

## La necesidad de las recomendaciones de consenso para la inmunotipificación de las hemopatías malignas

Alejandro Ruiz-Argüelles,\* Beatriz Pérez-Romano\*

### RESUMEN

La tipificación inmunológica de las hemopatías malignas ha demostrado su utilidad para el diagnóstico, clasificación, pronóstico y seguimiento de diversas enfermedades oncohematológicas. Para normalizar los criterios de indicación, selección de reactivos y métodos, e interpretación de los resultados, ha sido necesaria la organización de grupos de trabajo o conferencias de consenso que permiten la comparabilidad y compatibilidad de la información generada por distintos laboratorios o instituciones donde se realizan estos estudios. A la fecha se han organizado dos Conferencias Latinoamericanas de Consenso para la Tipificación Inmunológica de Hemopatías Malignas, y las recomendaciones de la segunda aún se consideran pertinentes; sin embargo, en un corto plazo deberán ser reemplazadas por nuevas guías. Este trabajo revisa los fundamentos y validez de las recomendaciones de consenso.

**Palabras clave:** inmunotipificación, hemopatías malignas, consenso.

### ABSTRACT

Immunophenotyping of hematological malignancies has proved useful for the diagnosis, classification, prognosis and monitoring of several oncohematological conditions. In order to standardize criteria for the indication, selection of reagents and methods, and interpretation of results, it has been necessary to organize working groups or consensus conferences, whose recommendations have resulted in the comparability and compatibility of information amongst many laboratories and institutions. Two Latin American Consensus Conferences for Immunophenotyping of Hematological Malignancies have been held so far, and the recommendations of the latter are still pertinent; however, in a rather short term future they should be replaced by new guidelines. This paper reviews on the basis and validity of consensus recommendations.

**Key words:** Immunophenotyping, hematological malignancies, consensus.

### ASPECTOS HISTÓRICOS

**A** principios del decenio de 1980 la investigación de antígenos en la superficie de las células malignas en pacientes con leucemias y linfomas empezó a cobrar importancia. El empleo de la microscopia de fluorescencia y la inmunohistoquímica primero, y de la citometría de flujo después, permitió definir la presencia

de ciertos epítopos en la membrana celular de las células neoplásicas para determinar su linaje, ya que se demostraba en un número creciente de publicaciones que éste modificaba sustancialmente el comportamiento clínico–pronóstico y respuesta a tratamientos– de cada caso.<sup>1</sup>

El creciente número de anticuerpos monoclonales disponibles con capacidad de reconocer antígenos de la membrana de las células hemopoyéticas, el rápido desarrollo y optimización de múltiples fluorocromos, y el refinamiento simultáneo de la citometría de flujo multiparamétrica, determinaron una muy rápida expansión de este tipo de estudios en múltiples laboratorios, en diversos países del planeta pero, por su misma rapidez, este crecimiento fue, si no caótico, sí definitivamente descontrolado.<sup>2,3</sup> Así, las indicaciones para realizar estos estudios, el tipo de muestra en que debían realizarse, la selección de anticuerpos y fluorocromos que habrían de utilizarse, las estrategias de adquisición y análisis de da-

\* Departamento de Inmunología. Laboratorios Clínicos de Puebla. Díaz Ordaz 808, Puebla 72530, Pue. México. Teléfono (222) 2438100. Fax (222) 243 8428. Correo electrónico: aruiz@clinicaruiz.com

Recibido: marzo, 2010. Aceptado: abril: 2010.  
Este artículo debe citarse como: Ruiz-Argüelles A, Pérez-Romano B. La necesidad de las recomendaciones de consenso para la inmunotipificación de las hemopatías malignas. Rev Hematol Mex 2010;11(2):82-90.

tos y, más importante, la interpretación de los resultados, eran muy heterogéneos y dependían, en el mejor de los casos, de la “escuela” en que hubiese recibido adiestramiento cada profesional que se involucraba en este tipo de exámenes.<sup>4-7</sup> Esta situación ya de suyo harto confusa, se vio aún más complicada por las modificaciones o adecuaciones que cada institución-laboratorio realizaba a los protocolos aprendidos, de acuerdo con las sugerencias o recomendaciones de los médicos hematólogos o inmunólogos –casi siempre divergentes–, la capacidad instalada de cada sitio y, en el caso particular de América Latina, también del presupuesto.

En consecuencia, la información sobre el fenotipo inmunológico de las hemopatías malignas comenzó a enrarecerse y, lejos de ser útil, era fuente de confusión y controversia, porque los criterios de clasificación carecían por completo de uniformidad. Resultaba incomprensible el porqué, en cierta institución, el comportamiento clínico o la respuesta a cierto tratamiento de las leucemias agudas de un determinado linaje, era completamente diferente al informado por otros, y la explicación fue que los pacientes de la primera institución no eran comparables con los de la segunda, dado que los criterios para definir ese “linaje” eran muy distintos.

## LA NOMENCLATURA Y DISTRIBUCIÓN DE LOS ANTÍGENOS CD

Los antígenos leucocitarios se descubrieron gracias al desarrollo de los anticuerpos monoclonales. Un antígeno leucocitario no es otra cosa que una proteína –habitualmente de superficie– presente en alguna población o subpoblación de uno o varios linajes hematopoyéticos en cualquiera de sus etapas de maduración. Para definir una nomenclatura sistemática, según se iban descubriendo nuevas proteínas con diversos anticuerpos monoclonales, inmunólogos de todo el mundo se pusieron de acuerdo y así surgió la nomenclatura CD.<sup>8</sup> “CD” (*cluster of differentiation*) significa grupo de diferenciación y viene seguido de un número ordinal; el nombre deriva del hecho de que al madurar las células adquieren o eliminan proteínas en su superficie. Existen más de 350 proteínas con un CD asignado, pero además existen tres tipos adicionales de proteínas (el receptor de células B o BCR, el de las células T o TCR, y los antígenos del complejo principal de histocompatibilidad o HLA) cuyo papel fisiológico es

el reconocimiento específico del antígeno por el sistema inmunológico y a los que no se les ha asignado un número CD de identificación.

Algunas de estas proteínas se expresan en todas las células de un linaje, como el antígeno CD19 que está presente en todas las células B, pero la inmensa mayoría de ellas no se expresan sino en una fracción de ellas o solamente en una etapa de su maduración. De manera análoga, la expresión de algunos pocos antígenos está restringida a un linaje celular –incidentalmente el CD19 también es un buen ejemplo–, pero la inmensa mayoría muestra un cierto grado de promiscuidad en su expresión. Para la selección de los anticuerpos que se emplean en la tipificación inmunológica de las hemopatías malignas, es importante conocer con detalle la expresión de los diversos antígenos, ya que hay antígenos que son más informativos que otros con respecto al linaje, pero otros son más útiles para establecer el estadio o los patrones de la maduración hematopoyética en ciertos padecimientos oncohematológicos.<sup>9</sup>

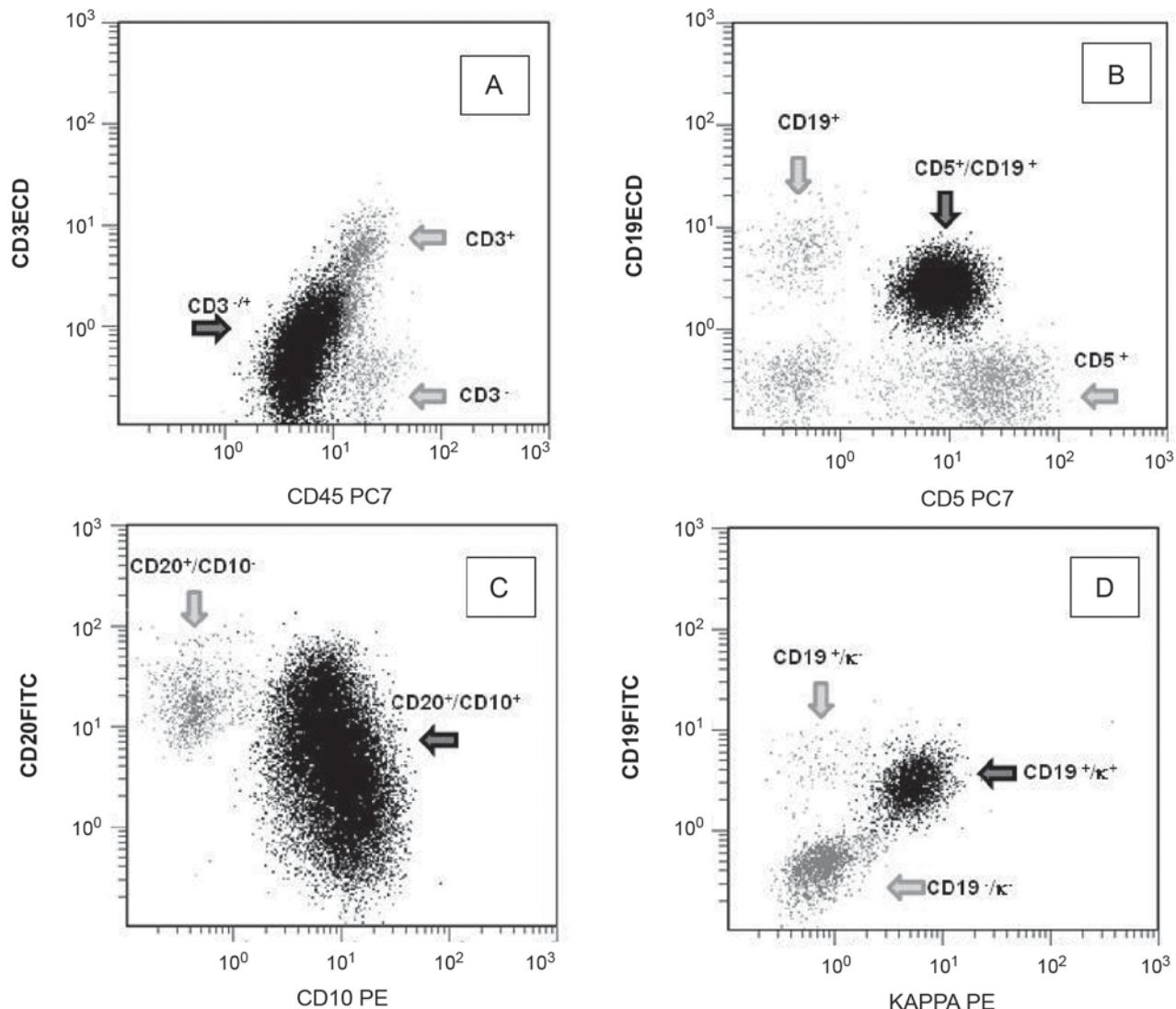
Es importante insistir en las cuatro reglas de los antígenos CD en cuanto a su utilidad para tipificar neoplasias hematológicas:

1. No existe un solo antígeno CD que sea específico de una enfermedad.
2. Todos los antígenos CD que se emplean para definir linaje y estadio de las neoplasias hematológicas se expresan también en células normales.
3. Las neoplasias hematológicas se distinguen de las células normales solamente por aberraciones en la expresión de antígenos por lo demás normales. Estas aberraciones pueden ser de cinco tipos:
  - 3.1. Cuantitativas. Son anormalidades en la intensidad de expresión de un antígeno (Figura 1A).
  - 3.2. Infidelidad o promiscuidad de linaje. Consisten en la expresión de antígenos de linajes diferentes en una misma célula (Figura 1B).
  - 3.3. Cronológicas. Corresponden a la expresión asincrónica y simultánea de antígenos tempranos y tardíos de un mismo linaje (Figura 1C).
  - 3.4. Anatómicas. Consisten en el hallazgo de células que expresan antígenos ajenos a un determinado compartimento anatómico.
  - 3.5. Numéricas. Si bien no se trata de aberraciones en la expresión de antígenos, la sobreabundancia de una población celular monótona en un tejido

puede ayudar a discriminar células neoplásicas de sus contrapartes normales (Figura 1D).

4. En algunas ocasiones las células neoplásicas no presentan aberraciones en la expresión de los antígenos

CD que permitan distinguirlas de las células normales. Esta situación es particularmente limitante para la detección de masas tumorales escasas. Esta variabilidad en la información que cada uno de los antígenos



**Figura 1A.** Ejemplo de la expresión anormal de la intensidad del antígeno CD3 en un caso de leucemia aguda de precursores T. Las células en color gris corresponden a poblaciones normales de células CD3<sup>+</sup> y CD3<sup>-</sup>, mientras que la población en color negro corresponde a las células neoplásicas que expresan en forma heterogénea, de negativo a positivo tenue el antígeno CD3<sup>-/+</sup>.

**Figura 1B.** La población en color negro está formada por células neoplásicas que expresan en forma promiscua antígenos del linaje T y B en forma simultánea (CD5<sup>+</sup>/CD19<sup>+</sup>); las células en gris son células B (CD19<sup>+</sup>) y T (CD5<sup>+</sup>) normales.

**Figura 1C.** Las células en color negro son linfoblastos de estirpe B (CD19<sup>+</sup>) que co-expresan de modo asincrónico el antígeno CD10 (de expresión normalmente muy temprana) y CD20 (de expresión normalmente tardía); las células en gris son linfocitos B normales que expresan CD20 pero han dejado de expresar CD10.

**Figura 1D.** Las células en negro corresponden a una población muy abundante y monótona de linfocitos B que expresan el antígeno CD19 y cadenas ligeras kappa. La población de células B que no expresan cadenas kappa (CD19<sup>+/κ-</sup>) es apenas perceptible, y el predominio clonal se confirma por la escasa cantidad de células no-B (CD19<sup>-</sup>). El caso corresponde a una leucemia linfática crónica de estirpe B.

CD puede proporcionar, tanto para discriminar, como para clasificar a las neoplasias hematológicas, contribuyó mucho a la heterogeneidad en los criterios para definir a las diversas variantes y, en consecuencia, a la confusión y controversia de los estudios clínicos que utilizaban esta información.<sup>10,11</sup>

### Los consensos

A mediados del decenio de 1990 se hizo evidente la necesidad de emitir recomendaciones para armonizar la información derivada de los estudios inmunofenotípicos en oncohematología y se organizaron las primeras Conferencias o Grupos de Trabajo de Consenso para este propósito. La primera en publicar sus guías fue la europea en el año de 1996, seguida de la norteamericana (Estados Unidos [EUA] y Canadá) en el año de 1997.<sup>3,5,12</sup> Las recomendaciones emitidas por estos dos grupos fueron de gran utilidad para los países signatarios, pero un tanto fuera de la realidad económica de los países en vías de desarrollo: en Estados Unidos, Canadá y la mayoría de los países de Europa, el elemento con mayor costo económico en la realización del estudio es el pago de los honorarios profesionales, mientras que el precio de los reactivos (anticuerpos) es bastante secundario; en los países en desarrollo sucede exactamente lo contrario. Así, las guías de Norteamérica y Europa recomiendan la abundancia de anticuerpos en aras de la reducción del tiempo invertido y quizás las calificaciones académicas del personal involucrado lo que, en países con restricciones económicas resulta inoperante. Como resultado de la escasa utilidad que estas recomendaciones pudiesen tener en Latinoamérica, se optó por llevar a cabo la Primera Conferencia Latinoamericana de Consenso para la Inmunofenotipificación de Leucemia por Citometría de Flujo, que se celebró en la ciudad de Puebla, México, y cuyas recomendaciones fueron publicadas en el año de 1998.<sup>13</sup> A pesar de la objetividad y simplicidad de estas guías, su vigencia fue obsoleta por lo que, en el año 2005 se organizó la Segunda Conferencia Latinoamericana para la Inmunofenotipificación de Hemopatías Malignas por Citometría de Flujo, cuyas recomendaciones fueron publicadas ese mismo año.<sup>14</sup> Los propósitos de ambas conferencias han sido: armonizar las indicaciones, interpretación y comparabilidad de estos estudios en las instituciones de la región, así como reducir su costo pero sin menoscabo de la calidad analítica de los procedimientos. Podría decirse que la filosofía que hay

detrás de estas conferencias es la de realizar estrictamente lo que es “necesario y suficiente”, *ita est*, no se recomienda hacer menos de lo que es necesario, pero tampoco más de lo que es suficiente.

### LAS RECOMENDACIONES DEL CONSENSO LATINOAMERICANO Y SU UTILIDAD

Encabeza la serie de recomendaciones emitidas en la segunda conferencia latinoamericana de consenso, la correspondiente a las indicaciones diagnósticas para realizar la inmunotipificación y el tipo de información que arroja en cada padecimiento. (Cuadro 1)

**Cuadro 1.** Indicaciones médicas para realizar inmunofenotipificación por citometría de flujo de acuerdo con la Segunda Conferencia Latinoamericana

	Utilidad			
	Diagnóstico	Clasificación	Pronóstico/ extensión	Seguimiento
Padecimiento				
Leucemia aguda		+	+	+
Enfermedad linfoproliferativa crónica	+	+	+	+
Síndrome mielodisplásico	+	+		+
Enfermedad mieloproliferativa				+
Gamopatía monoclonal	+		+	+

En la práctica, y principalmente en las circunstancias en las que la información derivada del estudio contribuye al diagnóstico, existen situaciones en las que no se dispone de un diagnóstico nosológico presuntivo para decidir sobre la indicación del estudio. La adopción de la lista de indicaciones emitidas por la Sociedad de Citometría Clínica, en las Recomendaciones del Consenso Internacional de Bethesda 2006,<sup>15</sup> parecería la conducta más adecuada, ya que se trata de un grupo de hallazgos de laboratorio y signos clínicos que suelen reflejar la presencia de alguno de los padecimientos mencionados en el Cuadro 1. El Cuadro 2 resume estas indicaciones.

Vale la pena comentar algunas peculiaridades sobre los primeros dos criterios de indicación para realizar

**Cuadro 2.** Indicaciones para realizar inmunotipificación por citometría de flujo de acuerdo con el Consenso Internacional de Bethesda de 2006

Hallazgo de laboratorio o clínico	
Citopenias	
Leucocitosis	
Células atípicas o blastos en fluidos corporales	
Plasmocitosis o gamapatía monoclonal	
Organomegalia o masas tumorales	

inmunotipificación. Por lo que toca a las citopenias, las aisladas y particularmente la anemia, por sí sola, no es indicación para inmunofenotipo. Las cuentas elevadas de leucocitos pueden ser sugerentes de distintas neoplasias hematológicas, como la linfocitosis en el caso de la leucemia linfática crónica, la monocitosis en las enfermedades mieloproliferativas, y la eosinofilia, que puede ser el primer signo de leucemia aguda mieloide, leucemia linfoblástica y enfermedades linfoproliferativas de estirpe T. La neutrofilia aislada, en ausencia de blastos en sangre periférica, no constituye por sí misma una indicación para realizar inmunofenotipo.

Uno de los elementos más discutibles y controversiales de la realización del inmunofenotipo por citometría de flujo, es la selección de los anticuerpos y los criterios para clasificar cada caso de acuerdo con su reactividad. En la segunda Conferencia Latinoamericana se recomendaron paneles simples que emplean los anticuerpos que han sido considerados universalmente los más informativos sobre el linaje de cada caso. Los Cuadros 3 y 4 resumen estas recomendaciones; estos criterios seguían vigentes cuando este manuscrito fue aceptado para publicación.

Para definir la estirpe T en un caso de leucemia aguda es necesario que el CD3 se exprese en el citoplasma de

**Cuadro 4.** Anticuerpos para la inmunotipificación de las enfermedades linfoproliferativas crónicas, de acuerdo con la Segunda Conferencia Latinoamericana de Consenso

<i>Primer paso: Tamizaje</i>	<i>Segundo paso: confirmación-clasificación</i>
CD4	Si se sospecha linaje T
CD8	CD7 TCRab
CD3 <sup>°</sup>	TCRgd
CD19	Si se sospecha LLCB/ LCP
CD56 <sup>°</sup>	CD5 CD22
Cadenas k	CD23
Cadenas l	FMC7
	Si se sospecha LF, LCM o LB
	CD10 CD38 Bcl-2
	Si se sospecha tricoleu- cemia o LZM
	CD11c CD103 CD25
	Si se sospecha enferme- dad proliferativa crónica de células NK
	CD16 CD57

Abreviaturas: LLCB = leucemia linfática crónica de estirpe B; LCP = linfoma de células pequeñas; LF = linfoma folicular; LCM = linfoma de células del manto; LB = linfoma de Burkitt; LZM = linfoma de la zona marginal. (°) Los anticuerpos contra CD3 y CD56 deberán mezclarse siempre en un mismo tubo, dado que las neoplasias de células NK deben expresar el fenotipo CD3/CD56<sup>+</sup>.

las células neoplásicas y alguno de los otros dos antígenos (CD7 o CD2). No es necesario definir variantes de esta estirpe, por lo que no se recomiendan marcadores adicionales de diferenciación.

Para definir un caso de precursores de células B es necesario que las células co-expresen CD79a (que requiere tinción citoplásica por ser una molécula involucrada en transducción) y CD19. Los antígenos restantes se usarán

**Cuadro 3.** Anticuerpos para la inmunotipificación de las leucemias agudas, de acuerdo con la Segunda Conferencia Latinoamericana de Consenso

Estirpe	Variantes	Marcadores de Linaje	Marcadores de Diferenciación *
Linfoblástica T	Ninguna	CD3c, CD7, CD2	
Linfoblástica B	Pro-B B Común Pre-B B	CD79a, CD19	CD10, Ig de superficie, cadenas $\mu$ citoplásicas
Mieloblástica	PML/RAR $\alpha$ + PAML/RAR $\alpha$ -	MPOc, CD13, CD33, CD117	CD15

\* El Cuadro no incluye los marcadores de inmadurez ni otras opcionales de diferenciación. Para ver el panel completo se recomienda acudir a la referencia original.

con el propósito de definir las variantes Pro-B (CD10<sup>-</sup>, IgS<sup>-</sup>, m<sup>-</sup>), común (CD10<sup>+</sup>, IgS<sup>-</sup>, m<sup>-</sup>), pre-B (CD10<sup>+/</sup>, IgS<sup>-</sup>, m<sup>+</sup>) y B (CD10<sup>+</sup>, IgS<sup>+</sup>, m<sup>+</sup>), toda vez que su pronóstico y tratamiento pueden ser distintos.

La existencia de mieloperoxidasa antigénica citoplásica más uno de los otros antígenos indicados (CD13, CD33 o CD117) es condición suficiente para definir un caso como de estirpe mieloide; sin embargo, en ausencia de mieloperoxidasa es necesaria la co-expresión de estos tres antígenos. Para la toma de decisiones terapéuticas en estos padecimientos es de gran importancia conocer si el caso corresponde, o no, a la variante promielocítica (PML/RAR $\alpha$ <sup>+</sup>). Amén de los datos morfológicos, la expresión de CD34<sup>- o tenue</sup>, HLA-DR<sup>- o tenue</sup>, CD13<sup>+</sup> heterogéneo, CD33<sup>++</sup> y CD15<sup>- o tenue</sup>, constituyen un fenotipo altamente sugerente de esta variante. Su confirmación, sin embargo, debe hacerse mediante la demostración del gen químérico PML/RAR $\alpha$  por retrotranscripción-polimerasa en cadena (RT/PCR) o hibridación fluorescente *in situ* (FISH), o por la demostración de la traslocación 15:17 por citogenética tradicional. De manera alternativa la fusión puede demostrarse indirectamente al analizar la distribución nuclear anormal de la proteína PML mediante inmunofluorescencia directa con el anticuerpo monoclonal PG-M3.<sup>16</sup>

En estricto sentido, sólo los casos que cumplen los requisitos de afectación en dos linajes son los que deben considerarse como bifenotípica, aunque se consideran marcadores altamente específicos de línea al CD3 para las células T, CD19 y CD79a (Iga) para las B, y la mieloperoxidasa para la línea mieloide.

En el caso de las neoplasias crónicas de células T, la monoclonalidad se sospecha por la aberración en la expresión de los antígenos de este linaje, como puede ser el predominio casi absoluto de CD4, CD8 o uno de los tipos de TCR, o por la disminución de la intensidad o ausencia absoluta de alguno de los antígenos CD2, CD3, CD5 o CD7; sin embargo, la confirmación debe fundamentarse en la demostración de un solo rearrreglo del TCR por RT/PCR, o en el hallazgo de una sola familia de genes V<sub>b</sub> del TCR al analizar este repertorio por citometría de flujo multiparamétrica. En cualquier caso, la complejidad y costo de estos estudios supone la referencia de la muestra a algún centro especializado para su confirmación.

Para la tipificación de las gamopatías monoclonales desde la Primera Conferencia Latinoamericana de Con-

senso se recomendó el trío de anticuerpos contra CD19, CD38 y CD56, y en la Segunda se adicionaron los que demuestran cadenas ligeras k y l, así como cadenas pesadas m, con el fin de permitir la detección de la macroglobulinemia de Waldenström, así como la investigación de la intensidad de CD45 que facilita la discriminación entre células plasmáticas normales y neoplásicas, tanto en el mieloma múltiple como en las gamopatías monoclonales de significado indeterminado.

Los paneles de anticuerpos recomendados para el diagnóstico de los síndromes mielodisplásicos se describen con detalle en el documento de consenso, y suponen la disponibilidad de una plataforma instrumental que permita, al menos, la detección simultánea de cuatro colores. Por tratarse de una descripción muy técnica, quizás sólo del interés de los profesionales de laboratorio que realizan estos estudios, se omiten de esta revisión, como también se omiten detalles relacionados con la selección de fluorocromos y filtros, rayos láser, etc.

Para facilitar su comparabilidad, también se han emitido recomendaciones acerca del contenido del informe de estos estudios y para que los médicos hemato-oncólogos puedan familiarizarse más fácil y rápidamente con un formato menos cambiante de una institución a otra. El Cuadro 5 resume el contenido recomendado para el informe.

A la fecha, la mayoría de los usuarios en la región no han manifestado la necesidad de actualizar estas recomendaciones y, por ende, se consideran aún válidas. Es importante destacar que cada laboratorio-institución está en libertad de agregar más reactivos al panel de anticuerpos con que analiza muestras de pacientes con hemopatías malignas, de modo que esta guía no debe considerarse como restrictiva. Como se ha reiterado, el objetivo es armonizar la manera de realizar estos estudios pero, sobre todo, los criterios de interpretación de los resultados.

#### Validación de las recomendaciones del consenso latinoamericano

Lamentablemente son muy pocas, si acaso, las instituciones de los países signatarios del Consenso Latinoamericano que publican los resultados del empleo de estas guías en su práctica. Esto ha impedido realmente conocer las fortalezas y las debilidades de las recomendaciones, toda vez que es imposible saber el desempeño nosográfico de su aplicación.

**Cuadro 5.** Rubros del informe del inmunofenotipo por citometría de flujo, de acuerdo con la Segunda Conferencia Latinoamericana de Consenso

Apartado	Comentarios
Datos demográficos	Nombre, edad, dirección y teléfono; además datos para comunicarse con el médico y laboratorio que solicita el estudio.
Información clínica	Diagnóstico presuntivo y toda la información clínica potencialmente relevante.
Tipo y calidad de la muestra	Por ejemplo, médula ósea, sangre, ganglio linfático y un comentario oportuno en relación con su estado y conservación.
Anticuerpos y fluorocromos	Indicar todos los antígenos que se investigaron, aunque aparentemente no hayan contribuido a la interpretación.
Resultado	Una descripción sucinta y puntual de las características de las células neoplásicas; la expresión, co-expresión, intensidad y modalidad de los diversos antígenos investigados. Deberá incluirse también cualquier peculiaridad de la población celular normal.
Interpretación	El diagnóstico inmunofenotípico conciso debe anotarse aquí.
Sugerencias	Sólo en relación con estudios complementarios que contribuyan al diagnóstico final.
Citogramas	Es opcional la inclusión de algún(os) citograma(s) representativo(s) del caso.

En nuestro laboratorio realizamos 5,659 inmunofenotipos por citometría de flujo desde la emisión de las recomendaciones de consenso de la Segunda Conferencia Latinoamericana hasta la fecha (mayo de 2005 a febrero de 2010) y los resultados se resumen en el Cuadro 6. Si bien el considerable tamaño de esta muestra permite realizar algunas conjeturas, es claro que la muestra no es representativa de la prevalencia de las diversas variantes de hemopatías malignas, como tampoco del desempeño nosográfico de las recomendaciones de consenso de la Conferencia Latinoamericana. Las proporciones en que están representados los diversos padecimientos en los que se realizan inmunofenotipos es muy variable de una institución a otra, pues dependen del grupo etario al que atienden y la organización de la propia institución. Además, se han documentado diferencias en la prevalencia de las distintas enfermedades en diversos países de la región. A pesar de sus muchas semejanzas, la región definida como América Latina es de las más vastas y heterogéneas de todo el mundo.<sup>17,18,19</sup> Sin embargo, los resultados de nuestra institución pueden ser una medida aproximada de la utilidad de estas recomendaciones. El Cuadro 7 indica el porcentaje de los casos del Cuadro 6 que pudieron clasificarse correctamente con sólo los anticuerpos recomendados en la Segunda Conferencia de Consenso.

En el caso de las enfermedades linfoproliferativas crónicas de células T, como se indica en el documento de

consenso, no es menester demostrar la monoclonalidad sólo con el panel de anticuerpos sugerido. En esta muestra, el panel logró realizar el diagnóstico de sospecha y, en todos los casos, se confirmó el carácter maligno de la neoplasia. En algunas gamopatías monoclonales fue necesario realizar la electroforesis del plasma antes de poder emitir un diagnóstico definitivo. En una fracción importante de neoplasias de precursores T se requirió echar mano de otros marcadores como CD4, CD5, CD8, TCR $\alpha\beta$  y TCR $\gamma\delta$  antes de poder emitir una interpretación. En una proporción no despreciable de casos de leucemia mieloide fue necesario emplear algunos antígenos de compromiso como CD14, CD41, CD42 y CD235 para poder establecer con certeza la naturaleza mieloide de la neoplasia. En otros más, la demostración de aneuploidías sirvió de apoyo a la interpretación final y en unos cuantos se decidió esperar a los estudios de biología molecular (traslocaciones balanceadas o inversiones) antes de emitir una conclusión final.

Lo que la Segunda Conferencia Latinoamericana de Consenso no abordó fue la estrategia para el rastreo de enfermedad residual. Si bien los anticuerpos sugeridos en el panel para clasificación también tienen utilidad en el seguimiento y enumeración de células neoplásicas residuales, es claro que los métodos de adquisición de eventos deben ser distintos, amén de que el empleo de otros anticuerpos aporta información de extraordinario

**Cuadro 6.** Resultados de 5,659 inmunofenotipos por citometría de flujo, clasificados de acuerdo con la Segunda Conferencia Latinoamericana de Consenso

Resultado	Número	Prevalencia	Subtipo	Número	Prevalencia
Enfermedad crónica	453	8%	Linfoproliferativo	294	65%
			Tricoleucemia	68	15%
			Gamopatía monoclonal	91	20%
Enfermedad aguda	3905	69%	Precursores B	2624	67.2%
			Precursores T	125	3.2%
			Mieloblástica	1062	27.2%
			Bifenotípica	94	2.4%
Negativo	1302	23%			

Fuente: Departamento de Inmunología, Laboratorios Clínicos de Puebla.

**Cuadro 7.** Aciertos en la Clasificación de 5,659 casos inmunofenotipados por citometría de flujo, clasificados de acuerdo con la Segunda Conferencia Latinoamericana de Consenso

Padecimiento	Clasificación acertada
Enfermedades linfoproliferativas crónicas	100%
Tricoleucemia	100%
Gamopatías monoclonales	97%
Leucemia aguda de precursores B	100%
Leucemia aguda de precursores T	84%
Leucemia mieloblástica	90%
Leucemia bifenotípica	100%
Ninguna (descarta neoplasia oncohematológica)	100%

valor. Hasta que no se realice una reunión de consenso para ese propósito en la región de América Latina, parecería lo más lógico adoptar las guías publicadas por instituciones individuales.<sup>20,21,22</sup>

### Consideraciones finales

Por definición, un consenso es un “acuerdo entre dos o más partes”; es decir, una opinión aprobada por mayoría, pero que no necesariamente refleja el sentir de cada una de las partes involucradas. Así, las recomendaciones de consenso para la tipificación inmunológica de las neoplasias hematológicas sólo reflejan las ideas en las que hay acuerdo de los especialistas involucrados, pero no necesariamente son del todo satisfactorias para todos sus signatarios. A pesar de esta limitación, las guías y recomendaciones de consenso han jugado un papel decisivo en facilitar la comunicación y robustecer la compatibilidad y comparabilidad de la información derivada de los estudios cuyas conclusiones se apoyan en el inmunofenotipo por citome-

tría de flujo. Dada la velocidad con que aparecen nuevas especificidades CD y el vertiginoso desarrollo de nuevas y más poderosas capacidades analíticas en la citometría de flujo, no sólo es esperable, sino muy deseable, que se sigan organizando reuniones de consenso para actualizar estas guías. La comunidad de usuarios siempre apreciará estos esfuerzos.

### REFERENCIAS

1. Duque RE, Orfao A. Utilidad del inmunofenotipo en el diagnóstico y clasificación de las leucemias crónicas. En: Actualización en Leucemia. Ruiz-Argüelles GJ, San Miguel JF (editores). México: Panamericana, 1996; p:89-96.
2. NCCLS Document H43-P. Clinical applications of flow cytometry: Immunophenotyping of leukemic cells; proposed guideline. 1993; 23: 1-107
3. Lanza F, for the European Working Group on Leukemia Immunophenotyping: Towards standardization in immunophenotyping in hematological malignancies. How can we improve the reproducibility and comparability of flow cytometric results? Eur J Histochem 1996; 40 Suppl 1: 7-14.
4. San Miguel JF, Duque RE. Utilidad del inmunofenotipo en el diagnóstico y clasificación de las leucemias agudas. En: Actualización en Leucemia. Ruiz-Argüelles GJ, San Miguel JF (editores). México: Panamericana, 1996; p:25-34.
5. Rothe G, Schmitz G, Adorf D. Consensus protocols for the flow cytometric immunophenotyping of hematopoietic malignancies. Leukemia 1996;10: 877-895.
6. Tbakhi A, Edinger M, Myles J, Pohlman B, Tubbs R. Flow cytometric immunophenotyping of non Hodgkin's lymphomas and related disorders. Cytometry 1996;25:113-124.
7. Ruiz-Argüelles GJ, San Miguel JF. Cell surface markers in multiple myeloma. Mayo Clin Proc 1994;69:684-690.
8. Bernard A, Boumsell L, Dausset J (eds). Leucocyte Typing. Berlin: Springer Verlag, 1984.
9. Nguyen D, Diamond LW, Braylan RC. Flow cytometry in hematopathology. A visual approach to data analysis and interpretation. Humana Press. New Jersey, 2007.

10. Orfao A, Ruiz-Argüelles A, Lacombe F, Ault K, et al. Flow cytometry: Its applications in hematology. *Haematologica* 1995;80:69.
11. Orfao A, Schmitz G, Brando B, Ruiz-Argüelles A, et al. Clinically useful information provided by the flow cytometric immunophenotyping of haematological malignancies: A comprehensive review. *Clin Chem* 1999;45: 1708.
12. Stewart C, Behm FG, Carey JL, Cornbleet J, et al. US-Canadian consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematologic neoplasia by flow cytometry: Selection of antibody combinations. *Cytometry* 1997;30:231-235.
13. Ruiz-Argüelles A, Duque RE, Orfao A. Report on the first Latin American consensus conference for flow cytometric immunophenotyping of leukemia. *Cytometry* 1998;34:39-42.
14. Ruiz-Argüelles A, Rivadeneyra-Espinoza L, Duque RE, Orfao A. Report on the second Latin American consensus conference for flow cytometric immunophenotyping of hematological malignancies. *Cytometry* 2005;70B: 39-44.
15. Davis BH, Holden JT, Bene MC, Borowitz MJ, et al. 2006 Bethesda international consensus recommendations on the flow cytometric immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia: Medical indications. *Cytometry* 2007;72B:S5-S13.
16. Falini B, Flenghi L, Fagioli M, Lo Cocco F, et al. Immunocytochemical diagnosis of acute promyelocytic leukemia (M3) with the monoclonal antibody PG-M3 (anti-PML). *Blood* 1997;90:4046-453.
17. Ruiz-Argüelles GJ, López-Martínez B, Lobato-Mendizábal E, Ruiz-Delgado GJ. An addition to geographic hematology: Chronic myeloproliferative diseases are infrequent in Mexican Mestizos. *Int J Hematol* 2002;75:499.
18. Ruiz-Argüelles GJ, Garcés-Eisele J, Reyes Núñez V, Gómez-Rangel JD, Ruiz-Delgado GJ. More on geographic hematology: The breakpoint cluster regions of the PML/RAR $\alpha$  fusion gene in Mexican mestizo patients with promyelocytic leukemia are different from those in Caucasians. *Leukemia Lymphoma* 2004;45:1365-1368.
19. Ruiz-Argüelles GJ, Cantú-Rodríguez OG, Gómez-Almaguer D, Cortés-Franco J, et al. Hairy cell leukemia is infrequent in México and has a geographic distribution. *Am J Hematol* 1996;52:316.
20. Ruiz-Argüelles GJ, Fernández-Lara D, Estrada-Gómez R, Manzano C, et al. Minimal residual disease testing in acute leukemia by flow cytometry immunophenotyping: Prognostic significance. *Lab Hematol* 2007;13:22-26.
21. Veltroni M, De-Zen L, Colombara-Sanzari M, Maglia O, Dworzak MN, Ratei R, Biondi A, Basso G, Gaipa G, on behalf of the I-BFM-ALL-FCM-MRD-study group. Expression of CD58 in normal, regenerating and leukemic bone marrow B cells: implications for the detection of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica/J Hematol* 2003;88:1245-1251.
22. Chen JS, Coustan-Smith E, Suzuki T, Neale GA, et al. Identification of novel markers for monitoring minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2001;97:2115-2120.