

CASO CLÍNICO

CASO DE LINFOMA NO HODGKIN DETECTADO POR AGLUTINACIÓN DE LINFOCITOS EN SANGRE PERIFÉRICA

Quirós Quirós, William¹ y Acosta Gómez, Isela²

¹Microbiólogo Químico Clínico. División de Hematología, Laboratorio Clínico, Hospital Dr. Calderón Guardia, San José, Costa Rica. ²Microbiólogo Químico Clínico. Laboratorio Servicio de Emergencias Hospital Dr. Calderón Guardia, San José, Costa Rica.

Resumen: La agregación de linfocitos en extendidos de sangre periférica es una curiosidad hematológica poco documentada, que se presenta particularmente como un fenómeno "In Vitro". Existen pocos argumentos sólidos que expliquen este fenómeno cuya causa subyacente aún es desconocida. En algunos artículos médicos se ha descrito alguna asociación de este fenómeno con linfomas de Células B de Zona Marginal, linfoma esplénico de células B y linfoma de células del manto, entre otras alteraciones hematológicas. En este artículo se presenta un caso de una mujer de 99 años con fenómeno de agregación de linfocitos en una muestra de sangre periférica obtenida con EDTA a la cual se le realizaron análisis de citometría de flujo, los cuales revelaron un diagnóstico compatible con un Linfoma No Hodgkin de células B tipo MALT.

Palabras clave: Agregación linfocitaria, Linfo-aglutinación, LNH-MALT.

Recibido: 2 Noviembre 2013. Aceptado: 20 Febrero 2014. Publicado: 23 Abril 2014.

A NO HODGKIN LYMPHOMA REVEALED BY LYMPHOCYTES AGGLUTINATION IN PERIPHERAL BLOOD SMEARS

Abstract: Aggregation of lymphocytes in peripheral blood smears is a poorly documented hematologic curiosity, that typically occurs as a phenomenon *in vitro*. There are few solid arguments that explain this phenomenon whose underlying cause is still unknown. In some medical publications described an association of this phenomenon with B-Cell Lymphomas as Lymphoma of Marginal Zone, Splenic B-cell Lymphoma and Mantle Cell Lymphoma, and other blood disorders.

In this article we presents a case of a 99 years old female with aggregation phenomenon of lymphocytes in peripheral blood sample obtained with EDTA which revealed a diagnosis compatible with non-Hodgkin lymphoma of B cell type MALT by flow cytometry analysis.

Key words: Lymphocytic Clustering, Lymphocyte agglutination, NHL-MALT

INTRODUCCIÓN

El fenómeno de agregación de células sanguíneas, es un hallazgo que se considera de escaso valor hematológico porque se admite como un fenómeno "*in vitro*" ocasionado por cambios en la superficie celular inducidos por el anticoagulante EDTA [1-5]. La agregación específica de linfocitos es aún más infrecuente y aunque se ha descrito en algunos pacientes con linfoma y en leucemia linfocítica crónica, su significancia clínica continúa siendo incierta [6-9]. El Linfoma No Hodgkin de células B de tejido linfoide asociado a mucosas (NHL-MALT) es una entidad clínica bien definida cuyas características morfológicas e inmunofenotípicas han sido ampliamente establecidas [10-12]. En la forma extranodal de este linfoma conocida también como LNH de células B de Zona Marginal se ha descrito el fenómeno de agregación linfocitaria.

La presencia de agregación de células linfoides neoplásicas en sangre periférica es interesante y se está observando y describiendo con mayor frecuencia. Hasta tanto no se logre esclarecer el mecanismo subyacente lo

presentamos como un curioso hallazgo en un linfoma tipo MALT.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron dos muestras de sangre periférica con una diferencia de 24 horas, las cuales fueron obtenidas utilizando tubos al vacío conteniendo EDTA y procesadas en el analizador automatizado Sysmex XT-1800 [13,14].

Se comprobó el fenómeno tomando una muestra adicional en citrato de sodio 3,8%. Los estudios de citometría de flujo se enviaron al Centro de Referencia Especializado del Hospital Nacional de Niños, San José, Costa Rica.

REPORTE DE CASO

Mujer de 99 años, referida al servicio de emergencias del Hospital Calderón Guardia por visión borrosa, somnolencia, desviación de la comisura bucal izquierda, pérdida de movilidad de miembro superior derecho. Por los síntomas y signos neurológicos se diagnostica como un evento

cerebro vascular isquémico y se documenta concomitantemente una historia de bronquitis de 8 días de evolución, por lo que es internada en el servicio de neurología.

Los estudios iniciales de laboratorio mostraron un recuento de glóbulos rojos de $4.28 \cdot 10^6/\mu\text{L}$, hematocrito de 41.5 y concentración de hemoglobina de 12.8 g/dl, los índices hematimétricos se encontraron dentro de los límites de referencia. El recuento total de leucocitos fue 19,910/uL y el recuento de plaquetas de $89 \cdot 10^3/\mu\text{L}$.

En el extendido de sangre periférica inicial obtenido con EDTA se reportan 28% (5574.8/uL) de células linfoides de pequeño a mediano tamaño, algunas de ellas con morfología nuclear atípica y se documenta la presencia del fenómeno de agregación de linfocitos, por lo que se envía al servicio de Hematología para valoración (Figura 1 y Figura 2).

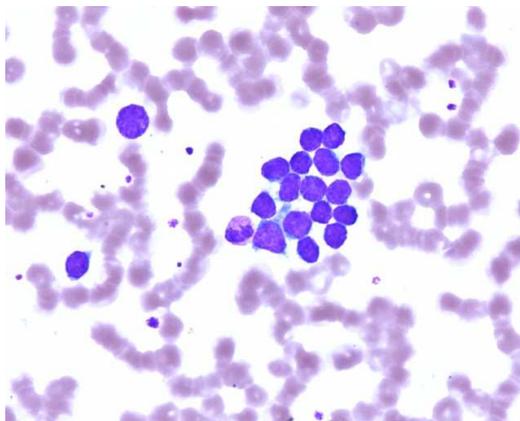


Figura 1. Fenómeno de aglutinación de linfocitos en sangre periférica. Tinción de Wrigth. 40X

Se confirma el hallazgo de linfo-agregación tanto en la muestra inicial como en las muestras de control, pero no se observó agregación de neutrófilos ni de otras células sanguíneas (Figura 3).

Al momento del hallazgo no se determinó el porcentaje de células atípicas que mostraban

agregación linfocitaria porque se desconocía su significado o su importancia clínica. En muestras subsecuentes, también tomadas con EDTA se demostró el fenómeno de linfo-aglutinación, el cual se hacía menos frecuente con el paso de los días (Figura 4).

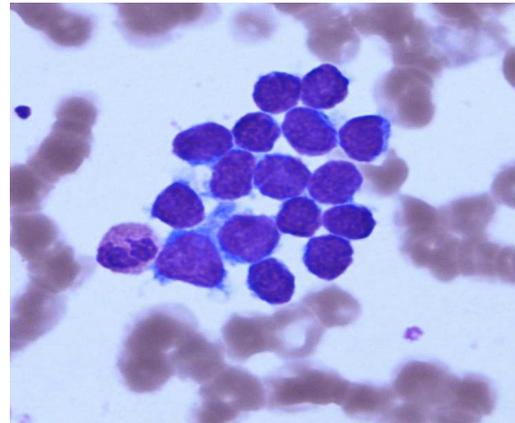


Figura 2. Linfocitos con morfología atípica formando grumos en sangre periférica. Tinción de Wrigth. 100X

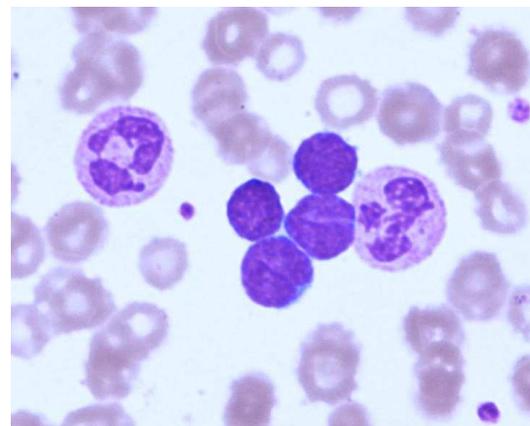


Figura 3. Aglutinación de linfocitos, pero no de otras líneas celulares. Tinción Wrigth 100X

En la muestra de sangre periférica remitida al centro especializado en citometría de flujo se informó un 14% de células maduras clonales kappa+, cuyo perfil inmunofenotípico descartó

LLC, linfoma de Burkitt, linfoma Folicular y linfoma del manto y se reporta probable LNH MALT.

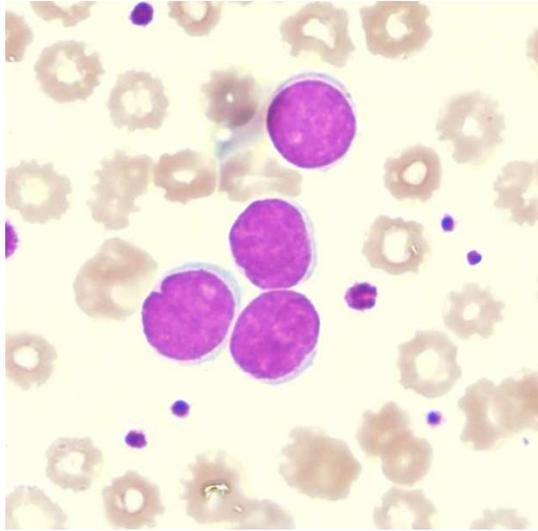


Figura 4 Disminución de la intensidad del fenómeno de linfoaglutinación. Tinción de wrigth 100x.

Resulta de interés el hecho de que luego de varios días se empieza a observar cambios en la morfología celular de la línea linfoide, principalmente la aparición de proyecciones citoplasmáticas, núcleos invaginados y la presencia de nucléolos que le dan un aspecto linfomatoso, distinto al inicial (Figura 5).

A fin de valorar el efecto del EDTA como inductor del fenómeno se toman muestras en citrato de sodio donde también se consigna el hallazgo, pero se observa una disminución en la cantidad de linfocitos en “grumos”.

La paciente es egresada con cita de control en consulta externa a hematología, pero a la fecha de esta publicación no se documenta su asistencia.

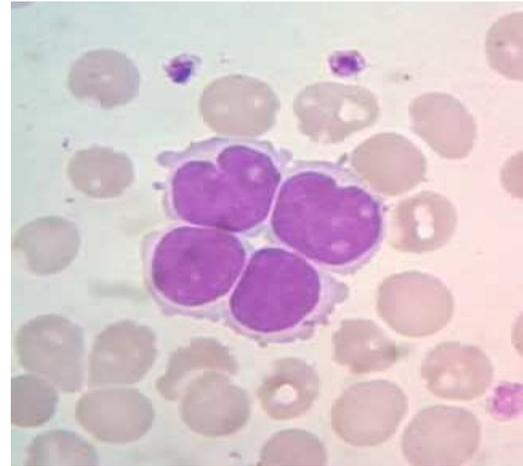


Figura 5 Células evolucionadas de aspecto linfomatoso observadas post diagnóstico. Tinción Wrigth 100X

DISCUSIÓN

Existen múltiples clasificaciones propuestas para agrupar los neoplasmas linfoides (WHO, REAL, FAB, ICD-O, InterLymph) y en todas estas se incluye el linfoma tipo MALT (tejido linfoide asociado a mucosas) como un grupo bien definido de linfoma No Hodgkin de células B [15,16].

Este tipo de linfoma presenta una forma extra-nodal que comparte características moleculares, patológicas y clínicas con el linfoma de células B de zona marginal por lo que se le considera una forma extranodal de este linfoma [6,7,10,11]. En 2009 Latger y colaboradores describen el fenómeno de linfoaglutinación en un caso de linfoma de Células B de Zona Marginal.

Se han descrito dos tipos de linfoma MALT, el tipo nativo derivado del tejido linfoide presente en el intestino y un tipo MALT adquirido que se desarrolla en sitios extra-nodales en respuesta a condiciones inflamatorio-infecciosas, tales como gastritis por *Helicobacter pylori* y procesos autoinmunes como la el síndrome Sjögren y la tiroiditis de Hashimoto [10,11].

Este linfoma de bajo grado es característico en pacientes adultos y tiene una ligera predominancia en pacientes de género femenino.

Presentamos un caso de linfoma de células B de bajo grado de tipo MALT en el que se observó en varias ocasiones aglomeración importante de los linfocitos en el frotis de sangre periférica. Aunque el mecanismo exacto que subyace a este fenómeno no ha sido determinado, se ha propuesto que es EDTA dependiente y por lo que su importancia clínica es incierta.

Las Aglutininas frías de tipo IgM que han sido implicadas en otros tipos de agregación celular, también se han considerado como probables causas de este hallazgo.

La expresión de antígenos ocultos por efecto de la exposición al EDTA ha tenido cierta aceptación como causa probable del fenómeno [1-5].

Algunos autores han mencionado la posibilidad de que los estrógenos, el ácido araquidónico, los leucotrienos e incluso la adrenalina (epinefrina) tengan algún efecto en el proceso de linfoagregación, por lo que también han sido propuestos como probables desencadenantes del fenómeno [17,18].

No hay certeza de que este evento de aglutinación ocurra en vivo; ni evidencia alguna de los potenciales efectos patológicos resultantes de la eventual agrupación de células, por lo que el fenómeno debe ser tomado como un hallazgo curioso.

La asociación de este fenómeno con linfomas es intrigante y aunque su significado es incierto ya ha sido informado en varias publicaciones previas por lo que

consecuentemente podría ser considerado como un hallazgo precoz de alerta sobre la presencia de linfocitos neoplásicos en sangre periférica, en especial en pacientes adultos mayores donde este tipo de patologías es más frecuente [7-9].

CONCLUSIONES

Hasta la fecha no existe evidencia de que un evento de aglutinación de linfocitos como el que se describe en esta publicación pueda ocurrir en vivo; ni tampoco hay demostración alguna de los potenciales efectos patológicos resultantes de la agrupación de células, por lo que el fenómeno sigue siendo considerado solamente como un hallazgo curioso dependiente de EDTA, aunque se han postulado algunas otras explicaciones.

La asociación del fenómeno de leuco-agregación y linfomas es intrigante y cada vez son más los reportes de observaciones similares cuyo significado continúa siendo incierto.

Este hallazgo y su asociación a linfomas ya ha sido informado en varias publicaciones previas por lo que eventualmente, podría ser considerado como una manifestación precoz que podría alertar sobre la posible presencia de linfocitos neoplásicos en sangre periférica, en especial si se trata de pacientes adultos de edad avanzada donde este tipo de patologías es más frecuente [7-9].

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a la DLC Viria Barquero Solano por su valioso aporte en el diagnóstico y seguimiento de este caso y por facilitarnos algunas de las fotografías que ilustran este trabajo.

REFERENCIAS

1. Deol I, Hernandez AM, Pierre RV. Ethylenediamine tetraacetic acid-associated leukoagglutination. *Am J Clin Pathol.* 1995;103:338-40.
2. Juneja S, Wolf M, Mc Lennan R, Clumping of lymphoma cells in peripheral blood induce by EDTA. *J Clin Pathol* 1992;45:538-540.
3. Lesesve JF, Vila L. EDTA-dependent lymphoagglutination, *Lab Hematol.* 2008;14(4):35-7.

4. Lesesve JF, Troussard X, EDTA-dependent lymphoagglutination. *Br J Haematol.* 2001 Nov;115(2):237.
5. Lesesve JF, Haristoy X, Fisher B, Goupil JJ, Lecompte T. In vitro EDTA-dependent lymphocyte agglutination. 2001 Jul-Aug;59(4):497-501[Article in French].
6. Latger-Cannard V, Debourgogne A, Montagne K, Plénat F, Lecompte T. Platelet satellitism and lympho-agglutination as presenting finding in marginal zone B-cell lymphoma. *Eur J Haematol.* 2009; 83(1):81-2.
7. Debourgogne A, Latger-Cannard V, Montagne K, Plénat F, Lecompte T. A marginal zone-B cell lymphoma revealed by platelet satellitism and lympho-agglutination phenomenon around atypical lymphocytes. *Ann Biol Clin.* 2007 May-Jun;65(3):287-90.
8. Shelton J, Frank I, Splenic B cell lymphoma with lymphocyte clusters in peripheral blood smears. *J Clin Pathol.* 2000; 53(3):228-30.
9. Bizzaro N, Piazza I. Lymphocytic clusters in peripheral blood: an atypical morphologic pattern of chronic lymphocytic leukemia. *Acta Haematol.* 1991;86:209-11.
10. Zucca E, Bertoni F, Roggero E, Cavalli F. The gastric marginal zone B-cell lymphoma of malt type. *Blood.* 2000 Jul 15;96(2):410-9.
11. Vilella A, Ginésb A, Dolza C. Linfoma gástrico tipo MALT. *Med Clin (barc)* 2003;120(9):349-52.
12. Turner JJ, Morton LM, Linet MS, et al. Interlymph hierarchical classification of lymphoid neoplasms for epidemiologic research based on the who classification (2008): update and future directions. *Blood.* 2010 Nov 18;116(20):90-8.
13. Ernst DJ, Ballance Lo, Calam RR, McCall R, Smith SS, Szamosi DI, Warunek DJ. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the Collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; Approved Standar-Sixth Edition. 2007; H3-A6, Vol. 27 No. 26 Replaces H3-A5 Vol. 23 No. 32. Disponible en: <http://www.clsi.org/source/orders/free/H3-a6.pdf>.
14. International Committee for Standarization in Haematology (ICSH). ICSH reference method for staining of blood and bone marrow by azure B and eosin Y (Romanowsky stain). *Br J Haematol.* 1984; 57:707-10.
15. Campo E, Swerdlow SH, Harris NI, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The 2008 who classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood.* 2011 May 12; 117(19):5019-32.
16. Morton LM, Turner JJ, Certhan JR, et al. Proposed classification of lymphoid neoplasms for epidemiologic research from the pathology working group of the international lymphoma epidemiology consortium (interlymph). *Blood.* 2007 Jul 15; 110(2):695-708.
17. Hammer schmidt DE, Jeanneret C, Husak M, Lobell M, Jacob HS. Lymphocyte aggregation in response to adrenergic stimulation. *Blood.* 1988;71(5):1470-74.
18. Pfeifer RW, Patterson RM. Modulation of lectin-stimulated lymphocyte agglutination and mitogenesis by estrogen metabolites: effects on early events of lymphocyte activation. *Arch Toxicol.* 1986 Feb;58(3):157-64.

INFORMACION DE AUTOR:

Quirós Quirós, William. wquiros@gmail.com
 Laboratorio Servicio de Hematología Hospital Calderón Guardia.
 Barrio Aranjuez, San José, Costa Rica

