

Expresión del antígeno CD45 en la Leucemia Linfoide Aguda Pediátrica

Evaluation of CD45 antigen expression in acute lymphoblastic leukemia

Vianed Marsán Suárez ^I, Consuelo Macías Abraham ^I, Gabriela Díaz Domínguez ^I, Yaimara Morales Garrido ^I, Rosa M. Lam Díaz ^I, Sergio Machín García ^I, Alejandro González Otero ^I, Raquel Fernández Nodarse ^{II}, Tamara Cedré Hernández ^{III}, César Valdés Sojo ^{IV}

^I Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba.

^{II} Hospital Pediátrico Docente Juan Manuel Márquez, La Habana, Cuba.

^{III} Hospital Pediátrico Docente José Luis Miranda, Villa Clara, Cuba.

^{IV} Hospital Pediátrico Docente Pepe Portilla, Pinar del Río, Cuba

RESUMEN

Introducción: la leucemia linfoide aguda (LLA) es la neoplasia más frecuente en la infancia. La determinación del antígeno CD45 discrimina entre los blastos y las células reactivas en la médula ósea (MO).

Objetivo: evaluar la expresión del antígeno CD45 sobre los blastos de pacientes con LLA, según los distintos subtipos inmunológicos, su posible relación con las características biológicas y clínicas de presentación de la enfermedad y la respuesta al tratamiento antileucémico.

Métodos: se estudiaron 150 pacientes con LLA procedentes de varios servicios oncohematológicos del país, entre enero del 2008 y mayo del 2015. El inmunofenotipaje celular de la MO se realizó por citometría de flujo.

Resultados: el antígeno CD45 mostró una gran heterogeneidad de expresión sobre los linfoblastos. Del total de enfermos estudiados, 19,3 % no expresaron sobre los blastos el antígeno CD45, 36,7 % presentaron una expresión moderada y 44 % mostraron una alta densidad de expresión. Se encontró diferencia significativa al comparar el fenotipo leucémico con la expresión del antígeno CD45 sobre los blastos ($p = 0,000$). Ningún enfermo presentó adenopatías mediastinales, con diferencias significativas ($p = 0,000$), según el fenotipo y la expresión de CD45.

Los pacientes con LLA-T cuyos blastos no expresaron CD45 tuvieron una mala respuesta al tratamiento anti-leucémico los días 8 y 15 en sangre periférica y MO, respectivamente.

Conclusión: la expresión de CD45 sobre los blastos, pudiera ser considerada como un factor pronóstico adicional para la estratificación en diferentes grupos de riesgos, de la LLA en el niño.

Palabras clave: leucemia linfocítica aguda, antígeno CD45, citometría de flujo.

ABSTRACT

Introduction: Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most frequent neoplasia in infancy. Determination of CD45 antigen discriminates between blasts and reactive cells in the bone marrow (MO).

Objective: To evaluate the expression of the CD45 antigen on the blasts of patients with ALL, according to the different immunological subtypes, their possible relation with the biological and clinical characteristics of the disease and the response to antileukemic treatment.

Methods: 150 patients with ALL were studied from various onco-hematological services of the country, between January 2008 and May 2015. The cellular immunophenotyping of the MO was performed by flow cytometry.

Results: The CD45 antigen showed a great heterogeneity of expression on the lymphoblasts. Of the total number of patients studied, 19.3% did not express the CD45 antigen on the blasts, 36.7% presented moderate expression and 44% showed a high expression density of it. A significant difference was found when comparing the leukemic phenotype with the expression of the CD45 antigen on the blasts ($p = 0.000$). No patient had mediastinal lymphadenopathy, with significant differences ($p = 0.000$), according to the phenotype and CD45 expression. Patients with T-ALL whose blasts did not express CD45 had a poor response to anti-leukemic treatment on days 8 and 15 in peripheral blood and MO, respectively.

Conclusion: CD45 expression on blasts could be considered as an additional prognostic factor for stratification in different risk groups of ALL in children.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, CD45 antigen, flow cytometry.

INTRODUCCIÓN

La leucemia linfocítica aguda (LLA) es la neoplasia más frecuente en la infancia, constituye del 75 al 80 % del total de leucemias agudas (LA) ¹⁻³. La determinación del grado de expresión del antígeno CD45 es de particular importancia en el diagnóstico inmunológico de las LA, ya que permite discriminar entre las células blásticas y maduras reactivas en la MO, definir el linaje celular e inferir el estadio de maduración ⁴.

El CD45 es conocido como antígeno común leucocitario, es una glicoproteína de 240 kD, codificada por un gen que se localiza sobre el brazo largo del cromosoma 1. Está constituida por tres regiones: extracelular, un corto segmento transmembrana y una región citoplasmática. Se expresa de manera constitutiva en la superficie celular de todas las células hematopoyéticas, incrementa su densidad de expresión en los estadios finales de la hematopoyesis, en los diferentes linajes celulares leucocitarios y permanece de manera estable, en las células maduras. Las células eritroides y las plaquetas pierden la expresión de esta proteína a lo largo de su diferenciación y maduración⁵⁻⁸.

El objetivo de esta investigación fue evaluar la expresión del antígeno CD45 sobre los blastos de pacientes pediátricos con LLA y su posible relación con las características biológicas, morfológicas y clínicas de presentación de la enfermedad, así como la respuesta al tratamiento ant-leucémico.

MÉTODOS

Se estudiaron 150 pacientes pediátricos con LLA, procedentes de diferentes servicios oncohematológicos del país, entre enero del 2008 y mayo del 2015. El inmunofenotipaje celular (IFC) se desarrolló por la técnica de citometría de flujo (CMF)^{9,10}, en el Instituto de Hematología e Inmunología, con el empleo de anticuerpos monoclonales (AcMo) dirigidos contra los antígenos de diferenciación linfoides:

Anti- CD2	FITC*	MT910
Anti- CD3	PE*	UCHT1
Anti- CD5	PE*	DK23
Anti- CD7	FITC*	CBC.37
Anti- CD4/CD8	FITC/PE*	Multi Mix™
Anti- CD10/CD19	FITC/PE*	Multi Mix™
Anti- CD20	PE*	B- Ly1
Anti- CD79a	FITC*	SN8
Anti- CD34	PE*	BIRMA- K3
Anti- CD38	FITC*	AT13/5
Anti- CD45	APC	T29/33
HLA-DR	PE*	AB3
IgM	FITC*	B56

(FITC: isotiocianato de fluoresceína, PE: ficoeritrina, APC: alofocianina, *: DAKO.)

En todos los casos, los AcMo conjugados directamente a los fluorocromos: FITC, PE y APC, fueron previamente titulados. Se utilizó la dilución óptima de fluorescencia del reconocimiento de la reacción antígeno-anticuerpo no solo con fines económicos sino también, para evitar la sobresaturación del antígeno.

Para determinar la cantidad en μL de MO a utilizar para cada determinación antigénica, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Cantidad en } \mu\text{L} = \frac{500\,000 \text{ células}}{\text{Número total de leucocitos de la muestra}}$$

Las muestras se incubaron durante 20 a 30 min, protegidas de luz y a temperatura ambiente. Para la detección de los antígenos intracitoplasmáticos (CD3, CD79a e IgM), se emplearon previamente 250 μ L del reactivo permeabilizador-estabilizador BD Cytotfix/Cytoperm™, el cual se incubó por 30 min, a temperatura ambiente. El lisado de los hematíes se llevó a cabo con cloruro de amonio, durante 10 min, a temperatura ambiente. Posteriormente, las células fueron lavadas en dos ocasiones con cloruro de sodio al 0,9 % y centrifugadas durante 10 min a 1500 rpm. Las células se fijaron con 300 μ L de formaldehído al 1 % para conservar su viabilidad y luego, fueron guardadas a 4°C hasta ser leídas en un citómetro GALLIOS, Beckman Coulter. 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 LLA se clasificaron inmunológicamente, según los criterios del Grupo EGIL¹¹, basados en los diferentes marcadores antigénicos expresados sobre los blastos.

Los datos de las características biológicas, morfológicas, clínicas de presentación de la enfermedad y la respuesta al tratamiento, se obtuvieron de las historias clínicas de cada enfermo, se recogieron en una planilla y posteriormente, se almacenaron en una base de datos computarizada.

El procesamiento de los datos se realizó con el empleo del programa estadístico *SPSS versión 15.0 para Windows*.

Como medida de resumen para las variables cualitativas, se utilizaron las frecuencias absolutas y los porcentajes. 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 prueba¹². Se respetó lo establecido en los principios básicos de la Declaración de *Helsinki*, que contiene las recomendaciones a seguir en la investigación biomédica en seres humanos¹³.

RESULTADOS

Del total de pacientes estudiados, 89 (59,3 %) fueron del sexo masculino y 61 (40,7 %) del femenino, con un promedio de edad de 7,3 años y un rango de 2 meses a 18 años. En 111 (74 %) enfermos se encontró el fenotipo B y en 39 (26 %) el fenotipo T. La variedad B común predominó (51,3 %) en relación con el resto de los subtipos inmunológicos. Los enfermos con LLA-T temprana (pro-T y pre-T) prevalecieron sobre aquellos con la variedad T madura.

Del total de LLA diagnosticadas, 29 (19,3 %) no expresaron el antígeno CD45 sobre los blastos, 55 (36,7 %) presentaron una expresión moderada y el mayor porcentaje (44 %) mostró una alta densidad de expresión. En la mayor parte de los enfermos con fenotipo B (47,7 %) se encontró una expresión moderada del marcador CD45, mientras que en la generalidad de los pacientes con estirpe T (84,6 %), este antígeno estuvo altamente expresado. Se encontró diferencia significativa al comparar el fenotipo leucémico con la expresión del antígeno CD45 sobre los blastos ($p = 0,000$) (tabla 1).

Tabla 1. Expresión del antígeno CD45 sobre los blastos de pacientes con leucemia linfoide aguda (LLA), según fenotipo

Porcentaje de CD45 (%)	LLA- B n (%)	LLA- T n (%)	Total n (%)	p
< 20	25 (22,5)	4 (10,3)	29 (19,3)	
20 – 49	53 (47,7)	2 (5,1)	55 (36,7)	0,000*
50 – 100	33 (29,7)	33 (84,6)	66 (44)	
Total	111 (100)	39 (100)	150 (100)	

n: número de pacientes, *: diferencia significativa $p < 0,05$.

Las características biológicas de 72 niños con LLA, según el fenotipo celular leucémico y la expresión del antígeno CD45, son mostradas en la tabla 2. La mayoría de los pacientes con LLA de linaje B tuvieron hasta cinco años de edad, independientemente de la expresión sobre los blastos del CD45. Las LLA de fenotipo T CD45 - predominaron también en este grupo de edades (66,7 %), mientras que las LLA-T CD45 + se presentaron con más frecuentemente, en mayores de cinco años. Se encontró un predominio del sexo masculino en los niños con LLA-B. Sin embargo, las LLA-T CD45 - predominaron en el sexo femenino (66,7 %).

Tabla 2. Características biológicas de los niños con leucemia linfoide aguda (LLA), según fenotipo y expresión de CD45

Características biológicas	LLA-Fenotipo B n = 52		LLA-Fenotipo T n = 20		Total n (%)	P
	CD45 -	CD45 +	CD45 -	CD45 +		
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		
Edad (años)						
< 6	10 (47,6)	19 (61,3)	2 (66,7)	5 (29,4)	36(50)	ns
6 – 10	3 (14,3)	4 (12,9)	0 (0)	6 (35,3)	13(18,1)	
11 – 18	8 (38,1)	8 (25,8)	1 (33,3)	6(35,3)	23(31,9)	
Sexo						
Femenino	6 (28,6)	8 (25,8)	2 (66,7)	8 (47,1)	4 (33,3)	ns
Masculino	15 (71,4)	3 (74,2)	1 (33,3)	9 (52,9)	48 (66,7)	

n: número de pacientes, ns: no significativo

El mayor porcentaje de enfermos con LLA-B tuvo un número total de leucocitos en sangre periférica (SP) menor que $20 \times 10^9/L$ y los de fenotipo T, presentaron un número mayor que $50 \times 10^9 /L$. La mayoría de los pacientes presentaron hepatomegalia y esplenomegalia. Las linfadenopatías predominaron en los enfermos con LLA-B y con LLA-T CD45 +. En 98,6 % de los pacientes no se encontraron adenopatías mediastinales, con diferencias significativas ($p = 0,000$), según el fenotipo y la expresión de CD45. No se encontraron diferencias significativas entre: edad, sexo, número de leucocitos en SP, presencia de hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenopatías, ni manifestaciones hemorrágicas, de acuerdo con el fenotipo leucémico y la expresión sobre los blastos, del antígeno CD45 (tabla 3).

Tabla 3. Características morfológicas y clínicas de los niños con leucemia linfocítica aguda (LLA), según fenotipo y expresión de CD45

Características morfológicas y clínicas	LLA-Fenotipo B n = 52		LLA-Fenotipo T n = 20		Total n (%)	P
	CD45 -	CD45 +	CD45 -	CD45 +		
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		
Número de leucocitos en SP ($\times 10^9/L$)						
< 20	13 (61,9)	19 (61,3)	1 (33,3)	6 (35,3)	39 (54,2)	ns
20 - 50	3 (14,3)	6 (19,4)	0 (0)	3 (17,6)	12 (16,6)	
> 50	5 (23,8)	6 (19,4)	2 (66,7)	8 (47,1)	21 (29,2)	
Hepatomegalia						
SI	15 (71,4)	21 (67,7)	3 (100)	5 (88,2)	54 (75)	ns
NO	6 (28,6)	10 (32,3)	0 (0)	2 (11,8)	18 (25)	
Esplenomegalia						
SI	13 (61,9)	19 (61,3)	2 (66,7)	15 (88,2)	49 (68,1)	ns
NO	8 (38,1)	12 (38,7)	1 (33,3)	2 (11,8)	23 (31,9)	
Linfadenopatías						
SI	12 (57,1)	20 (64,5)	0 (0)	9 (52,9)	41 (56,9)	Ns
NO	9 (42,9)	11 (35,5)	3 (100)	8 (47,1)	31 (43,1)	
Adenopatías mediastinales						
SI	0 (0)	0 (0)	1 (33,3)	0 (0)	1 (1,4)	0,00*
NO	21 (100)	31 (100)	2 (66,7)	17 (100)	71 (98,6)	
Manifestaciones hemorrágicas						
SI	3 (14,3)	12 (38,7)	0 (0)	5 (29,4)	20 (27,8)	Ns
NO	18 (85,7)	19 (61,3)	3 (100)	12 (70,6)	52 (72,2)	

n: número de pacientes, SP: sangre periférica, ns: no significativo, *: diferencia significativa $p < 0,05$.

En la [tabla 4](#) se presenta la respuesta al tratamiento y el estado actual de los niños con LLA, según fenotipo y expresión sobre las células leucémicas, del antígeno CD45. El mayor porcentaje de pacientes con LLA de linaje B tuvo una buena respuesta a la prednisona el día ocho de iniciado el tratamiento. Una respuesta similar, presentaron los enfermos con LLA-T CD45 +, mientras que la mayoría de los pacientes con LLA-T CD45 - tuvieron una pobre respuesta a dicho tratamiento. Se encontró una diferencia significativa ($p = 0,009$), entre el porcentaje de blastos en SP el día ocho de iniciado el tratamiento con prednisona, el fenotipo de la LLA y la expresión del CD45 sobre las células blásticas.

Tabla 4. Respuesta al tratamiento y estado actual de los niños con leucemia linfocítica aguda (LLA), según fenotipo y expresión de CD45

Respuesta al tratamiento y estado actual del paciente	LLA-Fenotipo B n = 52		LLA-Fenotipo T n = 20		Total n (%)	P
	CD45 -	CD45 +	CD45 -	CD45 +		
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		
Respuesta a la prednisona en SP día 8 (n = 72)						
Buena	19 (90,5)	26 (83,9)	1 (33,3)	9 (52,9)	55 (76,4)	0,009*
Mala	2 (9,5)	5 (16,1)	2 (66,7)	8 (47,1)	17 (23,6)	
MO día 15 (n = 71)						
M1	15 (75)	14 (45,2)	0 (0)	4 (23,7)	33 (46,5)	0,005*
M2	4 (20)	12 (38,7)	1 (33,3)	11 (64,7)	28 (39,4)	
M3	1 (5)	5 (16,1)	2 (66,7)	2 (11,8)	10 (14,1)	
MO día 33 (n = 69)						
M1	17 (85)	28 (93,3)	1 (33,3)	13 (81,2)	59 (85,5)	ns
M2	1 (5)	1 (3,3)	1 (33,3)	3 (18,8)	5 (8,7)	
M3	2 (10)	1 (3,3)	1 (33,3)	0(0)	4(5,8)	
Estado actual (n = 72)						
Vivo	17 (81)	29 (93,5)	3 (100)	16 (94,1)	65 (90,3)	ns
Muerto	4 (19)	2 (6,5)	0 (0)	1 (5,9)	7 (9,7)	

n: número de pacientes, SP: sangre periférica, MO: médula ósea, ns: no significativo, *: diferencia significativa $p < 0,05$.

La generalidad de los enfermos con LLA-B CD45 - tuvieron una remisión completa (M1) en MO, el día 15 de iniciado el tratamiento antileucémico. En 45,2 % de los pacientes con LLA-B CD45 + se halló también remisión completa. En 66,7 % de los enfermos con LLA-T CD45 - la MO se encontró en M3 (no remisión) y en 64,7 % de aquellos con LLA-T CD45 +, una MO en M2 (remisión parcial). Se obtuvo una diferencia significativa ($p = 0,005$) entre el número de blastos en la MO el día 15 de tratamiento, el fenotipo leucémico y la expresión de CD45.

La evaluación morfológica de la MO el día 33 de iniciado el tratamiento, reveló que en los enfermos con LLA-B, predominó la remisión completa (M1). En pacientes con LLA-T CD45 -, no se encontraron diferencias en el porcentaje de blastos en la MO el día 33, mientras que en las LLA-T CD45 +, predominaron los niños con remisión completa. No se encontraron diferencias significativas entre el porcentaje de blastos en la MO el día 33 de iniciado el tratamiento antileucémico, la variedad inmunológica de la LLA y la menor o mayor densidad de expresión del marcador CD45. Casi la totalidad de los pacientes estudiados (90,3 %) estaban vivos al finalizar la investigación, independientemente del subtipo inmunológico de la LLA y la expresión o no sobre los blastos, del antígeno CD45.

DISCUSIÓN

El CD45 pertenece a una familia compleja de glicoproteínas de alto peso molecular, existen cinco isoformas, posee actividad tirosina fosfatasa y realiza una función importante en la regulación de la diferenciación celular. La pérdida en la expresión de

CD45 sobre los progenitores hematopoyéticos conduce a un incremento en la eritropoyesis y mielopoyesis, dependiente de citocinas⁶⁻⁸.

Haycocks y colaboradores estudiaron, en 127 pacientes con LA, la correlación existente entre la distribución de los blastos a través del uso del *gate* CD45/SSC, con la morfología y un panel mínimo de AcMo para definir el linaje celular leucémico. Al analizar la disposición de las células con el *gate* CD45/SSC, los autores evidenciaron una expresión muy heterogénea del antígeno CD45 en los distintos grupos celulares de los diferentes desórdenes hematológicos¹⁴.

Brahimi y colaboradores ratificaron la importancia del uso del "*gate*" CD45/SSC en la clasificación de las LA, y su correlación con los subtipos FAB de la LANL. Estos autores, encontraron que el antígeno CD45 se expresa con menor intensidad sobre los linfoblastos T, que en los linfocitos T maduros. Sin embargo, en algunos pacientes se observa un solapamiento en la expresión de este marcador antigénico en ambos grupos celulares, lo cual dificulta la separación y requiere de la experiencia del citometrista que realiza el análisis inmunofenotípico¹⁵.

Además, estos autores refieren que la densidad de expresión del CD45 sobre los linfoblastos B es menor que en los linfocitos B maduros y similar a los precursores B y, que la intensidad de este antígeno sobre los linfoblastos, es más heterogénea que sobre los mieloblastos, los cuales están extendidos a lo largo del axis del CD45. Los investigadores exponen también, algunas características especiales e interesantes relacionadas con la expresión del CD45 sobre los linfoblastos B, como son: 1) en enfermos con hiperdiploidía o con t(12;21), CD45 puede estar ausente o tener una expresión similar sobre los eritroblastos, 2) en algunos pacientes con t(4;11), la intensidad de CD45 es similar a la expresada sobre los linfocitos maduros y 3) en algunos enfermos con t(9;22) el CD45 puede estar altamente expresado en asociación con CD19, CD22, CD34 y HLA-DR, correlacionado con la presencia de trisomía 8.

Haycocks, encontró una frecuencia de 10 % de la LLA CD45 -¹⁴, menor que la encontrada en el presente estudio, que fue de 19,3 %. En 22,5 % del total de enfermos, correspondió al fenotipo B y 10,3 % al T. El motivo de esta diferencia podría estar en relación con factores genéticos y ambientales, como se plantea en otros subtipos de LA. Algunos investigadores encuentran en este grupo de pacientes, una evolución clínica más favorable, en relación con aquellos cuyos blastos expresaron este marcador antigénico^{8, 14,16, 17}.

Gredelj-Šimec, estudiaron logitudinalmente en 28 niños con LLA, la expresión del antígeno CD45 sobre los blastos leucémicos, durante un periodo de cinco años. En 7,1 % de los enfermos los blastos no expresaron el marcador antigénico CD45. Este autor, encontró una correlación positiva entre la coexpresión de los antígenos CD45/CD20 y negativa, entre CD45/CD34, respectivamente. En este grupo de enfermos, no hubo asociación entre la positividad de CD45 con la supervivencia¹⁸.

Cario y colaboradores refieren que en enfermos con LLA-T la densidad de expresión de CD45 aumenta con el estadio de maduración celular mientras que en la LLA de fenotipo B, es significativamente mayor en el subtipo pro-B¹⁹. Resultados similares a los que fueron encontrados en este estudio.

En este estudio, en el 47,7 % de los pacientes con LLA de linaje B, el antígeno CD45 mostró una densidad moderada de expresión y en el 84,6 % de los enfermos con LLA de estirpe T, este marcador exhibió una alta expresión. Estos resultados fueron similares a los de *Cario* y colaboradores, en una serie mayor de enfermos (1065) con LLA¹⁹. Estos autores, hallaron una mayor densidad de expresión del antígeno CD45

en enfermos con LLA de estirpe T, al compararlos con los de fenotipo B, con diferencias significativas ($p < 0,001$). Por su parte, en la LLA-B, el antígeno CD45 se expresa con mayor intensidad de fluorescencia en los niños de mayor edad, con conteos más altos de leucocitos en SP, positividad del gen MLL ($p < 0,002$), positividad de BCR/ABL 1 ($p < 0,007$), pobre respuesta a la prednisona al octavo día de iniciado el tratamiento ($p < 0,002$) y enfermedad mínima residual positiva ($p < 0,001$).

El antígeno CD45 realiza una importante función en el desarrollo y la activación de las células B y T, así como una regulación negativa de la señalización de ciertos receptores de citocinas⁶⁻⁸. Este es el caso del receptor *CRLF2*, el cual está implicado en la leucemogénesis de la LLA-B, al inducir la activación de las *JAK/STAT*²⁰. Cario y colaboradores refieren que la presencia elevada de este receptor es mayor en pacientes con una alta expresión del antígeno CD45, en relación con aquellos que tienen una menor densidad de expresión (12,9 % contra 2,1 %, $p = 0,002$), lo cual sugiere una correspondencia directa entre la formación de la proteína de fusión *P2RY8-CRLF2* y una regulación positiva de la expresión del antígeno CD45²¹.

Varios autores encontraron también, en este grupo de enfermos mutaciones en el gen que codifica para el receptor de IL-7 ($p = 0,002$)²¹⁻²³. Más de la mitad de los pacientes que presentan esta mutación muestran, además una alta expresión del marcador CD45 sobre los blastos leucémicos, lo cual indica una posible conexión entre estos tres mecanismos de regulación: mutación en los genes para el receptor de IL-7, activación de las proteínas *JAK/STAT* y mayor expresión del antígeno CD45, sobre la membrana celular.

La expresión de CD45 sobre los linfoblastos fue mayor en la LLA de fenotipo T que en la de fenotipo B, esta aumentó en los estadios de mayor maduración, excepto en la variedad pro-B. Se asoció con la ausencia de adenopatías mediastinales y con la respuesta al tratamiento los días 8, en SP y 15, en MO, respectivamente. Estos resultados sugieren que la densidad de expresión de CD45 sobre las células leucémicas, según el subtipo inmunológico, pudiera ser considerada como un factor pronóstico adicional conjuntamente, con el resto de los factores pronósticos biológicos, clínicos y moleculares de la LLA en el niño.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lassaletta A. Leucemias. Leucemia linfoblástica aguda. *Pediatr Integral* 2012;16:453-62.
2. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2012;61(2):69-90.
3. Khoury MJ, Lam TK, Loannidis JP, Hartge P, Spitz MR, Buring JE, et al. Transforming epidemiology for 21st century medicine and public health. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22(4):508-16.
4. Gerardo CJ, Rodríguez C, Sastre D, Heller V, Fernández E. Utilización estratégica de CD45 en la identificación de células blásticas por citometría de flujo. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2006;40(2):173-80.
5. Ortolani C. CD45 Antigen. In: Ortolani C, editor. *Flow Cytometry of Hematological Malignancies*. UK: Wiley-Black Well;2011. p. 70-4.

6. Shivtiel S , Lapid K , Kalchenko V , Avigdor A , Goichberg P , Kalinkovich A , et al. CD45 regulates homing and engraftment of immature normal and leukemic human cells in transplanted immunodeficient mice. *Exp Hematol.* 2011;39(12):1161-70.
7. Saunders AE, Johnson P. Modulation of immune cell signaling by the leukocyte common tyrosine phosphatase, CD45. *Cell Signal.* 2010;22(3):339-48.
8. Saunder AE, Shim YA, Johnson P. Innate Immune Cell CD45 Regulates Lymphopenia-Induced T Cells Proliferation. *J Immunol.* 2014;193(6):2831-42.
9. Van Dongen JJ, Lhermitte L, Botteher S. Euro Flow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leucocytes. *Leukemia.* 2012;26(9):1908-75.
10. Kalina T, Flores-Montero J, van der Velden VH, Martin-Ayuso M, Bottcher S, Ritgen N, et al. Euro Flow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. *Leukemia.* 2012;26(9):1986-2010.
11. Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *Leukemia.* 1995;9(10):1783-6.
12. Kier KL. Biostatistical applications in epidemiology. *Pharmacother.* 2011;31(1):9-22.
13. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *JAMA.* 2013;310(20):2191-4.
14. Haycocks NG, Lawrence L, Cain JW, Zhao XF. Optimizing antibody panels for efficient and cost-effective flow cytometric diagnosis of acute leukemia. *Cytometry B Clin Cytom.* 2011;80(4):221-9.
15. Brahimi M, Saidi D, Touhami H, Bekadja MA. The use of CD45/SSC Dot Plots in the Classification of acute leukemias. *J Hematol Thromb Dis.* 2014;2(2):e107.
16. Gupta A, Goyal M, Nidamanuri KR, Dattatreya PS. You dilemma, my identify: inusual immunogenetic profiles of pediatric B cell acute lymphoblastic leukemia. *Indian J Pathol Microbiol.* 2014;57(1):78-80.
17. Aejaz S, Kumar S, Sabah I, Jan A. Prognostic significance of cell surface phenotype in acute lymphoblastic leukemia. *South Asian J Cancer.* 2015;4(2):91-4.
18. Gredelj-Simec N, Jelić-Puskarić B, Ostojić A, Siftar Z, Fiala D, Kardum-Skelin I, et al. Diagnostic and prognostic significance of CD45 antigen expression in hematology malignancies with main focus on acute leukemia. *Acta Med Croatica.* 2011;65(1):45-52.
19. Cario G, Rhein P, Mitlohner R, Zimmermann M, Bandapalli O, Romey R. High CD45 surface expression determines relapse risk in children with precursor B-cell and T-cell acute lymphoblastic leukemia treated to the ALL-BFM 2000 protocol. *Haematologica.* 2014;99(1):103-10.
20. Bugarin C, Sarno J, Palmi C, Savino AM, Kronnie G, Dworzak M, et al. Fine Tuning of Surface CRLF2 Expression and Its Associated Signaling Profile in Childhood B Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia. *Haematologica.* 2015;100(6):e229-32.

21. Cario G, Zimmermann M, Romey R, Gesk S, Vater I, Harbott J, et al. Presence of the P2RY8-CRLF2 rearrangement is associated with a poor prognosis in non-high-risk precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia in children treated according to the ALL-BFM 2000 protocol. *Blood*. 2010;115(26):5393-7.

22. Porcu M, Kleppe M, Gianfelici V, Geerdens E, De Keersmaecker K, Tataglia M. Mutation of the receptor tyrosine phosphatase PTPRC (CD45) in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2012;19(19):4476-9.

23. Shochat C, Tal N, Bandapalli O, Palmi C, Ganmore I, Kronnie G. Gain-of-function mutations in interleukin-7 receptor (IL7R) in childhood acute lymphoblastic leukemias. *J Exp Med*. 2011;208(5):901-8.

Recibido: agosto 11, 2016.

Aceptado: enero 23, 2017.

Dra. Vianed Marsán Suárez. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, La Habana, CP 10800, CUBA.

Email: rchematologia@infomed.sld.cu