

Leucemia Linfocítica de células T Grandes Granulares (T-LGLL)

El sistema inmunitario es una red compleja constituida por células, tejidos y órganos que trabajan de manera conjunta para mantener el organismo libre de infecciones y procesos neoplásicos. Entre las células que participan destacan los linfocitos, que presentan la capacidad de identificar agentes patógenos y generar respuestas inmunológicas tanto innatas como adaptativas.

Podemos distinguir tres subfamilias de linfocitos principales: Linfocitos B, responsables de la producción de anticuerpos; linfocitos T, esenciales en la respuesta adaptativa; y linfocitos Natural Killer (NK), que forman parte de la respuesta inmunológica innata.

Los linfocitos T pertenecen al sistema inmunitario adaptativo y se originan a la médula ósea a partir de un progenitor linfoide común. Posteriormente se desplazan hacia el timo, donde maduran y adquieren la capacidad de reconocer antígenos a través del receptor de superficie TCR.

Durante su maduración, sufren un proceso de recombinación de los genes TCR α , TCR β , TCR γ y TCR δ , paralelo a cambios fenotípicos que van desde un estado CD4–CD8– hasta el fenotipo CD4+CD8+. Posteriormente, son sometidos a un proceso de selección que elimina aquellas células con reactividad hacia antígenos propios.

Finalmente los linfocitos T se diferencian en dos subpoblaciones principales:

- **Linfocitos T helper (CD4+CD8-):** Encargados de modular la respuesta inmunológica a través de la secreción de citocinas y la activación otras células.
- **Linfocitos T citotóxicos (CD4-CD8+):** responsables de eliminar células infectadas o tumorales.

Estos linfocitos CD4+ o CD8+ maduros, posteriormente migran a sangre periférica y a los órganos linfáticos secundarios, donde entran en contacto con el antígeno, proceso esencial para que cada subpoblación de linfocitos T desarrolle su rol en la respuesta inmunológica y ésta sea específica y efectiva.

Catlab Informa

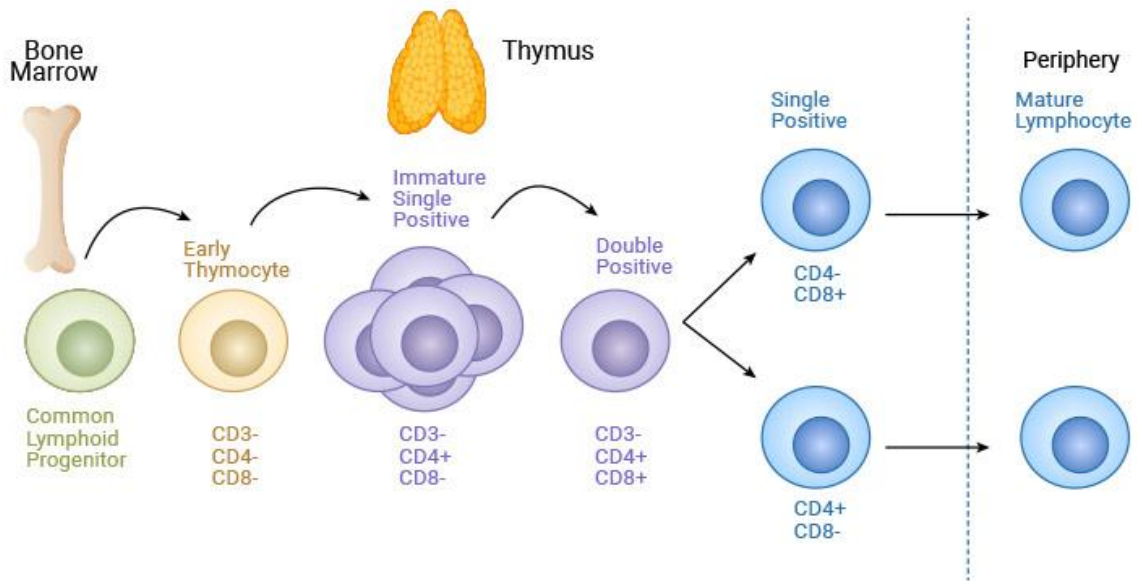


Figura 1: Esquema de la maduración de los linfocitos T [Imagen en internet]. CUSABIO team. *T Cell Activation - The Switch for T Cell Executive Function* [citad el 25 de diciembre de 2025]. Disponible en: <https://www.cusabio.com/c-21187.html>

NEOPLASIAS DE CÉLULAS T Y NK MADURAS:

Las neoplasias de células T y NK maduras constituyen un conjunto heterogéneo de enfermedades malignas linfoides poco frecuentes que implican, o bien, a los linfocitos T, o bien, a las células NK y que a menudo comparten mecanismos fisiopatológicos similares.

Su incidencia varía del 10% al 15% de los linfomas de células maduras a nivel mundial. En nuestro laboratorio, Catlab, según el análisis de los estudios de síndromes linfoproliferativos realizados durante el 2023, estas neoplasias representaron solo el 2% del total, confirmando la baja prevalencia.

Según la última clasificación de la OMS de 2022 (WHO-HAEM5), las neoplasias de células T y NK maduras se dividen en nueve familias. Dentro de la familia de las “Leucemias de células T y NK maduras” se incluyen seis entidades caracterizadas por presentarse en forma de enfermedad leucémica, y entre estas encontramos la leucemia de linfocitos T grandes granulares (T-LGLL).

Este marco clasificatorio es esencial para contextualizar la T-LGLL, que representa un reto diagnóstico por su similitud fenotípica con poblaciones reactivas.

Catlab Informa

LEUCEMIA LINFOCÍTICA DE CÉLULAS T GRANDES GRANULARES:

La leucemia linfocítica de células T grandes granulares es un trastorno linfoproliferativo crónico poco frecuente que representa el 2-5% de las leucemias linfocíticas de células maduras. De hecho, es el fenotipo más prevalente dentro de los síndromes linfoproliferativos crónicos de células T y NK. Así lo muestra el estudio publicado en el Catlab Informa N.º 149, que analizó los resultados obtenidos de la criba de Euroflow en Catlab, donde la leucemia linfocítica de células T grandes granulares supuso el 35% de los casos sobre el total de SLPc-T y NK diagnosticados en el 2023.

Habitualmente esta entidad sigue un curso clínico indolente (85% de los casos) y se presenta por igual en ambos sexos. A pesar de que no tiene un pico de edad claramente definido, la mayoría de los casos se diagnostican en pacientes de entre 45 y 75 años de edad.

La T-LGLL se caracteriza por una expansión clonal de linfocitos T grandes granulares citotóxicos que se manifiesta con un incremento persistente de éstos en sangre periférica, habitualmente con concentraciones superiores a 2×10^9 células/L, durante más de seis meses, y sin una causa identificada.

La evidencia actual sugiere que el origen fisiopatológico de la T-LGLL es una estimulación antigénica crónica de linfocitos T citotóxicos, mayoritariamente CD8⁺, en la cual las alteraciones de las vías de supervivencia y de apoptosis favorecen la persistencia y la expansión clonal.

En este contexto, se han propuesto varios mecanismos fisiopatológicos que podrían contribuir a la expansión clonal a lo largo de diferentes etapas, entre las cuales destaca la activación de la vía JAK-STAT. Esta vía JAK-STAT es una de las rutas más importantes para regular la proliferación, supervivencia, diferenciación y la respuesta inmune. En la T-LGLL se adquieren mutaciones que activan a STAT3 promoviendo la expansión de estos linfocitos citotóxicos y el incremento de expresión de proteínas antiapoptóticas como por ejemplo la BCL-2.

En lo que se refiere al perfil genético, las alteraciones moleculares son uno de los criterios de apoyo para identificar la naturaleza clonal de una proliferación de LGLL según la WHO-HAEM5 (2022–2024).

Catlab Informa

Se han descrito dos mutaciones principales asociadas a las LGLL:

o **Mutaciones en STAT3**: son mutaciones especialmente recurrentes en las T-LGLL CD8+. La activación de STAT3, tal y como se ha comentado en el apartado de fisiopatología, se ha relacionado con su patogénesis, especialmente con la neutropenia, por este motivo, se cree que la ausencia de la mutación en STAT3 en la variante CD4+ explica por qué esta variante no se presenta con neutropenia.

o **Mutaciones en STAT5b**: Éstas se han descrito en más de la mitad de los casos de T-LGLL CD4+ TCR $\alpha\beta$ +, las cuales son mutaciones muy poco frecuentes en T-LGLL CD8+.

Esta distribución diferencial puede ser útil para reforzar el diagnóstico y entender diferencias biológicas entre variantes.

A pesar de que la WHO-HAEM5 no establece unos criterios estrictos para el diagnóstico de la T-cell large granular lymphocytic leukemia, varias publicaciones y guías clínicas han intentado concretarlos. En este sentido, Jevremovic D et al. (2019) proponen los siguientes criterios, de los cuales hay que cumplir dos de los tres criterios esenciales.

Los criterios esenciales son:

- Inmunofenotipo de linfocitos T aberrante con pérdida de la expresión de CD5 y/o CD7 y/o CD16 y presencia de receptores asociados a NK.
- Monoclonalidad de los linfocitos T confirmada por PCR.
- Infiltración medular de linfocitos citotóxicos con patrón sinusoidal.

Adicionalmente se han descrito también criterios deseables, que son:

- Presencia de mutaciones STAT3 o STAT5b.
- Recuento de linfocitos T citotóxicos elevado en sangre periférica habitualmente $>2 \times 10^9/L$ (en algunos casos puede ser inferior).

La morfología y el inmunofenotipo de la T-LGLL a menudo se solapan con los de los linfocitos T efectores terminales normales, hecho que complica el diagnóstico y requiere una integración diagnóstica estrecha entre la citometría de flujo, la biología molecular y la clínica.

Catlab Informa

INMUNOFENOTIPO T-LGLL:

La mayor parte de los casos de T-LGLL presentan un fenotipo **CD3+CD8+** y expresan un **TCR α / β +**, ésto se debe a que se trata de un trastorno de células T maduras citotóxicas y, por lo tanto, el inmunofenotipo concuerda con el de una célula T efectora terminalmente diferenciada (CD8+CD57+CD28–CD45RA+).

No obstante, el fenotipo de la LGLL-T frecuentemente muestra aberraciones características que permiten diferenciarlo de poblaciones reactivas (pérdida de CD5, pérdida de CD7, sobreexpresión de CD16 o CD56, e incremento de CD57).

La CFM es la herramienta clave para identificar estas aberraciones y caracterizar la clona de LGLL-T, especialmente en fases iniciales o en recuentos bajos.

El inmunofenotipo esperado es:

CD2+,CD3+, CD8+, CD4-, CD57+, TCR α β +, CD16+ i marcadores de efector citotóxico (TIA1+, Granzima B+, Granzima M+ y Perforina+).

És común la expresión débil o pérdida de los marcadores Pan-T CD5 y CD7.

Más allá del inmunofenotipo convencional, la T-LGLL también puede presentarse como CD4+, así como CD4- CD8-, CD4+ CD8+ y algunos TCR γ δ +. En el caso de las CD4+ el curso clínico suele ser más indolente y el perfil mutacional también varía puesto que más de la mitad de casos presentan mutaciones en STAT5b, y en cambio, hay ausencia de mutaciones en STAT3.

FENOTIPOS T-LGLL CLONALES EN PACIENTES SIN T-LGLL:

Se ha descrito la presencia de expansiones clonales persistentes de linfocitos grandes granulares en contextos **no neoplásicos**. Por este motivo, es clave conocer en qué situaciones aparecen estas poblaciones clonales y diferenciarlas de una verdadera T-LGLL.

La presencia de estas expansiones clonales se han descrito en los siguientes escenarios:

- o **Pacientes trasplantados**
- o **Enfermedades autoinmunitarias e infecciones víricas crónicas**

Catlab Informa

- o **Otras neoplasias hematológicas**
- o **Pacientes de edad avanzada**

En muchos casos, los pacientes pueden presentar poblaciones clonales persistentes durante más de seis meses, pero se encuentran asintomáticos, sin citopenias y con un recuento absoluto de linfocitos grandes granulares por debajo del umbral diagnóstico de la LGLL (<500 células/ μ L). En estos casos hablamos de la **limfocitosis T monoclonal de significado incierto (T-CUS**, por sus siglas en inglés).

La publicación T cell clones of uncertain significance. When is the rogue clone dangerous de Gianpietro Semenzato (2024) sugiere que la presencia de estas poblaciones clonales puede estar presente en aproximadamente el 1–2 % de la población sana, y es más frecuente en personas de edad avanzada.

Ante la posibilidad de poblaciones clonales reactivas o neoplásicas, la citometría de flujo multiparamétrica es esencial para establecer el origen, detectar fenotipos atípicos y ampliar el estudio molecular en caso necesario.

ESTRATEGIA DE ANÁLISIS POR CITOMETRÍA DE FLUJO (CFM):

En el laboratorio de **Catlab** seguimos la estrategia de análisis de las poblaciones linfocitarias a través del algoritmo propuesto por el consorcio de **Euroflow**, aunque con algunas modificaciones adaptadas a las necesidades diagnósticas de nuestro centro y al perfil de las muestras recibidas.

Esta estrategia consiste en la realización en primer lugar de un estudio con el tubo LST (Lymphoid Screening Tube). Este tubo contiene una combinación de anticuerpos que nos permiten identificar el linaje celular causante de la limfocitosis, clasificar las células en las subpoblaciones principales, detectar los fenotipos aberrantes más comunes y la clonalidad de los linfocitos B.

La tabla siguiente describe la configuración del Tubo LST:

V450	V500	FITC	PE	PERCP-CY5.5	PE-CY7	APC	APC-H7
CD20/CD4	CD45	CD8/SmIg λ	CD56/SmIg κ	CD5	CD19/TCR γ/δ	CD3	CD38

Tabla 1: Configuración del panel de anticuerpos para la caracterización y cuantificación de las principales poblaciones de linfocitos (T, B y NK) y la evaluación de la clonalidad de las células B mediante las cadenas ligeras Kappa y Lambda.

Catlab Informa

Los marcadores que servirán para identificar las células T, sus subpoblaciones y posibles aberraciones son:

- CD3: identificación de los linfocitos T
- TCR γ/δ : subtipo de receptor de la célula T (La mayoría de linfocitos T serán α/β tanto a la célula normal como las atípicas)
- CD4 y CD8: subpoblaciones principales de linfocitos T
- CD5 y CD56: aberrancias inmunofenotípicas comunes en T-LGLL

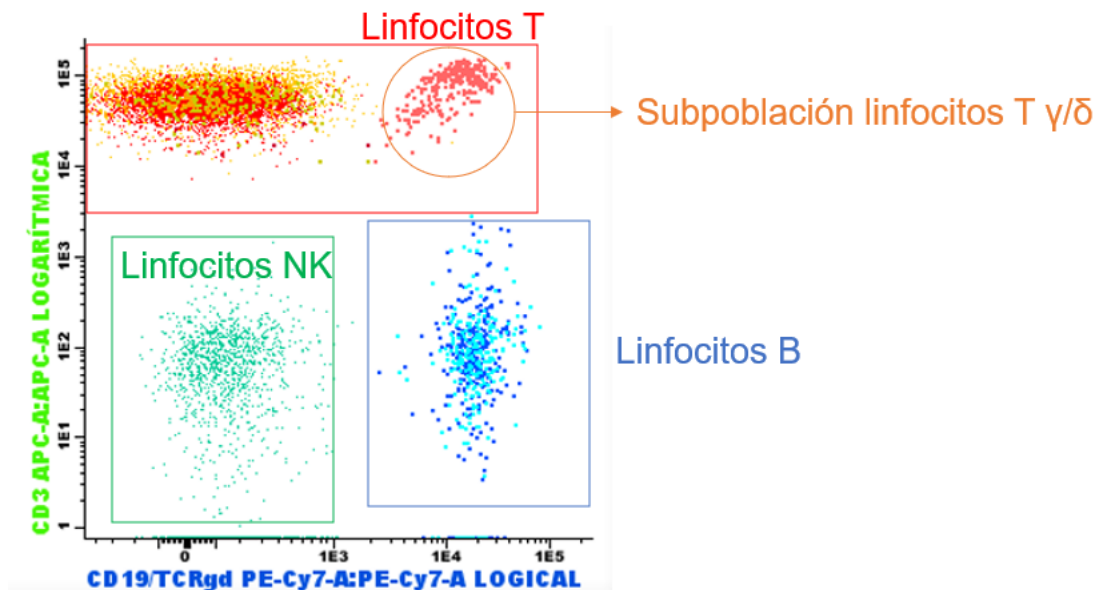


Figura 2: "Dot plot" donde aparece el marcador CD3, que permite identificar la población de linfocitos T.

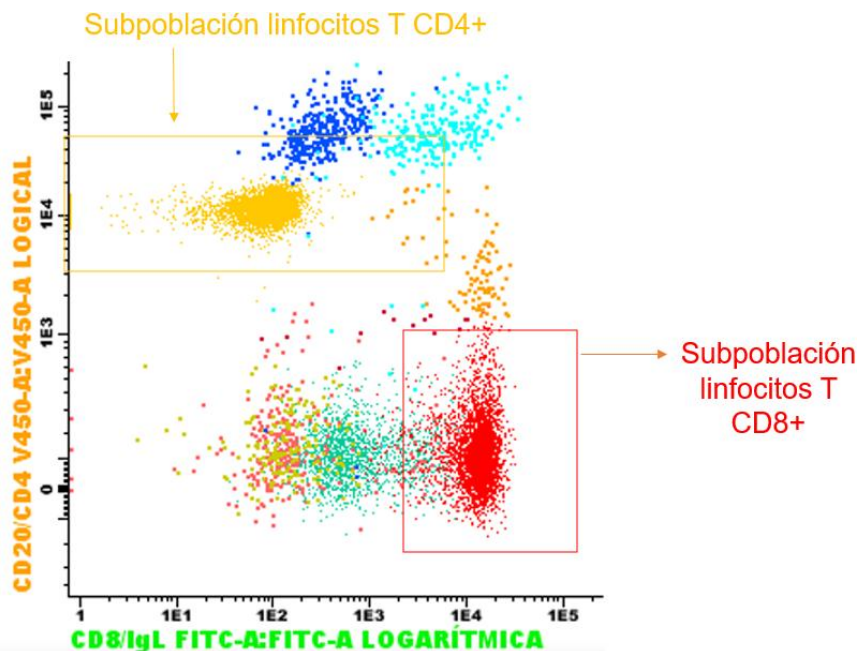
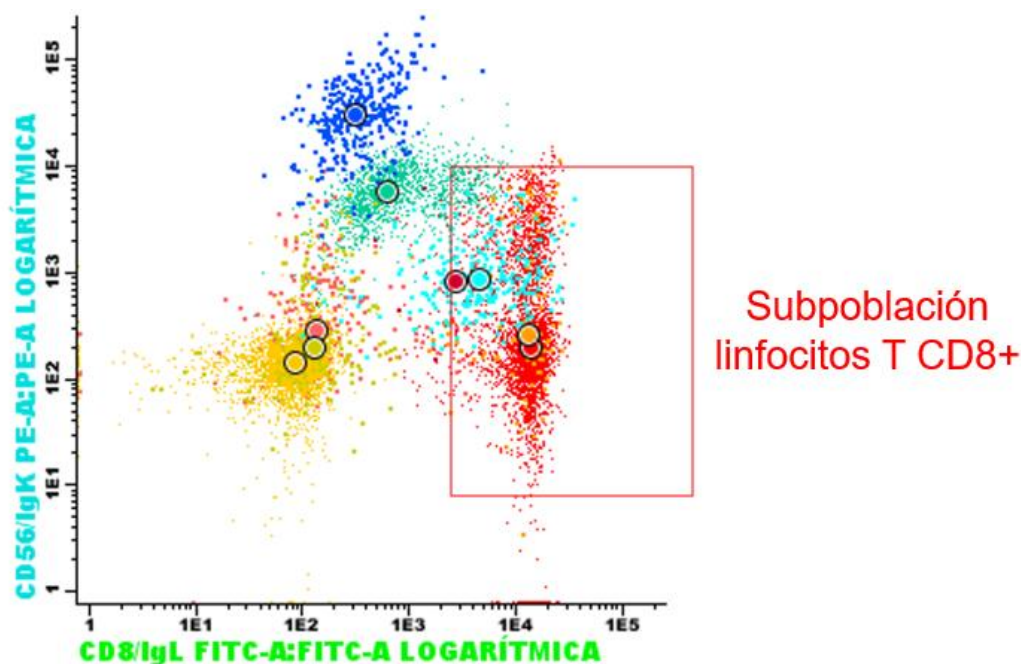


Figura 3: "Dot plot" donde aparecen los marcadores CD4 y CD8, que permite identificar las subpoblaciones de linfocitos T.

Catlab Informa



Figura

4: "Dot plot" donde aparecen los marcadores CD56 y CD8, que permite identificar las subpoblaciones de linfocitos T CD8+ que expresan parcialmente CD56.

En el caso de detectar una población T expandida, aberrante o sugestiva de LGLL ampliaremos el estudio para confirmar la clonalidad y estudiar el fenotipo según el tipo celular.

El análisis de la clonalidad se hará a través del estudio molecular confirmatorio del reordenamiento del TCR, que consiste al realizar una PCR ("gold-standard"), aun así, previamente disponemos de una estrategia orientativa y de cribaje por citometría de flujo que se basa en el anticuerpo anti-TRBC1.

El uso del anticuerpo TRBC1 permite una evaluación sensible, rápida y sencilla de la clonalidad de las células T. Se basa en el reconocimiento de la expresión de una de las dos isoformas o variantes de la región constante de la cadena beta del TCR (TRBC1 o TRBC2) que son mutuamente excluyentes. El resultado será sugestivo de clonalidad si la expresión de TRBC1 es <3 % o >97 %, a pesar de que algunos autores (Shi M. et al., 2019) consideran adecuado un punto de corte de TRBC1 <15 % o >85 % para evaluar la clonalidad. Esta técnica ha demostrado una concordancia del 96% con las técnicas moleculares para la evaluación de la clonalidad de las células T $\alpha\beta$ (Muñoz-García, N. et al., 2021).

Una vez demostrada la clonalidad de las células tendremos que hacer el fenotipo extensivo de la población de interés a través del panel T para poder filiarla.

Catlab Informa

- **Panel T:** este panel se compone de seis tubos complementarios que integran marcadores de diferenciación, activación, citotoxicidad y receptores TCR, configuración que permite una caracterización fenotípica exhaustiva de la clona y la identificación de posibles aberraciones fenotípicas.

	V450	V500	FITC	PE	PERCP-CY5.5	PE-CY7	APC	APC-H7
TUB-1	CD4	CD45	CD7	CD28	CD3	CD2	CD26	CD8
TUB-2	CD4	CD45	-	CD45RO	CD3	CD45RA	CD27	CD8
TUB-3	CD4	CD45	CD8	CD25	CD5	-	Cy-TCL1	CD3
TUB-4	CD4	CD45	CD57	CD30	CD11c	TCR $\gamma\delta$	CD3	CD8
TUB-5	CD4	CD45	Cy Perfo	Cy Granz	CD3	CD2	CD94	CD8
Control perf	-	CD45	Cy control negativo perforina	-	CD3	-	-	-
TUB-6	CD4	CD45	CD8	CD279	HLADR	-	CD3	CD10

"Cy": marcador citoplasmático

Tabla 2: Configuración del panel T para la caracterización de las diferentes subpoblaciones de linfocitos T.

Finalmente, si se demuestra una expansión de linfocitos granulares con un fenotipo aberrante y monoclonalidad confirmada por PCR, se aplicarán los criterios de la WHO-HAEM5 para clasificarla como T-LGLL. Adicionalmente se recomendará realizar el estudio de las mutaciones STAT3 y STAT5b, puesto que su presencia refuerza el diagnóstico y ayuda a predecir el curso clínico.

En los casos donde se detecte una población clonal pero el paciente sea asintomático y el recuento celular sea <500 células/ μ L habrá que considerar que nos encontramos ante una **Linfocitosis T Monoclonal de Significado Incierto (T-CUS)**. En Catlab se propone un seguimiento evolutivo a 6 – 12 meses para determinar si la población se mantiene estable o evoluciona hacia una T-LGLL partiendo de la siguiente estrategia:

Catlab Informa

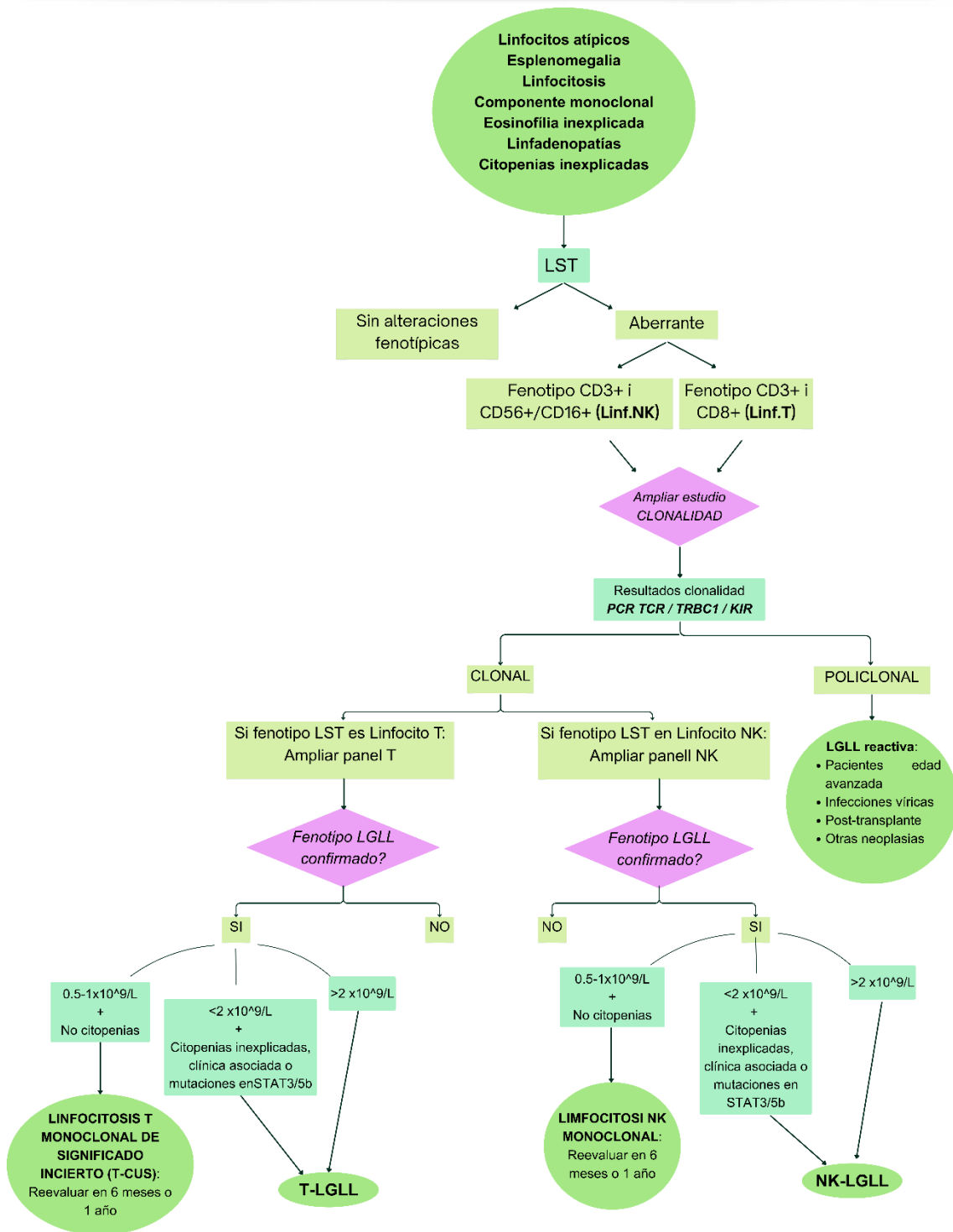
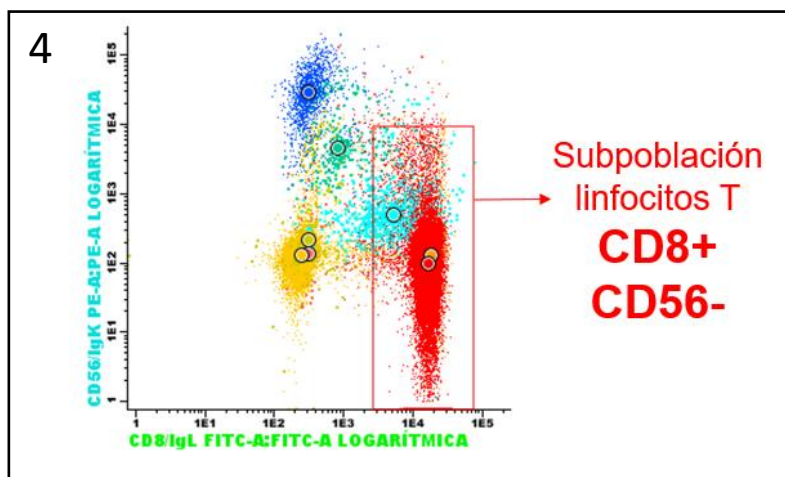
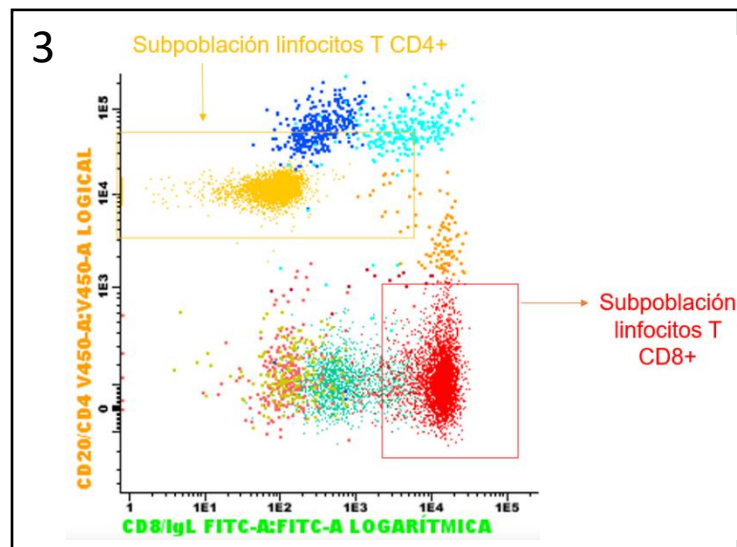
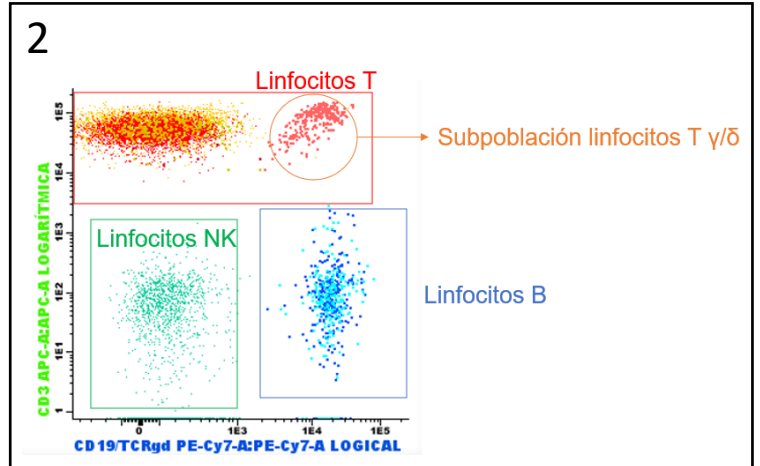
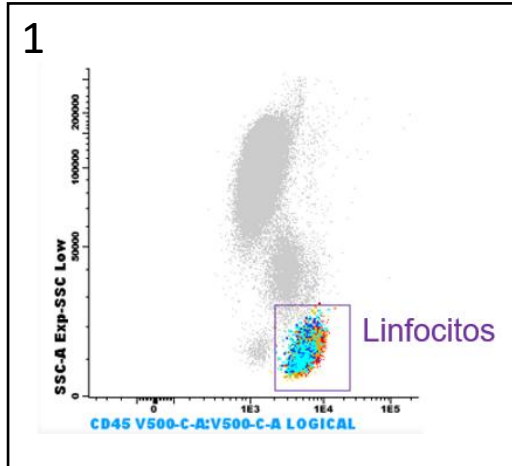


Figura 5: Esquema de l'estratègia d'anàlisi per CFM utilitzada a Catlab per a l'estudi de la T-LGLL i NK-LGLL.

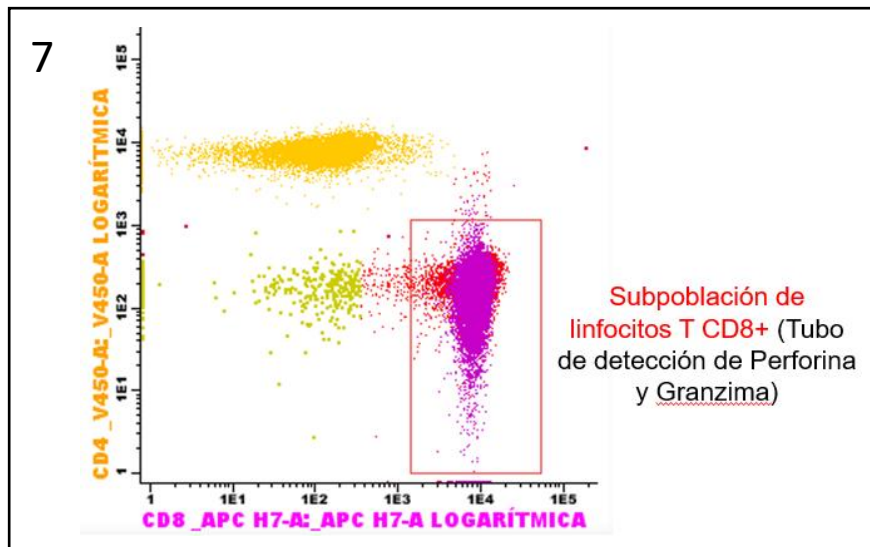
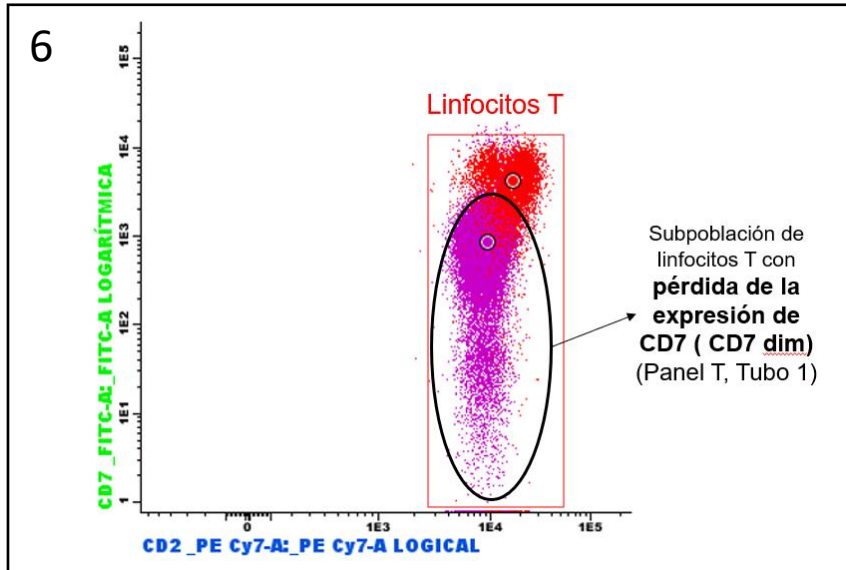
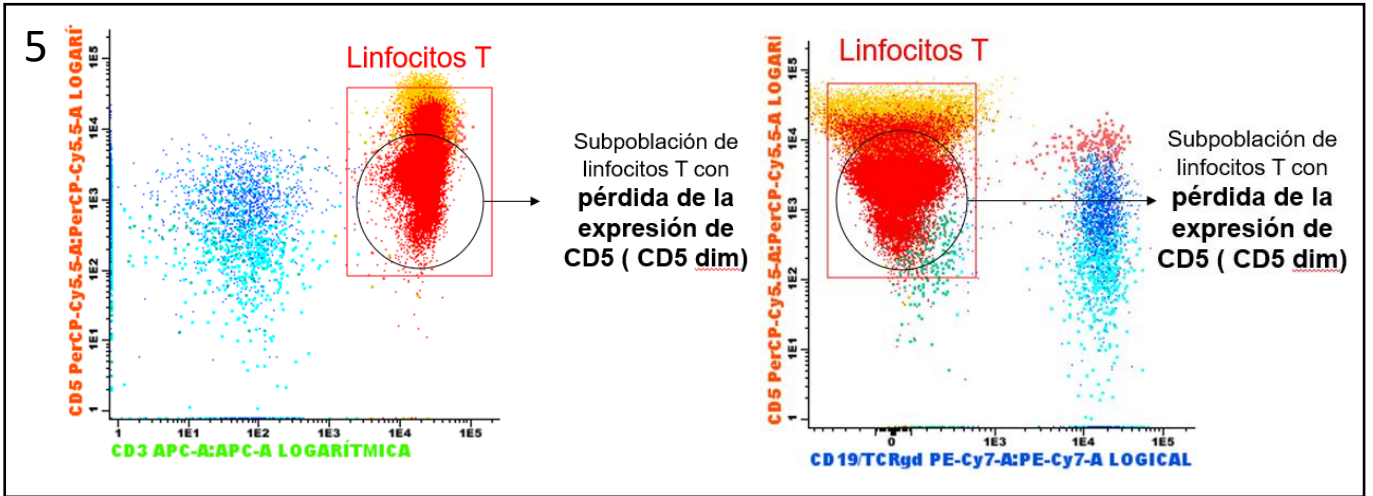
Catlab Informa

EJEMPLO DE T-LGLL DIAGNOSTICADA EN CATLAB:

A continuación se presenta un caso clínico ilustrativo de T-LGLL diagnosticada en Catlab.



Catlab Informa



Catlab Informa

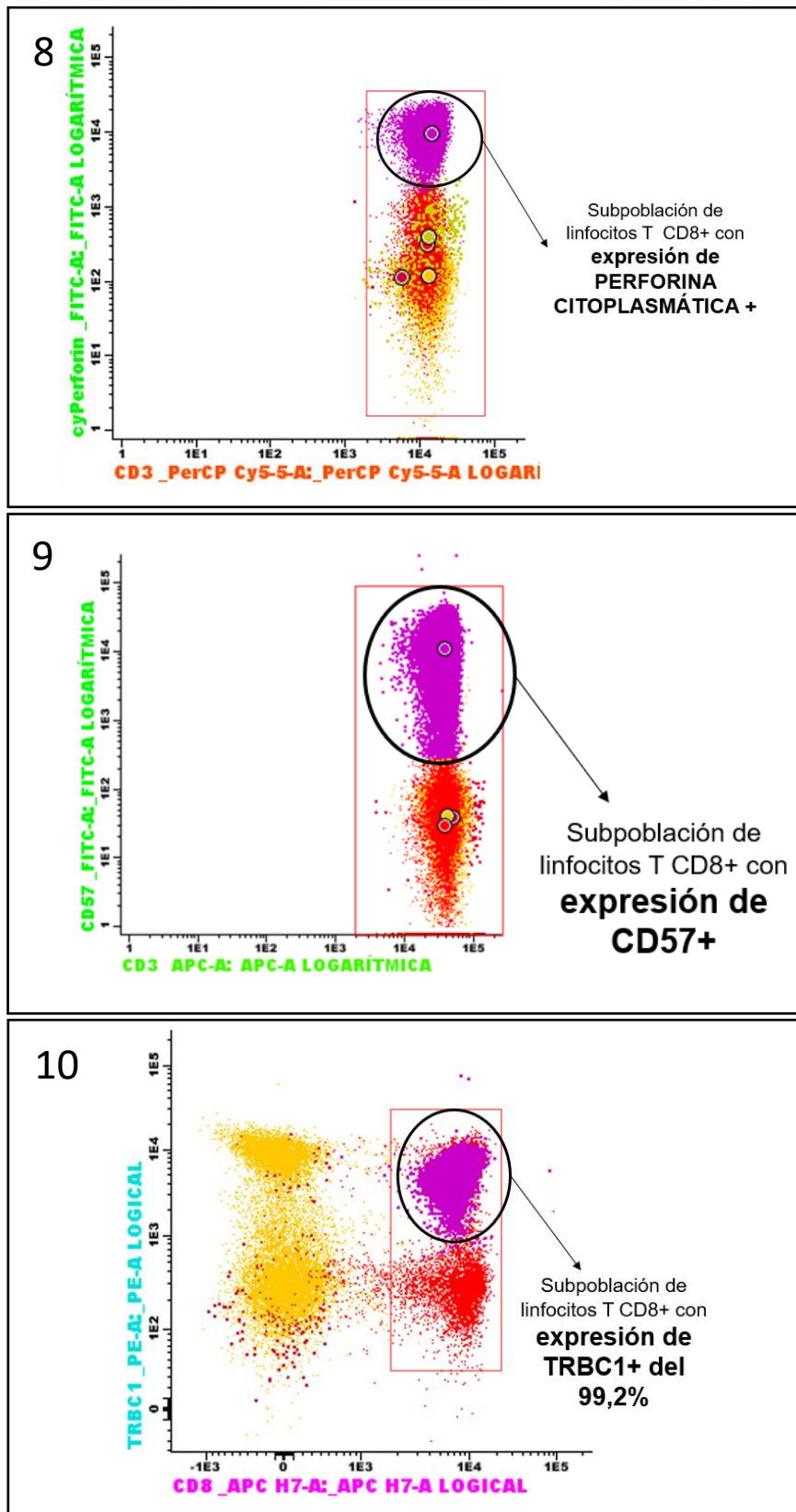


Figura 6: Detección de una población de linfocitos T aberrantes correspondientes a una T-LGLL a través de la citometría de flujo multiparamétrica en Catlab. El fenotipo final obtenido para la población patológica fue: CD3+, CD8+, CD56-, CD5dim, CD26-, CD28-, CD2+, CD7dim, CD57+, CD11c+, CD30-, CD94+, CytPerforina+, CytGranzima+.

Catlab Informa

En definitiva, la correcta caracterización de las proliferaciones linfocitarias de tipo granular (T y NK) requiere integrar los datos clínicos, morfológicos, fenotípicos y moleculares. En este contexto, la CFM, aplicando los protocolos estandarizados de Euroflow, constituye una herramienta esencial para el diagnóstico diferencial entre estas entidades (T-LGLL, NK-*LGLL, T-CUS y NK-CUS). El uso de estos protocolos garantiza la reproductibilidad entre centros. En Catlab hemos implementado esta metodología armonizada para poder aportar resultados robustos y clínicamente relevantes, consolidando la citometría como pilar fundamental en la evaluación de las proliferaciones linfocitarias T.

Judit Vidal Pérez

Facultativa residente de Análisis Clínicos

jvidalperez@catlab.cat

Carlos Lázaro

Facultativo de Citometría de Flujo

Tel. 93.748.56.00 – ext. 35041 / 626.18.46.51

clazaro@catlab.cat

Judith Vidal Martínez

Facultativa Responsable de Citometría de Flujo

Tel. 93.748.56.00 – ext. 35041 / 616.26.48.91

jvidal@catlab.cat

Catlab Informa

Bibliografía:

1. Muñoz-García N, Morán-Plata FJ, Villamor N, Lima M, Barrena S, Mateos S, et al. High-sensitive TRBC1-based flow cytometric assessment of T-cell clonality in T $\alpha\beta$ -large granular Lymphocytic leukemia. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2022;14(2):408. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/cancers14020408>.
2. Kwong Y-L, Zhang H, Wang X, Tse E. Epidemiology of mature T-cell and NK-cell neoplasms: east and west. *Lancet Reg Health West Pac* [Internet]. 2025;62(101646):101646. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lanwpc.2025.101646>.
3. Attygalle AD, Karube K, Jeon YK, Cheuk W, Bhagat G, Chan JKC, et al. The fifth edition of the WHO classification of mature T cell, NK cell and stroma-derived neoplasms. *J Clin Pathol* [Internet]. 2025 [citado el 2 de noviembre de 2025];78(4):217–32. Disponible en: <https://jcp.bmj.com/content/78/4/217.full>.
4. Ullah F, Markouli M, Orland M, Ogbue O, Dima D, Omar N, et al. Large granular Lymphocytic leukemia: Clinical features, molecular pathogenesis, diagnosis and treatment. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2024;16(7):1307. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/cancers16071307>.
5. Horna, P., Weybright, M.J., Ferrari, M. et al. Dual T-cell constant β chain (TRBC)1 and TRBC2 staining for the identification of T-cell neoplasms by flow cytometry. *Blood Cancer J.* 14, 34 (2024). Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41408-024-01002-0>.
6. Kalasauskas, D., Keric, N., Abu Ajaj, S., von Cube, L., Ringel, F., & Renovanz, M. (2020). Psychological Burden in Meningioma Patients under a Wait-and-Watch Strategy and after Complete Resection Is High—Results of a Prospective Single Center Study. *Cancers*, 12(12), 3503. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/cancers12123503>.
7. Sun L, Su Y, Jiao A, Wang X, Zhang B. T cells in health and disease. *Signal Transduct Target Ther* [Internet]. 2023;8(1):235. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41392-023-01471-y>.
8. Marchand T, Lamy T, Loughran TP. A modern view of LGL leukemia. *Blood* [Internet]. 2024 Jun 10;144(18):1910–23. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006497124015672>.
9. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Arber DA, Hasserjian RP, Le Beau MM, Orazi A, Siebert R, editors. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid

Catlab Informa

Tissues. Revised 4th Edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2017.

10. Muñoz-García, N.; Lima, M.; Villamor, N.; Morán-Plata, F.J.; Barrera, S.; Mateos, S.; Caldas, C.; Balanzategui, A.; Alcoceba, M.; Domínguez, A.; et al. Anti-TRBC1 Antibody-Based Flow Cytometric Detection of T-Cell Clonality: Standardization of Sample Preparation and Diagnostic Implementation. *Cancers* 2021, 13, 4379. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/cancers13174379>.
11. Semenzato G, Teramo A, Calabretto G, Zambello R. T-cell clones of uncertain significance. When is the rogue clone dangerous?. *Haematologica* 2025;110(1):37-46; Disponible en: <https://doi.org/10.3324/haematol.2024.286023>.
12. Shi M, Jevremovic D, Otteson GE, Timm MM, Olteanu H, Horna P. Single Antibody Detection of T-Cell Receptor $\alpha\beta$ Clonality by Flow Cytometry Rapidly Identifies Mature T-Cell Neoplasms and Monotypic Small CD8-Positive Subsets of Uncertain Significance. *Cytometry B Clin Cytom.* 2020 Jan;98(1):99-107. doi: 10.1002/cyto.b.21782. Epub 2019 Apr 11. PMID: 30972977.