

# Resúmenes de Trabajos

presentados en el  
XIX Congreso ALAPAC/ML

---

## Estudio de las moléculas de adhesión en la anemia drepanocítica

---

*Macías C*

Instituto de Hematología e Inmunología.  
La Habana, Cuba. E-mail: cmacias@hemato.sld.cu

En los enfermos con AD se estudió la expresión en células mononucleares (CMN) y neutrófilos, de las moléculas de adhesión LFA-I, VLA-4, L-selectina e ICAM-I; en sangre periférica (SP), las moléculas VCAM-I y CD34 y en fracciones de hematíes con diferente densidad, las moléculas VLA-4 y Lutheran por citometría de flujo. En ambos grupos de enfermos se observó una disminución significativa en la expresión en CMN de las moléculas LFA-I y VLA-4, disminución de LFA-I en los neutrófilos de los pacientes en estado basal y disminución de la expresión de la molécula L-selectina en CMN y neutrófilos de pacientes en estado basal, lo que sugiere una inmunodeficiencia secundaria. El incremento de la molécula CD57 en las CVOD puede explicarse por la respuesta a un proceso inflamatorio. El aumento de las moléculas ICAM-I (CD54), CD34 y VCAM-I (CD106) en las CMN y sangre periférica de pacientes basales demuestran la presencia de un estado de activación leucocitario y endotelial permanente y el incremento significativo de ICAM-I en neutrófilos y CD34 y VCAM-I en la sangre periférica en ambos grupos de pacientes reflejan la activación de monocitos, linfocitos, neutrófilos y células endoteliales durante las CVOD, y la liberación de estas últimas a la periferia. Se ob-

servó una mayor expresión de las moléculas LFA-I, L-selectina e ICAM-I en los neutrófilos de los enfermos con CVOD y un incremento significativo de la molécula CD18 en CMN de los pacientes con CVOD que puede explicarse por la activación de los monocitos en el fenómeno vasooclusivo. En la fracción rica en reticulocitos, se demostró el incremento de las moléculas VLA-4 y Lutheran, lo cual se relaciona con la mayor participación de éstos en la adherencia al endotelio vascular durante el fenómeno vasooclusivo.

---

## Diagnóstico inmunológico de la leucemia linfocítica aguda pediátrica en el Instituto de Hematología e Inmunología en un periodo de 15 años

---

*Marsán V*

Instituto de Hematología e Inmunología.  
Ciudad de la Habana. Cuba.  
E-mail: v.marsan@hemato.sld.cu

Se estudiaron 310 niños con leucemia linfocítica aguda (LLA), entre enero de 1993 hasta diciembre del 2008. El inmunofenotipaje celular (IFC) se realizó en 244 de estos enfermos por el método ultramicroenzimático (UMICIQ) y en 66 por citometría de flujo (CF) (desde abril del 2004 hasta diciembre del 2008). En 30 pacientes, el IFC se realizó mediante ambos métodos, con el objetivo de validar el diagnóstico inmunológico de la LLA por el UMICIQ mediante la CF. De los 244 pacientes estudiados por UMICIQ, 81.1% presentaron fenotipo B (82.1%

común, 10,6% pro-B, 4,1% pre-B y 2,5% B madura) y 18,9% fenotipo T (60,8% T madura y 19,6% temprana y cortical, respectivamente). De los 66 enfermos estudiados por CF, 80,3% presentaron fenotipo B (81,1% común, 11,3% pro-B, 5,7% B madura y 1,9% pre-B). Del total de pacientes estudiados, 81% presentaron fenotipo B; de éstos, 82,4% con la variedad común y 59% (19%) fenotipo T; de estos últimos, 62,8% con la variedad T madura. Ambos métodos de IFC permitieron identificar la línea de origen de las células leucémicas, el nivel de maduración y su clasificación en diferentes subtipos inmunológicos.

---

### **Aplicación de la citometría de flujo en la inmunoterapia experimental**

#### *Mesa C*

Centro de Inmunología Molecular.

La Habana, Cuba. E-mail: circe@cim.sld.cu

---

La citometría de flujo (FACS) ha sido una herramienta trascendental en el diseño y evaluación de los candidatos vacunales para la terapia del cáncer desarrollados en el mundo y en el Centro de Inmunología Molecular. Dos ejemplos promisorios lo constituyen las vacunas CimaVaxGM3 y la Her1. Ambas utilizan un adyuvante basado en la incorporación de gangliósidos en vesículas de membrana externa de *Neisseria meningitidis* llamado VSSP. A través de la citometría de flujo se demostró que la efectividad de este adyuvante se basa fundamentalmente en su capacidad de activar células del sistema inmune innato e inducir la activación de linfocitos T citotóxicos antígeno específicos. La inmunización de ratones con el dominio extracelular del REGF adyuvado en VSSP (vacuna Her1), produjo respuesta de anticuerpos antígeno específicos y se demostró su efectividad en un modelo tumoral de metástasis experimental. Los anticuerpos generados con dicha vacunación son capaces de reconocer una amplia diversidad de líneas celu-

lares derivadas de tumores y bloquear la activación del REGF, arrestar en fase G0/G1 el ciclo celular de las células tumorales, inhibiendo el crecimiento de dichas líneas tumorales e induciendo apoptosis. Todos estos resultados se obtuvieron aplicando diversas técnicas de citometría de flujo. Otro candidato vacunal sobre la plataforma de VSSP es la vacuna CimaVaxGM3, en la que la variante N-glicolilada del gangliósido GM3 se encuentra hidrofólicamente conjugada con las proteínas de la *N. meningitidis*, lo cual da lugar al VSSP. Esta vacuna se encuentra actualmente en ensayos clínicos fase III con resultados muy promisorios; sin embargo, su mecanismo de acción se encuentra aún en evaluación preclínica. A través de la eliminación específica de las poblaciones de células T CD8+ y NK1.1+ se demostró la relevancia de la respuesta celular efectora en la reducción del número de metástasis espontáneas inducida por esta vacuna en el modelo del carcinoma de pulmón 3LL-D122. Este resultado se corroboró por técnicas de citometría de flujo, que mostraron que la vacunación con CimaVaxGM3 provoca el aumento de la frecuencia de células NK y de dendríticas activadas.

---

### **Aplicación de la citometría de flujo en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas periféricas**

#### *De la Campa D*

Hospital Clínico Quirúrgico «Hermanos Ameijeiras», La Habana, Cuba. E-mail: banco@hha.sld.cu

---

Se estudió el total de las colectas de células progenitoras hematopoyéticas obtenidas mediante leucoféresis, con un equipo de flujo continuo FRESSENIUS ASTEC 204, empleando el programa de obtención de células mononucleares con el set PIY, realizadas en el Banco de Sangre del Hospital «Hermanos Ameijeiras» desde abril del 2001 hasta abril del 2002. Se determinó: peso, talla, hematocrito, hemoglobina, conteo de leucocitos

y plaquetas de los donantes previos a la colecta. En el producto de la leucoféresis se analizó el conteo de leucocitos con diferencial, conteo de células CD34+/CD45+ (mediante técnica de inmunofluorescencia en citómetro de flujo) y determinación de viabilidad celular con yoduro de propidio en este mismo equipo (FacsScan, Becton Dickinson). Cinco pacientes recibieron trasplante autólogo y dos alogénico. Los primeros con diagnósticos de linfoma no Hodgkin (3), enfermedad de Hodgkin (1) y artritis reumatoide (1); los segundos estaban afectados de leucemia mieloide crónica (1) y linfoma no Hodgkin (1); atendidos en el Servicio de Hematología de nuestro Centro. La media del conteo de células CD34+ por cada leucoféresis para trasplante autólogo fue de  $2.4 \times 10^6/\text{kg}$  y en el alogénico  $2.96 \times 10^6/\text{kg}$ . Los resultados evidencian que, mediante el ajuste del volumen de los ciclos, la velocidad centrífuga, el volumen de reboseado y el volumen celular, obtuvimos un conteo de células precursoras hematopoyéticas en la colecta similar a lo reportado por otros autores, lo que garantiza que el producto transfundido cuenta con la celularidad necesaria para repoblar la médula ósea, luego que el paciente sea tratado con altas dosis de terapia inmunosupresora y/o radiaciones.

---

### **Citometría de flujo en el estudio de la orina, experiencia peruana**

---

*Colichón A*

Laboratorios MEDLAB Lima-Perú.

Universidad Peruana Cayetano Heredia, Dep. Microbiología, Lima-Perú.

La fluorocitometría de flujo (FCM-UF100) en el estudio de la orina recién emitida del paciente urológico ha abierto un nuevo horizonte en el diagnóstico de las enfermedades urinarias. En la implementación rutinaria de esta prueba hemos tenido que evaluar y validar el proceso dentro del marco de nuestro SGC, sometiendo la prueba a QC tanto interno como externo, reproducibilidad y/o mejora, comparado con el estudio del sedimento urinario convencional, validación de rangos normales frente al ranking clásicamente aceptado y establecimiento del CO (punto de corte) de normalidad, de tal manera que nos permita dilucidar de una manera más precisa el límite de anormalidad; esto nos ha llevado incluso a validar nuestros rangos normales frente a los de otros laboratorios.

Se han estudiado más de 1,547 orinas mediante el equipo UF100 (Sysmex): orinas control (100), normales (100), patológicas o negativas (1,347). En todos los pacientes se corrió simultáneamente la tira reactiva (Combur 10- Cobas 411-Roche), sedimento microscópico y, en algunos, urocultivo confirmatorio (163). Nuestros resultados arrojan un buen correlato con los QC interno, y reproducen en 93% los resultados del sedimento microscópico, pero mejora la decisión de R.I positiva en 16% frente a los mismos. Nos define mejor el criterio de hematuria (glomerular y no glomerular). El valor de FCM es su nueva forma automática de reportar e interpretar el ECO, por su rapidez de proceso, validación de la prueba, efectiviza mejor al urocultivo confirmatorio; además, da valor agregado con el estudio citométrico de la hematuria y de la conductividad de la orina (diuresis). Juega en su contra el alto costo de esta prueba de alta rotación en el laboratorio rutinario (¿costo/beneficio?).