

VALORACIÓN INICIAL DE PACIENTES CON LINFOCITOSIS

Linfopoyesis:

El sistema linfoide normal está formado por los órganos linfoides primarios o centrales y los secundarios o periféricos. En el adulto la médula ósea (MO) y el timo desempeñan la función de órganos primarios; en éstos se originan los linfocitos B y T respectivamente a partir de la célula madre hematopoyética pluripotencial, madurando posteriormente sin requerir la presencia de antígenos. En los órganos secundarios es donde se inician las respuestas inmunes y están formados por los ganglios linfáticos, el bazo, el anillo de Waldeyer y los acúmulos linfoides dispersos en la mucosa del tubo digestivo (placas de Peyer), del tracto respiratorio y del genitourinario. Aquí, los linfocitos hallan el ambiente adecuado para poder interactuar con los antígenos y con las células presentadoras de antígenos (CPA).

Los linfocitos B (B de bursa de Fabricio) son los responsables de producir anticuerpos como respuesta al estímulo antigénico. Los linfocitos T (T de timo) son los responsables de la respuesta inmune celular.

Las células B maduras comprenden el 10-15% de los linfocitos de la sangre periférica, el 25-50% de los del ganglio y del bazo, y el 10% de los de la médula ósea. Estas células se caracterizan por poseer Ig de superficie que les sirven como receptores para reconocer a los antígenos. Las células B “vírgenes”, son linfocitos pequeños que circulan en la sangre periférica y también ocupan los folículos primarios y las zonas del manto folicular de los ganglios linfáticos. Al encontrar el antígeno que encaja específicamente en sus receptores de superficie, las células B “vírgenes” se transforman, proliferan y maduran en células plasmáticas o de memoria. Esta maduración en célula plasmática de vida corta se produce directamente tras la unión con el antígeno fuera del centro germinal e independiente de las células T; es la respuesta primaria de anticuerpos IgM. Otras células B expuestas al antígeno emigran al centro del folículo primario, donde proliferan y se transforman en centroblastos, y modulan la expresión de varias moléculas. En el centro germinal se desarrolla una hipermutación somática de los genes de las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras de las Ig, y el cambio de clase de cadena pesada de IgM a IgG o IgA. Los centroblastos maduran a centrocitos que expresan inmunoglobulinas de superficie (SIg) diferentes a sus precursores como consecuencia de las mutaciones producidas. Los centrocitos con mayor afinidad por el antígeno que está expuesto por las células foliculares dendríticas, y merced a la interacción con éstas y con las células T, son rescatados de la apoptosis y se diferencian en células plasmáticas de vida larga o de memoria. Las células B de memoria pos germinales se sitúan en la zona marginal del folículo linfoide, pero también emigran a la sangre periférica y se localizan en la pulpa blanca del bazo y en el tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT, del inglés *mucosa associated lymphoid tissue*).

Los linfocitos T son los responsables de la inmunidad celular, es decir, de los fenómenos de citotoxicidad, hipersensibilidad retardada, rechazo de injertos y de la reacción del injerto contra el receptor. Los linfocitos T maduros suponen el 70-80 % de los linfocitos normales de la sangre periférica, el 90 % de los del conducto torácico y el 30-40 % de los presentes en los ganglios linfáticos y el bazo. El proceso de diferenciación y maduración de los precursores de los linfocitos T originados en la médula ósea (protimocitos) se realiza en las diferentes zonas del timo bajo la influencia del microambiente epitelial. Las células T maduras antígeno-específicas se producen en la corteza tímica. Las células T que reconocen péptidos propios se eliminan por apoptosis.

Los linfocitos T maduros pasan a la sangre periférica y, posteriormente, se sitúan en la zona paracortical del ganglio linfático y forman un manguito perivascular alrededor de las arteriolas esplénicas. Los linfocitos T, y en menor grado los B, mantienen una constante recirculación entre la sangre y los tejidos, lo que permite una vigilancia inmunológica permanente.

En contraste con los linfocitos B, que reconocen los antígenos en su conformación primitiva, para que se produzca el reconocimiento de los linfocitos T es preciso que los antígenos sean procesados en pequeños

Catlab Informa

péptidos y presentados junto con las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA). Esta función de procesamiento antigénico es llevada a cabo por las CPA. La exposición al antígeno extraño determina la proliferación y la ulterior diferenciación de los linfocitos T en los diversos subtipos de células efectoras, en un complejo y equilibrado proceso en el que intervienen las células del sistema mononuclear fagocítico y en el que se liberan gran cantidad de citocinas. El reconocimiento del antígeno se produce por el receptor antigénico del linfocito T, en conexión con el sistema HLA; concretamente, las células T colaboradoras (CD4+) reconocen los determinantes HLA de clase 2, y las células T citotóxicas-supresoras (CD8+) los determinantes de clase 1. Un pequeño número de linfocitos T persisten, tras la exposición al antígeno, como células de memoria capaces de desarrollar una respuesta más rápida y efectiva si el organismo es expuesto de nuevo al mismo antígeno.

Además de los linfocitos B y T, el 15 % de los linfocitos circulantes lo conforman las denominadas *células agresoras naturales* (*natural killer*, NK). Las células NK tienen morfología de linfocitos grandes granulares. Estas células poseen receptores de membrana para el fragmento Fc de la IgG y presentan actividad citolítica directa, ya sea mediada por la región Fc de los anticuerpos o independiente de los mismos (actividad citolítica natural, no mediada por el sistema HLA, dependiente de los receptores *killer* activadores y receptores *killer* inhibidores [KIR]). Las células NK desempeñan un importante papel en la vigilancia y destrucción de las células que espontáneamente sufren transformación maligna y en la defensa contra las infecciones víricas.

Linfocitosis:

En personas adultas se considera linfocitosis un recuento absoluto de linfocitos superior a $4 \times 10^9/L$ y en niños de hasta 10 años, superiores a $7 \times 10^9/L$.

Para valorar una linfocitosis, es necesario tomar en cuenta la edad del paciente, la historia clínica, tiempo de aparición y evolución de la linfocitosis, exploración física (áreas ganglionares, hígado, bazo), parámetros de laboratorio y hallazgos morfológicos de los linfocitos.

Las causas se pueden dividir en 2 grandes grupos: linfocitosis reactivas y linfocitosis clonales o síndromes linfoproliferativos (SLP).

Estudio inicial:

- **Anamnesis:** Interrogar al paciente por el motivo de consulta; antecedentes personales y familiares; uso de fármacos. La edad y el tiempo de aparición es importante para orientar la causa de la linfocitosis. Preguntar por síntomas B (pérdida de peso, fiebre y/o sudoración nocturna). Valoración por sistemas.
- **Exploración física:** Mucosa oral, lesiones cutáneas, áreas ganglionares (cervical, axilar, inguinal), hígado y bazo.
- **Analítica:** Con hemograma, VSG, función renal y hepática. Proteinograma, LDH y Beta-2 microglobulina en caso de sospechar un SLP.
- **Morfología de frotis sanguíneo:** Indicado en linfocitosis persistente, de aumento progresivo o sospecha de un SLP. Como detallaremos más adelante, CATLAB maneja unos criterios para la revisión de frotis en las muestras de rutina y también describiremos las alteraciones morfológicas que se suelen encontrar tanto en las linfocitosis reactivas como en las patológicas.
- **Serología infecciosa:** Teniendo en cuenta la edad y la clínica del paciente, valorar solicitar serologías para las distintas infecciones que cursan con linfocitosis descritas en el siguiente apartado.
- **Inmunofenotipo de población linfoide en sangre periférica:** Útil para la detección de linfocitos clonales o patológicos. Que no se detecten, no descarta un SLP ya que algunos tipos de linfoma no suelen tener expresión en sangre periférica como el Linfoma de Hodgkin, el Linfoma B difuso de célula grande, etc.
- **Pruebas de imagen:** Rx de tórax y ecografía abdominal para descartar esplenomegalia. En el caso de un SLP, para el estudio de extensión, en hematología clínica se valorará solicitar un TAC o PET-TAC según el tipo.

Otros estudios, que serán solicitados en hematología en caso de sospecha de un SLP, para confirmar el diagnóstico y estudiar la extensión son: Aspirado / Biopsia de médula ósea, Biopsia ganglionar, Citogenética y Biología Molecular.

Catlab Informa

Causas de linfocitosis:

1) Linfocitosis Reactivas:

- Infecciones bacterianas subagudas / crónicas: Brucelosis, tuberculosis, sífilis, enfermedad por arañazo de gato
- Síndromes mononucleósicos (**fig. 1**): Virus de Epstein-Barr (80-90% de los casos), Citomegalovirus (especial importancia en gestantes y en inmunodeprimidos), *Toxoplasma gondii*, primoinfección por VIH, Herpes virus humano tipo 6, Rubeola, Virus varicela-zóster, virus de la hepatitis. El cuadro se caracteriza por fiebre, odinofagia (supurativa en el 30% de los casos), adenomegalias cervicales, astenia y esplenomegalia principalmente. En la analítica destaca además de la linfocitosis, elevación de las enzimas hepáticas.
- Otras infecciones: tos ferina, Rickettsiosis
- Linfocitosis crónicas: enfermedades autoinmunes, tumores sólidos, timoma, inflamación crónica, tabaquismo, sarcoidosis, hipoesplenía (funcional o anatómica), Linfocitosis B policlonal persistente (LBPP) linfocitosis generalmente asociada a mujeres fumadoras con presencia de linfocitos binucleados en sangre periférica (**Fig. 2**).
- Linfocitosis Agudas: linfocitosis de estrés (IAM, insuficiencia cardíaca, shock séptico, cirugía mayor, traumatismos, status epiléptico, crisis drepanocítica, reacciones de hipersensibilidad), fármacos (hidantoínas, penicilinas, fenilbutazona, ácido paraaminosalicílico, fenotiacinas).

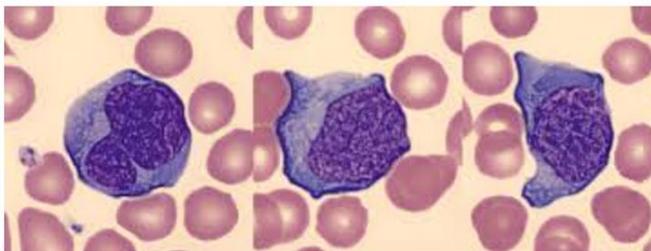


Fig. 1: Linfocitos activados o reactivos de la Mononucleosis infecciosa

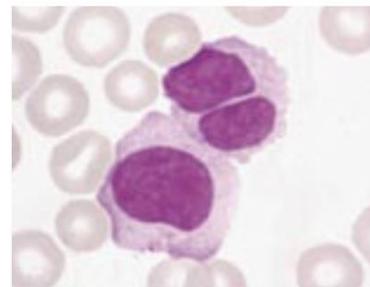


Fig. 2: Linfocito binucleado de la Linfocitosis B Policlonal Persistente

2) Linfocitosis clonales o Síndromes Linfoproliferativos:

En esta publicación no profundizaremos sobre la última clasificación de la OMS de las neoplasias del sistema linfoide. A grandes rasgos se dividen en neoplasias de células B, neoplasias de células T y neoplasias de células NK. Dentro de cada grupo, existen algunos linfomas que tienen expresión en sangre periférica (expresión leucémica). A continuación, mostramos los más importantes con la morfología típica de los linfocitos encontrados en cada uno de ellos:

- De células B:

• Leucemia Linfática crónica (LLC):

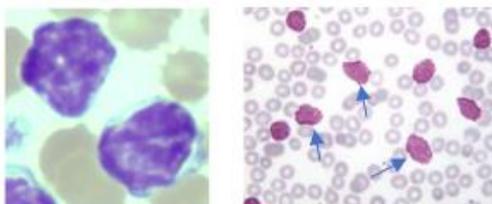


Fig. 3: LLC típica o clásica: linfocitos pequeños con cromatina condensada (en caparazón de tortuga o de aspecto grumelée) y escaso citoplasma. Los linfocitos proliferantes son anormalmente frágiles, por lo que se dislaceran con facilidad en el acto mecánico de la extensión, constituyéndose en las denominadas sombras de Gumprecht (flechas).

Catlab Informa

- **Linfoma Folicular:**

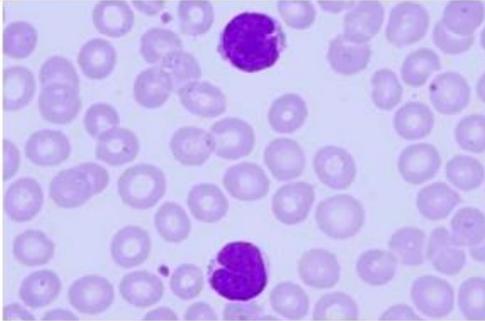


Fig. 4: centrocitos, con algunas de las características morfológicas típicas (pequeño tamaño, citoplasma escaso y hendidura nuclear)

- **Leucemia Prolinfocítica:**

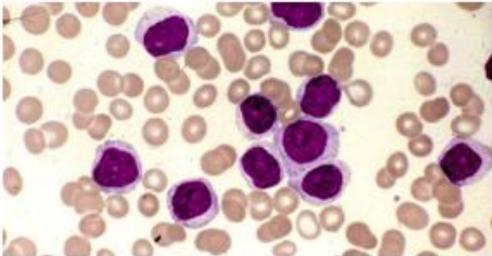


Fig. 5: Prolinfocitos de tamaño mediano, cromatina semimadura con un nucléolo visible prominente de localización central.

- **Linfoma del manto:**

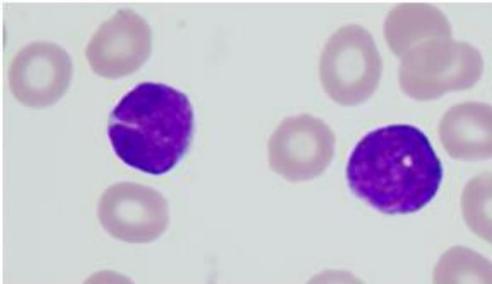


Fig. 6: La variante clásica es polimorfa en lo que se refiere al tamaño celular y a la irregularidad del contorno nuclear. El tamaño celular global es más bien pequeño y el núcleo, que ocupa casi toda la célula, posee una cromatina de aspecto punteado muy característico con 1 o 2 hendiduras poco profundas

- **Linfoma esplénico de la zona marginal:**

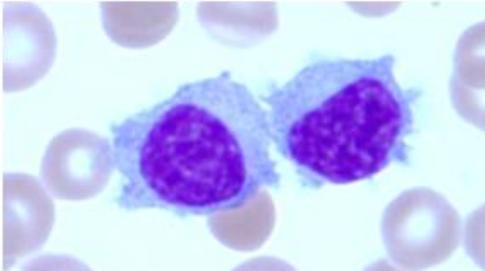


Fig. 7: Linfocitos vellosos. Tienen un tamaño celular superior al de un linfocito normal, núcleo con cromatina condensada, redondo u ovalado, habitualmente sin nucléolo visible. El citoplasma es de moderada cantidad, basófilo, con prolongaciones vellosas cortas, con una base de implantación estrecha y que con frecuencia adoptan una disposición bipolar

- **Tricoleucemia:**

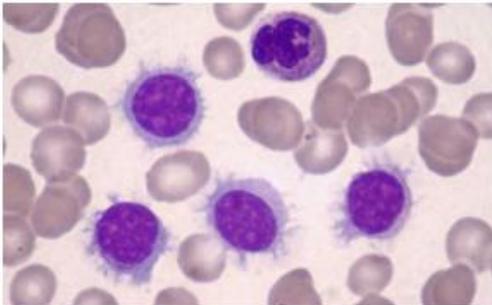


Fig. 8: Tricoleucocitos de tamaño mediano o grande, núcleo que ofrece varias configuraciones (redonda, ovoide e indentada) de posición algo excéntrica. Su cromatina es laxa y puede presentar un pequeño nucléolo. El citoplasma es amplio, de tonalidad azul-grisácea. Lo más característico son las largas y numerosas proyecciones a modo de pelos, a los que la célula debe su nombre.

Catlab Informa

- **Linfoma Linfoplasmático:**

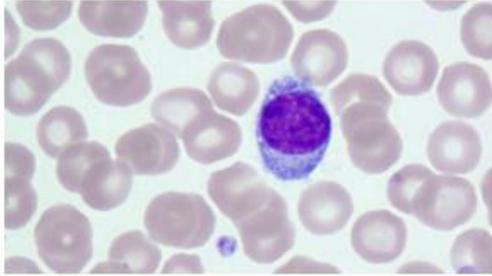


Fig. 9: Linfoplasmacito de tamaño pequeño / mediano, núcleo excéntrico con cromatina condensada, en ocasiones presencia de cuerpos de Dutcher (inclusiones nucleares de Ig), citoplasma de moderada cantidad, basófilo, en ocasiones con vacuolas. Se observan además hematíes en pila de monedas.

- **Linfoma de Burkitt:**

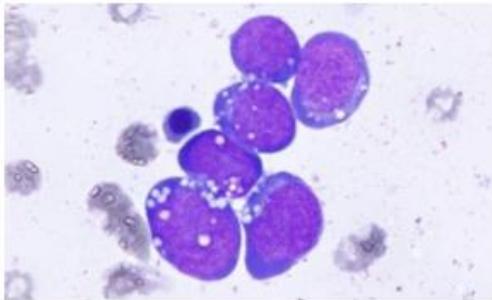


Fig. 10: Células de aspecto blástico, monomorfo, de mediano tamaño, cromatina laxa, uno o varios nucléolos visibles y citoplasma muy basófilo con abundantes vacuolas.

- **De células T:**

- **Síndrome de Sézary:** Expresión Leucémica de la micosis Fungoide (Linfoma T cutáneo)

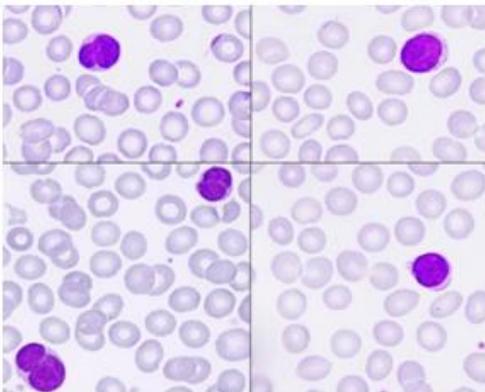


Fig. 11: Células linfoides atípicas de pequeño tamaño, de aspecto maduro con el núcleo irregular "cerebriforme".

- **Leucemia / Linfoma T del Adulto:** asociado al virus HTLV-1

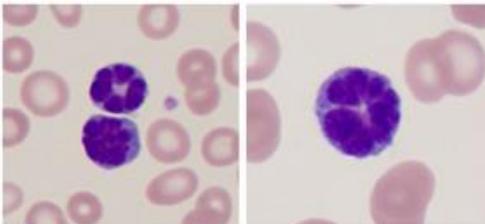


Fig. 12: Linfocitos de tamaño medio, con núcleo irregular o convoluto "en forma de flor"

- **Leucemia de Linfocitos grandes granulares T:**

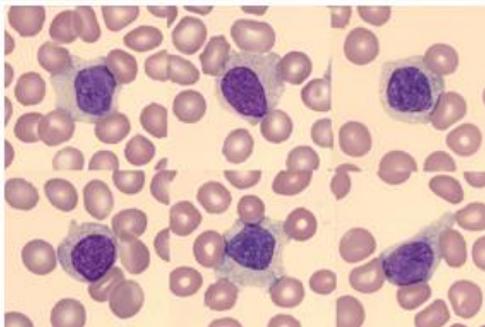


Fig. 13: Células linfoides en general de tamaño grande, núcleo redondeado denso y amplio citoplasma claro, en el que destaca la presencia de varios gránulos azurófilos

Catlab Informa

- De células NK:
 - Leucemia agresiva de células NK:

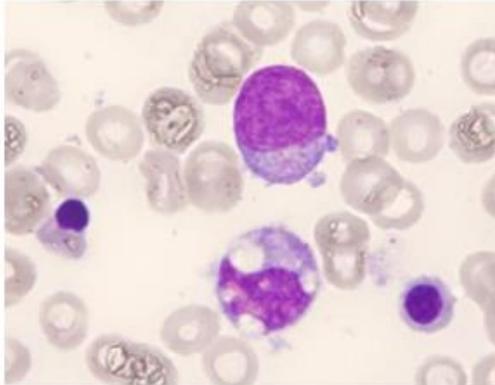


Fig. 14: Se observan células linfoides de tamaño grande y con abundantes gránulos citoplasmáticos

Estudio de las linfocitosis en CATLAB:

El laboratorio central de CATLAB (Viladecavalls) analiza diariamente una media de 2 200 hemogramas procedentes de 43 centros de atención primaria y 3 hospitales de segundo nivel de la zona del Valles Occidental, abarcando una población de 1 050 000 habitantes.

En nuestra rutina de trabajo, tenemos algoritmos para realizar la revisión del frotis en pacientes con alteraciones del parámetro de los linfocitos, teniendo en cuenta la edad de la persona, el número absoluto de linfocitos y las alertas del analizador. Cuando a una muestra se le genera una revisión de frotis, se le realiza una extensión de sangre periférica por medio del extensor/teñidor SP50 para luego ser analizada por microscopía digital mediante el Cellavision® DI-60. Ambos analizadores trabajan conectados en cadena a los 5 analizadores Sysmex XN-9100 con los que cuenta el laboratorio para la realización de los hemogramas (fig. 15).



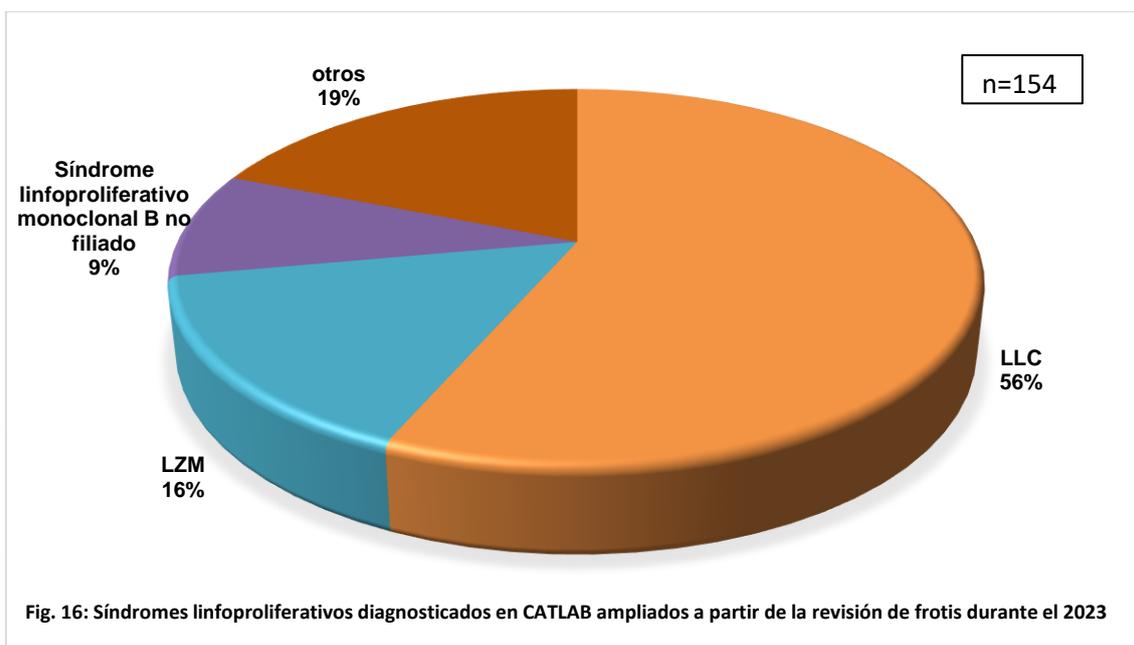
Fig. 15: Cadena Sysmex XN-9100 compuesta por, de derecha a izquierda, de 3 analizadores XN-10; 2 analizadores XN-20; un distribuidor TS; 1 extensor-teñidor SP-50 y un Cellavision® DI-60

Las imágenes celulares obtenidas por el Cellavision® son revisadas inicialmente por los técnicos especialistas en laboratorio (TEL) quienes realizan el recuento celular y describen las principales alteraciones morfológicas detectadas. Posteriormente el Facultativo de hematología revisa dicho informe y decide si valida el resultado o realiza una nueva revisión mediante microscopía óptica. Si se sospechara de un SLP no diagnosticado previamente, se amplía estudio por citometría de flujo y en caso de confirmarse, se envía un aviso al médico solicitante mediante correo electrónico o por llamada telefónica.

El 2023 generamos 238 estudios de inmunofenotipo para descartar un SLP T/B, de los cuales 154 (65%) resultaron positivos para algún tipo de SLP. De los positivos, 140 (91%) coincidió la descripción morfológica con el SLP diagnosticado por citometría de flujo; y el SLP más frecuente fue la Leucemia linfática crónica (LLC) con un 56% (Fig. 16).

En un próximo CATLAB-Inforna del departamento de citometría, se describirá con mayor detalle los SLP diagnosticados en las diferentes muestras biológicas de las distintas procedencias.

Catlab Informa



DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGÍA CATLAB

- Jorge Medina jmedina@catlab.cat
- Teresa Villalba tvillalba@catlab.cat
- Miquel Diaz mdiaz@catlab.cat

Bibliografía:

1. Miguel A. Sanz. Manual práctico de Hematología Clínica. 7ª edición (2022).
2. J. M. Moraleda Jiménez. Pregrado de Hematología. 4ª edición.
3. S. Woessner Casas; L. Florensa Brichs. La citología óptica en el diagnóstico Hematológico. 5ª edición.
4. Grupo Español de Citología Hematológica. Atlas GECH. <https://atlas.gechem.org/index.php?lang=es>
5. Esther Sánchez Domingo. Diagnóstico de Síndromes Linfoproliferativos a partir de la revisión de frotis de sangre periférica en nuestro laboratorio. 35º congreso de la Asociación Española de Técnicos de Laboratorio.