

201  
108



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**CLASIFICACION INMUNOLOGICA DE LAS  
LEUCEMIAS AGUDAS**

**Trabajo Monográfico**

**Que para obtener el título de  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**Presenta**

**PATRICIA ELIZABETH RODRIGUEZ VAZQUEZ**

**México, D. F.**

**1986**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I N D I C E

I.- OBJETIVOS .....	
II.- ANTECEDENTES HISTORICOS .....	1
III.- ETIOLOGIA	
A).- FISICOS .....	5
B).- QUIMICOS .....	6
C).- GENETICOS .....	7
D).- VIRALES .....	9
IV.- ETIOPATOGENIA .....	16
V.- EPIDEMIOLOGIA .....	19
VI.- CLASIFICACION HISTOPATOLOGICA .....	22
VII.- LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA .....	28
VIII.- ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LAS LEUCEMIAS AGUDAS LINFOBLASTICAS Y NO LINFOBLASTICAS EN RELACION A LA CITOLOGIA HEMATICA .....	30
IX.- METODOS DE DIAGNOSTICO .....	33
X.- METODOS DE DIAGNOSTICO BASADOS EN ASPECTOS INMUNOLOGICOS (Maduración y transformación de linfocitos).....	36
A).- DESARROLLO DE LOS LINFOCITOS .....	37
B).- MARCADORES B .....	47
C).- MARCADORES T .....	50
D).- MARCADORES ENZIMATICOS .....	54
E).- MARCADORES DE SUPERFICIE .....	55

XI.- CLASIFICACION INMUNOLOGICA DE LAS LEUCIMIAS	
LINFOBLASTICAS AGUDAS .....	64
XII.- CONCLUSIONES .....	70

## I.- OBJETIVOS

- 1.- La presente revisión tiene como finalidad dar un bosquejo general al estudio de enfermedades neoplásicas de origen hematopoyético que ocurre en orden de incidencia dentro de las primeras causas de muerte dentro de la población infantil y adulta en países como Estados Unidos y el nuestro.
- 2.- Conocer la tecnología dada por Köhler y Milstein para la elaboración de híbridos productores de Anticuerpos Monoclonales que guardan monoespecificidad y que permite el reconocimiento de antígenos que parecen ser constantes - en las células de trastornos malignos hematopoyéticos.
- 3.- Difundir el conocimiento metodológico de la inmunoclasificación de las leucemias y otras neoplasias sanguíneas, así como su aplicación en el pronóstico y tratamiento de las citadas entidades.

## II.- ANTECEDENTES HISTORICOS

Entre los antecedentes históricos de este padecimiento se citan los hallazgos y observaciones hechas por Hipócrates, quien describe pacientes con sintomatología propia caracterizada por: palidez, pérdida de peso, fiebre, hemorragia y en ocasiones con vísceromegalia (7), pero no fué sino hasta 1839 - 1845 que Craigie, Bennett y Virchow complementaron las manifestaciones clínicas y el examen "post-mortem" con la observación microscópica de sangre periférica en un paciente - con vísceromegalia y en el que la sangre tenía una apariencia amarillo-verdosa como el pus, sin embargo estos autores notaron que no se trataba de material purulento, sino que eran células propias de la sangre, por tal motivo se denominó "Enfermedad de la Sangre Blanca" (del griego: Haima - sangre y Leucos - blanco) ó LEUCEMIA.

Posteriormente Virchow diferencia dos formas de leucemia, una en la que predominaba la esplenomegalia y otra en la que la linfadenopatía era más predominante (80).

En 1857 Friedreich describe a la leucemia como tal, pero sin embargo hasta la introducción de los métodos de tinción por Ehrlich fué posible identificar las células anormales que en un principio se pensó eran consecuencia de la enfermedad, y no de la enfermedad en sí como se sabe ahora.

La leucemia aguda puede confundirse con otros padecimientos por lo que la descripción de Henck con los hallazgos histológicos de esta enfermedad en ganglio linfático, médula ósea y bazo sirvieron para diferenciarla entre otros de la mononucleosis infecciosa (7).

Naegeli en 1900 incluye el estudio de la médula ósea para el diagnóstico y diferenciación de las leucemias.

En 1907 Meyer y Heineke describieron el primer grupo de pacientes con este padecimiento haciendo mención de las características clínicas y del laboratorio de esta enfermedad.

Es a principios de siglo cuando ya se establece la definición de leucemia que en términos generales se puede decir que: "La leucemia es considerada como un padecimiento hematológico caracterizado por una exagerada producción, maduración y liberación de leucocitos, morfológica y fisiológicamente alterados desde la médula ósea a sangre periférica y a otros tejidos" (74).

En años subsiguientes se logró distinguir dos variantes de leucemia: una forma denominada aguda, que no esta en relación con el tiempo de evolución, sino con la prolifera

ción de células inmaduras o blastos en médula ósea y que tiene la particularidad de infiltrar otros tejidos, y otra denominada crónica en la que predominan diferentes estadios de maduración pero de características morfológicas normales y con capacidad de invadir otros sitios anatómicos (3).

El cuadro clínico de esta enfermedad observada por Hipócrates esta en relación con el grado de infiltración medular en el cual el tejido hematopoyético normal es paulatinamente sustituido por las células leucémicas.

Por los años de 1950 se vió la necesidad de contar con una clasificación citológica para poder distinguir los rangos de variación morfológica de la leucemia mieloblástica y linfoblástica, pero no fué sino hasta 1958 cuando el Medical Research Council's Working Party en Inglaterra, realizó el primer intento por lograr esta clasificación. Los resultados preliminares de este estudio no ayudaron en mucho a la clasificación por la pobre respuesta a la terapia administrada, pero permitió la observación de que los pacientes jóvenes (en especial los niños) cuyo tipo morfológico corresponde a la leucemia linfoblástica, respondieron mejor al tratamiento en comparación a otros pacientes de mayor edad y con leucemia derivada de la serie mieloide (35).

Los estudios subsecuentes demostraron que era indispensable contar tanto con una clasificación como con una nomenclatura para definir a las leucemias en agudas y crónicas y a su vez diferenciar entre estas creando subgrupos en bases morfológicas y de esta manera dar un tratamiento adecuado. Los estudios de sangre periférica y de médula ósea presentadas por Romanowsky llamaron la atención de hematólogos de los países de Francia, Estados Unidos e Inglaterra (grupo FAB), quienes examinaron las laminillas de los pacientes con estas alteraciones hematológicas en forma independiente, para que posteriormente se reunieran para establecer los puntos de concordancia y dar las bases para proponer una clasificación, la cual se dió en 1974. Este grupo de Franceses, Americanos y Británicos (grupo FAB) acordó en 1975 un criterio similar y definió los límites morfológicos de los dos grupos reconocidos prestando mayor atención al tipo celular predominante (3).

Se crearon dos grupos principales dentro de la categoría de las leucemias agudas, dividiéndolas en linfoblásticas a aquellas cuyo aspecto morfológico tenían apariencia de células de estirpe linfoide y de leucemias mieloblásticas a un grupo de padecimientos derivados de alteraciones hematológicas de la serie mieloide.

### III.- ETIOLOGIA

La etiología de la leucemia aguda en la especie humana permanece aún desconocida, sin embargo existen diversos factores que pueden favorecer su aparición, siendo los más aceptados:

A) FISICOS.- Se ha demostrado tanto en animales de experimentación como en humanos, que la radiación ionizante es uno de los factores externos más claramente leucemogénicos tanto en leucemias linfoblásticas como en leucemias mieloblásticas, principalmente en estas últimas las cuales parecen depender de curva de dosis-respuesta. Una evidencia clara lo demuestran aquellos sobrevivientes japoneses expuestos a la bomba atómica lanzada en 1945 y que afectó las ciudades de Hiroshima y Nagashaky (73), y en este grupo poblacional se observó hasta 20 veces más en la incidencia de leucemias mieloblásticas y leucemias granulocíticas crónicas y que dependieron de la distancia de exposición desde el hipocentro de la explosión. Igualmente se ha observado en este grupo de pacientes expuestos a radiaciones ionizantes que aquellos pacientes que reciben irradiaciones con fines terapéuticos, como enfermedades por espongilitis anquilosante, linfomas de Hodgkin y no Hodgkin y cuyo pico de incidencia de leucemia ocurre de 5 a 7 años después de su exposición (17), (58).

También se ha demostrado que esta incidencia se ve incrementada en poblaciones cuyos habitantes trabajan en industrias nucleares, militares presentes en las pruebas nucleares, así como las personas que viven alrededor o cerca de donde se efectúan este tipo de pruebas. (11).

En un estudio controlado de niños con neoplasias malignas en Inglaterra se ha logrado relacionar aquellos niños que estuvieron expuestos "in utero" a radiaciones ionizantes para diagnóstico médico y que presentaron un riesgo mayor de padecer este desorden hematológico que aquel grupo control no expuesto (5).

B) QUIMICOS.- La exposición crónica a una variedad de sustancias cada día más conocidas han sido asociadas a un incremento de leucemias principalmente de tipo mieloblástico. Observaciones realizadas por Boice y colaboradores evaluando el riesgo de leucemias mieloblásticas, síndromes mielodisplásicos y preleucemias en pacientes previamente tratados con Semustine (Metil-CCNU) como terapia adyuvante en pacientes con cáncer gastrointestinal y con un promedio de adquirir el desorden leucémico en un período de 6 años después del tratamiento quimioterápico fué del 4%, observándose un rango de incidencia de 2 casos por 1000 personas y haciendo la observación que el riesgo de desorden leucémico no diferió con el se

xo, raza, edad ó tipo de tumor inicial. Esto provee una incidencia de que las nitro-ureas estan siendo leucemogénicas en humanos, mismas que han sido observadas en agentes alquilantes contra el cáncer, tales como el Melfalan, y el Cloromicil en donde la incidencia va del 1 al 17% en leucemias mieloblásticas 5 años posteriores a la iniciación del tratamiento (8). Así mismo algunas drogas que causan anemia aplásica tales como el Cloranfenicol, la Fenilbutazona, el Fenobarbital, las Anfetaminas y el Metronidazol, que se sabe alteran la estabilidad cromosómica son agentes alquilantes asociados con el incremento de las leucemias principalmente del tipo no linfoblástico (60).

C) GENETICOS.- Se ha observado que algunos pacientes que cursan con síndromes por alteraciones citogénéticas autosómicas y ligadas al sexo como es el caso para niños con Síndrome de Down (82) en el que la alteración a nivel del cromosoma 21 permite el desarrollo de leucemias linfoblásticas y mieloblásticas, evidenciado por el hecho de la translocación de una porción genómica del cromosoma 21 a otros cromosomas como el 9, 2, 6, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 19 y 21 como es el caso para el cromosoma Filadelfia (Ph') que determina a la leucemia granulocítica crónica (15), (82).

Algunas anormalidades congénitas que tienen en

común una tendencia hereditaria para la fragilidad cromosómica o bien una asociación con patrones cromosómicos inestables (estados aneuploides) tales como la Agranulocitosis congénita el Síndrome de Ellis-van Creveld, la enfermedad Celiac, Síndrome de Bloom, Síndrome de Wiskott-Aldrich, Anemia de Fanconi, Síndrome de Klinefelter, Neurofibromatosis de Von-Recklinghausen, han sido asociados con leucemia mieloblástica (23).

Los individuos con características genéticas susceptibles a la enfermedad han sido clasificados en tres grandes grupos:

GRUPO 1.- En este grupo se encuentran los individuos con características genéticas de mayor riesgo para contraer cáncer, siendo este riesgo de 100 veces ó más sobre la población general. Además poseen las características recesivas del Xenoderma pigmentoso y la Ataxia telangiectasia, así como las características dominantes de la Poliposis coli familiar, la neurofibromatosis y el retinoblastoma.

GRUPO 2.- La predisposición genética se incrementa entre el 10 y 100 veces sobre la población general, conteniendo además este grupo una proporción substancial de todos los tipos de cáncer.

GRUPO 3.- El riesgo genético existente en estos individuos es menos de 10 veces sobre la población general, por lo que su detección es más difícil (43), (59).

Estas características genéticas son también utilizadas para detectar el incremento de cáncer en colon, estómago, pulmón, así como de otras formas comunes de cáncer (21)

Así mismo se ha observado que el gemelo idéntico de pacientes con leucemia aguda y pacientes con anormalidades cromosómicas congénitas, tales como el Síndrome de Down, Anemia de Fanconi y Síndrome de Bloom, que vienen a ser defectos hereditarios en la reparación de DNA tienen un riesgo más alto de desarrollar leucemia (2).

D) VIRALES.- El descubrimiento de los retrovirus como agentes etiológicos de las leucemias en pollos fué realizado por P. E. Rous en 1910. La presentación de tumores inducidos por virus en pollos fué considerada como una curiosidad biológica. Más tarde Gross detectó que las leucemias en ratones eran causadas por virus. Se ha encontrado que los virus RNA inducen leucemia en varias especies animales (pollos, ratones, ovejas, gatos y primates) estos virus son potencialmente infecciosos capaces de replicarse y formar una copia de DNA (provirus) de la secuencia de su RNA por medio de su enzi

ma endógena DNA-polimerasa-RNA-dependiente (transcriptasa inversa) (65).

Los genomas formados por DNA se hallan integrados en forma de provirus y son transcritos después de un tratamiento inductor para producir RNA vírico. A partir de este provirus integrado se forman varias clases de RNA, algunos de los cuales sirven para la síntesis de proteínas virales y los otros constituyen los RNA genómicos que se multiplican directamente, asegurando la amplificación del mensaje genético - (48).

Por otra parte Temin (37) ha sugerido la posibilidad de que las células contengan "Protovirus", es decir verdaderos segmentos del genoma celular que entre otras funciones codifican la síntesis de una enzima la transcriptasa inversa. Por lo tanto los protovirus debían haberse formado de los "elementos genéticos móviles" de las células capaces de producir mutaciones en el genoma, comprobándose años más tarde que estos "elementos genéticos móviles" y los retrovirus pertenecen a la misma familia. Estos "Elementos genéticos móviles" fueron llamados elementos de transposición, demostrándose así que los genomas celulares contienen estos elementos. De ahí surgió la pregunta: ¿Cómo se sitúan los retrovirus entre estos elementos de transposición?

La introducción de los métodos de ingeniería genética permitió la observación sobre la organización de estos elementos de transposición, cuyos genes están constituidos por el encadenamiento de nucleótidos (ácido deoxiadénico (A) ácido deoxicitidílico (C), ácido deoxiguanílico (G), y ácido deoxitimidílico (T) reemplazado por el ácido uridílico en los RNA), su secuencia puede ser de varios tipos y de longitud variable que van desde algunos a varios centenares de nucleótidos que se encuentran repetidos en varios puntos del genoma.

Los elementos móviles están bloqueados en cada extremo por una secuencia inversa repetida y que puede integrarse en varios puntos del genoma, todos los provirus de los retrovirus poseen estas repeticiones en sus extremos llamados LTR (cuya secuencia contiene una inversión repetida que constituye la repetición inversa del elemento móvil (65)).

Al introducirse un elemento móvil con dos LTR en el genoma perturba su organización e inactiva su funcionamiento, este elemento con sus dos LTR se inserta cerca de un gen, y como los LTR poseen señales que permiten una gran expresión de los genes que están bajo su control, el gen celular que pasa bajo su control se expresará mucho más, como se muestra en la Fig. N° 1.

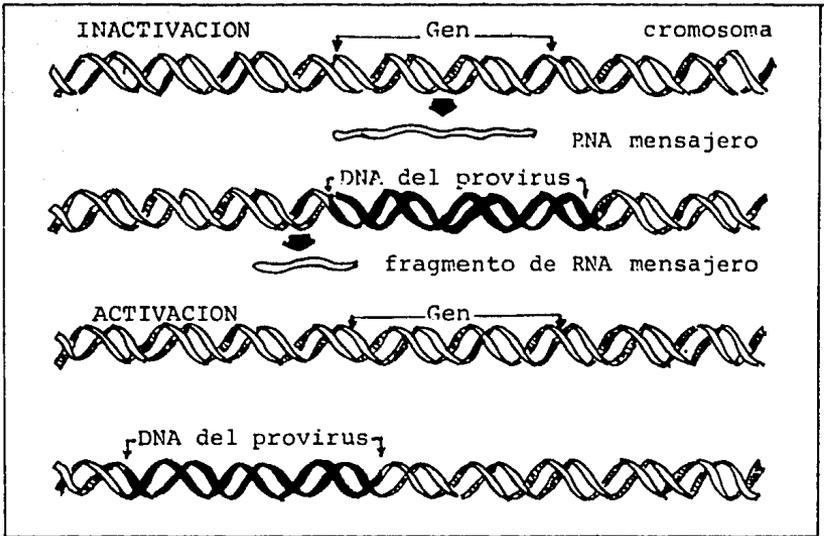


Fig. N° 1.- Inserción del provirus al  
genoma celular (37)

Estas activaciones anormales pueden ser origen de algunos desarrollos tumorales (42), (57).

Todos los elementos genéticos móviles han sido definidos por su capacidad de modificar la expresión del genoma de su huésped (37).

Recientes estudios establecen una relación etiológica entre un retrovirus tipo-C denominado - HTLV - (virus de leucemia de células T humana), obtenido por primera vez de un cultivo de linfocitos de un paciente con un linfoma cu

táneo de células T por Poiesz y colaboradores en 1980 (61). Posteriormente en Japón Hinuma y colaboradores aislaron este mismo virus de sueros de pacientes con leucemia de células T (36) lo que demuestra que el HTLV y el virus de las leucemias de células T en adultos son el mismo (77).

Se han identificado tres tipos de virus que son: HTLV-I, HTLV-II asociados con neoplasias malignas de estirpe linfoide como las leucemias de células T del adulto, endémico en Japón y el HTLV-III que se ha relacionado con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) y el sarcoma de Kaposi (41).

Estos virus tienen en común las siguientes características:

- 1.- Tienen una única línea genómica de RNA dentro de una envoltura glicoproteica específica del virus y existen receptores de superficie celular específicos para las glicoproteínas virales de algunas células.

- 2.- Algunos son virus competentes y son capaces de reflejarse dentro de células permisivas y simultáneamente transformadas.

3.- El genoma viral esta colocado centralmente en la mayoria de los retrovirus tipo-C.

4.- Todos tienen una transcriptasa inversa codificada para el genoma viral, el cual media la síntesis de una copia complementaria de DNA usando el RNA viral como un template el DNA puede entonces ser integrado dentro del genoma de la célula huésped como un "provirus".

5.- Que aquellos acarreen un gene transformante específico "oncogene" o estan asociados con un proto-oncogene crítico a su capacidad transformante.

En la Tabla N<sup>o</sup> 1 se enlistan algunos de los oncogenes hasta ahora descubiertos.

Dentro de los virus oncogénicos de DNA los que se asocian con neoplasias de estirpe linfoide estan los virus de Epstein-Barr del grupo de los herpesvirus como es el caso del linfoma de Burkitt (70), linfoepitelioma de nasofaringe, enfermedad de Hodgkin y la granulomatosis linfomatoide (25), (49), (75).

TABLA N° 1

ONCOGENE	ORIGEN VIRAL	ACTIVIDAD	LOCALIZACION SUBCELULAR
sis	Simian sarcoma virus	Agonista de FCDP*	Citoplasma
src	Virus del sarcoma de Rous	Tirosina Cinasa	Membrana plasmática
yes	Virus de sarcoma aviario Y73	Tirosina Cinasa	
fps	Virus de sarcoma de Fujinami	Tirosina Cinasa	Citoplasma Membrana plasmática
fes	Virus del sarcoma felino de Snyder Theilen	Tirosina Cinasa	
ros	Virus del sarcoma aviario UR2	Tirosina Cinasa	
abl	Virus de leucemia murina de Abelson	Tirosina Cinasa	Membrana plasmática
fgr	Virus de sarcoma felino Gardner - Rasheed	Tirosina Cinasa	
erbB	Virus de eritroblastosis aviario		Membrana plasmática
mos	Virus de sarcoma murino de Moloney		Citoplasma
myc	Virus de mielocitomatosis aviario MC29	DNA de unión	Núcleo
H-ras	Virus de sarcoma murino de Havey	Treonina Cinasa GDP ó GTP de unión	Membrana plasmática
K-ras	Virus de sarcoma murino de Kirsten		
N-ras			

FCDP\* = Factor de crecimiento de plaquetas (14)

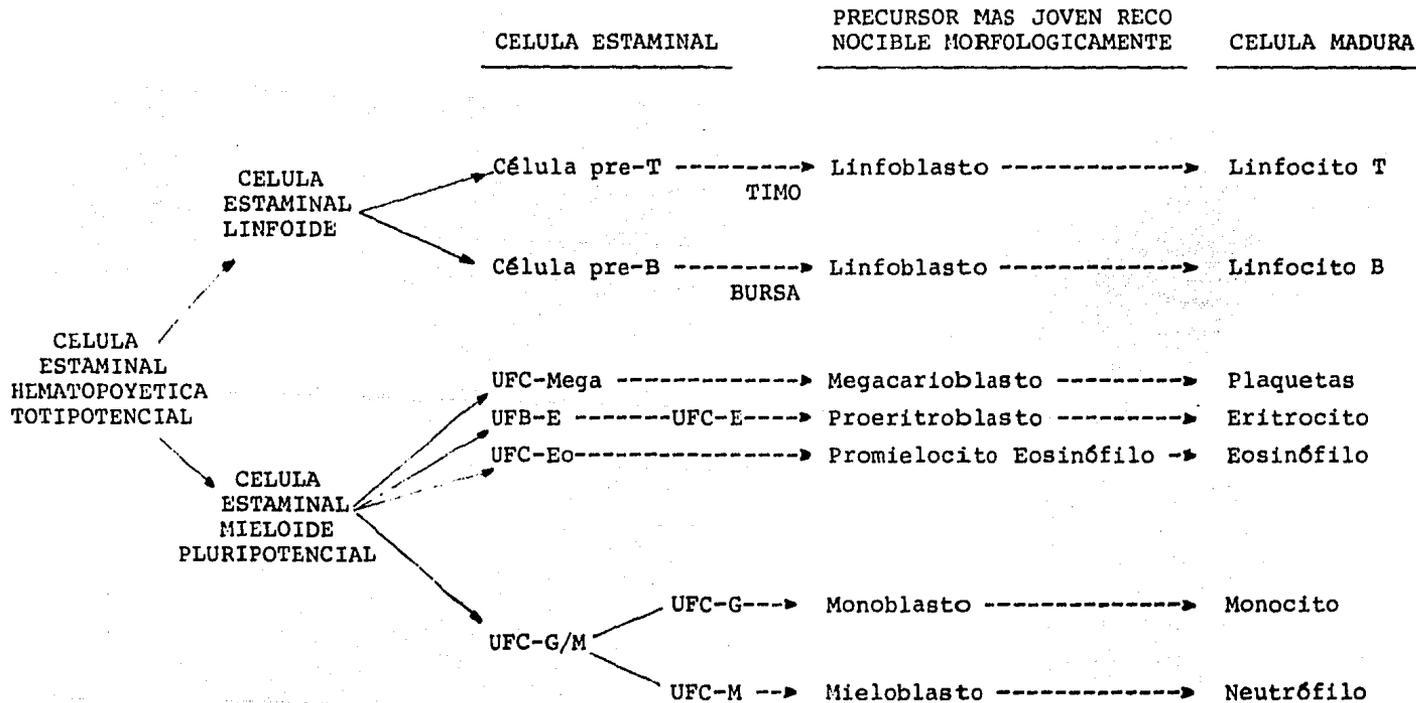
#### IV.- ETIOPATOGENIA

El origen de las leucemias permanece como un misterio. No hay factores etiológicos ó patogénicos aplicables a todas las formas de leucemia. La edición compleja relacionada a leucemogénesis incluye:

- 1.- La célula de origen en varias leucemias
- 2.- La naturaleza del defecto proliferativo en las células transformadas.
- 3.- Cambios en el genoma responsable para la iniciación de un fenotipo leucémico.
- 4.- Factores etiológicos responsables para la iniciación de las alteraciones genómicas.

Todas las leucemias tienen su origen en proliferaciones monoclonales neoplásicas de células "Estaminales" hematopoyéticas, como se ilustra en la Fig. N<sup>o</sup> 2

La evidencia de que éstas sean monoclonales se debe a los estudios de marcadores cromosómicos tales como el cromosoma Filadelfia (Ph') y del análisis de las isoenzimas



UFC = Unidad Formadora de Colonias

UFB = Unidad Formadora en la Bursa

E = Eritroide

Eo = Eosinófilo

G/M = Granulocito-Macrófago

Mega = Megacariocito

Ref. (80)

glucosa-6-Fosfato-deshidrogenasa. En pacientes con una forma común de leucemia linfoblástica aguda las células leucémicas no muestran marcadores de superficie de células T ó de células B pero ellas contienen un enzima desoxinucleotidil-terminal-transferasa (TdT), la cual se supone sea un marcador de células linfoides primitivas. Los estudios de Inmunoglobulinas (Ig) en células leucémicas sugieren que muchos casos son derivados genéticamente de la diferenciación de las células B y así podrían en muchos de los casos desde células B muy primitivas que no han adquirido la Ig de superficie ó intracitoplásmica. De otra manera marcadores de superficie de células T intratímicos sugieren el origen en la vía de diferenciación de células T, y estos también exhiben la enzima (TdT) la cual puede ser útil para diferenciar este tipo de leucemia. En el caso de las leucemias mielógenas agudas son también de diversos orígenes, en algunos casos la transformación leucémica ocurre a nivel de células "Estaminales" mieloides pluripotenciales, mientras que en otras las células tronco de la línea granulocito-macrófago estan involucradas.

La transformación de células "Estaminales" mieloides es responsable para la presencia de anomalías citogenéticas en los precursores mieloides como en los eritroides. En la leucemia mieloides crónica la afección de plaquetas como de los precursores eritroides y células granulocíticas puntu

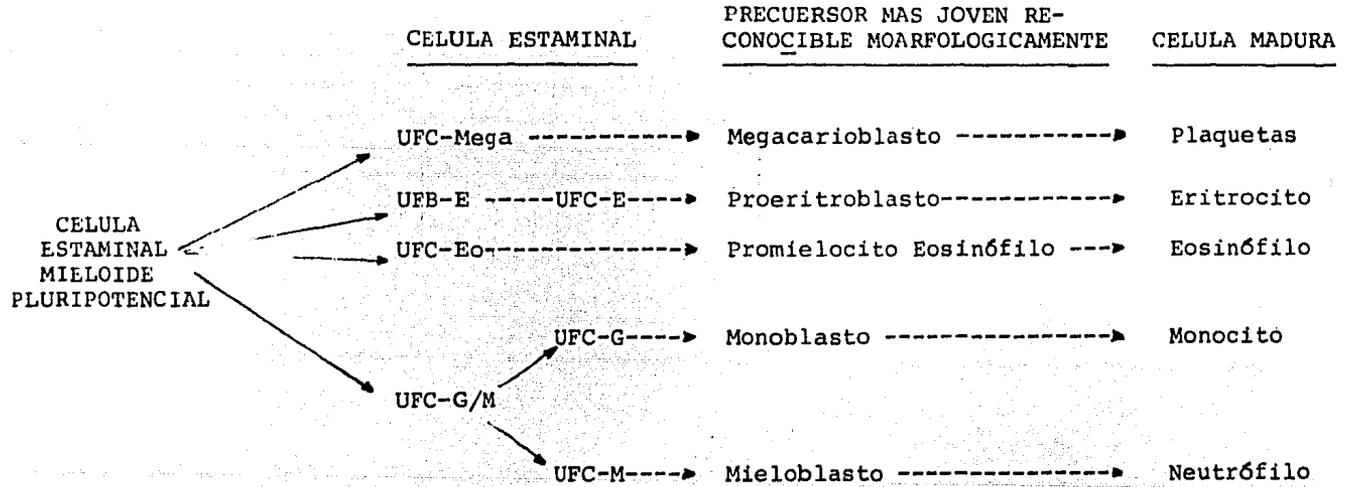
lizan un origen desde las células "Estaminales" pluripotenciales, como se muestra en la Fig. N° 3.

En el caso de las leucemias linfocíticas crónicas en el que todas las células neoplásicas linfoides muestran marcadores de linaje B hacen pensar en un origen monoclonal. La mayoría de las leucemias agudas están caracterizadas por una pobreza de leucocitos maduros y un exceso de precursores inmaduros y esto puede resultar de: Defectos en la maduración con una gran población de células inmaduras capaces de replicarse por sí mismas, con una vida prolongada, con un tiempo de generación acortada y único evento en el rango de producción celular. Así en la leucemia aguda hay un acumulo en las células leucémicas, resultado de una falla en la maduración y función de las células terminales más que una hiperproliferación de células madre neoplásicas (64).

#### V.- EPIDEMIOLOGIA

La leucemia es una forma común de neoplasia. En 1983 un estudio en Estados Unidos mostró ser la sexta causa de muerte. Es particularmente devastadora para niños menores de 15 años de edad, en quienes es la causa predominante de muerte, en el caso de las leucemias linfoblásticas agudas es el tipo más frecuente en la niñez y su pico de incidencia o-

Fig. N° 3



UFC = Unidad Formadora de Colonias  
 UFB = Unidad Formadora en la Bursa  
 E = Eritroide  
 Eo = Eosinófilo  
 G/M = Granulocito-Macrófago  
 Mega = Megacariocito

Ref. (80)

curre alrededor de los 4 años de edad. La leucemia mielóide aguda predomina entre los 40 y 59 años de edad, la leucemia linfocítica crónica por arriba de los 60 años de edad. Los varones son más frecuentemente afectados que las mujeres en todos los tipos de leucemia (16), (79). Los patrones étnicos y raciales de la incidencia de las leucemias muestran un constante incremento sobre todo en los individuos de raza blanca, sobre la raza negra y judíos, siendo menos frecuente entre hispanos e indios americanos (79).

Más del 60% de las leucemias son de la serie mieloide y el resto son del tipo de la leucemia linfoblástica, aproximadamente el 40% de los casos son crónicas, 2/3 para la leucemia linfocítica crónica y 1/3 para la leucemia mielocítica crónica. Existen algunas diferencias observadas principalmente en ciertos lugares como el Japón, en los sobrevivientes a la bomba atómica.

En la experiencia del material de autopsias del Instituto Nacional de Cancerología la neoplasia que ocupó el primer lugar como causante de muerte, fueron los trastornos linfohematopoyéticos (Leucemias y Linfomas) -Artículo en Prensa, Revista Patológica de México-.

## VI.- CLASIFICACION HISTOPATOLOGICA

Las leucemias agudas se han subclasificado como linfoblásticas y no linfoblásticas de acuerdo a la morfología de la médula ósea y sangre periférica. En el año de 1976 el grupo FAB (Franco-Americano-Británico) (3) basó la clasificación de estos aspectos morfológicos dividiendo a la leucemia linfoblástica en tres categorías:

Leucemia Linfoblástica (L<sub>1</sub>)

Leucemia Linfoblástica (L<sub>2</sub>)

Leucemia Linfoblástica (L<sub>3</sub>)

y a las leucemias de la serie mieloide se les ha dividido en:

Leucemia Mieloblástica sin maduración (M<sub>1</sub>)

Leucemia Mieloblástica con maduración (M<sub>2</sub>)

Leucemia Promielocítica ó Hipergranular (M<sub>3</sub>)

Leucemia Mielomonocítica (M<sub>4</sub>)

Leucemia Monohistiocítica (M<sub>5</sub>) y

La Eritroleucemia ó Leucemia de DiGuglielmo (M<sub>6</sub>)

existen escasos reportes de algunas leucemias derivadas de los metacarioblastos que para algunos autores han sido considerados como (M<sub>7</sub>) dentro del grupo de la FAB.

La distinción entre estas principales diferencias morfológicas principalmente entre las linfoblásticas y mieloblásticas es importante por 2 razones:

- 1.- La respuesta a la terapia y pronóstico es generalmente mejor en la leucemia linfoblástica aguda y
- 2.- Generalmente los tratamientos son diferentes en cada una de estas enfermedades.

La distinción entre los subgrupos de la serie mieoide es más difícil pero es posible llegar a una mayor precisión diagnóstica con las técnicas de tinción citoquímica e inmunocitoquímica (ver Tabla N<sup>o</sup> 2, pág. N<sup>o</sup> 35).

La identificación de estos nuevos subgrupos en las leucemias mieloblásticas ha incrementado en forma importante el interés debido al uso de nuevas drogas aplicadas en las diferentes variedades histológicas.

Como se sabe la leucemia linfoblástica es más común en la niñez y se observa que guarda diferentes formas de presentación en los tres subgrupos nominados por lo que a continuación se describen las características en particular de cada una de las variedades mencionadas, tomando en cuenta: el tamaño, la homogeneidad, el número de núcleolos,

la cantidad de citoplasma y el grado de vacuolización que presenta el blasto ó célula inmadura de acuerdo a la clasificación del grupo Franco-Americano-Británico (FAB).

Leucemia Linfoblástica ( $L_1$ ).- Predominio de células pequeñas y homogéneas, la cromatina es de aspecto homogéneo y finamente dispersa, núcleo de forma regular con nucleolos pequeños visibles o poco evidentes, el citoplasma generalmente es escaso.

Leucemia Linfoblástica ( $L_2$ ).- Las células miden el doble del tamaño normal y son heterogéneas entre sí, la cromatina varía de finamente dispersa a fina con escasos acumulos, el núcleo es indentado y plegado de aspecto cerebriforme con nucleolos visibles de gran tamaño y con frecuencia abundantes, la cantidad de citoplasma así como su basofilia es variable.

Leucemia Linfoblástica ( $L_3$ ).- Células de gran tamaño, con cromatina densa y uniformemente distribuida, núcleo oval o redondo, con nucleolos muy prominentes, en la mayoría de las células presentan vacuolización citoplásmica.

En el caso de las leucemias no linfoblásticas ó mieloblásticas, las células blásticas están presentes tanto

en médula ósea, como en sangre periférica, usualmente son más grandes que los linfoblastos y la variación en su tamaño y forma entre estas es mucho mayor, reconociendo que la mayoría de estas tienen gran cantidad de citoplasma con granulación en el mismo, generalmente evidente. La presencia de los cuerpos de Auer es observable en los pacientes con leucemia mieloblástica, el núcleo celular es relativamente grande y regular con un patrón de la cromatina fina y usualmente con la presencia de múltiples nucleolos. A continuación se detallan cada una de las características observadas en las diferentes variedades de leucemia mieloblástica:

Leucemia Aguda Mieloblástica sin maduración ( $M_1$ ).

Dentro de la serie granulocítica, las células más inmaduras que se pueden identificar como pertenecientes a este grupo son los mieloblastos, son de tamaño heterogéneo, tienen de 2 a 5 nucleolos, su núcleo es redondo relativamente grande y sólo una escasa cantidad de citoplasma poco basófilo, sin gránulos azurófilos y con cuerpo de Auer que pueden estar presentes o no, la cromatina aparece finamente dispersa y muestra poca condensación.

Leucemia Aguda Mieloblástica con maduración hasta promielocito ( $M_2$ ). - La característica que distingue a la  $M_2$  de la  $M_1$  es la maduración que va más allá del estado de promielocito, se observa que del 50% de las células de la médula

Ósea son mieloblastos y promielocitos, estas células leucémicas están frecuentemente nucleadas pueden variar la cantidad de citoplasma, usualmente con grandes cantidades de gránulos azurófilos, las células en este caso tienen cuerpos de Auer.

Leucemia Aguda Promielocítica ( $M_3$ ).— Se caracteriza por que la gran mayoría de las células presentes son promielocitos anormales, se pueden describir de la siguiente manera: células de tamaño variable el núcleo varía en forma y tamaño presentándose como reniforme o bilobulado, el citoplasma está ocupado por grandes cantidades de gránulos coalescentes que se tiñen de rojo brillante o púrpura, pueden contener cuerpos de Auer en ocasiones muy numerosos.

Leucemia Aguda Mielomonocítica ( $M_4$ ).— Se presentan proporciones variables de elementos tanto granulocíticos como monocíticos, así como células inmaduras con características nucleares de monoblasto como son: núcleo arrionado y cromatina plegada y características citoplasmática de granulocito.

Leucemia Aguda Monocítica ( $M_5$ ).— La leucemia monoblástica pura 6 de tipo Schilling se define como una enfermedad aguda en la que se manifiesta una proliferación generalizada y progresiva de elementos reticuloendoteliales con pro

liferación y liberación de monocitos anormales, los cuales in filtran la sangre periférica, la médula ósea y otros tejidos.

El compotente principal de esta leucemia es el monoblasto que se describe como una célula que presenta cromatina fina, delicada y muy laxa, el núcleo presenta forma cerebriforme, tiene de 1 a 3 núcleolos grandes, el citoplasma es voluminoso con prolongaciones, presenta de 1 a 2 pseudópodos que pueden dar la apariencia de doble membrana. Pueden encontrarse en sangre periférica, hay predominio de promonocitos y monocitos mientras que en la médula ósea el predominio es de promonocito.

Eritroleucemia ó Leucemia de DiGuglielmo ( $M_6$ ).-

El componente eritropoyético excede del 30% de las células nucleadas de la médula ósea. Los eritroblastos varían en cantidad presentándose formas atípicas con lobulación múltiple del núcleo, variación en el tamaño de los lóbulos, núcleolos múltiples, presencia de uno o más fragmentos nucleares formas gigantes y características megaloblásticas.

Leucemia Megacarioblástica (como se mencionó con anterioridad, para algunos autores se considera como  $M_7$  pero aún no esta totalmente aceptada por el grupo FAB).- Su componente principal es el megacarioblasto, variando en su tamaño,

el citoplasma presenta gránulos de color azul pálido, tanto el núcleo como el radio citoplásmico son característicamente grandes y la cromatina es ligeramente fina.

#### VII.- LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA

La mayoría de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda son jóvenes en la 3a. ó 4a. década de vida, a diferencia de la leucemia mieloblástica aguda, la cual generalmente se presenta en la vida adulta. Los síntomas cuando se presenta están relacionados a depresión de la función de la médula ósea que incluye:

1.- Fatiga, astenia, adinámica, somnolencia, cefalea, etc., debido principalmente a anemia, la que se presenta por algunas semanas o más y esta presente en el momento del diagnóstico.

2.- Fiebre que usualmente refleja una infección ó la actividad metabólica aumentada, aunque este dato no siempre se encuentra en el momento del diagnóstico.

3.- Sangrado secundario o trombocitopenia, petequias, epistaxis, equimosis y sangrado gingival. El examen físico revela linfadenopatía generalizada mínima ó moderada.

específicamente de la región cervical, con esplenomegalia mínima o moderada y hepatomegalia como resultado de infiltración de células leucémicas que son características de las leucemias linfoblásticas agudas, pero generalmente no son prominentes en la leucemia mieloblástica aguda. La afección con expansión medular y reabsorción del hueso que da como resultado dolor óseo.

La biopsia de la médula ósea es hipercelular en prácticamente todos los pacientes y un extendido del aspirado medular revela disminución en el número de leucocitos y precursores granulocíticos y megacariocíticos. Las células normales presentes generalmente son de aspecto normal y presentan morfología normal.

El ácido úrico sérico se encuentra elevado en casi todos los pacientes y el grado de elevación es estrechamente paralelo al grado de infiltración medular con linfoblastos

Los pacientes con leucemia linfoblástica raramente presentan estabilidad en la enfermedad, y es importante iniciar la terapia una vez hecho el diagnóstico lo más pronto posible, para prevenir complicaciones como serían la infección y la hemorragia (64).

Como se ha mencionado anteriormente, las manifestaciones clínicas de la leucemia aguda están dadas por la infiltración de las células tumorales en el organismo y siendo básicamente un síndrome mieloproliferativo, es lógico suponer que las mayores manifestaciones hematológicas serán dadas por falla de la médula ósea.

VIII.- ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LAS LEUCEMIAS AGUDAS  
LINFOBLASTICAS Y NO LINFOBLASTICAS EN RELACION  
A LA CITOLOGIA HEMATICA

(Estudio realizado-en el C.M.N. del I.M.S.S.)

El cuadro # 1 muestra las alteraciones más importantes en la citología hemática en los pacientes diagnosticados con leucemia aguda (estudio comparativo de éstos resultados (74) con los datos obtenidos de Wintrobe (80)).

Como puede apreciarse el presente informe no menciona el grado ni el número de pacientes con anemia.

En relación al número de leucocitos se observa que es casi idéntico en relación al tipo de leucemia aguda no linfoblástica, sin embargo, existe una pequeña diferencia cuando se analiza en el grupo pacientes con leucemia aguda linfoblástica, ya que en el grupo estudiado existieron más

ALTERACIONES MAS IMPORTANTES EN LA BIOMETRIA HEMATICA EN PACIENTES

CON DIAGNOSTICO DE LEUCEMIA AGUDA 74 ESTUDIO COMPARATIVO CON INFORMACION BIBLIOGRAFICA 80

H A L L A Z G O	LEUCEMIA AGUDA LINFOBLASTICA		LEUCEMIA AGUDA NO LINFOBLASTICA	
	Wintrobe (178 pacientes)	C.M.N. (61 pacientes)	Wintrobe (144 pacientes)	C.M.N. (73 pacientes)
ANEMIA	*	98%	*	94%
LEUCOCITOS				
Menos de 5,000 x mm <sup>3</sup>	25	36	29	27
5,000 a 9,900 x mm <sup>3</sup>	15	18	15	13
Más de 10,000 x mm <sup>3</sup>	60	46	56	60
NEUTROFILOS TOTALES				
Menos de 1,000 x mm <sup>3</sup>	73	87	49	90
1,000 a 2,000 x mm <sup>3</sup>	9	13	16	9
Más de 2,000 x mm <sup>3</sup>	18	0	35	1
RETICULOCITOS (más de 3.0%)	6	0	16	3
PLAQUETAS				
Menos de 50,000 x mm <sup>3</sup>	62	52	39	77
50,000 a 150,000 x mm <sup>3</sup>	30	36	44	21
Más de 150,000 x mm <sup>3</sup>	8	12	17	2

\* Dato no mencionado

con leucopenia (36%) que en el del mencionado autor, en el que la hubo en el 25%, por lo tanto, la relación de leucocitosis es también inversa, pues en el estudio sólo existió un 46%, y en el de Wintrobe fué del 60%.

Sin embargo, no se menciona si dichas alteraciones tuvieron alguna significancia clínica, ya que el número de leucocitos elevados se ha mencionado como signo de mal pronóstico, pero sólo en leucemia aguda linfoblástica del niño ( 12 ).

En relación a la cuenta de neutrófilos se observa que no existió diferencia alguna en la leucemia aguda linfoblástica en cambio, en la leucemia aguda no linfoblástica sí se observó una gran diferencia en el grupo en el grupo de pacientes con neutropenia severa fué del 90% en el grupo estudiado, y ésto se observó en el 49% de los pacientes de Wintrobe, por lo tanto los casos de neutrófilos normales que se obtuvieron en este estudio fué del 1% de los pacientes, en el del mencionado autor fué del 35% , pero aquí tampoco se hace mención si dicho hallazgo tiene importancia clínica en relación a pronóstico; sin embargo, un estudio reciente de Boyd y colaboradores (9) demostró que aquellos pacientes que en el momento de diagnóstico de leucemia aguda cursan con infección la oportunidad de obtener la remisión es muy baja, como se

observó en el grupo estudiado.

Otra diferencia importante se observa en el recuento de plaquetas, encontrando que en la leucemia aguda linfoblástica no se observó diferencia entre ambos grupos, en cambio en la leucemia aguda no linfoblástica si se observa una gran diferencia, encontrándose en el grupo estudiado una trombocitopenia severa (menos de 50,000 plaquetas x  $\text{mm}^3$ ), en el 77% y en el Wintrobe existió sólo en el 39%, además el recuento de plaquetas normales fué del 17% (Wintrobe), en cambio en el grupo fué sólo el 2%.

Esta diferencia si bien no parecen guardar ninguna discrepancia en relación a pronóstico, no tiene por lo menos una explicación lógica, porque no parece tratarse de factores raciales diferentes, sino que posiblemente sólo reflejan lo avanzado con que se presentan los pacientes a recibir atención médica en nuestro medio, lo que contrasta con la rapidez a la que se presenta en países anglosajones.

#### IX.- METODOS DE DIAGNOSTICO

La leucemia aguda puede ser diagnosticada, en la mayoría de los casos por un frotis de sangre periférica. En muy pocos pacientes con leucemia mielomonoblástica aguda só-

lo unas cuantas células inmaduras aparecen en el frotis sanguíneo por lo que es necesario el examen del aspirado medular para establecer el diagnóstico. La médula también sería nuevamente examinada en un paciente diagnosticado con leucemia aguda, porque en muchos casos la propia subclasificación del diagnóstico se facilitaría y la celularidad puede ser establecida.

Lo más importante de la subclasificación de las leucemias agudas, es distinguir las leucemias linfoblásticas de las no linfoblásticas porque el tratamiento es diferente y existe también variación en el pronóstico. La distinción es realizada por la propia interpretación de las características morfológicas (establecidas por el grupo FAB y mencionadas anteriormente) y de las tinciones citoquímicas (ver TABLA # 2 de interpretación de las tinciones citoquímicas en las leucemias agudas). (23).

La determinación de la actividad de la enzima Desoxinucleotidil-terminal-transferasa (TdT) por técnicas bioquímicas ó inmunofluorescentes es de extrema ayuda, porque virtualmente es imposible hacer un diagnóstico de las leucemias linfocíticas agudas si la TdT no esta presente en las células leucémicas (78).

TINCIONES HISTOQUIMICAS EN LAS LEUCEMIAS AGUDAS

REACCION CITOQUIMICA	DISCRIMINACION	INTERPRETACION	LEUCEMIA MIELOCITICA AGUDA	LEUCEMIA MIELOMONOCITICA AGUDA	LEUCEMIA MONOCITICA AGUDA	LEUCEMIA LINFOCITICA AGUDA
PEROXIDASA Y NEGRO SUDAN	Linfoide vs no linfoide	Positivo = citoplasma granu- nular obscuro. Reacción = Procesos no linfoides (gr- nulocítico-monocítico)	Positivo	Positivo	Generalmente positivo	Negativo
ESTERASA ESPECIFICA (ESTERASA - CLOROCETATO)	Granulocito vs monocito	Positivo = citoplasma rosa Reacción = diferenciación granulocítica	Generalmente positivo	Generalmente positivo	Negativo	Negativo
ESTERASA NO ESPECIFICA (←Naftil-bu- tirato)	Granulocito vs monocito	Positivo = citoplasma café Reacción = diferenciación monocítica-histiocítica. Excepción = podría observar se reacciones débiles en me- gacariocitos, células plas- máticas, etc. También es po- sitivo en el grupo de linfo- citos T	Negativo	Por el criterio de la FAB el 30% de las células leucémicas posi- tivas	Positivo inhibido por fluoru- ro de so- dio	Negativo
PAS (con y sin deastasa)	En algunos ca- sos podría dis- criminarse lin- foide vs no linfoide; u- sualmente no de valor	Bloque positivo, deastasa digerible (glicogeno = pro- cesos linfoides) Otras reacciones: positiv- idad granular y productos de deastasa resistentes son no específicos.	Podría obser- varse positi- vidad	Podría observar se positividad granular	Frecuentemente se observa po- sitividad gra- nular	Idealmente se observa positivo en el grupo
FOSFATASA ACIDA	Podría ser de valor en la discriminación de células T de las células nulas de LLA	Grupo positivo = procesos de células T. Tartrato resistente, posi- tividad granular, encontra- do en las leucemias de cé- lulas pilosas	Frecuentemente positividad - granular	Frecuentemente positividad granular	Frecuentemente positividad granular fuer- te	Células T de LLA grupo po- sitivo. Otras LLA podrían mostrar posi- tividad granu- lar

X.- METODOS DE DIAGNOSTICO BASADOS EN  
ASPECTOS INMUNOLOGICOS  
Maduración y transformación de linfocitos

La aplicación de criterios morfológicos y citoquímicos al estudio de las leucemias agudas (LA) permitió separarlas en dos grandes grupos: Linfoblásticas y Mieloblásticas de pronóstico y tratamiento diferente. La introducción de los marcadores celulares hizo posible la subdivisión de las leucemias agudas y redujo considerablemente el número de leucemias indiferenciadas (40), (47), (68).

El logro técnico más sobresaliente en el campo de los marcadores ha sido sin duda la introducción de los anticuerpos monoclonales (AcMc) producidos por la técnica de hibridoma por Kohler y Milstein (53). Algunos de estos AcMc definen antígenos específicos de diferentes fases de diferenciación de las células hematopoyéticas normales lo cual ha permitido conocer los estadios de maduración normales. Su aplicación al estudio de las leucemias ha supuesto el reconocimiento de la estirpe celular de algunas de estas neoplasias, así como establecer subgrupos inmunológicos que reproducen estadios de maduración de la diferenciación celular normal (44).

A) .- DESARROLLO DE LOS LINFOCITOS Y SU DISTRIBUCION  
EN LOS TEJIDOS

En la médula ósea se origina una célula "Estaminal" pluripotencial ó basal que da lugar a la formación de las células "Estaminales" linfoides (Fig. N<sup>o</sup> 4) que dará origen a los linfocitos (31):

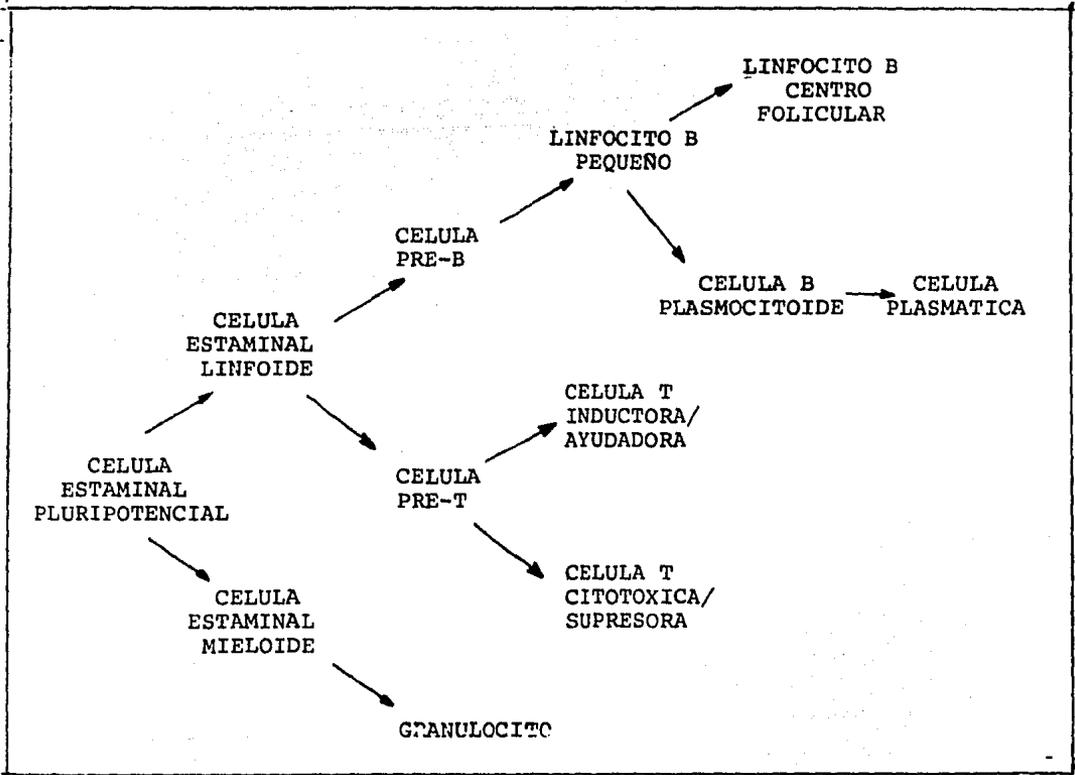


Fig. N<sup>o</sup> 4 DESARROLLO DEL LINFOCITO (1)

Los linfocitos son células relativamente pequeñas de 8 - 12 micras de diámetro, cuyas dos estirpes principales son: los linfocitos T y los linfocitos B, diferenciación adquirida a través de su paso por los órganos linfoides primarios y secundarios. Existen también linfocitos que no presentan características de las células T ni de las células B y son llamados linfocitos neutros, cuya función específica aún es desconocida (70).

Los linfocitos pre-T bajo la influencia de la timopoyetina migran hacia el timo (órgano linfoide primario), donde por medio de procesos de maduración sucesiva modifican sus receptores de membrana convirtiéndose en linfocitos T, capaces de transformarse en células con características blastoides ante el estímulo antigénico (Fig. N<sup>o</sup> 5).

Los linfocitos T son células efectoras en la inmunidad celular y regulan tanto (células T ayudadoras y células T supresoras) la inmunidad celular como la inmunidad humoral.

Después de abandonar el timo, los linfocitos T pasan a la circulación atravesando órganos linfoides secundarios (ganglios linfáticos, bazo) donde sufren su diferenciación terminal y por vía linfática o venosa regresan a la circulación (Fig. N<sup>o</sup> 6)

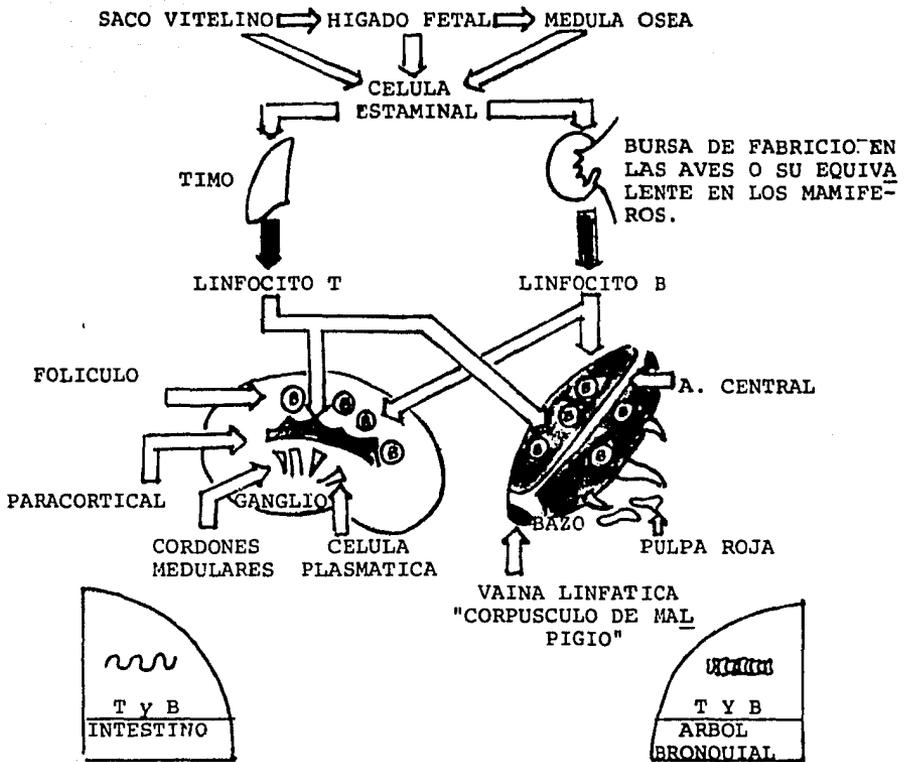


Fig. N° 5 RECORRIDO Y DISTRIBUCION DE LOS LINFOCITOS  
Dentro de los órganos linfoides primarios y secundarios (24)

Tanto los linfocitos B como los T tienen varios estadios madurativos con características diferentes en cada uno de ellos. Los linfocitos B y T no se diferencian por su aspecto morfológico. Los primeros se caracterizan por la presencia de inmunoglobulinas de superficie (SIg) y los segundos por la formación de rosetas espontáneas (no inmune) con hemáties de carnero.

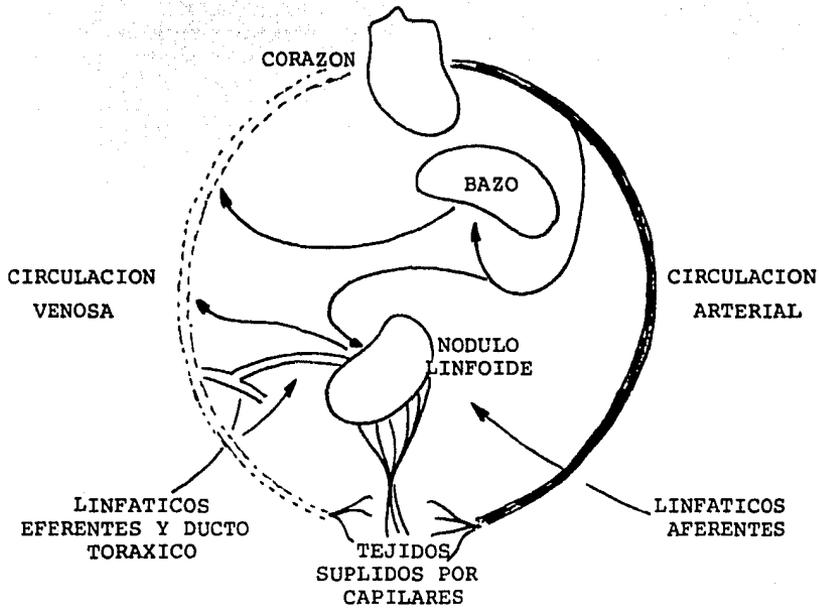


Fig. Nº 6 CIRCULACION DEL LINFOCITO (80)

Mientras que los linfocitos pre-B se dirigen a la Bursa de Fabricio ó su equivalente en los mamíferos (Fig. Nº 5) para convertirse en células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas (Ig), las cuales tienen sitios de combinación que reconocen la forma de los determinantes situados en la superficie de la sustancia extraña, ó antígeno y se unen a ellas (53), cuya síntesis es efectuada en el retículo endoplásmico celular. La maduración de las células B depende

de la existencia de un antígeno que desencadena su diferenciación, el contacto con éste antígeno permite que las células B se conviertan en células plasmáticas de anticuerpos y en células de memoria (Fig. N° 7)

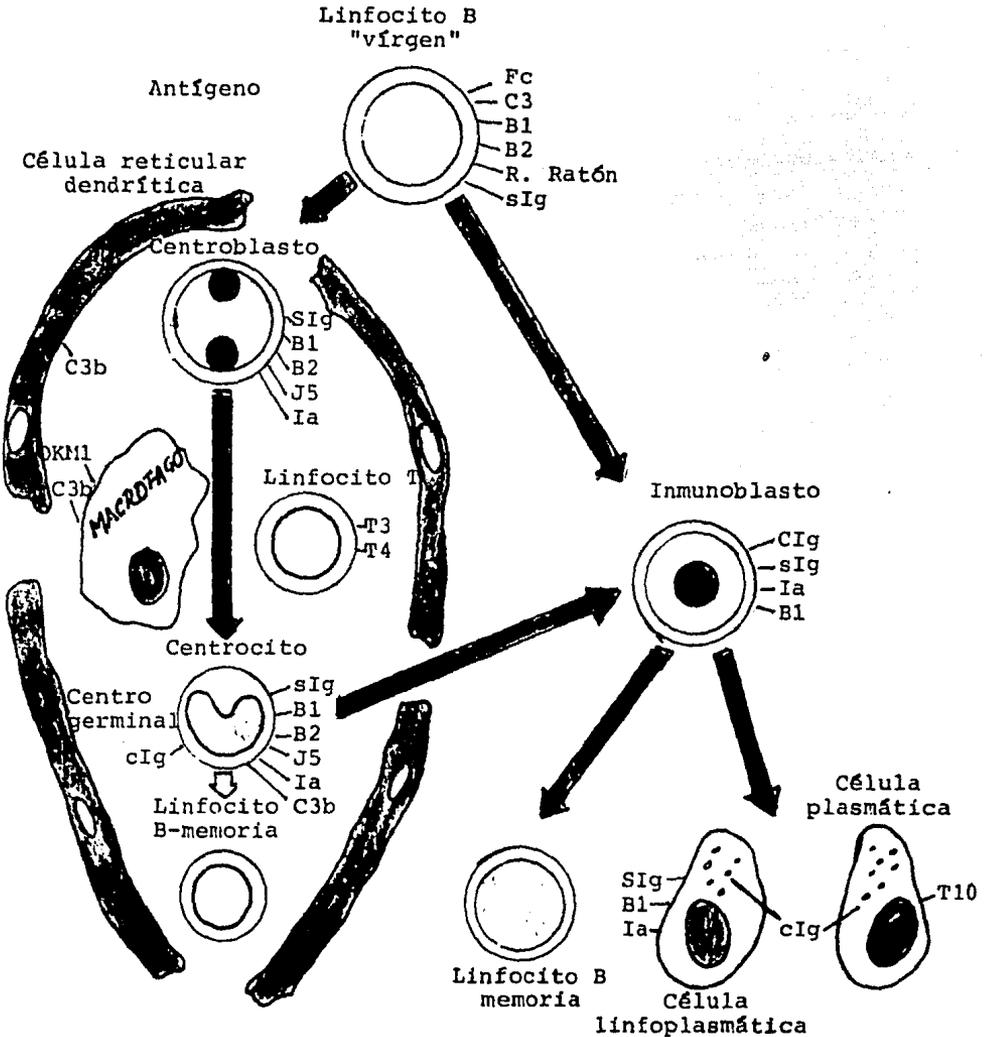


Fig. N° 7 DIFERENCIACION B ANTIGENO-DEPENDIENTE

En la figura anterior se puede observar que la acción del antígeno hará que el linfocito B siga dos posibles vías:

1).- Transformación en inmunoblasto, célula de gran tamaño, nucléolo central y cromatina laxa, diferenciación que acontece como fenómeno fundamental de la respuesta inmune primaria y,

2).- Formación de los centros germinales por dichos linfocitos estimulados en los órganos linfoides periféricos, hecho característico de la respuesta inmune secundaria. Las células de los centros germinales (centroblastos y centrocitos) se transformarán también en inmunoblastos. La mayoría de los inmunoblastos dará lugar a un espectro de células secretoras de inmunoglobulinas, desde la célula linfoplasmocitoide de tamaño pequeño hasta la célula plasmática convencional, otra parte se transformará en células de memoria.

Los linfocitos B predominan en los folículos y cordones medulares de los nódulos linfoides y en los folículos del bazo y constituyen una fracción menor (10-15%) de los linfocitos circulantes (Fig. N° 8) (1). En la periferia se distinguen dos tipos de linfocitos:

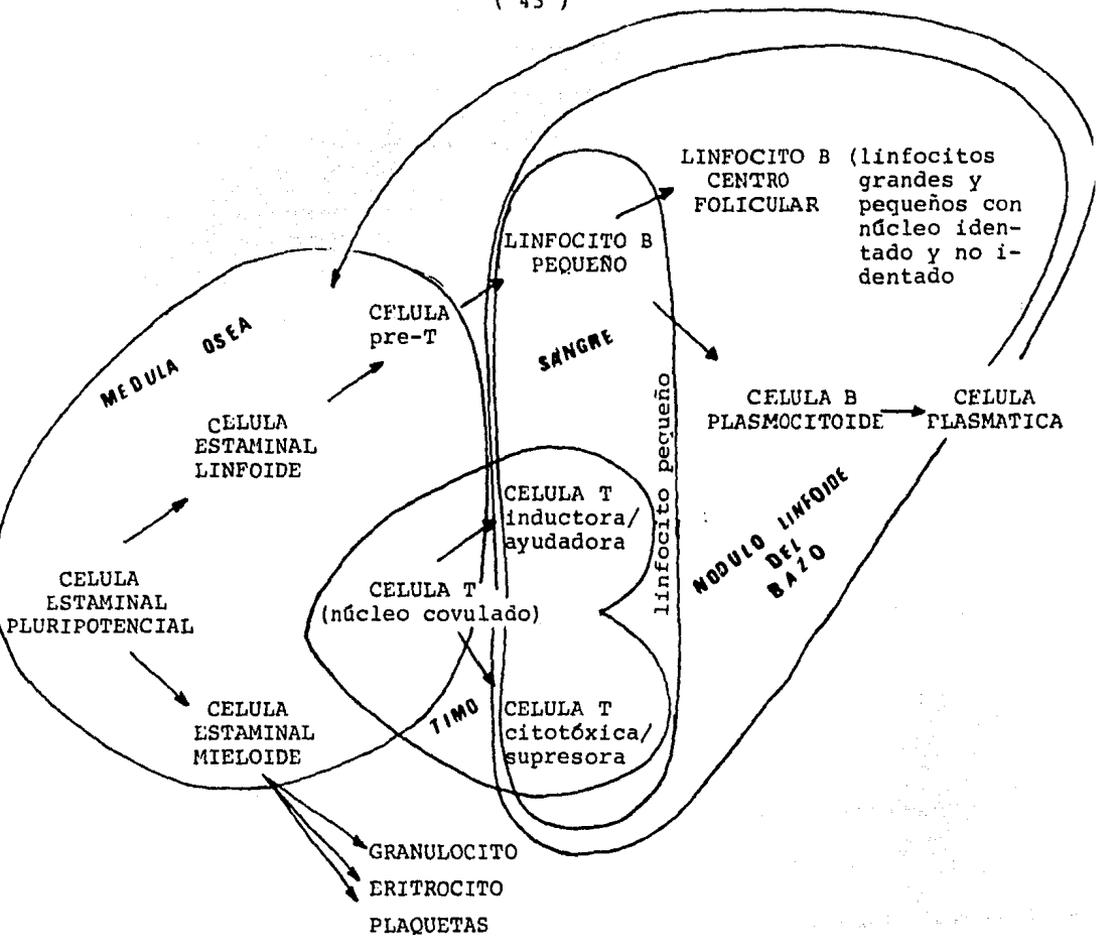


Fig. N° 8 DISTRIBUCION EN TEJIDOS (1)

En la figura se puede observar la diferenciación de las células hematopoyéticas a partir de una célula "Estaminal" pluripotencial con localización en médula ósea con capacidad de sufrir diferenciación hacia una célula "Estaminal" linfóide que dará origen a dos grandes grupos de linfocitos definidos inmunológicamente que son: Los linfocitos T y B, así mismo se observa su diferenciación y localización final tisular. Por otro lado una segunda línea celular derivada de una célula "Estaminal" mieloide con diferenciación hacia la serie granulocítica, eritrocítica y megacariocítica.

a).- Los linfocitos en continua circulación constituyen el 95% de las células de los folículos linfoides, y funcionalmente son células B "vírgenes", que no han tenido contacto con el antígeno, y que en su mayoría expresan inmunoglobulinas de superficie tales como sIgM ó sIgD (Fig. N<sup>o</sup> 9) y

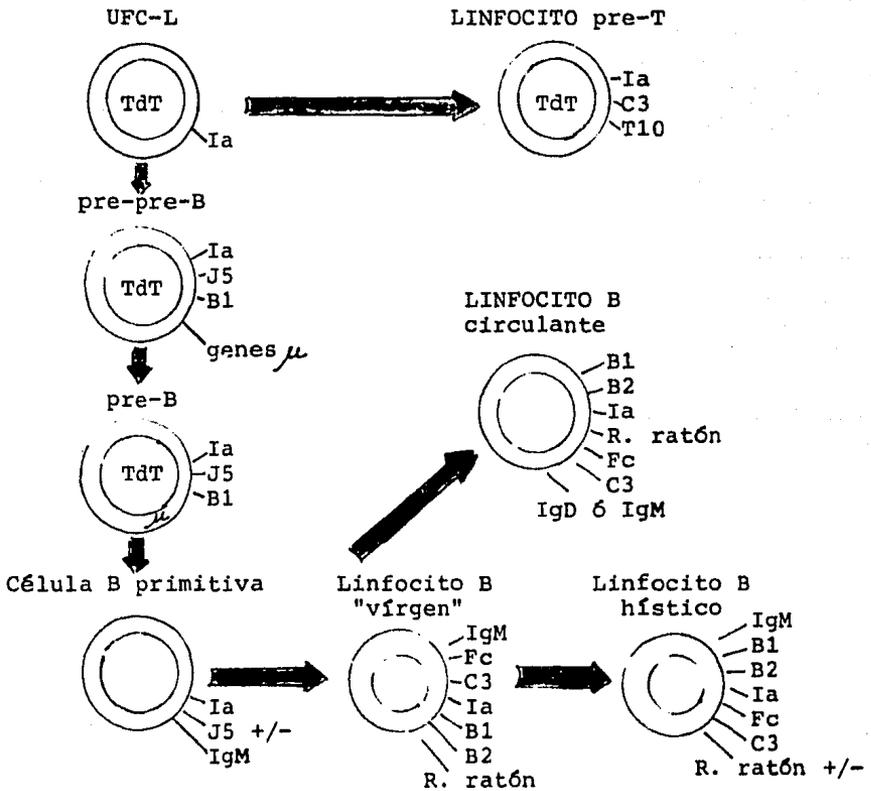


Fig. N<sup>o</sup> 9 DIFERENCIACION B ANTIGENO/INDEPENDIENTE (10)

TdT.- Desoxinucleotidil transferasa, Ia.- Antígeno de afinidad, C3.- Receptor para la fracción C3 del complemento, Fc.- Fracción cristalizante de Igs, y J5, B1, B2, T10.- Anticuerpos Monoclonales.

b).- Células estáticas (hísticas) que comprenden el 95% de las células de la zona marginal esplénica así como un 10-15% de los linfocitos de sangre periférica y expresan sIgM.

Los linfocitos T ocupan la corteza profunda (paracorteza) de los nódulo linfoides y en la sangre periférica las células T constituyen los linfocitos predominantes.

A lo largo de la línea de producción celular de la serie linfoide se van gestando cambios que morfológicamente están presentes en su maduración y van acompañados por la aparición de marcadores inmunológicos (Igs de superficie, formación de Rosetas E, receptores para fracción cristalizante de las Igs (Fc) obtenida por acción enzimática y para C3 del complemento) así como de marcadores enzimáticos (la desoxinucleotidil terminal transferasa (TdT)) (Fig. N<sup>o</sup> 10) (30).

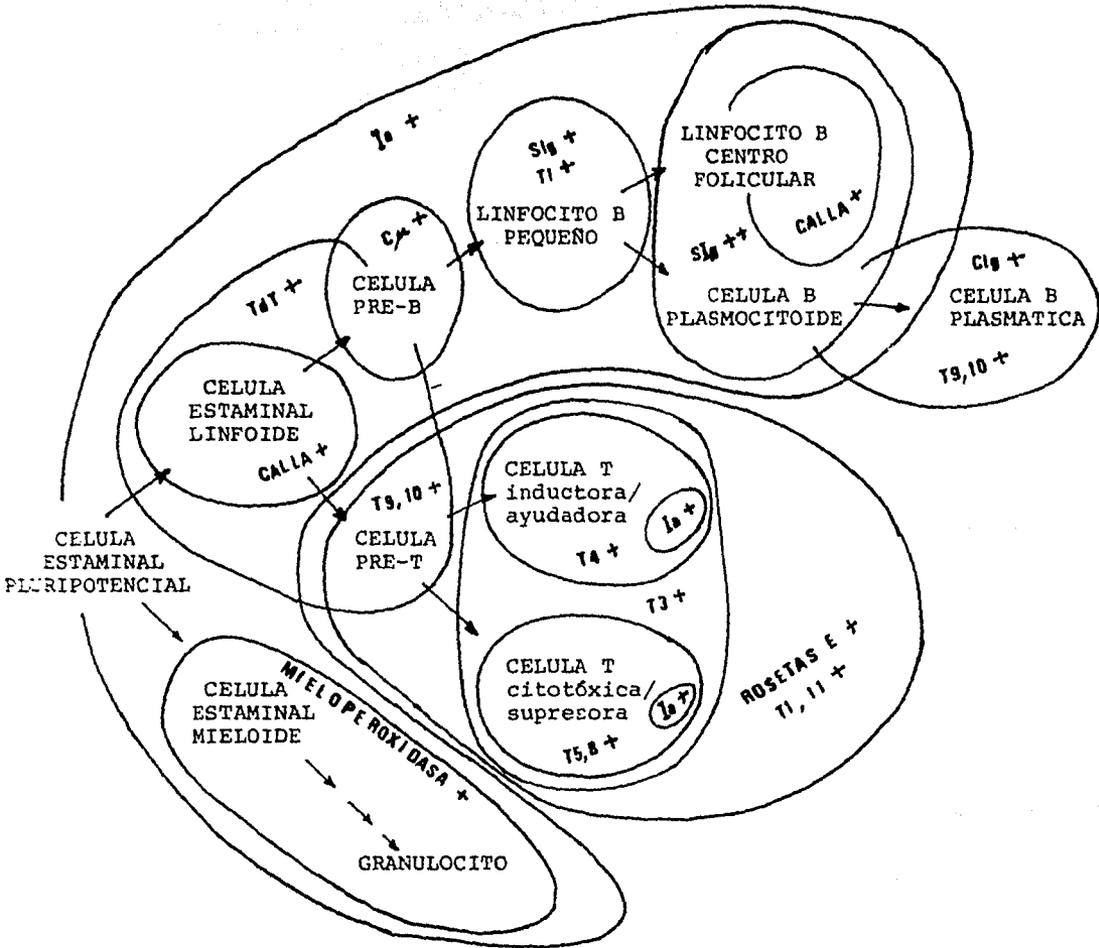


Fig. Nº 10 MARCADORES DE LOS LINFOCITOS EN ENFERMEDADES LINFOPROLIFERATIVAS (1)

Sig.- Inmunoglobulina de superficie; C $\mu$ .- Inmunoglobulina citoplasmática; C $\mu$ .- Cadena pesada IgM citoplásmica; TdT.- Desoxinucleotidil terminal transferasa; CALLA.- Antígeno común de las leucemias agudas; Ia.- Antígeno de afinidad; Tn.- Antisero monoclonal.

B) .- MARCADORES B

Los linfocitos B son identificados por la presencia de inmunoglobulinas de superficie (sIg). Los progenitores de los linfocitos B, referidos como linfocitos pre-B (primera célula de ésta estirpe identificable por técnicas inmunológicas) están presentes en médula ósea normal y poseen una cadena pesada  $\mu$  citoplásmica ( $C\mu$ ) pero carecen de una cadena ligera intracitoplásmica y de sIg (18), (28).

Los diversos estudios en el fenotipo celular permiten identificar precursores B incluso antes de la detección de la cadena  $\mu$  en el citoplasma; sería la célula pre-pre-B (46) (Fig. N<sup>o</sup> 7). Existe otro marcador de línea B presente ya desde el estadio pre-B (la pieza J5 de "Joining") que además de intervenir en la polimerización de la IgM e IgA, juega un papel fundamental en la biosíntesis de todas las inmunoglobulinas (18) , (51).

La célula pre-B dará lugar a otra célula que ya presenta inmunoglobulina en la superficie (smIg); esta es considerada como la primera célula inmunológicamente competente, que abandonará la médula ósea para poblar los órganos linfoides periféricos. Otros marcadores clásicos de los linfocitos B y pre-B es la presencia de receptores para el fragmento

Fc de las inmunoglobulinas y para las fracciones del complemento C3, que no son específicos para el tipo de célula B ya que están presentes en otro tipo de células tales como: monocito-macrófago y subpoblaciones de linfocitos (10).

Los linfocitos B humanos poseen un antígeno de afinidad inmunidad denominado (Ia) que se pensó eran exclusivos de estos pero se ha comprobado que están presentes en los linfocitos T activados y en las células madre pluripotencial (18).

En la actualidad se dispone de Anticuerpos Monoclonales (AcMc) para la detección de células B presentes en sus distintas etapas de maduración (Ver Tabla N° 3).

Los AcMc para las células B muestran patrones con más reactividad cruzada y menos específicos que los marcadores para las células T. Algunos AcMc reconocidos comúnmente como específicos de células B (en virtud de su reactividad con células monocíticas sig-positivas ó sus precursores) son designadas: B1, BA-1 y CB2 (81).

B1 reacciona con células pre-B y células B maduras, con el 50% de las células de pacientes con leucemia granulocítica crónica (LGC) en crisis blástica y con las célu-

CLASIFICACION DE LAS CELULAS B DE LEUCEMIAS Y LINFOMAS

LINFOCITOS B	MARCADORES CONVENCIONALES			MARCADORES MONOCLONALES					LEUCEMIAS LINFOIDES ASOCIADAS
	Sig	TdT	cIg	Ia	cALLA	B1	B2	BA-1	
Célula Estaminal linfoide	-	+	-	+	-	-	-	±	LLA-Indiferenciada
Célula pre-pre-B	-	+	-	+	+	±	-	±	LLA-Común
Célula pre-b	-	+	+	+	+	±	-	±	LLA-Pre-B
Célula b temprana	+	-	-	+	±	±	-	±	Linfoma de Burkitt
Célula B intermedia	+	-	-	+	-	±	+	±	Difuso, linfoma bien diferenciado LLC, leucemia prolinfocítica (LPL)
Célula B madura	+	-	-	+	-	+	±	±	Linfoma nodular Difuso, linfoma pobremente diferenciado, Linfoma histiocítico, Leucemia de células peludas
Plasmocitoide	+	-	-	+	-	+	-	+	Hipergammaglobulinemia de Waldenström
Célula plasmática	±	-	+	±	-	-	-	-	Mieloma múltiple

las de la mayoría de los pacientes con leucemia linfocítica aguda (LLA).

B2 es expresado debilmente en células B periféricas.

BA-1 reacciona con células B como con granulocitos y linfocitos no T y no B de LLA.

CB2 reacciona con células de bazo normal y sangre periférica, con células de leucemia linfocítica crónica B, linfomas de células B, leucemias de células B excluyendo LLA, Síndrome de Sézary, leucemia linfocítica crónica T, leucemia megaloblástica aguda y leucemia granulocítica crónica en crisis blástica. (Ver Tabla N<sup>o</sup> 4, donde se mencionan otros marcadores de células T y B).

#### C) .- MARCADORES T

El marcador clásico de los linfocitos T es su capacidad para formar Rosetas espontáneas con hematíes de carnero (Rosetas E). El desarrollo de AcMc contra antígenos de diferenciación T ha permitido establecer esquemas madurativos de las células T, Reinherz y colaboradores (63) distinguen tres estadios madurativos intratímicos caracteriza-

DESIGNACION	CELULAS DETECTADAS
Ia1, Ia	90% de células B y monocitos 20% de células nulas y células T activadas
J5 (CALLA)	80% de LLA-no T
BA-3 (CALLA)	40% - 50% de LMC en crisis blásica; no está presente en células normales
OKT6, T6	70% de timocitos
OKT9, B3/25	Células activadas
OKT10	Células "Estaminales" hematopoyéticas tempranas, células T y B activadas

Tabla N<sup>o</sup> 4 OTROS MARCADORES (81)

dos por la expresión de diferentes antígenos de superficie (Fig. N<sup>o</sup> 11).

Los timocitos "tempranos" (10% de los timocitos) no tienen desarrollados antígenos en común con las células periféricas.

Los timocitos "intermedios" (70 - 80% de los timocitos) tienen algunos pero no todos los antígenos de las

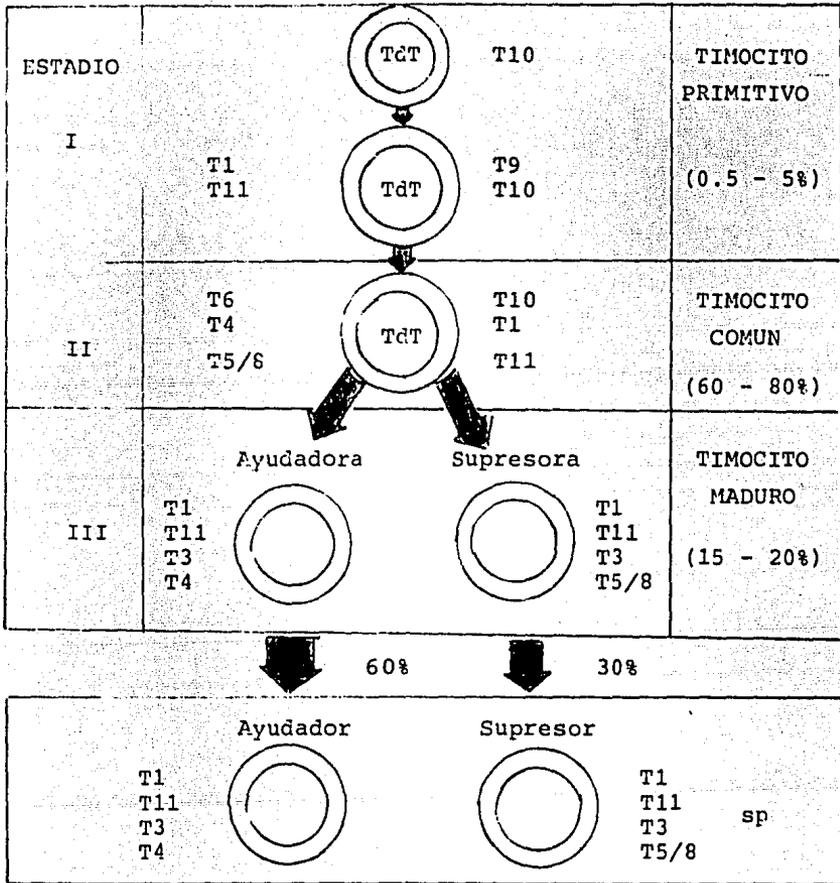


Fig. N° 11 DIFERENCIACION DE LOS LINFOCITOS T (30)

células periféricas, mientras que:

Los timocitos "tardíos" (10% de los timocitos) llevan todos los antígenos.

Dos antígenos típicos de las células tempranas son: T9 y T10 reconocidos por los anticuerpos monoclonales de Ortho Pharmaceutical Laboratory (OKT9 y OKT10) respectivamente. El antígeno T9 ha sido identificado como un receptor de transferencia ya reconocido por ser una característica de división activa de los linfocitos T (54).

El antígeno T10 asociado con las células blasto contienen TdT en el timo y también ocurre en las células TdT positivas que se encuentran en un pequeño porcentaje de las células de médula ósea que tienen la capacidad de formar la Unidad Formadora de Colonias (UFC) (19), estos antígenos desaparecen a medida que el linfocito va madurando.

El antígeno T3 es característico de las células tardías y de células T periféricas pero esta ausente en las células tempranas e intermedias. El antígeno T3 puede ser utilizado con tinción de inmunoperoxidasa como marcador de las células T periféricas y es posible reemplazarlo por las técnicas de Rosetas E convencionales (22). El anticuerpo para T3 es OKT3 mitogénico a las células T con una concentración de  $10^{-12}$  moles/l, sugiriendo que puede unir con alta afinidad a un elemento control en la superficie del linfocito.

Estos antígenos están relacionados a la maduración celular pero hay otros antígenos relacionados a la función celular. En el timo las células intermedias adquieren antígenos T4 y T8 pero durante su paso al compartimento tardío uno de estos antígenos se pierde, mientras que el otro se retiene (71). El antígeno T4 es un marcador de células T con función ayudadora y T8 con función supresora.

El receptor para Rosetas E definido por el AcMc OKT11 está presente en los 3 estadios de maduración, sin embargo existen timocitos en el estadio I que no forman Rosetas E (células pre-T) pero en cambio sí presentan receptores para el complemento y reaccionan con AcMc de línea T (leu-1, 3A1) de los laboratorios de Becton-Dickinson e Hybritech respectivamente (44).

#### D).- MARCADORES ENZIMATICOS

La enzima desoxinucleotidil-terminal-transferasa (TdT) es la más ampliamente estudiada de todas las formas de marcadores enzimáticos de células linfoides. En condiciones normales sólo está presente en los timocitos primitivos y corticales y en un pequeño porcentaje de las células de médula ósea (39). Las enzimas de las vías purina, a-

adenosina deaminasa (ADA), nucleosido fosforilasa (FN) y 5' nucleotidasa (5'N), también son de utilidad en el estudio de los síndromes linfoproliferativos, discerniendo entre neoplasias T y B (6), (62), (69).

#### E).- MARCADORES DE SUPERFICIE

El estudio de las células hematopoyéticas humanas reveló que poblaciones celulares funcionalmente distintas presentaban diferentes estructuras de superficie, las cuales mediaban su función y reflejaban su estadio de diferenciación. El reconocimiento de estas estructuras mediante sueros específicos permite identificar dichas poblaciones celulares. Por extensión de éste principio se podrían detectar las células leucémicas mediante el empleo de antisueros específicos contra estructuras de su membrana (40).

Los antisueros convencionales plantean problemas importantes como el de su especificidad precisando múltiples absorciones para lograrla y la de su producción limitada.

Los Anticuerpos Monoclonales (AcMc) producidos por la técnica de hibridoma carecen de estos problemas. Los

ACMc son reactivos altamente caracterizados para el reconocimiento de componentes celulares que reemplazan el uso de antisueros convencionales. Estos reactivos proveen una importante herramienta en los campos de la Biología, Patología y Medicina Clínica ya que determina una mayor especificidad y de poder ser producidos en cantidades ilimitadas y poderse preservar por un largo tiempo (54), (63).

El método de obtención de los AcmC basado en la técnica de hibridoma de Köhler y Milstein (45) consiste en la fusión de linfocitos B de bazo de ratón con células de mieloma de ratón mantenidas en cultivo. Ratones normales son inmunizados con el antígeno deseado según técnica convencional de inmunización (Fig. N<sup>o</sup> 12).

Una suspensión de linfocitos B de bazo de estos ratones se mezclan con células de mieloma de ratón que carecen de la enzima hipoxantina fosforibosiltransferasa (HPRT) capaces de crecer en cultivo en forma indefinida. Para aumentar la fusión de las membranas celulares se añade al medio de cultivo polietilenglicol (PEG). El número de híbridos que se forman es aproximadamente 1 por cada  $2 \times 10^5$  esplenocitos.

Para eliminar las células no hibridadas se em-

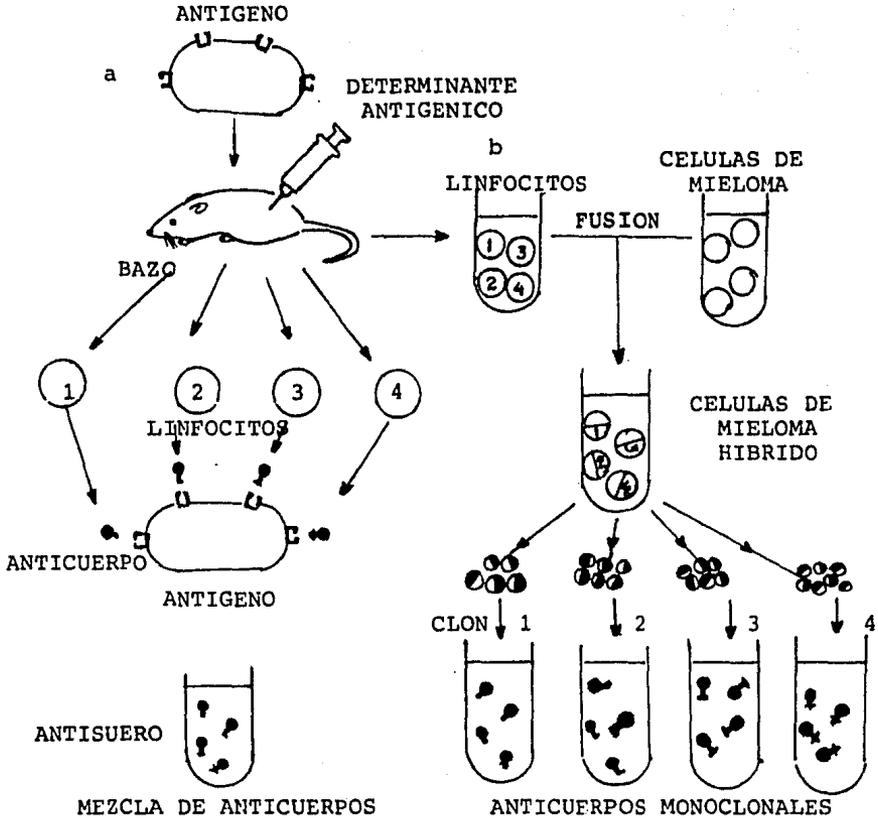


Fig. N° 12

RESPUESTA INMUNE que se inicia (a) cuando una molécula de antígeno portadora de varios determinantes antigénicos diferentes, penetran en el cuerpo del animal. La respuesta del sistema inmune implica una proliferación de estirpes de linfocitos B. Cada estirpe segrega moléculas de Inmunoglobulinas que se acoplan a un único determinante antigénico, o a una parte del mismo. El antisuero convencional contiene una mezcla de estos anticuerpos. Los anticuerpos monoclonales proceden de linfocitos de bazo fusionados con células de mieloma maligno (b). Se clonan las células híbridas individuales: cada clon segrega un anticuerpo monoclonal, que se acopla específicamente a un único determinante antigénico (53).

plea un medio de crecimiento selectivo. Este medio posee hipoxantina exógena y la aminopterina bloquea su síntesis endógena de purinas y pirimidinas por lo que las células mielomatosas no hibridadas mueren, en cambio las células de mieloma hibridadas utilizan el enzima aportado por el esplenocito y sobreviven - (67) (Fig. N<sup>o</sup> 13).

El esplenocito no fusionado no es destruido por el medio pero su supervivencia es corta (4-6 días), además el medio selectivo remite tóxicos, sobreviniendo la muerte celular pronto. Posteriormente las clonas de híbridos individuales producidos por la fusión de una única célula de mieloma con un único esplenocito son aislados por técnicas convencionales de clonación y dilución limitante. A las 2 - 4 semanas de la fusión, las clonas híbridas se analizan para comprobar si son capaces de secretar el anticuerpo específico deseado.

El método utilizado en este primer estadio de selección es el radioinmunoensayo (RIA) ó por análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). Aquellas clonas que sintetizan el anticuerpo deseado son reclonadas para ser analizadas más exhaustivamente en un segundo estadio. En este estadio además de utilizar el RIA se emplean métodos de inmunofluorescencia (IF) con un amplio panel de células normales y leucémicas. Aquellas clonas "específicas" son clonadas de nuevo para ser a-

ESTIRPE CELULAR DE MIELOMA EN CULTIVO



FUSION EN POLIETILFENGLICOL



CELULAS DE BAZO



CELULAS MIELOMICAS (KPCRT)



MEDIO HAT

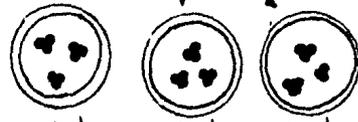


SELECCION DE LAS CELULAS HIBRIDAS

ENSAYO DE ANTICUERPOS

CONGELACION

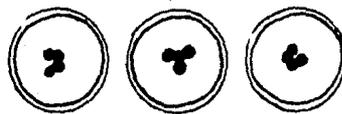
CLONADO



ENSAYO DE ANTICUERPOS

CONGELACION

RECLONADO



ANALISIS DE SELECCION DE VARIANTES

CONGELACION  
DESCONGELACION

PROPAGACION DE LOS CLONES DESEADOS



RECIMIENTO



INDUCCION DE TUMORES



nalizadas en una tercera etapa donde se suelen emplear métodos de doble marcado.

Las clonas híbridas elegidas pueden ser congeladas o bien inyectadas intraperitonealmente a ratones donde se desarrollan obteniéndose AcMc del líquido ascítico o bien ser mantenidos en cultivo.

En la Tabla N<sup>o</sup> 5 se enlistan algunos de los AcMc más comunmente conocidos y que reaccionan con la población linfoide, y en la Tabla N<sup>o</sup> 6 se mencionan algunos de los AcMc producidos por distintos laboratorios y su equivalencia entre sí.

Las limitaciones que presentan éste tipo de clasificaciones, tanto en las leucemias como en los linfomas no-Hodking ha promovido la búsqueda de reactivos que den mayor versatilidad diagnóstica. Uno de los procedimientos iniciales fué la inducción de antisueros relativamente específicos, como el inducido en conejos para la identificación del antígeno común de las leucemias linfoblásticas agudas (CALLA) (33).

Sin embargo la heterogenidad que muestran estos antisueros no permitió alcanzar los resultados deseados. Poste -

plea un medio de crecimiento selectivo. Este medio posee hipoxantina exógena y la aminopterina bloquea su síntesis endógena de purinas y pirimidinas por lo que las células mielomatosas no hibridadas mueren, en cambio las células de mieloma hibridadas utilizan el enzima aportado por el esplenocito y sobreviven - (67) (Fig. N° 13).

El esplenocito no fusionado no es destruido por el medio pero su supervivencia es corta (4-6 días), además el medio selectivo remite tóxicos, sobreviniendo la muerte celular pronto. Posteriormente las clonas de híbridos individuales producidos por la fusión de una única célula de mieloma con un único esplenocito son aislados por técnicas convencionales de clonación y dilución limitante. A las 2 - 4 semanas de la fusión, las clonas híbridas se analizan para comprobar si son capaces de secretar el anticuerpo específico deseado.

El método utilizado en este primer estadio de selección es el radioinmunoensayo (RIA) ó por análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). Aquellas clonas que sintetizan el anticuerpo deseado son reclonadas para ser analizadas más exhaustivamente en un segundo estadio. En este estadio además de utilizar el RIA se emplean métodos de inmunofluorescencia (IF) con un amplio panel de células normales y leucémicas. Aquellas clonas "específicas" son clonadas de nuevo para ser a-

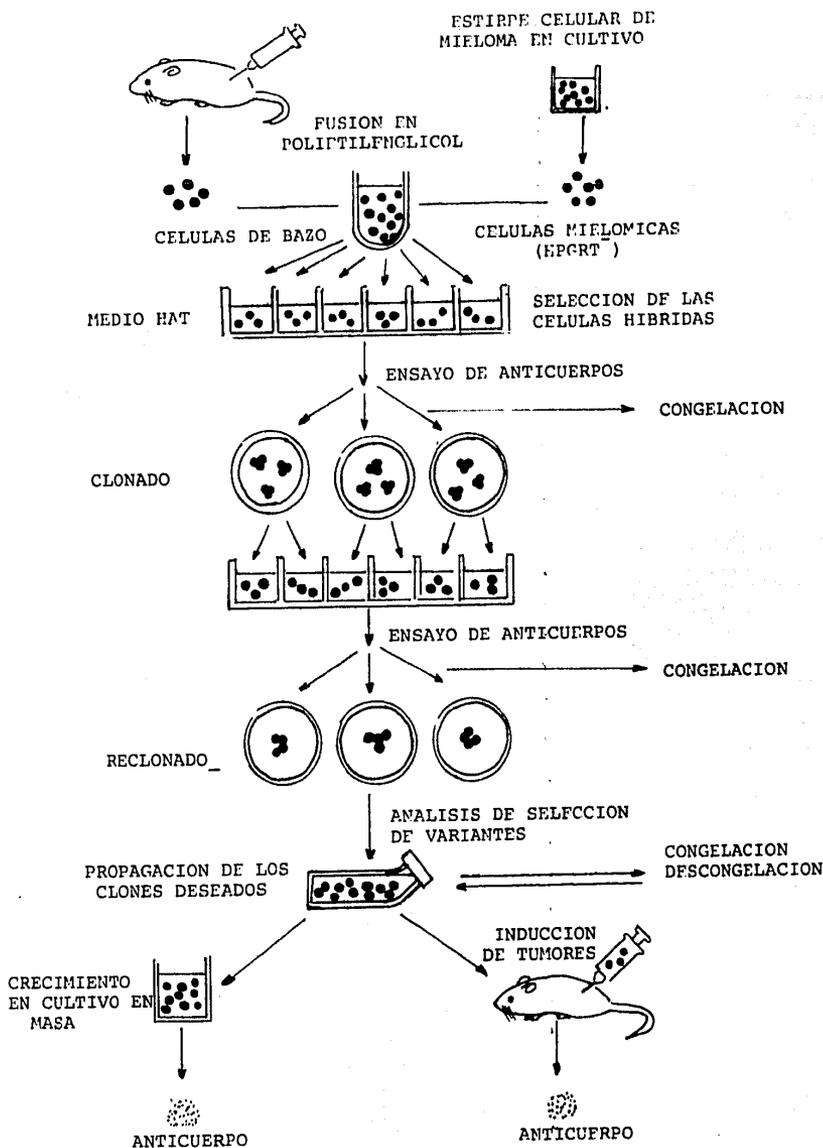


Fig. N° 13

PROCEDIMIENTO CONVENCIONAL de obtención de anticuerpos monoclonales. Comienza con la fusión, mediada por polietilenglicol de células de bazo de un ratón (o una rata) inmunizado, y células mielómicas de ratón ó rata. Los híbridos se seleccionan en un medio de crecimiento selectivo que contiene hipoxantina, aminoptericina y timidina (HAT), se ensaya el medio para la secreción de anticuerpos y, como precaución, se congela una porción de cada cultivo positivo. Se clonan los cultivos positivos y se someten a ensayo los clones. Los que nuevamente resultan positivos se congelan, se reclonan y se analiza la presencia de variantes de Igs. Por último, los clones elegidos pueden conservarse congelados. Al descongelarse, las muestras pueden bien cultivarse para la producción del anticuerpo, o bien inyectarse en animales para inducir mielomas que segreguen el anticuerpo deseado. (53).

nalizadas en una tercera etapa donde se suelen emplear métodos de doble marcado.

Las clonas híbridas elegidas pueden ser congeladas o bien inyectadas intraperitonealmente a ratones donde se desarrollan obteniéndose AcMc del líquido ascítico o bien ser mantenidos en cultivo.

En la Tabla N<sup>o</sup> 5 se enlistan algunos de los AcMc más comunmente conocidos y que reaccionan con la población linfoide, y en la Tabla N<sup>o</sup> 6 se mencionan algunos de los AcMc producidos por distintos laboratorios y su equivalencia entre sí.

Las limitaciones que presentan éste tipo de clasificaciones, tanto en las leucemias como en los linfomas no-Hodking ha promovido la búsqueda de reactivos que den mayor versatilidad diagnóstica. Uno de los procedimientos iniciales fué la inducción de antisueros relativamente específicos, como el inducido en conejos para la identificación del antígeno común de las leucemias linfoblásticas agudas (CALLA) (33).

Sin embargo la heterogenidad que muestran estos antisueros no permitió alcanzar los resultados deseados. Poste -

ANTICUERPOS MONOCLONALES QUE REACCIONAN  
CON LA POBLACION LINFOIDE

TIPO CELULAR	DESIGNACION	CELULA DETECTADA
Todos ó la mayoría de los linfocitos	Hulyt3	99% de células T de sangre periférica y timocitos
	Leu 4	80-95% de linfocitos de sangre periférica
	Leu 5	80% de linfocitos de sangre periférica. 100% de linfocitos con receptor SRBC. 96-99% de timocitos
	OKT3	95% de células T de sangre periférica
	OKT11	95% de timocitos, 10% de linfocitos de médula ósea
	T11A	95% de timocitos, 90% de LLA-T y LLC-T
	T101	Todas las células T normales y leucémicas
Célula T Citotóxica/Supresora	Leu 2	20-40% de células T de sangre periférica
	OKT8	35% de células T de sangre periférica
	T8A	35% de células T de sangre periférica
Célula T Ayudadora/Inductora	Hulyt1	60-80% de células T de sangre periférica
	Leu 3	40-60% de linfocitos normales
	OKT4	65% de células T de sangre periférica
	T4	80% de timocitos, 60% de células T circulantes
Linfocitos B	B1	Células SIg-positivas en sangre periférica, nódulos linfoides, médula ósea, amígdala: 50% de LLA y LLC
	B2	Número muy pequeño en: sangre periférica, nódulos linfoides, amígdala, bazo, en algunas LLA y linfomas, la mayoría de LLC
	BA-1	Células B inmaduras, algunos granulocitos, en muchas LLA
	OKB7	95% de células B

CARACTERIZACION DE AcMc PARA LEUCOCITOS  
HUMANOS

GRUPO	CLONA	REACTIVIDAD
I	OKT3, UCHT1, Leu 4 BMA030	Pan T periféricos
II	OKT11,9,6, Lyt 3, Leu 5, T11, BMA0110	Pan T. Receptor de Rosetas
III	OKT1, Leu 1, T101, 10.2, Lyt 2	Células T y B LLC
IV	OKT4, OKT4A, OKT4D, T4, Leu 3a, Leu 3b, OKT4B, OKT4C, BM040	Célula T Ayudadora/ Inductora
V	OKT5, OKT8, T8, Leu 2a, Leu 2b, BMA080	Célula T Supresora/ Citotóxica
VI	OKT6, MAS036, Leu 6, NA1/34, BMA060	Timocitos
VII	OKT10	Timocitos

La serie de Acs (Leu) son preparados comercialmente por: Becton Dickinson & Co.

La serie OKT por: Ortho Pharmaceutical Corporation.

La serie B3/25, BA-3, (CALLA, BA-1, T101, NA1/34, 3A por: Hybritech.

La serie Hulyt por: New England Nuclear y

La serie T11A, T8A, T6, T4, B1, B2, J5 (CALLA) por: Coulter. (71).

riormente con el advenimiento de los procedimientos de fusión celular, ha sido posible construir híbridos secretores de AcMc que tienen la ventaja de ser más selectivos al reconocer un epítotope (determinante antigénico de un antígeno) ó aquellos íntimamente relacionados (45), (67).

Algunas propiedades de éstos híbridos secretores de AcMc relacionados con la caracterización de células son:

1.- La ausencia de complejos poblacionales de especificidad no relacionada, la cual elimina reacciones cruzadas de anticuerpos.

2.- Pueden detectar diferencias antigénicas en superficie de distintas estirpes celulares.

3.- Pueden ser producidos en cantidades suficientes y ser distribuidos ampliamente permitiendo una serie de estudios entre diferentes grupos de investigadores.

XI.- CLASIFICACION INMUNOLOGICA DE LAS LEUCEMIAS  
LINFOBLASTICAS AGUDAS (LLA)

La leucemia linfoblástica Aguda (LLA) es una enfermedad biológicamente heterogénea, definida por sus características clínicas y por técnicas inmunológicas (27).

Estudios en varios laboratorios indican que marcadores inmunológicos, particularmente los antígenos de superficie celular podrían ser altamente discriminatorios con respecto a la identidad celular en el sistema hematopoyético. Estas técnicas han demostrado ser de gran valor en el análisis de la heterogenidad funcional de la población linfoide que previamente fué evaluada con criterios morfológicos (13), (20).

La filosofía que acompaña al diagnóstico diferencial se ha relacionado grandemente al criterio morfológico y citoquímico y a su presunta contraparte normal (44).

La aplicación de nuevos métodos inmunológicos y enzimáticos a la leucemia aguda ofrece por consecuencia lógica el armamento y maquinaria para establecer el diagnóstico. Además es evidente que éstas técnicas incorporan AcMc y FACS (citufluorógrafo) que permiten un avance considerable en un mejor

entendimiento de la Biología básica de las células leucémicas en relación a la diferenciación hematopoyética normal (50).

De esta manera la Leucemia Linfoblástica Aguda puede ser dividida dentro de cinco subgrupos, utilizando marcadores para linfocitos T y B, tales como: SmIg, C $\mu$ , Rosetas E y AcMc que identifican antígenos de células T y el antígeno CALLA (ver Tabla N<sup>o</sup> 7) (34), (52), (68).

- 1.- Leucemia Linfoblástica Aguda-Indiferenciada
- 2.- Leucemia Linfoblástica Aguda-Común
- 3.- Leucemia Linfoblástica Aguda-pre-B
- 4.- Leucemia Linfoblástica Aguda-B
- 5.- Leucemia Linfoblástica Aguda-T

LLA-Indiferenciada.- Los linfoblastos de la mayoría de los pacientes con LLA carecen de SmIg y C $\mu$  y no forman Rosetas E-6 reaccionan con AcMc anti-T (27), no expresan el antígeno común de las LLA (CALLA), generalmente expresan el antígeno Ia y los niveles de TdT están elevados.

LLA-Común.-Es el grupo más numeroso (70-80%) y se caracteriza por poseer el antígeno CALLA, expresan el antígeno Ia y son TdT positivos. Carecen de marcadores T y de Igs citoplásmica o de superficie. El 50% de las LLA-Común expresan el

SUBCLASIFICACION DE LAS LEUCEMIAS LINFOBLASTICAS AGUDAS (LLA)

TABLA N° 7

	LLA-Indiferenciada	LLA-Común	LLA-pre-B	LLA-B	LLA-T
<b>MARCADORES FENOTIPICOS</b>					
SmIg	-	-	-	+	-
Cμ	-	-	+	-	-
E	-	-	-	-	(±) *
Leu-1	-	-	-	-	+
cALLA	-	+	+	&	&
Ia	+	+	+	+	-
B1	-	+	+	+	-
B2	-	-	NR	NR	-
BA-1	±	±	+	+	-
<b>ENZIMAS</b>					
TdT	+	+	+	-	+
Hexosaminidasa	±	+	±	-	-
Adenosina deaminasa	-	-	NR	NR	+
5' Nucleotidasa	+	+	NR	NR	-
Purina Nucleosido Fosforilasa	+	+	NR	NR	-
Fosfatasa ácida	-	-	-	-	+
F.A.B.	L1, L2	L1, L2	L1, L2	L3	L1, L2

\* Aproximadamente el 50% de las células de los pacientes con LLA-T tienen la capacidad de formar Rosetas E

& Menos del 10% de las células de los casos de LLA-B y LLA-T tienen el antígeno cALLA

NR No reportado

Se ha encontrado que Leu-1 es extremadamente sensible para identificar LLA-T

AcMc B1 (de Coulter) sugiriendo que estas leucosis corresponderían a un estadio muy indiferenciado de células B (29). Estos hallazgos fenotípicos vienen apoyados por:

a).- Los blastos de LLA-Común poseen la misma distribución de genes responsables de la síntesis de Igs que las células B (46) y

b).- Que estas células al ser estimuladas con algunos inductores celulares "formol diester" ó fitohemaglutinina, son capaces de sintetizar cadena  $\mu$  citoplásmica (55). Su equivalencia celular normal podría corresponder a una célula B primitiva denominada pre-pre-B.

LLA-pre-B.- Presenta los mismos antígenos y marcadores de LLA-Común, poseen cadena pesada de IgM en su citoplasma, las cadenas ligeras  $\lambda$  y  $\kappa$  y SmIg están ausentes. Este tipo de casos corresponden el 20% de las LLA (76).

LLA-B.- Representa el grupo más pequeño (1-5%), poseen smIq que generalmente es IgM. Son también Ia, B1 y BA-1 positivos, pero normalmente son TdT y CALLA negativos. LLA-B es probablemente una fase leucémica de los linfomas no-Hodking ó Burkitt (26). LLA-B representa un estadio madurativo B más a

vanzado que las LLA-Común y pre-B.

LLA-T.- Representa el 15 - 25% de todas las LLA. Clínicamente se caracteriza por un alto número de blastos, presencia de masa mediastínica y por afectar a jóvenes con predominio de varones de mayor edad que el resto de LLA (38). LLA-T puede ser identificada por la formación de Rosetas E y/o su reactividad con antisueros de células T ó AcMc pan-T, tales como: OKT1/Leu1, OKT11/Leu5 y OKT3/Leu4.

Las células de LLA-T son generalmente TdT positivas y fosfatasa ácida positiva, y los niveles de la adenosina deaminasa se encuentran elevados. No reaccionan con AcMc de las células B y raramente poseen el antígeno CALLA.

Reinherz y colaboradores subdividieron las LLA-T de acuerdo a los niveles intratímicos (63) y la mayoría de los casos ( 70% ) reaccionaba con los antígenos T9 y T10 correspondientes al estadio madurativo I.

El linfoma linfoblástico T (LLT), presenta características clínico-biológicas y citoquímicas comunes con las LLA-T, por lo que para muchos autores la única diferencia entre ambos sería la incluida en la definición de linfoma: No in

filtración de médula ósea, ni de sangre periférica (4), (56).

La caracterización inmunológica de las LLA. ha permitido establecer una secuencia pronóstica de acuerdo a su reactividad con los marcadores (66). así de mejor a peor pronóstico el orden de las LLA sería: LLA-Común LLA-pre-B LLA-Indiferenciada LLA-T LLA-B.

Considerando que grandes grupos de pacientes podrían formarse a partir de estos marcadores específicos, se esperaría un manejo y pronóstico más adecuado y por ende influir en la conducta de estas neoplasias.



4.- Este mismo tipo de Anticuerpos Monoclonales cuya utilidad se ha demostrado en el diagnóstico hematológico, presenta grandes perspectivas en el tratamiento de las citadas entidades patológicas mediante la incorporación de isotopos radiactivos o bien moléculas tóxicas en los Anticuerpos Monoclonales.

5.- Si bien resulta costosa tanto la elaboración de éstos híbridos productores de Anticuerpos Monoclonales como su utilización diagnóstica, no deja de ser de gran interés conocer a profundidad su producción y el manejo de células malignas. Las ventajas que a futuro próximo se vislumbran al lograr un mayor perfeccionamiento técnico serán de repercusión benéfica en la población que padece esta grave enfermedad..

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alan C. Aisenberg, M.D., Ph.D.: Cell lineage in lympho proliferative disease. The American Journal of Medicine 74:679-684,1983
- 2.- Andrew D. Jacobs, M.D., and Robert Peter Gale, M.D., Ph D.: Recent advances in the biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults. N Engl J Med 311; 1219-1231,1984
- 3.- Bennett JM, Catovsky D, Daniel M.T., Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, Sultan C.: Proposals for the classification of acute leukemias. Br J Haematol 33:451-458, - 1976
- 4.- Bernard A, Boumsell L, Reinherz EL et. al.: Cell surface characterization of malignant T cell from lymphoblastic lymphoma using monoclonal antibodies. Evidence for phenotypic differences between malignant T cell from patients with acute lymphoblastic leukemia and lymphoblastic lymphoma. Blood 57:1105-1110,1981
- 5.- Bithell JF, Stewart AM: Prenatal Irradiation and Childhood malignancy. A review of British data from the Oxford Survey. Br J Cancer 31:271-287,1985
- 6.- Blatt, J. Reaman, G. H. Levin, N., Poplack, C. G.: Purine nucleoside phosphorylase activity in T-cell acute lymphoblastic leukemia. Blood 56:380,1980
- 7.- Bodey C.P., Freireich, E.J.: Acute Leukemia in Hematology. Ed. Mengel, C.E., et. al.: Year Book Medical Publishers, Chicago.381-423,1972

- 8.- Boice J.D., Green M.H., Killan J.Y. et.al.: Leukemia and preleukemia after adjuvant treatment of gastrointestinal cancer with Semustine (Methyl-CCNU). N Engl J Med 309:1079,1983
- 9.- Boyd, N.F.; Clemens, J.O., Feinstein, A.R.: Pretherapeutic morbidity in the prognostic staging of acute leukemia. Arch Inter Med 139:324-328,1979
- 10.- Caballero V. Vicent, M.D., M. González, A. Alegre y JF. San Miguel: Gammapatías monoclonales parámetros de diagnóstico diferencial. Medicine 38:104-114,1984
- 11.- Cadwell G., Kelley D.B., Heath C.W.Jr.: Leukemia among participants in military maneuvers at a Nuclear Bomb Test (Smoky) JAMA 244:1575-1578,1980
- 12.- Cangir A., George J., Sullivan M.: Unfavorable prognosis of acute leukemia in infancy. Cancer 36:1973-1978,1975
- 13.- Cantor, H., and Boyce, E.A.: Regulation of cellular and humoral immune responses by T-cell subclasses. Cold Spring Harbor Symp. Quant Biol 41:23-32,1977
- 14.- Carl Henrik Heldin and Bent Westermark: Growth Factors. Mechanism of action and relation to oncogenes. Cell:9-20,1984
- 15.- Catovsky D.: Ph<sup>+</sup>-positive acute leukemia and chronic granulocytic leukemia. One or two diseases?. Br J Haematol 42:493,1979

- 16.- Clark W. Heath, Jr: The Leukemias. Cancer Epidemiology and Prevention. W.E. Saunders Company. Philadelphia.: 728-738,1982
- 17.- Coleman C.N., Williams C.J., Flint A., et.al.: Hematologic neoplasia in patients treat for Hodgkin's disease. N Engl J Med 297:1249,1977
- 18.- Cooper M.D.: Pre-B cells; normal and abnormal development. J Clin Immunol 1:81-89,1981
- 19.- Crawford D.H., Francis G.E., Wing N.A., et.al.: Reactivity of Monoclonal Antibodies with human myeloid precursor cells. Br J Haematol 49:209,1981
- 20.- Chess L., and Schlossman, S.F.: Human Lymphocyte subpopulations ADV. J Clin Immunol 25:213-241,1977
- 21.- David F Anderson: Familiar Predisposition. Cancer Epidemiology and Prevention. W.B. Saunders Company. Philadelphia:483-493,1982
- 22.- De Cock W., De Cree J., Verhaegen H.: An enzyme immuno assay for the enumeration of peripheral human T lymphocytes with OKT3 pan. Monoclonal Antibody. J Immunol Methods 43:131,1981
- 23.- De Vita, Jr. Vincent T.M.D., Hellaman, Samuel M.D., Rosenberg, M.D., Steven A., Ph.D.: Cancer Principles of Oncology Vol.2. J.B. Lippincott Company. Philadelphia, 1985

- 24.- D. Espinos Pérez, J. Díaz Mediavilla y J. Valor.: Conceptos y clasificación de las enfermedades de los ganglios linfáticos. *Medicine* 34:580-591,1984
- 25.- Epstein M.A., Achong B.G.: The relationship of the EB virus to Burkitt's lymphoma. *The Epstein Barr Virus* Eds. New York,1979
- 26.- Flandrin G., Broveth J.C., Daniel M.T., Preud Homme JL: Acute leukemia with Burkitt's tumor cells. A study of six cases with special reference to lymphocyte surface markers. *Blood* 45:813-818,1975
- 27.- Foon K.A., Billing R.J., Terasaki P., Cline M.J.: Immunologic classification of acute lymphoblastic leukemia Implications for normal lymphoid maturation. *Blood* 56: 1120-1126,1980
- 28.- Fred S. Rosen, M.D., Mac D. Cooper, M.D., and Ralph J. P.W.M.D.: The primary immunodeficiencies. *N Engl J Med* 311:235-242,1984
- 29.- González M.: Fenotipos celulares y correlaciones clínico-biológicas en síndromes linfoproliferativos. *Universidad de Salamanca. España,1983*
- 30.- González M., JF. San Miguel, M.D., Caballero y A. López Borrasca.: Marcadores Inmunológicos y enzimáticos en leucemias linfoblásticas agudas. *Medicine* 38:78-91,1984
- 31.- González R., J.M. Morqueda, A. Alegre.: Fisiopatología de la Respuesta inmune. *Medicine* 38:13-28,1984.

- 32.- Goding J.W., Burns G.F.: Monoclonal Antibody OKT9 recognizes the receptor for transferrin on human acute lymphocytic leukemia cells. J Immunol 127:1256,1981
- 33.- Greaves, M.F., Brown, G., Rapson, N.T., and Lister, T. A.: Antisera to acute lymphoblastic leukemia cells. - Clin Immunol.Immunophatol 4:67-84,1975
- 34.- Greaves, M.F., JANossy, G., Peto, J., Kay, H.: Immunologically defined subclasses of acute lymphoblastic - leukemia in children. Their relationship to presentation features and prognosis. Br J Haematol 48:179-197, 1981
- 35.- Harvey R. Gralnick, M.D., DAG. Galton, M.D., Daniel Ca tovsky, M.D., Claude Sultan, M.D., and John M. Bennett, M.D.: Classification of acute leukemia. Annals of Internal Medicine 87:740-753,1977
- 36.- Hinuma Y., Nagata K., Masao H., Hanaoka M., et.al.: Adult T-cell leukemia; Antigen in an ATL-cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. Proc Natl Acad Sci USA 78:6476-6480,1981
- 37.- Howard M. Temin.: El Origen de los retrovirus. Mundo Científico 4:408-418,1984
- 38.- Jani F., Verbi W., Greaves M.F., Bevan D., Bollum F.: Terminal desoxinucleotidyl transferasa in acute myeloid leukemia. Leukemia Res 7:17-29,1983
- 39.- Janossy G., Hoffbrand A.V., Greaves M.F., et.al.: Terminal transferasa enzima assay and immunological membrane markers in the diagnosis of leukemia; a multiparameter analysis of 300 cases. Br J Haematol 44:222-234,1980

- 40.- Janossy G.: Membrane markers in leukemia. Catovsky D. Eds. London, Churchill Livingstone. 1981
- 41.- Jeffrey Laurence.: The Immune System in AIDS. Scientific American 8:70-79,1984
- 42.- Jenkins M.A., Copeland N.G., Taylor B.A., LEE B.K.: Dilute (d) coat, colour mutation of DBA/2J mice is associated with the site of integration of an ecotropic MuLV genome. Nature 293:370,1981
- 43.- John Cairns.: The origin of human cancers. Nature 289: 353-357,1981
- 44.- Kenneth A. Foon., Robert W. Schoroff., and Robert Peter Gale.: Surface markers on leukemia and lymphoma cells. Recent advances. Blood 60:1-19,1982
- 45.- Kohler G., and Milstein C.: Derivation of specific antibody producing tissue culture and tumors lines by cell fusion. J Immunol 6:66,1976
- 46.- Korsmeyer S.J., Heiter P.A., Ravetch J.V., Poplack D.G. Waldmann T.A., Leder P.: Development hierarchy of immunoglobulin gene rearrangements in human leukemic pre-B cells. Proc Natl Acad Sci USA 78:7960-7100,1981
- 47.- López Borrascas A., González M., Hernández F., Ledezma M., Corrales A. San Miguel J.: Marcadores enzimáticos e inmunológicos en las leucemias agudas. Sangre 26: 756-782,1981
- 48.- Luria S.E., Darnell J.E., Baltimore D., Campbell H.: General Virology. John Wiley and Sons Eds. N.Y. 1978

- 49.- Llein G.: The relationship of the virus to nasopharyngeal carcinoma In: Epstein MA, Achong BG. Epstein Barr Virus Eds. Springer-Verlog. New York. 1979
- 50.- Marc Lipinsky y Leonard Herzenber.: Los Hibridomas y sus aplicaciones. Mundo Científico 1:864-874,1984
- 51.- Mecune J.M., FU SH., Kunkel H.G., J Chain.: Biosynthesis in pre-B and other possible precursor B cells. J Exp Med 78:138-145,1981
- 52.- Melvyn F. Greaves.: Analysis of clinical and biological significance of lymphoid phenotypes in acute leukemia. Cancer Research 41:4752-4766,1981
- 53.- Milstein César.: Anticuerpos Monoclonales. Investigación y Ciencia 12:100-109,1980
- 54.- Munro Neville A., Ph.D.M., FRC Path, Christopher S. Foster, BSc, MB, BS, Vidianos Moshakis, MS, FRCS, and Martin Gore, ME, BS, MRCP.: Monoclonal antibodies and human tumor pathology 13:1067-1081,1982
- 55.- Nadler L.M., Ritz J., Bates M.P. et.al.: Induction of human B-cell antigens in non-T cell acute lymphoblastic leukemia. J Clin Invest 70:433-442,1982
- 56.- Nathwani B.N., Diamond L.W., Winberg C.D. et.al.: Lymphoblastic lymphoma. A clinicopathologic study of 95 patients. Cancer 48:2347-2357,1981
- 57.- Neiman P.E., Jordan L., Weiss R.A., Payne L.N.: Malignant lymphoma of the Bursa of Fabricius. Analysis of early transformation in essex . Toadaro G., Zor Hausen H. Eds. Ney York: 519-528,1980

- 58.- O'Donnell J.F., Brereton H.D., Greco F.A., et.al.: Acute Non-lymphocytic leukemia and acute myeloproliferative syndrome following radiation therapy for Non-Hodg - King's lymphoma and Chronic lymphocytic leukemia clinical studies. Cancer 44:1930,1979
- 59.- Paul A. Marks.: Genetically Determined susceptibility to cancer. Blood 58:415-419,1981
- 60.- Paul D. Stolley., Patricia L. Hibberd.: Drugs. Cancer Epidemiology and Prevention. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 304-315,1982
- 61.- Polesz B.J., Ruscetti F.W., Gazdar A.F., Bunn P.A., Minna J.D., Gallo R.C.: Detection and isolation of type-C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. Proc Natl Acad Sci USA 77:7415-7419,1980
- 62.- Reaman G.H., Levin N., Muchnoff A., Holiman B.J., Poplack D.G.; Diminished lymphoblast 5'-nucleotidase activity in acute lymphoblastic leukemia with T-cell characteristics. N Engl J Med 300:1374,1979
- 63.- Reinherz E.L., King P.C., Goldstein G., Levey R.H., Schlossman J.F.; Discrete stage of human intrathymic differentiation. Analysis of normal and leukemic lymphoblasts of T-cell lineage. Proc Natl Acad Sci USA 77: 1588-1592,1980
- 64.- Robbins Stanley L., M.D., Cotran Ramzi S., M.D., Kumar Vinay., M.D.: Pathologic basis of disease. W.B. Saunders Company. Philadelphia. 1984

- 65.- Robert C. Gallo and Flossie Wong-Staal.: Retroviruses as etiologic agents of some animal and human leukemias and lymphomas and as tool for elucidating the molecular mechanism of leukemogenesis. Blood 60:545-557,1982
- 66.- Sallan S.E., Ritz J., Pesado J., et.al.: Cell surface antigens. Prognostic implications in childhood acute - lymphoblastic leukemia. Blood 55:395-402,1980
- 67.- San Miguel J.F., M. González M.D. Caballero.: Anticuerpos Monoclonales en Medicina. Medicine 38:68-77,1984
- 68.- Schoroff R.W., Foon K.A., Billing R.J., Fahey J.L.: Immunology classification of lymphocytic leukemia based on monoclonal antibody defined cell surface antigens. Blood 59:207-215m1982
- 69.- Smith J.F., Poplack D.C., Holiman B.J., Levinthal B.C., Yarbro G.: Correlation of adenosine deaminasa activity with cell surface markers in acute lymphoblastic leukemia. J Clin Invest 62:710,1978
- 70.- Stites Daniel P., H. Hught Fudenberg., John D. Stobo., J. Vivian Wells.: Inmunología Básica y Clínica. Ed. El Manual Monderno S. A. México, D. F. 1983
- 71.- Thiel.: Monoclonal Antibodies against differentiation antigens of linphopoiesis. Blut. 1983
- 72.- Tidman N. Janossy G. Bodger M. et.al.: Delineation of human thymocyte differentiation pathwas utilising double staining techniques with monoclonal antibodies. Clin Exp Immunol 45:457,1981

- 73.- United nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. Sources and effects of ionizing radiation. Report to the General Assembly with Annexes. New York. 1977
- 74.- Vázquez Lazcano Ma. Teresa. Importancia de la Biometría Hemática en el diagnóstico de la leucemia aguda. Estudio en 134 pacientes en el C.M.N. del I.M.S.S. U.F.M. México, D. F. 1983
- 75.- Veltri R.W., Raich P.C.: Lymphomatoid granulomatosis and Epstein Barr Virus. Cancer 50:1513-1517,1982
- 76.- Vogler L.S., Crist W.M., Sarrif A.M. et. al.: An analysis of clinica and laboratory features of acute lymphocytic leukemias with emphasis on 35 children with pre-B leukemia. Blood 58:135-140,1981
- 77.- Watanabe T., Seiki M., Yoshida M.: Retrovirus terminology. Science 222:1178,1983
- 78.- Watanabe S. Tsutsumi Y., Shimosato Y., et. al.: Terminal deoxynucleotidil transferasa activity in leukemia and lymphoma with special reference to adult T-cell related neoplasma. ACTA Haerat JPA 48:139-149,1980
- 79.- Williams William J., M.D., Beutler Ernest, M.D., Erley Allan J., M.D., Marshall A. Lichtman., M.D.: Hematology Mc Graw Hill Book Company. New York.1983
- 80.- Wintrobe, M.M.: Clinical Hematology. Lea & Febiger. Philadelphia.1961.1967

- 81.- Wondu W-ide Miriam M.S., and JAMES B. Peter., M.D.,  
Ph.D.: Recent diagnostic advances in cellular immuno  
logy. Diagnostic Medicine.25-34,1984
- 82.- Yasuhiko-Kaneko., Janet D., Row Ley., Diana Variakojis.  
Robert R. Chilcote., John W. Moohr., and Darsha Patel:  
Chromosome abnormalities in Dow's syndrome patient  
with acute leukemia. Blood 58:459-466,1981