

ISSN 0120-4157

# Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

## PUBLICACIÓN ANTICIPADA EN LINEA

El Comité Editorial de *Biomédica* ya aprobó para publicación este manuscrito, teniendo en cuenta los conceptos de los pares académicos que lo evaluaron. Se publica anticipadamente en versión pdf en forma provisional con base en la última versión electrónica del manuscrito pero sin que aún haya sido diagramado ni se le haya hecho la corrección de estilo.

Siéntase libre de descargar, usar, distribuir y citar esta versión preliminar tal y como lo indicamos pero, por favor, recuerde que la versión impresa final y en formato pdf pueden ser diferentes.

### Citación provisional:

**Celis M, Navarro Y, Serrano N, Martínez D, Nieto W.** Linfocitosis monoclonal de células B en familiares de pacientes con síndromes lifoproliferativos crónicos B en Colombia. *Biomédica*. 2023;43 (Supl.).

Recibido: 04-07-23

Aceptado: 05-10-23

Publicación en línea: 06-10-23

**Linfocitosis monoclonal de células B en familiares de pacientes con  
síndromes lifoproliferativos crónicos B en Colombia**

**Linfocitosis monoclonal de células B en Colombia**

**Monoclonal B-cell lymphocytosis in relatives of patients with chronic B-cell  
lymphoproliferative disorders in Colombia**

Mike Celis <sup>1,2</sup>, Yohanna Navarro <sup>3</sup>, Norma Serrano <sup>3</sup>, Daniel Martínez <sup>2</sup>, Wendy  
Nieto <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Doctorado en Ciencias Biomédicas, Facultad de Salud, Universidad del Valle,  
Cali, Colombia

<sup>2</sup> Instituto de Investigación Masira, Facultad de Ciencias Médicas y de la Salud,  
Universidad de Santander, Bucaramanga, Colombia

<sup>3</sup> Grupo de Investigación Biomédica Traslacional, Hospital Internacional de  
Colombia, Floridablanca, Colombia

### ***Correspondencia***

Wendy Grey Nieto, Servicio de Patología, Hospital Internacional de Colombia,  
Piedecuesta, Colombia.

Teléfono:+573125252912

[wendynieto@fcv.org](mailto:wendynieto@fcv.org)

### **Contribución de los autores:**

Mike Celis: diseño, adquisición, análisis e interpretación de datos y redacción del  
manuscrito.

Yohanna Navarro y Wendy Nieto: concepción y diseño.

Norma Serrano: concepción y diseño, y supervisión del proyecto.

Daniel Martínez: análisis e interpretación de los datos.

Todos los autores participaron en la revisión crítica de contenido.

**Introducción.** La linfocitosis monoclonal de células B, generalmente precede la leucemia linfocítica crónica y afecta alrededor del 12% de la población adulta sana. Dicha frecuencia incrementa en familiares de pacientes con síndromes linfoproliferativos crónicos B.

**Objetivo.** Determinar la frecuencia de linfocitosis monoclonal B en familiares de pacientes con síndromes linfoproliferativos crónicos B, sus características inmunofenotípicas/citogenéticas, posible relación con agentes infecciosos, y seguimiento a corto plazo en población colombiana.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron 50 adultos sanos con antecedentes familiares de síndromes linfoproliferativos crónicos B, empleando citometría de flujo multiparamétrica, pruebas citogenéticas/serológicas, encuesta de hábitos de vida y seguimiento a 2 años.

**Resultados.** La frecuencia de linfocitosis monoclonal B encontrada fue 8%, con predominio del género femenino y edad avanzada, incrementando a 12,5% para individuos con antecedentes familiares de leucemia linfocítica crónica. Tres de cuatro individuos presentaron inmunofenotipo tipo leucemia linfocítica crónica, todas de bajo recuento. A su vez, en estos individuos se observa de manera significativa un mayor número de células/uL en subpoblaciones linfocitarias T, junto con mayor predisposición a enfermedad. Las poblaciones clonales descritas aumentan a lo largo del tiempo de manera no significativa.

**Conclusiones.** La frecuencia y comportamiento de la linfocitosis monoclonal de célula B en familiares con síndromes linfoproliferativos crónicos B es similar a lo encontrado en estudios relacionados, lo que sugiere que no existe afectación de genes de mayor relevancia que puedan desencadenar una proliferación clonal

descontrolada, pero que generan desregulación inmune que podría justificar un mayor riesgo de infección grave en estos individuos.

**Palabras clave:** linfocitosis; leucemia linfocítica crónica de células b; linfoma no Hodgkin; citometría de flujo; estudios de seguimiento; pruebas serológicas.

**Introduction.** Monoclonal B-cell lymphocytosis generally precedes chronic lymphocytic leukemia, affecting about 12% of the healthy adult population. This frequency increases in relatives of patients with chronic B-cell lymphoproliferative disorders.

**Objective.** To determine the frequency of Monoclonal B-cell lymphocytosis in relatives of patients with chronic B-cell lymphoproliferative disorders, their immunophenotypic/cytogenetic characteristics, a possible relationship with infectious agents, and short-term follow-up in the Colombian population.

**Materials and methods.** Fifty healthy adults with a family history of chronic B-cell lymphoproliferative disorders were studied using multiparametric flow cytometry, cytogenetic/serological testing, lifestyle survey, and 2-year follow-up.

**Results.** The frequency of Monoclonal B-cell lymphocytosis found was 8%, with a predominance of female gender and advanced age, increasing to 12.5% for individuals with a family history of chronic lymphocytic leukemia. Three out of four individuals presented chronic lymphocytic leukemia-type immunophenotype, all with low counts. In turn, a significantly higher number of cells/uL is observed in these individuals in T lymphocyte subpopulations, together with a greater predisposition to the disease. The described clonal populations increase over time in a non-significant manner.

**Conclusions.** The frequency and behavior of Monoclonal B-cell lymphocytosis in relatives with chronic B-cell lymphoproliferative disorders are like that found in related studies, which suggests that there is no involvement of more relevant genes that can trigger uncontrolled clonal proliferation, but that generates immune deregulation that could justify a greater risk of serious infection in these individuals.

**Keywords:** Lymphocytosis; leukemia, lymphocytic, chronic, b-cell; lymphoma, non-Hodgkin; flow cytometry; follow-up studies; serologic tests.

Los síndromes linfoproliferativos crónicos de célula B (SLPCB), corresponden a un grupo de trastornos clonales de los linfocitos B, los cuales incluyen patologías como la leucemia linfocítica crónica (LLC), leucemia prolinfocítica B (LPL-B), tricoleucemia (TL), linfoma de la zona marginal (LZM), linfoma folicular (LF), linfoma de células del manto (LCM), macroglobulinemia de Waldenstrom/Linfoma linfoplasmocítico (MW/LLP). Todas las enfermedades antes mencionadas son parcialmente similares en morfología celular, inmunofenotipo y genética molecular, pero significativamente diferentes en tratamiento y pronóstico (1).

A partir del año 2016 la organización mundial de la salud incluye en su revisión de neoplasias linfoides, la linfocitosis monoclonal de células B (LMB) en dicho grupo, a pesar de no ser una entidad con manifestaciones y signos clínicos, y la define como la presencia en sangre periférica (SP) de poblaciones monoclonales de linfocitos B de hasta  $5 \times 10^9$ /Litro, ya sea con fenotipo de leucemia linfocítica crónica (LLC) típica, LLC atípica, o no-LLC (2).

La LMB se encuentra hasta en un 12% de la población adulta sana (2) con un promedio del 5% (3), dicha frecuencia depende de la sensibilidad de la técnica empleada y aumenta considerablemente en familiares de pacientes con LLC/Linfoma Linfocítico de Célula Pequeña (LLCP) hasta en un 18% (4). Las poblaciones clonales B se mantienen en los individuos a lo largo tiempo en un 90% de los casos y la tasa de progresión de una LMB de alto recuento a un SLPCB clínicamente manifiesto oscila entre el 1-4% anual (2,3); adicionalmente también se sabe que la LMB parece tener un compromiso inmune en estos individuos, generando un mayor riesgo de padecer complicaciones infecciosas graves (5).



Actualmente en Colombia, el único estudio que evaluó LMB en familiares con LLC, encontró una frecuencia del 2% (6), porcentaje muy bajo al compararlo con otros estudios similares realizados hasta la fecha a nivel mundial (4,7). Por tal motivo, en el presente trabajo se decidió cuantificar y caracterizar exhaustivamente la presencia de dichas poblaciones clonales, empleando diversas técnicas de análisis con la finalidad de detectar alteraciones numéricas, fenotípicas, séricas y moleculares; y asimismo, relacionarlas con diferentes hábitos de vida que nos permitiera intuir su presencia y/o una probable evolución a corto plazo de las mismas.

## **Materiales y métodos**

### ***Población y muestra***

Se estudiaron 50 familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con SLPCB mayores de 18 años y sin enfermedad hematológica; los cuales fueron reclutados mediante información suministrada en el servicio de medicina nuclear y oncología del Hospital Internacional de Colombia (HIC). La participación en el estudio fue de forma voluntaria y en ningún caso el participante fue identificado personalmente, manteniendo el derecho a la privacidad y protección de su información personal según lo establecido por la ley colombiana estatutaria 1581 (Habeas Data) de 2012. Todos los individuos firmaron un consentimiento informado avalado por el comité de ética en investigaciones institucional y cada participante relleno un cuestionario con información personal, familiar y costumbres de rutina general, el cual se validó por juicio de expertos según suficiencia, claridad, coherencia y relevancia de las preguntas, con la finalidad de

determinar factores que pudieran estar relacionados con la presencia de clones LMB. Se excluyeron del estudio las mujeres embarazadas.

En todos los casos se obtuvo una muestra de SP anticoagulada con EDTA (20 mL), con la cual se realizó un hemograma, tamizaje para identificar LMB por citometría de flujo, y muestra de plasma para la realización de pruebas serológicas. En los casos donde se identificó una población de LMB, se llevó a cabo la clasificación por inmunofenotipo, seguidamente, en algunos casos, separación celular de la población a estudio para análisis citogenético y posterior seguimiento a 2 años de la identificación de la LMB.

Todas las muestras fueron procesadas en un periodo no superior a 12 horas después de su recolección. La biometría hemática se realizó en el analizador hematológico automatizado (CELL-DIN Rubi, Abbott Laboratories, Libertyville, IL), para conocer el recuento absoluto y porcentual de leucocitos.

### ***Estudio por inmunofenotipo***

La identificación por inmunofenotipo de la LMB se procesó según el protocolo descrito en Salamanca (España) (8) empleando técnica de inmunofluorescencia directa con combinaciones múltiples de 12 anticuerpos en 8 canales de fluorescencia según lo recomendado por el consorcio Europeo Euroflow para el tamizaje de enfermedades linfoproliferativas (LST) (9) y que incluyó la siguiente combinación adaptada de anticuerpos: CD20-CD4/CD45/CD8-sIglambda/CD56-sIlgkappa/CD5/CD19/CD3/CD38, este panel también permitió evaluar subpoblaciones de linfocitos T, células NK y linfoplasmocitos. Una vez realizados los marcajes de las muestras (900-1200ul de SP), se adquirió un mínimo de  $5 \times 10^6$

leucocitos totales por participante, empleando un citómetro de flujo BD FACSCanto II™ (Becton Dickinson).

Para el análisis de datos se utilizó el software INFINICYT™ (Cytognos SL), contemplando un mínimo de 30 eventos de linfocitos B clonales para considerarla población LMB. Los valores absolutos de linfocitos B se calcularon basados en el valor total de linfocitos en el hemograma.

En los participantes donde se detectó LMB, la caracterización por inmunofenotipo se realizó mediante una ampliación de anticuerpos por citometría de flujo multiparamétrica de alta sensibilidad para determinar el tipo de LMB (LLC, LLC atípica y No LLC) empleando las siguientes combinaciones de anticuerpos:

- CD20/CD45/CD200/CD23/CD19/CD10/CD5/CD38
- CD20/CD103/CD25/CD19/CD5/CD11c/CD49d/CD43

La compensación y calibración del citómetro se efectuó según las recomendaciones del consorcio *EuroFlow* (10) y protocolos internos del laboratorio. El seguimiento a los participantes con LMB se llevó a cabo en una media de 24 meses empleando el panel de tamizaje descrito anteriormente. Los anticuerpos empleados en el estudio de inmunofenotipo fueron: CD20 BD Horizon™ V450 (BD, Cod. 642274), CD4 (SK3) V450 (BD, Cod. 651849), CD45 V500c (BD, Cod. 647449), CD8 FITC (BD, Cod. 347313), LAMBDA  $\lambda$  Light Chain FITC (BD, Cod. 346600), CD56 PE (BD, Cod. 347747), Kappa PE (BD, 346601), CD5 PerCP-Cy™5.5 (BD, Cod. 341089), CD19 PE-Cy™7 (BD, Cod. 341093), CD3 APC (BD, Cod. 340440), CD38 APC-H7 (BD, Cod. 656646), CD23 FITC (BD, Cod. 656148), CD200 APC (BD, Cod. 655406), CD10 PE (BD, Cod. 658366), CD103

FITC (BD, Cod. 340945), CD11c APC (BD, Cod. 658330), CD49d APC-H7 (BD, Cod. 658332), CD43 APC-H7 (BD, Cod. 655407).

### ***Estudios serológicos***

En todas las muestras de SP evaluadas se recolectó un mínimo de 2 ml de plasma, el cual se almacenó a -80°C, para posteriormente realizar los estudios por inmunoensayo para los siguientes agentes infecciosos: *Helicobacter pylori* IgG, *virus del herpes simple* (VHS) tipo 1 y 2 IgG, *varicela zóster* (VZV) IgG, *Toxoplasma gondii* IgG/IgM, *virus del Epstein Barr* (VEB) IgG/IgM, *citomegalovirus* (CMV) IgG/IgM, *virus de la hepatitis A* (VHA) IgG, *virus de la hepatitis B* (VHB) HBsAg y *virus de la hepatitis C* (VHC) IgG y *virus de la inmunodeficiencia humana* (VIH) tipo I y II Ag/Ab. Estas determinaciones se midieron utilizando kits disponibles comercialmente para ensayos inmunológicos empleando los equipos Architect ci4100 (ABBOTT) y el lector de microplaca iMark (BioRad), siguiendo estrictamente las recomendaciones de los fabricantes. Los kits empleados fueron: ARCHITECT Anti-HCV (ABBOTT, Ref. 10112339), ARCHITECT EBV VCA IgG (ABBOTT, Ref. 10171825), ARCHITECT EBV VCA IgM (ABBOTT, Ref. 10171826), ARCHITECT CMV IgM (ABBOTT, Ref. 10112360), ARCHITECT CMV IgG (ABBOTT, Ref. 10113034), ARCHITECT HAVAB IgG (ABBOTT, Ref.10136085), ARCHITECT HIV Ag/Ab (ABBOTT, Ref. 10142084), ARCHITECT TOXOPLASMA IgG (ABBOTT, Ref. 10136115), ARCHITECT TOXOPLASMA IgM (ABBOTT, Ref. 10136116), ARCHITECT HBSAG QUAL II (ABBOTT, Ref. 10144079), HERPES SIMPLE 1 ELISA IGG/IGM (VIRCELL, Ref. 988G/M1012), HERPES SIMPLE 2 ELISA IGG/IGM (VIRCELL, Ref. 988G/M1013), VARICELA-

ZOSTER ELISA IGG/IGM (VIRCELL, Ref. 988G/M1002), HELICOBACTER  
PILORY TEST( ABON, Ref. 105IPH302).

### ***Separación celular y caracterización citogenética***

La purificación de estas poblaciones se realizó en el 50% de los individuos con LMB, mediante la técnica de separación por citometría de flujo multiparamétrica con una pureza de separación de alrededor del 98% en el equipo BD FACSAria™ III (Becton Dickinson) del Instituto Nacional de Cancerología (INC).

Los anticuerpos monoclonales que fueron empleados para la separación se seleccionaron teniendo en cuenta el inmunofenotipo de la población LMB encontrado en la muestra (LLC, LLC atípico, No-LLC). En todos los casos se recogió la fracción B monoclonal y una fracción de células T de SP del individuo como control. La compensación, calibración del citómetro y metodología de separación se realizó según las especificaciones o recomendaciones del fabricante y siguiendo los protocolos internos del laboratorio.

Inmediatamente las células fueron separadas, se sumergieron en solución de carnoy y se llevaron al servicio de citogenética del INC, donde fueron concentradas mediante centrifugación por cytospin para posteriormente realizar fijaciones directamente en portaobjetos para realizar FISH (*Hibridación fluorescente in situ*) en interfase. Las sondas empleadas fueron: Vysis LSI IGH Dual Color. Break Apart (ABBOTT, Ref. 08L63-020), Vysis LSI MLL Dual Color. Break Apart. (ABBOTT, Ref. 08L57-020). En cada fracción separada se contaron los puntos de hibridación de todos los núcleos obtenidos por prueba citogenética.

### ***Análisis estadístico***

Para las variables continuas se calcularon promedios, medianas, valores máximos y mínimos, mientras que las variables discretas se utilizaron tablas de frecuencias absolutas y relativas. Se establecieron comparaciones bivariadas entre la presencia o ausencia de LMB y las variables continuas utilizando la prueba de U de Mann-Whitney para muestras independientes. Para establecer la asociación entre LMB como valor absoluto o porcentual con la edad de los participantes, se utilizó un modelo de regresión lineal simple. Para establecer la relación entre presencia o ausencia de LMB con las variables discretas de las pruebas serológicas y las variables establecidas a partir de la encuesta, se utilizó la prueba exacta de Fisher.

Además, se estableció la relación entre el número absoluto de LMB en el momento de la obtención de los datos en la línea base, y en la evaluación realizada en el seguimiento a 2 años, en los individuos con reporte inicial de presencia de LMB, utilizando la prueba de rangos con signo para muestras pareadas. El análisis estadístico de los datos se desarrolló mediante el paquete estadístico Stata<sup>TM</sup> (StataCorp LLC, Texas, USA); y se utilizó como nivel de significancia el valor  $p < 0,05$ .

### ***Consideraciones éticas***

El presente estudio cumplió con las disposiciones de la declaración de Helsinki, las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud y fue aprobado por el comité de ética en investigación de la Fundación Cardiovascular de Colombia (FCV-HIC).

## Resultados

De los 50 individuos evaluados en el estudio, se identificaron poblaciones LMB en 4 de ellos, lo que correspondió a una frecuencia de presentación del 8%; en cuanto al género, la frecuencia en mujeres fue del 10% (3/30) y en hombres del 5% (1/20); observando que dicha frecuencia aumentaba con la edad, siendo ésta del 4,3% en personas entre los 18-40 años, 9,5% para las personas entre los 41-60 años y 16,7% en mayores de 60 años. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre el género, la edad y la presencia de LMB (cuadro 1).

Asimismo, de los 4 individuos con poblaciones LMB, 3 fueron de tipo LLC (75%) y uno de tipo no LLC (25%), todas las LMB eran de bajo recuento y solo uno de los cuatro casos con LMB fue biclonal (lo que corresponde a un 25% de la población). La media de células B clonales encontrada fue de 3,9/uL y la mediana de 2,9/uL (rango: 0,3-9,3). En concordancia con estudios similares, identificamos una mayor frecuencia de LMB en individuos con antecedentes familiares de LLC (12,5%) frente a los otros SLPCB (7,1%) y el individuo con LMB de tipo no LLC presentó un inmunofenotipo CD5-/CD19+/CD38-/CD20+high/CD23-/CD49d+/KAPPA+. Con relación a las variables del hemograma se apreciaron diferencias estadísticamente significativas en los participantes con LMB y sin LMB para el recuento absoluto de basófilos/uL ( $p=0,015$ , IC: 26,08 a 75,37), siendo esta población en promedio de mayor tamaño numérico en los participantes con LMB (84/uL). De igual forma, también se observaron diferencias significativas y un mayor promedio de células/uL en la población de linfocitos T CD4 ( $p=0,0136$  IC:

142,28-692,78), CD8 ( $p=0,0415$ , IC:11,73 a 468,26) y CD4/CD8 positivos ( $p=0,0411$ , IC:1,52 a 6,10) (cuadro 2).

Una vez analizadas las variables descritas en la encuesta de los 50 participantes con antecedentes familiares de SLPCB, hallamos diferencias estadísticamente significativas entre los individuos con y sin poblaciones LMB para las variables de reducción de labores por enfermedad reciente ( $p=0,016$ , IC: -0,98 a -0,25), donde la población con LMB tiende a presentarlas más a menudo (75%) en comparación a los individuos sin LMB (13%). Así mismo, se encontraron diferencias significativas en relación con la frecuencia de actividad física ( $p=0,051$ , IC: -0,97 a 1,23) y observamos un mayor sedentarismo en la población con LMB (cuadro 3). Los resultados obtenidos de las pruebas serológicas no fueron relevantes, ya que no observamos diferencias significativas al comparar los individuos con presencia y ausencia de poblaciones LMB, y los resultados de seropositividad obtenidos para los diferentes agentes infecciosos estudiados (figura 1).

Las pruebas de FISH realizadas para identificar alteraciones genéticas en poblaciones LMB separadas por citometría de flujo, determinaron anomalías en dos de los cuatro individuos; mostrando alteraciones cromosómicas para el gen *IGH* en el 50% de las células analizadas del individuo con inmunofenotipo no LLC y reordenamientos en *MLL* para un 27,3% de los núcleos evaluados en el individuo con fenotipo tipo LLC. Sin embargo, en ninguno de los 2 adultos estudiados se logró analizar un mínimo de 50 núcleos, a consecuencia de la baja proporción de células LMB en ellos, lo que también limitó la realización de pruebas en los otros dos individuos con poblaciones clonales B.



La media de seguimiento de los individuos con poblaciones LMB fue de 26 meses (Rango: 23-28 meses), donde identificamos que ninguno de los casos identificados progresa a LLC u otro SLPCB.

La media de seguimiento de los individuos con poblaciones LMB fue de 26 meses (Rango: 23-28 meses), donde identificamos que ninguno de los casos estudiados progresó a LLC u otro SLPCB. De los cuatro adultos con poblaciones clonales, sólo en uno de ellos (25%) el número absoluto de las células B anormales aumentó, en dos disminuyó (50%) y en sólo uno de los casos el número de células anormales se mantuvo igual (25%); sin embargo, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre el valor absoluto de LMB hallado inicialmente y tras el seguimiento, como se ha descrito de forma similar en estudios relacionados hasta la fecha (cuadro 4).

## **Discusión**

Diversas publicaciones realizadas en individuos con antecedentes familiares de LLC revelaron una frecuencia de LMB similar a la encontrada en el presente estudio, la cual se ubica entre el 13 al 18% (4,7) y muy superior a la identificada en el único estudio reportado en Colombia, tal vez a consecuencia de la cantidad de células analizadas para cada experimento, ya que el volumen de muestra evaluado en este trabajo fue de dos a tres veces superior. Sin embargo, esta frecuencia disminuyó frente a individuos con antecedentes familiares de SLPCB diferentes a la LLC. Al igual que en otros trabajos publicados, la LMB identificada en mayor frecuencia fue la tipo LLC de bajo recuento y con predominio en el género femenino (6,7).

Otros autores describen diferentes alteraciones en poblaciones de linfocitos T y/o células NK, reportando un incremento de éstas en individuos con LMB (11,12), lo cual se evidenció en este estudio de manera significativa en subpoblaciones de linfocitos T, lo que podría indicar una probable desregulación inmune presente en estos individuos (12); este incremento es posiblemente atribuido a la respuesta inmune celular frente a estas células B clonales.

Es de resaltar, que en los estudios realizados hasta la fecha sobre LMB, no se ha descrito incremento en la proporción de basófilos, sin embargo, se sabe que estas células también expresan el marcador de linaje B, CD22 y por ende se deduce que estos pueden regular algunas de las señales de activación estimuladas por el complejo antígeno/IgE a través de FcεR1, algo similar a la regulación de señales de activación en linfocitos B estimulados por antígeno a través del complejo receptor de células B/CD79 (13,14).

De entre los principales hallazgos obtenidos de la encuesta de hábitos de vida se apreció una mayor frecuencia de factores que suelen estar relacionados con diferentes tipos de cáncer, como el mayor consumo de cigarrillo en la población con LMB, aun así, no observamos diferencias estadísticamente significativas, lo que posiblemente sea debido a que en este tipo de personas, la presencia de clones B pudo ser originada por factores genéticos hereditarios (15). Por el contrario, identificamos significancias relacionadas con el menor grado de actividad física y una mayor reducción de actividades por enfermedad reciente en las personas con LMB en relación con las personas sin LMB. Actualmente no hay estudios sobre LMB que lo vinculen con sedentarismo, sin embargo, el estilo de vida sedentario, la dieta poco saludable y el tabaquismo son factores de riesgo

conocidos para diversas enfermedades, incluidos los trastornos hematológicos y el cáncer (16). También existe evidencia que sugiere que algunos de los déficits inmunes observados en la LMB de alto recuento están presentes en la LMB de bajo recuento, aunque en menor grado, lo que podría soportar la mayor reducción de actividades por enfermedad en los individuos con LMB del presente trabajo (5,17), esto también podría estar apoyado con la aparente desregulación celular del sistema inmune observada en estos individuos.

Con respecto a los análisis serológicos, no identificamos diferencias significativas con ninguno de los patógenos infecciosos evaluados, lo que nos llevó a presumir que en estos individuos no existe una asociación de la LMB encontrada y la infección con alguno de los agentes estudiados, por ende, su presencia se atribuiría más bien a un aspecto normal del sistema inmunitario, como es el proceso de inmunosenescencia, intensificado por factores hereditarios que aumentan su frecuencia en los individuos de mayor edad y las personas con antecedentes familiares de LLC (6,15).

Así mismo, el hecho de que observáramos alteraciones citogenéticas en los 2 individuos con LMB estudiados, soportó los hallazgos de otros investigadores donde se demuestra que la acumulación del daño en el ADN y la alteración en sus mecanismos de reparación, son características críticas de la inestabilidad genética presumiendo su implicación en la patogenia de la LMB y otros SLPCB (18). Los reordenamientos del gen *MLL* generan una proliferación selectiva y una ventaja de supervivencia en las células leucémicas; pero éste por sí sólo es insuficiente para inducir la leucemogénesis, por lo tanto, son necesarios estímulos oncogénicos adicionales (19). Por otra parte, las translocaciones que involucran el gen *IGH*, es

conocida su frecuencia en aproximadamente el 50% de los SLPCB y ocurren temprano en el proceso de transformación clonal, aun así tampoco parecen afectar el riesgo de progresión de la LMB al estado clínico, sin embargo la adquisición de anomalías clonales, junto con el aumento de los recuentos de células B son los determinantes más fuertes de la progresión de la enfermedad (20,21). Sin embargo y a pesar que se observó un aumento en la mediana del tamaño del clon B después del seguimiento realizado, no observamos diferencias significativas, por lo que se podría concluir que muy posiblemente en estos individuos no se han afectado genes de mayor relevancia para desencadenar una proliferación clonal descontrolada y, por lo tanto, probablemente en estos casos no sea una afección preleucémica; pero como lo sugieren otros estudios, el riesgo de padecer infecciones graves es más importante para estas personas (5).

Finalmente, recomendamos la realización de futuros estudios sobre el tema, donde se involucren poblaciones más grandes de individuos con antecedentes familiares de SLPCB y que permitan corroborar algunos de los hallazgos descritos por primera vez en este trabajo; asimismo, sugerimos hacer seguimiento de largo plazo, ya que los estudios realizados a la fecha incluyen sólo adultos sanos y no a familiares de pacientes con diferentes SLPCB.

### **Agradecimientos**

Al Departamento de Patología, Medicina Nuclear, Laboratorio Clínico y Hospitalización Oncología del Hospital Internacional de Colombia, por su apoyo en la búsqueda de los familiares de pacientes con síndromes linfoproliferativos crónicos de célula B.

## **Conflicto de intereses**

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

## **Financiación**

La investigación fue financiada por el Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación (Minciencias) de la república de Colombia y la Fundación Cardiovascular de Colombia (FCV) mediante el contrato 724-2016.

## **Referencias**

1. **Li YY, Hu DZ, Tian C.** Research progress on diagnosis and treatment of b cell chronic lymphoproliferative disease--review. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 2018;26:1220-4. <https://doi.org/10.7534/j.issn.1009-2137.2018.04.046>
2. **Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al.** The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood.* 2016;127:2375-90. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-01-643569>
3. **Strati P, Shanafelt TD.** Monoclonal B-cell lymphocytosis and early-stage chronic lymphocytic leukemia: diagnosis, natural history, and risk stratification. *Blood.* 2015;126:454-62. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-02-585059>
4. **Slager SL, Lanasa MC, Marti GE, Achenbach SJ, Camp NJ, Abbasi F, et al.** Natural history of monoclonal B-cell lymphocytosis among relatives in CLL families. *Blood.* 2021;137:2046-56. <https://doi.org/10.1182/blood.2020006322>
5. **Shanafelt TD, Kay NE, Parikh SA, Achenbach SJ, Lesnick CE, Hanson CA, et al.** Risk of serious infection among individuals with and without low count monoclonal B-cell lymphocytosis (MBL). *Leukemia.* 2021;35:239-44. <https://doi.org/10.1038/s41375-020-0799-8>

6. **Villegas Gracia R, Franco Alzate C, Rendón Henao J, Torres Hernández JD, Jaramillo Arbelaez PE.** Frequency of monoclonal B-cell lymphocytosis in relatives of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Colomb Med.* 2016;47:81-6.
7. **Goldin LR, Lanasa MC, Slager SL, Cerhan JR, Vachon CM, Strom SS, et al.** Common occurrence of monoclonal B-cell lymphocytosis among members of high-risk CLL families. *Br J Haemato.* 2010;151:152-8.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2010.08339.x>
8. **Nieto WG, Almeida J, Romero A, Teodosio C, López A, Henriques AF, et al.** Increased frequency (12%) of circulating chronic lymphocytic leukemia–like B-cell clones in healthy subjects using a highly sensitive multicolor flow cytometry approach. *Blood.* 2009;114:33-7. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-01-197368>
9. **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;26:1908-75.  
<https://doi.org/10.1038/leu.2012.120>
10. **Kalina T, Flores-Montero J, Van Der Velden VH, Martin-Ayuso M, Böttcher S, Ritgen M, et al.** EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. *Leukemia.* 2012;26:1986-2010.  
<https://doi.org/10.1038/leu.2012.122>
11. **De Faria-Moss M, Yamamoto M, Arrais-Rodrigues C, Criado I, Gomes CP, de Lourdes Chauffaille M, et al.** High frequency of chronic lymphocytic

leukemia-like low-count monoclonal B-cell lymphocytosis in Japanese descendants living in Brazil. *Haematologica*. 2020;105:e298.

<https://doi.org/10.3324/haematol.2019.230813>

12. **Criado I, Nieto WG, Oliva-Ariza G, Fuentes-Herrero B, Teodosio C, Lecrevisse Q, et al.** Age-and sex-matched normal leukocyte subset ranges in the general population defined with the euroflow lymphocyte screening tube (LST) for monoclonal b-cell lymphocytosis (MBL) vs. Non-MBL subjects. *Cancers*. 2022;15:58. <https://doi.org/10.3390/cancers15010058>
13. **Doody GM, Dempsey PW, Fearon DT.** Activation of B lymphocytes: integrating signals from CD19, CD22 and Fc gamma RIIB1. *Curr Opin Immunol*. 1996;8:378-82. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(96\)80128-2](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(96)80128-2)
14. **Han X, Jorgensen JL, Brahmandam A, Schlette E, Huh YO, Shi Y, et al.** Immunophenotypic study of basophils by multiparameter flow cytometry. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132:813-9. <https://doi.org/10.5858/2008-132-813-ISOBBM>
15. **Kleinstern G, Weinberg JB, Parikh SA, Braggio E, Achenbach SJ, Robinson DP, et al.** Polygenic risk score and risk of monoclonal B-cell lymphocytosis in caucasians and risk of chronic lymphocytic leukemia (CLL) in African Americans. *Leukemia*. 2022;36:119-25. <https://doi.org/10.1038/s41375-021-01344-9>
16. **Kaastrup K, Grønbaek K.** The Impact of Sedentary Lifestyle, High-fat Diet, Tobacco Smoke, and Alcohol Intake on the Hematopoietic Stem Cell Niches. *HemaSphere*. 2021;5:e615. <https://doi.org/10.1097/HS9.0000000000000615>

17. **Criado I, Rodríguez-Caballero A, Gutiérrez ML, Pedreira CE, Alcoceba M, Nieto W, et al.** Low-count monoclonal B-cell lymphocytosis persists after seven years of follow up and is associated with a poorer outcome. *Haematologica*. 2018;103:1198. <https://doi.org/10.3324/haematol.2017.183954>
18. **Popp HD, Flach J, Brendel S, Ruppenthal S, Kleiner H, Seifarth W, et al.** Accumulation of DNA damage and alteration of the DNA damage response in monoclonal B-cell lymphocytosis and chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2019;60:795-804. <https://doi.org/10.1080/10428194.2018.1498494>
19. **El Chaer F, Keng M, Ballen KK.** MLL-Rearranged Acute Lymphoblastic Leukemia. *Curr Hematol Malig Rep*. 2020;15:83-9. <https://doi.org/10.1007/s11899-020-00582-5>
20. **Kostopoulos IV, Paterakis G, Pavlidis D, Kastritis E, Terpos E, Tsitsilonis OE, et al.** Clonal evolution is a prognostic factor for the clinical progression of monoclonal B-cell lymphocytosis. *Blood Cancer J*. 2017;7:e597. <https://doi.org/10.1038/bcj.2017.77>
21. **Küppers R.** Mechanisms of B-cell lymphoma pathogenesis. *Nat Rev Cancer*. 2005;5:251-62. <https://doi.org/10.1038/nrc1589>



**Cuadro 1.** Frecuencia y número de LMB relacionado con la edad y género en familiares de pacientes con SLPCB.

	Genero			Valor P	Rango de edad (años)			Valor P
	Total	Femenino	Masculino		18-40	41-60	>60	
<b>Total participantes</b>	50	30	20		23	21	6	
<b>Total participantes con LMB y %</b>	4 (8)	3 (10)	1 (5)	0,527	1(4,3)	2 (9,5)	1(16,7)	0,142
<b>% promedio y rango de LMB/Linfocitos</b>	0,13 (0,01-0,33)	0,06 (0,01-0,11)	0,33	0,179	0,33	0,08 (0,05-0,11)	0,01	0,148
<b>Promedio y rango LMB/uL</b>	3,9 (0,33-9,3)	2,1 (0,33-4,47)	9,3	0,179	9,3	2,9 (1,4-4,5)	0,33	0,162

Diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ). LMB: Linfocitosis Monoclonal de

células B: %: porcentaje de individuos.

**Cuadro 2.** Relación de LMB con presencia de las diferentes poblaciones celulares en sangre periférica.

	<b>Total (n=50)</b>	<b>LMB (n=4)</b>	<b>No-LMB (n=46)</b>	<b>Valor P</b>
<b>Leucocitos</b>	7581,7 (4600-16200)	10580 (7180-16200)	7366 (4600-13300)	0,062
<b>Linfocitos</b>	2611 (1370-4330)	3230 (2760-4060)	2557 (1370-4330)	0,068
<b>Monocitos</b>	560 (278-1180)	642 (454-910)	553 (278-1180)	0,39
<b>Neutrófilos</b>	4093 (1880-11200)	5983 (3140-1200)	3851 (1880-8680)	0,198
<b>Eosinófilos</b>	269 (0-1333)	167 (0-464)	278 (36-1333)	0,174
<b>Basófilos</b>	37 (0-175)	84 (42-175)	33 (0-83)	<b>0,015</b>
<b>Plaquetas</b>	283680 (16100-409000)	290000 (180000-409000)	283130 (161000-364000)	0,858
<b>Linfocitos B</b>	276,7 (87-743)	279,1 (212-418)	276,5 (87-743)	0,591
<b>Linfocitos T</b>	1484 (548-2568)	2083 (1604-2301)	1432 (548-2568)	0,591
<b>CD4</b>	843 (322-1567)	1223 (849-1567)	805 (322-1516)	<b>0,013</b>
<b>CD8</b>	556 (146-1126)	777 (611-956)	524 (146-1126)	<b>0,041</b>
<b>CD4+/CD8+</b>	2,7 (0-11,5)	6,3 (1,4-11,5)	2,7 (0-9,2)	<b>0,041</b>
<b>células NK</b>	340 (102-773)	336 (149-462)	340 (102-773)	0,774
<b>Dendríticas Plasmocitoides</b>	22 (0-61)	34 (0-61)	21 (0-51)	0,333
<b>Dendríticas Monocitoides</b>	67 (0-163)	36 (0-59)	69,7 (0-163)	0,111
<b>Linfoplasmocitos</b>	10 (0-138)	3 (0-24)	10 (0,9-138)	0,816

Se representa el promedio (mínimo–máximo), todos los valores son expresados en uL. Diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ). LMB: Linfocitosis Monoclonal de células B; n: número de individuos; NK: Natural Killer.

**Cuadro 3.** Características epidemiológicas, sociodemográficas y de hábitos de vida en la población con LMB vs no-LMB.

	<b>LMB</b>	<b>No-LMB</b>	<b>Valor P</b>
<b>Total n</b>	4	46	
<b>Estado de salud general (%)</b>			
Excelente	0,0	17,4	1
Muy Buena	0,0	10,9	
Buena	75,0	50,0	
Regular	25,0	21,7	
Mala	0,0	0,0	
<b>Limitación al esfuerzo intenso (%)</b>			
Sí, me limita mucho	0,0	10,9	0,12
Sí, me limita un poco	75,0	26,1	
No, no me limita nada	25,0	63,0	
<b>Limitación al esfuerzo moderado (%)</b>			
Sí, me limita mucho	0,0	6,5	0,603
Sí, me limita un poco	25,0	13,0	
No, no me limita nada	75,0	80,5	
<b>Limitación al agacharse/arrodillarse (%)</b>			
Sí, me limita mucho	0,0	6,5	1
Sí, me limita un poco	0,0	17,4	
No, no me limita nada	100,0	76,1	
<b>Reducción de labores por enfermedad reciente (%)</b>			
Si	75,0	13,0	<b>0,016</b>
No	25,0	87,0	
<b>Reducción de labores por afección emocional o psicológica reciente (%)</b>			
Si	50,0	8,7	0,066
No	50,0	91,3	
<b>Manifiesta algún nivel de dolor (%)</b>			
Nada	25,00	60,9	0,32
Un poco	25,00	10,9	
Regular	50,00	17,4	
Bastante	0,00	6,5	
Mucho	0,00	4,3	
<b>Sensación de vitalidad (%)</b>			
Siempre	25,0	30,4	0,118
Casi Siempre	25,0	28,3	
Muchas Veces	0,0	17,4	
Algunas veces	25,0	23,9	
Solo alguna vez	25,0	0,0	
Nunca	0,0	0,0	

<b>Sensación de calma (%)</b>			
Siempre	0,0	41,3	0,179
Casi Siempre	25,0	26,1	
Muchas Veces	25,0	13,0	
Algunas veces	50,0	19,6	
Solo alguna vez	0,0	0,0	
Nunca	0,0	0,0	
<b>Sensación de agotamiento (%)</b>			
Siempre	0,0	0,0	0,458
Casi Siempre	0,0	0,0	
Muchas Veces	25,0	6,5	
Algunas veces	50,0	45,7	
Solo alguna vez	0,0	21,7	
Nunca	25,0	26,1	
<b>Afección de vida social por problemas (%)</b>			
Siempre	0,0	2,2	0,632
Casi Siempre	25,0	6,5	
Muchas Veces	0,0	0,0	
Algunas veces	25,0	28,3	
Solo alguna vez	0,0	13,0	
Nunca	50,0	50,0	
<b>Consumo de cigarrillo (%)</b>			
Si	0,0	4,3	0,286
No	50,0	80,5	
Exfumador	50,0	15,2	
<b>Consumo de Alcohol (%)</b>			
Diario	0,0	2,1	1
Esporádicamente	25,0	28,3	
Fines de semana	0,0	8,7	
Nunca	75,0	60,9	
<b>Consumo de medicamentos frecuente (%)</b>			
Si	75,0	50,0	0,611
No	25,0	50,0	
<b>Actividad física (%)</b>			
De pie, sin grandes desplazamientos	75,0	19,6	0,051
Caminando, llevando algún peso, desplazamientos frecuentes	0,0	52,2	
Trabajo pesado, gran esfuerzo físico	25,0	26,1	
De pie, sin grandes desplazamientos	0,0	2,1	
<b>Rutina de ejercicio en tiempo libre (%)</b>			
No hago ejercicio	50,0	50,0	0,671
Alguna actividad física o deportiva	25,0	21,7	

<b>Actividad física regular</b>	0,0	19,6	
<b>Entrenamiento varias veces a la semana</b>	25,0	8,7	
<b>Enfermedad relevante (%)</b>			
<b>Si</b>	100,0	47,8	0,111
<b>No</b>	0,0	52,2	
<b>Antecedentes familiares de enfermedad relevante (%)</b>			
<b>Si</b>	100,0	100,0	NA
<b>No</b>	0,0	0,0	
<b>Padecimiento de enfermedades infecciosas (%)</b>			
<b>Si</b>	0,0	41,3	0,284
<b>No</b>	100,0	58,7	
<b>Estado laboral (%)</b>			
<b>Trabajador activo</b>	75,0	47,8	
<b>Desempleado</b>	0,0	13,0	0,119
<b>Jubilado</b>	25,0	2,2	
<b>Sus labores</b>	0,0	37,0	
<b>Exposición a agente extraño (%)</b>			
<b>Si</b>	25,0	28,3	0,69
<b>No</b>	75,0	71,7	
<b>Nivel de estrés (%)</b>			
<b>No manifiesta</b>	50,0	28,3	
<b>Un poco</b>	0,0	13,0	
<b>Regular</b>	0,0	30,4	0,638
<b>Bastante</b>	50,0	28,3	
<b>Mucho</b>	0,0	0,0	
<b>Satisfacción Laboral (%)</b>			
<b>Nada</b>	0,0	0,0	
<b>Un poco</b>	0,0	6,5	
<b>Regular</b>	25,0	8,7	0,545
<b>Bastante</b>	50,0	60,9	
<b>Mucho</b>	25,0	23,9	

Diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ). NA: No aplica; LMB: Linfocitosis

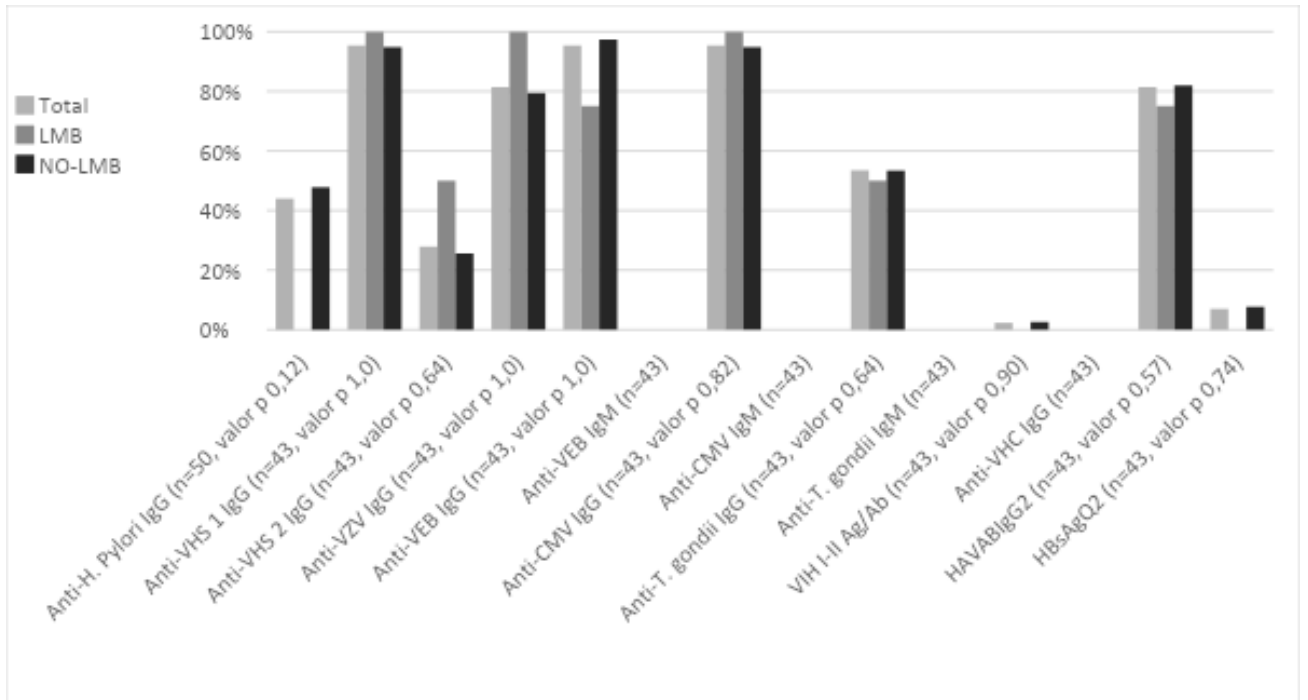
Monoclonal de células B: %: Porcentaje de individuos.

**Cuadro 4.** Frecuencia y número de LMB inicial y después de seguimiento a 2 años.

LMB Inicial		LMB Seguimiento		<i>Valor P</i>
%	# Absoluto linfocitos B clonales/uL	%	# Absoluto linfocitos B clonales /uL	
<b>0,01</b>	0,3	0,01	0,3	1
<b>0,33</b>	9,3	0,9	25,4	
<b>0,05</b>	1,4	0,01	0,2	
<b>0,11</b>	4,5	0,07	3,3	

n=4 individuos. Diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ). LMB:

Linfocitosis Monoclonal de células B; %: Porcentaje de Linfocitos B clonales.



**CMV:** citomegalovirus; **HAVAB:** anticuerpos para virus de la hepatitis A; **HBsAgQ2:** antígeno de superficie para hepatitis B; **VEB:** virus del Epstein-Barr; **VIH:** virus de la inmunodeficiencia Humana; **VHC:** virus de la hepatitis C; **VHS:** virus del herpes simple; **VZV:** virus de la varicela-zoster. Diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ).

**Figura 1.** Frecuencia de seropositividad en total de participantes, participantes con LMB y No-LMB.