

# Diagnóstico del linfoma de la zona marginal (linfoma MALT) gástrico temprano, en biopsias endoscópicas. Informe de un caso que ilustra la utilidad de la inmunohistoquímica y el análisis molecular

Piña-Oviedo S<sup>1,2</sup>, Fend F<sup>3</sup>, Kramer M<sup>3</sup>, Fournier F<sup>4</sup>, Farca A<sup>4</sup>, Ortiz-Hidalgo C<sup>1,5</sup>

- 1 Departamento de Biología Celular y Tisular. Escuela de Medicina. Universidad Panamericana. Donatello No. 59. Colonia Insurgentes Mixcoac. C.P. 03920, México D.F., México.
- 2 Instituto de Hematopatología "The Anton van Leeuwenhoek Society" for Life & Exact Sciences. Tamaulipas No. 131. Colonia Cuajimalpa. C.P. 05000, México, D.F. México.
- 3 Departamento de Patología. Technical University Munich. Ismaningerstr 22. D-81675. Munich, Alemania.
- 4 Departamento de Endoscopia.
- 5 Patología. Centro Médico ABC. Sur 132. No. 116. Colonia Las Américas. C.P. 01120. México D.F., México.

Correspondencia: Dr. Carlos Ortiz-Hidalgo. Departamento de Patología. Hospital ABC. Calle Sur 132, No. 116. Colonia Las Américas. C.P. 01120. México, D.F. México. Tel: (011)52-55 5230-8171. Fax (011)52 5230-8173. Cooreo electrónico: cortiz@abchospital.com

## Resumen

Los linfomas MALT son un subgrupo de linfomas de bajo grado que representan el 7-8% de los linfomas B originados en sitios extraganglionares. Cerca de 50% se presentan como linfomas gástricos primarios. Éstos se desarrollan del MALT adquirido en el curso de la infección crónica por *H. pylori*. Microscópicamente, se caracterizan por la presencia de folículos linfoides reactivos con colonización folicular, células de la zona marginal (centrocitoides) y lesiones linfoepiteliales. El diagnóstico histopatológico puede resultar complejo en biopsias endoscópicas pequeñas superficiales. La clasificación de Wotherspoon junto con el análisis molecular son útiles en estos casos. Presentamos en este estudio, el caso de una mujer de 62 años con gastritis crónica a quien se le realizó endoscopia con toma de biopsias y se identificó infiltrado linfoide difuso heterogéneo en lámina propia. Por inmunohistoquímica las células coexpresaron CD20 y CD43 y restricción a cadenas ligeras kappa. Se estableció el diagnóstico de infiltrado linfoide atípico sugerente de linfoma MALT. El estudio molecular por PCR corroboró la

## Abstract

MALT lymphomas are a subtype of low grade lymphomas that represent 7-8% of all B-cell lymphomas originated in extranodal sites. Nearly 50% of the cases present as primary gastric lymphomas. They arise from the acquired MALT developed during the course of *H. pylori* chronic infection. Microscopically, the presence of lymphoid follicles with follicular colonization, marginal zone ('centrocytoid') cells and lymphoepithelial lesions is characteristic. Histopathological diagnosis may result difficult in superficial endoscopic biopsies showing atypical lymphoid infiltrates. Using Wotherspoon criteria along with molecular analyses is useful in borderline lesions. We present the case of a 62 years old female with chronic gastritis. A small endoscopic biopsy was performed and the presence of a heterogeneous lymphoid infiltrate in the lamina propria was observed. Immunohistochemical profile showed focal co expression of CD20 and CD43 and kappa light chain restriction. The diagnosis of an atypical lymphoid infiltrate highly suspicious of MALT lymphoma was established. PCR

*expresión monoclonal de las células linfoides y el diagnóstico de linfoma. El análisis inmunohistoquímico y molecular en casos de infiltrados linfoides sospechosos para malignidad (Wotherspoon 3 y 4) permitirán un adecuado diagnóstico entre gastritis crónica o linfoma MALT, el cual resulta importante para el pronóstico, tratamiento y sobrevida del paciente.*

**Palabras clave:** gastritis crónica reactiva, linfoma de la zona marginal, linfoma MALT, linfoma gástrico.

*molecular analysis corroborated the monoclonal pattern of the lymphoid cells and the diagnosis of lymphoma. Immunohistochemical and molecular analyses in cases of lymphoid infiltrates suspicious of malignancy (Wotherspoon 3 and 4) will aid in the adequate diagnosis between chronic gastritis and MALT lymphoma, which is crucial for prognosis, treatment and patient's outcome.*

**Key words:** Chronic reactive gastritis, marginal zone lymphoma, MALT lymphoma, gastric lym-

## Introducción

El linfoma de la zona marginal (LZM) o linfoma MALT fue descrito por Isaacson y Wright en 1983, en dos casos que afectaban aparato digestivo y presentaban características histológicas similares a las del tejido linfoide asociado a mucosas (MALT).<sup>1</sup> Posteriormente, fueron descritos casos similares en pulmón, tiroides y glándulas salivales.<sup>2</sup> A pesar de que el estómago es el sitio de afección más frecuente, normalmente no existe tejido linfoide organizado por debajo de la mucosa gástrica, a excepción de escasos linfocitos y células plasmáticas (CPs). La presencia de 'MALT adquirido' en estómago se desarrolla a partir de la gastritis folicular secundaria a la infección por *H. pylori*.<sup>3</sup> Existe evidencia de que el LZM gástrico se origina de este MALT adquirido.<sup>4,5</sup> y al erradicar el *H. pylori* con tratamiento antimicrobiano, se puede producir regresión del linfoma hasta en 75% de los casos.<sup>6</sup>

Histológicamente, el linfoma MALT está formado por células de la zona marginal 'centrocitoides' (CCs), células monocitoides, linfocitos pequeños, escasos inmunoblastos, células similares a centroblastos y células plasmáticas. Este infiltrado se localiza en la zona marginal de los folículos linfoides reactivos, que a su vez puede infiltrarlos, produciendo el fenómeno llamado 'colonización folicular'. Además estas células se extienden a la zona parafolicular e infiltran al epitelio subyacente del órgano involucrado, formando lesiones linfoepiteliales (LLEs).<sup>1,3,4,7</sup>

En estadios iniciales el LZM (LZM temprano) puede confundirse histológicamente con gastritis crónica folicular.<sup>8</sup> En 1993, Wotherspoon y cols. propusieron un sistema para catalogar el diagnóstico histopatológico de los infiltrados linfoides en

biopsias gástricas.<sup>6</sup> El sistema incluye los diferentes patrones histológicos encontrados dentro del espectro de gastritis folicular hasta linfoma MALT. Sin embargo, existen situaciones en que el diagnóstico resulta difícil, sobre todo cuando las biopsias son pequeñas o cuando el infiltrado linfoide es escaso pero y no presenta todas las características histológicas de linfoma.

Presentamos un caso de LZM localizado focalmente en lámina propia y submucosa superficial del cuerpo gástrico. El diagnóstico diferencial incluyó gastritis crónica folicular. Los estudios de inmunohistoquímica (IHQ) y de técnicas moleculares fueron necesarios para establecer el diagnóstico apropiado.

## Informe del caso

Una mujer de 62 años de edad acudió a consulta por presentar cuadro de gastritis crónica con dolor epigástrico de larga evolución, así como datos clínicos de esofagitis por reflujo. En la endoscopia se observó esofagitis crónica con una línea Z irregular, así como gastritis crónica en región corpofúndica con presencia de mucosa trabeculada y nodular (foto 1). Se tomaron biopsias de la unión esofagogástrica donde se identificó carditis crónica sin datos de metaplasia intestinal. Las biopsias de las zonas nodulares del cuerpo gástrico presentaron infiltrado linfoide atípico localizado en lámina propia y submucosa superficial con folículos linfoides mal formados y expansión de la zona marginal con numerosas células pequeñas centrocitoides, sugerente de linfoma MALT (Wotherspoon, grado 4). (Imagen 1 AB) No hubo datos de atrofia o metaplasia intestinal de la mucosa gástrica y no se identificó *H. pylori* con la tinción de Genta. Por IHQ

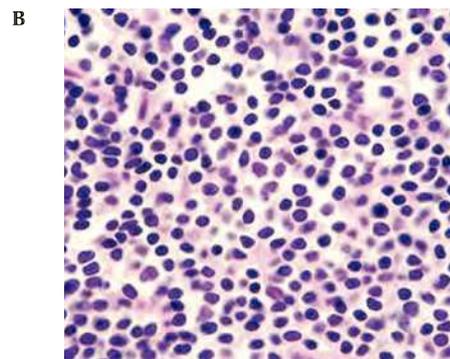
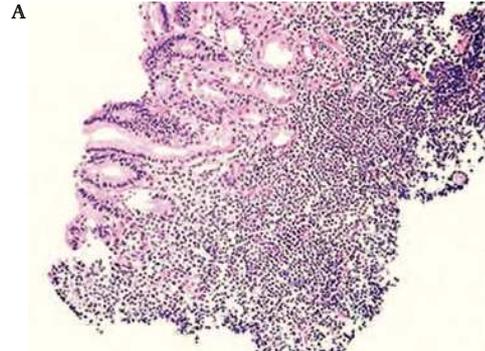
**Foto 1.**

Imagen endoscópica de la mucosa gástrica trabeculada con presencia de lesiones nodulares.



**Imagen 1.**

Cortes microscópicos de las lesiones nodulares. Por debajo de la mucosa se aprecian abundantes linfocitos pequeños que invaden las glándulas epiteliales, dato sugerente de linfoma MALT (A). A mayor aumento se aprecia un infiltrado linfoide heterogéneo, compuesto predominantemente por linfocitos pequeños y células centrocitoides (B).



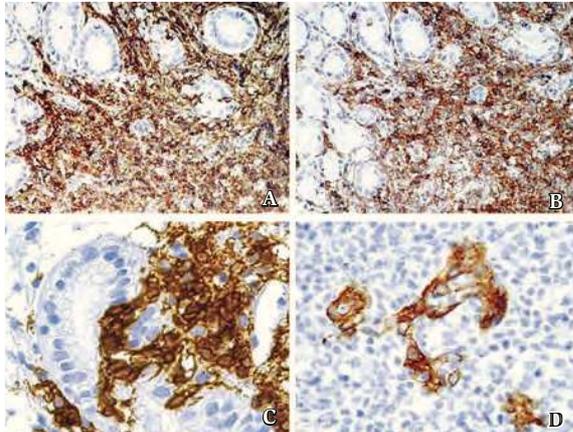
se demostró que la población linfoide expresaba CD20, y en forma focal coexpresaban CD43. (Imagen 2 A-B) Con anti-CD3 se distinguieron células T reactivas, con relación B:T de 7:1. Se identificaron LLEs por medio de inmunomarcaje con citoqueratina de amplio espectro (CK AE1-3). (Imagen 2 C-D)

Es importante resaltar que estas LLEs, que es un dato sugerente de linfoma MALT, no fueron evidentes en el examen histológico con H&E, aún después de diversos recortes. El informe histopatológico fue de infiltrado linfoide atípico sugerente de LZM (linfoma MALT), con una nota indicando que la lesión podría corresponder a infiltración temprana por linfoma MALT (sospechoso de linfoma gástrico temprano / grado 4 de la clasificación de Wotherspoon). Por lo anterior, se programó resección en cuña de la lesión localizada en la cara posterior de cuerpo gástrico. En el fragmento resecado, macroscópicamente la mucosa presentaba aspecto finamente granular, con una zona deprimida aparentemente ulcerada (0.8 x 0.6 cm). Histológicamente, esta zona correspondió a una lesión linfoide proliferativa atípica (6 x 3 mm) que infiltraba mucosa y submucosa, sin afectar la muscular propia y con márgenes quirúrgicos libres. El resultado por IHQ fue similar al de la biopsia inicial con coexpresión focal de CD20 y CD43, y focalmente, restricción a cadenas ligeras kappa. Se realizaron estudios de clonalidad por PCR en los bloques de parafina tanto de la biopsia

original como en el producto de resección para determinación de reordenamiento de los genes de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas (*IgH*) (primers FR3 o 'framework region 3' de la región variable de *IgH*), donde se obtuvo reordenamiento monoclonal de *IgH* en células neoplásicas (sistema de análisis automatizado para determinar la longitud de fragmentos por fluorescencia, GeneScan, Perkin Elmer\*), obteniéndose con una clona idéntica de 96 pb en ambos casos, y se estableció el diagnóstico de linfoma MALT (estudios realizados en el Instituto de Patología de la Universidad de Munich, Alemania) (Imagen 3). Actualmente, la paciente se encuentra bien y está bajo tratamiento *anti-Helicobacter*.

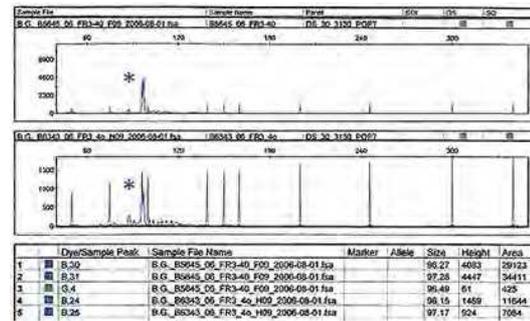
**Imagen 2.**

Inmunomarcación. Positividad a CD20 (A). Coexpresión de CD43 (B). Las lesiones linfoepiteliales pueden resaltarse con CD20 (C) y/o citoqueratina AE1-3 (D).



**Imagen 3.**

Resultado del análisis molecular (software GeneMapper v3.7, Applied Biosystems®). Se observa la presencia de dos picos monoclonales de 96 pb prácticamente idénticos (recuadro superior, muestra de biopsia endoscópica; recuadro inferior, muestra de resección en cuña).



**Discusión**

La Organización Mundial de la Salud divide al LZM de células B en tres subtipos: a) LZM extraganglionar (linfoma MALT); b) LZM esplénico (con/sin linfocitos vellosos en sangre periférica), y c) LZM ganglionar (con/sin células monocitoides)<sup>4</sup>. La mayoría de los linfomas no-Hodgkin extraganglionares afectan sobre todo el aparato digestivo y se originan del MALT adquirido secundario a un proceso inflamatorio crónico. Este proceso inflamatorio produce el reclutamiento de linfocitos T y B al sitio afectado, y adquiere la estructura del tejido linfoide organizado, similar al MALT normal encontrado en las placas de Peyer.<sup>1,2,4,7</sup> Hay evidencias que el linfoma MALT gástrico se origina a partir del MALT adquirido posterior a la infección por *H. pylori*.<sup>5</sup> Del mismo modo, el LZM cutáneo se ha asociado a la infección por *Borrelia burgdorferi*, el de anexos oculares a *Chlamydia psittaci*, el de intestino delgado a *Campylobacter jejuni* y el de glándulas salivales a virus de hepatitis C.<sup>9</sup> Algunos padecimientos autoinmunes presentan riesgo elevado para el desarrollo de linfoma MALT, como síndrome de Sjögren para linfoma de glándula salival, y tiroiditis de Hashimoto para linfoma tiroideo.

La infección por *H. pylori* puede producir cuadros histológicos similares al linfoma MALT, sobre todo, cuando éste se encuentra en etapas tempranas o cuando las características del infiltrado

linfoide no se pueden valorar adecuadamente (biopsias endoscópicas muy superficiales). Inicialmente, la respuesta inflamatoria producida por la infección de *H. pylori* atrae neutrófilos y eosinófilos a la submucosa. Las células inflamatorias infiltran lámina propia y las glándulas gástricas produciendo daño citotóxico de las células epiteliales. La cronicidad del proceso inflamatorio produce gastritis folicular, que puede confundirse con linfoma MALT<sup>10</sup>. Los datos histológicos que favorecen el diagnóstico de linfoma son: la presencia de LLEs, células plasmáticas con inclusiones intranucleares (cuerpos de Dutcher) y linfocitos pequeños centrocitoides con atipia. En el linfoma MALT, a diferencia de la infección por *H. pylori*, las LLEs suelen mostrar destrucción de células epiteliales con degeneración citoplásmica oncocítica (eosinofilia citoplásmica intensa).<sup>7</sup>

En 1993, Wotherspoon y cols. diseñaron un sistema fácilmente reproducible para graduar las biopsias gástricas endoscópicas para el diagnóstico diferencial entre un proceso inflamatorio crónico y linfoma MALT.<sup>6</sup> (tabla 1). Sin embargo, en ocasiones no es posible determinar con certeza el diagnóstico entre uno y otro, principalmente en biopsias pequeñas.<sup>7,8</sup> La IHQ es muy útil, pues el predominio de células CD20+, con coexpresión de CD43, restricción a cadenas ligeras y, la presencia de LLEs evidenciadas con citoqueratinas, favorece linfoma MALT. De acuerdo con la clasificación de Wotherspoon, en ocasiones es necesario realizar

Diagnóstico del linfoma de la zona marginal (linfoma MALT) gástrico temprano, en biopsias endoscópicas. Informe de un caso que ilustra la utilidad de la inmunohistoquímica y el análisis molecular

**Tabla 1.**  
Clasificación de biopsias gástricas con infiltrado linfoide

Grado	Según Wotherspoon y col.6 (1993)	Hummel y col.12(2006)
0 Normal	Escasas células plasmáticas en lámina propia, sin folículos linfoides.	
1 Gastritis crónica activa	Grupos pequeños de linfocitos en lámina propia sin folículos linfoides. No lesiones linfoepiteliales.	Gastritis crónica
2 Gastritis crónica activa con folículos linfoides floridos	Formación de folículos linfoides prominente, con capa del manto bien formada y células plasmáticas. No lesiones linfoepiteliales.	
3 Infiltrado linfoide sospechoso en lámina propia, probable reactivo	Folículos linfoides rodeados de células centrocitoides que infiltran difusamente la lámina propia y ocasionalmente el epitelio gástrico.	Emplear método de PCR avanzado. Diagnóstico de gastritis si la amplificación no es clonal. Diagnóstico de linfoma MALT si la amplificación es clonal.
4 Infiltrado linfoide en lámina propia sospechoso de linfoma	Folículos linfoides rodeados de células centrocitoides que infiltran difusamente la lámina propia y el epitelio gástrico en pequeños grupos.	
5 Linfoma MALT	Presencia de infiltrado linfoide denso difuso compuesto por células centrocitoides en lámina propia y lesiones linfoepiteliales prominentes.	Linfoma MALT

estudios de reordenamiento genético de *IgH* para determinar si la población linfoide es mono o policlonal, aunque este método puede dar resultados falsos negativos hasta en 15% de los casos.<sup>3,11</sup> Recientemente, se realizó un estudio de correlación entre la detección de reordenamientos clonales en los genes *IgH* por PCR avanzado y la clasificación de Wotherspoon.<sup>12</sup> En un total de 97 biopsias gástricas, se demostró que la gastritis con expresión clonal es extremadamente rara (98% de los casos fueron negativos), y se estableció que si se identifica monoclonalidad en los estadios 3 y 4 de Wotherspoon, el diagnóstico entonces corresponde a linfoma.

En resumen, presentamos un caso de linfoma MALT temprano (microlinfoma), localizado en la lámina propia y submucosa superficial, diagnosticado por medio de IHQ y análisis molecular.

## Bibliografía

1. Isaacson PG, Wright DH. Malignant lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. A distinct type of B-cell lymphoma. *Cancer* 1983;52:1410-1416.
2. Isaacson PG, Wright DH. Extranodal malignant lymphoma arising from mucosa associated lymphoid tissue. *Cancer* 1984;53:2515-2524.
3. Isaacson PG, Du Ming-Qing. **MALT lymphoma: from morphology to molecules.** *Nature Rev Cancer* 2004;4:644-652.
4. Isaacson PG, Müller-Hermelink HK, Piris MA y cols. Extranodal marginal zone B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma). En: World Health Organization Classification of Tumours: Pathology & Genetics. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (Eds). IARC Press. Lyon, 2001:157-160.
5. Wotherspoon AC, Ortiz-Hidalgo C, Falzon MR, Isaacson PG. *Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet* 1991; 338: 1175-1176.
6. Wotherspoon AC, Dogliani C, Diss TC y col. Regression of primary low-grade B-cell gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1993;342:575-577.
7. Piña-Oviedo S, Ortiz-Hidalgo C. El diagnóstico histológico y molecular del linfoma extraganglionar de células B, de la zona marginal, del tejido linfoide asociado a mucosas (linfoma MALT). *Patología* (Revista Latinoamericana) 2006. En prensa.
8. Fend F, Schwaiger A, Weyrer K y cols. Early diagnosis of gastric lymphoma: gene rearrangement analysis of endoscopic biopsy samples. *Leukemia* 1994;8:35-39.
9. Shaye OS, Levine AM. Marginal zone lymphoma. *J Natl Compr Canc Netw* 2006;4:311-318.
10. Farinha P, Gascoyne RD. *Helicobacter pylori* and MALT lymphoma. *Gastroenterology* 2005;128:1579-1605.
11. Lo WY, Li JY, Chan YK, y col. Instability of clonality in gastric lymphoid infiltrates. *Am J Surg Pathol* 2005;29:1582-1592.
12. Hummel M, Oeschger S, Barth TF y col. Wotherspoon criteria combined with B cell clonality analysis by advanced polymerase chain reaction technology discriminates covert gastric marginal zone lymphoma from chronic gastritis. *Cut* 2006;55:782-787.