

CARACTERIZACIÓN DE LOS SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS CRÓNICOS EN NUESTRA ÁREA DE INFLUENCIA: RESULTADOS DEL SCREENING DE EUROFLOW EN CATLAB

Los linfocitos son células de origen hematopoyético que pertenecen al sistema inmunitario, cuya función es reconocer y responder de forma específica y adaptada frente a diferentes agentes extraños además de inducir tolerancia frente a estructuras propias. Existen tres tipos: Los linfocitos B, los T, y las células NK (natural killer).

Los linfocitos B adquieren su competencia inmunológica en la médula ósea. Entre sus funciones principales destacan la producción de anticuerpos contra antígenos y actuar como células presentadoras de antígenos, facilitando la activación de la respuesta inmune adaptativa y transformarse eventualmente en células B de memoria (de vida media larga) después de ser activadas por la interacción con el antígeno, de manera que permiten una respuesta más rápida y eficaz ante una futura infección por el mismo patógeno.

Sin embargo, los linfocitos T surgen de un progenitor linfoide común de la médula ósea que sufre un proceso de maduración y adquiere inmunocompetencia en el timo. Posteriormente, abandonan el timo y pasan a sangre periférica y a los órganos linfáticos secundarios, transformándose en linfocitos T funcionalmente maduros. Existen dos poblaciones principales de linfocitos T maduros, los linfocitos T colaboradores que expresan la molécula CD4 y cuyas funciones son activar otras células inmunitarias, como los linfocitos B, linfocitos T citotóxicos y macrófagos, mediante la liberación de citoquinas, facilitar la diferenciación de linfocitos B y también son cruciales en la respuesta a infecciones virales y bacterianas, mientras que la población T citotóxica que expresa el antígeno CD8 y cuya función principal es destruir células infectadas por virus o células tumorales.

Por último, los linfocitos NK se originan también en la médula ósea a partir de células madre hematopoyéticas, pero a diferencia de los linfocitos T, no requieren maduración en el timo. Son parte de la respuesta inmune innata.

En cualquiera de los casos la célula madre hematopoyética, situada en la médula ósea, da lugar entre otras, a los linfoblastos (células linfoides más inmaduras) y que, a partir de ellos, después de sucesivas etapas madurativas, se originan los linfocitos maduros. La transformación neoplásica de estas células puede producirse en cualquiera de estas etapas madurativas del linfocito y esto origina los diferentes tipos de neoplasias linfoides.

Los Síndromes Linfoproliferativos Crónicos (SLPC) constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades oncohematológicas caracterizadas por la expansión clonal de células linfoides de aspecto maduro que tienden a imitar diferentes etapas de la diferenciación normal de los linfocitos de los que derivan y que tienen una ventaja proliferativa y/o de supervivencia sobre sus contrapartes normales en diferentes órganos como la médula ósea, la sangre y los ganglios

Catlab Informa

linfáticos, traducándose en una acumulación progresiva de células clonales y sus productos en los diferentes órganos mencionados.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), desde el punto de vista fenotípico y de acuerdo a su origen, los SLPC o Neoplasias de Células Maduras se clasifican en SPLC-B y SLPC-T y NK. Los SLPC de linfocitos T y NK se consideran de forma conjunta en la última clasificación de la OMS (2022), debido a que algunos tipos presentan características clínicas, morfológicas, inmunofenotípicas y evolutivas similares, independientemente de la célula expandida, y claramente diferentes de las neoplasias de linfocitos B maduros.

El inmunofenotipo por citometría de flujo multiparamétrica es muy útil en el diagnóstico diferencial entre la linfocitosis reactiva y los trastornos linfoproliferativos crónicos. Se basa en identificar un tipo celular específico según la expresión o ausencia de la misma de marcadores antigénicos individuales de la célula y para ello se usan anticuerpos específicos conjugados con fluorocromos.

Se puede analizar cualquier tipo de muestra de la que se pueda obtener una suspensión celular, como médula ósea, sangre total, biopsia, ganglio linfático, líquido cefalorraquídeo, etc.

➤ Algoritmo utilizado en Catlab para el estudio de linfocitos:

Ante la sospecha de un SLPC, aplicamos la estrategia que recomienda el grupo Euroflow (Figura 1). Siguiendo este algoritmo diagnóstico, cuando queremos saber si la muestra a estudio tiene una población de células maduras B, T o NK con fenotipo normal / reactivo o aberrante, hacemos el Tubo de Screening Linfocitario o Lymphoid Screening Tube (LST).

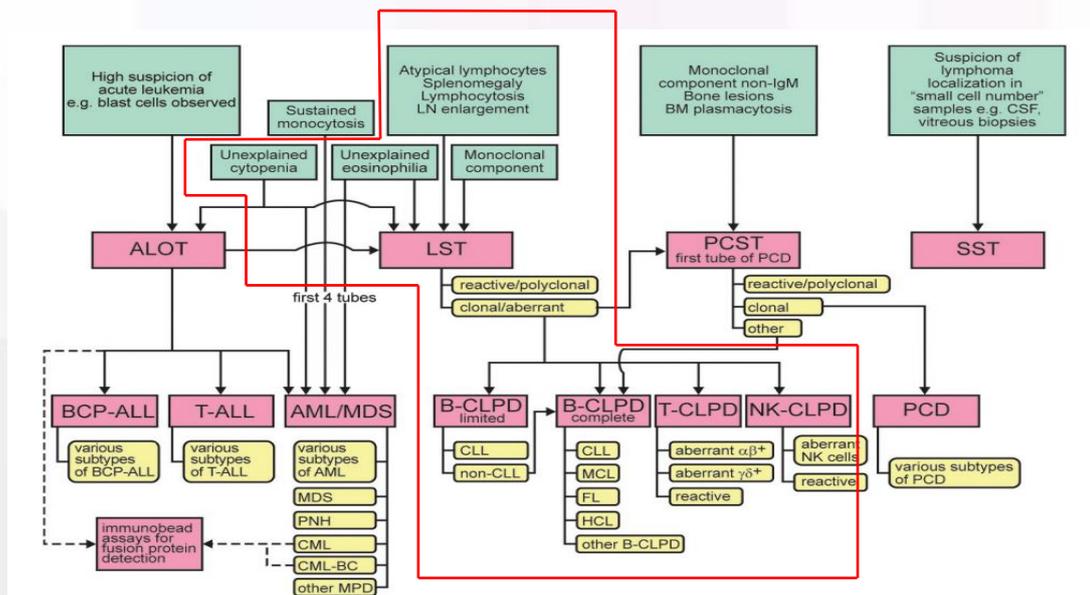


Figura 1. Diagrama de flujo de Euroflow con la estrategia para la caracterización inmunofenotípica de neoplasias hematológicas.

Catlab Informa

Abreviaturas: ALOT, tubo de orientación para leucemia aguda; AML, leucemia mieloide aguda; BC, crisis de blastos; BCP, precursor de células B; MO, médula ósea; LLC, leucemia linfocítica crónica; CLPD, trastornos linfoproliferativos crónicos; CML, leucemia mieloide crónica; LCR, líquido cefalorraquídeo; FL: linfoma folicular; HCL, leucemia de células pilosas; LN, ganglio linfático; LST, tubo de screening linfoide; MCL, linfoma de células del manto; MDS, síndrome mielodisplásico; MPD, trastornos mieloproliferativos; PCD, trastornos de las células plasmáticas; PCST, tubo de screening de células plasmáticas; HPN: hemoglobinuria paroxística nocturna; SST, tubo de muestra pequeña.

La combinación de anticuerpos y fluorocromos del LST se muestra en la tabla 1.

TUBO LST- SCREENING LIMFOCITOS							
V450	V500	FITC	PE	PERCP-CY5.5	PE-CY7	APC	APC-H7
CD20 /CD4	CD45	CD8/ Smlgλ	CD56/ SmlgK	CD5	CD19/TCRγδ	CD3	CD38

Tabla 1: Panel screening linfocitario diseñado y validado por el Consorcio de Euroflow. Fluorocromos en la parte superior y anticuerpos marcados en la fila inferior.

Esta combinación de ocho fluorocromos /canales se detecta con los tres láseres de los citómetros FACSCanto II™ y FACSLyric™ de BD y nos permite enfrentar 12 anticuerpos simultáneamente (de línea B, T y NK) utilizando en un mismo canal anticuerpos excluyentes.

Con el patrón fenotípico linfocitario obtenido del análisis de los resultados de este tubo mediante el software Infinicyt™, se ampliará el estudio con uno u otro panel más específico para poder filiar la población atípica en cuestión o bien, ya no procederá continuar dicho estudio en el caso de no detectar ninguna población con fenotipo aberrante que sea sugestiva de SLPC-B, T o NK, como se muestra en la parte marcada en rojo del diagrama de la figura 1.

➤ Resultados del screening de linfocitos de Euroflow en Catlab:

En nuestro laboratorio, en el año 2023, realizamos un total de 927 LST, de los cuales, el 27% (249) resultó ser un SLPC-B, el 2% SLPC-T/NK (20), el 3% (30) fueron resultados no valorables (considerándose estos, las muestras con un recuento de linfocitos inferior al límite de cuantificación) y el 6 % (57) se trataban de estudios de seguimiento o estadiaje.

Desglosando los SLPC-B en los distintos tipos existentes al realizar el panel de SLPC-B (primer tubo para la LLC) y el panel completo para el resto de entidades, los resultados obtenidos fueron:

Catlab Informa

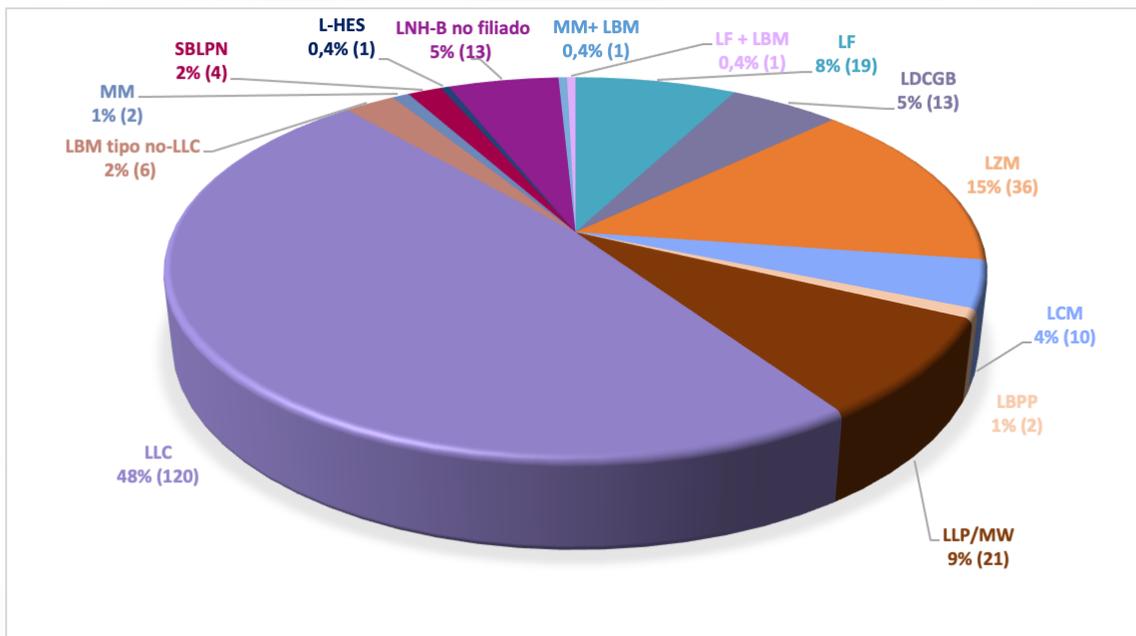


Figura 2: Síndromes linfoproliferativos crónicos B diagnosticados en CATLAB a partir del LST.

LLC: leucemia linfática crónica; LBM tipo no-LLC: linfocitosis B monoclonal tipo no LLC; MM: mieloma múltiple; SBLPN: linfoma esplénico de células B/leucemia con nucléolo prominente; LNH-B no filiado: linfoma no Hodgkin B no filiado; L-HES: síndrome hipereosinofílico de variante linfocítica; LF: linfoma folicular; LDCGB: linfoma difuso de células grandes B; LZM: linfoma de la zona marginal; LCM: linfoma de células del manto; LBPP: linfocitosis B policlonal persistente; LLP/MW: linfoma linfoplasmocítico/Macroglobulinemia de Waldenström; ALCL: linfoma anaplásico de células grandes.

Destacar que el tipo más detectado fue la Leucemia Linfocítica Crónica, entidad muchas veces infradiagnosticada por ser asintomática (OMS, 2017). En nuestro centro, por tratarse de un laboratorio de rutina en el cual se realizan estudios básicos de salud y donde, desde el departamento de hematología, nos remiten muestras de sangre para estudio inmunofenotípico de aquellos hemogramas en los que se detectan morfologías atípicas sugestivas de síndrome linfoproliferativo, los pacientes asintomáticos/sin clínica, en la mayoría de los casos, sí que los detectamos.

En cuanto a los SLPC-T y NK, los resultados de los paneles realizados fueron los siguientes:

Catlab Informa

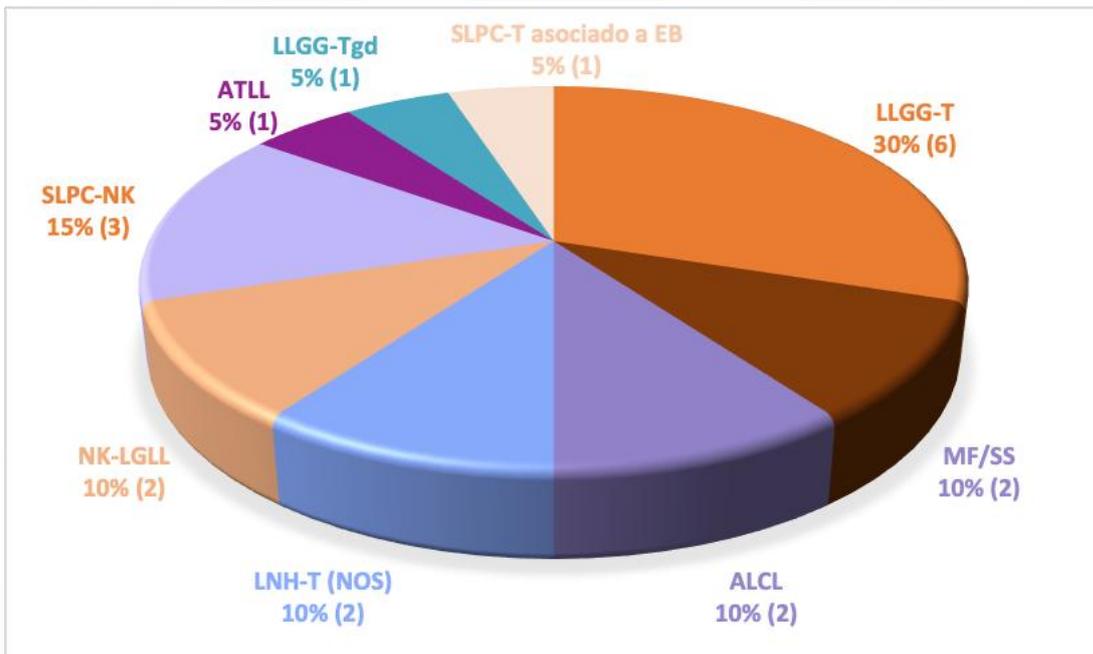


Figura 3: Síndromes linfoproliferativos crónicos T y NK diagnosticados en CATLAB a partir del LST.

LNH-T (NOS): linfoma periférico de células T (no especificado de otra manera); *NK-LGLL:* leucemia linfocítica de células NK grandes granulares; *ATLL:* linfoma T de células del adulto; *LLGG-Tgd:* linfoma de células T grandes granulares gamma/delta; *SLPC-T asociado a EB:* síndrome linfoproliferativo crónico T asociado a infección por Epstein-Barr; *LLGG-T:* linfoma de células T grandes granulares; *MF/SS:* Micosis fungoide/Síndrome de Sèzary.

En el caso de los SLPC-T y NK, el fenotipo más prevalente fue el de la Leucemia de Linfocitos Grandes Granulares.

En conclusión, del total de los 927 LST realizados en Catlab durante el 2023, con un área de influencia de aproximadamente 1.050.000 habitantes, un tercio fueron fenotipos atípicos. Como ya está descrito en la literatura, los fenotipos B clonales son mucho más prevalentes que los T/NK en la población general, fenómeno que se reproduce en nuestros resultados. Los fenotipos más detectados dentro de los SLPC-B fueron la LLC-B (120), seguida del LZM (36) y dentro de los SLPC-T/NK, la LLGG-T (6) y los SLPC-NK (3).

Para finalizar, consideramos de gran utilidad emplear el tubo de screening LST de Euroflow para orientar a nuestros clínicos y velar por la seguridad del paciente derivándolo de manera prioritaria a los servicios de Hematología Clínica cuando los hallazgos encontrados así lo requieren.

Catlab Informa

Nuria Pacheco

Facultativa residente de Análisis Clínicos

npacheco@catlab.cat

Judith Vidal

Facultativa Responsable de Citometría de Flujo

Tel. 93.748.56.00 – ext. 35041 / 616.26.48.91

jvidal@catlab.cat

Carlos Lázaro

Facultativo de Citometría de Flujo

Tel. 93.748.56.00 – ext. 35041 / 626.18.46.51

clazaro@catlab.cat

Bibliografía:

1. Van Dongen JJM, Lhermitte L, Böttcher S, Almeida J, van der Velden VHJ, Flores Montero J, et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia* (2012) 2012(26):1908–75.
2. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, Attygalle AD, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. 2022 Jul; 36 (7):1720-1748. doi: 10.1038/s41375-022-01620-2
3. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. WHO Classification of Tumours, Revised 4th Edition, Volume 2. 2017.