

## Caracterización inmunofenotípica de pacientes con leucemia mieloide aguda

### Immunophenotypic characterization of patients with acute myeloid leukemia

**Dra. Daily Pino Blanco<sup>I</sup>, Dra. Consuelo Macías Abraham<sup>I</sup>, Dra. Tania Lahera Sánchez<sup>II</sup>, Dra. Vianed Marsán Suárez<sup>I</sup>, Dra. Miriam de la C. Sánchez Segura<sup>I</sup>, Lic. Lázaro O. del Valle Pérez<sup>I</sup>, Lic. Berta B Socarrás Ferrer<sup>I</sup>, Lic. Mercedes Martínez Machado<sup>I</sup>**

<sup>I</sup> Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

<sup>II</sup> Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología. La Habana. Cuba.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** la leucemia mieloide aguda incluye un grupo heterogéneo de neoplasias caracterizadas por una expansión clonal de mieloblastos, cuya clasificación involucra varios criterios, incluidos los inmunológicos.

**Objetivo:** caracterizar el inmunofenotipo de los pacientes con leucemia mieloide aguda evaluados en el Instituto de Hematología e Inmunología.

**Métodos:** se realizó un estudio descriptivo transversal de los pacientes diagnosticados con este tipo de leucemia, cuyas muestras de sangre fueron procesadas en el Departamento de Inmunología en el período 2008-2012. Se usó un ultramicrométodo inmunoquímico que utiliza un panel de anticuerpos monoclonales específicos de抗ígenos mieloides y linfoides. Las variables analizadas fueron: edad, sexo, subtipo de leucemia y expresión de marcadores inmunológicos, cuyas asociaciones fueron analizadas con los estadígrafos Chi-cuadrado y coeficiente de correlación de Spearman.

**Resultados:** se estudiaron 58 pacientes, 28 del sexo femenino y 30 del masculino. El grupo de edad predominante fue de 0 a 9 años con una mediana de 26 años. El subtipo M4 resultó el más frecuente (30,4 %). Los subtipos M4 y M7 predominaron en niños, mientras que el M0, predominó en adultos, con diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ). La combinación de los抗ígenos panmieloides CD13 y CD33 se presentó en el 91 % de los enfermos. Las combinaciones de CD13/CD33, CD14/CD15, CD33/CD14 y CD33/CD15 mostraron correlación significativa. En el 20,6 % de los pacientes evaluados, fueron

detectados, además, antígenos linfoides. No se encontraron diferencias significativas en cuanto al sexo y la edad. El antígeno CD7 fue el más expresado, seguido de los antígenos: CD3, CD20, CD22 y CD79, en igual proporción.

**Conclusiones:** el inmunofenotipaje celular demostró ser un procedimiento útil para confirmar el diagnóstico morfológico y clínico de la leucemia mieloide aguda.

**Palabras clave:** inmunofenotipaje, leucemia mieloide, anticuerpos monoclonales, hemopatías malignas.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** Acute myeloid leukemia (AML) is a *heterogeneous group* of diseases characterized by clonal expansion of myeloblasts; its classification involves several criteria, including the immunological one.

**Objective:** To characterize the immunophenotype of patients with acute myeloid leukemia who were evaluated at the Institute of Hematology and Immunology.

**Methods:** A descriptive study of patients diagnosed with this kind of leukemia, whose blood samples were processed at the Department of Immunology during 2008-2012. An immunocytochemical ultramicromethod that uses a panel of monoclonal antibodies specific for myeloid and lymphoid antigens was applied. The variables analyzed were age, sex, subtype of leukemia and expression of immunological markers; their association was analyzed with the Chi-square test and *Spearman's rank correlation coefficient*.

**Results:** The study covered 58 patients; 28 were *males* and 30 *females*. The predominant age group was 0-9 years with a median of 26 years. M4 subtype was the most common (30,4 %). M4 and M7 subtypes predominated in children, while M0 predominated in adults with statistically significant differences ( $p \leq 0,05$ ). The combination of pan-myeloid antigens CD13 and CD33 was present in 91% of patients. Combinations of CD13/CD33, CD14/CD15, CD33/CD14 and CD33/CD15 showed significant correlation. In 20,6 % of patients tested, lymphoid antigens were also detected. In this group, no significant differences by gender and age. CD7 antigen was the most expressed followed by antigens: CD3, CD20, CD22 and CD79, in equal proportion.

**Conclusions:** Immunophenotyping of leukemia cells appeared as a useful tool to confirm the morphological and clinical diagnosis of acute myeloid leukemia.

**Keywords:** immunophenotyping, myeloid leukemia, monoclonal antibodies, malignant hemopathies.

---

## INTRODUCCIÓN

Las leucemias agudas constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades hematológicas con diferencias en la etiopatogenia, historia natural y pronóstico, que se caracterizan por la proliferación clonal de las células progenitoras hematopoyéticas. Con su clasificación se ha intentado reducir dicha heterogeneidad e identificar subgrupos biológicamente diferentes y con distintas opciones terapéuticas, lo que ha permitido mejorar el pronóstico de los pacientes con este grupo de enfermedades.<sup>1</sup>

En la actualidad, la clasificación de las leucemias agudas involucra criterios de citoquímica, inmunología, citogenética y biología molecular. En particular, el inmunofenotipo representa una herramienta útil, al permitir la detección de los diferentes antígenos que identifican las diferentes líneas y etapas de maduración de las células hematopoyéticas. De hecho, en las últimas décadas la caracterización inmunofenotípica ha sido incorporada en distintas clasificaciones de leucemias agudas, como la clasificación inmunológica del *European Group for the Immunological Characterization of Leukemias* (EGIL) y la Clasificación de Tumores de tejidos hematopoyéticos y linfoideos de la Organización Mundial de la Salud (OMS).<sup>1-3</sup>

La leucemia mieloide aguda (LMA) representa, a su vez, un subgrupo heterogéneo de leucemias agudas caracterizadas por una rápida expansión clonal de mieloblastos que se acumulan en médula ósea y sangre periférica. La LMA es el tipo de leucemia aguda más común en adultos y su incidencia aumenta con la edad. A pesar de ser una enfermedad relativamente rara a nivel global, es responsable de aproximadamente el 1,2 % de las muertes por cáncer en los Estados Unidos de Norteamérica (EE. UU.) y se espera un aumento de su incidencia a medida que la población envejezca.<sup>4-6</sup>

El inmunofenotipaje celular (IFC) mediante un panel de anticuerpos monoclonales (AcMo) es de amplio uso y utilidad en nuestro medio. Por esta razón se realizó este estudio, con el objetivo de caracterizar el inmunofenotipo de los pacientes con LMA estudiados en el Departamento de Inmunología del Instituto de Hematología e Inmunología (IHI).

## MÉTODO

Se realizó un estudio descriptivo transversal para caracterizar el inmunofenotipo de los pacientes con LMA en el período comprendido entre enero de 2008 y diciembre de 2012. Para ello se empleó un ultramicrométodo inmunocitoquímico (UMICIQ)<sup>7</sup>, con un panel de anticuerpos monoclonales específicos para antígenos mieloides y linfoideos procedentes de las casas comerciales Dako (Dinamarca) y Serotec (Reino Unido), que se relacionan a continuación:

- **Dirigidos contra antígenos expresados por células mieloides:** Anti-CD 13 (My7), anti-CD33 (My 9), anti-CD14, anti-CD15 (Leu M1), anti-CD41 (943D).
- **Dirigidos contra antígenos expresados por células T:** Anti-CD7 (Leu 9), anti-CD2 (OKT 11), anti-CD3 (OKT 3), anti-CD5 (Cris-1).
- **Dirigidos contra antígenos expresados por células B:** Anti-CD10 (OKB-CALLA), anti-CD19 (B4), anti-CD20 (B1), anti-CD22 (Leu 14), anti-CD79.
- **Otros:** Anti-HLA-DR.

Para la lectura de cada marcador se contaron 100 células y se consideró positivo cuando su valor resultó ser igual o mayor que el 20 %.

Las variables analizadas fueron edad, sexo, subtipo de LMA y la expresión de marcadores inmunológicos. Estas fueron expresadas en frecuencias absoluta y relativa. Para determinar la posible asociación entre las variables estudiadas se utilizó el test de Chi cuadrado de independencia. Para establecer la intensidad de la asociación entre los marcadores inmunológicos detectados se utilizó el coeficiente

de correlación de *Spearman*. En todos los casos se utilizó como nivel de significación  $p < 0.05$ .

Para el procesamiento y análisis de la información se utilizó el programa estadístico SPSS versión 11.5 para Windows.

## RESULTADOS

En el período analizado, se estudiaron 58 pacientes con LMA. La mediana de la edad fue de 26 años y el grupo de edad predominante fue de 0-9 años (23,9 %). En relación con el sexo, hubo un discreto predominio del masculino sobre el femenino (tabla 1).

**Tabla 1.** Distribución de los pacientes con leucemia mieloide aguda, según edad y sexo

Grupo de edad (años)	Femenino		Masculino		Total (n=46)	
	n	%	n	%	n	%
0-9	6	13,0	5	10,9	11	23,9
10-19	3	6,5	5	10,9	8	17,4
20-29	4	8,7	5	10,9	9	19,6
30-39	2	4,3	3	6,5	5	10,9
40-49	3	6,5	3	6,5	6	13,0
50-59	3	6,5	1	2,2	4	8,7
60 y más	1	2,2	2	4,3	3	6,5
<b>Total</b>	<b>22</b>	<b>47,8 *</b>	<b>24</b>	<b>52,2 *</b>	<b>46</b>	<b>100</b>

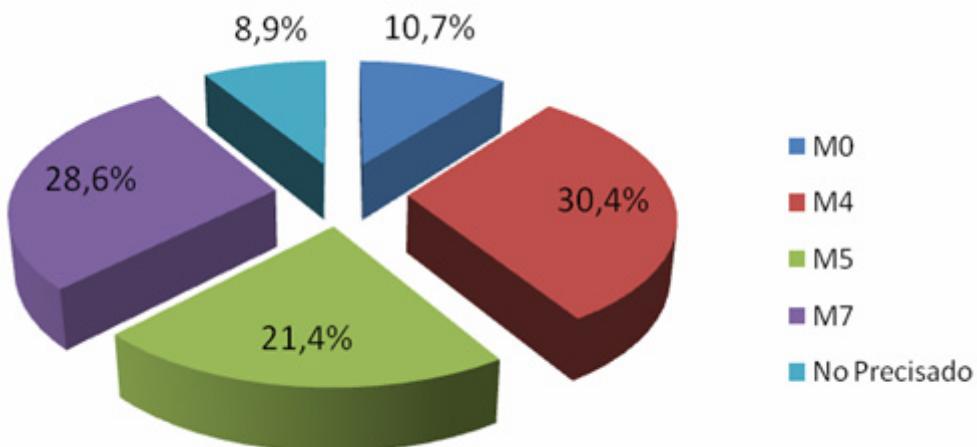
\*  $p = 0,9052$

El subtipo de LMA más frecuente fue el M4 (30,4 %), seguido por el M7 (28,6 %). En el 8,9 % de los enfermos no se pudo precisar el diagnóstico por el IFC (figura).

La tabla 2 muestra la distribución de los pacientes según subtipo de LMA y sexo. Se encontró en los subtipos M0 y M5, una razón 1:2 a favor del sexo masculino.

En la tabla 3 se aprecia la distribución de los pacientes según subtipo de LMA y edad. Se halló que las variantes M4 y M7 predominaron en los niños, mientras que la variante M0 predominó entre los adultos, con una diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0,0191$ ).

Los antígenos mieloides CD13 y CD33 estuvieron presentes en el 96,5 % y 94,6 % de los pacientes, respectivamente. La combinación de estos antígenos panmieloides se presentó en el 91 % de la serie.



**Fig.** Distribución de pacientes según subtipo de leucemia mieloide aguda.

**Tabla 2.** Distribución de los pacientes con leucemia mieloide aguda LMA según subtipo inmunológico y sexo

Subtipo de LMA	Femenino		Masculino		Total	
	n	%	n	%	n	%
M0	2	3,6	4	7,1	6	10,7
M4	9	16,1	8	14,3	17	30,4
M5	4	7,1	8	14,3	12	21,4
M7	8	14,3	8	14,3	16	28,6
No precisado	2	3,6	3	5,4	5	8,9
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>44,6</b>	<b>31</b>	<b>55,4</b>	<b>56</b>	<b>100</b>

p = 0,8025

La tabla 4 muestra una correlación estadísticamente significativa en la expresión de los antígenos mieloides estudiados, así como la intensidad de la asociación, según el coeficiente de Spearman.

El 20,6 % de los pacientes evaluados (n= 12) fueron diagnosticados como LMA-Li+, y tuvieron una distribución por sexo 1:1. No se encontraron diferencias significativas en la distribución por edades.

El antígeno CD7 fue el más expresado en el 50 % de las LMA-Li+, seguido de los marcadores: CD3, CD20, CD22 y CD79, en igual proporción de expresión (33,3 %).

**Tabla 3.** Distribución de los pacientes con leucemia mieloide aguda según edad y subtipo inmunológico

Edad (años)	M0	M4	M5	M7	No precisado	Total
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
0-9	0 (0)	4 (8,7)	2 (4,3)	4 (8,7)	1 (2,2)	11 (23,9)
10-19	0 (0)	3 (6,5)	4 (8,7)	1 (2,2)	0 (0)	8 (17,4)
20-29	1 (2,2)	1 (2,2)	2 (4,3)	4 (8,7)	1 (2,2)	9 (19,6)
30-39	0 (0)	0 (0)	1 (2,2)	2 (4,3)	2 (4,3)	5 (10,9)
40-49	4 (8,7)	2 (4,3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (13,0)
50-59	0 (0)	2 (4,3)	0 (0)	2 (4,3)	0 (0)	4 (8,7)
60 y más	1 (2,2)	0 (0)	1 (2,2)	0 (0)	1 (2,2)	3 (6,5)
<b>Total</b>	<b>6 (13,0)</b>	<b>12 (26,1)</b>	<b>10 (21,7)</b>	<b>13 (28,3)</b>	<b>5 (10,9)</b>	<b>46 (100)</b>

*p* = 0,0191

**Tabla 4.** Correlación de expresión de los antígenos mieloides en pacientes con leucemia mieloide aguda

Antígenos mieloides	Coeficiente de correlación de Spearman	<i>p</i>
CD13/CD33	0,32	0,01
CD14/CD15	0,59	0,00
CD14/CD33	0,51	0,00
CD15/CD33	0,45	0,00

## DISCUSIÓN

En este estudio predominaron los pacientes menores de 10 años de edad, mientras que los mayores de 60 estuvieron menos representados, lo cual difiere de lo reportado por otros autores.<sup>8,9</sup> Este resultado probablemente se debió a que los pacientes adultos con LMA se estudian también en otros centros especializados, a diferencia de los pacientes en edad pediátrica, que en su mayoría son diagnosticados en el IHI.

En relación con el sexo, el ligero predominio del masculino resultó más evidente en las variantes M0 y M5. Otros estudios realizados en Cuba<sup>10,11</sup> y en otros países<sup>2,8</sup> mostraron mayor frecuencia de la enfermedad en varones, en cifras incluso

superiores a las reportadas en nuestro estudio. Esto pudiera deberse a factores genéticos, hormonales y ambientales, como los niveles de exposición a determinados productos, entre otros.

En esta investigación se presentó un predominio de la variante M4. Estudios efectuados con anterioridad en la institución también reportaron alta frecuencia de este subtipo de LMA.<sup>10,12</sup> Estos resultados coincidieron con los encontrados por Dores y col<sup>8</sup> en un estudio realizado en 8 estados de EE. UU. En el presente estudio, la variante M7 siguió a la M4, contrario a lo encontrado en las investigaciones anteriores.<sup>10,12</sup>

La presencia de los antígenos panmieloides CD13 y CD33 se reportó en el 96,5 % y 94,6 %, respectivamente. Estos resultados son muy similares a los de Novoa y col, en Argentina.<sup>2</sup> Solo en la minoría de los pacientes se expresó uno de los dos marcadores antigénicos, lo que pudiera estar justificado por la heterogeneidad inmunofenotípica de las LMA.

El 20,6 % de los pacientes estudiados presentaron la variante LMA-Li+, cifra inferior al 31,9 % reportado por Cos y col en un estudio similar efectuado en el IHI.<sup>10</sup> Otra investigación en México exhibió resultados similares a los nuestros.<sup>13</sup> El antígeno CD7 resultó ser el más representado en este grupo de enfermos, al presentarse en la mitad de los casos.

Las combinaciones antigénicas CD14/CD15, CD33/CD14, CD33/CD15 y CD13/CD33 mostraron una correlación estadísticamente significativa, en ese orden de intensidad, lo cual estuvo en relación con su especificidad de linaje mieloide.

Los resultados obtenidos demuestran la importancia del IFC en la confirmación del diagnóstico morfológico de las variedades M4 y M5 de la LMA, y su carácter indispensable en los subtipos M0 y M7.

Durante mucho tiempo, los criterios morfológicos y citoquímicos fueron la base para establecer el diagnóstico de leucemia aguda linfoblástica y la clasificación Franco-Americana-Británica (FAB) fue ampliamente aceptada. Hoy en día, la citometría de flujo (CMF) es el método de elección para la caracterización inmunofenotípica de las células leucémicas. Este método de estudio se basa fundamentalmente en el análisis del patrón de expresión antigénica intracelular y de la superficie linfocitaria mediante el empleo de anticuerpos monoclonales que reconocen moléculas de membrana asociada a linaje. Permite la subtipificación de leucemias que derivan de precursores de células B o de células T; identificar la etapa de diferenciación y maduración en que ocurrió la transformación maligna y diferenciar entre los blastos linfoides y mieloídes indiferenciados (M0 y M1), hasta en el 98 % de los casos.<sup>14</sup>

Se han realizado trabajos con el objetivo de comparar el UMICIQ con la CMF para el diagnóstico inmunológico de la leucemia linfoide aguda (LLA) pediátrica. Los resultados de este estudio demostraron que ambos métodos permiten identificar la línea de origen de las células leucémicas, el nivel de maduración y su clasificación en diferentes subtipos inmunológicos. Tanto el UMICIQ como la CMF mostraron una alta sensibilidad y especificidad. Este estudio permitió validar el diagnóstico inmunológico de la LLA pediátrica por el UMICIQ mediante la CMF, tecnología de avanzada altamente automatizada y utilizada internacionalmente para el IFC de hemopatías malignas. De esta forma, se demostró que las técnicas inmunocitoquímicas continúan siendo muy útiles para el IFC de neoplasias hematológicas y en particular de la leucemia mieloide aguda. Estos datos sugieren que el UMICIQ se puede extender a todos los centros hospitalarios del país, donde

no solo facilitará el diagnóstico de las hemopatías malignas sino también de las inmunodeficiencias primarias.<sup>15</sup>

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Merino A. Clasificación de las leucemias agudas mieloides. Rev Lab Clín. 2010; 3(3):139-47 [doi: 10.1016/j.labcli.2010.05.002](https://doi.org/10.1016/j.labcli.2010.05.002).
2. Novoa V, Núñez NA, Carballo OG, Lessa CF. Inmunofenotipos aberrantes en leucemias agudas en una población hospitalaria de Buenos Aires. MEDICINA (Buenos Aires) 2013;73:9-16.
3. Rabelo LJ. Leucemias mieloblásticas agudas. Citomorfología e inmunofenotipo en la leucemia mieloide. Bioquímica.2009;34(Supl A):S2. Disponible en: <http://www.medicgraphic.com/pdfs/bioquimia/bqm-2009/bqm091z.pdf>
4. Fadoo Z, Mushtaq N, Alvi S, Ali M. Acute myeloid leukaemia in children: experience at a tertiary care facility of Pakistan. J Pak Med Assoc. 2012 Feb;62(2):125-8.
5. Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun M. Cancer statistics 2002. CA Cancer J Clin. 2002;52:23.
6. Casanovas RO, Slimane FK, Garand R, Faure GC, Campos L, Deneys V, et al. Immunological classification of acute myeloblastic leukemias: relevance to patient outcome. Leukemia. 2003;17:515-27.
7. Suárez L, Cruz C, Rivero RA. Ultramicrométodo inmuncitoquímico. Titulación de anticuerpos utilizados para el inmunofenotipaje celular. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 1995;11(1):57-62.
8. Dores GM, Devesa SS, Curtis RE, Linet MS, Morton LM. Acute leukemia incidence and patient survival among children and adults in the United States, 2001-2007. Blood. 2012;119(1):34-43.
9. Sandler DP, Ross JA. Epidemiology of acute leukemia in children and adults. Semin Oncol. 1997;24(1):3-16.
10. Cos Y, Marsán V, Socarrás BB, Sánchez M, Martínez M, del Valle LO, et al. Inmunofenotipaje celular en el diagnóstico de la leucemia mieloide aguda. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter 2005 [consultado: 16 de abril de 2012];21(3). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892005000300008&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892005000300008&lng=es)
11. González G, Salmon SL, Querol N, Jiménez N, Sell M. Características clínico epidemiológicas de las leucemias en el niño. MEDISAN 2011 [consultado: 16 de abril de 2012];15(12):1714-9. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1029-3019201100120005&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-3019201100120005&lng=es)
12. Marsán V, Macías C, Rivero R, Sánchez M, Socarrás, Gramatges A, et al. Inmunofenotipaje y supervivencia global de pacientes pediátricos con leucemias agudas. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2002 [consultado: 16 de abril de 2012];18(1). Disponible en

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892002000100003&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892002000100003&lng=es)

13. Pérez E, Santoscoy LA. Inmunofenotipo leucémico. Rev Latinoamer Patol Clin. 2006;53(1):69-70.
14. Quero-Hernández A, Estrada Correa R, Pacheco Pérez I, Reyes Gómez U, Álvarez Solís RM, Vargas Vallejo M. Características clínicas e inmunofenotípicas en un grupo de niños con leucemia aguda linfoblástica. Pediatr Mex 2012;14(4):166-71.
15. Marsán Suárez V, del Valle Pérez LO, Socarrás Ferrer BB, Sánchez Segura M, Macías Abraham C, Mazorra Herrera Z, et al. Validación del ultramicrométodo inmunocitoquímico (UMICIQ) para el inmunofenotipaje de la leucemia linfoides aguda pediátrica. Revista Cubana Hematol Inmunol Hemoter 2012;28(3):282-8.

Recibido: 30 de junio de 2013.

Aprobado: 9 de agosto de 2013.

Dra. *Daily Pino Blanco*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, La Habana, CP 10800, Cuba. Tel (537) 643 8695, 8268. Fax (537) 644 2334. Correo electrónico: [rchematologia@infomed.sld.cu](mailto:rchematologia@infomed.sld.cu)