

## Expresión de CD19 y CD22 en pacientes con leucemia linfoblástica aguda: relación con la edad y variantes morfológicas

Calderón-García J<sup>2</sup>, Ramos-Peñañiel CO<sup>1,2,3</sup>, Palmeros-Morgado G<sup>4</sup>, Rozen-Fuller E<sup>5</sup>, Santoyo-Sánchez A<sup>1,2</sup>, Mendoza-García E<sup>4</sup>, Olarte-Carrillo I<sup>3</sup>, Martínez-Tovar A<sup>3</sup>, Collazo-Jaloma J<sup>5</sup>

### Resumen

**ANTECEDENTES:** la citometría de flujo es una herramienta diagnóstica aplicada en casos de leucemia linfoblástica aguda para identificar los marcadores de las clonas neoplásicas y clasificar la estirpe y grado de maduración.

**OBJETIVOS:** establecer la frecuencia de expresión de los marcadores CD19 y CD22 e identificar si existe variación de expresión entre los diferentes grupos de edad.

**MATERIAL Y MÉTODO:** estudio retrospectivo, transversal, observacional, basado en los registros de pacientes atendidos de julio de 2009 a junio de 2015 con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda *de novo*. Las muestras para inmunofenotipo por citometría de flujo fueron médula ósea o sangre periférica en pacientes con hiperleucocitosis o difícil toma de médula ósea; las muestras debían contener más de 20% de blastos.

**RESULTADOS:** se estudiaron 208 casos, con media de edad de 32 (2-88) años. El 68% (n=141) fueron muestras de médula ósea y el resto de sangre periférica (32%, n=67). Se identificó que 193 casos (93%) mostraban inmunofenotipo de línea B, 12 de estirpe T (5.5%) y 3 fueron no clasificables (1.5%). La variante B común fue el fenotipo más frecuente en todos los grupos de edad. El 90% de los casos (n=176) fueron CD22+, con media de expresión de 63%. El 91% (n=179) fue CD19+, con media de expresión de 76%. La edad no influyó en la expresión de estos marcadores (p>0.05).

**CONCLUSIONES:** los marcadores celulares analizados se expresaron frecuentemente, sin afectarse por la edad del paciente. Es indispensable la realización del inmunofenotipo en los pacientes con leucemia linfoblástica aguda para ofrecerles tratamientos altamente específicos.

**PALABRAS CLAVE:** antígenos de superficie, antígenos CD19, leucemia-linfoma linfoblástico de células precursoras, citometría de flujo, grupos de edad.

<sup>1</sup> Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

<sup>2</sup> Servicio de Hematología.

<sup>3</sup> Laboratorio de Biología Molecular.

<sup>4</sup> Laboratorio de Hematología-Área diagnóstica: Citometría de flujo.

<sup>5</sup> Laboratorio de Hematología-Área diagnóstica: Morfología.

Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga, Ciudad de México, México.

**Recibido:** febrero 2017

**Aceptado:** abril 2017

### Correspondencia

Dr. Christian Omar Ramos Peñañiel  
leukemiaCHOP@hotmail.com

### Este artículo debe citarse como

Calderón-García J, Ramos-Peñañiel CO, Palmeros-Morgado G, Rozen-Fuller E y col. Expresión de CD19 y CD22 en pacientes con leucemia linfoblástica aguda: relación con la edad y variantes morfológicas. Hematol Mex. 2017 abr;18(2):58-67.

Rev Hematol Mex. 2017 Apr;18(2):58-67.

## CD19 and CD22 expression in patients with acute lymphoblastic leukemia: relationship with age and morphological variants.

Calderón-García J<sup>2</sup>, Ramos-Peñafiel CO<sup>1,2,3</sup>, Palmeros-Morgado G<sup>4</sup>, Rozen-Fuller E<sup>5</sup>, Santoyo-Sánchez A<sup>1,2</sup>, Mendoza-García E<sup>4</sup>, Olarte-Carrillo I<sup>3</sup>, Martínez-Tovar A<sup>3</sup>, Collazo-Jaloma J<sup>5</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** Flow cytometry is a diagnostic tool applied in cases of acute lymphoblastic leukemia (ALL) to identify markers in neoplastic clones and to classify the lineage and maturation degree.

**OBJECTIVES:** To establish the frequency of CD19 and CD22 expression and to identify if there is variation of expression between the different age groups

**MATERIAL AND METHOD:** A retrospective, cross-sectional, observational study based on the records of patients attended from July 2009 to June 2015 with diagnosis of *de novo* ALL. The samples for immunophenotype by flow cytometry were bone marrow or peripheral blood in patients with hyperleukocytosis or difficult to obtain bone marrow. Samples should contain >20% blasts.

**RESULTS:** A total of 208 cases were studied with a mean age of 32 (2-88) years old. The 68% (n=141) were samples of bone marrow and the rest of peripheral blood (32%, n=67). It was identified that 193 cases (93%) showed B-type immunophenotype, 12 of T-lineage (5.5%) and 3 were non-classifiable (1.5%). The common B variant was the most frequent phenotype in all age groups. The 90% (n=176) was CD22 +, with a mean expression of 63%. The 91% (n=179) was CD19+, with a mean expression of 76%. Age did not influence expression of these markers (p>0.05).

**CONCLUSIONS:** The analyzed cell markers were frequently expressed, unaffected by the patient's age. The immunophenotype in ALL patients is indispensable to offer them highly specific treatments.

**KEYWORDS:** antigens; surface antigens; CD19; precursor cell lymphoblastic leukemia-lymphoma; flow cytometry; age groups

<sup>1</sup> Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

<sup>2</sup> Servicio de Hematología.

<sup>3</sup> Laboratorio de Biología Molecular.

<sup>4</sup> Laboratorio de Hematología-Área diagnóstica: Citometría de flujo.

<sup>5</sup> Laboratorio de Hematología-Área diagnóstica: Morfología.

Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga, Ciudad de México, México.

### Correspondence

Dr. Christian Omar Ramos Peñafiel  
leukemiaCHOP@hotmail.com

### ANTECEDENTES

El tratamiento moderno de la leucemia linfoblástica aguda del adulto incluye la combinación de

diversos regímenes de quimioterapia, inmunoterapia y blancos moleculares. A pesar de esto, la supervivencia se mantiene por debajo de 40% en la mayor parte de los protocolos, en especial

en los adultos mayores.<sup>1</sup> Aunque la remisión completa (RC) se consigue en la mayoría de los pacientes, es por breve tiempo debido a la existencia de factores de mal pronóstico (edad, cuenta de leucocitos, cariotipo).<sup>2</sup> La citometría de flujo es una herramienta diagnóstica aplicada en la mayor parte de las enfermedades hematológicas, se basa en el análisis cuantitativo de estructuras celulares, compartimientos y funcionalidad celular.<sup>3</sup> En leucemias se utilizan diversos anticuerpos monoclonales unidos a fluorocromos que en un corto tiempo pueden dar información de la coexpresión de diversos antígenos en las membranas celulares.<sup>4,5</sup> Para el diagnóstico de las leucemias se necesita un panel que permita distinguir la estirpe mieloide y linfóide (MPO, CD3, CD79a) para posteriormente adicionar marcadores que permitan conocer el estadio de maduración.<sup>6,7</sup> En el caso de leucemia linfoblástica aguda estirpe B (LLA-B) se requiere la coexpresión de al menos dos de los antígenos más tempranos de línea B (CD19, CD22 y CD79a), clasificándose de acuerdo con el estadio madurativo de las células neoplásicas en cuatro subgrupos diferentes: a) leucemia linfoblástica aguda pro B o B1, b) leucemia linfoblástica aguda común o B2, c) leucemia linfoblástica aguda pre B o B3, d) leucemia linfoblástica aguda madura o B4 (**Cuadro 1**).<sup>8,9</sup> La variedad B común es el fenotipo más frecuente en niños y en adultos y representa cerca de 70% de los casos.<sup>10,11</sup> La variante B madura es el subtipo menos frecuente en adultos (5-15%), se asocia principalmente en adolescentes con la variedad de linfoma/leucemia de Burkitt [t(8;14)(q24;q32)].<sup>12,13</sup> Otros marcadores que se expresan con frecuencia alta sobre la superficie de los blastos linfoides son el CD22 y el CD19, por ello en los últimos años se han vuelto una nueva diana terapéutica para el tratamiento de las leucemias.<sup>14,15</sup> Entre ellos, el que ha adquirido mayor interés es blinatumomab (antígeno bi-específico anti-CD19 y anti-CD3) debido a los resultados obtenidos en pacientes resistentes a diversos ciclos de quimioterapia y al trasplante de progenitores hematopoyéticos.<sup>16</sup>

En este contexto, el objetivo principal de este estudio fue establecer la frecuencia de expresión de los principales marcadores de superficie (CD19 y CD22) implicados en el tratamiento de leucemia linfoblástica aguda e identificar si existe variación de expresión entre los diferentes grupos de edad.

## MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo, transversal, observacional y explicativo, basado en los registros de pacientes atendidos en el Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga de julio de 2009 a junio de 2015. Se estudiaron muestras de pacientes con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda *de novo* acorde con los criterios morfológicos de la Asociación Franco-Américo-Británica (FAB). El diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda se realizó a través del barrido de médula obtenida por punción o impronta de hueso.

Las muestras para realizar inmunofenotipo fueron aspirado de médula ósea, salvo los casos que tuvieron dificultades para realizar el aspirado, o que manifestaron hiperleucocitosis, en los que se optó por usar sangre periférica para realizar el inmunofenotipo. Las muestras se obtuvieron previo al inicio de quimioterapia e independientemente del tipo de muestra usada para citometría de flujo, a todos los pacientes se les realizó venopunción para la obtención de sangre periférica a fin de realizar biometría hemática y frotis para conteo de blastos.

Una vez obtenido el inmunofenotipo se aplicaron los criterios de clasificación del grupo EGIL (*European Group for the Immunological Classification of Acute Leukemias*). **Cuadro 1**

### Análisis de las muestras

Para el análisis de las muestras se utilizaron 3 mL de sangre periférica o de médula ósea,

**Cuadro 1.** Clasificación inmunofenotípica de las leucemias linfoblásticas agudas según el grupo EGIL

| Línea | Subtipo            | Características fenotípicas                            |
|-------|--------------------|--|
| LLA-B | Pro B (B I)        | CD19+, CyCD79+ o CD22+, CD10-, Cylgμ-, slgM- (o todas) |
|       | Común (B II)       | CD10+, Cylgμ-, slgM-                                   |
|       | Pre B (B III)      | Cylgμ+, slgM-  |
|       | B (IV)             | slgM-  |
| LLA-T | Pro T (T I)        | CD7+, CyCD3+   |
|       | Pre T (T II)       | CD7+, CyCD3+, CD2+ o CD5+ o CD8+ (o todas)             |
|       | T cortical (T III) | CD7+, CyCD3+, CD1a+                                    |
|       | T medular (T III)  | CD3+ y CD1a; CD7+                                      |

manteniéndose a temperatura de 22°C y usando EDTA como anticoagulante. La muestra óptima para el análisis era aquella con conteo inicial de leucocitos de al menos 2,000 células y rango mínimo de 20% de blastos. Se prepararon tubos Eppendorf con combinaciones específicas de anticuerpos marcados con fluorocromo (**Cuadro 2**) en los que se depositaron 100 μL de muestra a cada uno. La muestra se homogeneizó y conservó en oscuridad a temperatura ambiente durante 15 minutos para posteriormente trasladar al preparador de muestras TQ-Prep Workstation (Beckman Coulter Inc., California, Estados Unidos). Las preparaciones se analizaron en el citómetro de flujo (FC 500 Beckman Coulter Inc., California, Estados Unidos).

Para los antígenos intracelulares, se mezclaron en tubo Eppendorf 100 μL de muestra y 100 μL de reactivo IntraPrep (Beckman Coulter Inc., California, Estados Unidos), reposando durante cinco minutos en cámara oscura para posteriormente añadir los anticuerpos intracelulares (**Cuadro 2**). Tras un reposo de 15 minutos en la cámara oscura las muestras se lavaron con 4 mL de PBS y resuspendieron en 500 μL de PBS, fijadas con formaldehído y pasadas a lectura al citómetro mencionado.

**Cuadro 2.** Panel de inmunofenotipo usado

| Linaje | Marcadores                         |
|--------|------------------------------------|
| B      | CD45, CD10, CD19, CD20, CD22, CD34 |
| T      | CD45, CD3, CD5, CD7, CD34          |

Intracitoplasmáticos: MPO, CD79a, CD3, TdT.

### Análisis estadístico

Se utilizó el programa estadístico IBM SPSS versión 20.0 (IBM Corp., Armonk, Nueva York, Estados Unidos). El análisis inicial fue la descripción de medias de los diferentes marcadores, la diferencia de medias se realizó mediante la prueba t de Student, se consideró significativo un valor de p menor de 0.05 (IC95%). Posteriormente la diferencia de las medias de expresión inter e intragrupos de edad se realizó con ANOVA de una vía.

## RESULTADOS

### Características generales de los pacientes y muestras

Se estudiaron 208 casos, 51% (n= 107) correspondió al género masculino. La media de edad fue de 32 años (límites: 2 a 88 años), fue ligeramente mayor en el género femenino (36 años [intervalo: 4-88]) en comparación con el género masculino (29 años [intervalo: 2-70]). Al realizar la diferencia de la media de edad entre los géneros, se demostró una diferencia estadísticamente significativa (p=0.005, IC95%). Las características generales de los pacientes se describen en el **Cuadro 3**.

### Muestra para citometría

Alrededor de dos tercios de las muestras analizadas fueron de médula ósea (68%, n=141) y el resto de sangre periférica (32, n=67). En los frotis de muestras de médula ósea y sangre

**Cuadro 3.** Características generales de los pacientes y muestras analizadas (continúa en la siguiente columna)

| Característica                          | Núm. (%) |
|---|----------|
| <b>Género</b>                           |          |
| Masculino                               | 107 (51) |
| Femenino                                | 101 (49) |
| <b>Edad (media y límites)</b>           |          |
| 0 -11                                   | 11 (5)   |
| 11-20                                   | 45 (22)  |
| 21-30                                   | 58 (28)  |
| 30-60                                   | 76 (36)  |
| >60                                     | 18 (9)   |
| <b>Variedad morfológica (FAB)</b>       |          |
| FAB L1                                  | 5 (2.5)  |
| FAB L2                                  | 169 (81) |
| FAB L3                                  | 11 (5.5) |
| No clasificable                         | 23 (11)  |
| <b>Sitio de obtención de la muestra</b> |          |
| Sangre periférica                       | 67 (32)  |
| Médula ósea                             | 141 (68) |
| <b>Inmunofenotipo</b>                   |          |
| Fenotipo B                              | 193 (93) |
| Fenotipo T                              | 12 (5.5) |
| No clasificable                         | 3 (1.5)  |
| <b>Clasificación fenotípica</b>         |          |
| Pro B                                   | 10 (4.5) |
| Pre Pre-B (CALLA+)                      | 168 (81) |
| Pre B                                   | 3 (1.5)  |
| B madura                                | 12 (6)   |
| Pre T                                   | 10 (4.5) |
| T madura                                | 2 (1)    |
| No clasificable                         | 3 (1.5)  |
| <b>CD22</b>                             |          |
| Positivo                                | 176 (90) |
| Negativo                                | 20 (10)  |
| <b>CD19</b>                             |          |
| Positivo                                | 179 (91) |
| Negativo                                | 17 (9)   |
| <b>CD20</b>                             |          |
| Positivo                                | 42(21)   |
| Negativo                                | 154 (79) |

periférica se identificaron 79% (24-100%) y 79% (21-100%) de blastos, respectivamente ( $p=0.986$ , IC95%).

#### Muestra complementaria de sangre periférica

De las muestras de sangre periférica obtenida en todos los pacientes con fines de complemento diagnóstico, la media de leucocitos fue de 47.8 (0.1-900)  $\times 10^3/\mu\text{L}$ , ligeramente mayor ( $p=0.998$ , IC95%) para el grupo en el que la sangre periférica también fue el tipo de muestra para citometría: 61 (0.1-900)  $\times 10^3/\mu\text{L}$  vs 41.47 (0.1-423)  $\times 10^3/\mu\text{L}$  en grupo de médula ósea como muestra de inmunofenotipo. Al realizarse los extendidos sanguíneos tampoco existió diferencia de relevancia ( $p=0.320$ , IC95%) en la media de blastos identificados en los grupos por tipo de muestra usada para citometría: 14% (0-98%) sangre periférica vs 16% (0-98%) médula ósea.

#### Clasificación según la Asociación Franco-Américo-Británica (FAB)

El subtipo FAB más frecuente fue la variedad L2 (81%,  $n=169$ ), seguido de la variante L3 o Burkitt-like (5%,  $n=11$ ) y L1 (2%,  $n=5$ ). En la estratificación por edad y contrario a lo esperado, la variedad L1 fue la menos frecuente en el grupo de 0-10 años (18%), en su lugar la variedad L3 (27%) fue la más reportada en población pediátrica.

#### Resultado de inmunofenotipo

De las 208 muestras viables, 193 (93%) casos mostraban inmunofenotipo de línea B, 12 (5.5%) de estirpe T y tres casos (1.5%) no pudieron ser clasificables. Además, de todos los casos sólo 7 (3%) mostraron bifenotipo. La variedad B común (CALLA+) fue la más frecuente con 81% ( $n=168$ ), seguida de la variedad B-madura (CD20+/CD10-IgMs+) con 6% ( $n=12$ ).

### Asociación entre la clasificación de la Asociación Franco-Américo-Británica y el inmunofenotipo

La variante morfológica fue el subtipo L2 más frecuente en los inmunofenotipos de estirpe B (82% de todos los B), T (75% de todos los T), e incluso de los que mostraron bifenotipo (57%, n=4). En los casos no clasificables por inmunofenotipo la gran mayoría correspondía al subtipo L3 (67%, n=2).

### Asociación entre el inmunofenotipo y la edad

La variante B común se mantuvo como principal fenotipo desde la edad pediátrica hasta la del adulto mayor (0-10 años: 73%, 11-20: 82%, 21-30: 81%, 30-60: 82%, >60 años: 78%). La variante pre T fue más frecuente en los grupos entre 11 y 30 años, aunque debe considerarse el número reducido de muestras en comparación con la estirpe B. La distribución de la leucemia bifenotípica mostró un pico en el grupo de 21 a 30 años (43%, n=3) y posteriormente se mantuvo constante hasta la etapa de adulto mayor.

### CD22

La frecuencia de positividad de CD22 fue de 90% (n=176) con media de expresión de 63% (0-99.8%). Fue más frecuente en la variedad B común (93%). En las variantes T, sólo 3 casos (30%) mostraron expresión de CD22.

*Edad.* La frecuencia y media de expresión de CD22 se mantuvo constante sin mostrar diferencia significativa entre los grupos de edad ( $p=0.859$ ,  $F=0.032$ , IC95%). **Cuadro 4**

*Tipo de muestra.* No se encontró diferencia significativa ( $p=0.858$ ,  $F=0.344$ ) en la media de expresión entre muestras de sangre periférica (62%) y médula ósea (63%). **Figura 1A**

**Cuadro 4.** Media de expresión y positividad de acuerdo con el intervalo de edad

| Marcador                  | Límites de edad en años [n (%)] |              |              |              |              |
|---------------------------|---------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                           | 0-10                            | 11-20        | 21-30        | 30-60        | >60          |
| CD22 (media de expresión) | 41.8                            | 66.1         | 64.9         | 62.7         | 60.5         |
| Positivo                  | 7<br>(70)                       | 38<br>(90.5) | 50<br>(91)   | 66<br>(90.4) | 15<br>(93.8) |
| Negativo                  | 3 (30)                          | 4 (9.5)      | 5 (9)        | 7 (9.6)      | 1 (6.2)      |
| CD19 (media de expresión) | 48.6                            | 79.8         | 75.4         | 77.1         | 82.1         |
| Positivo                  | 7<br>(70)                       | 40<br>(95.2) | 50<br>(91)   | 67<br>(91.8) | 15<br>(93.8) |
| Negativo                  | 3 (30)                          | 2 (4.8)      | 5 (9)        | 6 (8.2)      | 1 (6.2)      |
| CD20 (media de expresión) | 4.8                             | 15.7         | 10.9         | 14.5         | 14.07        |
| Positivo                  | 0                               | 11<br>(26.2) | 9<br>(16.4)  | 19<br>(26)   | 3<br>(18.8)  |
| Negativo                  | 10<br>(100)                     | 31<br>(73.8) | 46<br>(83.6) | 51<br>(74)   | 13<br>(81.2) |

### CD19

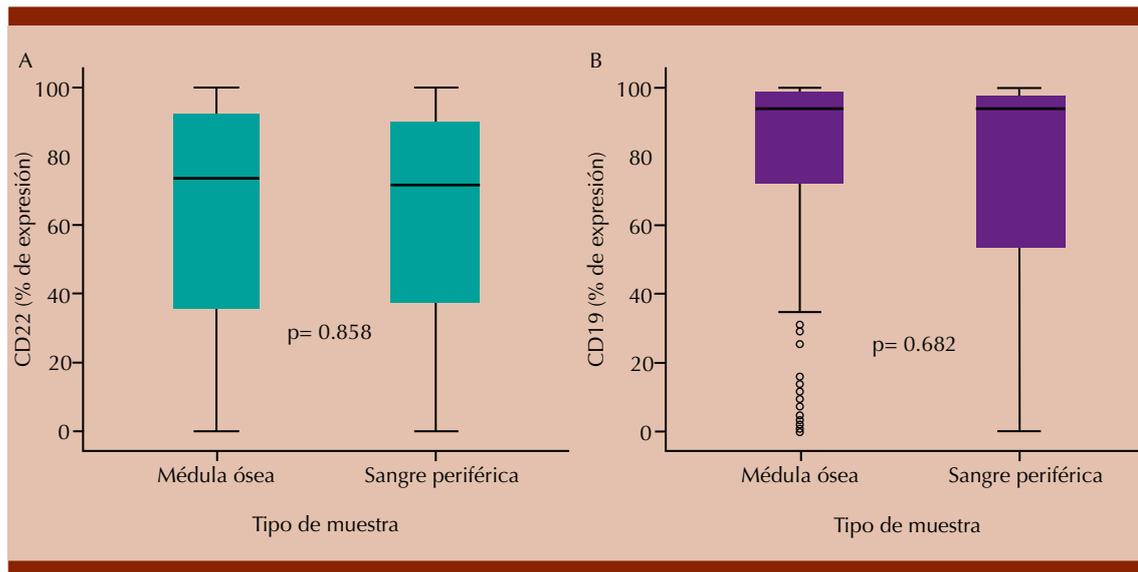
La frecuencia de positividad para CD19, excluyendo a las leucemias T, fue de 91% (n=179), con media de expresión de 76% (intervalo: 0-99.9%). La variedad en la que se observó con mayor frecuencia fue la variedad B común (96%). En las variantes T, sólo 3 casos (30%) mostraron expresión de CD19.

*Edad.* CD19 se expresó en casi todos los grupos de edad de manera importante, sin existir diferencia significativamente relevante en sus medias ( $p=0.689$ ,  $F=0.169$ , IC95%). **Cuadro 4**

*Tipo de muestra.* Las muestras de sangre periférica y médula ósea mostraron medias de expresión similares para el marcador, 75 vs 77%, respectivamente ( $p=0.682$ ,  $F=1.199$ ). **Figura 1B**

### CD20

El marcador CD20 se expresó débilmente en todos los grupos de edad, fue negativo en 151



**Figura 1.** Diferencia entre los niveles de expresión en los marcadores CD22 (A) y CD19 (B) en muestras de médula ósea y sangre periférica.

casos en total (72.5%), la distribución específica se describe en el **Cuadro 4**.

## DISCUSIÓN

La citometría de flujo se ha vuelto una herramienta indispensable no sólo para el diagnóstico, sino para la vigilancia de los casos de leucemia linfoblástica aguda. El conocimiento de estos marcadores de superficie ha permitido incorporar nuevas estrategias terapéuticas, como la inmunoterapia. Desde su autorización por la Dirección de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos (FDA) el anti-CD20 (rituximab) se ha incorporado al tratamiento de los linfomas y de leucemia linfoblástica aguda,<sup>17</sup> y desde entonces el arsenal terapéutico se ha incrementado notablemente: anticuerpos monoclonales no conjugados (ofatumumab, alemtuzumab, epratuzumab), anticuerpos monoclonales combinados con agentes citotóxicos (inotuzumab-ozogamicin y el SAR 3419) y anticuerpos biespecíficos (blinatumomab).<sup>18</sup> Inicialmente Thomas y colaboradores en el MD Anderson adicionaron rituximab al esquema Hyper-CVAD en pacientes

con leucemia linfoblástica aguda-B (CD20+, Ph-) lo que incrementó la duración de la remisión completa, en especial en población joven (95% a tres años),<sup>19</sup> y recientemente Maury y su grupo demostraron que su administración repercute positivamente en la supervivencia global.<sup>20</sup>

Acerca de CD22, Kantarjian y colaboradores evaluaron el efecto del anti-CD22 (inotuzumab-ozogamicin) en pacientes resistentes o en recaída identificando que la tasa de remisiones completas fue mucho mayor en el grupo del anti-CD22 en comparación con el grupo control (81 vs 29%); también mejoró la supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad.<sup>21</sup> El segundo anti-CD22 disponible es epratuzumab, prescrito en linfomas y en leucemias. Raetz y colaboradores evaluaron su eficacia en un estudio fase II en población pediátrica con leucemia resistente en la que su combinación con la quimioterapia a dosis de 360 mg/m<sup>2</sup> semanales no mostró ventaja sobre la tasa de remisiones completas o reducción de la enfermedad mínima residual en comparación con los registros históricos.<sup>22</sup> Otro estudio lo incorporó a un régimen de tratamiento

en pacientes ancianos resistentes o en recaída sin mostrar tampoco resultados significativos.<sup>23</sup> Pero tal vez el avance más significativo en la terapia biológica es el anticuerpo biespecífico blinatumomab (anti-CD19, anti-CD3), ensayos clínicos fase II evidencian incremento en la tasa de remisiones completas y supervivencia libre de enfermedad, aunque se han registrado eventos adversos neurológicos.<sup>24-26</sup>

En la población atendida en nuestra institución la variedad más frecuente de inmunofenotipo fue la B II (CD10+), dato semejante al reportado en otras series.<sup>27-31</sup> Posteriormente se estableció la frecuencia de expresión de los marcadores de superficie para los que se han desarrollado nuevas estrategias terapéuticas: CD19 y CD22;<sup>16,32</sup> la expresión de estos marcadores también fue similar a la reportada en otros estudios, descritos a detalle en el **Cuadro 5**.<sup>28-31,33-40</sup> A pesar de

no existir diferencias significativas entre los dos marcadores el grupo de CD19, mostró mayor cantidad de pacientes fuera de rango, a diferencia de CD22.

Al tratarse de un estudio retrospectivo, no fue posible controlar el tipo de muestra usado para el inmunofenotipo, el análisis de esta situación demostró que la expresión de marcadores es equiparable (**Figura 1**). Al respecto, Weinkauff y colaboradores compararon el uso de sangre periférica vs médula ósea con fines diagnósticos en leucemia linfoblástica aguda y concluyeron que ante la presencia de más de 30% de blastos en sangre, ambas muestras son de igual utilidad.<sup>41</sup> Rezaei y su grupo también afirman la utilidad de la sangre periférica en sustitución de médula ósea para la ejecución de inmunofenotipo (CD3, CD5, CD7, CD19, CD22, CD20, CD10).<sup>42</sup>

**Cuadro 5.** Diferencia de patrones de expresión de los diferentes marcadores de superficie en series de diversos países

| País                                 | Población            | Tamaño de la muestra (núm.) | Frecuencia de expresión de marcadores de superficie                                   |
|--------------------------------------|----------------------|-----------------------------|---|
| China <sup>33</sup>                  | Adultos              | 23                          | CD19 (100%), CD22 (39%), CD20 (30%), CD34+/ CD10- (90%)                               |
| Brasil <sup>34</sup>                 | Niños                | 118                         | CD10 (53%), CD33 (34%), CD13 (15%), CD15/CD65 (10%), CD123 (7%)                       |
| Turquía <sup>28</sup>                | Adultos              | 142                         | CD19 (100%), CD22 (97.6%), cCD79a (97.5%), HLA-DR (97.4%), CD10 (92.7%), CD20 (81.1%) |
| Polonia <sup>29</sup>                | Niños                | 125                         | CD10 (100%), CD20+/CD10+ (42.1%), CD22+/CD10+ (98.2%)                                 |
| Argentina <sup>35</sup>              | Adultos              | 364                         | CD19 (100%), CD79a (94%), CD22 (86%), CD20 (32%), CD10 (83%)                          |
| Estados Unidos, Dallas <sup>30</sup> | Adolescentes/adultos | 51                          | CD10 (86%), CD19 (57%), CD20 (53%), CD22 (68%), CD79a (21%)                           |
| Estados Unidos (CALGB) <sup>37</sup> | Adultos              | 259                         | CD19 (98%), HLA-DR (96%), CD22 (87%), CD38 (84%), CD10 (72%), CD20 (33%)              |
| Tailandia <sup>36</sup>              | Adultos              | 324                         | CD10 (83%), CD34 (87%),   |
| India <sup>38</sup>                  | Niños/aAdultos       | 160                         | CD10 (67%), CD22 (60%), HLA-DR (34%), CD79 (30%), CD19 (42%),                         |
| Alemania <sup>39</sup>               | Adultos              | 57                          | CD19 (100%), CD24 (66%), CD20 (5%), HLA-DR (93%), CD34 (58%)                          |
| Cuba <sup>31</sup>                   | Niños                | 238                         | CD10 (83.5%), PRO-B (10.3%), PRE-B (4.1%), B madura (2.1%)                            |
| Perú <sup>40</sup>                   | Niños/adultos        | 116                         | CD10 (12.7%), CD34 (38.1%), CD19+CD20-CD10- (14.3%), CD19+CD22+CD20- (3.2%)           |

## CONCLUSIÓN

Identificar la expresión de los marcadores de superficie de las células leucémicas no constituye únicamente un complemento diagnóstico, se ha tornado en un elemento de gran importancia para poder ofrecer a los pacientes esquemas de tratamiento altamente dirigido; CD19 y CD22 se expresaron frecuentemente en la población analizada sin que la edad altere su frecuencia de expresión.

## Agradecimientos

Este artículo fue realizado como parte de los proyectos desarrollados dentro del Programa Universitario de Especialidades Médicas (PUEM) de la Universidad Nacional Autónoma de México, sede Hospital General de México.

## REFERENCIAS

- Paul S, Kantarjian H, Jabbour EJ. Adult acute lymphoblastic leukemia. *Mayo Clin Proc* 2016;91:1645-66.
- Mathisen MS, Kantarjian H, Thomas D, O'Brien S, Jabbour E. Acute lymphoblastic leukemia in adults: encouraging developments on the way to higher cure rates. *Leuk Lymphoma* 2013;54:2592-600.
- Woo J, Baumann A, Arguello V. Recent advancements of flow cytometry: new applications in hematology and oncology. *Expert Rev Mol Diagn* 2014;14:67-81.
- van Dongen JJM, Orfao A. EuroFlow: Resetting leukemia and lymphoma immunophenotyping. Basis for companion diagnostics and personalized medicine. *Leukemia* 2012;26:1899-907.
- Donnenberg AD, Donnenberg VS. Rare-event analysis in flow cytometry. *Clin Lab Med* 2007;27:627-52.
- Ruiz-Argüelles A, Rivadeneyra-Espinoza L, Duque RE, Orfao A, Latin American Consensus Conference. Report on the second Latin American consensus conference for flow cytometric immunophenotyping of hematological malignancies. *Cytom Part B Clin Cytom* 2006;70B:39-44.
- Béné MC, Nebe T, Bettelheim P, Buldini B, Bumbea H, Kern W, et al. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. *Leukemia* 2011;25:567-74.
- Bikoue A, George F, Poncelet P, Mutin M, Janossy G, Sampol J. Quantitative analysis of leukocyte membrane antigen expression: Normal adult values. *Cytometry* 1996;26:137-47.
- Béné MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995;9:1783-6.
- Béné MC, Bernier M, Castoldi G, Faure GC, Knapp W, Ludwig WD, et al. Impact of immunophenotyping on management of acute leukemias. *Haematologica* 1999;84:1024-34.
- Aziz SA, Sharma SK, Sabah I, Jan MA. Prognostic significance of cell surface phenotype in acute lymphoblastic leukemia. *South Asian J cancer* 2015;4:91-4.
- Miles RR, Arnold S, Cairo MS. Risk factors and treatment of childhood and adolescent Burkitt lymphoma/leukaemia. *Br J Haematol* 2012;156:730-43.
- Khalidi HS, Chang KL, Medeiros LJ, Brynes RK, Slovak ML, Murata-Collins JL, et al. Acute lymphoblastic leukemia. Survey of immunophenotype, French-American-British classification, frequency of myeloid antigen expression, and karyotypic abnormalities in 210 pediatric and adult cases. *Am J Clin Pathol* 1999;111:467-76.
- Sikaria S, Aldoss I, Akhtari M. Monoclonal antibodies and immune therapies for adult precursor B-acute lymphoblastic leukemia. *Immunol Lett* 2016;172:113-23.
- Farhadfar N, Litzow MR. New monoclonal antibodies for the treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res* 2016;49:13-21.
- Hladnik L, Augustin K, DeFrates S. Advancements in therapy for acute lymphoblastic leukemia: Blinatumomab. *J Adv Pract Oncol* 2016;7:76-82.
- Batlevi CL, Matsuki E, Brentjens RJ, Younes A. Novel immunotherapies in lymphoid malignancies. *Nat Rev Clin Oncol* 2015;13:25-40.
- Daver N, O'Brien S. Novel Therapeutic strategies in adult acute lymphoblastic leukemia – A focus on emerging monoclonal antibodies. *Curr Hematol Malig Rep* 2013;8:123-31.
- Thomas DA, O'Brien S, Faderl S, Garcia-Manero G, et al. Chemoimmunotherapy with a modified hyper-CVAD and rituximab regimen improves outcome in *de novo* Philadelphia chromosome-negative precursor B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2010;28:3880-9.
- Maurly S, Chevret S, Thomas X, Heim D, Leguay T, Hugué F, et al. Rituximab in B-Lineage Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med* 2016;375:1044-53.
- Kantarjian HM, DeAngelo DJ, Stelljes M, Martinelli G, et al. Inotuzumab ozogamicin *versus* standard therapy for acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2016;375:740-53.
- Raetz EA, Cairo MS, Borowitz MJ, Lu X, Devidas M, Reid JM, et al. Re-induction chemoimmunotherapy with epratuzumab in relapsed acute lymphoblastic leukemia (ALL): Phase II results from Children's Oncology Group (COG) study ADVL04P2. *Pediatr Blood Cancer* 2015;62:1171-5.
- Chevallier P, Hugué F, Raffoux E, Etienne A, Leguay T, Isnard F, et al. Vincristine, dexamethasone and epratuzumab for older relapsed/refractory CD22+ B-acute lymphoblas-

- tic leukemia patients: a phase II study. *Haematologica* 2015;100:e128-31.
24. Topp MS, Gokbuget N, Zugmaier G, Klappers P, Stelljes M, Neumann S, et al. Phase II trial of the anti-CD19 bispecific T Cell-Engager blinatumomab shows hematologic and molecular remissions in patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2014;32:4134-40.
  25. Kantarjian HM, Stein AS, Bargou RC, Grande Garcia C, Larson RA, Stelljes M, et al. Blinatumomab treatment of older adults with relapsed/refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia: Results from 2 phase 2 studies. *Cancer* 2016;122:2178-85.
  26. Gökbüget N, Kelsh M, Chia V, Advani A, Bassan R, Dombret H, et al. Blinatumomab vs historical standard therapy of adult relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia. *Blood Cancer J* 2016;6:e473.
  27. Gujral S, Badrinath Y, Kumar A, Subramanian PG, Raje G, Jain H, et al. Immunophenotypic profile of acute leukemia: Critical analysis and insights gained at a tertiary care center in India. *Cytom Part B Clin Cytom* 2009;76B:199-205.
  28. Basturk A, Akinci S, Hacibekiroglu T, Guney T, et al. Prognostic significance of flow cytometry findings in Turkish adult acute leukemia patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015;19:3360-6.
  29. Sędek Ł, Balsa J, Sonsala A, Twardoch M, et al. The immunophenotypes of blast cells in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: How different are they from their normal counterparts? *Cytom Part B Clin Cytom* 2014;86:329-39.
  30. Chen W, Karandikar NJ, McKenna RW, Kroft SH. Stability of leukemia-associated immunophenotypes in precursor B-lymphoblastic leukemia/lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2007;127:39-46.
  31. Marsán Suárez V, Cos Padrón Y, Sánchez Segura M, Socarrás Ferrer BB, et al. Relevancia biológica y clínica del inmunofenotipaje celular en la leucemia linfocítica aguda del niño. *Rev Cuba Hematol Inmunol y Hemoter* 2008;24(1).
  32. Chevallier P, Eugene T, Robillard N, Isnard F, et al. 90Y-labelled anti-CD22 epratuzumab tetraxetan in adults with refractory or relapsed CD22-positive B-cell acute lymphoblastic leukaemia: a phase 1 dose-escalation study. *Lancet Haematol* 2015;2:e108-17.
  33. Li H-F, Meng W-T, Jia Y-Q, Jiang N-G, Zeng T-T, Jin Y-M, et al. Development-associated immunophenotypes reveal the heterogeneous and individualized early responses of adult B-acute lymphoblastic leukemia. *Medicine (Baltimore)* 2016;95:e4128.
  34. Oliveira E, Bacelar TS, Ciudad J, Ribeiro MCM, Garcia DRN, Sedek L, et al. Altered neutrophil immunophenotypes in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Oncotarget* 2016;7:24664-76.
  35. Novoa V, Núñez NA, Carballo OG, Lessa CF. [Aberrant immunophenotypes in acute leukemia in a Buenos Aires' hospital population]. *Medicina (B Aires)* 2013;73:9-16.
  36. Czuczman MS, Dodge RK, Stewart CC, Frankel SR, Davey FR, Powell BL, et al. Value of immunophenotype in intensively treated adult acute lymphoblastic leukemia: cancer and leukemia Group B study 8364. *Blood* 1999;93:3931-9.
  37. Udomsakdi-Auewarakul C, Promsuwicha O, Tocharoentanaphol C, Munhketvit C, Pattanapanyasat K, Issaragrisil S. Immunophenotypes and outcome of Philadelphia chromosome-positive and -negative Thai adult acute lymphoblastic leukemia. *Int J Hematol* 2003;78:337-43.
  38. Gupta A, Pal A, Nelson SS. Immunophenotyping in Acute Leukemia: A Clinical Study. *Int J Sci Study* 2015;3:129-36.
  39. Ludwig WD, Rieder H, Bartram CR, Heinze B, Schwartz S, Gassmann W, et al. Immunophenotypic and genotypic features, clinical characteristics, and treatment outcome of adult pro-B acute lymphoblastic leukemia: results of the German multicenter trials GMALL 03/87 and 04/89. *Blood* 1998;92:1898-909.
  40. Soriano-Villalobos I, Vásquez-Danjanovic E, Niquén-Fiestas S, Fernández-Infantes M, et al. Caracterización inmunofenotípica de leucemias agudas diagnosticadas en un Hospital Nivel III en el periodo 2010-2013, Chiclayo-Perú. *Rev cuerpo Médico HNAAA* 2015;8:5-8.
  41. Weinkauff R, Estey EH, Starostik P, Hayes K, et al. Use of peripheral blood blasts vs bone marrow blasts for diagnosis of acute leukemia. *Am J Clin Pathol* 1999;111:733-40.
  42. Rezaei A, Adib M, Mokarian F, Tebianian M, Nassiri R. Leukemia markers expression of peripheral blood vs bone marrow blasts using flow cytometry. *Med Sci Monit* 2003;9:CR359-62.