

Relevancia biológica y clínica del inmunofenotipaje celular en la leucemia linfoide aguda del niño

Biological and clinical importance of the cellular immunophenotyping in acute lymphocytic leukemia in children

Dra. Vianed Marsán Suárez; Lic. Yanelkys Cos Padrón; Dra. Miriam Sánchez Segura; Lic. Bertha B. Socarrás Ferrer; Dra. Consuelo Macías Abraham; Lic. Lázaro O. del Valle Pérez; Dr. Aramis Núñez Quintana; Dr. Alejandro González Otero; Dra. Eva Svarch Guerchicoff; Dra. Rosa M. Lam Díaz

Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Se estudiaron las características biológicas y clínicas de 238 niños con leucemia linfoide aguda (LLA) en un período de 13 años. El inmunofenotipaje celular de muestras procedentes de la médula ósea se realizó mediante un ultramicrométodo inmunocitoquímico. Del total de LLA estudiadas 81,4 % fueron de fenotipo B y 18,5 % de fenotipo T. El 48,4 % de los niños con LLA de fenotipo B se encontraron en edades comprendidas entre 2-5 años, mientras que el 65,9 % con LLA-T presentaron 6 o más años de edad. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se analizaron el sexo y el color de la piel en relación con el fenotipo celular leucémico. Al diagnóstico de la enfermedad, el 59,3 % de los pacientes con LLA-B mostraron cifras de leucocitos en sangre periférica $< 20 \times 10^9/L$ y en el 61,4 % con LLA-T cifras superiores a $50 \times 10^9/L$. Se observó una mayor incidencia de organomegalia, adenopatías mediastinales, manifestaciones hemorrágicas e infiltración inicial del sistema nervioso central en enfermos con LLA-T en relación con los de LLA-B, con diferencias altamente significativas. Estos resultados demuestran que el fenotipo leucémico en la LLA del niño pudiera considerarse como un factor pronóstico positivo o negativo de la enfermedad.

Palabras clave: leucemia linfoide aguda, inmunofenotipo celular, pronóstico.

ABSTRACT

The biological and clinical characteristics of 238 children with acute lymphocytic leukemia (ALL) were studied for 13 years. The cellular immunophenotyping of samples from the bone marrow was performed by an immunocytochemical ultramicromethod. Of the total of studied ALL, 81.4 % were phenotype B and 18.5 % phenotype T. 48.4 % of the children with B-ALL were 2-5 years old, whereas 65.9 % with T-ALL were 6 or over. No statistically significant differences were found when sex and colour of the skin were analyzed in relation to the cellular leukemic phenotype. On diagnosing the disease, 59.3 % of the patients with B-ALL showed figures of leukocytes in peripheral blood $< 20 \times 10^9/L$, whereas in 61.4 % with T-ALL, the figures were higher than $50 \times 10^9/L$. It was observed a greater incidence of organomegaly, mediastinal adenopathies, hemorrhagic manifestations and initial infiltration of the central nervous system in patients with T-ALL compared with those suffering B-ALL. The differences were highly significant. These results proved that the leukemic phenotype in ALL in children could be considered as a positive or negative prognostic factor of the disease.

Key words: Acute lymphocytic leukemia, cellular immunophenotype, prognosis.

INTRODUCCIÓN

La leucemia linfocítica aguda (LLA) es una enfermedad inmunofenotípicamente heterogénea que representa expansiones clonales de linfoblastos en diferentes estadios de maduración. Estos se expanden clonalmente y sustituyen progresivamente a los componentes normales de la médula ósea (MO), invaden la sangre periférica (SP) e infiltran distintos órganos y tejidos, con la consecuente aparición de síntomas y signos clínicos.¹ Es la neoplasia más frecuente en la niñez, con una incidencia anual de 3-4 casos por cada 100 000 niños menores de 15 años y la segunda causa de muerte en este período de la vida.²

En el estudio de las células leucémicas se utilizan técnicas morfológicas, citoquímicas, citogenéticas, de biología molecular e inmunológicas.³ Estas últimas, también conocidas como técnicas de inmunofenotipaje celular (IFC), permiten identificar la línea específica de origen de las células leucémicas, su nivel de maduración y en algunos casos la clonalidad del proceso.⁴⁻⁷

Es importante conocer las características fenotípicas de las células leucémicas para el diagnóstico de las variedades de la LLA, para comprender las diferentes formas clínicas de expresión de la enfermedad, definir el tratamiento específico en cada caso y predecir el pronóstico, la evolución y la supervivencia de los enfermos.³⁻⁵ Por este motivo, nos propusimos comparar las características biológicas y clínicas en un grupo de pacientes pediátricos con LLA según su fenotipo leucémico.

MÉTODOS

Se estudiaron 238 pacientes pediátricos con LLA, diagnosticados en el Instituto de Hematología e Inmunología en el período comprendido desde enero de 1993 hasta abril del 2006.

Al diagnóstico de la enfermedad se analizaron las características biológicas: edad, sexo, color de la piel y número de leucocitos, así como las características clínicas: adenopatías, hepatomegalia, esplenomegalia, adenopatías mediastínicas, manifestaciones hemorrágicas e infiltración del sistema nervioso central (SNC).

El inmunofenotipaje celular (IFC) de muestras procedentes de médula ósea (MO) se llevó a cabo mediante un ultramicrométodo inmunocitoquímico (UMICIQ),⁸ con la utilización del siguiente panel de anticuerpos monoclonales.

I. Dirigidos contra antígenos expresados por células B:

anti-CD10 (OKB-CALLA)

anti-CD19

anti-CD20 (B1)

anti-CD22 (Leu 14)

Hospital Clínico de Barcelona.

II. Dirigidos contra antígenos expresados por células T:

anti-CD1 (NA 134)

anti-CD7 (Leu 9)

Instituto de Investigación del Cáncer, Londres.

anti-CD2 (OKT 11)

anti-CD4 (OKT 4)

anti-CD8 (OKT 8)

anti-CD3 (OKT 3)

anti-CD5 (Cris-1)

Fundación Tettamanti, Italia.

III. Dirigidos contra antígenos expresados por células mieloides:

anti-CD13 (My 7)

anti-CD33 (My 9)

anti-CD14

anti-CD15

Hospital Clínico de Barcelona.

Fundación Tettamanti, Italia.

IV. *Otros:*

anti-HLA-DR

anti-deoxi-nucleotidil transferasa terminal (Tdt)

Hospital Clínico de Barcelona.

Para el diagnóstico de los diferentes subtipos inmunológicos de la LLA se utilizó la siguiente clasificación inmunológica:

LLA de fenotipo B:

Pro-B: HLA-DR+, TdT+, CD19+, CD22+cito

Común: HLA-DR+, TdT+, CD19+, CD22+, CD10+, CD20±

Pre-B: HLA-DR+, TdT±, CD19+, CD22+, CD10±, CD20+, m cito+

B: HLA-DR+, CD19+, CD20+, CD22+, IgS+

LLA de fenotipo T:

Temprana: CD7+, TdT+, CD2+, CD5+

Cortical: CD7+, CD5+, CD2+, CD1+, CD4+/CD8+

Tardía: CD7+, CD2+, CD5+, CD4+ ó CD8+

Los datos se obtuvieron de las historias clínicas y se almacenaron posteriormente en una base de datos computadorizada en el sistema SPSS, versión 8.0. El procesamiento de los datos se realizó en computadoras IBM-compatibles.

Para determinar la posible asociación entre el fenotipo leucémico con las diferentes variables se utilizó el estadígrafo chi-cuadrado (χ^2).⁹

RESULTADOS

Del total de pacientes estudiados, 194 (81,5 %) presentaron linfoblastos con fenotipo de células B precursoras y 44 (18,5 %) con fenotipo de células T. De de las LLA de estirpe B, se observó una mayor incidencia de la variedad común, en 83,5 % de los pacientes. Las variedades pro-B, pre-B y B fueron encontradas en 10,3 %, 4,1 % y 2,1 %, respectivamente. La LLA-T con fenotipo de célula T madura o tardía predominó (61,4 %) sobre la temprana (20,4 %) y la cortical (18,2 %).

Los enfermos presentaron una edad promedio de 6,12 años de edad y un rango entre 4 meses y 17 años. Se observó una mayor incidencia en el grupo de 2-5 años (44,2 %), con diferencias estadísticamente significativas. El 48,4 % de los niños con LLA de estirpe B se encontraron dentro de este grupo etáreo; sin embargo, la

mayoría de los pacientes con LLA-T (65,9 %) tenían 6 o más años de edad al inicio de la enfermedad ([tabla 1](#)).

En relación con el sexo, predominó el masculino (58,8 %) sobre el femenino (41,2 %). Los niños blancos fueron los más afectados (54,2 %). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se analizaron el sexo y el color de la piel en relación con el fenotipo celular leucémico.

El 52,1 % de los pacientes mostró cifras de leucocitos $< 20 \times 10^9/L$ al diagnóstico de la enfermedad. Del total de enfermos con LLA-B, el 59,3 % mostró leucocitos $< 20 \times 10^9/L$ y el 61,4 % con fenotipo T presentó cifras $> 50 \times 10^9/L$. Se observaron diferencias altamente significativas entre el número de leucocitos en sangre periférica al inicio de la enfermedad y el fenotipo leucémico ([tabla 2](#)).

El 52,9 % de los enfermos presentaron adenopatías; el 40,3 % y el 39 % presentaron hepato y esplenomegalia, respectivamente. Del total de niños estudiados, 8,4 % presentaron adenopatías mediastinales, 6,7 % manifestaciones hemorrágicas y 6,3 % infiltración del SNC. Se observó una mayor incidencia de organomegalia, adenopatías mediastinales, manifestaciones hemorrágicas e infiltración inicial del SNC en enfermos con LLA de fenotipo T en relación con los pacientes con LLA de fenotipo B, con diferencias altamente significativas ([tabla 3](#)).

DISCUSIÓN

Los resultados de la distribución de los pacientes según edad, sexo y color de la piel obtenidos en nuestro estudio, fueron similares a los mostrados por otros autores.^{10,11,12-15}

De forma similar, a lo encontrado por otros investigadores,^{10,11,13,15-19} el análisis de varios factores en relación con el fenotipo mostró que la mayoría de los pacientes con LLA de linaje B fueron varones, blancos, con edades comprendidas entre 2-5 años, con una baja masa tumoral reflejada en un número $< 20 \times 10^9$ leucocitos/L en sangre periférica, con escasas adenopatías y baja infiltración mediastínica y del SNC.

Como ha sido reportado por otros grupos de investigación,^{12,13,20,21} la mayoría de los pacientes con LLA de estirpe T tuvieron más de 6 años, mostraron leucocitos $> 50 \times 10^9/L$ en SP y predominio de organomegalia, adenopatías mediastínicas, manifestaciones hemorrágicas e infiltración del SNC.

Nuestros resultados demuestran que la distribución de las variedades inmunológicas en la LLA pediátrica en nuestro medio es similar a la que se observa en países como Inglaterra, Estados Unidos, Italia, Alemania, Taiwán, Australia, blancos de Sudáfrica, así como en niños mexicanos y caucásicos chilenos.^{1,5,16,17,22,23}

La mayoría de los pacientes con LLA de estirpe B, presentaron el fenotipo común, lo que confirma la conocida preponderancia de este subtipo inmunológico en la infancia.^{16-18,23-25}

La LLA-común pudiera resultar de una respuesta anómala a una infección común probablemente viral, que ocurre tardíamente en la infancia en los países más desarrollados.^{16,17}

La frecuencia de aparición de la LLA pro-B en nuestros pacientes fue similar a la encontrada por otros investigadores.^{10,11,19,23,25,26} Esta variedad antes denominada nula, predomina en niños menores de 1 año y probablemente representa el estadio más precoz de la diferenciación de la célula B.^{11,19,23,26}

La incidencia de la LLA pre-B fue semejante a la informada por algunos grupos iberoamericanos (4,5-11 %) y menor que la señalada por grupos anglosajones (18-25 %).^{16,17,26} Se desconoce el motivo de esta diferencia, lo que podría estar en relación con factores genéticos y ambientales, como se ha planteado en otros subtipos de leucemias.^{3,19,26}

En nuestro estudio, la frecuencia de la LLA con fenotipo B maduro fue similar a la encontrada por otros investigadores.^{3,4,16,17,24}

La clasificación inmunológica de la LLA-T reveló un predominio de la variedad tardía sobre la temprana y la cortical. Otros investigadores,^{16,17,27,28} han encontrado un predominio de la variedad temprana.

Estos resultados demuestran que la LLA pediátrica es una enfermedad biológica y clínicamente heterogénea, lo cual pudiera explicar las diferencias entre la evolución y la respuesta terapéutica de los enfermos. La existencia de una asociación entre el fenotipo leucémico con el resto de los factores implicados en la evolución de la enfermedad, pudiera considerarse como un posible factor pronóstico de la enfermedad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Farhi DC, Rosenthal NS. Acute lymphoblastic leukemia. Clin Lab Med 2000;20:17-28.
2. Svarch E, González A, Vergara B, Campos M, Dorticós E, Espinosa E, et al. Tratamiento de las leucemias en Cuba (1973-1995). Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter 1997;12:1-7.
3. Garand R, Robillard R. Immunophenotype characterization of acute leukemias and chronic lymphoproliferative disorders practical recommendations and classifications. Hematol Cell Ther 1996;38:471-86.
4. Basso G, Rondelli R, Covezzoli S, Putti M. The role of immunophenotype in acute lymphoblastic leukemia of infant age. Leuk Lymph 1994;15:51-60.
5. Malta A, Baez F, Flores A, Ocampo E, Pacheco C, Biondi A, et al. Childhood acute lymphoblastic leukemia. Int J Pediatr Hematol Oncol 1997;4:121-5.

Recibido: 15 de diciembre del 2007.
 Aprobado: 3 de enero del 2008.

Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, Ciudad de La Habana, CP 10800, Cuba. Tel (537) 6438268, 6438695, 6434214. Fax (537) 6442334. e-mail: ihidir@hemato.sld.cu

Tabla 1. Distribución de los pacientes pediátricos con leucemia linfoide aguda
 Según edad y fenotipo leucémico

| Edad | Fenotipo B n=194 No. de pacientes (%) | Fenotipo T n=44 No. de pacientes (%) | Total n=238 No. de pacientes (%) | p |
|-------|--|---|---|-------|
| <2 | 17 (8,8) | 4 (9,1) | 21 (8,8) | 0,03* |
| 2-5 | 94 (48,4) | 11 (25) | 105 (44,2) | |
| 6-10 | 45 (23,2) | 15 (34,1) | 60 (25,2) | |
| 11-16 | 38 (19,6) | 14 (31,8) | 52 (21,8) | |

Diferencia significativa $p < 0,05$.

Tabla 2. Número de leucocitos en sangre periférica de los pacientes pediátricos con leucemia linfoide aguda, según fenotipo leucémico

| Leucocitos ($\times 10^9/L$) | Fenotipo B n=194 No. de pacientes (%) | Fenotipo T n=44 No. de pacientes (%) | Total n=238 No. de pacientes (%) | p |
|-----------------------------------|--|---|---|--------|
| <20 | 115 (59,3) | 9 (20,4) | 124 (52,1) | 0,000* |
| 20-50 | 66 (34) | 8 (18,1) | 74 (31,1) | |
| >50 | 13 (6,7) | 27 (61,4) | 40 (16,8) | |

*Diferencia significativa $p < 0,05$.

Tabla 3. Características clínicas de los pacientes pediátricos con leucemia linfoide aguda según fenotipo leucémico

| Característica clínica | Fenotipo B n=194 No. de pacientes (%) | Fenotipo T n=44 No. de pacientes (%) | Total n=238 No. de pacientes (%) | p |
|---|---|---|--|--------|
| Linfadenopatías | 93 (48) | 33 (75) | 126 (52,9) | 0,002* |
| Adenopatías mediastinales | 2 (1) | 10 (22,7) | 20 (8,4) | 0,000* |
| Esplenomegalia | 62 (32) | 31 (70,4) | 93 (39) | 0,000* |
| Hepatomegalia | 66 (34) | 30 (68,2) | 96 (40,3) | 0,000* |
| Hemorragias | 7 (3,6) | 9 (20,4) | 16 (6,7) | 0,000* |
| Infiltración del sistema nervioso central | 5 (2,6) | 10 (22,7) | 15 (6,3) | 0,000* |
| *Diferencia significativa $p < 0,05$. | | | | |