

# DIAGNOSTICO ANATOMOPATOLOGICO DE LAS LEUCEMIAS A CELULAS PELUDAS EN EL PARAGUAY

## ANATOMOPATHOLOGICAL DIAGNOSIS OF HAIRY CELL LEUKEMIAS IN PARAGUAY

Figueredo Thiel SJ

Sección de Hematopatología, Departamento de Patología del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS), Universidad Nacional de Asunción

### RESUMEN

La leucemia a células peludas o tricoleucemia es una entidad dentro de los síndromes linfoproliferativos crónicos, con características propias que la hacen distinta a las demás neoplasias linfoides. Es una leucemia crónica caracterizada por un curso clínico indolente y prolongado, con esplenomegalia marcada, pancitopenia y presencia de células linfocíticas peludas características en sangre periférica, médula ósea y bazo. El diagnóstico de esta enfermedad no siempre es fácil desde el punto de vista clínico-hematológico, debido a sus características propias que impiden buenas extracciones citológicas para visualización correcta de sus células, por lo que necesita en la mayor parte de los casos una confirmación diagnóstica anatomopatológica complementada con técnicas especiales. El objetivo de este trabajo es describir los aspectos morfológicos de esta patología desde el punto de vista anatomopatológico, tanto en su carácter citológico como histológico, con las diferentes técnicas especiales que se utilizan para diagnóstico actualmente en hematopatología en el Paraguay, correlacionando estos hallazgos con la clínica y laboratorio hematológicos, esquemas terapéuticos utilizados, respuesta y evolución de los pacientes. Los materiales citológicos y biopsicos de estos pacientes se analizaron en la Sección de Patología Hematológica del Departamento de Patología del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS-UNA) de Asunción-Paraguay en un período de tiempo de cinco años, desde su creación en 1997 hasta el año 2002, con técnicas de citohistoquímica enzimática en citologías y cortes de parafina, la inmunohistoquímica y microscopía electrónica de transmisión y barrido. Estos incluyen materiales de biopsias de médula ósea, aspirados e improntas medulares, sangre periférica, esplenectomías y cuñas de hígado de 7 casos consecutivos encontrados dentro de los 53 pacientes con síndrome linfoproliferativo crónico de los principales centros asistenciales del país. En este trabajo se pone de manifiesto la importancia que tiene la anatomía patológica y sus técnicas especiales en hematopatología, especialmente la biopsia de médula ósea, para llegar al diagnóstico final de certeza, en este caso, de la leucemia a células peludas. Por medio de ella es posible evidenciar cambios y alteraciones morfológicas tanto celulares como tisulares que en primer lugar confirman el diagnóstico, en segundo lugar analizan los criterios para el pronóstico y en tercer lugar evalúan la respuesta terapéutica de estos pacientes.

**Palabras claves:** leucemia - células peludas - biopsia de médula ósea

### ABSTRACT

Hairy cell leukemia or tricholeukemia is an entity within chronic lymphoproliferative syndromes with own characteristics different from those of other lymphoid neoplasias. It is a chronic leukemia characterized by an indolent and long clinical course, marked splenomegaly, pancytopenia and presence of characteristic hairy lymphocytic cells in peripheral blood, bone marrow and spleen. The diagnosis of this disease is not always easy from the clinico-hematologic point of view because of its own characteristics that avoid good cytologic extractions for a correct visualization of its cells. Due to this, a diagnostic anatomopathological confirmation complemented with special techniques is necessary in most cases. The objective of this study is to describe the morphological aspects of this pathology from the anatomopathological point of view, in its biological and histological character with the different special techniques used currently for diagnosis in hematopathology in Paraguay. Findings were then correlated with hematologic clinics and laboratory, therapeutic schemes used, response and evolution of patients. The cytological and biopsy materials were analysed in the Section of Hematologic Pathology, Department of Pathology, Health Sciences Research Institute (IICS, National University of Asuncion), during five years, since its creation in 1997 to 2002, using enzymatic cytohistochemical techniques in cytologies and paraffin cuts, immunohistochemistry, transmission and scan electronic microscopy. These materials include samples from bone marrow biopsies, aspirates and imprints, peripheral blood, splenectomies and liver wedge of seven consecutive cases found in 53 patients with chronic lymphoproliferative syndrome of the main hospitals of the country. This work remarks the importance of pathological anatomy and its special techniques in hemotopathology, mainly the bone marrow biopsy, to achieve a certainty final diagnosis in hairy cell leukemias. It is possible to evidence morphological cell and tissue changes as well as alterations that confirm the diagnosis in first place, analyse the prognosis criteria in second place and finally evaluate the therapeutic response of these patients.

**Keywords:** leukemia - hairy cells - bone marrow biopsy

## **INTRODUCCIÓN**

La tricoleucemia o leucemia a células peludas es una entidad patológica clasificada dentro del grupo de síndromes linfoproliferativos crónicos, con características propias que la hacen distinta a las demás neoplasias linfoides (1,2,3). Es una leucemia crónica que se caracteriza por tener un curso clínico indolente y prolongado, con esplenomegalia marcada, pancitopenia y presencia de células linfocíticas peludas características en sangre periférica, médula ósea y bazo (2,3,4).

El diagnóstico de esta enfermedad no siempre es fácil desde el punto de vista clínico-hematológico, debido a características propias de la enfermedad que impiden la extracción y visualización correctas de sus células, por lo que se necesita en la mayor parte de los casos la confirmación diagnóstica anatomopatológica complementada con técnicas especiales (3,4).

El objetivo de este trabajo es describir los aspectos morfológicos encontrados en esta patología desde el punto de vista anatomopatológico, tanto en su carácter citológico como histológico, con las diferentes técnicas especiales que se utilizan para diagnóstico actualmente en hematopatología en el Paraguay. Se hace mención también a los dos primeros casos reportados en el país con diagnóstico confirmado por microscopía electrónica en 1990, (5) uno de los cuales presenta biopsia medular de control en nuestro material actual.

Se describen aquí además de la microscopía electrónica, otras técnicas especiales distintas, que se utilizan actualmente en el Paraguay para el diagnóstico de esta enfermedad, (6) en diferentes materiales de estudio, principalmente biopsias en médula ósea, aspirados e improntas medulares, sangre periférica, esplenectomías y cuñas de hígado.

Por otro lado, se correlacionan los hallazgos morfológicos con los datos clínicos, laboratoriales y hematológicos, esquemas terapéuticos utilizados, respuesta y evolución de los pacientes.

En este trabajo se pone de manifiesto la importancia que tiene la anatomía patológica y sus técnicas especiales en hematopatología, especialmente la biopsia de médula ósea, para llegar al diagnóstico final de certeza, en este caso, de la leucemia a células peludas. Por medio de ella es posible evidenciar cambios y alteraciones morfológicas tanto celulares como tisulares que en primer lugar confirman el diagnóstico, en segundo lugar analizan los criterios para el pronóstico y en tercer lugar evalúan la respuesta terapéutica de estos pacientes.

## **Revisión bibliográfica:**

### **\* Generalidades:**

Esta enfermedad fue descrita por primera vez por Bouroncle, Wiseman y Doan en 1958 como una reticuloendoteliosis leucémica (7) y luego, seis años más tarde, fue reconocida con el nombre de leucemia a células peludas por Schreck y Donnelly, (8) nombre que conserva en la actualidad. Su nombre de tricoleucemia o de células peludas se debe a la morfología característica encontrada en sus células, las cuales, presentan proyecciones o prolongaciones citoplasmáticas múltiples, formas que se han comparado a pelusas, pelos o cabellos, del griego "tricos" pelo o cabello (3,4,9).

Actualmente esta enfermedad se halla clasificada dentro del grupo de neoplasias linfoides de células B maduras (periféricas) de la clasificación de tumores hematopoyéticos y linfoides de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (10), también considerada como Síndrome linfoproliferativo crónico de células B (11), o sea proceso neoplásico linfoproliferativo primariamente leucémico y por lo tanto con compromiso de sangre periférica y médula ósea. Se la distingue de los linfomas leucemizados porque en éstos la expresión leucémica aparece secundariamente a la presencia del tumor linfoide sólido ganglionar (12). Se la considera además, crónica o madura porque en general su curso clínico es prolongado, indolente y se origina en linfocitos pequeños maduros, de inmunofenotipo B, para distinguirla de las formas leucémicas agudas, inmaduras o blásticas (13).

Entre sus manifestaciones clínicas se encuentran la pancitopenia, esplenomegalia y presencia de linfocitos peludos característicos en sangre periférica, médula ósea y bazo. Es una enfermedad rara, poco frecuente con una incidencia de tres casos por millón de habitantes por año, reconociéndose en los Estados Unidos unos 600 casos nuevos por año, que corresponden sólo a un 2% de todas las leucemias (3,9).

### **Reseña histórica de las tricoleucemias en el Paraguay:**

Con base en los datos encontrados en nuestra literatura, comunicaciones personales y los casos de este trabajo se puede referir que entre los primeros casos diagnosticados y reportados en nuestro país figuran dos pacientes paraguayos de sexo masculino de 72 y 43 años de edad cuya confirmación diagnóstica fue realizada por estudios ultraestructurales de microscopía electrónica de transmisión en el Departamento de Patología del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud por la Prof. Dra. Elena Kasamatsu en el año 1989 y reportados por el Prof. Dr. Alejandro Arce Queirolo y colaboradores en 1990 (5).

En el período de tiempo de 1997 hasta 2002 se confirmaron otros 7 casos de leucemia a células peludas por biopsia de médula ósea en estudio conjunto con frotis de sangre periférica y aspirados e improntas medulares incluidos en este trabajo. Esto se realizó después de la creación en 1997 de la Sección de Patología Hematológica del Departamento de Patología en este Instituto para el estudio diagnóstico y la investigación de las patologías del tejido hematopoyético y linfoide con diversas técnicas especiales utilizadas para el diagnóstico de estas patologías (6).

No hay datos registrados ni reportes de casos de leucemias a células peludas entre 1990 y 1997, pero comunicaciones personales con los hematólogos Prof. Dr. Alfredo Boccia y Dr. José Ferreira Nizza citan la existencia de 3 casos más de tricoleucemia en el país.

### **Diagnóstico clínico, laboratorial y hematológico:**

La edad media en que aparece la enfermedad es 54 años con rangos de edad entre los 20 y 80 años, preferentemente en el sexo masculino con una relación hombre-mujer de 4 a 1 (3).

El curso clínico es crónico como en los otros procesos linfoproliferativos no hodgkinianos maduros anteriormente considerados de bajo grado (14, 15), con citopenias moderadas a severas, complicadas con fatiga (anemia), infecciones (leucopenia granulocítica y monocítica) o hemorragias (trombocitopenia). Presenta organomegalias como esplenomegalia en casi un 80%, hepatomegalia en un 40% y adenopatías periféricas mayores a 2 cm en sólo 5 a 10% de los pacientes. Una minoría de pacientes se presenta asintomática en el momento del diagnóstico o acompañados de otras enfermedades, como las de origen autoinmune entre las que se citan las artritis y las vasculitis (3).

Laboratorialmente se observa pancitopenia o combinaciones de citopenias en por lo menos la mitad de pacientes, con anemia normocítica normocrómica (85% de pacientes), trombocitopenia (80-90% de pacientes) y neutropenia en el 75% de pacientes. Siempre se acompaña de monocitopenia sobre todo en los casos clásicos, lo que se considera como un factor común de la enfermedad, por lo que se debe proceder con cuidado en el diagnóstico de pacientes con número normal o aumentado de monocitos en sangre. Los linfocitos presentan número normal y en raras ocasiones se observa leucocitosis con linfocitosis (3).

La sobrevivencia media de estos pacientes sin tratamiento instaurado es de 2 a 5 años (3,12).

El frotis de sangre periférica se presenta generalmente leucopénico, con presencia de escasas células con morfología diagnóstica que pasan desapercibidas ante la mayoría de los observadores sospechándose el diagnóstico en el mejor de los casos. El aspirado medular generalmente se presenta en forma de punctio sicca (punción seca) sin ninguna o con pocas células para evaluación en los extendidos debido a la gran fibrosis reticulínica acompañante en la médula ósea (1,3,9).

### **Diagnóstico anatomopatológico:**

#### **A. Estudio citológico:**

1. Frotis de sangre periférica: en el 90% de los pacientes es leucopénico con presencia de escasas células de morfología característica con la tinción de Wright o de May Grünwald Giemsa. Estas corresponden a linfocitos pequeños de 10 a 20  $\mu$ m con núcleo redondo, ovalado, reniforme o convoluto generalmente de localización excéntrica. La cromatina es punteada o granular a diferencia del linfocito normal con cromatina condensada. El nucleolo es apenas visible o está ausente. El citoplasma es claro, pálido, presenta aspecto vellosos característico o en forma de pelusas con borde celular irregular, de límites imprecisos no nítidos. Ocasionalmente se pueden presentar gránulos o raramente inclusiones con aspecto tipo Rod en el citoplasma, que representan al complejo ribosómico-lamelar encontrado en estudios ultraestructurales (1,3).

2. Extendidos de médula ósea: Se presentan como punciones aspirativas secas sin células o con escasas células de difícil evaluación morfológica por lo que no constituye una ayuda diagnóstica en la mayor parte de los casos (1,3).

#### **B. Estudio histológico:**

1. Biopsia de médula ósea: El examen biopsico de la médula ósea es la piedra angular del diagnóstico, debido a la insuficiencia del material obtenido en la mayoría de los aspirados medulares. La biopsia de médula ósea está indicada para establecer un diagnóstico definitivo y constituye actualmente el espécimen inicial a estudiar ante la sospecha clínica. Generalmente es normo o hiper celular y presenta patrón de infiltración intersticial multifocal, en parches o difuso por las células linfocíticas de aspecto característico. A bajo aumento, estas células presentan amplio citoplasma en forma de halo claro rodeando al núcleo de cada una de las células, dándole la apariencia de separación entre cada una de ellas. A mayor aumento se observa un núcleo ovalado, indentado, reniforme o bilobulado sin nucleolo evidente. Las figuras mitóticas están ausentes o raramente son vistas. Se acompaña de infiltrado linfoplasmocitario y mastocítico a veces prominente. La hematopoyesis restante puede estar severamente reducida, especialmente la línea granulocítica y en menor grado la eritroblástica y megacariocítica dependiendo del grado de infiltración medular. La fibrosis reticulínica está difusamente aumentada rodeando a las células neoplásicas, lo que explica el origen de los aspirados secos y la dificultad de la observación morfológica en ellos debido al traumatismo y fragmentación citoplásmicas por arrancamiento de las prolongaciones celulares en una médula fibrosada a la punción aspirativa. No se observa fibrosis colágena (16,17).

2. Bazo: Las esplenectomías pueden pesar entre 250 a 4600 gramos con un promedio de 1300 g, con superficie de corte macroscópicamente roja carnosa homogénea. Microscópicamente se observa infiltración difusa de la pulpa roja con atrofia y desaparición de la pulpa blanca por células con aspecto similar al encontrado en las biopsias de médula ósea. Generalmente se encuentran evidencias de hematopoyesis extramedular (3).

3. Hígado: En especímenes autópsicos se encontraron pesos de 1600 a 4000 g con promedios de 2600 g. Ocasionalmente se pueden encontrar nódulos de infiltración al aspecto macroscópico. Microscópicamente se observa infiltración por las células características de la tricoleucemia con patrón de distribución de tipo sinusoidal y portal, asociada a fibrosis (3).

4. Ganglios linfáticos: Pueden estar totalmente o más comúnmente parcialmente infiltrados por tricoleucocitos, generalmente en la zona paracortical rodeando a los folículos o en la zona medular y la infiltración se puede inclusive extender hasta fuera de la cápsula del ganglio en el tejido periganglionar (3).

5. Otros tejidos: Generalmente son hallazgos de autopsias e incluyen infiltraciones de tejidos como riñones, colon, estómago, miocardio, meninges, suprarrenales, páncreas, tejido conectivo y adiposo, a veces en el pulmón en donde generalmente se observan complicaciones infecciosas y raramente en la piel, en donde se distribuye en la dermis reticular alrededor de los vasos sanguíneos y de los anexos. Estas infiltraciones raramente son sintomáticas durante la vida del paciente (3).

### **C. Estudio citoquímico:**

Lo más importante desde el punto de vista citoquímico constituye la reacción enzimática de la fosfatasa ácida con actividad resistente a la inhibición con el ácido tartárico (fosfatasa ácida tartrato resistente positiva). La positividad de esta reacción se evidencia mediante la actividad celular que reside en la isoenzima 5 de estas células, una de las siete isoenzimas de la fosfatasa ácida que se encuentra en los leucocitos humanos. Esta reacción se realiza principalmente en materiales como frotis de sangre periférica, aspirados e improntas medulares, esplénicas o de otros tejidos. La reacción es marcadamente positiva en el 99% de los casos de pacientes con leucemia a células peludas sin tratamiento, en forma difusa a multigranular gruesa. No siendo patognomónica de la enfermedad, se puede encontrar también una reacción positiva, generalmente puntiforme en otras patologías linfoproliferativas como la leucemia prolinfocítica y linfomas no Hodgkin de bajo grado en fase leucémica (16,18,19).

Otras reacciones citoquímicas comprenden la tinción de mieloperoxidasa y el negro Sudán con reacción negativa; alguna positividad de patrón granular fino al ácido periódico de Schiff; reacción positiva a la B-glucuronidasa y a las esterasas no específicas como la alfa naftil acetato y butirato esterasa. El score de fosfatasa alcalina neutrofílica generalmente está elevado en estos pacientes y se normaliza con la respuesta positiva al tratamiento, considerándose ésta reacción como un marcador de la actividad no invasiva de la enfermedad (16,19,20,21,22).

### **D. Estudio inmunofenotípico:**

Se la considera como una neoplasia linfoide de células B, aunque se reportan ocasionales y raros casos de inmunofenotipo T (23,24,27). El inmunofenotipo celular comúnmente encontrado como neoplasia B en tejidos o citologías expresa positividad para marcadores pan-B CD19, CD20, CD22 y CD79a, así como para la inmunoglobulina de superficie IgS (M+/-D, G o A), el CD11c, CD25, FMC7, CD103 y la anti FATR. Estos últimos marcadores utilizados en paneles combinados, son los más útiles para distinguir a la tricoleucemia de otras leucemias de células B. El CD5 y el CD23 son característicamente negativos y el CD10 ocasionalmente presenta una reacción positiva. El marcador anti-HC1 es positivo en el 40 a 70% de casos así como también en algunas células epiteliales y endoteliales; el anti-HC2 es positivo en el 80 a 100% de casos, pero reacciona también con otros procesos linfoproliferativos B, con algunas leucemias mieloides y con los linfocitos T infectados con HTLV-1. El DBA.44, aunque no es específico, se utiliza también en cortes de parafina de médula ósea descalcificada, en correlación con el aspecto morfológico celular de la tricoleucemia en casos de enfermedad inicial o residual mínima. Aunque existe gran variedad de marcadores, no existe un marcador específico para la tricoleucemia, por lo que se recomienda utilizar paneles de marcadores combinados además de la fosfatasa ácida tartrato resistente (FATR) correlacionando siempre con el aspecto morfológico para la confirmación diagnóstica (3, 25).

### **E. Estudio de microscopía electrónica:**

Las células tienen abundante citoplasma, cociente núcleo/ citoplasma bajo, núcleos con condensación cromatínica marginal. A veces se puede ver un pequeño nucleolo. El borde citoplásmico se caracteriza por presentar numerosas proyecciones digitiformes, a veces muy largas, con una superficie intensamente vellosa. El aparato de Golgi está moderadamente desarrollado. Las mitocondrias son numerosas, ovales y de gran tamaño. En la región paranuclear se pueden ver microfibrillas. Aparte de las prolongaciones citoplásmicas, otro rasgo ultraestructural típico de estas células es la presencia en la mayoría de los casos de unas estructuras llamadas cuerpos ribosómico-lamelares. Estas están formadas por túbulos paralelos o lamelares y gránulos de tipo ribosómico que se disponen en una única fila en el espacio interlamelar. Según que el corte sea transversal, oblicuo o longitudinal estos presentan una forma circular, elíptica o paralela, respectivamente. Estos cuerpos ribosómico-lamelares no se encuentran en todos los casos ni en todas las células y es menos frecuente encontrarlos en el bazo. No son exclusivos por lo tanto de la leucemia a células peludas, sino que también se han encontrado aunque menos frecuentemente y en menor número en leucemias linfocíticas crónicas, linfomas centrolímbicos leucemizados, linfomas de Hodgkin, leucemia monoblástica aguda, macroglobulinemia de Waldenström, mieloma múltiple, plasmocitos reactivos, síndrome de Sézary y en algunas neoplasias epiteliales como paragangliomas, insulinomas y adenomas suprarrenales. La formas variantes de esta enfermedad así como el linfoma esplénico con células vellosas circulantes carecen de complejos ribosómico-lamelares.

#### **\* Citogenética:**

Este estudio está muy limitado debido al bajo índice de proliferación de los tricoleucocitos no encontrándose casi figuras mitóticas. No se describen anomalías específicas (3).

#### **\* Biología molecular:**

Aquí se encuentran alteraciones del rearrreglo genético con patrón de alteración clonal tanto para la cadena pesada como para la cadena liviana de las inmunoglobulinas lo que confirma la naturaleza de células B de esta patología. No se reportan alteraciones moleculares genéticas patognomónicas de esta lesión (3).

#### **\* Estudios virológicos:**

Se citan en la literatura dos pacientes reportados como leucemia a células peludas atípica de células T asociados a infección por retrovirus humano linfotrópico de células T de tipo 2 (HTLV-2). Con estudios genotípicos se sabe actualmente que el genoma de este virus no tiene asociación con la leucemia a células peludas de células B clásica y que se presenta en la leucemia de células T CD8<sup>+</sup>. Tampoco se ha confirmado la presencia del genoma del virus de Epstein-Barr en las células peludas (3).

#### **\*Clasificación y diagnósticos diferenciales:**

La leucemia a células peludas presenta una forma clásica ya descrita y otras formas variantes que son necesarias reconocer por la implicancia terapéutica que tienen, ya que presentan características clínicas, morfológicas, inmunofenotípicas y respuesta terapéutica diferentes. Así tenemos aparte de la leucemia a células peludas clásica, una variante prolinfocítica, una variante blástica y una variante japonesa.

1. Variante prolinfocítica: Conocida como tipo II o Leucemia a células peludas-v, presenta el mismo cuadro clínico que la clásica con esplenomegalia prominente, linfadenopatía mínima, pero con recuento elevado de glóbulos blancos, sin neutropenia ni monocitopenia. El aspecto morfológico e inmunohistoquímico es intermedio entre la leucemia a células peludas clásica y la leucemia prolinfocítica. Sus células tienen prolongaciones abundantes pero el núcleo es central, con nucleolo prominente y citoplasma amplio más basofílico. No se observan complejos ribosómico-lamelares. El aspirado medular se obtiene fácilmente preservándose la hematopoyesis. Infiltra el bazo también en la pulpa roja. La fosfatasa ácida tartrato resistente es positiva pero con tendencia a localizarse hacia un polo de las células. Presentan negatividad para los marcadores Hc2 y CD25 y no responden al tratamiento con interferon, 2'-deoxycoformicina y al 2-CdA 8 (3).
2. Variante blástica: Se presenta generalmente en pacientes viejos con células neoplásicas B con prolongaciones vellosas, tartrato resistente positivas de aspecto blástico con cromatina fina y nucleolo prominente. Infiltra la pulpa roja del bazo, presenta adenopatías prominentes y sus células presentan gránulos citoplásmicos con eritrofagocitosis. Algunos autores creen que se trata de transformación blástica de una clásica común con pérdida de los receptores al marcador CD11c y CD25 (3).
3. Variante japonesa: Se presenta en pacientes japoneses con recuento elevado de glóbulos blancos, sin neutropenia. Las proyecciones citoplásmicas son menores y la fosfatasa ácida tartrato resistente es menos positiva que en los casos occidentales clásicos. Es positiva al CD11c, CD20 y CD22, pero negativa al CD25. Algunos reportes presentan expresión frecuente de CD5 y CD10. No responden bien al interferón como los casos occidentales (3).
4. Otros diagnósticos diferenciales: Incluyen todos los procesos linfoproliferativos crónicos primariamente leucémicos como la leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia prolinfocítica (PLL), el linfoma esplénico de la zona marginal con células vellosas y los secundariamente leucémicos o linfomas no hodgkinianos en fase leucémica principalmente el folicular, el de células del manto y el linfoplasmacítico generalmente referido a la macroglobulinemia de Waldeström (3,4,11,12,16).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Este es un estudio observacional descriptivo de casos consecutivos de 7 casos de leucemias a células peludas encontradas entre los 53 pacientes paraguayos que consultaron por síndrome linfoproliferativo crónico en los principales centros médicos asistenciales del país. Entre ellos, las tres Cátedras de Clínica Médica del Hospital de Clínicas de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNA, el Instituto de Previsión Social, el Instituto Nacional del Cáncer y del Quemado, el Hospital Central de las Fuerzas Armadas, el Centro de Hematología y Hemoterapia y el Hospital Nacional de Itauguá del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Los materiales citológicos y biopsicos de estos pacientes fueron analizados en la Sección de Patología Hematológica del Departamento de Patología del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS-UNA) en un período de tiempo de seis años, desde su creación en 1997 hasta el año 2002.

En este lapso de tiempo analizando solamente casos de pacientes con síndrome linfoproliferativo crónico, se estudiaron 55 biopsias de médula ósea, 12 extendidos de aspirados medulares y 19 frotis de sangre periférica, así como una esplenectomía con cuña de hígado.

Técnicamente se utilizaron para este estudio, además de la rutina hematológica como el May Grünwald Giemsa (MGG) para las citologías y la Hematoxilina-Eosina (HE) para cortes histológicos, otras técnicas especiales en hematopatología como las técnicas de citoquímica enzimática en extendidos e improntas hematológicas, así como estas mismas técnicas adaptadas al material incluido en parafina en cortes histológicos, introducidas como metodología innovadora para el estudio de material hematopoyético y linfoide en el país desde 1997 en este departamento.<sup>(6, 17, 19, 22)</sup> Entre ellas se encuentran la naftol AS-D cloroacetato esterasa (NACE) para identificación de línea granulocítica, la fosfatasa ácida tartrato resistente (FATR) para identificación de los tricoleucocitos, la tinción argéntica para fibras reticulínicas de Gomori y el azul de Prusia de Perls para evaluar la cantidad de hierro celular de depósito restante.

Los estudios inmunohistoquímicos se realizaron según la técnica del Sistema Streptoavidina-Biotina, conjugado con peroxidasa (LSAB 2 System, HRP, DAKO Carpintería California ca) con un panel de marcadores para linfomas no Hodgkin de bajo grado que comprende anticuerpos monoclonales anti CD20 (L26), CD3 y CD5 de DAKO, en cortes de parafina. La positividad de las reacciones para establecer el inmunofenotipo de las lesiones fue evaluada por microscopía óptica.

Los materiales correspondientes a extracciones de sangre periférica que se consiguieron, fueron procesados y utilizados para su estudio morfológico con el microscopio electrónico de barrido y para cortes semi-finos realizados por primera vez en materiales hematológicos en el país, además de los cortes ultra-finos para microscopía electrónica de transmisión. Para ello se extrajeron 5cc de sangre periférica con heparina como anticoagulante, que se centrifugaron y se prefijaron en Glutaraldehído al 2,5% en cacodilate buffer. La post-fijación se realizó con tetra-óxido de Osmio al 1%, la deshidratación con diferentes graduaciones de alcoholes y se incluyó el material en resina (Epon 812). El bloque resultante fue rebajado con navaja para los cortes semi-finos o de microscopía óptica de alta resolución (MOAR) con 0,5 micras de espesor y coloreados con azul de Toluidina. Para los cortes ultrafinos de microscopía electrónica de transmisión y de barrido se utilizó el ultramicrotomo (Bromma 2088, LKB) con cortes de 0.5-1nm. Estas secciones fueron fijadas en grillas y coloreadas con solución de uranil acetato al 4% y citrato de plata y para el barrido se ionizó el material con oro paladio. La observación se realizó con los microscopios electrónicos de transmisión JEOL, JEM 100 y de barrido JEOL, JSM 5410 de procedencia japonesa.

Se revisaron también los materiales de los dos primeros casos reportados como leucemias a células peludas en el Paraguay diagnosticados por microscopía electrónica de transmisión en el año 1989 en este departamento por la Prof. Dra. Elena Kasamatsu (5), uno de los cuales presentó biopsia medular de control en nuestro material actual a los 12 años del diagnóstico inicial. Se excluyeron para este estudio los materiales correspondientes a pacientes con leucemias agudas linfoblásticas.

## RESULTADOS

De un total de 53 casos de procesos linfoproliferativos crónicos estudiados en biopsias de médula ósea, se encontraron 27 casos correspondientes a síndromes linfoproliferativos crónicos primariamente leucémicos, de los cuales 7 fueron leucemias a células peludas. Los 26 casos restantes correspondieron a infiltraciones secundarias a la médula ósea principalmente por linfomas no Hodgkin y en algunos escasos casos por linfomas de Hodgkin (Tabla 1). No se incluyeron aquí a las leucemias linfoblásticas agudas.

Analizando entre estas enfermedades a las 7 leucemias a células peludas que se diagnosticaron en este período de tiempo de seis años, vemos que éstas correspondieron a un 25,9% de las leucemias linfoides crónicas en el grupo de casos estudiados como se observa en la siguiente tabla (Tabla 2).

**Tabla 1. PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS EN BIOPSIAS DE MÉDULA ÓSEA**  
Sección de Hematopatología – IICS – UNA  
1997 – 2002 / (n = 53)

Patología	casos (n)	frecuencia (%)
Infiltración por linfomas no Hodgkin	22	41,6
Infiltración por linfomas de Hodgkin	4	7,6
Leucemia linfocítica crónica	17	32,2
Leucemia a células peludas	7	13,2
Leucemia prolinfocítica T	1	1,8
Síndrome de Sézary	1	1,8
Leucemia/ linfoma T del adulto (HTLV-1+)	1	1,8

IICS. UNA. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Asunción.

**Tabla 2. LEUCEMIAS CRÓNICAS CON BIOPSIA DE MÉDULA ÓSEA**  
Sección de Hematopatología – IICS – UNA  
1997 – 2002 / (n = 27)

Patología	casos (n)	frecuencia (%)
Leucemia linfocítica crónica	17	62,9
Leucemia a células peludas	7	25,9
Leucemia prolinfocítica-T	1	3,7
Síndrome de Sézary	1	3,7
Leucemia/ Linfoma T del Adulto	1	3,7

IICS. UNA. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud.

Llamativamente el diagnóstico se realizó con intervalos de tiempo de dos años, entre la aparición de casos por año (Tabla 3).

**Tabla 3. LEUCEMIA A CÉLULAS PELUDAS**  
Sección de Hematopatología – IICS – UNA  
1997 – 2002 / (n = 7)

Año de presentación	número de casos
1997	0
1998	1
1999	0
2000	3
2001	0
2002	3

IICS. UNA. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud.

### 1. Edad y sexo

Todos los pacientes eran de sexo masculino con edades comprendidas entre 37 a 55 años con una media de 46 años.

### 2. Cuadro clínico

Todos los pacientes presentaron fatiga, decaimiento del estado general y anemia en el momento del diagnóstico y al examen físico se constató esplenomegalia en 5 pacientes (71,4%), hepatomegalia en 4 pacientes (57,1%), ninguno presentó adenomegalias (0%). (Anexos: Tabla 5).

### 3. Laboratorio y frotis de sangre periférica

En sangre se encontraron pancitopenia (anemia, leucopenia y trombocitopenia) en 5 de 7 pacientes (71,4%). Dos pacientes presentaron bicitopenia (anemia y trombocitopenia) con leucocitos igual a 8700 y 9700 glóbulos blancos x mm<sup>3</sup>. Todos presentaron monocitopenia. En el frotis de sangre periférica se observaron células sospechosas de tricoleucemia en dos pacientes correspondientes al 28,5% de los casos, en uno de ellos sospechándose el diagnóstico clínico por su aspecto llamativo en sangre. En los 5 pacientes restantes no se identificaron tricoleucocitos al MGG por examen hematológico del frotis sanguíneo (Anexos: Tabla 5).

### 4. Aspirado medular

El aspirado medular fue de difícil extracción con punción y aspiración seca en todos los pacientes, sospechándose también solo en dos casos (28,5% de casos) la presencia de tricoleucocitos en los extendidos del aspirado medular al MGG (Anexos: Tabla 5).

### 5. Anatomía patológica

En todos los casos se indicó la biopsia de médula ósea, para diagnóstico anatomopatológico en los casos no sospechados y para confirmación diagnóstica en los casos clínicamente sospechosos. El diagnóstico clínico presuntivo de tricoleucemia, en el momento de realizarse la biopsia medular, se realizó en el 42,8% de los casos. En el resto se incluyeron otras patologías como diagnóstico clínico presuntivo como la aplasia medular, el síndrome mielodisplásico y el linfoma esplénico de células vellosas (Tabla 4).

**Tabla 4. LEUCEMIA A CÉLULAS PELUDAS**  
**Sección de Hematopatología – IICS – UNA**  
**1997 – 2002 / ( n = 7 )**

Diagnóstico clínico presuntivo	número de casos
Aplasia medular	1
Aplasia medular vs. mielodisplasia	2
Tricoleucemia vs. linfoma esplénico cél. vellosas	1
Tricoleucemia	3

*IICS. UNA. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud.*

## 6. Histología

En los cortes histológicos de las biopsias de médula ósea coloreados con Hematoxilina y Eosina (HE) y con Giemsa se observó una infiltración intersticial y difusa del tejido hematopoyético por un proceso linfoproliferativo de células pequeñas y maduras, con núcleo redondeado a ovalado e incluso reniforme, de cromatina condensada ligeramente irregular, sin nucleolo ni figuras mitóticas evidentes. Característicamente estas células presentaban citoplasma claro alrededor, como un halo claro que daba la apariencia de un espacio de separación entre ellas (Anexo - Figura 1). Se notaron además diferentes grados de hematopoyesis trilinear (eritroblástica y megacariocítica principalmente y secundariamente granulocítica) restante entre el infiltrado linfoide neoplásico. Esto se evidenció mejor con la naftol AS-D cloroacetato esterasa (Anexos - Figura 2), que se acompañaba de una depleción marcada de hierro celular de depósito con el azul de Prusia de Perls (Anexo - Figura 3) y de fibrosis reticulínica moderada difusa grado 2 a 3 con la tinción argéntica de Gomori (Anexo - Figura 4). No se observó fibrosis colágena en ningún caso.

Los cortes histológicos del bazo, de 1200g de peso, superficie externa y de corte roja vinosa homogénea elástica, se colorearon con HE y Giemsa observándose una infiltración difusa de la pulpa roja por células linfoides que presentaban las mismas características que en la médula ósea, con desaparición de la pulpa blanca, congestión e ingurgitación de sinusoides esplénicos con hematíes y focos de hematopoyesis extramedular (Anexo - Figura 5).

En los cortes histológicos de la cuña de hígado se observó infiltración marcada de células neoplásicas linfoides tricoleucocíticas con características semejantes a las anteriormente descritas localizadas en los espacios portales y en la región subcapsular (Anexo - Figura 6). El resto del tejido hepático no presentaba alteración de la arquitectura ni cambios patológicos llamativos.

## 7. Citología

En los frotis de sangre periférica coloreados con May Grünwald Giemsa se observó leucopenia marcada con presencia de tricoleucocitos con citoplasma característico peludo, deflecado, de bordes irregulares no nítidos. Otras células presentaban escaso citoplasma apenas irregular, cromatina condensada, la mayoría de las veces con cierta irregularidad y sin nucleolo visible (Anexo - Figura 7).

Los extendidos de aspirados medulares coloreados con MGG presentaban escaso material celular tanto hematopoyético como linfocitario, sin grumos, algunos con presencia de linfocitos de aspecto tricoleucémico similar al encontrado en sangre periférica.

En las improntas medulares se observó mayor cantidad de células tricoleucémicas características que en el aspirado medular. Se realizaron además improntas del bazo en que las que se observó células linfoides maduras pequeñas no neoplásicas mezcladas con células linfoides un poco mayores de aspecto tricoleucocítico con citoplasma amplio no tan peludo pero de límites imprecisos, además de macrófagos y células dispersas de hematopoyesis extramedular como eritroblastos, precursores granulocíticos y megacariocitos.

## 8. Cito-histoquímica enzimática

Todas las células linfoides presentaron reacción negativa obligada al naftol AS-D cloroacetato esterasa y se observó reacción positiva marcada de tipo difusa preferentemente, así como multigranular de color rojo fuerte a la fosfatasa ácida tartrato resistente en tricoleucocitos de sangre periférica, médula ósea, inclusive bazo e hígado (Anexo - Figuras 5, 6, 8 y 9).

## 9. Cortes semi-finos (MOAR)

En los cortes semi-finos las células linfoideas presentaron núcleo redondo a ovalado con cromatina irregular de condensación dispuesta hacia la periferia con espacios claros centrales, algunas con nucleolo evidente. El citoplasma amplio, presentó coloración clara grisácea, sin presencia de gránulos, de límites imprecisos, no nítidos, con aspecto deflecado, como encendido en llamas. Estas características se presentaban en diferentes grados en los tricoleucocitos estudiados que se diferenciaban bien de los linfocitos normales y de los otros leucocitos granulares que también se encontraron en el centrifugado sanguíneo (Anexo - Figura 10).

## 10. Microscopía electrónica de transmisión y barrido

Con el microscopio electrónico de barrido en sangre periférica se observó el aspecto externo de superficie de los tricoleucocitos. La superficie celular en general fue irregular con prolongaciones citoplasmáticas de tamaño y longitud variable, algunas bien largas, de base ancha, afinándose luego y terminando en punta fina, disponiéndose en forma radiada regular o irregularmente en toda la superficie celular (Anexo - Figuras 11 y 12). En los cortes ultramicroscópicos de transmisión se notó la presencia de variable cantidad de linfocitos con estructuras ribosómico-lamelares y prolongaciones citoplásmicas vellosas (Anexo - Figura 13).

## 11. Inmunofenotipo

En los cortes de parafina se observó una reacción positiva marcada de membrana para el marcador de células B CD20 (Anexo - Figura 14) en la infiltración tricoleucémica difusa e intersticial de la médula ósea y reacción negativa a los marcadores de células T CD3 y CD5 (Anexo - Figuras 15 y 16).

## 12. Material de biopsia de médula ósea de control

En dos pacientes se realizó biopsias medulares de control, una de ellas post-tratamiento con 2-CdA un año después y otra post-tratamiento con interferón alfa 12 años después. Este paciente fue diagnosticado en el año 1989 y reportado como uno de los primeros casos en nuestro país en 1990 (5). En estos materiales se encontraron trabéculas óseas de conformación normal, tejido adiposo y hematopoyético normocelular con presencia de células de las tres series sin alteraciones significativas. No se observó proceso neoplásico linfóide infiltrativo ni fibrosis reticulínica medular restante.

## 13. Tratamiento realizado y evolución de los pacientes

De los siete pacientes actualmente diagnosticados como leucemia a células peludas en esta serie desde 1997 a 2002, tres de ellos fueron tratados con Leustatin (cladribina) de Janssen-Cilag, que es un nucleósido de purina clorado, 2-clorodesoxiadenisina (2-CdA), droga utilizada actualmente con alta actividad para el tratamiento de este tipo de leucemia, con un solo ciclo de infusión intravenosa única continua por 7 días. Estos pacientes presentaron controles posteriores de médula ósea y sangre sin tricoleucocitos, estando la enfermedad en remisión completa en el momento de este estudio. Un paciente se halla en tratamiento con Interferón alfa y se presenta hematológicamente controlado, sin tricoleucocitos presentes en el momento. En otro paciente se realizó solamente terapia de soporte y esplenectomía como tratamiento por falta de medios para conseguir las drogas adecuadas, no regresó para sus controles. En un paciente no se realizó tratamiento alguno por la falta de medios económicos encontrándose en mal estado en su último control a dos años del diagnóstico y el otro paciente salió del país para su tratamiento y no se tienen datos de él (Anexo - Tabla 5).

En cuanto a los dos primeros pacientes diagnosticados en 1989 y reportados en 1990 el paciente más joven, actualmente con 55 años, recibió en aquella época un primer esquema de tratamiento quimioterápico por un diagnóstico inicial compatible con infiltración por leucemia linfocítica crónica o linfoma no Hodgkin bien diferenciado difuso sin hallarse mejoras ni remisión de la enfermedad. Luego de la confirmación diagnóstica de tricoleucemia por microscopía electrónica fue tratado con Interferón alfa por un año y esplenectomizado. Actualmente, después de 12 años del diagnóstico recibimos de este paciente una biopsia medular ósea de control que no presenta infiltración neoplásica. Actualmente se encuentra vivo y curado. Al otro paciente se le había practicado la esplenectomía después de la cual regresó a su pueblo sin obtenerse más datos de él hasta la actualidad.

Tabla 5. PACIENTES CON LEUCEMIA A CÉLULAS PELUDAS. Sección de Hematopatología – IICS – UNA. 1997 – 2002 / ( n = 7 )

Caso	Sexo	Edad	Procedencia	Esplenomegalia	Hepatomegalia	Adenomegalia	Sangre periférica	Aspirado medular	Diagnóstico clínico	Tratamiento y Evolución
1	M	39 años	Asunción	+	-	-	pancitopenia con 1250 GB monocitos 0%	seco con linfocitos	Aplasia medular	2-CdA en remisión completa
2	M	42 años	San Estanislao	+	+	-	pancitopenia con 500 GB monocitos 0%	seco	Tricoleucemia vs. linfoma esplénico de cél. Vellosas	salió del país
3	M	55 años	Pedro Juan Caballero	+	+	-	pancitopenia con 600 GB monocitos 0%	de difícil extracción con 45% de tricoleucocitos	Muy sugestivo de tricoleucemia	2-CdA en remisión completa
4	M	55 años	Itacurubi de la Cordillera	-	-	-	pancitopenia con 1800 GB monocitos 0%	seco	Aplasia medular vs. SMD	sin tratamiento en mal estado
5	M	50 años	Capiatá	+	+	-	pancitopenia con 1700 GB monocitos 0%	seco	Aplasia medular vs. SMD	esplenectomía sin controles
6	M	42 años	Isla Pucú	+	+	-	bicitopenia con 9700 GB monocitos 4%	seco	Sospechoso de tricoleucemia por sangre	Interferón alfa. En tratamiento
7	M	37 años	Mariano Roque Alonso	-	-	-	anemia con 8700 GB monocitos 0%	tricoleucoátos?	Tricoleucemia?	2-CdA en remisión

## DISCUSION

La leucemia a células peludas o tricoleucemia es una enfermedad que se presenta en adultos, con características clínico-patológicas propias que la diferencian de los otros síndromes linfoproliferativos crónicos (3,9). Estas diferencias están dadas tanto en sus aspectos clínicos, laboratoriales, hematológicos y anatómo-patológicos citológicos, histológicos, citohistoquímicos, inmunofenotípicos y ultraestructurales (3,4,9,10,16,26).

Es una enfermedad rara, de incidencia baja (3 casos/ millón de hab/año) (9), en nuestro servicio se presenta con una frecuencia de 7 casos en 6 años. Comparándola con series de otros servicios, vemos que la frecuencia es variable desde 11 casos en 12 años en el Servicio de Hematología del Hospital Clínico de Barcelona, España (29) a 8 casos en 20 años en un Servicio Hematológico de Túnez, África (30).

La edad media en nuestros casos fue de 46 años, presentándose la enfermedad en pacientes más jóvenes comparados a los rangos de 20 a 80 años y a la media de 54 años estipulados por la literatura, que si bien también afecta a mujeres es predominante en varones (1,3,9). Nuestros casos fueron todos del sexo masculino, tanto de procedencia urbana como rural sin diferencias en las condiciones socioeconómicas de los pacientes.

El cuadro clínico en la mayor parte de nuestros casos (71%=5/7 casos) también presentó las características habituales encontradas en las formas clásicas con pancitopenia, esplenomegalia y monocitopenia constante, sin adenopatías (3,4,9). Cabe destacar en este punto que en 2 pacientes no se observó esplenomegalia y en uno fue muy pequeña (punta de bazo) la que asociada a la pancitopenia periférica y al aspirado seco marcadamente hipocelular, reportó un diagnóstico clínico presuntivo de aplasia medular o de síndrome mielodisplásico, no sospechándose de tricoleucemia en estos pacientes. Se indicó la biopsia de médula ósea para confirmación diagnóstica y esta demostró una infiltración difusa por leucemia a células peludas con presencia de fibrosis reticulínica evidente. Con técnicas especiales tanto citohistoquímicas como inmunohistoquímicas, se confirmaron luego encontrándose tricoleucocitos B, FATR positivos en médula ósea y en sangre periférica. Podemos recalcar aquí que entre los diagnósticos diferenciales clínicos planteados en pacientes con pancitopenia, sin o con organomegalias apenas insinuantes y punciones aspirativas medulares de difícil extracción o con muy escaso material, se encuentran tanto los síndromes aplásicos panmielopáticos, el grupo de síndromes mielodisplásicos así como los síndromes mieloproliferativos crónicos con esclerosis marcada (3,10,13). Todos estos procesos presentan características morfológicas distintas que se pueden evaluar y confirmar mediante la biopsia de médula ósea, la cual constituye una indicación precisa (1,12,16).

El rasgo más llamativo que condujo a nuestros pacientes a la consulta fue el decaimiento, la postración y la fatiga llamativas, complicaciones del estado anémico de estos pacientes y la presencia común de pancitopenia, antes que la esplenomegalia marcada citada como rasgo predominante en otros grupos de pacientes (29). La esplenomegalia marcada, cuando estaba presente, que fue en la mayoría de los casos, siempre se acompañó de hepatomegalia concomitante, excepto en aquel paciente con punta de bazo en el que inclusive se pensó en una aplasia medular debido al cuadro clínico llamativo. Desde el punto de vista histológico se demostró que al estado infiltrativo difuso marcado del bazo por la tricoleucemia le correspondía también una infiltración hepática marcada de localización portal y sub-capsular. El aspecto morfológico histológico encontrado en todos los casos tanto en médula ósea como en el bazo y en el hígado se presentó con las características de leucemia a células peludas de tipo clásico. No se han encontrado formas variantes en nuestro país. Citológicamente se puede comprobar que en las improntas medulares se encuentran más tricoleucocitos que en los extendidos del aspirado medular. Las improntas medulares se realizan inmediatamente después de la extracción del material deslizando el cilindro biopsico sobre la lámina de vidrio limpia antes de introducirlo en el líquido fijador. Las improntas que se pueden realizar se secan al aire y son útiles para estudios morfológicos, citoquímicos o inmunofenotípicos posteriores haciendo las veces del aspirado medular que no se puede extraer debido a la fibrosis presente. Por eso se recomienda su realización en forma rutinaria en el momento de extracción del cilindro óseo antes de introducirlo en el fijador. También en el material de esplenectomía, este procedimiento es de gran utilidad ya que aporta muchos datos sobre todo al estudio morfológico y citoquímico.

La tinción de la fosfatasa ácida tartrato resistente fue positiva de forma difusa y multigranular en los materiales citológicos de todos nuestros casos, constituyendo una constante de gran ayuda para la confirmación diagnóstica y para su diagnóstico diferencial con otros síndromes linfoproliferativos crónicos, con los linfomas leucemizados y especialmente con el linfoma marginal esplénico con células vellosas que característicamente presenta reacción negativa (16,17). Las demás patologías presentan reacción positiva no difusa, sino puntiforme como en la leucemia prolinfocítica, así como en los que se han encontrado en los linfomas no Hodgkin de tipo folicular, del manto y linfoplasmácico (17). Por lo tanto cabe recalcar aquí la importancia de esta coloración, que a pesar de no ser específica ni patognomónica de la enfermedad como lo citan algunos autores (3,29), es de gran ayuda asociada al aspecto morfológico y sobre todo al tipo de patrón de reacción positiva encontrada, difusa o multigranular para la tricoleucemia clásica (16,17,19,20).

Los cortes semi-finos resultan además útiles sobre todo para el examen de las características citoplásmicas de estas células, así como la microscopía electrónica de barrido que confirman la presencia de las prolongaciones citoplásmicas características de la enfermedad, sobre todo en los casos con artefactos o con escaso aspecto vellosos en los extendidos o de infiltraciones medulares intersticiales focales no extendidas aún o mínimas.

Constituye además un criterio morfológico más, útil para confirmar la enfermedad y establecer los diagnósticos diferenciales con los otros procesos linfoproliferativos crónicos.<sup>(26, 27)</sup> El inmunofenotipo positivo a los marcadores pan-B como el CD20 para comprobar el origen linfocítico B de la neoplasia que utilizamos de rutina en todo proceso linfoproliferativo en panel combinado con el CD3 y el CD5 para células T, si bien constituye un panel mínimo de marcadores utilizado para linfomas no hodgkinianos de bajo grado, es de gran ayuda y permite conjuntamente con los datos morfológicos y citohistoquímicos la confirmación diagnóstica, de origen celular y la diferenciación de las otras entidades correspondientes a este grupo de enfermedades en nuestro medio. Todos nuestros casos fueron CD20+, CD3- y CD5- lo que coinciden con los resultados citados en la literatura.<sup>(31)</sup> Si bien los estudios biópsicos para control evolutivo post-tratamiento son de gran ayuda,<sup>(1, 3, 16)</sup> éste solamente se realizó en uno de nuestros pacientes a los un año de iniciado el tratamiento no encontrándose infiltración neoplásica y en otro a los 12 años del diagnóstico de la enfermedad. Ambos pacientes se encuentran controlados y en muy buen estado sin enfermedad residual. En cuanto al tratamiento vemos que los pacientes tratados con 2-CdA (Leustatin cladribina) tuvieron una excelente respuesta con remisión total de la enfermedad. Constituye esta una droga de elección utilizada actualmente en el país para el tratamiento de la enfermedad, aunque por el costo y la dificultad para conseguirla no es accesible a todos los pacientes en nuestros hospitales, sobre todo a los de escasos recursos.

El diagnóstico de esta enfermedad al igual que muchas otras patologías en hematología deben diagnosticarse y sobre todo confirmarse con las diferentes técnicas especiales utilizadas actualmente en la hematopatología, inclusive de rutina en servicios de primer mundo.<sup>(3, 10, 16, 32)</sup> En nuestro país se cuentan con posibilidades de estudio con técnicas adecuadas y actualizadas desde 1997 que permiten llegar no solo a los diagnósticos de certeza, sino también a establecer los criterios pronósticos en las distintas enfermedades hematológicas así como evaluar su comportamiento después de la terapia indicada.

Cabe destacar aquí el papel de la biopsia de médula ósea sobre todo en el diagnóstico de los casos con aspirados secos, hipocelulares y de difícil evaluación morfológica por medios hematológicos solos (frotis de sangre periférica y aspirados medulares), como el caso de la leucemia a células peludas y de otras patologías, en que el estudio conjunto tanto de los parámetros citológicos, histológicos con técnicas especiales en médula ósea permiten una conclusión final acertada, no precisándose de esplenectomías o depender exclusivamente de la microscopía electrónica para la confirmación diagnóstica.

## CONCLUSIONES

La tricoleucemia es una enfermedad a tenerse en cuenta en el diagnóstico diferencial de los síndromes linfoproliferativos crónicos, encontrándose siete casos en seis años en Paraguay.

Se presenta en varones adultos con edad media de 46 años, todas en su forma clásica sin encontrarse formas variantes en esta serie, con excelente respuesta al tratamiento con 2-CdA (Leustatin cladribina).

La biopsia de médula ósea constituye una indicación precisa y es uno de los primeros estudios que se realizan actualmente ante un paciente con sospecha clínica de leucemia a células peludas.

El estudio de la biopsia de médula ósea complementariamente con el de los extendidos citológicos de sangre periférica y aspirados o improntas medulares analizados con técnicas especiales posibilitan y facilitan el diagnóstico de certeza en esta enfermedad.

## REFERENCIAS

1. San Miguel JI, Orfao A, López Borrascas PA. Síndromes linfoproliferativos crónicos con expresión hemoperiférica. Leucemia linfocítica crónica B y T. Leucemia prolinfocítica crónica. Tricoleucemia. Síndrome de Lézary. Hematología Clínica. Cuarta edición. Barcelona. España: Ediciones Doyma; 2001: 406-409.
2. Stein H, Lennert K, Feller A and Mason D. Immunohistological analysis of human lymphoma: correlation of histological and immunological categories. *Advances in Cancer Research* 1984; 42: 67-147
3. Bitter MA Hairy cell leukemia and related disorders. *neoplastic hematopathology*. New York. USA: Ediciones Williams & Wilkins. 2001, 41: 1531-1556.
4. Matutes E, Robinsod D. The ultrastructure of lymphoid cell. Second edition. London UK: Ed Churchill Livingstone. Medical Division of Longman Group UK Limited, 1991 5:127-167.
5. Arce Queirolo A, Argüello C, Kasamatsu E, Bellassai J y Russomando G. Leucemia a células peludas (Tricoleucemia): Consideraciones sobre los primeros casos descritos en el Paraguay. *Anales de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Asunción* 1990; Vol 22 (Nºs 1-2): 295-320.
6. Figueredo S, Utilización y aplicación de técnicas de citohistoquímica enzimática en biopsias de médula ósea. *Anales de la Facultad de Ciencias Médicas. Asunción Paraguay*. 1997; 30 (1-2).
7. Bouroncle BA, Wiseman BK and Doan CA. Leukemic reticuloendotheliosis. *Blood* 1958; 13: 609-630.
8. Schereck R and Donnelly W. Hairy cells in blood in lymphoreticular neoplastic disease and flagellated cells of normal lymph nodes. *Blood* 1966; 27: 199.
9. Dölken G, Fauser A, Herrmann F, Kanz L et al. Haarzell-Leukämie in Chronische Leukämien. *Tumorzentrum Freiburg am Klinikum der Albert-Ludwigs-Universität*. 1992; 14-17.
10. Jaffe ES, Harris NL, Stein H and Vardiman JW. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues in pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. International Agency for Research on Cancer. IARC press. Lyon, 2001.
11. Bennett JM, Katovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA et al. Proposals for the classification of chronic (mature) B and T lymphoid leukaemias. *J Clin Pathol* 1989; 42: 567-84.
12. Catovsky D and Foa R. The lymphoid leukaemias. *Butteworth Co. (Publishers) Ltd*. 1990; 156-77.

13. Kroft SH. Chronic lymphoproliferative disorders involving blood and bone marrow: A modern diagnostic approach in hand-out. *Curso Curto. Patología da medula óssea. XXII Congresso Brasileiro de Patología.* 2-6 junio. 1999. Curitiba-Brasil.
14. Lennert K, Mohri N, Stein H and Kaiserling E. The histopathology of malignant lymphomas. *Br J Haematol* 1975; 31: 193 (suppl).
15. National Cancer Institute sponsored study of classifications of non Hodgkin's lymphomas. Summary and description of a working formulation for clinical usage. *Cancer* 1982; 49: 2112.
16. Mufti GJ, Flandrin G, Schaefer HE, Sandberg AA and Kanfer E (eds). *An atlas of malignant haematology. cytology, histology and cytogenetics.* Martin Dunitz Ltd. London. 1996.
17. Schaefer H.E. 1995b. The histotopography of bone marrow involvement in low malignant B-cell lymphoma. In: Hara H (de) *Contributions in celebration of the 65<sup>th</sup>* published by the first department of pathology, Kochi Medical School, Shinkodo Printing Company, Kochi, Japan. 1995: 115-150.
18. Hoyer JD, Li CY, YAM LT, Hanson CA and Kurtin PJ. Immunohistochemical demonstration of acid phosphatase isoenzyme 5 (tartrate-resistant) in paraffin sections of hairy cell leukemia and other hematologic disorders. *Am J Clin Pathol* 1997; 108: 308-315.
19. Schaefer HE. *Zytologische Hämatopathologie unter besonderer Berücksichtigung histochemischer Methoden.* Basel: Karer. *Beitr Onkol*, 1990; 38: 196-260.
20. Schaefer HE. *Histologie und Histochemie am Paraffinschnitt.* *Verh Dtsch Ges Pathol* 1983; 67: 6-7.
21. Remmele W., Schaefer HE *Erythropoese, Leukopoese and myeloproliferative Erkrankungen.* Herausgegeben von W. Remmele. *Pathologie 1.* Springer Verlag: Germany. 1984., 5-6: 273-452.
22. Schaefer HE. Die histologische Bearbeitungstechnik von Beckenkammbiopsien auf der Basis von Entkalkung und Paraffineinbettung unter Berücksichtigung osteologischer und hämatologischer Fragestellungen. *Pathologie* 1995 (a); 16: 11-27.
23. Saxon A, Stevens R, Golde D. T-Lymphocyte variant of hairy cell leukemia. *Ann Int Med* 1978; 88: 323-326.
24. Cawley JC, Burns GF, Worman CP et al. T cell features in hairy cell leukemia. *Br J Haematol* 1979; 43: 679-682.
25. Harris N, Jaffe E, Stein H, Banks P et al. A Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms. A Proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84(5): 1361-1392.
26. Rozman C, Woessner S, Feliu E, Lafuente R y Berga LI. *Ultraestructura celular en hematología.* Segunda edición. Salvat editores S.A. Barcelona. España. 1990.
27. Quan SG, Poolsawat SS and Golde DW. Ultrastructure and Tartrate-resistant Acid Phosphatase Localization in a T-Cell Hairy-Cell Leukemia Cell Line. *The J of Histochem and Cytochem* 1980; 28\_(5): 434-440.
28. Henderson DW, Papadimitriou JM, Coleman M. *Leukaemias and histiocytoses in Ultrastructural appearances of tumours.* Segunda edición. Logman Group Limited. 1986; Capítulo 28: 300-312.
29. Montserrat E, Boccia A, Feliu E, Urbano-Ispizua A y col. Tricoleucemia: Análisis de 11 casos. *Sangre* 1998; 33 (2): 108-113.
30. Medini-Manai Z, Meddeb B, Lakhel R et al. Hairy cell leukemia: report of 8 cases. *Tunis-Med* 2001 Dec; 79 (12): 681-5.
31. Hsi ED and Tubbs RR. Immunophenotyping as an adjunct in the diagnosis of small B-Cell lymphomas. *Pathology case reviews.* November/ December. 1999; 242-249.
32. Bain BJ. Routine and specialised techniques in the diagnosis of haematological neoplasms. *J Clin Pathol* 1995; 48: 501-508.