
PACIENTE VARÓN DE 78 AÑOS EN EL QUE SE DETECTA UNA LINFOCITOSIS EN UNA ANALÍTICA DE CONTROL

Xavier Tejedor Ganduxé.

Laboratori Clínic Barcelonès Nord i Vallès Oriental. Institut Català de la Salut.

EXPOSICIÓN DEL CASO

Historia Clínica: Paciente hombre de 79 años exfumador, con los siguientes antecedentes patológicos: hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo II, ictus isquémico en 2004 tratado con fibrinolisis sin secuelas, fibrilación auricular y carcinoma urotelial papilar de alto grado intervenido mediante resección transuretral. Desde entonces viene realizando controles analíticos de rutina trimestral como parte del seguimiento global de riesgo cardiometabólico. Tras objetivarse una linfocitosis persistente durante el último semestre, el paciente es remitido desde Atención Primaria a consultas externas de Hematología, para el estudio de dicha linfocitosis.

Exploración física: Palidez mucocutánea. No se palpan adenopatías periféricas. No se palpan masas ni visceromegalias.

Exploración complementaria:

Se realizó un análisis sanguíneo, que además del hemograma completo incluía estudio básico de coagulación (tiempo de protrombina, tiempo de tromboplastina parcial activada, fibrinógeno), bioquímica sérica para valorar metabolismo de hidratos de carbono, función renal y hepática básica sin resultados patológicos a destacar. El valor de β_2 -microglobulina como marcador tumoral fue de 2,3 mg/dL y la serología frente HBsAg, anticuerpos anti-VHC y anticuerpos anti-VIH1/VIH2 mostró resultados negativos, así como en el estudio de anticuerpos antinucleares (ANA).

Se solicitó también TC-tóracoabdominal, que puso de manifiesto enfisema paraseptal en ambos lóbulos superiores y no se observaron adenopatías de tamaño significativo.

Fue sometido también a una fibrogastroscoopia en la que se hallaron lesiones compatibles

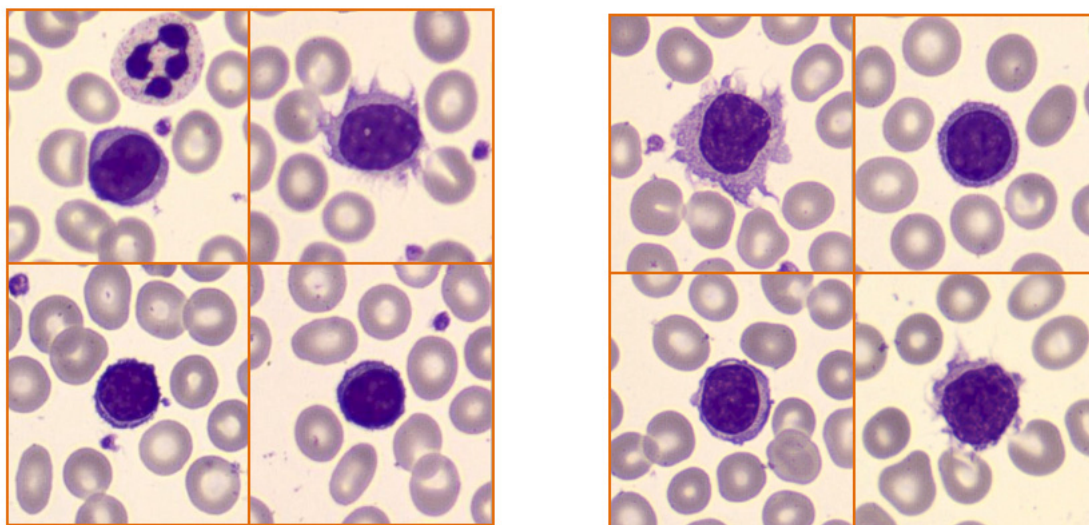
con esófago de Barret, y a una fibrocolonoscopia en la que se objetivaron múltiples orificios diverticulares de tamaño pequeño y mediano.

Estudio de sangre periférica:

El control analítico realizado entonces mostró datos de anemia microcítica (hemoglobina de 9.8 g/dL y volumen corpuscular medio de 70 fL). El estudio básico de la anemia detectada puso de manifiesto un valor absoluto de reticulocitos de $76 \times 10^3/\mu\text{L}$, haptoglobina 110mg/dL y ferritina 16 ng/mL. La serie megacariocítica mostró un valor de 153×10^3 plaquetas/ μL y la serie blanca un recuento de leucocitos de $7 \times 10^3/\mu\text{L}$ con el siguiente recuento diferencial: 37 % segmentados, 54 % linfocitos, 8 % monocitos, 1 % basófilos.

Observación del frotis:

La observación de la morfología eritrocitaria puso de manifiesto una anemia microcítica-hipocroma, mientras que la serie plaquetar no mostró alteraciones morfológicas destacables. En relación con la serie blanca se objetivaron sombras de Gumprecht y algunos linfocitos atípicos de tamaño relativamente pequeño, aspecto monomorfo, relación núcleo/citoplasma alta, con núcleo de cromatina madura, escaso citoplasma y en algún caso con prolongaciones vellosas citoplasmáticas de distribución irregular (Figuras 1-2).



Figuras 1-2: Diversos campos de una extensión de sangre periférica teñida con May-Grünwald-Giemsa (x1000) en los que se pueden observar células atípicas de linfocitos B; en algunas de ellas destacan las prolongaciones vellosas citoplasmáticas de distribución irregular.

Estudio inmunofenotipo de sangre periférica:

Se observaron un total de 2958 linfocitos clonales que no cumplían criterios fenotípicos estándares de leucemia linfática crónica (LLC), linfoma folicular (LF), tricoleucemia ni linfoma de células del manto (LCM). Las características de *forward & sidescatter* (FS/SS) y la negatividad de CD43 sugirieron un fenotipo de linfoma de zona marginal (LZM) (Figuras 3-8).

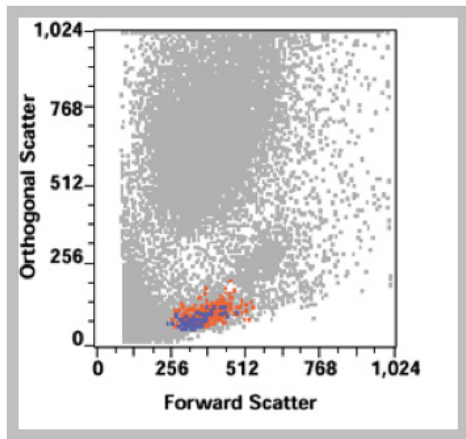


Figura 3: Inmunofenotipo por citometría de flujo de muestra de sangre periférica: conteo de 7×10^3 leucocitos/ μ L con $3,6 \times 10^3$ / μ L linfocitos del tipo B de los que $2,9 \times 10^3$ / μ L son linfocitos B clonales (naranja); los linfocitos B policlonales se representan en azul.

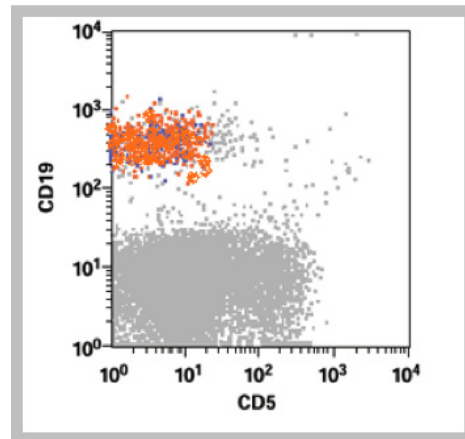


Figura 4: Inmunofenotipo por citometría de flujo de una muestra de sangre periférica: la mayor parte de células de la población Bclonal son $CD19^+ CD5^-$

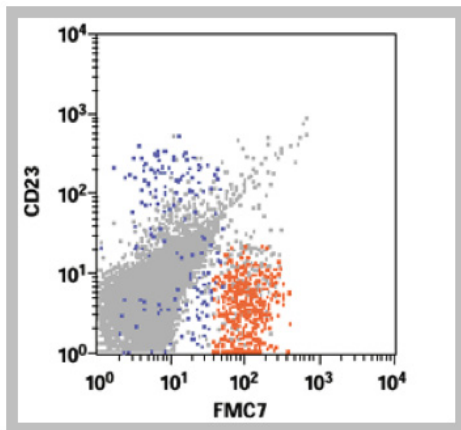


Figura 5: Inmunofenotipo por citometría de flujo de una muestra de sangre periférica: la mayoría de células de la población Bclonal son $FMC7^+ CD23^-$

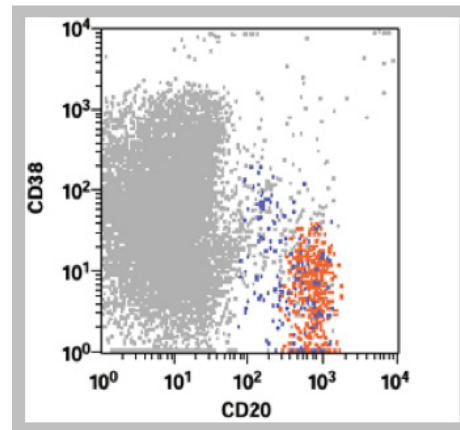


Figura 6: Inmunofenotipo por citometría de flujo de una muestra de sangre periférica: los linfocitos Bclonales son mayoritariamente $CD20^+ CD38^-$

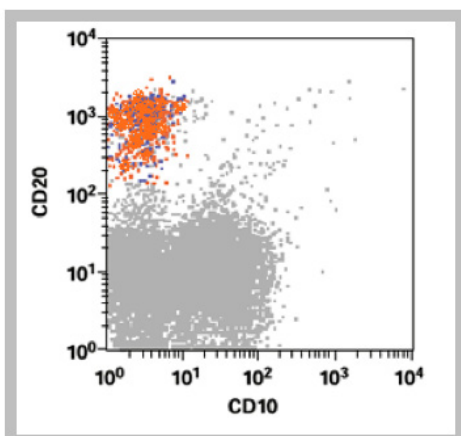


Figura 7: Inmunofenotipo por citometría de flujo de una muestra de sangre periférica: pérdida de la expresión $CD10^-$ en la población clonal de linfocitos B.

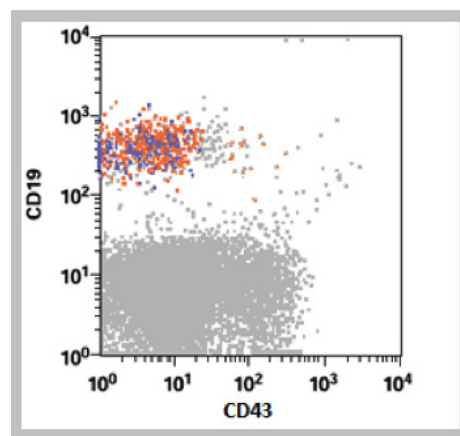


Figura 8: Inmunofenotipo por citometría de flujo de una muestra de sangre periférica: pérdida de la expresión $CD43^-$ en los linfocitos Bclonales $CD19^+ CD5^- CD20^+ CD23^- FMC7^+$

Citogenética en sangre periférica: 46, XY [20].

Aspirado médula ósea:

Celularidad aumentada. Serie eritroblástica en proporción aumentada, con predominio de formas maduras de aspecto megaloblástico. Se observó algún núcleo de contorno irregular. Serie granulopoyética en proporción disminuida, pero en todos los estadios madurativos. Sin dismorfías destacables. Se observó un infiltrado linfocitario (30 %) constituido por linfocitos de tamaño pequeño y aspecto maduro. Megacariocitos en cantidad y morfología normal. Se observó algún elemento de pequeño tamaño. Impresión diagnóstica: Linfocitosis medular. Hiperplasia eritroblástica con moderada diseritropoiesis.

Estudio inmunofenotípico de MO: Infiltración de MO por proceso linfoproliferativo de las mismas características que las observadas en sangre periférica.

Biopsia de MO: Discreta infiltración intersticial y sinusoidal por proceso linfoproliferativo de células B compatible con linfoma marginal.

Tratamiento y evolución

Dado el buen estado general del paciente y la no progresión de la linfocitosis con valores por debajo de las 5000 células B clonales/ μL , se decide realizar controles periódicos con examen físico y recuento sanguíneo completo que permitan determinar su evolución.

Diagnóstico diferencial

La presencia de una linfocitosis persistente en sangre periférica debe ser valorada mediante la observación de las características morfológicas del frotis sanguíneo, fundamental para dirigir el diagnóstico diferencial, basado en el estudio del inmunfenotipo linfocitario, que abarca desde procesos linfoproliferativos hasta condiciones precursoras como por ejemplo algún subtipo de linfocitosis B monoclonal (LBM). (Figura 9). Así ante la evidencia de una expansión clonal de linfocitos B en sangre periférica son diversas las hipótesis acerca de lo que pueden representar estas poblaciones B clonales: desde una alteración genéticamente estable, con un riesgo mínimo o tal vez nulo de evolucionar a un proceso linfoproliferativo bien establecido, pasando por el precursor de una neoplasia de células B, que requiera de acontecimientos adicionales para transformarse y progresar o el estadio inicial de un proceso linfoproliferativo con una elevada posibilidad de evolucionar, si transcurre el tiempo suficiente, hasta la manifestación leucémica de un linfoma subyacente, aún no diagnosticado.

La linfocitosis B monoclonal (LBM) es una condición asintomática en la que se detectan poblaciones de linfocitos B clonales en sangre periférica, de tamaño variable, pero sistemáticamente por debajo de las 5000 células B/ μL , en ausencia de otras características asociadas a enfermedades linfoproliferativas, como síntomas B, linfadenopatías y organomegalias,

además de cumplirse otras características biológicas propias de los clones de células B. (Figura 10)

Figura 9: Diagnóstico diferencial de linfocitosis de células B.

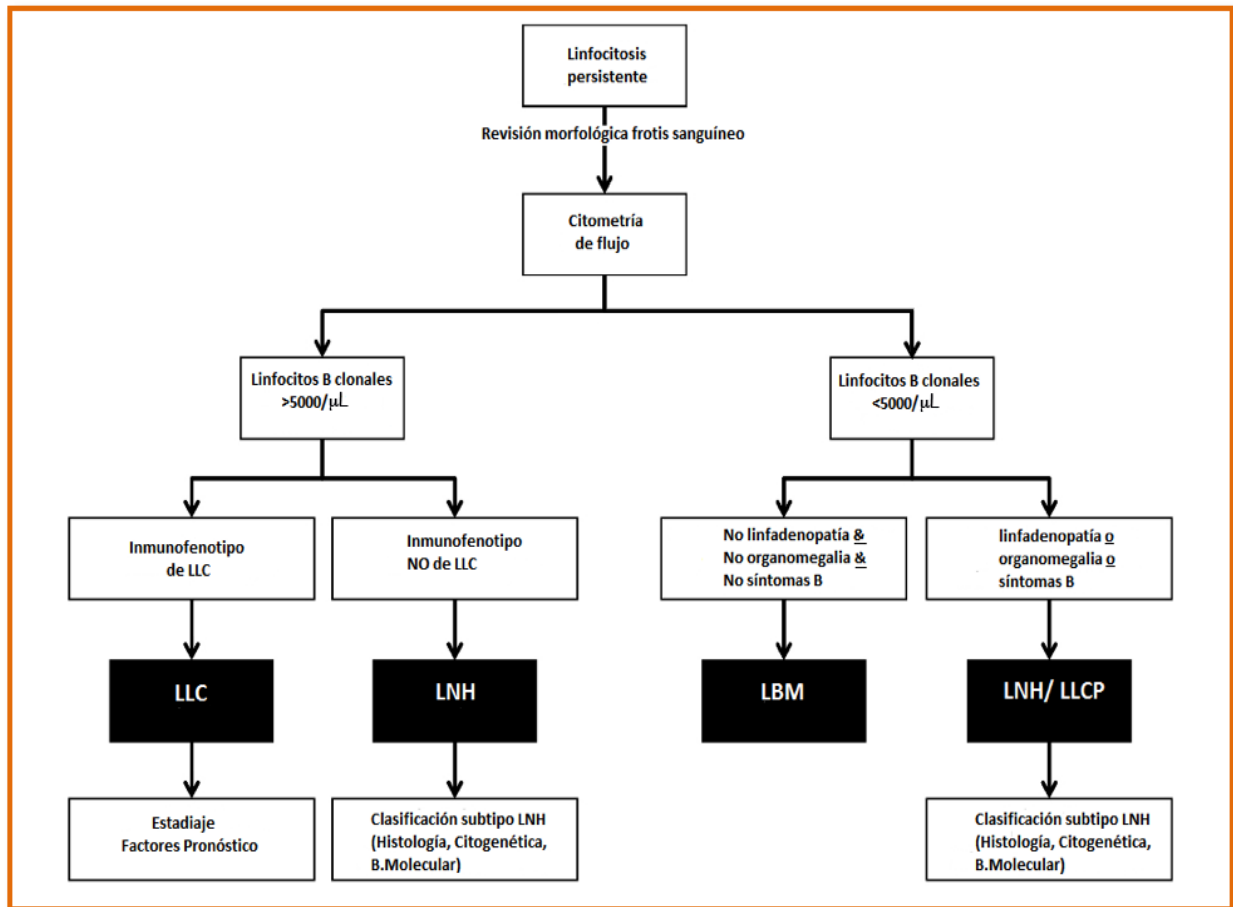


Figura 10: Tabla resumen de los criterios diagnósticos de la linfocitosis B monoclonal.

Tabla3. Criterios diagnósticos para LBM

1. Detección de una población clonal de células B en sangre periférica con 1 o más de los criterios siguientes:

- ✓ Restricción de cadena ligera: relación kappa:lambda >3:1 o <0.3:1
- ✓ >25% células B slg^- o slg^{low}
- ✓ Reordenamiento monoclonal del gen IGHV
- ✓ Presencia de inmunofenotipo específico de enfermedad linfoproliferativa crónica de células B (SLPCB)

2. La repetición del análisis sanguíneo debería demostrar que la población monoclonal de células B es estable por encima de un periodo de 3 meses.

3. Criterios de exclusión

- ✓ Linfadenopatías y organomegalias
- ✓ Enfermedad autoinmune/infecciosa asociada
- ✓ Recuento absoluto de linfocitos B >5x10⁹/L
- ✓ Ninguna otra característica diagnóstica compatible con SLPCB. Sin embargo, podría hallarse la presencia de una paraproteína o encontrarse asociada con la LBM → debería ser evaluada de forma independiente.

Desde el punto de vista inmunofenotípico de la población linfoide B clonal, las LBM se clasifican en LBM de fenotipo LLC típico (CD5+, CD23+, expresión débil de CD20 y de Ig de superficie), LBM de fenotipo LLC atípico (CD5+ pero CD23- y/o expresión intensa de CD20) y LBM de fenotipo no LLC (CD5-) (Figura 11 / Tabla 2a). Otro elemento a destacar es el número de células B clonales detectadas en base del cual encontramos las LBM de recuento bajo (LBM^{low}) que suelen cursar con 0.1-50 células B clonales/uL y las LBM de recuento alto (LBM^{high} clínicas), que suelen cursar con 500-5000 células B clonales/ μ L. (Figura 11 / Tabla 2b).

Figura 11: Tablas resumen subclasificación LBM según inmunofenotipo (Tabla 2a) y nº de células B clonales (Tabla 2b)

Tabla 2a. Subclasificación LBM en base al inmunofenotipo

LMB tipo LLC	<ul style="list-style-type: none"> Fenotipo LLC: CD5⁺ CD19⁺ CD20^{low} CD23⁺ sIg^{low} CD79^{low} Representan un 75% del total de LBM
LBM tipo LLC atípica	<ul style="list-style-type: none"> CD5⁺ CD19⁺ CD23^{-/low} y/o CD20^{high} y/o sIg^{high} y/o CD79b^{high} Obligan a descartar el linfoma del manto Constituyen un 10% de los casos
LBM no-LLC	<ul style="list-style-type: none"> Fenotipo de células B CD5⁻ CD10⁻ CD19⁺ CD20⁺ CD23⁻ FMC7⁺ CD79b⁺ sIg⁺ El inmunofenotipo presenta características comunes con linfoma de la zona marginal, linfoma linfoplasmocítico o tricoleucemia Representan el 15% del total de LBM

Tabla 2b. Subclasificación LBM en base al número de células B clonales

LMB de recuento bajo (LBM^{low})	<ul style="list-style-type: none"> <500 células B clonales/uL en sangre periférica Riesgo ínfimo de progresar a formas leucémicas
LBM de recuento alto (LBM^{high}) o LBM clínica	<ul style="list-style-type: none"> \geq500 y <5000 células B clonales en sangre periférica Alrededor del 1-2% de los casos progresan anualmente a LLC con necesidad de tratamiento

La solicitud del hemograma en estudios de *screening* básicos desde las consultas de Atención Primaria, ha provocado, en las últimas décadas, el incremento significativo de la prevalencia de LBM en la población general. En gran medida, esto es debido a la información potencial que ofrece el hemograma que junto a la revisión del frotis sanguíneo han incrementado de forma notable la tasa de detección. Asimismo, la introducción de la citometría de flujo para el estudio de los linfocitos presentes en sangre periférica, ha disparado también la frecuencia de detección de LBM en adultos sanos.

Según la población estudiada y la sensibilidad del método empleado para su detección, la prevalencia de LBM en la población general variará de forma significativa (entre 0,6 % y 20 %). En términos generales, se reconoce que la prevalencia de LBM aumenta progresivamente con la edad. En este sentido, la presencia de LBM en la población general es bastante rara antes de los 40 años; por el contrario, la prevalencia aumenta desde el 5% en los individuos entre los 40 y 60 hasta valores próximos al 20 % en población más allá de los 60 años. Aunque esta tendencia afecta claramente a la LBM^{low} tipo LLC, existen datos contradictorios en lo que respecta a la asociación con la edad de los otros subtipos minoritarios de LBM^{low}.

Respecto a la distribución por sexos, se ha descrito un predominio de LBM^{high} en varones, al igual que ocurre en la LLC; sin embargo este predominio entre sujetos con LBM^{low} sería menos evidente.

En paralelo se ha observado un riesgo de padecer LBM cuatro veces superior al de la población sana entre los familiares de primer grado de pacientes con LLC.

Hoy en día, la etiología de la LBM es aún desconocida, aunque se observa una mayor frecuencia de LBM entre los familiares de primer grado de pacientes con LLC. Este hallazgo sugiere la existencia de agregación familiar y por consiguiente, de una predisposición genética, como factor de riesgo a desarrollar LBM, además de la variable edad ya comentada anteriormente.

Otro elemento a valorar es la existencia de factores ambientales asociados a una mayor predisposición a padecer LBM^{low}: Así, en la población general adulta, aquellos sujetos que habían sido vacunados frente a neumococo o frente a la gripe mostraron una menor prevalencia de LBM^{low} que los que no habían recibido dichas vacunas. Por su parte, los adultos con LBM^{low} referían haber padecido con mayor frecuencia infecciones respiratorias y meningitis, asociadas a una mayor prevalencia de historia familiar de infecciones severas y de cáncer.

Valorando en conjunto estos datos, se apuntaría a la existencia de interacciones complejas entre factores genéticos y ambientales a la hora de desarrollar LBM^{low}, reforzando, así, la hipótesis de que en la génesis de este desorden linfoproliferativo, entre otros factores, podría estar implicada, en una proporción significativa de casos, al menos en las fases iniciales de la enfermedad, una estimulación antigénica crónica del sistema inmune. Otra po-

sible hipótesis ante la mayor incidencia de infecciones, sugiere que los individuos con LBM muestran con mayor frecuencia alteraciones del sistema inmune ya que suelen presentar menor proporción de linfocitos B normales y linfocitos T CD4⁺ CD8⁺.

En el caso de las **LBM de fenotipo LLC**, todos los estudios realizados apuntan a que las LBM^{low}, aunque con elevada frecuencia muestran un fenotipo similar al de la LLC, presentan características genética y biológicas diferentes asociadas a una menor frecuencia de alteraciones genéticas que parecen implicar un riesgo bajo de progresar a LBM^{high} y LLC. Bien diferente es el caso de las LBM^{high} que se asocian habitualmente a la presencia de linfocitosis y conllevan un riesgo de progresión a LLC con requerimientos terapéuticos del 1 - 2 % anual. En contraposición con lo que ocurre con la LBM^{low}, la biología de la célula expandida en los casos de LBM^{high} se acerca y se solapa de forma notable con la de la célula leucémica de pacientes con LLC. Sin embargo en la actualidad el recuento absoluto de células B sigue constituyendo el único factor de riesgo de progresión de LBM^{high} a LLC, sin que hayan podido identificar otras características clínicas o biológicas que se asocien a un mayor riesgo de progresión.

Las **LBM con perfil de LLC atípico y las LBM CD5-** son entidades mal caracterizadas, ya que se trata de situaciones mucho menos frecuentes, con escasos datos clínicos. Así la mayoría de los datos inmunofenotípicos, citogenéticos y moleculares han resultado, hasta el momento, menos concluyentes que en el caso de LBM de tipo LLC. Esto es debido a que la mayoría de procesos linfoproliferativos indolentes distintos a la LLC diagnosticados en SP no poseen un perfil fenotípico específico, que permita una fácil detección de la población anómala, que solo se identifica si las células patológicas suponen la mayoría de las células B circulantes.

En el caso de las **LBM CD5+** de fenotipo LLC atípico resulta obligado descartar el LCM mediante estudio citogenético apropiado, incluyendo la realización de FISH de la t(11;14)(q13;q32). En estas situaciones fenotípica y citogenéticamente características de LCM, en la que únicamente se detecta expresión hemoperiférica, se recomienda asimismo la realización de una biopsia de MO y pruebas de imagen como parte del procedimiento de estudio inicial y un seguimiento periódico, al menos cada 6 meses, con el objetivo de detectar precozmente la evolución a una LCM convencional.

La naturaleza de las **LBM CD5-** sigue siendo incierta. Según datos fenotípicos y citogenéticos, probablemente corresponden a LBM relacionadas con el LZME y en menor grado, con el linfoma linfoplasmocítico, ya que los escasos estudios realizados han mostrado una elevada frecuencia de alteraciones citogenéticas similares a las descritas en el LZM.

Desde el punto de vista clínico, el aspecto fundamental es excluir la existencia de un proceso linfoproliferativo subyacente por lo que es aconsejable la realización de pruebas de imagen y, probablemente, también de una biopsia medular. Dado que la expresión de CD5 se observa en aproximadamente el 20 % de las LBM de fenotipo consistente con un origen

en la zona marginal y, al contrario, algunas LBM con t(11;14) son negativas para este marcador, es recomendable realizar un estudio citogenético dirigido a excluir el LCM en todos los casos de LBM de fenotipo diferente al observado habitualmente en la LLC.

BIBLIOGRAFIA

Fung SS, Hillier KL, Leger CS, et al. Clinical progression and outcome of patients with monoclonal B-cell lymphocytosis. *Leuk Lymphoma*. 2007; 48: 1087-1091. Marti GE, Rawstron AC, Ghia P et al. Diagnostic criteria for monoclonal B-cell lymphocytosis. *Br J Haematol*. 2005;130:325-332.

Merino A. Neoplasias Linfoides B y T. *Manual de Citología de Sangre Periférica*. Grupo Acción Médica, S.A. 2005; 191-220.

Mulligan CS, Thomas ME, Mulligan SP. Monoclonal B-Cell lymphocytosis and chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2008;359:2065-2066.

Nieto WG, Almeida J, Romero A, et al. Increased frequency (12 %) of circulating CLL-like B-cell clones in healthy individuals using a high-sensitive multicolor flow cytometry approach. *Blood*. 2009;114:33-37.

Nieto WG, Teodosio C, López A et al. Non-CLL-like monoclonal B-cell lymphocytosis in the general population: prevalence and phenotypic/genetic characteristic. *Cytometry B Clin Cytom*. 2010;78 Suppl1:S24-34.

Rawstron AC. Monoclonal B-cell lymphocytosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009:430-9.

Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (ed4). *IARC Press*; 2008.

Woessner S, Florensa L. Síndromes linfoproliferativos de células B y T maduras. *La Citología óptica en el Diagnóstico Hematológico*. Madrid: Acción Médica, S.A y Fundación Española de Hematología y Hemoterapia 2000; 431-511.

RESOLUCIÓN DEL CASO

El caso comentado hace referencia a un hombre de edad avanzada con una linfocitosis objetivada en una analítica de control desde Atención Primaria, cuyo estudio se completó con el diagnóstico de Linfocitosis B monoclonal y fenotipo de linfoma de zona marginal.

La persistencia de una linfocitosis relativa en las analíticas de control trimestral y la posterior revisión de sus características morfológicas en el frotis sanguíneo fueron claves para proseguir el estudio hacia el diagnóstico diferencial.

Una vez descartada una posible etiología vírica o autoinmune, el estudio de inmunofenotipo en sangre periférica y en médula ósea coincidieron en caracterizar una población de linfocitos B clonal que no compartía criterios fenotípicos estándares de LLC, linfoma folicular, tricoleucemia ni linfoma de células del manto. Además de presentar las características propias y la negatividad de CD43- que sugirieron un fenotipo de linfoma de zona marginal.

Estas características sumadas a la exclusión de síntomas B y de cualquier linfadenopatía u organomegalia puso de relieve una orientación diagnóstica de linfocitosis B monoclonal que, dado el buen estado general del paciente y la no progresión de la linfocitosis, con valores por debajo de las 5000 células B clonales/uL, sugirió continuar con controles periódicos en los que se realiza un examen físico y recuento sanguíneo completo que permitan detectar de forma precoz una eventual progresión.

Recordar que:

1. La revisión microscópica del frotis sanguíneo, permite examinar las características morfológicas de las células de la sangre periférica y, como en el caso presentado, constituye el primer eslabón en el diagnóstico diferencial de una linfocitosis persistente.
2. La solicitud del hemograma en estudios de screening básicos combinado con la introducción de la tecnología de la citometría de flujo en el estudio de linfocitosis persistentes ha disparado la frecuencia de detección de LBM en adultos sanos.
3. En las LBM de fenotipo LLC, las LBM^{low} presentan bajo riesgo de progresar a LBM^{high} y a LLC, mientras que de las LBM^{high} conllevan un riesgo de progresión a LLC con requerimientos terapéuticos del 1 – 2 % anual.
4. Las LBM de fenotipo LLC atípico y no LLC, son entidades poco frecuentes y mal caracterizadas que cuentan con pocos casos registrados además de ser muy heterogéneos. Desde el punto de vista clínico debe ser excluida la existencia de un proceso linfoproliferativo subyacente por lo que la biopsia medular y las pruebas de imagen deben complementar los estudios de inmunofenotipo y de citogenética.

GRUPO DE TRABAJO DE BIOLOGIA HEMATOLÓGICA

Anna Merino (*Presidenta*), M^a José Alcaide, Eduardo Arellano, Laura Bigorra, Gabriela Gutiérrez, Cristian Morales, M^a Elena Redin, Maite Serrando, Salvador Orient, María Sanz de Pedro, Xavier Tejedor, Eloisa Urrechaga, Teresa Villalba.

ACTIVIDADES FORMATIVAS DEL COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi (*Residente*), R. Deulofeu, M. Gassó, N. Giménez, J.A. Lillo, A. Merino, A. Moreno, A. Peña (*Residente*), N. Rico, M. Rodríguez (*Presidente*), MC. Villà.

ISSN 1887-6463 – Marzo 2016 (recibido para publicación Febrero 2016).