

## **Validación del ultramicrométodo inmunocitoquímico mediante la citometría de flujo para el diagnóstico de la leucemia linfoide crónica CD5+**

### **Validation of immunocytochemical ultramicromethod by flux cytometry for diagnosis of DC5+chronic lymphoid leukemia**

**Lic. Bertha B. Socarrás Ferrer; DraC. Consuelo Macías Abraham; Lic. Lázaro O. del Valle Pérez; Dra. Vianed Marsán Suárez; Dra. Miriam Sánchez Segura; Lic. Lourdes Palma Salgado; Dra. Rosa M. Lam Díaz; Lic. Julio C. Merlín Linares; DrC. Prof. Porfirio Hernández Ramírez**

Instituto de Hematología e Inmunología. Ciudad de La Habana, Cuba.

---

*Palabras clave:* ultramicrométodo inmunocitoquímico, leucemia linfoide crónica CD5+, marcadores antigénicos.

La leucemia linfoide crónica B (LLC-B) es la hemopatía crónica más frecuente en la población adulta occidental; se caracteriza por una proliferación monoclonal y acúmulo de linfocitos B maduros en sangre periférica, médula ósea y tejidos linfoides.<sup>1,2</sup> Es el prototipo de leucemia cuya patogénesis se encuentra estrechamente relacionada con un defecto de "la muerte celular programada" o apoptosis.<sup>3,4</sup>

El examen morfológico de la sangre periférica asociado con la expresión de los marcadores inmunológicos, estudios de biología molecular y de citogenética, constituyen los factores fundamentales para el diagnóstico preciso y valor pronóstico de la enfermedad.<sup>4,5</sup> Con los avances logrados en las técnicas inmunológicas para el estudio de marcadores de superficie, se observa que más del 95 % de los pacientes con LLC tiene fenotipo B y en solo del 2-5 % se ha reportado el fenotipo T (LLC-T).<sup>6-8</sup>

El inmunodiagnóstico en estos pacientes se realiza por el ultramicrométodo inmunocitoquímico (UMICIQ), normalizado en nuestro laboratorio, por lo que nos propusimos como objetivo validar los resultados obtenidos por este método al compararlo con la citometría de flujo (CF)<sup>8</sup> (tecnología recomendada internacionalmente por consenso), en cuanto al porcentaje de expresión de los marcadores antigénicos específicos para el diagnóstico de la LLC B, CD5+.

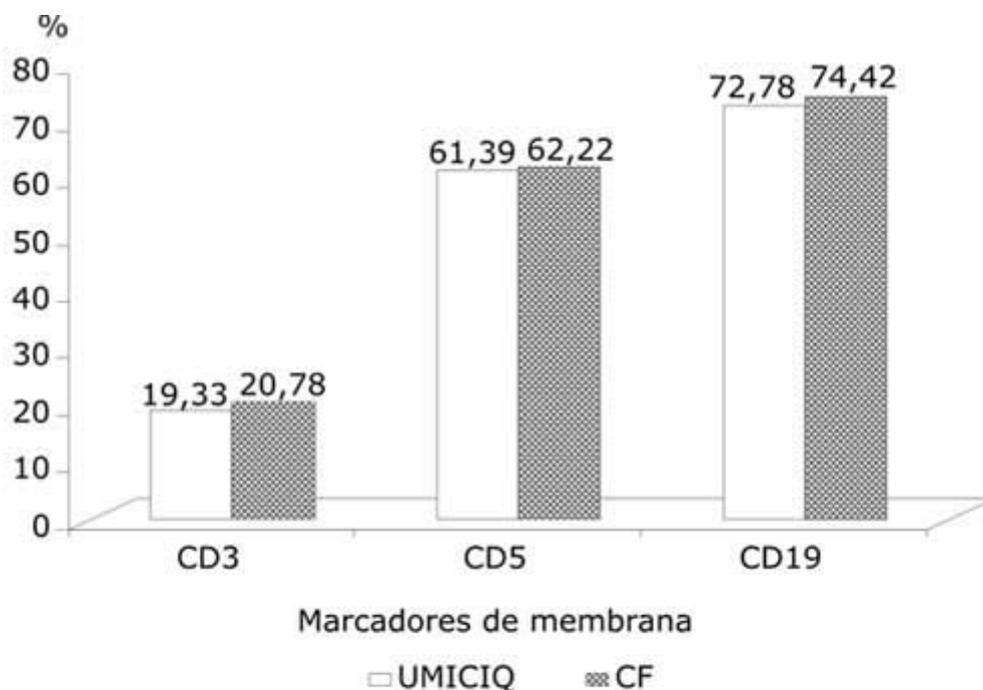
Se estudiaron 18 pacientes con el diagnóstico de LLC-B, CD5+ procedentes del Instituto de Hematología e Inmunología y del Servicio de Hematología del Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras", en edades comprendidas entre 55 y 80 años. Se utilizó como control un individuo supuestamente sano.

La CF se realizó en un FaCScan (*Becton Dickinson*, EE.EUU.) mediante un análisis de la reacción con los anticuerpos monoclonales (AcMos) en la ventana de la población linfoide.<sup>9</sup> El panel de AcMos incluyó: anti-CD3, anti-CD5 y anti-CD19. Algunos AcMos estaban conjugados con ficoeritrina (RPE) y otros con isotiocianato de fluoresceína (FITC). La lectura se realizó mediante la adquisición de 100 000 células en cada tubo. Cada marcador de membrana se consideró positivo si un porcentaje superior al 20 % de los linfocitos expresaban el antígeno.

Para comparar ambos métodos, se determinaron en paralelo los porcentajes de expresión de las moléculas CD3, CD5 y CD19 en la membrana celular de estos pacientes y se aplicó el estadígrafo t de Student para muestras pareadas, con un nivel de significación de 0,01.

Las características fenotípicas de los pacientes evaluados con diagnóstico de LLC-B, CD5+ se muestran en la [tabla](#). Del total de pacientes, 12 eran del sexo masculino y 6 del femenino, para una relación de 2:1, lo que corrobora lo planteado por otros autores para esta enfermedad.<sup>10</sup>

Los valores promedio obtenidos para cada uno de los marcadores de superficie estudiados por los métodos UMICIQ y CF, se observan en la figura. Se encontró similitud en los resultados al comparar ambos métodos. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas para una  $p \leq 0,01$ .



**Fig.** Valores promedio obtenidos por el ultramicrométodo inmunocitoquímico (UMICIQ) y la citometría de flujo (CF).

Los resultados de nuestro trabajo demuestran una expresión antigénica similar en el inmunofenotipaje de la LLC-B, CD5+ por ambos métodos, lo que nos permite

concluir que el método UMICIQ utilizado en nuestro laboratorio resulta confiable para el diagnóstico inmunológico de esta hemopatía maligna, y constituye una variante técnica alternativa para la caracterización fenotípica en esta y otras enfermedades, fundamentalmente en los laboratorios en los que, por su alto costo, no se dispone de un citómetro de flujo.

La caracterización precisa de las células linfoides por métodos inmunofenotípicos, los avances en las técnicas citogenéticas y de biología molecular, contribuirán significativamente a un mejor diagnóstico y tratamiento de estos pacientes.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hernández Ramírez P. Leucemia linfocítica crónica. Diagnóstico y factores pronósticos. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2003;19(2-3).
2. Korte W, Coglia H. Chronic lymphocytic leukemia the old and the new. *Ther Umsch* 2004;51(2):151-6.
3. Pers JO, Berthow C, Porakishvili N, Buadjanadze M, Le Calvez G, Abgrall JF, et al. CD5-induced apoptosis of B cells in some patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2002;16(1):44-52.
4. Sánchez ML, Almeida J, Vidriales B, López-Berges MC, García Marcos MA, Moros MJ, et al. Incidence of phenotypic aberrations in a series of 467 patients with B chronic lymphoproliferative disorders: Basis for the design of specific four color stainings to be used for minimal residual disease investigation. *Leukemia* 2002;16(8):1460-9.
5. Sánchez M, Marsán V, Socarrás BB, Rivero R, Martínez M, Hernández P, Macías C. Inmunofenotipaje celular en el diagnóstico de leucemias linfocíticas crónicas. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2002;18(2).
6. Sánchez M, Marsán V, Socarrás BB, Cos Y, Rivero R, Martínez M, et al. Caracterización inmunofenotípica de la leucemia linfocítica crónica B. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2007;23(2).
7. Matutes E, Wotherpoon A, Catovsky D. Differential diagnosis in chronic lymphocytic leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2007;20(3):367-84.
8. Pedreira CE, Costa ES, Barrena S, Lecrevisse Q, Almeida J, van Dongen JJ, et al. Generation of flow cytometry data files with a potentially infinite number of dimensions. *Cytometry A* 2008;73(9):834-46.
9. Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood* 2008;111(8):3941-67.
10. Inamdar KV, Bueso-Ramos CE. Pathology of chronic lymphocytic leukemia: An update. *Ann Diagn Pathol* 2007;11(5):363-89.

Recibido: 16 de julio del 2009.  
Aprobado: 30 de julio del 2009.

Lic. *Berta B. Socarrás Ferrer*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado Postal 8070. Ciudad de La Habana, CP 10800, Cuba. Tel (537) 6438268, 6438695, Fax (537) 6442334. e-mail: [ihidir@hemato.sld.cu](mailto:ihidir@hemato.sld.cu). Sitio web: <http://www.sld.cu/sitios/ih>