfoma de células T $\gamma\delta$ primário da pele	Linfoma de células T CD8+ citotóxico epidermotrópico agressivo, primário da pele	Linfoma de células T CD4+ de pequeno/médio tamanho, primário da pele
	Papulose linfomatóide	Linfoma de grandes células anaplásico cutâneo			
Definição	Embora seja composta por células monoclonais, não é considerada uma neoplasia do ponto de vista clínico, facto pelo qual não será abordada. 5-20% dos casos serem precedidos, seguidos ou apresentarem em simultâneo um Linfoma de grandes células anaplásico cutâneo, um linfoma de Hodgkin ou uma micose fungóide	Neoplasia composta por células grandes anaplásicas (20-25% pleomórficas ou imunoblásticas) a maioria das quais (>75%) expressa o CD30, demonstrando um infiltrado coesivo não-epidermotrópico, com alguns linfócitos reactivos à periferia. História de micose fungóide ausente.	Proliferação cutânea monoclonal de células T $\gamma\delta$ activadas e maduras com fenótipo citotóxico. Variante epidermotrópica, dérmica e subcutânea (semelhante ao linfoma de células T subcutâneo tipo paniculite mas com invasão dérmica ou epidérmica) descritas. As células neoplásicas são de tamanho médio ou grande, com cromatina grumosa. Apoptose, necrose e angio-invasão comuns. Não é claro se os casos localizados em mucosas fazem parte deste linfoma ou constituem outra entidade.	Proliferação epidermotrópica de células T citotóxicas CD8+ com um comportamento clínico agressivo. Distingue doutros linfomas T cutâneos CD8 pela apresentação clínica, pela agressividade e por características histológicas como o marcado epidermotropismo com necrose da epiderme, invasão e destruição dos anexos cutâneos, angiocentricidade e angiodestruição. Células neoplásicas são pequenas/médias ou médias/grandes com núcleo blastóide/pleomórfico	Proliferação de pequenas/médias células CD4+ pleomórficas, com infiltração predominantemente dérmica, mas sem a evidência de máculas ou placas da micose fungóide. Uma pequena porção de células grandes pode estar presente (<30%).
Características clínicas		60anos \uparrow Tumor solitário (lesões multifocais -20%) ulcerado Lesões aumentam de tamanho (regressão parcial ou total: 23-44%)	Adultos $\uparrow = \downarrow$ Placas e máculas Ou Tumores subcutâneos com/sem necrose e ulceração ++ Extremidades Sintomas B Envolvimento ganglionar, medular ou esplénico raro	Pápulas, nódulos ou tumores, localizados ou disseminados, com ulceração central e necrose OU Máculas/placas hiperqueratóticas Disseminação: testículos, pulmões, CNS, mucosa oral Poupa gânglios linfáticos	Lesão solitária na face, pescoço ou tronco Ausência de placas ou máculas.
Imunofenotipagem		CD4+ (<5% CD8+) Perda de marcadores T (CD2, CD5 e/ou CD3) Marcadores citotóxicos+ CLA+ EMA- ALK- CD15-	CD4-/CD8- (por vezes+) β F1-, CD3+, CD2+, CD5-, CD7+/-; CD56+ TCR δ +	CD4-/CD8+ β F1+, CD2-/, CD3+, CD5-, CD7+/- granzima B+, TIA1+, perforina+ CD45RA+/-, CD45RO-	CD4+ / CD8- CD30- moléculas citotóxicas - Marcadores T -/+
Prognóstico		90% vivos aos 10 anos	Sobrevivem em média 15 meses	Sobrevivem em média 32 meses	80% sobrevivem 5 anos
Comentários		Lesões ulcerativas com histologia semelhante à Papulose linfomatóide (infiltrado inflamatório abundante de linfócitos T reactivos, histiócitos, eosinófilos, neutrófilos e poucas células CD30+). DD: clínica: lesões com mais de 2cm ou pelo menos uma lesão com uma duração superior a 3meses (sem regressão) = linfoma.	Inclui casos anteriormente classificados como linfoma de células T subcutâneo tipo paniculite.		

Outras neoplasias T/NK

A **síndrome de Sézary** é uma entidade definida pela tríade: eritrodermia, linfadenopatia generalizada e presença de clones de células T com núcleo cerebriforme (células de Sézary) nos gânglios linfáticos, pele e sangue. Concomitantemente, pelo menos um dos seguintes critérios estará presente: uma contagem absoluta de células de Séary $\geq 1000/\text{mm}^3$, uma população de células CD4+ aumentada com um ratio CD4/CD8 >10 , e/ou perda dum ou mais antigénios T. Trata-se duma leucemia (embora poupe frequentemente a medula óssea) com fenótipo semelhante à micose fungóide.

A **leucemia/linfoma de células T do adulto** é uma doença sistémica, envolvendo os gânglios linfáticos, sangue, medula óssea, pulmão, fígado, tracto gastrointestinal e SNC, causada pelo vírus HTVL-1 (*human T-cell leukaemia virus*), sendo a sua prevalência relacionada com a deste vírus (Caraíbas, Sudoeste do Japão e África Central). A apresentação aguda é a mais comum, com uma fase leucémica, erupção cutânea e linfadenopatias generalizadas, e hipercalecémia (com ou sem lesões osteolíticas). As variantes linfomatosas, crónicas e latentes encontram-se descritas.

Existem várias variantes morfológicas. Normalmente as células neoplásicas são de dimensões médias/grandes com acentuado pleomorfismo nuclear. As lesões cutâneas são observadas em 50% dos doentes, sendo comuns a infiltração cutânea com microabcessos tipo Pautier.

As células expressam CD2, CD3, CD5 mas são CD7-. Normalmente são CD4+/CD8- mas podem ser CD4-/CD8+ ou duplamente positivas. Células grandes podem ser CD30- mas não o são para ALK nem moléculas citotóxicas. A marcação para CD25 é fortemente observada em quase todos os casos o que, juntamente com a sua positividade frequente para FOXP3, sugere uma origem celular nos linfócitos T reguladores, justificando a

imunodeficiência observada nesta doença.

O prognóstico é mau (2semanas a 1ano na fase aguda e linfomatosa; melhor nas fases crónicas e latente).⁸³

ABORDAGEM CLÍNICA DO DOENTE

Linfomas não-Hodgkin

A classificação da OMS enfatiza a clínica como um importante elemento diagnóstico. Grosseiramente, os linfomas podem-se subdividir consoante o seu aparecimento nodal ou extra-nodal.⁹

Perante um doente com suspeita duma neoplasia linfóide é necessário esclarecer as seguintes dúvidas:

- Trata-se duma alteração linfoproliferativa ou pode ser um outro qualquer processo que a imita?
- Esta alteração é benigna ou maligna?
- Se maligna, trata-se duma neoplasia B ou T (ou mesmo NK)?
- Qual o diagnóstico específico?

A pesquisa diagnóstica inicia-se pela obtenção dum fragmento da lesão suspeita. A recolha do material pode realizar-se através duma excisão/biopsia cirúrgica ou através da punção-aspiração por agulha fina (FNA). Esta última tem vindo a ser aceite como método de diagnóstico desde 1985, tendo a sua utilização sido impulsionada pela relativa desvalorização, por parte da classificação da OMS, do padrão de crescimento (nodular ou difuso) para reconhecimento do subtipo de linfoma, dando ênfase à morfologia celular individual, imunofenótipo, características clínicas e genéticas.^{24,100} É bem tolerada pelos doentes,¹⁹ sendo útil para a recolha de múltiplas amostras sem ter de sujeitar o doente a múltiplas biopsias “abertas”.⁹⁹

A análise morfologia das células, embora possa ajudar a orientar o diagnóstico, não é específica, podendo mesmo existir confusão com neoplasias não-linfóides, necessitando se ser complementada pela imunofenotipagem (**esquema final**). Esta poderá ser realizada por 2

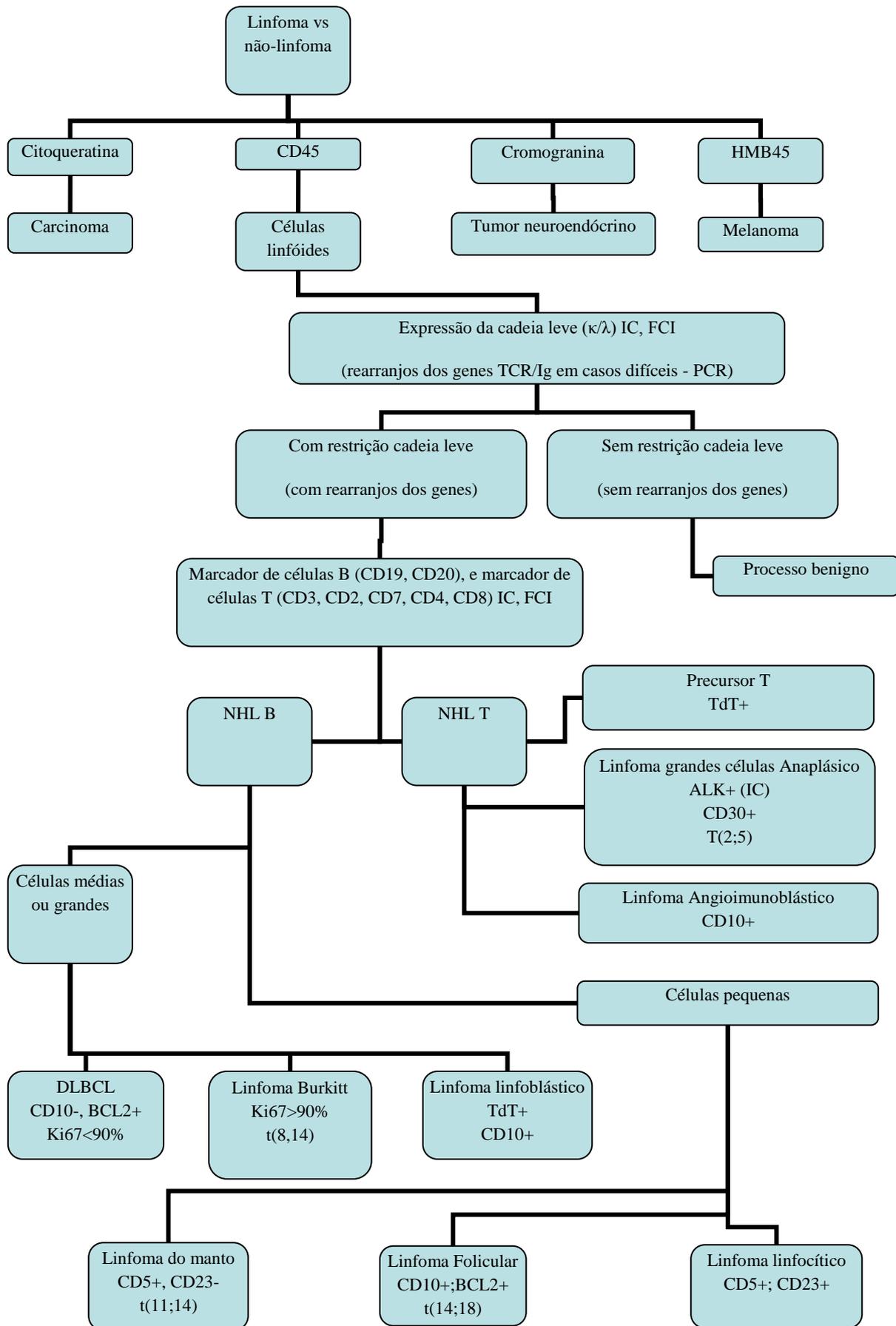
⁹ Consultar poster anexo

técnicas: a citometria de fluxo ou por imunohistoquímica.

A imunohistoquímica tem por principais vantagens o uso em esfregaços citológicos e em tecidos fixados em parafina, bem como a possibilidade de visualizar simultaneamente a morfologia individual celular.²⁴ Esta funciona melhor para antígenos intra-nucleares (ciclina D1, TdT).⁴⁹

Por seu lado, a citometria de fluxo é uma técnica rápida (1-2 dias), altamente sensível (capaz de detectar células aberrantes com uma frequência de 1/1000 a 1/10000 células, mesmo num fundo celular complexo), sendo capaz de avaliar 4 ou mais marcadores numa única célula. No entanto, a avaliação de antígenos intracelulares requer a utilização de técnicas de fixação/permeabilização, podendo ser preferível utilizar a imunohistoquímica.⁴⁷ Esta técnica requer a utilização de tecido viável, não-fixado o que torna impossível a análise de tecidos fixados em arquivo.⁴⁹ Com o aumento da utilização da FNA combinada com técnicas auxiliares de diagnóstico (nomeadamente a citometria de fluxo), pode vir a substituir a biopsia excisional para estudo histopatológico, levando a um empobrecimento de material arquivado para estudos futuros.²⁴ Falsos negativos poderão ainda se dever a amostra inadequada, fibrose, necrose ou a um linfoma de células grandes, as quais têm tendência a serem destruídas durante a colheita por FNA ou durante a citometria de fluxo. A perda da correlação directa entre a morfológica celular e o fenótipo é, provavelmente a sua principal limitação o que, aliado ao penúltimo facto, reforça a necessidade da análise citomorfológica concomitante para definição dum diagnóstico.⁴⁷

Tendo o referido anteriormente em conta e, tentando responder às questões levantadas, Dey P. (2006) desenhou um algoritmo para subclassificação dos linfomas com base na imunofenotipagem (citometria de fluxo ou imunohistoquímica) em amostras obtidas por FNA (embora o seu raciocínio possa ser aplicado em biopsias).



Esquema final – Abordagem a um doente com a suspeita duma neoplasia linfóide. Adaptado de 24

O CD45 encontra-se presente nas neoplasias linfóides maduras, sendo útil no seu diagnóstico.²¹ Muitos laboratórios utilizam a combinação CD45 vs *side-scatter staining* (o qual é proporcional à complexidade do núcleo e citoplasma) para identificar linfócitos para análises futuras. No entanto, entidades como o linfoma linfoblástico agudo ou o linfoma de grandes células anaplásico podem ser negativos para este marcador.⁴⁷

As neoplasias linfóides B podem ser diferenciadas das células normais principalmente por duas anomalias fenotípicas: uma restrição na classe da cadeia leve da imunoglobulina e a expressão aberrante dum antigénio.²¹

Em contraste com as células normais ou de populações reactivas, as células neoplásicas expressam normalmente apenas uma classe (κ ou λ) da cadeia leve de imunoglobulina.²¹ Um ratio $\kappa/\lambda >4:1$ ou $>1:2$ é uma evidência da existência duma população monoclonal de células B²⁴ (o normal será 1:1 ou 2:1).⁴⁷ No entanto é necessário salvaguardar o facto de uma restrição λ se observar em proliferações não-monoclonais de amostras de tonsila durante a infância e na doença de Castleman multicêntrica. Para além disso, alguma restrição pode ser observada em hiperplasias floridas, incluindo em doentes VIH+. A expressão de antigénios não característicos (como o CD5+, embora exista uma população pequena normal que o expresse), a positividade para um determinado antigénio não característico dum determinado compartimento biológico (BCL2+ em células CD10+) ou a variação da intensidade com que um antigénio se manifesta, são características de células neoplásicas.²¹

Para detectar a restrição de classe, a citometria de fluxo é superior à imunohistoquímica.⁴⁹

Nas neoplasias T, a avaliação para uma restrição da porção V- β do TCR por citometria pode ser útil na avaliação da existência duma população clonal. No entanto, na maioria dos

exames só um pequeno número das 25 famílias funcionais e 91 sub-famílias do TCR é avaliada, sendo uma técnica laboriosa e dispendiosa. O mesmo princípio pode ser aplicado às células NK, embora com anticorpos contra KIR e CD94/NKG2, uma vez que estas células não têm TCR.²¹

A alteração/ausência dum ou mais marcadores T/NK é útil para identificar populações aberrantes.

Alterações do ratio CD4/CD8 não são indicadores de neoplasia T, embora devam alertar para esta possibilidade.²¹

Em casos difíceis, a utilização de PCR para identificar o rearranjo dos genes, pode ser útil na demonstração de monoclonicidade (exceptuando nas células NK). No entanto, a existência ocasional de bandas monoclonais em populações reactivas está relatada, sendo uma fonte “frequente” de falsos positivos.²⁴

A marcação para diferentes antigénios ajuda a identificar a linhagem das neoplasias linfóides. Em Bethesda, um grupo de especialistas chegou a um consenso relativamente a quais dos marcadores que primariamente deverão avaliar doentes com suspeita de neoplasia B e/ou T (quadro). Embora existam laboratórios que orientem a sua abordagem inicial de acordo com a citomorfologia este painel deve ser aplicado independentemente de sugestões morfológicas, uma vez que esta, embora tente reduzir custos, atrasa frequentemente o processo, tem de ser efectuada por um citopatologista experiente e poderá não ter sensibilidade/especificidade suficiente⁹⁷ (note-se que esta afirmação não desvaloriza o valor da citomorfologia enquanto parte integrante dum esquema de diagnóstico).

Quadro 13 – Reagentes de avaliação primária. *Adaptado 97*

Linhagem B	CD5, CD10, CD19, CD20, CD45, κ , λ
Linhagem T/NK	CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD45, CD56

Mediante os resultados podemos construir tabelas diagnósticas (embora para os linfomas T/NK haja uma maior dificuldade) .

Quadro 14 – Abordagem diagnóstica por citometria de fluxo dos linfomas B. *Adaptado de 21*

	CD5 ⁻	CD5 ⁺
CD10 ⁻	Leucemia de células pilosas Linfoma da zona marginal Linfoma linfoplasmocítico Linfoma difuso de grandes células B Linfoma folicular Linfoma do manto	Leucemia linfocítica crónica Linfoma do manto Leucemia pró-linfocítica Linfoma difuso de grandes células B Linfoma da zona marginal Linfoma linfoplasmocítico
CD10 ⁺	Linfoma folicular Linfoma difuso de grandes células B Linfoma de Burkitt Linfoma Linfoblástico Leucemia de células pilosas	Linfoma difuso de grandes células B Linfoma do manto Linfoma de Burkitt Linfoma folicular

Quadro 15 – Abordagem diagnóstica por citometria de fluxo dos linfomas T. *Adaptado de 21*

	CD4 ⁻	CD4 ⁺
CD8 ⁻	Linfoma de células T associado a enteropatia Linfoma extranodal NK/T, tipo nasal Linfoma hepatoplénico Linfoma $\gamma\delta$ cutâneo primário Linfoma linfoblástico T	Linfoma cutâneo de células T/ síndrome de Sézary Leucemia pró-linfocítica T Linfoma/leucemia de células T do adulto Linfoma de grandes células anaplásico, ALK+ Linfoma de grandes células anaplásico, ALK- Linfoma Angioimunoblástico Linfoma periférico T, inespecífico Linfoma de grandes células anaplásico, cutâneo Linfoma linfoblástico T
CD8 ⁺	Leucemia linfocítica granular de grandes células T Linfoma de células T subcutâneo tipo paniculite Linfoma hepatoplénico Linfoma de células T associado a enteropatia Linfoma extranodal NK/T, tipo nasal Linfoma/leucemia de células T do adulto Linfoma linfoblástico T Linfoma de grandes células anaplásico, cutâneo Linfoma $\gamma\delta$ cutâneo primário	Leucemia pró-linfocítica T Linfoma/leucemia de células T do adulto Linfoma periférico T, inespecífico Linfoma linfoblástico T

Os especialistas delinearão igualmente um grupo de reagentes para avaliação secundária duma linhagem específica.

Quadro 16 – Reagentes de avaliação secundária. *Adaptado 97*

Linhagem B	CD9, CD11c, CD15, CD22, cCD22, CD23, CD25, CD13, CD33, CD34, CD38, CD43, CD58, cCD79a, CD79b, CD103, FMC7, Bcl-2, cκ, cλ, TdT, Zap-70, cIgM
Linhagem T/NK	CD1a, cCD3, CD10, CD16, CD25, CD26, CD30, CD34, CD45RA, CD45RO, CD57, $\alpha\beta$ TCR, $\gamma\delta$ TCR, cTIA1, TdT, isoformas da cadeia β -T

Conjugando as informações clínico-morfológicas com os padrões imunofenotípicos provenientes dos painéis de reagentes referidos (podendo aplicar o mesmo raciocínio quer

para avaliações por citometria de fluxo, quer para a imunohistoquímica), podemos delinear as principais características diagnósticas das principais neoplasias linfoides (Quadro 17 e 18).

Quadro 17 – Diagnóstico neoplasias B *Adaptado de 21*

Neoplasia	Imunofenótipo detectado	Informações adicionais
CD5⁺/CD10⁺		
Leucemia linfocítica crónica	CD20, CD22 e sIg (fracos), CD43+, CD23+, FMC7-	Gânglios linfáticos: padrão pseudofolicular (áreas escuras e claras) Sangue: linfócitos de citoplasma escasso, cromatina condensada; células em “mancha”.
Linfoma do manto	CD20+, CD43+, CD23-, FMC7+	Ciclina D1+ t(11;14)
<i>Leucemia pró-linfocítica</i>	Variável podendo sobrepor-se aos anteriores	Células grandes com nucléolo proeminente; excluir linfoma do manto blastóide (ciclina D1-)
Linfoma difuso de grandes células B	Fenótipo variável	Células grandes; padrão difuso; considerar transformação de Richter.
<i>Linfoma da zona marginal</i>		
<i>Linfoma linfoplasmocítico</i>		
CD5⁻/CD10⁺		
Linfoma folicular	Bcl-2+; CD43-	Padrão folicular; t(14;18), Bcl-6+
Linfoma difuso de grandes células B		
Linfoma de Burkitt	Bcl-2-, CD43+/-	Células dimensões intermédias uniformes; Ki67~100%.
Linfoma Linfoblástico	TdT+, CD34+/-	Células de tamanho médio/pequeno, núcleo redondo, irregular, citoplasma basofílico escasso
<i>Leucemia de células pilosas</i>		
CD5⁺/CD10⁺		
Linfoma difuso de grandes células B		
<i>Linfoma do manto</i>		
<i>Linfoma de Burkitt</i>		
<i>Linfoma folicular</i>		
CD5⁻/CD10⁻		
Leucemia de células pilosas	sIg+(forte); CD20+; CD22+; cCD11+(forte); CD25+, CD103+;	Linfócitos pequenos com projecções pilosas no sangue periférico. Anexina A1+
Linfoma da zona marginal	Variável (mas diferente da leucemia linfocítica crónica): CD23-, cCD11+/-, CD103-,	CD5+ em 5%. Crescimento em volta e intrusão nos folículos. Pode demonstrar diferenciação plasmocitoide. t(11;18), t(14;18), t(1;14).
Linfoma linfoplasmocítico	CD23-, cIgM++, CD103-	CD5+ em 5%. Células pequenas com diferenciação plasmocitoide, associação à macroglobulinemia de Waldenström
Linfoma difuso de grandes células B		
Linfoma folicular		
<i>Linfoma do manto</i>		

Nota: em itálico encontram-se patologias cuja hipótese de surgirem com o fenótipo proposto é remota

Quadro 18 – Diagnóstico neoplasias T/NK *Adaptado de 21*

Neoplasia	Imunofenótipo detectado	Informações adicionais
CD4+/CD8-		
Linfoma cutâneo de células T/ síndrome de Sézary	CD7-;CD25-/+ (intensidade heterogénea); CD26-	Eritrodermia, linfadenopatia generalizada células T com núcleo cerebriforme nos gânglios linfáticos, pele e sangue
Leucemia pró-linfocítica T	Sem aberrações fenotípicas; CD16-; CD56-; CD57-	80% com t(14;14)(q11;q32) ou inv(14)(q11;q32). Sobre-expressão da proteína TCL-1
Linfoma/leucemia de células T do adulto	CD7-; CD25+ (intenso e uniforme)	HTLV-1+; endémico no Japão ou Caraíbas. Forma aguda mais comum, leucémica, com sinais sistémicos.
Linfoma de grandes células anaplásico, ALK+	Perda variável de marcadores T; CD30+ (uniformemente) Grânulos citotóxicos+; CD56+/-; ALK+	Morfologia anaplásica (excepto na variante células pequenas); núcleo em forma de rim/ferradura, excêntrico; área paranuclear eosinofílica. Rearranjo ALK; 80% t(2,5)
Linfoma de grandes células anaplásico, ALK-	Perda variável de marcadores T; CD30+ (uniformemente) Grânulos citotóxicos+/-; CD56+/-; ALK-	Morfologia anaplásica
Linfoma Angioimunoblástico	Perda variável de marcadores T; CD10+/-;	Infiltrado paracortical ganglionar de linfócitos pequenos/médios; proeminente proliferação das vénulas de endotélio alto e das células foliculares dendríticas.
Linfoma periférico T, inespecífico	Fenótipo aberrante variável. CD5 e CD7-/+	Diagnóstico de exclusão
Linfoma de grandes células anaplásico, cutâneo	CD30+; perda de marcadores T (CD5 e/ou CD7-). Grânulos citotóxicos+ <5% fenótipo CD8+	Lesão cutânea ulcerativa. Ausência de história de micose fungóide. Células anaplásicas grandes; infiltrado coesivo não-epidermotrópico. CLA+; EMA-;ALK-; CD15-
<i>Linfoma linfoblástico T</i>		
CD4-/CD8+		
Leucemia linfocítica granular de grandes células T	Fenótipo aberrante (CD5-/+; CD7-/+), CD16+/-; CD57+, grânulos citotóxicos+	Linfócitos granulares grandes. Curso indolente (leucemia? Desordem clonal de significado indeterminado?). Associação com artrite reumatóide. Neutropenia e anemia. Muito raramente afecta os gânglios linfáticos.
Linfoma de células T subcutâneo tipo paniculite	TCR $\alpha\beta$; grânulos citotóxicos+	EBV-. Nódulos tronco e extremidades. Infiltrado neoplásico envolvendo as células lipídicas. Poupa septos, derme e epiderme. Necrose e cariorexixis.
Linfoma hepatoplénico	CD5-; CD7+; TAI1+ mas Gramzina- e perforina-. CD56+;CD57-	TCR $\gamma\delta$ mas pode ser $\alpha\beta$. EBV-. 20% num contexto de imunossupressão prolongada. Curso clínico agressivo. Sem linfadenopatias. Isocromossoma 7q.
<i>Linfoma de células T associado a enteropatia</i>		
<i>Linfoma extranodal NK/T, tipo nasal</i>		
<i>Linfoma/leucemia de células T do adulto</i>		
<i>Linfoma linfoblástico T</i>		
<i>Linfoma de grandes células anaplásico, cutâneo</i>		
<i>Linfoma $\gamma\delta$ cutâneo primário</i>		
CD4+/CD8+		
Leucemia pró-linfocítica T		
Linfoma/leucemia de células T do adulto		
Linfoma periférico T, inespecífico		
Linfoma linfoblástico T	TdT+; CD34+; CD1a+; cCD3+; CD10-/+; CD5+/-; CD7+/-	Massa mediastínica. Células de tamanho intermédio, com elevado ratio núcleo/citoplasma.
CD4-/CD8-		
Linfoma de células T associado a enteropatia	CD3+; CD5-; CD7+; CD56-; Grânulos citotóxicos+. Variante monomórfica: CD8+ (80%); CD56+(>90%)	80-90% associado à doença celíaca. EBV-;CD103+; CD30-/+ Ganhos 9q33-q34 (70%).
Linfoma extranodal NK/T, tipo nasal	CD2+; cCD3+ (CD3 ϵ); CD5-; CD7-;Grânulos citotóxicos+;CD56+; CD16-; CD57-, TCR $\gamma\delta$ -	Afecta o nariz e trato respiratório superior. Infiltrado difuso; crescimento angiocêntrico e angiodestrutivo. EBV+
Linfoma hepatoplénico		
Linfoma $\gamma\delta$ cutâneo primário	CD3+; CD5-; CD7-/+; CD56+; Grânulos citotóxicos+; TCR $\gamma\delta$ +. CD8-/+	EBV-. Tumores, placas e nódulos ulcerados (++ extremidades). Invasão epidérmica.
<i>Linfoma linfoblástico T</i>		

Nota: em itálico encontram-se patologias cuja hipótese de surgirem com o fenótipo proposto é remota

Linfoma de Hodgkin

Classicamente este linfoma é separado das restantes neoplasias linfoides.⁹

Com a introdução da terapia moderna, a importância da determinação do subtipo histológico e da graduação (por exemplo na doença nodular) desvaneceu, permitindo à aspiração por agulha fina contribuir para o diagnóstico do linfoma de Hodgkin. Este está dependente do reconhecimento das células de Hodgkin/RS num esfregaço e, uma vez que várias situações clínicas como a mononucleose infecciosa, o linfoma de grandes células anaplásico, o T/HRBCL, metástases de carcinoma, melanoma, sarcoma, tumor germinativo ou mesmo a hiperplasia linfóide reactiva podem conter células tipo-RS, da análise imunohistoquímica.¹⁰⁰ No entanto esta técnica requer a presença dum citopatologista experiente e, devido ao reduzido número e à fragilidade das células RS, pode falhar.

A citometria de fluxo surge como um exame complementar diagnóstico alternativo. No entanto, para além dos problemas relacionados com as próprias células RS (número e fragilidade), a existência de material fibroso interfere com a dispersão celular, com consequências na detecção das células neoplásicas.¹¹ Este facto é agravado pela formação de rosetas por parte das células T envolvendo as células RS, conferindo-lhe um fenótipo anormal.³³ Procedeu-se então ao estudo da população acessória, surgindo sugestões (posteriormente contrariadas) que o ratio CD4/CD8 >4 pudesse sugerir o diagnóstico deste linfoma.¹¹ Noutro estudo, Hudnall et al (2008) demonstrou que a percentagem de linfócitos CD4+/CD25+ (acentuadamente+) se encontrava aumentada no linfoma de Hodgkin comparativamente à hiperplasia linfóide reactiva, facto que poderia ser de valor diagnóstico.⁴¹

Fromm et al (2006) procedeu, com sucesso, à identificação das células RS por citometria de fluxo, após bloquearem as suas ligações com as células T das rosetas, usando um cocktail de anticorpos (anti CD2,CD58,CD54 e LFA-1).³³

⁹ Consultar poster anexo
Mestrado integrado

Apesar do anteriormente referido, a análise arquitectural (anteriormente descrita) suportada pela imunohistoquímica são necessárias para o diagnóstico definitivo (quadro 19).

Quadro 19 – Diagnóstico diferencial do linfoma de Hodgkin. Adaptado de 1,40,61, 83

	Linfoma de grandes células B rico em linfócitos T/histiócitos	Variante nodular de predomínio linfocítico do linfoma de Hodgkin	Linfoma de Hodgkin clássico	Linfoma de grandes células primário do mediastino	Linfoma difuso de grandes células B	Linfoma Anaplásico ALK+	Linfoma Anaplásico ALK-
Padrão de crescimento/morfologia	Difuso, embora possa ser vagamente nodular	Nodularidade presente	Nodular (comum) ou Difuso (raro)	Difuso, com estroma fibrosante	Difuso	Variável	Variável
Célula Tipo	Não tem (<i>imitação das células em pipoca ou RS</i>)	Célula “em pipoca” ou “de predomínio linfocítico”	<u>Esclerose nodular</u> : células lacunares; <u>Celularidade mista</u> : RS <u>Rico em linfócitos</u> : RS e Hodgkin <u>Depleção linfocitária</u> :RS (<i>células “mumificadas” no padrão sarcomatóide</i>)	Não tem (<i>células tamanho médio/grande de citoplasma abundante e claro</i>)	Não tem (<i>variante centroblástica, imunoblástica, anaplásica</i>)	“célula característica” (núcleo em ferradura, excêntrico, região eosinofílica perinuclear)	“célula característica” (núcleo em ferradura, excêntrico, região eosinofílica perinuclear)
Células tumorais							
CD30	- ¹	- ¹	+	+/-	-/+ ²	+	+
CD15	-	-	+/-	-	-	- ³	- ³
CD45	+	+	-	+	+	+/-	+/-
CD20	+	+	-/+ ⁴	+	+	-	-
CD79a	+	+	-/+ ¹	+	+	-	-
PAX5/BSAP	+	+	+	+ ⁵	+	-	-
Cadeia J	+/-	+/-	-	-	-/+	-	-
sIg	+/-	+/-	-	-	+/-	-	-
OCT2	+++	+++	-/+ ⁶	+	+	-	-
BOB1	+	+	- ⁷	+	+	-	-
PU.1	- ¹	+	-	+	+	-	-
Marcadores T	-	-	-	- ⁸	-	+	+/-
EMA	+/-	+/-	- ⁹	-	-/+ ²	+/-	+/-
ALK	-	-	-	-	-	+	-
EBV	-	-	+/-	-	-/+	-	-
Bcl-2	Variável	Variável	-/+	+	-/+	-	-
MAL			-/+	+/-	-/+		
Células reactivas							
CD3+ células T	Abundantes	Numerosas	Variável				
CD57+ rosetas	Ausentes	Frequente	Ausente				
CD21+ células foliculares dendríticas	Ausentes	Frequente	Frequente				
CD20+ células B	Muito poucas	Abundantes	Variável				
CD68+ Histiócitos	Frequentes	Poucos	Variável				
+++ expressão forte; + presente em todos os casos; +/- presente na maioria dos casos; -/+ presente numa minoria dos casos; - ausente. 1- raramente positivo; 2 – presente na variante anaplásica; 3- por vezes presente focalmente; 4- presente até 40% dos casos mas apenas nalgumas células neoplásicas e de intensidade variável; 5- 10% negativos; 6- expressão forte em 10%; 7- 10% com positividade fraca r dispersa; 8 – raramente positivo para CD2 e CD3; 9 – 5% fracamente positivo;							

Casos “Cinzentos”

Linfomas B com características intermédias entre o linfoma de Burkitt e o DLBCL (quadro) e entre o linfoma de Hodgkin clássico e o DLBCL (principalmente o primário do mediastino) constituem grupos separados (mas não entidades) na nova classificação 2008 da OMS.⁸³ Estes casos demonstram bem a complexidade destas neoplasias, reflectem a realidade diagnóstica e “purgando” as entidades envolvidas, para frustração dos clínicos, habituados a aplicar protocolos claros para entidades definidas.²² O seu percurso clínico geralmente é mais agressivo que as entidades “puras”, sendo o seu tratamento ainda indefinido.⁸³

Quadro 20 – Linfoma de características intermédias entre o linfoma de Burkitt e o DLBCL. *Adaptado de 22,83*

Característica	Linfoma Burkitt	Intermédio	DLBCL
Morfologia			
Só células médias/pequenas	Sim	Comum	Não
Só células grandes	Não	Não	Comum
Mistura	Não	Por vezes	Raro
Proliferação			
>90% e homogéneo	Sim	Comum	Raro
<90% ou heterogéneo	Não	Por vezes	Comum
Expressão BCL2			
Ausente/fraca	Sim	Por vezes	Por vezes
Forte	Não	Por vezes	Por vezes
Características genéticas			
Rearranjo MYC	90-100%	80%	5-15%
Translocação não-Ig/MYC	0	40%	40%
Translocação BCL2	0	45%	20-30%
Translocação BCL6	0	9%	30%
Dupla Translocação ¹	Não	Por vezes	Raro
Cariótipo Simples	Sempre	Raramente	Raramente
Cariótipo Complexo	0	Geralmente	Geralmente
1- Dupla translocação: Rearranjo MYC e BCL2 (mais comum) ou MYC e BCL6. A primeira pode representar, biologicamente, um linfoma folicular que “progrediu” através da translocação MYC.			

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Apresenta-se poster em anexo como sinopse de discussão

A classificação dos linfomas é uma área complexa devido à diversidade celular e em constante adaptação devido ao recurso das novas técnicas disponíveis e à informação que destas advêm. No futuro, a tecnologia por *microarray* poderá tornar-se a pedra basilar da pesquisa molecular⁵² e, como tal, da classificação dos linfomas. No entanto, acreditamos que para o diagnóstico e estabelecimento de diagnósticos diferenciais das neoplasias linfóides, a histologia clássica da amostra mantém-se o *gold standart* para a interpretação das metodologias provenientes da Patologia Molecular.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Professora Doutora Lina Carvalho a orientação, a disponibilidade e a simpatia que sempre revelou e que tornaram a realização deste trabalho possível.

Bibliografia

1. Abramson JS. T-Cell/Histiocyte-Rich B-cell lymphoma: Biology, diagnosis, and management. *The Oncologist*. 2006; 11:384-392
2. Agrawal R, Wang J. Pediatric Follicular lymphoma – A rare Clinicopathologic entity. *Arch Pathol Lab Med*. 2009; 133:142-146
3. Aisenberg AC. Historical review of lymphomas. *British Journal of Haematology*. 2000; 109:466-476
4. Aki H, Tuzuner N, Ongoren S, Baslar Z, Soysal T, Ferhanoglu B, Sahinler I, Aydin Y, Ulku B, Aktuglu G. T-cell-rich B-cell lymphoma: a clinicopathologic study of 21 cases and comparison with 43 cases of diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia Research*. 2004; 28:229-236
5. Al-Hakeem DA, Fedele S, Carlos R, Porter S. Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *Oral Oncology*. 2007; 43:4-14
6. Allemani C, Sant M, Angelis R, Marcos-Gragera R, Coebergh JW and The EURO CARE Working Group. Hodgkin Disease Survival in Europe and U.S. – prognostic significance of morphologic groups. *Cancer*. 2006; 107(2): 352-360
7. Andrea K. Diffuse large B cell lymphoma. *Semin Radiat Oncol*. 2008; 17:169-175
8. Arcanni L, Lucioni M, Boveri E, Paulli M. Nodal marginal zone lymphoma: current knowledge and future directions of an heterogeneous disease. *European Journal of Haematology*. 2009; 83:165-174
9. Au WY, Weisenburger DD, Intragumtornchai T, Nakamura S, Kim WS, Sng I, Vose J, Artimage JO, Liang R. Clinical differences between nasal and extranasal natural killer/T-cell lymphoma: a study of 136 cases from the International Peripheral T-cell Lymphoma Project. *Blood*. 2009; 113:3931-393
10. Barrans SL, Evans PAS, O'Connor SJM, Kendall SJ, Owen RG, Haynes AP, Morgan GJ, Jack AS. The t(14;18) is associated with Germinal center-derived diffuse large B-cell lymphoma and is a strong predictor of outcome. *Clinical Cancer Research*. 2003; 9:2133-2139
11. Beaty MW, Geisinger KR. Hodgkin lymphoma: flow me? *Cyto Journal*. 2005; 2:13
12. Belaud-Rotureau MA, Parrens M, Dubus P, Garroste AC, Mascarel A, Merlio JP. A comparative analysis of FISH, RT-PCR, PCR, and Immunohistochemistry for the diagnosis of mantle cell lymphomas. *Mod Pathol*. 2002; 15(5): 517-525
13. Belgaumi AF, Al-Kofide A, Sabbah R, Shalaby L. Precursor B-cell lymphoblastic lymphoma (PBL) in children: pattern of presentation and outcome. *Journal of the Egyptian Nat. Cancer Inst*. 2005; 17(1):15-19
14. Bende RJ, van Maldegem F, van Noesel CJM. Chronic inflammatory disease, lymphoid tissue neogenesis and extranodal marginal zone B-cell lymphomas. *Haematologica*. 2009; 94(8):1109-1122
15. Bertoni F, Ponzoni M. The cellular origin of mantle cell lymphoma. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2007; 39:1747-1753

16. Blum KA, Lozanski G, Byrd JC. Adult Burkitt leukemia and lymphoma. *Blood*. 2004; 104:3009-3020
17. Boerma EG, van Imhoff GW, Appel IM, Veeger NJGM., Kluin PhM, Kluin-Nelemans JC. Gender and age-related differences in Burkitt lymphoma – epidemiological and clinical data from The Netherlands. *European Journal of Cancer* 2004; 40:2781-2787
18. Camacho FI, Algara P, Rodríguez A, Ruiz-Ballesteros E, Mollejo M, Martínez N, Martínez-Climent JA, González M, Mateo M, Caleo A, Sánchez-Beato M, Menárguez J, García-Conde J, Solé F, Campo E, Piris MA. Molecular heterogeneity in MCL defined by the use of specific V_H genes and the frequency of somatic mutations. *Blood*. 2003; 101(10): 4042-4046
19. Caraway NP. Strategies to Diagnose Lymphoproliferative Disorders by Fine-Needle Aspiration by Using Ancillary Studies. *Cancer (Cancer Cytopathology)*. 2005;105(6):432-442
20. Chuang SS, Ye H, Du MQ, Lu CL, Dogan A, Hsieh PP, Huang WT, Jung YC. Histopathology and Immunohistochemistry in Distinguishing Burkitt Lymphoma From Diffuse Large B-Cell Lymphoma With Very High Proliferation Index and With or Without a Starry-Sky Pattern. A Comparative Study with EBER and FISH. *Am J Clin Pathol*. 2007;128:558-564
21. Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood*. 2008; 111:3941-3967
22. de Jong D. Novel lymphoid neoplasms – the borderland between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt’s lymphoma. *Haematologica*. 2009; 94(7):894-896
23. de Jong, D, Bosq J., MacLennan K.A., Diebold J., Audouin J., Chasle J., Mandard A.M., Marnay J., Henry-Amar M. Lymphocyte-rich classical Hodgkin lymphoma (LRCHL): Clino-pathological characteristics and outcome of a rare entity. *Annals of Oncology* 2006;17:141-145
24. Dey P. Role of ancillary techniques in diagnosing and subclassifying non-Hodgkin’s lymphomas on fine needle aspiration cytology. *Cytopathology*. 2006; 17:275-287
25. Dinand V, Arya LS. Epidemiology of childhood Hodgkin’s Disease: Is it different in developing countries? *Indian Pediatrics*. 2006; 43:141-147
26. Dogan A, Morice WG. Bone marrow histopathology in peripheral T-cell lymphomas. *British Journal of Haematology*. 2004;127:140-145
27. Dominis M, Dzebro S, Gasparov S, Pesut A, Kusec R. Diffuse large B-Cell Lymphoma and its Variants. *Croat Med J*. 2002;43:535-540
28. Du MQ. MALT lymphoma: Recent Advances in Aetiology and Molecular Genetics. *J Clin Exp Hematopathol*. 2007;47(2):31-42
29. Ferrer A, Salaverria I, Bosch F, Villamor N, Rozman M, Beà S, Giné E, López-Guillermo A, Campo E, Montserrat E. Leukemic Involvement is a common feature in mantle cell lymphoma. *Cancer*. 2007; 109(12):2473-2480
30. Ferreri A.J.M., Zucca E. Marginal-zone lymphoma. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2007; 63:245-256

31. Ferry JA. Burkitt Lymphoma: Clinicopathologic features and differential diagnosis. *The Oncologist*. 2006;11:375-383
32. Ferry JA. Extranodal Lymphoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2008; 132:565-578
33. Fromm JR, Kussick SJ, Wood BL. Identification and purification of classical Hodgkin cells from lymph nodes by flow cytometry and flow cytometric cell sorting. *Am J Clin Pathol*. 2006; 126:764-780
34. Fu K, Weisenburger DD, Greiner TC, Dave S, Wright G, Rosenwald A, Chiorazzi M, Iqbal J, Gesk S, Siebert R, de Jong D, Jaffe ES, Wilson WH, Delabie J, Ott G, Dave BJ, Sanger WG, Smith LM, Rimsza L, Braziel RM, Müller-Hermelink HK, Campo E, Gascoyne RD, Staudt LM, Chan WC. Cyclin D1-negative mantle cell lymphoma: a clinicopathologic study based on gene expression profiling. *Blood*. 2005; 106(13):4315-4321
35. Ghia P, Ferreri AJM, Caligaris-Cappio F. Chronic lymphocytic leukemia. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2007; 64:234-246
36. Gu K, Chan WC, Hawley RC. Practical detection of t(14;18)(IgH/BCL2) in follicular lymphoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2008; 132:1355-1361
37. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, Muller-hermelink AK, Campo E, Braziel RM, Jaffe ES, Pan Z, Farinha P, Smith LM, Falini B, Banham AH, Rosenwald A, Staudt LM, Connors JM, Armitage JO, Chan WC. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 2004; 103(1):275-282
38. Hans CP, Weisenburger DD, Vose JM, Hock LM, Lynch JC, Aoun P, Greiner TC, Chan WC, Bociek RG, Bierman PJ, Armitage JO. A significant diffuse component predicts for inferior survival in grade 3 follicular lymphoma, but cytologic subtypes do not predict survival. *Blood*. 2003; 101(6):2363-2367
39. Hasserjian RP, Harris NL. NK-cell lymphomas and leukemias – a Spectrum of tumors with variable manifestations and immunophenotype. *Am J Clin Pathol*. 2007; 127:860-868
40. Hasserjian RP, Ott G., Elenitoba-Johnson KSJ, Balague-Ponz O, de Jong D, Leval L. Commentary on the WHO classification of tumors of lymphoid tissues (2008): “Gray zone” lymphomas overlapping with Burkitt or classical Hodgkin lymphoma. *J Hematopathol*. 2009; 2:89-95.
41. Hudnall SD, Betancourt E, Barnhart E, Patel J. Comparative flow immunophenotypic features of the inflammatory infiltrates of Hodgkin lymphoma and lymphoid hyperplasia. *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)* 2008; 74B:1-8
42. Hunt EK, Reichard KK. Diffuse large B-Cell Lymphoma. *Arch Pathol Lab Med*. 2007; 132:118.124
43. Iannitto E, Ferreri AJM, Minardi V, Tripodo C, Kreipe HH. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Critical reviews in Oncology/Hematology* 2008; 68:264-271
44. Inadar KV, Bueso-Ramos CE. Pathology of chronic lymphocytic leukemia: an update. *Annals of Diagnostic Pathology*. 2007;11:363-389

45. Inamdar KV, Medeiros LJ, Joergensen JL, Amin HM, Schlette EJ. Bone Marrow Involvement by Marginal Zone B-Cell Lymphomas of Different Types. *Am J Clin Pathol.* 2008; 129:714-722
46. Jaffe ES. Pathobiology of peripheral T-cell lymphomas. *Hematology.* 2006; 1:317-322
47. Joergensen JL. State of the Art symposium: flow cytometric in the diagnosis of lymphoproliferative disorders by fine-needle aspiration. *Cancer (Cancer Cytopathology).* 2005; 105:443-451
48. Kahl B, Yang D. Marginal Zone Lymphomas: Management of Nodal, Splenic and MALT NHL. *Hematology.* 2008; 1:359-364
49. Kallem Z. Flow cytometric analysis of lymphomas – current status and usefulness. *Arch Pathol Lab Med.* 2006; 130:1850-1858
50. Kinney MC, Jones D. Cutaneous T-cell and NK-cell lymphomas – the WHO-EORTC classification and the increasing recognition of specialized tumor types. *Am J Clin Pathol.* 2007; 127:670:686
51. Kiyokawa N, Sekino T, Matsui T, Takenouchi H, Mimori K, Tang W, Matsui J, Taguchi T, Katagiri YU, Okita H, Matsuo Y, Karasuyama H, Fujimoto J. Diagnostic importance of CD179a/b as markers of precursor B-cell lymphoblastic lymphoma. *Modern Pathology.* 2004; 17:423-429
52. Kocjan G. Cytological and molecular diagnosis of lymphoma. *J Clin Pathol.* 2004; 8:561-567.
53. Kost CB, Holden JT, Mann KP. Marginal Zone B-Cell Lymphoma: a retrospective immunophenotypic analysis. *Cytometry Part B (Clinical Cytometry).* 2008; 74B:282-286
54. Küppers R, Hansmann ML. The Hodgkin and Reed-Sterberg cell. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 2005; 37:511-517
55. Lim MS, de Leval L. Commentary on the 2008 WHO classification of mature T- and NK-cell neoplasms. *J Hematopathol.* 2009; 2:65-73
56. Lin P, Jones D, Dorfman DM, Medeiros LJ. Precursor B-cell lymphoblastic lymphoma – A predominantly extranodal tumor with low propensity for leukemic involvement. *Am J Surg Pathol.* 2000; 24(11):1480-1490
57. López-Guillermo A, Colomo L, Jiménez M, Bosch F, Villamor N, Arenillas L, Muntañola A, Montoto S, Giné E, Colomer D, Beà S, Campo E, Montserrat E. Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Clinical and Biological Characterization and outcome according to the nodal or extranodal primary origin. *J Clin Oncol.* 2005; 23:2797-2804
58. Maitra A, McKenna RW, Weinberg AG, Schneider NR, Kroft S. Precursor B-cell lymphoblastic lymphoma – A study of nine cases lacking blood and bone marrow involvement and review of the literature. *Am J Clin Pathol.* 2001; 115:868-875
59. Manson SD. Mucosa-Associated Lymphoid Tissue (MALT) lymphoma. *Seminars in Oncology Nursing.* 2006; 22(2):73-79.
60. Mantei K, Wood BL. Flow cytometric evaluation of CD38 expression assists in distinguishing follicular hyperplasia from follicular lymphoma. *Cytometry Part B* 2009;00B: 000-000

61. Martelli M, Ferreri AJM, Johnson P. Primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2008; 68:256-263
62. Medeiros LJ, Elenitoba-Johnson KS. Anaplastic Large Cell lymphoma. *Am J Clin Pathol.* 2007; 127:707-722
63. Merchant SH, Amin MB, Viswanatha DS. Morphologic and Immunophenotypic analysis of Angioimmunoblastic T-cell lymphoma – Emphasis on phenotypic aberrancies for early diagnosis. *Am J Clin Pathol.* 2006; 126:29-38
64. Morton ML, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood.* 2006; 107(1):265-276
65. Müller AMS, Ihorst G, Mertelsmann R, Engelhardt M. Epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma (NHL): trends, geographic distribution, and etiology. *Ann Hematol.* 2005; 84:1-12.
66. Nogová L, Rudiger T, Engery A. Biology, Clinical Course and Management of Nodular Lymphocyte-Predominant Hodgkin Lymphoma. *Hematology.* 2006; 1:266-272
67. Orem J, Mbidde EK, Lambert B, Sanjose S, Weiderpass E. Burkitt's lymphoma in Africa, a review of the epidemiology and etiology. *African Health Sciences.* 2007; 7(3):166-175
68. Oscier D, Owen R, Johnson S. Splenic marginal zone lymphoma. *Blood Reviews.* 2005; 19:39-51
69. Ott G, Balague-Ponz O, de Leval L, de Jong D, Hasserjian RP, Elenitoba-Johnson KSJ. Commentary on the WHO classification of tumors of lymphoid tissues (2008): indolent B cell lymphomas. *J Hematopathol.* 2009; 2:77-81
70. Paeppe P, Achten R, Verhoef G, Wlodarska I, Stul M, Vanhentenrijk V, Praet M, Wolf-Peeters C. Large Cleave and Immunoblastic Lymphoma May represent Two distinct clinopathologic entities within the group of diffuse large B-cell lymphomas. *J Clin Oncol.* 2005; 23(28):7060-7068
71. Parveen Z., Thompson K. Subcutaneous Panniculitis-like T-Cell Lymphoma – Redefinition of Diagnostic Criteria in the recent World Health Organization – European Organization for Research and Treatment of Cancer Classification for Cutaneous lymphomas. *Arch Pathol Lab Med.* 2009; 133:303-308
72. Perkins AS, Friedberg JW. Burkitt lymphoma in adults. *Hematology.* 2008; 1:341-348
73. Pireli SA, Ascani S, Leoncini L, Sabattini E, Zinzani PL, Piccaluga PP, Pileri Jr A, Giunti M, Falini B, Bolis GB, Stein H. Hodgkin's Lymphoma: the pathologist's viewpoint. *J Clin Pathol.* 2002; 55:162-176.
74. Ponz OB, Ott G, Hasserjian RP, Elenitoba-Johnson KSJ., Leval L, de Jong D. Commentary on the WHO classification of tumors of lymphoid tissues (2008): aggressive B-cell lymphomas. *J Hematopathol.* 2009; 2:83-87
75. Rahemtullah A, Reichard KK, Preffer FI, Harris NL, Hasserjian RP. A double-positive CD4+CD8+ T-Cell population is commonly found in nodular lymphocyte predominant Hodgkin Lymphoma. *Am J Clin Pathol.* 2006; 126:805-814

76. Ray S, Craig FE, Swerdlow SH. Abnormal patterns of antigenic expression in follicular lymphoma – a flow cytometric study. *Am J Clin Pathol.* 2005; 124:576-583
77. Rodriguez-Abreu D, Filho VB, Zucca E. Peripheral T-cell lymphomas, unspecified (or not otherwise specified): a review. *Hematol Oncol.* 2007;26:8-20
78. Salles GA. Clinical features, prognosis and treatment of follicular lymphoma. *Hematology.* 2007; 1:216-225
79. Savage KJ, Harris NL, Vose JM, Ullrich F, Jaffe ES, Connors JM, Rimsza L, Pileri SA, Chhanabhai M, Gascoyne RD, Artimage JO, Weisenburger DD. ALK⁻ anaplastic large-cell lymphoma is clinically and immunophenotypically different from both ALK⁺ ALCL and peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified: report from the International Peripheral T-cell lymphoma project. *Blood.* 2008; 111:5496-5504
80. Shimabukuro-Vornhagen A, Haverkamp H, Engert A, Balleisen L, Majunke P, Heil G, Eich HT, Stein H, Diehl V, Josting A. Lymphocyte-rich Classical Hodgkin's Lymphoma: Clinical presentation and treatment outcome in 100 patients treated within german hodgkin's study group trials. *J Clin Oncol* 2005; 23:5739-5745
81. Stacchini A, Demurtas A, Aliberti S, Celle PF, Godio L, Palestro G, Novero D. The usefulness of flow cytometric CD10 detection in the differential diagnosis of peripheral T-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol.* 2007; 128:854-864
82. Stefanovic A, Lossos IS. Extranodal marginal zone lymphoma of the ocular adnexa. *Blood.* 2009; 114(3):501-510
83. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. (Eds.): WHO Classification of Tumours os Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC: Lyon 2008
84. Swerdlow SH, Williams ME. From centrocitic to mantle cell lymphoma: a clinicopathologic and molecular review. *Human Pathology.* 2002; 33(1):7-20
85. Thieblemont C. Non-MALT marginal zone lymphomas. *Annals of Oncology.* 2008; 19:iv70-iv79
86. Thomas RK, Re D, Zander T, Wolf J, Diehl V. Epidemiology and etiology of Hodgkin's Lymphoma. *European Society for Medical Oncology.* 2002; 1:147-152
87. Tiemann M, Schrader C, Klapper W, Dreuling MH, Campo E, Norton A, Berger F, Kluin P, Ott G, Pileri S, Pedrinis E, Feller AC, Merz H, Janssen D, Hansmann ML, van Krieken H, Möller P, Stein H, Unterhalt M, Hiddemann W, Parwaresch R. Histopathology, cell proliferation indices and clinical outcome in 304 patients with mantle cell lymphoma: a clinicopathological study from the European MCL Network. *British Journal of Haematology.* 2005; 131:29-38.
88. Tsai HK, Mauch PM. Nodular Lymphocyte-Predominant Hodgkin Lymphoma. *Semin Radiot Oncol.* 2007; 17:184-189
89. Tzankov A, Bourgau C, Kaiser A, Zimpfer A, Maurer R, Pileri SA, Went P, Dirnhofer S. Rare expression of T-cell markers in classical Hodgkin's lymphoma. *Modern Pathology.* 2005; 18:1542-1549
90. van den Bosch C.A. Is endemic Burkitt's lymphoma an alliance between three infections and a tumour promoter? *Lancet Oncol.* 2004; 5:738-746

91. Vassilakopoulos TP, Angelopoulou MK, Siakantaris M.P, Konstantinou N, Symeonidis A, Karmiris T, Repoussis P, Roussou P, Dimopoulos AM, Kokoris SI, Dimitriadou EM, Kyrtsonis MC, Dimopoulou MN, Tsatalas C, Kokkinis G, Vrakidou E, Grigoraki V, Poziopoulos C, Stamatellou M, Liapis D, Georgiou G, Panayiotidis P, Pangalis GA. Pure infradiaphragmatic Hodgkin's Lymphoma. Clinical features, prognostic factors and comparison with supradiaphragmatic disease. *Haematologica*. 2006; 91:32-39
92. Vega F, Medeiros LJ, Gaulard P. Hepatosplenic and other T-cell lymphomas. *Am J Clin Pathol*. 2007; 127:869-880
93. Vitolo U, Ferreri AJM, Montoto S. Follicular Lymphoma. Critical reviews in *Oncology/Hematology*. 2008; 66:248-261
94. Vitolo U, Ferreri AJM, Montoto S. Lymphoplasmacytic lymphoma – Waldenstrom's macroglobulinemia. Critical reviews in *Oncology/Hematology*. 2008; 67:172-185
95. von Wasielewski S, Franklin J, Fischer R, Hübner K, Hansmann ML, Diehl V, Georgii A, von Wasielewski R. Nodular sclerosing Hodgkin disease: new grading predicts prognosis intermediate and advanced stages. *Blood*. 2003; 101(10):4063-4069
96. Winter, JN, Gascoyne RD, van Besien K. Low-grade lymphoma. *Hematology*. 2004; 1:203-220
97. Wood BL, Arroz M, Barnett D, DiGiuseppe J, Greig B, Kussick SJ, Oldaker T, Shenkin M, Stone E, Wallace P. 2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia by flow cytometry: optimal reagents and reporting for the flow cytometric diagnosis of hematopoietic neoplasia. *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)*. 2006; 72B:S14-S22
98. Yasodha N. Follicular Lymphoma – The biology of the germinal center. *Hematology*. 2007; 1:210-215
99. Young NA. Grading Follicular lymphoma on Fine-needle Aspiration Specimens – a practical approach. *Cancer (Cancer Cytopathol)*. 2006; 108:1-9
100. Zang JR, Raza AS, Greaves TS, Cobb CJ. Fine-needle aspiration diagnosis of Hodgkin lymphoma using current WHO classification – Re-evaluation of cases from 1999-2004 with new proposals. *Diagnostic Cytopathology*. 2005; 34(6):397-402
101. Zettl A, de Leeuw R, Haralambieva E, Mueller-Hermelink HK. Enteropathy-type T-cell Lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 2007; 127:701-706.
102. Zhao FX. Case report: Nodular Lymphocyte-Predominant Hodgkin lymphoma or T-cell/Histiocyte Rich Large B-cell lymphoma: the problem in “Grey Zone” lymphomas. *Int J Clin Exp Pathol*. 2008; 1:300-305