

CAPÍTULO 7

Estudio citológico de los linfonódulos

*Ana Guzmán Loza, María Cecilia Castellano[†]
y Adriana Massone*

El término linfadenopatía se refiere a cualquier anormalidad de los linfonódulos. Si bien la linfadenomegalia es el hallazgo más frecuente, los cambios de consistencia, las alteraciones de los contornos, el dolor y las modificaciones en la movilidad, también deben ser considerados al momento de ser evaluados.

El estudio citológico de los linfonódulos está indicado cada vez que se perciban en ellos alguno de estos signos que sugieren evidencia clínica de linfadenopatía. La misma suele ser evidente y fácil de detectar en los linfonódulos superficiales. Si es solitaria o regional suele estar relacionada a procesos patológicos localizados en las respectivas áreas de drenaje, tales como inflamaciones o tumores. En los linfonódulos profundos, la linfadenopatía puede ser un hallazgo durante la palpación profunda del abdomen o mediante estudios por imágenes. Puede relacionarse a neoplasias primarias, metastásicas o infecciones sistémicas. Si es generalizada, los diagnósticos diferenciales deberán incluir neoplasias hematopoyéticas (linfomas y/o leucemias), procesos inmunomediados (lupus eritematoso sistémico) o infecciones sistémicas de cualquier origen. En todos los casos, el estudio citológico de estas estructuras constituye una de las herramientas más valiosas para la evaluación de la linfadenopatía, permitiendo, en la mayoría de las situaciones, definir el diagnóstico. También, con el fin de reconocer metástasis potenciales y estadificar el paciente oncológico, es aconsejable aplicar este método para el estudio de los linfonódulos cercanos o involucrados en el área de un tumor primario, aun cuando los mismos presenten un aspecto normal durante el examen clínico (Blauvelt 2020). Las principales indicaciones para la evaluación de los linfonódulos mediante el estudio citológico se encuentran resumidas en la Tabla 7.1.

Algunos de los hallazgos citológicos que se describirán en relación con los linfonódulos pueden ser aplicados también al tejido linfoide ubicado en otros sitios corporales.

Técnicas para la toma de muestras

La localización subcutánea y de fácil acceso de muchos linfonódulos (submandibular, axilar, cervical superficial o preescapular, inguinal superficial y poplíteo) facilita la detección temprana

de cambios y los hace factibles de ser analizados mediante citología. Las muestras se obtienen mediante la técnica de punción con aguja fina (PAF) y punción/aspiración con aguja fina (PAAF). Para ello se recomiendan agujas 21G o 25G, para disminuir la destrucción celular y moderar la presión ejercida durante la aspiración debido a la fragilidad de las células linfoides. Cuando se trata de linfonódulos superficiales, pueden abordarse directamente sin necesidad de tricotomía, preparación de la zona y/o anestesia. El muestreo de linfonódulos intratorácicos o intraabdominales puede requerir, en algunos casos, preparación quirúrgica del área y sedación del paciente; esto no es indispensable para realizar la maniobra, ya que depende del tipo de paciente y de la facilidad de manejo del mismo. Muchas veces los linfonódulos mesentéricos o ilíacos presentan un marcado aumento de tamaño, lo que permite inmovilizarlos manualmente y tomar la muestra sin complicaciones. En general, para el muestreo de los linfonódulos profundos, sean intratorácicos o intraabdominales, resulta siempre útil el auxilio de la ultrasonografía para guiar la aguja durante el procedimiento.

Cuando se presenta una linfadenopatía generalizada, no es aconsejable tomar muestras de los linfonódulos submandibulares como primera opción, debido a su constante actividad relacionada con la cavidad bucal. Tampoco se debería elegir para el muestreo aquellos linfonódulos que presenten el mayor aumento de tamaño, ya que pueden presentar zonas de necrosis y/o hemorragias que malogren la muestra. Los linfonódulos cervical superficial y poplíteo son de fácil acceso y la mejor elección en estos casos (Blauvelt 2020).

Si bien la toma de muestras no es un procedimiento dificultoso, errores comunes, tales como punzar la glándula salival submandibular o el tejido adiposo periférico, pueden ocurrir.

Tabla 7.1. Indicaciones de PAAF/ PAF y evaluación citológica del linfonódulo.

Indicaciones de PAAF/ PAF y evaluación citológica del linfonódulo
Diagnóstico de enfermedades infecciosas
Diagnóstico de hiperplasia o linfadenopatía reactiva (por ej: hiperplasia reactiva generalizada en gatos jóvenes)
Diagnóstico de neoplasia metastásica y asociación de posible sitio primario
Diagnóstico de linfoma. De ser posible, estimando su origen
Conocimiento de la malignidad del proceso (linfoma o metástasis de mastocitoma), con el objetivo de monitorear la evolución y respuesta a la quimioterapia
Muestreo de sitios múltiples o sitios inaccesibles para cirugía para decidir medidas terapéuticas
Toma de muestras para estudios de clonalidad

Nota: Adaptada de The role of Fine-Needle Aspiration Cytology of Lymph Nodes. En Blauvelt M y Messick JB 2020. The lymph nodes. En Valenciano AC y Cowell RL, Cowell And Tyler's Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. (171-181). Fifth edition. St. Luis, USA: Elsevier. (229–246).

Hallazgos citológicos

Linfonódulo normal

El linfonódulo normal está compuesto principalmente por linfocitos pequeños maduros (75% al 85% de la población total). Poseen núcleo redondo o ligeramente escotado, con patrón de cromatina condensada y un nucléolo no visible (Blauvelt 2020). El índice núcleo-citoplasma es alto, ya que el primero ocupa casi toda la célula y el citoplasma es escaso, color azul claro (Meza León 2014). Su tamaño es de 7 μm a 10 μm (equivalente a 1 a 1,5 veces el tamaño del eritrocito). Estas células pueden ser de estirpe B o T, no resultando posible diferenciar esto solo por su morfología.

Las células jóvenes e inmaduras no deben superar, en conjunto (medianas y grandes), el 15% de la población del linfonódulo. Reconocer estas células puede ser muy útil para definir y/o aproximar el origen de la proliferación linfoide, ya que presentan características particulares que orientan a su origen (Rassel 2018).

- **Centroцитos:** células linfoides jóvenes, pequeñas a medianas, diámetro nuclear 10-14 μm , que superan el tamaño de los glóbulos rojos en 1,5 a 3 veces aproximadamente, núcleo de cromatina densa, no aglomerada, con una hendidura y sin nucléolo visible. Poseen mayor cantidad de citoplasma claro que un linfocito maduro. Son células B foliculares.
- **Centroblastos:** Células linfoides inmaduras intermedias a grandes, diámetro nuclear 14-21 μm , cantidad moderada de citoplasma azulado, ocasionales vacuolas citoplasmáticas, núcleo excéntrico y redondo, cromatina laxa finamente granular, nucléolos múltiples, a menudo periféricos. Son células B foliculares.
- **Inmunoblastos:** células linfoides grandes, diámetro nuclear hasta 28 μm , abundante citoplasma azul oscuro, vacuolas citoplasmáticas ocasionales, núcleo redondo, cromatina finamente granular con un nucléolo central prominente. Pueden tener origen B o T.
- **Linfoblastos:** células linfoides inmaduras, con núcleo de límites irregulares, de cromatina fina, de 7 a 14 μm de diámetro y nucléolo poco evidente. Citoplasma color azul pálido y más abundante que el del linfocito maduro. Origen B o T.
- **Células medias macronucleoladas:** linfocitos intermedios o pequeños de diámetro nuclear de 10 a 14 μm , citoplasma azulado y abundante y núcleo redondo, único y central con un nucléolo prominente. Son células B, de la zona marginal del folículo y solo se ven en la especie canina.

Los **cuerpos linfoglandulares** corresponden a restos citoplasmáticos producidos por la apoptosis de linfocitos y son característicos del tejido linfoide. Son redondos, de tamaño y forma similar a las plaquetas, homogéneos, azul claro a celestes. Si bien se relacionan generalmente con procesos patológicos del linfonódulo, pueden hallarse en linfonódulos sin alteraciones.

También pueden aparecer, por errores en la aspiración o en la extensión del material, núcleos desnudos y tumefactos, los cuales se ven de color rosa uniforme. Estos restos celulares libres no tienen significación y no deben confundirse con células inmaduras.

Se pueden observar **células plasmáticas** (menos del 3%), y sus precursoras. Las células plasmáticas poseen núcleo pequeño, redondo, con cromatina condensada. El citoplasma es abundante, de color azul oscuro y con una zona clara perinuclear, la que se corresponde con la zona del aparato de Golgi. Se relacionan con procesos de respuesta humoral o con procesos neoplásicos de origen B. Las mismas se encuentran en los cordones medulares del linfonódulo.

Los **macrófagos** poseen abundante citoplasma con vacuolas y restos celulares en su interior, lo que da su apariencia de “cielo estrellado”.

Los histiocitos y las células endoteliales, comunes en los linfonódulos, raramente son aspirados intactos.

Las células inflamatorias, neutrófilos, eosinófilos y/o células cebadas no deben superar el 1%.

Tres procesos generales pueden ser analizados mediante la citología y pueden ser causales de linfadenomegalia en uno o varios linfonódulos: hiperplasia reactiva, inflamación y neoplasia (primaria o metastásica).

Tabla 7.2. Células en un aspirado de linfonódulo normal.

SUBTIPO CELULAR	PORCENTAJE	ORIGEN
Linfocitos pequeños	Mayor al 80%	T / B
Centrocitos	10%	B folicular
Centroblastos	1 al 5%	B folicular
Inmunoblastos	1 al 5%	T7B
Linfoblastos	Menor al 1%	T/B
Células medias macronucleoladas	Menor al 1% (solo en perros)	B zona marginal
Células plasmáticas	Menos del 2%	B cordones medulares
Células en flama	Menos del 1%	B cordones medulares
Células de Mott	Menos del 1%	B cordones medulares
Dendríticas	Menos del 1%	Folículo
Interdigitantes	Menos del 1%	Paracorteza
Macrófagos	Menos del 2%	Paracorteza y senos medulares
Inflamatorias	Menos del 5% Menos del 3%	Neutrófilos Eosinófilos y Mastocitos

Nota: Adaptada de Subtypes of cells that may be identified in cytologically normal lymph node samples. En Comazzi, S y MacNeill, AL (2017). Cytology of lymphoid tissues. En Barger AM y MacNeill AL, Small animal cytologic diagnosis. (209-239). First edition. Boca Raton, USA: Taylor & Francis Group.

Hiperplasia reactiva

A veces no existe una clara diferencia entre la imagen citológica de un linfonódulo normal y uno reactivo. El punto de discusión es, precisamente, esta diferenciación, ya que la mayoría de los linfonódulos son reactivos en cierto grado. En ambos, el tipo celular predominante es el linfocito pequeño y maduro. Las células plasmáticas, en el linfonódulo reactivo, pueden representar entre el 5% y el 10 % de la población celular (Figura 7.1). Algunas de estas células, muy activas (células de Mott), pueden estar repletas de corpúsculos esféricos, escasamente coloreados centralmente y con borde neto de color azul violáceo. Los mismos se denominan cuerpos de Russell y representan la secreción de inmunoglobulinas. También pueden observarse las células en flama, caracterizadas por su borde citoplasmático rosa brillante.

Además, se puede observar un aumento en la cantidad de linfocitos inmaduros, llegando hasta el 15 %, y aun hasta el 25%, de la población celular (Blauvelt 2020). El aumento de centroblastos, centrocitos y células plasmáticas es indicativo de una hiperplasia folicular con respuesta humoral a una estimulación antigénica. El incremento de células pequeñas, con forma de “espejo de mano”, puede asociarse a una hiperplasia paracortical por respuesta de tipo celular. En ambos casos el diagnóstico diferencial es la proliferación neoplásica y deberá relacionarse lo observado con el cuadro clínico, si bien pueden ser necesarios estudios histopatológicos o, inclusive, de marcación específica mediante técnicas de inmunohistoquímica para el diagnóstico definitivo del proceso.

Acompañando a estas células, se observan cuerpos linfoglandulares. Los macrófagos superan el 2% (Meza León 2014).

La linfadenopatía por hiperplasia reactiva puede ser localizada o generalizada, relacionada con infecciones por virus de la leucemia felina, virus de la inmunodeficiencia felina, *Mycoplasma haemofelis*, *Ehrlichia canis*.

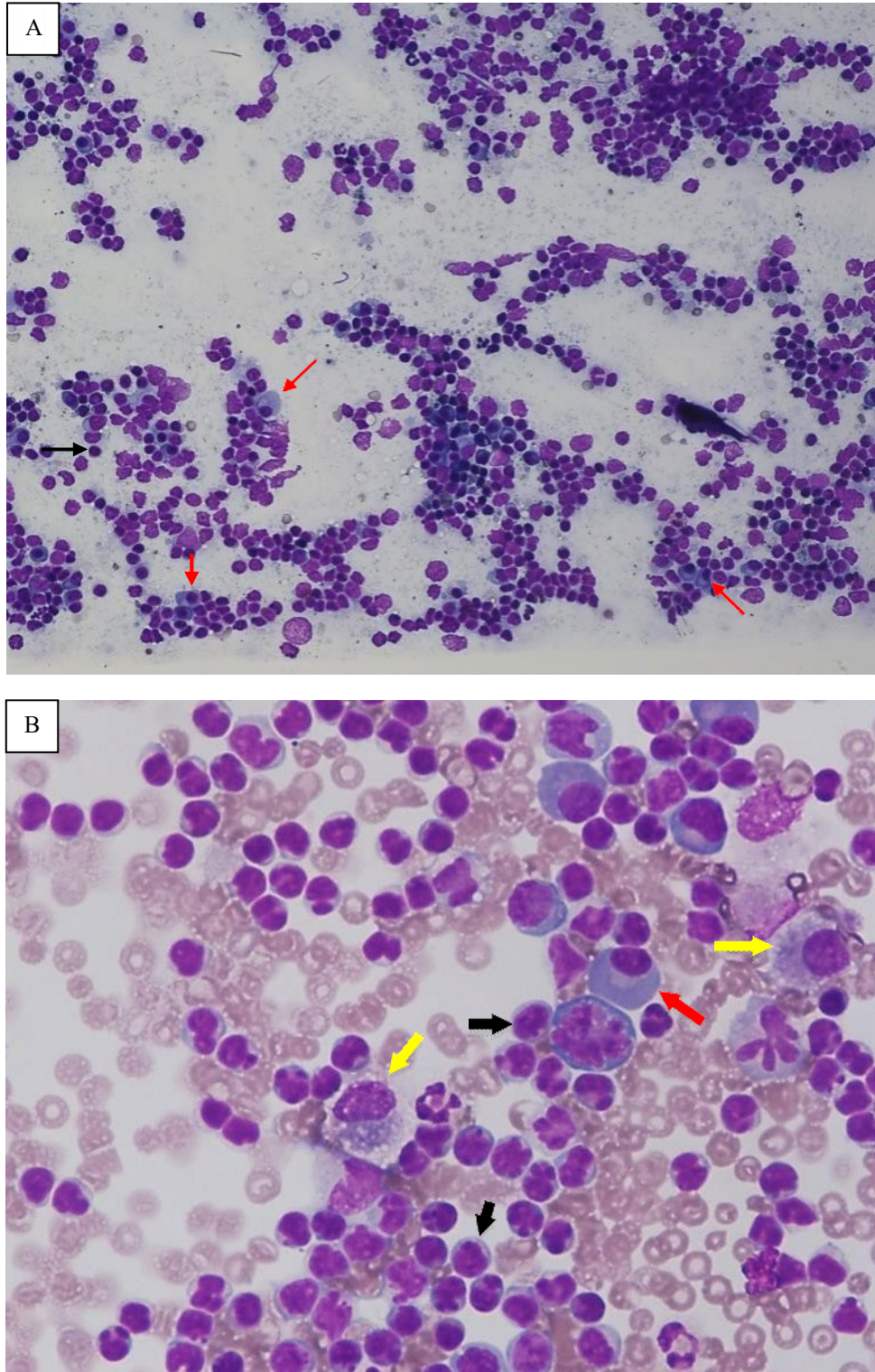
En gatos (jóvenes principalmente) a veces puede ser difícil distinguir la hiperplasia reactiva del linfoma. En estos casos se sugiere realizar el estudio histopatológico y, en forma complementaria, la inmunohistoquímica (IHQ) y/o inmunocitoquímica (ICQ), lo que permite determinar el fenotipo T o B del infiltrado. En otros países se utilizan técnicas de PCR (PARR= PCR de reacomodación de receptores de antígenos) para determinar la clonalidad de las células (Blauvelt 2020).

Linfoadenitis

Puede ser primaria o secundaria; en la primera, el linfonódulo en sí mismo está inflamado o necrótico, mientras que en la segunda existe un proceso inflamatorio o necrótico en el área de drenaje. El aumento de tamaño del linfonódulo puede ir acompañado de dolor y, en el estudio citológico, se caracteriza por la presencia de células inflamatorias: neutrófilos, eosinófilos y macrófagos solos o asociados, lo que permite clasificarla en:

- **Supurativa:** se observan linfocitos y neutrófilos (más del 5%), algunos con cambios degenerativos, también detritus celulares y estructuras bacterianas. La mayoría de las infecciones bacterianas produce una respuesta inflamatoria con neutrófilos (exudado purulento) (Figuras 7.2 y 7.3).

Figura 7.1. Hiperplasia reactiva.



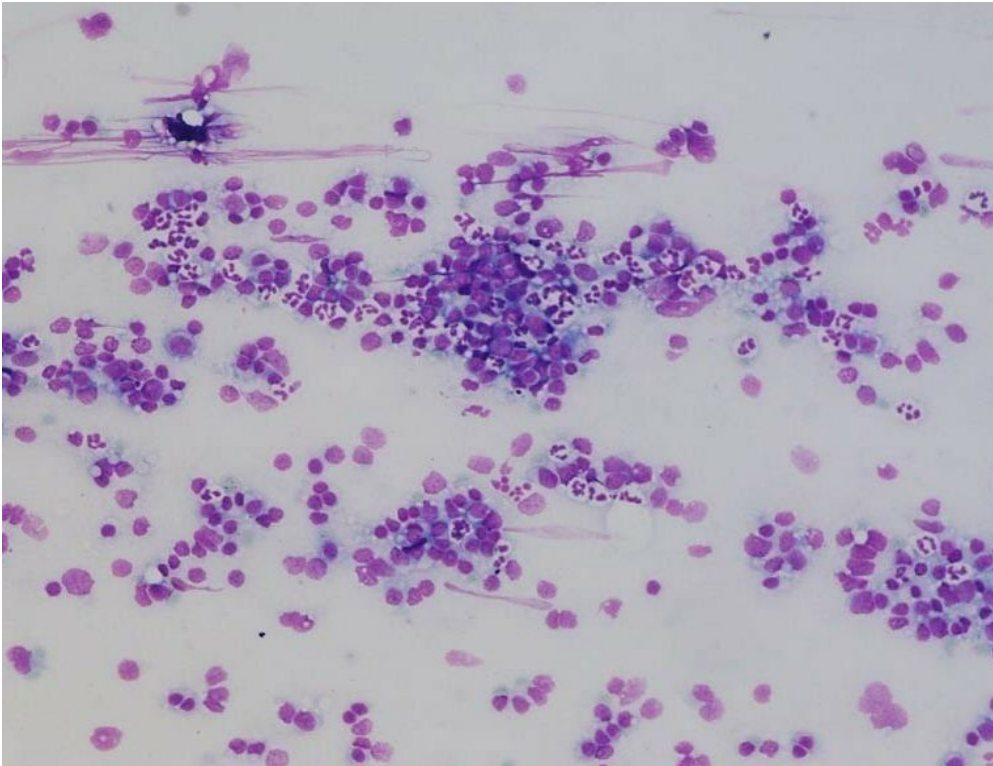
Linfocitos intermedios y grandes (flechas negras), células plasmáticas (flechas rojas) y macrófagos (flecha amarilla). **A)** Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X **B)** Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

- **Piogranulomatosa:** se observan neutrófilos y macrófagos en similar porcentaje.
- **Granulomatosa:** predominan los macrófagos gigantes multinucleados y células epitelioides. Los macrófagos aumentan en la inflamación, pero también lo hacen en la hiperplasia y, ocasionalmente, en las neoplasias. Las células epitelioides se caracterizan por presentar un citoplasma rosado con pequeñas vacuolas y escasos restos celulares. También pueden contener microorganismos. Estas células se encuentran agrupadas.

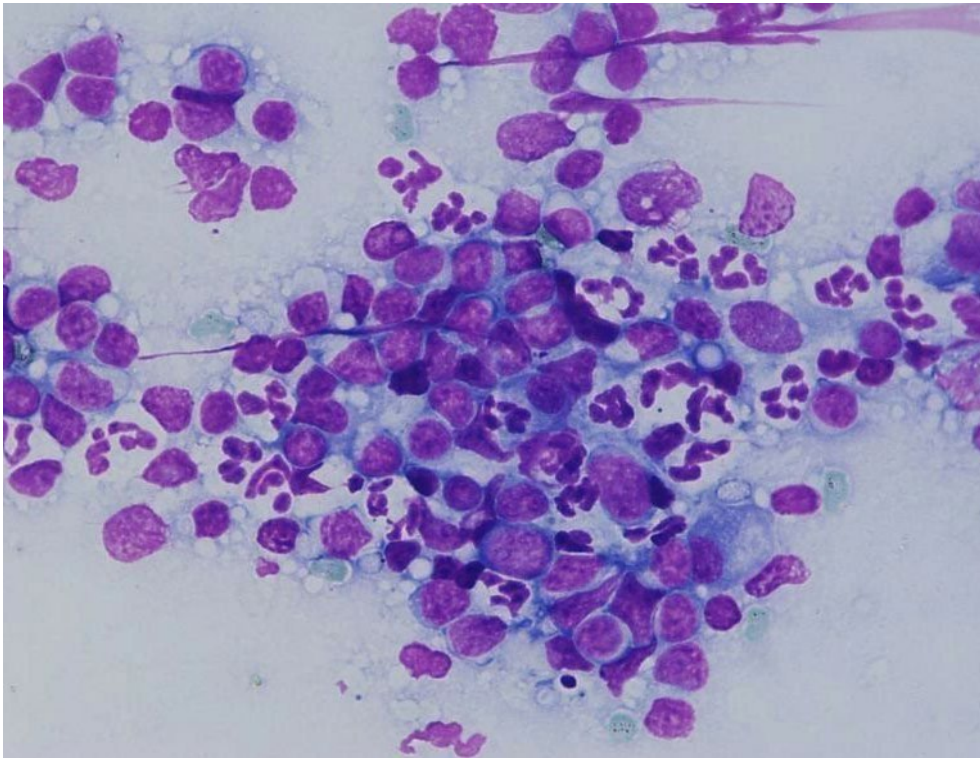
Algunos microorganismos tales como *Mycobacterium spp.*, *Cryptococcus spp.* (Figura 7.4), *Toxoplasma spp.*, *Histoplasma spp.* y *Leishmania spp.* producen esta respuesta.

- **Eosinofílica:** se observan eosinófilos en un porcentaje mayor al 3%. En procesos alérgicos de la piel y tracto respiratorio y digestivo se pueden hallar eosinófilos en el aspirado de los linfonódulos satélites.

Figura 7.2. Linfadenitis supurativa.



Neutrófilos (más del 5%) y linfocitos intermedios y grandes. Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X.

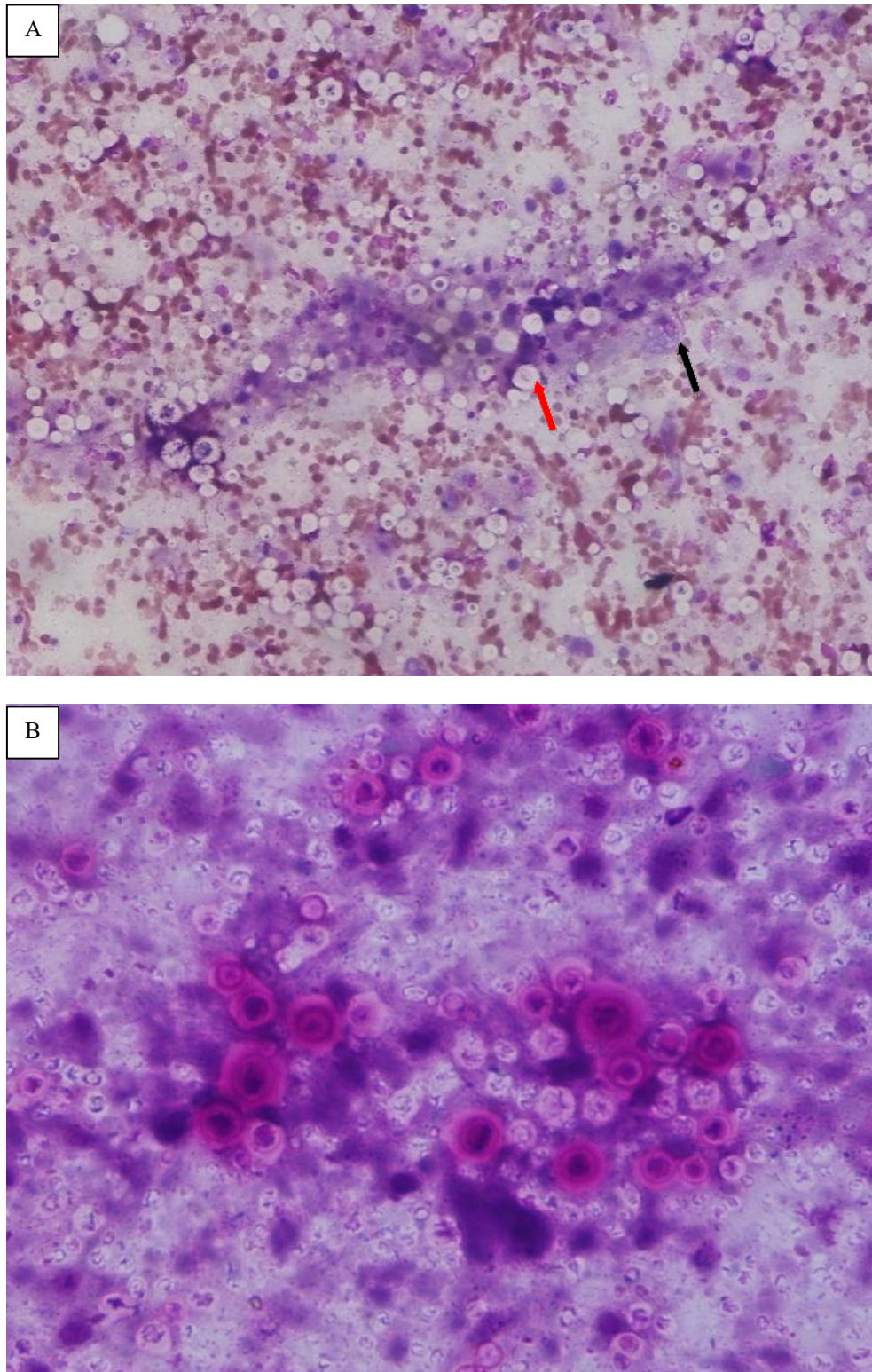
Figura 7.3. *Linfoadenitis supurativa.*

Neutrófilos (más del 5%) y linfocitos intermedios y grandes. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

Linfoma

Los linfomas son las neoplasias hematopoyéticas más frecuentes en los caninos, siendo, en esta especie, la presentación multicéntrica la más vista. Se caracterizan en la citología por la presencia de linfocitos inmaduros. Cuando estos constituyen más del 50 % de la población total, generalmente excediendo el 80%, se formula el diagnóstico de linfoma sin mayores inconvenientes. En este tipo de tumores la citología permite confirmarlo en el 90% de los perros y en el 70% de los gatos, por lo cual es un punto esencial del proceso diagnóstico. En los estadios iniciales de la enfermedad, y en casos con tratamiento previo con corticoides, la cantidad de linfocitos inmaduros es mucho menor y, por lo tanto, el diagnóstico es más difícil. Los linfocitos neoplásicos pueden ser más grandes que los neutrófilos, con núcleo grande y redondo, cromatina nuclear dispersa y nucléolo evidente, con alteración de la relación núcleo-citoplasma. El citoplasma color azul intenso o azulado y finamente vacuolado puede tener una notoria zona perinuclear más clara. Las mitosis son más numerosas que en la hiperplasia. La presencia de macrófagos con material fagocitado indica una intensa proliferación y apoptosis. Los cuerpos linfoglandulares son más numerosos que en la hiperplasia (Figura 7.5).

Figura 7.4. Linfadenitis granulomatosa por criptococosis.



A) Macrófagos (flechas negras) y *Cryptococcus neoformans* (flechas rojas). Tinción 15, Biopur®. Obj. 20X. **B)** PAS positivo, se ve de color rosa intenso la gruesa cápsula. Tinción PAS. Obj. 60X.

La apariencia morfológica de las células neoplásicas y el índice mitótico pueden utilizarse para clasificar los linfomas. En la actualidad, en medicina veterinaria, se aplican pautas provenientes de dos clasificaciones para linfomas utilizadas en medicina humana y que contribuyen a la predicción del comportamiento biológico. Si bien existen otros parámetros descriptivos que se utilizan para la clasificación de los linfomas, se considera que los siguientes son los de mayor utilidad.

Estimación del índice mitótico mediante la observación de cinco campos (Objetivo 40X):

- Índice mitótico bajo: 0-1 figuras mitóticas
- Índice mitótico moderado: 2-4 figuras mitóticas
- Índice mitótico alto: 5 o más figuras mitóticas

Determinación del tamaño celular en comparación con el del glóbulo rojo:

- Pequeño: 1 a 1,5 veces el tamaño de un glóbulo rojo
- Mediano: 1,5 a 2 veces el tamaño de un glóbulo rojo
- Grande: 3 veces o más el tamaño de un glóbulo rojo (Figura 7.5)

Forma del núcleo: escotado o no escotado, redondo, pleomórfico, binucleado

Patrón de cromatina: granular, fina o gruesa, condensada, en agregados o en acúmulos

Nucléolos: cantidad, tamaño y disposición

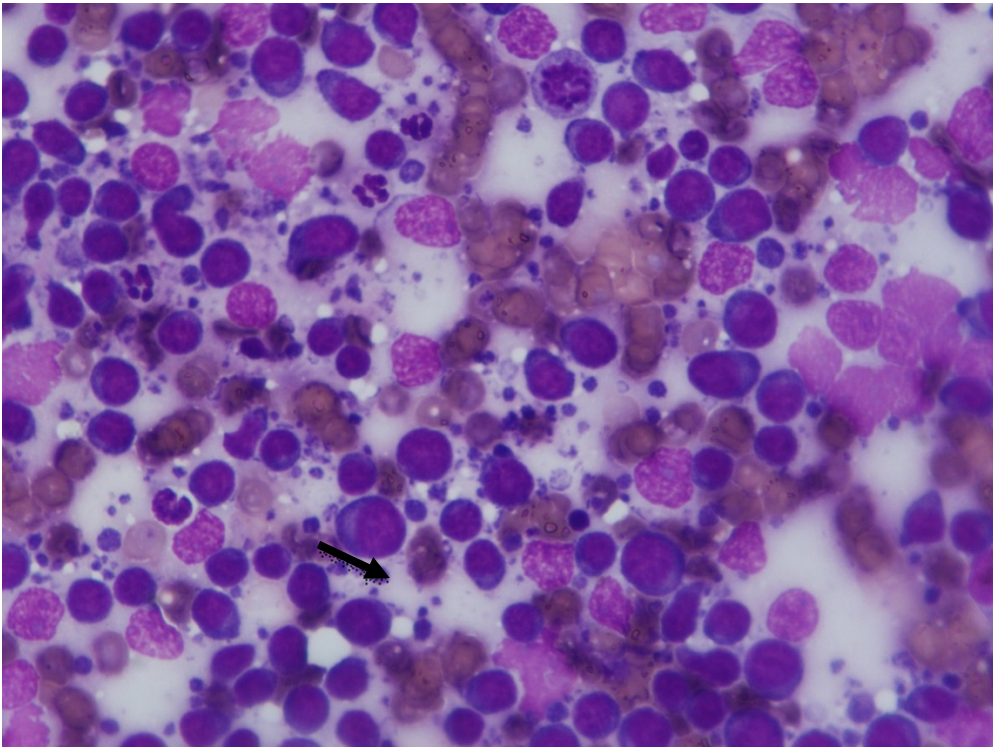
Citoplasma: cantidad, color, presencia de gránulos, prolongación semejando un “espejo de mano” (Figura 7.6)

El **grado de malignidad** de la neoplasia en caninos se establece mediante la determinación del tamaño celular y del índice mitótico en la observación histopatológica

- Bajo grado de malignidad o indolente: bajo o medio índice mitótico y tamaño celular pequeño
- Alto grado de malignidad: alto índice mitótico y tamaño celular mediano a grande
- Los linfomas felinos son considerados en dos grupos principalmente relacionados con el tamaño celular, linfoma linfocítico (bajo grado) y linfoma linfoblástico (alto grado). Existe un tercer tipo, el linfoma granular, caracterizado por la presencia de gránulos en el citoplasma. Este tipo de linfoma es de localización intestinal, altamente agresivo y de mal pronóstico. Estos gránulos no se tiñen con Tinción 15, necesitando tinción de Giemsa para ponerlos en evidencia.

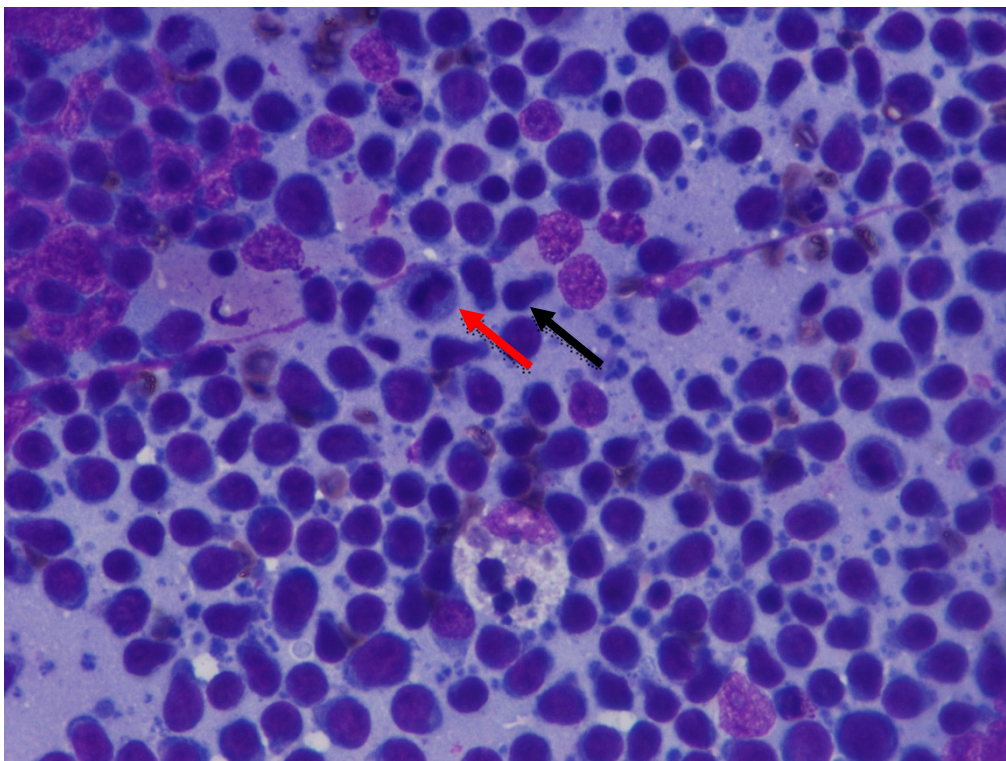
Si bien la mayoría de los linfomas caninos y felinos son de tipo no Hodgkin, de acuerdo con la clasificación en medicina humana, en la especie felina y, en menor medida, en los caninos también puede presentarse un linfoma tipo Hodgkin identificable por la presencia de las células de Reed-Sternberg. Estas células son binucleadas con macrocariosis y un gran nucléolo en cada uno, similar a ojos de la lechuza (Blauvelt 2020) (Figura 7.7). Además, pueden identificarse grandes células atípicas (linfocitos B) cuyos núcleos recuerdan a “pochoclos” (Valli 2007). Este tipo de linfoma generalmente compromete uno o varios linfonódulos de la cabeza o cuello y se considere indolente ya que presenta sobrevida mayor a un año en los animales afectados.

Figura 7.5. Linfoma de células grandes.

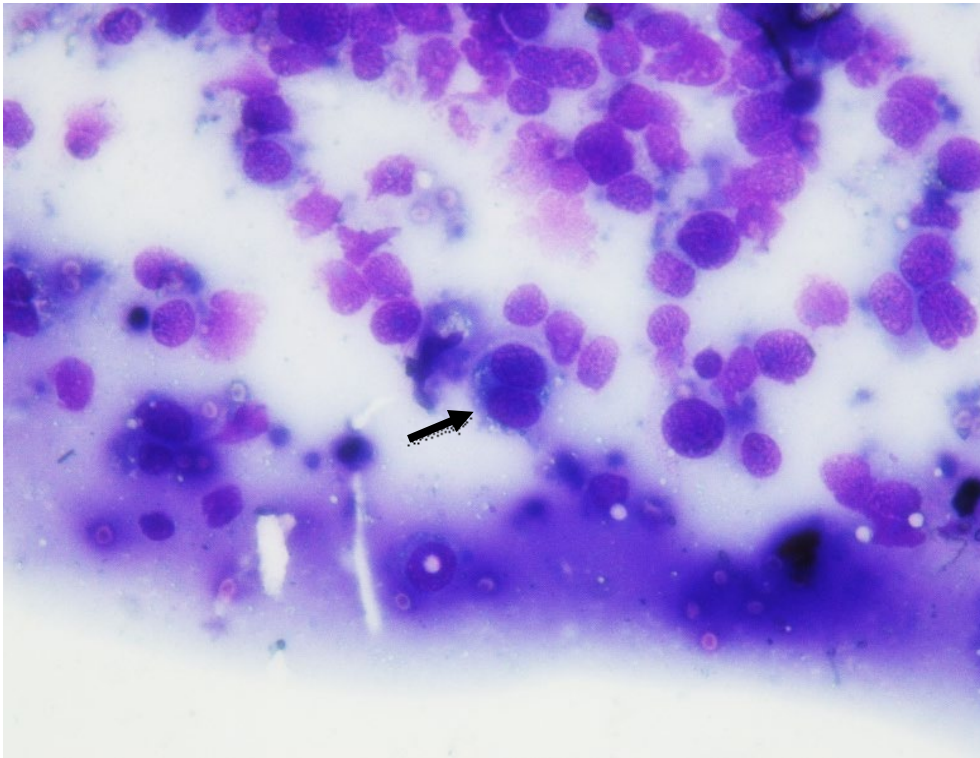


Células linfoides inmaduras y grandes, abundantes cuerpos linfoglandulares (flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj.60X.

Figura 7.6. Linfoma de células medianas.



Células linfoides inmaduras y numerosas "células en espejo de mano" (flecha negra) y mitosis (flecha roja). Tinción 15, Biopur®. Obj.40X.

Figura 7.7. Linfoma tipo Hodgkin.

Células linfoides inmaduras y la presencia de células de Reed- Sternberg (flecha negra). Tinción 15, Biopur®. Obj. 40X.

La citología suele ser suficiente para establecer el diagnóstico de linfoma en perros. En gatos a veces no es posible formular un diagnóstico definitivo en linfomas linfocíticos, pero sí en linfomas linfoblásticos y granulares. Si bien los hallazgos citológicos confirman el linfoma, se debe recordar que no todas las neoplasias linfoides son iguales, ya que se originan de diferentes expansiones clonales en determinadas áreas del linfonódulo, lo cual les confiere características particulares. La determinación inmunofenotípica permite mediante el uso de anticuerpos específicos (CD 3 para linfocitos T y CD79a para linfocitos B), establecer su origen. La variedad del subtipo celular, sumado al comportamiento clínico, se relaciona con la respuesta al tratamiento y el pronóstico. La aspiración de la médula ósea es recomendable para estadificar al paciente con linfoma con mayor precisión y evaluar las líneas hematopoyéticas (Blauvelt 2020).

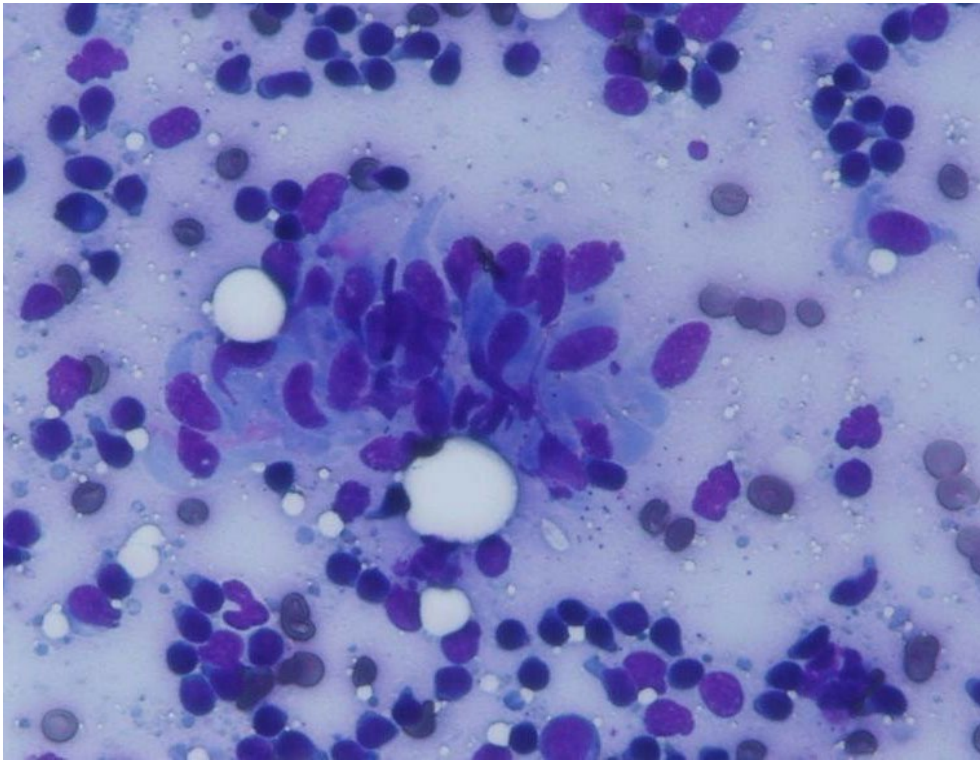
Metástasis

La presencia de células que normalmente no se encuentran en el linfonódulo o el aumento de ciertos grupos celulares (células cebadas) orientan hacia el diagnóstico de una metástasis. Los carcinomas pueden dar origen a metástasis en los linfonódulos satélites. En estos casos, las células epiteliales se observan solas o en grupos, son grandes y no guardan similitud con las células propias de los linfonódulos. Los melanomas también pueden producir

metástasis en los linfonódulos. En estos casos, los melanocitos se distinguen por los pigmentos granulares pardonegruzcos de sus citoplasmas. Estas células deben diferenciarse de macrófagos que han fagocitado melanina proveniente de tejidos pigmentados correspondientes al área de drenaje del linfonódulo. Los melanocitos o los melanófagos pueden confundirse con macrófagos con hemosiderina en su interior. Los gránulos de hemosiderina tienden a ser variables en tamaño, de color azul intenso a negruzcos, grandes en relación con los gránulos de melanina. Las metástasis de sarcomas se caracterizan por la presencia de un número variable de células fusiformes (Figura 7.8).

También podemos hallar células cebadas provenientes de un mastocitoma. Más del 3 % de células cebadas sugiere la presencia de neoplasia. En los mastocitomas más indiferenciados (grados II o III), la mayoría de las células son grandes, con escasos gránulos en su interior. En el aspirado de linfonódulos se pueden hallar células provenientes de un tumor venéreo transmisible.

Figura 7.8. *Metástasis de neoplasia mesenquimática.*



Grupo de células de origen mesenquimático en el linfonódulo. Tinción 15, Biopur®. Obj. 60X.

La sensibilidad en la detección de una escasa cantidad de células metastásicas puede incrementarse con el uso de inmunohistoquímica. (Blauvelt 2020).

Referencias

- Avallone G, Rasotto R, Chambers JK, Miller AD, Behling-Kelly E, Monti P, Berlato D, Valenti P, Roccabianca P (2021). Review of Histological Grading Systems in Veterinary Medicine Veterinary Pathology 1-20. Article reuse guidelines: sagepub.com/journals-permissions DOI: 10.1177/0300985821999831 journals.sagepub.com/home/vet
- Blauvelt M y Messick JB (2020). The lymph nodes. En Valenciano AC y Cowell RL, *Cowell And Tyler's Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. (171-181). Fifth edition. St. Luis, USA: Elsevier. (229–246).
- Comazzi, S y MacNeill, AL (2017). Cytology of lymphoid tissues. En Barger AM y MacNeill AL, *Small animal cytologic diagnosis*. (209-239). First edition. Boca Raton, USA: Taylor & Francis Group.
- Meza León, A. B.; García Ortuño, L.E. (2014) Citología de linfonódulos. En De Buen De Argüero N, *Atlas de citopatología veterinaria*. (313-329). Primera Edición. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina: Intermédica.
- Ressel L. (2018) Normal cell morphology in canine and feline cytology. (1-184). First edition Oxford, UK: John Wiley & Sons, Inc.
- Valli VE. (2007). Hodgkin's lymphoma. En Valli VE, *Veterinary Comparative Hematopathology*. (491-499). First edition. Ames, USA: Blackwell Publishing.