

CARACTERITZACIÓ DE LES SÍNDROMES LIMFOPROLIFERATIVES CRÒNIQUES A LA NOSTRA ÀREA D'INFLUÈNCIA: RESULTATS DEL CRIBRATGE D'EUROFLOW A CATLAB

Els limfòcits són cèl·lules d'origen hematopoètic que formen part del sistema immunitari i tenen la funció de reconèixer i respondre de manera específica i adaptada davant diferents agents estranys, així com d'induir tolerància envers estructures pròpies. Existeixen tres tipus: els limfòcits B, els limfòcits T i les cèl·lules *natural killer* (NK).

Els limfòcits B adquireixen la seva competència immunològica a la medul·la òssia. Entre les seves funcions principals destaquen la producció d'anticossos contra antígens i l'actuació com a cèl·lules presentadores d'antigen, facilitant l'activació de la resposta immune adaptativa. Eventualment poder transformar-se en cèl·lules B de memòria (de vida mitjana llarga) després de ser activades per la interacció amb l'antigen, fet que permet una resposta més ràpida i eficaç en cas d'una futura infecció pel mateix patògen.

Els limfòcits T s'originen a partir d'un progenitor limfoide comú a la medul·la òssia que pateix un procés de maduració i adquireix immunocompetència al timus. Posteriorment, abandonen el timus i passen a la sang perifèrica i als òrgans limfàtics secundaris, transformant-se en limfòcits T funcionalment madurs. Hi ha dues poblacions principals de limfòcits T madurs:

- Els limfòcits T col·laboradors, que expressen la molècula CD4, activen altres cèl·lules immunitàries com els limfòcits B, els limfòcits T citotòxics i els macròfags mitjançant l'alliberament de citocines, a més de facilitar la diferenciació de limfòcits B i tenir un paper clau en la resposta a infeccions víriques i bacterianes.
- Els limfòcits T citotòxics, que expressen l'antigen CD8, tenen com a funció principal destruir cèl·lules infectades per virus o cèl·lules tumorals.

Per últim, els limfòcits NK també s'originen a la medul·la òssia a partir de cèl·lules mare hematopoètiques, però, a diferència dels limfòcits T, no requereixen de la maduració al timus. Formen part de la resposta immune innata.

En qualsevol dels casos, la cèl·lula mare hematopoètica situada a la medul·la òssia, origina, entre d'altres, els limfoblasts (cèl·lules limfoides immadures) que, després de diverses etapes de maduració, donen lloc als limfòcits madurs. La transformació neoplàsica d'aquestes cèl·lules pot produir-se en qualsevol d'aquestes etapes maduratives, originant els diferents tipus de neoplàsies limfoides.

Les Síndromes Limfoprolifерatives Cròniques (SLPC) constitueixen un grup heterogeni de malalties oncohematològiques caracteritzades per l'expansió clonal de cèl·lules limfoides amb aspecte madur, que imiten diferents etapes de diferenciació normal dels limfòcits d'origen, i que presenten un avantatge proliferatiu i/o de supervivència respecte a les seves contraparts

Catlab Informa

normals en diversos òrgans com la medul·la òssia, la sang i els ganglis limfàtics, donant lloc a una acumulació progressiva de cèl·lules clonals i els seus productes en aquests teixits.

Segons l'Organització Mundial de la Salut (OMS), des del punt de vista fenotípic i d'acord amb el seu origen, els SLPC (o Neoplàsies de Cèl·lules Madures) es classifiquen en SLPC-B, i SLPC-T i NK. Els SLPC de limfòcits T i NK es consideren conjuntament en l'última classificació de l'OMS (2022), ja que alguns tipus presenten característiques clíniques, morfològiques, immunofenotípiques i evolutives similars, independentment de la cèl·lula expandida, i clarament diferents de les neoplàsies de limfòcits B madurs.

L'immunofenotipatge mitjançant la citometria de flux multiparamètrica és molt útil en el diagnòstic diferencial entre una limfocitosi reactiva i un trastorn limfoproliferatiu crònic. Es basa en la identificació d'un tipus cel·lular específic segons l'expressió (o manca de la mateixa) de marcadors antigènics individuals mitjançant anticossos conjugats amb fluorocroms.

Es poden analitzar mostres de qualsevol tipus de teixit que permeti obtenir una suspensió cel·lular, com ara medul·la òssia, sang total, biòpsia, gangli limfàtic, líquid cefaloraquídi, etc...

➤ Algoritme utilitzat a Catlab per a l'estudi de limfòcits:

Davant la sospita d'un SLPC, apliquem l'estratègia recomanada pel grup Euroflow (Figura 1). Seguint aquest algoritme diagnòstic, quan volem determinar si la mostra conté una població de cèl·lules madures B, T o NK amb fenotip normal/reactiu o aberrant, utilitzem el Tub de Screening Limfocitari o Lymphoid Screening Tube (LST).

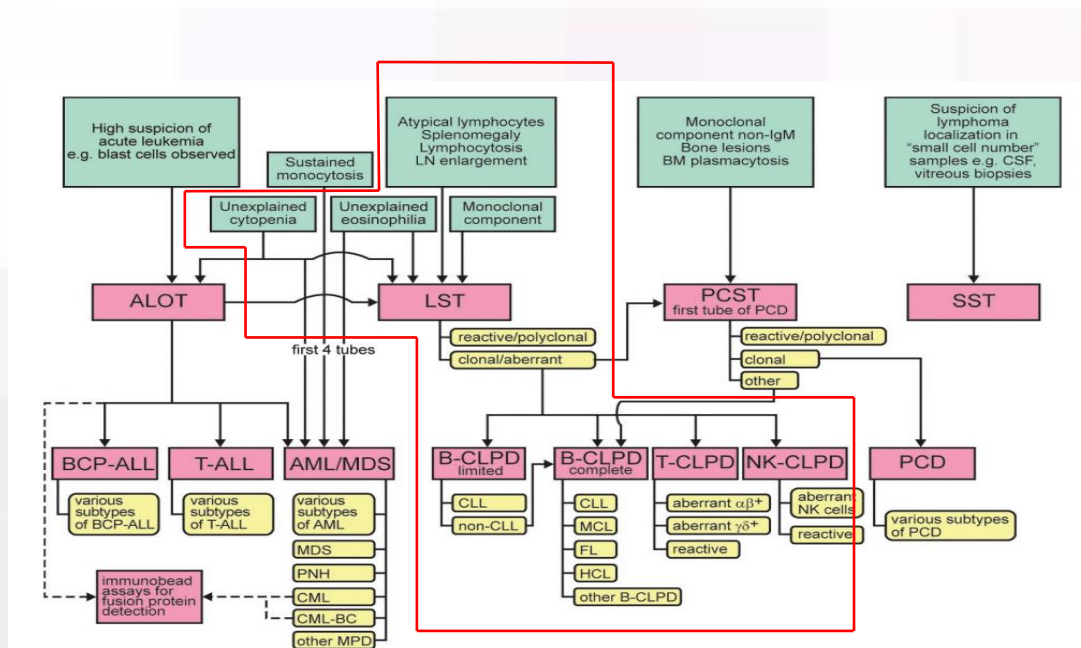


Figura 1. Diagrama de flux d'Euroflow amb l'estratègia per a la caracterització immunofenotípica de neoplàsies hematològiques.

Catlab Informa

Abreviatures: ALOT, tub d'orientació per a leucèmia aguda; AML, leucèmia mieloide aguda; BC, crisi de blasts; BCP, precursor de cèl·lules B, MO, medul·la la òssia, LLC, leucèmia limfocítica crònica; CLPD, trastorns limfoproliferatius crònics: CML, leucèmia mieloide crònica; LCR, líquid cefalorraquidi; FL: limfoma fol·licular; HCL, leucèmia de cèl·lules piloses; LN, gangli limfàtic; LST, tub de cribratge limfoide; MCL, limfoma de cèl·lules del mantell; MDS, síndrome mielodisplàtica, MPD, trastorns mieloproliferatius: PCD, trastorns de les cèl·lules plasmàtiques; PCST, tub de cribratge de cèl·lules plasmàtiques; HPN: hemoglobinúria paroxística nocturna; SST, tub de mostra petita.

La combinació d'anticossos i fluorocroms del LST es mostra a la taula 1.

TUB LST- CRIBRATGE 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

Taula 1: Panell cribratge limfocitari dissenyat i validat pel Consorci Euroflow. *Fluorocroms en la part superior i **anticossos marcats en la fila inferior.

Aquesta combinació de vuit fluorocroms/canals es detecta amb els tres làsers dels citòmetres que disposem FACSCanto II™ i FACSLytic™ de BD i ens permet enfrontar 12 anticossos simultàniament (de línia B, T i NK) utilitzant en un mateix canal anticossos excloents.

Amb el patró fenotípic limfocitari obtingut de l'anàlisi dels resultats d'aquest tub amb el programari Infinicyt™, s'ampliarà l'estudi amb un o altre panell més específic per a poder filiar la població atípica en qüestió o bé, ja no procedirà continuar aquest estudi en el cas de no detectar cap població amb fenotip aberrant que sigui suggestiva de SLPC-B, T o NK, com es mostra en la part marcada en vermell del diagrama de la figura 1.

➤ Resultats del Cribratge de limfòcits d'Euroflow a Catlab:

En el nostre laboratori, a l'any 2023, vam realitzar un total de 927 LST, dels quals, el 27% (249) va resultar ser una SLPC-B, el 2% SLPC-T/NK (20), el 3% (30) van ser resultats no valorables (considerant-se aquests, les mostres amb un recompte de limfòcits inferior al límit de quantificació) i el 6% (57) es tractaven d'estudis de seguiment o estadiatge.

Desglossant les SLPC-B en els diferents tipus existents, al realitzar el primer tub del panell B en el cas de la LLC o el panell complet per a la resta d'entitats, els resultats obtinguts van ser:

Catlab Informa

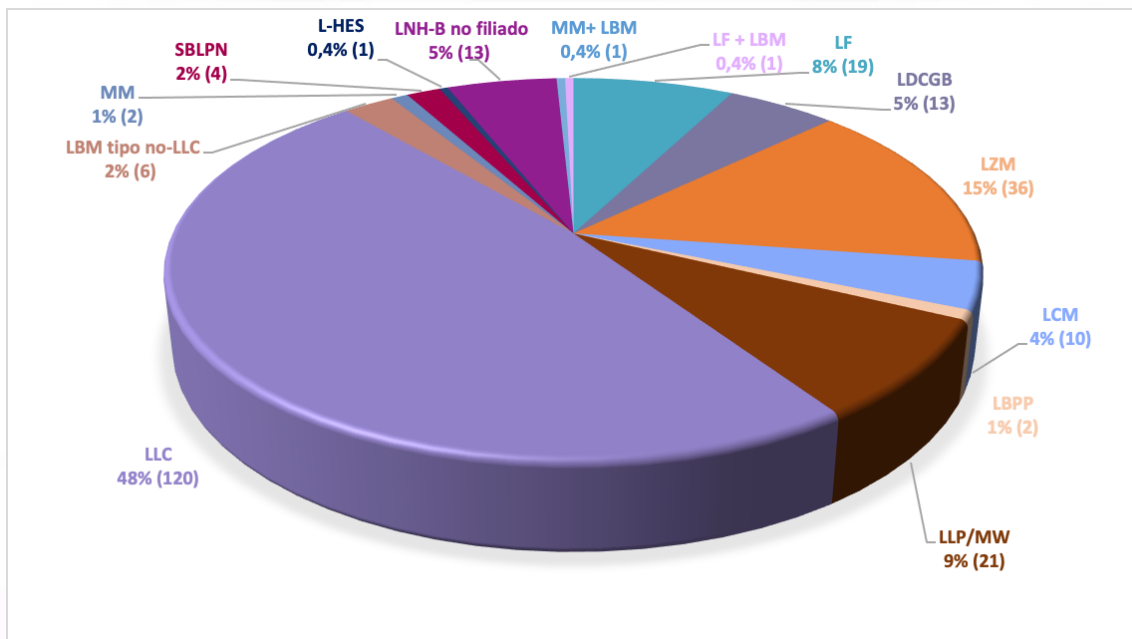


Figura 2: Síndromes limfoproliferatives cròniques B diagnosticades a CATLAB a partir del LST.

LLC: leucèmia limfàtica crònica; LBM tipus no-LLC: limfocitosi B monoclonal tipus no LLC; MM: mieloma múltiple; SBLPN: limfoma esplènic de cèl·lules B/leucèmia amb nuclèol prominent; LNH-B no filiat: limfoma no Hodgkin B no filiat; L-HES: síndrome hipereosinofílic de variant limfocítica; LF: limfoma fol·licular; LDCGB: limfoma difús de cèl·lules grans B; LZM: limfoma de la zona marginal; LCM: limfoma de cèl·lules del mantell; LBPP: limfocitosi B policlonal persistent; LLP/MW: limfoma limfoplasmocític / macroglobulinèmia de Waldenström; ALCL: limfoma anaplàstic de cèl·lules grans.

Destacar que el tipus més detectat va ser la Leucèmia Limfocítica Crònica, entitat moltes vegades infradiagnosticada per ser asimptomàtica (OMS, 2017). En el nostre centre, per tractar-se d'un laboratori de rutina en el qual es realitzen estudis bàsics de salut i on, des del departament d'hematologia, ens remeten sangs per a l'estudi immunofenotípic d'aquells hemogrames en els quals es detecten morfologies atípiques suggestives de síndrome limfoproliferativa, els pacients asimptomàtics/sense clínica, en la majoria dels casos, sí que els detectem.

Pel que fa als SLPC-T i NK, els resultats dels panells T i NK van ser els següents:

Catlab Informa

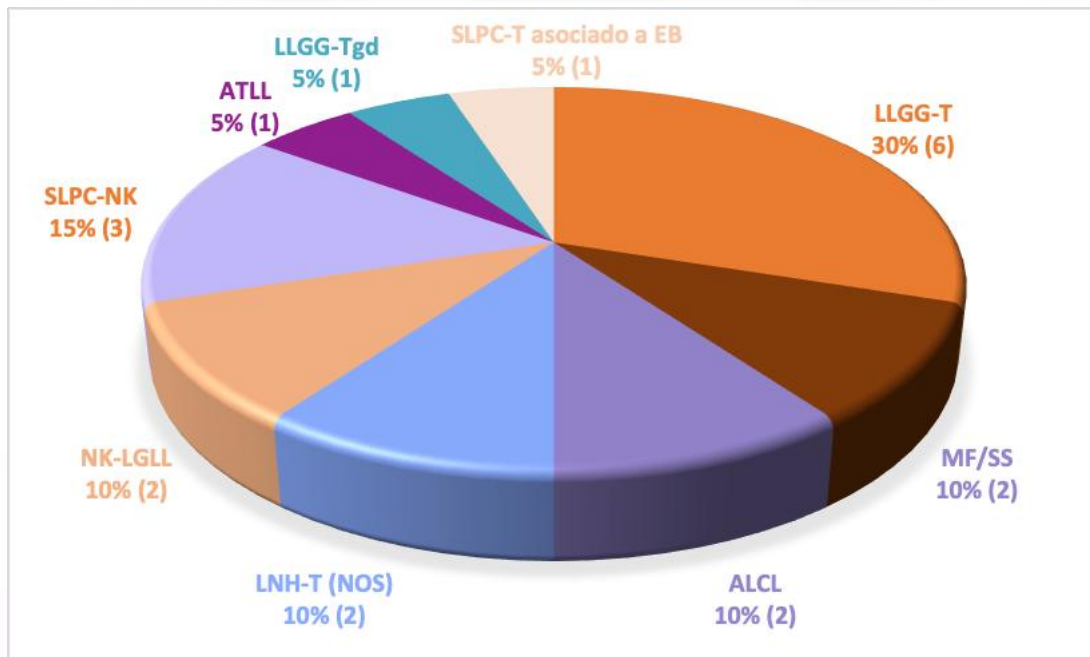


Figura 3: Síndromes limfoproliferatives cròniques T i NK diagnosticades a CATLAB a partir del LST.

LNH-T (ENS): limfoma perifèric de cèl·lules T (no especificat d'una altra manera); NK-LGLL: leucèmia limfocítica de cèl·lules NK grans granulars; ATLL: limfoma T de cèl·lules de l'adult; LLGG-T $\gamma\delta$: limfoma de cèl·lules T grans granulars gamma/delta; SLPC-T associat a EB: síndrome limfoproliferativa crònica T associat a infecció per Epstein-Barr; LLGG-T: limfoma de cèl·lules T grans granulars; MF/SS: Micosi fungoide/Síndrome de Sèzary.

En el cas dels SLPC-T i NK, el fenotip més prevalent va ser el de la Leucèmia de Limfòcits Grans Granulars.

En conclusió, del total dels 927 LST realitzats a Catlab durant el 2023, amb una àrea d'influència d'aproximadament 1.050.000 habitants, un terç van ser fenotips atípics. Com està descrit a la literatura, els fenotips B són molt més prevalents que els T/NK en la població general, fenomen que es reproduïx en els nostres resultats. Els fenotips més detectats dins dels SLPC-B van ser la LLC-B (120), seguida del LZM (36) i dins dels SLPC-T/NK, la LLGG-T (6) i els SLPC-NK (3).

Per finalitzar, considerem de gran utilitat, emprar el tub de cribratge LST d'Euroflow per descartar síndromes limfoproliferatives i orientar als nostres clínics, a més de vetllar per la seguretat del pacient quan les troballes requereixen la derivació a Hematologia Clínica.

Catlab Informa

Nuria Pacheco

Facultativa resident d'Anàlisis Clíniques

npacheco@catlab.cat

Judith Vidal

Facultativa Responsable de Citometria de Flux

Tel. 93.748.56.00 – ext. 35041 / 616.26.48.91

jvidal@catlab.cat

Carlos Lázaró

Facultatiu de Citometria de Flux

Tel. 93.748.56.00 – ext. 35041 / 626.18.46.51

clazaro@catlab.cat

Bibliografia:

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.