

Correlación entre morfología y citometría de flujo en la leucemia aguda de debut

Marsán-Suárez V, Macías-Abraham C, Del Valle-Pérez L, Díaz-Domínguez G, Sánchez-Ballester A, Lam-Díaz RM, Machín-García S, Hernández-Padrón C
Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba
Email: v.marsan@hemato.sld.cu

RESUMEN

Las leucemias agudas (LA) son un grupo heterogéneo de enfermedades caracterizadas por la proliferación anormal de precursores hematopoyéticos transformados. La citometría de flujo (CMF) es una técnica de análisis celular multiparamétrica, utiliza anticuerpos monoclonales (AcMo) conjugados a fluorocromos, detectados mediante un sistema informático, de una manera objetiva y precisa. Se estudiaron 433 pacientes con LA de debut, con una edad promedio de 28,7 años y un rango entre 1 mes y 87 años, 255 (58,9 %) del sexo masculino y 178 (41,1 %) del femenino, procedentes de varios servicios onco-hematológicos del país, desde diciembre del 2012 hasta diciembre del 2016. Por criterios morfológicos 142 fueron linfoides agudas (LLA), 126 mieloides agudas (LMA), 97 sin definición de linaje, 46 promielocíticas agudas (LPA), 12 de linaje híbrido (LAH) y 10 con diagnóstico de pancitopenia. El inmunofenotipaje (IFC) de la médula ósea se realizó por CMF, con el empleo de AcMo dirigidos contra antígenos linfoides y mieloides, conjugados con FITC, PE, PerCP y APC, respectivamente. La lectura se realizó en un citómetro GALLIOS, Beckman Coulter. La CMF confirmó que 182 (42 %) fueron LLA, 162 (37,4 %) LMA, 47 (10,9 %) LPA, 24 (5,5 %) LAH y 18 (4,2 %) indiferenciadas (LAI). Del total de LLA 130 (71,4 %) presentaron fenotipo B y 52 (28,6 %) fenotipo T, con predominio de las variedades común (58,5 %) y pre-T (40,4 %), respectivamente. Las LAH fueron: bifenotípicas, biclonales y triclonales. Cinco LLA, tres LMA y dos LAI debutaron como pancitopenia. El mayor grado de asociación entre los diagnósticos morfológico y citométrico se encontró en la LPA y LLA, 89,1 % y 81,7 %, respectivamente, con un alto nivel de significación ($p = 0,000$).

La CMF demostró ser útil no solo para definir el linaje celular leucémico sino además, para identificar aquellos subtipos de LA de difícil diagnóstico morfológico y permitió la instauración del tratamiento anti-leucémico específico.



Palabras clave: leucemias agudas, citometría de flujo, morfología.

INTRODUCCIÓN

Las leucemias agudas (LA) son un grupo heterogéneo de enfermedades caracterizadas por la proliferación anormal de las células hematopoyéticas inmaduras.^{1,2} Actualmente, se clasifican por criterios morfológicos, citoquímicos, citogenéticos, inmunológicos y moleculares.³

En la última década, para el inmunofenotipaje celular (IFC) de las LA se emplea la citometría de flujo (CMF), la cual permite identificar paralelamente antígenos de superficie e intracitoplasmáticos, cuantificar la intensidad de expresión del antígeno por medio de los canales medios de fluorescencia, emplear múltiples marcajes y detectar la coexpresión de antígenos aberrantes sobre el mismo blasto, con una alta sensibilidad.^{4,5}

OBJETIVO

Establecer la correspondencia entre los criterios diagnósticos: morfológico e inmunológico, por CMF en las LA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo en 433 pacientes con LA de debut, 255 (58,9 %) del sexo masculino y 178 (41,1 %) del femenino, con una edad promedio de 28,7 años y un rango entre 1 mes y 87 años, procedentes de varios servicios onco-hematológicos del país desde diciembre del 2012 hasta diciembre del 2016. El IFC se realizó por la técnica de CMF con el uso de anticuerpos monoclonales conjugados con diferentes fluorocromos, dirigidos contra antígenos linfoides y mieloides. Las muestras fueron leídas en un citómetro *Gallios* (*Beckman Coulter, EUA*). Los datos obtenidos se analizaron con el empleo del programa informático *Kaluza*, versión 1.2. Se consideró positivo, si el porcentaje fue igual o mayor que 20 % de los blastos que expresaron el

antígeno en la membrana celular e igual o mayor que 10 % para los antígenos intracitoplasmáticos. Las LA se clasificaron por CMF, en: leucemias linfoides agudas (LLA), leucemias mieloides agudas (LMA) y LA de linaje ambiguo y estas a su vez, en indiferenciadas (LAI) e híbridas (LAH). Se determinó la asociación entre los criterios diagnósticos: morfológico e inmunológico mediante el cálculo de los coeficientes de asociación Phi, V de Cramer y de contingencia. Para validar los resultados en términos de significación estadística, se utilizó un nivel de confianza de 95 % y se consideró significativo, todo valor de $p < 0,05$ para el estadígrafo asociado a la prueba.

RESULTADOS

Del total de LA estudiadas 182 (42 %) fueron diagnosticadas como LLA. De estas, 130 (71,4 %) presentaron fenotipo B y 52 (28,6 %) fenotipo T, con predominio de las variedades común (58,5 %) y pre-T, respectivamente. La LLA-T madura CD8+ prevaleció sobre la CD4+, 72,2 % vs 27,8 %, respectivamente. 162 (37,4 %) pacientes presentaron LMA no promielocítica (LPA). De estas, fueron, 17 (10,5 %) M0, 7 (4,3 %) M7 y 1 (0,6 %) M6. 47 (10,9 %) enfermos presentaron LPA y 18 (4,2 %) LAI. Las LAH se diagnosticaron en 24 (5,5 %) pacientes y fueron clasificadas a su vez, en: 14 bifenotípicas (12 B/mieloide, 1 T/mieloide y 1 trilineaje B/T/mieloide), nueve biclonales (3 con un clon B y un clon mieloide, 5 con un clon T y un clon mieloide y 1 con un clon T/mieloide y un clon híbrido) y finalmente, 1 triclonal (un clon híbrido B/mieloide, un clon B-común y un clon mieloide). La Tabla muestra la asociación entre los diagnósticos morfológicos e inmunofenotípico, por CMF.

Tabla. Asociación entre los diagnósticos: morfológico e inmunofenotípico por citometría de flujo en pacientes con leucemias agudas.

CMF	DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO						Total
	LA	LAH	LLA	LMA	LPA	Pancitopenia	
LAH	10	1	6	7	0	0	24
LAI	5	0	5	5	1	2	18
LLA	53	6	116	2	0	5	182
LMA	29	5	15	106	4	3	162

LPA	0	0	0	6	41	0	47
Total	97	12	142	126	46	10	433



CMF= citometría de flujo, LAH= leucemia aguda híbrida, LAI= leucemia aguda indiferenciada, LLA= leucemia linfocítica aguda, LMA= leucemia mieloide aguda, LPA= leucemia promielocítica aguda, LA= leucemia aguda.

El mayor grado de asociación se encontró en la LPA y LLA, 89,1 % y 81,7 %, respectivamente, con un alto nivel de significación ($p = 0,000$). Cinco LLA, tres LMA y dos LAI debutaron como pancitopenia y se diagnosticaron exclusivamente, por CMF.

CONCLUSIONES

La CMF es una técnica altamente sensible y específica, permite definir el linaje y estado de maduración celular leucémico, confirmar en la mayoría de los casos el diagnóstico morfológico, clasificar la LLA en distintas variedades inmunológicas, identificar aquellos subtipos de difícil diagnóstico morfológico, tales como: las variedades M0, M6 y M7 de la LMA, la variante hipogranular de la LPA, LAI y LAH, identificar determinados subtipos de LA de alto riesgo, como la LLA de fenotipo T temprano y particularmente, en aquellos enfermos con pancitopenia severa, diagnosticar la LA, como una forma más de presentación de la enfermedad.

RECOMENDACIONES

Introducir el diagnóstico por CMF de la enfermedad mínima residual en las LA, lo cual permitirá en Cuba nuevas modalidades de tratamiento personalizados y elevar el porcentaje de curación en estas enfermedades.

BIBLIOGRAFÍA

1. Inaba H, Greaves WL, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 2013; 381(9881):1943-55.
2. Pui CH, Yang JJ, Hunger SP, Pieters R, Schrappe M, Biondi A, et al. Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Progress Through Collaboration. *J Clin Oncol* 2015; 33(27):2938-48.
3. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz J, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127(20):2391-2405.
4. Tario J, Wallace P. Reagent and cell staining for immunophenotyping by flow cytometry. In: McManus L, Mitchell R; eds. *Pathobiology of Human Diseases*. San Diego: Elsevier; 2014. p. 3678-3701.
5. Bagwell CB, Hunsberger BC, Herbert DJ, Munson ME, Hill BL, Bray CM, et al. Probability state modeling theory. *Cytometry A* 2015; 87(7):646-60.