

Leucemia linfoblástica.

Criterios inmunológicos actuales.

Estudio de linfocitos y linfoblastos

Por:

PORFIRIO HERNANDEZ*, CARLOS CRUZ, JOSE CARNOT* ALEJANDRO GONZALEZ***,
EVA SVARCH*** y JOSE MANUEL BALLESTER******

Hernández, P. y otros. *Leucemia linfoblástica. Criterios inmunológicos actuales. Estudio de linfocitos y linfoblastos.* Rev Cub Med 20: 4, 1981.

En 21 pacientes con leucemia linfoblástica (LLA) se realizó el estudio inmunológico de linfocitos y linfoblastos. De acuerdo con el porcentaje de células blásticas en sangre periférica los casos se dividieron en dos grupos. En el primer grupo la cifra promedio de linfoblastos fue de 6,5% y la de linfocitos de 61%. En el 60% de los enfermos se encontró disminución de los valores relativos de los linfocitos T. En el segundo grupo el promedio de linfoblastos fue de 73%. Tres casos (27%) cumplieron el criterio establecido para la LLA tipo T. Se comenta la cinética de las poblaciones linfocitarias durante la evolución de las LLA. los criterios actuales sobre la clasificación inmunológica, y la importancia de realizar un estudio inmunológico lo más completo posible.

El desarrollo de nuevas técnicas inmunológicas ha permitido un mejor conocimiento de las características de los linfocitos. En el hombre se han estudiado dos tipos fundamentales de linfocitos: T y B. La cuantificación e investigación del estado funcional de estas poblaciones linfoides se ha realizado, tanto en condiciones normales como en diferentes estados morbosos.

Los métodos inmunológicos usados para diferenciar los linfocitos T y B se vienen aplicando desde 1970 en el análisis de las células leucémicas.^{1,2} Se ha podido comprobar que las leucemias linfoides agudas (LLA), en el aspecto inmunológico constituyen un grupo heterogéneo.²

De acuerdo con diferentes autores, del 15 al 25% de los pacientes con LLA tienen en los linfoblastos marcadores celulares de tipo T (LLA-T), mientras que en el 70-80% de los casos no puede demostrarse ningún tipo de marcador T o B en las células blásticas (LLA-nula).^{2,7}

Las características celulares de tipo B se han observado solamente en 1-3% de las LLA (LLA-B).^{2,4-8} La existencia de marcadores dobles (T y B) en los linfoblastos se ha señalado en raras ocasiones.^{2,5}

La clasificación inmunológica de las LLA se ha enfatizado teniendo en cuenta la importancia que se le ha concedido en relación con el pronóstico y la terapéutica.⁷

En el presente trabajo se analizan las características inmunológicas de los linfocitos y linfoblastos de la sangre periférica de 21 pacientes con LLA, estudiados en la fase inicial de la enfermedad.

Licenciado en Biología. Departamento de inmunología

12 Médico especialista. Clínica de adultos.

*** Médico especialista. Clínica pediátrica.

14 Jefe del departamento de inmunología.

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron 21 pacientes con LLA (4 adultos y 17 niños) atendidos en el Instituto de Hematología e Inmunología. Todos los casos estaban en la fase inicial de la enfermedad y no habían recibido tratamiento con citostáticos ni con corticosteroides.

El diagnóstico citomorfológico se realizó en extensiones de sangre periférica y médula ósea coloreadas con May-Grünwald-Giemsa. En algunos casos se utilizaron coloraciones citoquímicas (peroxidasa, sudán y PAS).

La clasificación morfológica se hizo según las recomendaciones del grupo franco-americano-británico (FAB).⁸

Las células mononucleadas (linfocitos + linfoblastos) se obtuvieron de sangre venosa heparinizada, por medio de un gradiente de Ficoll-Telebrix (Laboratoires Andre Guerbert, France)."

La cuantificación de las células formadoras de rosetas espontáneas (rosetas E) y de rosetas inmunes con hematíes recubiertos con anticuerpos y complemento (rosetas EAC) se realizó por las técnicas de Bach y Stjernswárd respectivamente.¹¹¹ En cada caso se contó un mínimo de 200 células mononucleadas y se evaluó como célula formadora de rosetas a aquella que se unía a tres o más eritrocitos. En la realización de las rosetas EAC se utilizó el suero humano como fuente de complemento (determinación de receptores Ca_v). Todas las pruebas se hicieron por duplicado.

El recuento de leucocitos y el diferencial se hicieron simultáneamente con el objetivo de poder calcular los valores absolutos de las células T y con receptores para Cu.

Los pacientes se dividieron en dos grupos de acuerdo con el porcentaje de células blásticas en sangre periférica.

En el grupo 1 se incluyeron los casos con menos de 50% de linfoblastos. Los pacientes con un porcentaje de linfoblastos igual o mayor de 50 se pusieron en el grupo 2.

Los valores obtenidos en el grupo 1 se compararon con los de un grupo control constituido por 20 adultos sanos.

En el grupo 2 las leucemias se evaluaron como T o con aumento de receptores para C^T cuando 50% o más de las células mononucleadas formaban rosetas E o EAC.

RESULTADOS

En el grupo 1 se estudiaron 10 niños (6 varones y 4 hembras) con edades comprendidas entre 2 y 12 años (promedio 5 años). Los resultados obtenidos se muestran en el cuadro I. La cifra media de leucocitos fue de $6,3 \times 10^3/\text{mm}^3$. El porcentaje promedio de linfocitos fue de 61% con un rango que varió de 25 a 99%. El valor promedio de linfoblastos fue de 6,5% y solamente en un caso se observó un número mayor de 10%. En seis casos (60%) las células T estaban disminuidas en porcentaje. Sin embargo, en valores absolutos solamente lo estaban en dos pacientes. Las células formadoras de rosetas EAC se encontraron descendidas en porcentaje sólo en un enfermo y en valores absolutos en dos (figura).

La comparación de los valores promedios de los linfocitos, rosetas E y EAC de los enfermos con los del grupo control se muestra en el cuadro II. En la LLA se observó una disminución significativa del porcentaje de linfocitos T, sin embargo, cuando estos linfocitos se analizaron en valores absolutos estaban normales. Las células formadoras de rosetas EAC eran normales tanto en valores relativos como absolutos.

Atendiendo al porcentaje de linfocitos T los pacientes del grupo 1 se clasificaron en dos subgrupos: con linfocitos T disminuidos y con linfocitos T normales. La comparación de ambos subgrupos se presenta en el cuadro III. Se notó una

CUADRO I

ESTUDIO INMUNOLOGICO DE LOS LINFOCITOS EN LA SANGRE PERIFERICA DEL GRUPO I

Caso	Edad (años)	Sexo	Leucocitos		Linfocitos		Blastos		Células mononucleadas		Roseta E		Rosetas EAC		Tipo*
			$\times 10^3/\text{mm}^3$	%	$\times 10^3/\text{mm}^3$	%	$\times 10^3/\text{mm}^3$	%	$\times 10^3/\text{mm}^3$	%	$\times 10^3/\text{mm}^3$	%	$\times 10^3/\text{mm}^3$		
1	7	F	4,9	68	3,3	5	0,2	3,5	53	1,9	12	0,4	L1		
2	3	F	5,0	82	4,1	1	0,05	4,2	63	2,6	15	0,6	L2		
3	7	F	2,4	55	1,3	4	0,1	1,4	80	1,1	20	0,3	L1		
4	7	F	2,4	25	0,6	5	0,1	0,7	48	0,3	24	0,2	L1		
5	2	F	4,9	99	4,8	1	0,05	4,9	57	2,8	4	0,2	L1		
6	12	M	5,0	32	1,6	5	0,3	1,8	66	1,2	30	0,6	L3		
7	2	M	22,0	53	11,7	32	7,0	18,7	25	4,6	12	2,2	L2		
8	5	M	8,3	80	6,6	10	0,8	7,4	21	1,5	62	4,6	L1		
9	4	M	5,1	46	2,3	2	0,1	2,4	24	0,6	13	0,3	L1		
10	2	M	3,5	69	2,4	0	0,0	2,4	43	1,0	23	0,6	L1		
Controles															
media \pm SD			6,6 \pm 1,2	35 \pm 7,0	2,4 \pm 0,7	—	—	—	63 \pm 5,5	1,5 \pm 0,4	25 \pm 6,2	0,6 \pm 0,2			
rango			(5-10)	(16-46)	(1,2-3,7)	—	—	—	(55-75)	(0,7-2,3)	(10-33)	(0,3-1,1)			

* Clasificación morfológica de acuerdo con el grupo FAB.

ROSETA E

ROSETA EAC

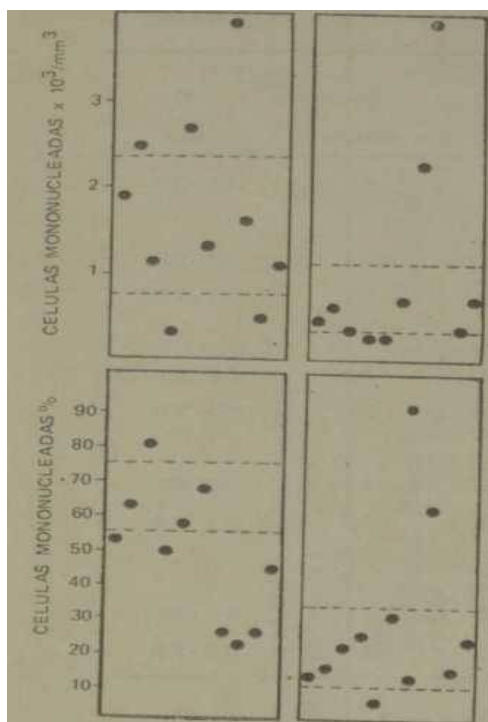


Figura. Valores relativos y absolutos de las subpoblaciones linfoides en el grupo 1.

tendencia a cifras mayores de leucocitos, blastos y células formadoras de rosetas EAC en el grupo con linfocitos T bajos, aunque sin significación estadística.

En el grupo 2 habían cuatro adultos (tres hombres y una mujer) con un promedio de edad de 40 años (rango 25-54 años) y siete niños (3 varones y 4 hembras) con edades comprendidas entre 2-15 años (promedio 6,3 años). La cifra promedio de leucocitos fue de $52 \times 10^3/\text{mm}^3$. El número de linfoblastos varió de 57 a 96% con una media de 73% y el de linfocitos de 2-34% con un promedio de 16,5%. Tres casos (27%) cumplieron el criterio establecido para el diagnóstico de LLA-T. En ningún estudio se encontró aumento de rosetas EAC (cuadro IV).

CUADRO II

VALORES PROMEDIOS
DE LAS SUBPOBLACIONES
LINFOIDES EN EL GRUPO 1

Características de los linfocitos	Sujetos normales	LLA Grupo 1	P
Linfocitos			
%	$35 \pm 7,0$	61 ± 23	< 0,001
$\times 10^3/\text{mm}^3$	$2,4 \pm 0,7$	$3,9 \pm 3,2$	NS
Roseta E			
%	$63 \pm 5,5$	48 ± 20	< 0,01
$\times 10^3/\text{mm}^3$	$1,5 \pm 0,4$	$1,8 \pm 1,3$	NS
Roseta EAC			
%	$25 \pm 6,2$	22 ± 16	NS
$\times 10^3/\text{mm}^3$	$0,6 \pm 0,2$	$1,0 \pm 1,3$	NS

NS: no significativo.

El aumento del mediastino solamente se observó en una paciente de 14 años con resultados muy bajos de las rosetas E y EAC. De los casos clasificados como T, uno pertenecía al sexo femenino y el resto al masculino. Los tres pacientes hicieron remisión completa y han mantenido buena evolución.

DISCUSION

Los linfocitos y linfoblastos de 21 enfermos con LLA se estudiaron en la fase inicial de la leucemia, mediante marcadores para las células T y B.

En el primer grupo la enfermedad se caracterizó por ausencia de leucocitosis en la mayoría de los casos y una proporción muy pequeña de linfoblastos circulantes (promedio 6,5%). Por el contrario, en el grupo 2 la leucemia mostró una evolución clínica más grave, con leucocitosis considerable y linfoblastosis alta (promedio 73%),

CUADRO III

	Linfocitos T bajos (n = 6)		Linfocitos T normales (n = 4)	
	media	rango	media	rango
Leucocitos ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	7,7	2,4 - 22	4,3	2,4-5,0
Linfocitos				
%	57	25-80	67	32-99
$\times 10^3/\text{mm}^3$	4,8	0,6-12	3,0	1,3-4,8
Blastos				
%	9,0	0-32	3,0	1,0-5,0
$\times 10^3/\text{mm}^3$	1,4	0-7,0	0,1	0,05 - 3,0
Linfocitos T				
%	36	21-53	67	57-80
$\times 10^3/\text{mm}^3$	1,7	0,3-4,6	1,9	1,1 -2,8
Linfocitos con receptores para C_{3b}				
%	24	12-62	17	4,0 - 30
$\times 10^3/\text{mm}^3$	1,4	0,2-4,6	0,4	0,2-0,6

En el grupo 1 la población mixta de células mononucleares puede considerarse una expresión de los linfocitos de los pacientes, mientras que en el grupo 2 representa fundamentalmente a los linfoblastos. En la literatura se han realizado estudios tomando como base la formación de grupos similares.²

Numerosas publicaciones informan las características T o B de los linfoblastos en las LLA. Sin embargo, existen menos comunicaciones acerca de las propiedades de los linfocitos en esta enfermedad.^{2,12-19} Los linfocitos T y B se han evaluado en la fase inicial de la enfermedad, durante los períodos de inducción, remisión, mantenimiento y después de la supresión de las drogas citostáticas.

En la etapa inicial de la enfermedad, antes de que se inicie ningún tipo de terapéutica mielosupresora, los linfocitos T se han encontrado normales o disminuidos. Los linfocitos B durante este período se han

observado disminuidos, normales o aumentados.^{13,15}

De acuerdo con la proporción de linfocitos T circulantes, existen estudios que han agrupado a los pacientes según los linfocitos T estuvieran, durante esta fase, disminuidos o normales.¹³ Pudo observarse que los pacientes con linfocitos T bajos, presentaban cifras mayores de leucocitos, más blastos en periferia y un pronóstico peor que los enfermos con linfocitos T normales.

Los valores informados en nuestra casuística concuerdan con este trabajo, a pesar del pequeño número de casos que hemos estudiado y los límites establecidos para los valores de la roseta E.

En nuestro trabajo se incluyó en el grupo con linfocitos bajos a todo paciente con cifras de rosetas E menores de 55%, mientras que en el estudio antes citado solamente se incorporaron a este grupo a los casos con roseta E por debajo del 30%.¹³

CUADRO IV

ESTUDIO INMUNOLOGICO DE LOS LINFOBLASTOS EN LA SANGRE PERIFERICA DEL GRUPO 2

Edad	Sexo	Leucocitos $\times 10^3/\text{mm}^3$	Blastos %	Linfocitos %	Células mononucleadas $\times 10^3/\text{mm}^3$	Roseta E %	Roseta E $\times 10^3/\text{mm}^3$	Roseta EAC %	Roseta EAC $\times 10^3/\text{m}$
3	M	185,0	96	2	181,3	2	3,6	23	41,6
6	M	12,4	60	31	11,2	37	4,1	13	1,4
4	F	150,0	74	10	126,0	2	2,5	3	3,8
6	M	13,4	76	11	11,6	0	0,0	17	1,9
5	M	10,9	64	34	10,6	40	4,2	7	0,7
4	F	97,0	88	2	87,3	28	24,4	6	5,2
5	M	24,7	57	10	16,5	34	5,6	13	2,1
3	M	48,7	81	19	48,7	27	13,1	32	15,5
4	F	13,6	59	31	12,2	50	6,1	21	2,5
8	M	7,4	90	1	6,7	68	4,5	4	0,3
2	M	10,2	60	31	9,3	72	6,7	27	2,5

CUADRO V

TIPOS DE LLA DE ACUERDO CON LOS DISTINTOS MARCADORES CELULARES

Tipo de LLA	LLA(-f)	Fe	C3	AT	E(+)	FAC	IgS
LLA-0	+	—	—	—	—	—	—
LLA-0	+	+	+	-	—	+	—
LLA-O/T	+	+	+	+	—	±	—
LLA-Pre T							
(E)		+	+	+	-	+	-
LLA-TI (E ⁺)	-	+	+	+	+	+	—
LLA-T	-	-	-	+	+	+	—
LLA-B	-	+	+	-	—	—	+

LLA -f = antígenos asociados a la LLA-0; Fe = receptor para Fe; C3 = receptor para C3; AT = antígenos T; E(+) = formación de rosetas E; FAC = fosfatasa ácida celular; IgS = inmunoglobulinas de superficie.

Durante el tratamiento de inducción se ha observado una linfopenia progresiva, con depresión mayor de los linfocitos B.¹⁹

En el período de remisión los linfocitos T se han encontrado disminuidos, normales o elevados; igual ha sucedido con los linfocitos B.¹⁷

Se ha señalado que cuando se alcanza la remisión, los linfocitos T que estaban bajos tienden a normalizarse, mientras que los que estaban normales, tienden a mantenerse así. Parece que los linfocitos B aumentan durante la remisión, mostrando un amplio rango de distribución.¹³⁻¹⁹

Después de la radioterapia craneal profiláctica de la infiltración leucémica del sistema nervioso central (SNC), se encontró que disminuían ambos tipos de linfocitos. Se notó una depresión mayor en los B, sin embargo, éstos se recuperaron más rápidamente que los T.¹⁷

Durante el mantenimiento, los linfocitos T y B pueden estar normales o bajos. En pacientes con linfocitos T normales se comprobó una disminución de los mismos 1-2 semanas antes de que se produjera una recaída.

Las poblaciones linfocitarias se cuantificaron en LLA tratadas durante 3 años

de este tiempo. El estudio periódico de los linfocitos T y B mostró la cinética celular de recuperación después de la suspensión de los citostáticos. Los valores normales de los linfocitos B se alcanzaron de 2-4 meses después de retirado el mantenimiento, mientras que los T se normalizaron de 5-11 meses después.¹⁸

Se ha sugerido que el estudio evolutivo de los linfocitos T durante la LLA es importante, ya que podría dar información sobre la evolución de la enfermedad, podría quizás servir para el diagnóstico precoz de las recaídas, así como contribuir a confeccionar un tratamiento inmunoadyuvante mucho más racional.^{3,18}

En el grupo 2, tres casos (27%) cumplieron el criterio establecido para el diagnóstico de LLA-T. En el resto de los pacientes la roseta E estaba disminuida y no había aumento de la EAC. La clasificación definitiva de estos casos no puede realizarse con los dos únicos marcadores que hemos utilizado.

Los valores de roseta E indicados por otros autores como criterio diagnóstico de las LLA-T han sido variables. En el caso de poblaciones linfoblásticas puras, las cifras tomadas han oscilado de

4-40% con valores intermedios mayores de 10 ó 20%.³⁰⁻²² En los estudios de poblaciones mixtas se han usado cifras de 50%.²

El único enfermo del grupo 2 en el cual se encontró un aumento del mediastino, tenía muy bajas las rosetas E y EAC. Morfológicamente correspondía a una L3. Este caso falleció durante el período de inducción. Aunque la tumoración mediastínica se asocia frecuentemente con la LLA-T, se ha observado también en las LLA-B y nulas (LLA-O). La asociación de tumor mediastínico y tipo morfológico L3 ha sido informada.-"

En la mayoría de las LLA no pueden demostrarse marcadores T o B en los blastos. En general se ha comunicado que del 15 al 25% de las LLA tienen marcadores de tipo T, aunque algunos autores han encontrado hasta un 32%. Un número muy pequeño (1-3%) corresponden a variantes B.

Las LLA-nulas (LLA-O) constituyen un grupo heterogéneo y pueden presentarse tanto en niños como adultos. La morfología más frecuente en los niños es la L1, mientras que la L2 es más común en los adultos. Estos últimos se consideran de peor pronóstico. En los adultos se ha observado una supervivencia menor del 25% a los 3 años, mientras que en los niños fue de 50% o más en igual período.^{3,24}

Recientemente se han utilizado antisueros específicos que reaccionan con los blastos de las LLA-O.^{23,25} Se ha planteado que el antisuero anti-LLA-O reacciona con un antígeno asociado a la leucemia y presente en los blastos de las LLA-O.²⁴ Sin embargo, su presencia no significa necesariamente la naturaleza linfocítica de este tipo de leucemia. Los resultados positivos obtenidos en los blastos de leucemias mieloides crónicas (LMC) en crisis, sugieren más bien su capacidad para identificar antígenos asociados con la célula progenitora pluripotencial.

Inicialmente se informó que el antisuero era específico para las LLA-O y

que no reaccionaba con otros tipos de leucemia, incluyendo las LLA-T y las mieloides agudas (LMA).²⁵ Más recientemente otros autores han señalado que este antisuero fue capaz de reaccionar con las LLA-O, con el 10% de las LLA-T, con el 50% de las líneas celulares procedentes de cultivos de células nulas leucémicas, con excepción de la línea K562 que se considera una línea de células mieloides, y con uno de cuatro casos de leucemia de células peludas. El antisuero no reaccionó con las células de LMA y de leucemias linfocíticas crónicas estudiadas.²⁰

De todas formas, la posibilidad de identificar por este medio a las células nulas de las LLA, es un gran paso de avance en el estudio y clasificación de las LLA. Se ha indicado que en los niños persiste aproximadamente un 28% de LLA-O que no reaccionan con este antisuero y alrededor del 50% en los adultos.²³

El cromosoma Filadelfia (Ph¹) se ha observado ocasionalmente en algunas LLA-O. De acuerdo con la existencia o no de ambos marcadores (reacción con el antisuero anti-LLA-O y cromosoma Ph¹) se ha sugerido que en los adultos las LLA-O pueden dividirse por lo menos en tres variantes: 1) El tipo común de LLA-O, similar a la forma infantil, que reacciona positivamente con el antisuero anti-LLA-O [LLA (+)] y no presenta cromosoma Ph¹ [Ph¹ (-)]: variante LLA (+), Ph¹ (-), el tipo LLA (-f) Ph¹ (+) que es posible que permanezca desconocido, salvo que se hagan estudios cromosómicos sistemáticos en las leucemias agudas, y la forma LLA (-) Ph¹ (-) en la cual ambos marcadores son negativos.²³

En la actualidad no se conoce cuál es la causa del peor pronóstico de las LLA-O del adulto. Aparentemente la respuesta no varía en los casos LLA (-f) y LLA (-).²³ La determinación de la deoxinucleotidil-transferasa terminal (TDT) o más simplemente transferasa terminal, podría resultar de utilidad en la evaluación de las LLA-O. Los resultados nega-

tivos o bajos podrían sugerir la naturaleza mielóide.²³

La LLA-T posee caracteres clínicos, hemáticos y citoquímicos bien definidos.²³⁻⁴ Generalmente se asocia con signos reconocidos como de mal pronóstico en las LLA.* En un estudio reciente se comprobó que de 13 características clínicas estudiadas al inicio de la enfermedad, ocho se relacionaron significativamente con la existencia de linfoblastos E (+) (formadores de rosetas E): 1) varones, 2) mayores de 5 años, 3] aumento del mediastino, 4) conteos elevados de leucocitos, 5) hemoglobina mayor de 8 g%, 6) adenopatías mayores de 2 cm medidas en cualquier diámetro, 7) existencia de adenopatías fuera de la región cervical y 8) hepatomegalia mayor de 5 cm.²¹ En algunas series se señala que la esplenomegalia es más frecuente en las LLA-T que en las LLA-O.²⁴ La leucemia meníngea frecuentemente es precoz, posiblemente relacionada con la gran leucocitosis inicial.

Comparando la evolución de LLA-E (+) y LLA-E (—) se observó que una gran proporción de casos E (4-) hacían recaída durante el primer año de tratamiento, con un alto porcentaje de infiltración del SNC, a pesar de que el número de remisiones iniciales era igual al de las LLA-E (—) y de la administración preventiva de irradiación craneal y methotrexate intratecal.²¹

En algunas oportunidades se han comunicado LLA-T en niños sin tumor mediastinal que han logrado la remisión completa y mantenido una buena evolución. Estos datos sugieren que no todas las LLA-T tienen necesariamente mal pronóstico:²² nuestra casuística apoya este criterio.

Los estudios recientes con marcadores de superficie han ayudado a una mejor caracterización de la enfermedad.

En raros casos los blastos son E (—), pero dan una reacción positiva con los sueros anti-timocitos.⁴ Se ha planteado que éstas son células T que han perdido su facultad de formar rosetas E o que

bien no la adquirieron en su proceso de maduración. En los casos en que no se utilizan estos antisueros, las células blásticas podrían ser erróneamente evaluadas como nulas.⁰

En otras ocasiones las células además de formar rosetas E, tienen receptores para Gr³ que son propios de los linfocitos B y monocitos. La explicación para esta heterogeneidad de los marcadores inmunológicos en la LLA se basa en la demostración de que los timocitos fetales entre las 9-10 semanas del período gestacional, tienen receptores para C₁ pero no para rosetas E. Esta población linfóide va disminuyendo evolutivamente, predominando la población de timocitos con receptores E en el momento del nacimiento. Se ha indicado que es probable que la transición de células C₁ (+) a células E (+) se haga a través de una fase intermedia, durante la cual las células poseen ambos receptores: C₁ (+) E (+).²⁴ Es posible que en algunas LLA-T haya un predominio de estas células con marcadores dobles.²¹ También se han informado LLA con receptores en sus blastos sólo para C₁ asociados o no a tumoración mediastinal.⁷

Otro dato de importancia es la existencia de una reacción positiva para la fosfatasa ácida en muchas LLA-T con sólo receptores E (+) o bien con ambos receptores E (+) C₁ (+).²⁴ Tomándose como base estos resultados se plantea la importancia de la fosfatasa ácida celular (FAC) como un marcador para las LLA-T.²⁴

También se investiga la posible aplicación en la caracterización de las LLA de otros marcadores además de los convencionales para las células T y B. Entre ellos se encuentra la enzima transferasa terminal (TdT).

Los niveles elevados de la TdT se han considerado específicos de las células tímicas. La presencia de esta enzima en células linfoides inmaduras o muy poco diferenciadas, ha hecho presumir su naturaleza tímica.²⁷ Niveles elevados de TdT se han encontrado en los blastos

de algunas LLA, en líneas linfoblastoides de células T mantenidas en cultivo y en algunos blastos de LMC en crisis blásticas.⁷ Estudios recientes han encontrado niveles altos de TdT no sólo en LLA, sino también en LMA y en blastos mieloides de LMC.²⁶ De acuerdo con estos hallazgos se ha puesto en duda la especificidad de los niveles elevados de TdT como marcador para los linfoblastos T y se sugirió la posibilidad de que una transformación maligna de la célula progenitora pluripotencial sea capaz de causar derrepresión del genoma para la TdT y dar lugar a la hiperactividad de la TdT que se observa en ciertas células leucémicas.²¹

Se ha indicado que los blastos de tipo T no poseen capacidad estimuladora en la reacción monodireccional del cultivo mixto de linfocitos, mientras que los blastos de la LMA y de las LLA-B y LLA-O sí poseen una potente capacidad de estimulación.²⁶

Con referencia al mal pronóstico de las LLA-T se han hecho importantes observaciones.²⁴

- 1) En la LLA-T con tumoración mediastinal se ha logrado sólo el 40% de remisiones con el tratamiento clásico de vincristina y prednisona, mientras que en otras LLA se ha alcanzado 89%.
- 2) Cuando se compararon grupos con cifras semejantes de leucocitos, igual grado de visceromegalia (excepto la existencia de masa mediastínica) y el mismo esquema terapéutico se observó una recaída precoz con una supervivencia más corta en las LLA-T. Esto sugiere la naturaleza más maligna de las neoplasias de tipo T.
- 3) Las LLA con tumoración tímica parecen tener, además de cifras iniciales de leucocitos muy elevadas, cifras mayores de hemoglobina y plaquetas que las LLA-O. Esto sugiere la mejor preservación de los sistemas medulares normales y la posibilidad de que las células tumorales no se hayan originado en la médula ósea.²¹

Es un hecho conocido que el cuadro clínico de la LLA-T infantil, su mala evolución y los linfoblastos E (+) resultan generalmente indistinguibles de las manifestaciones similares correspondientes al linfoma mediastinal no hodgkiniano de la infancia, que ha sufrido una transformación leucémica.²¹

Un tema aún muy discutido es si debe o no considerarse el linfoma de la infancia con marcadores T una enfermedad diferente de la LLA-T.²³

En la literatura se han utilizado diferentes términos para denominar a estos casos: sarcoma de Sternberg, linfoma linfoblástico de la infancia o de células T, linfoma de linfocitos cerebriformes, LLA con tumoración del mediastino anterior, LLA con fosfatasa ácida positiva.²⁴

En 1932, se hizo una revisión de 83 casos de leucemia aguda con tumoración mediastinal.²⁸ Se notó la alta incidencia que había en varones menores de 30 años y una leucocitosis mayor de $100 \times 10^3/\text{mnr}$ en los 2/3 de los casos. Se pudo comprobar que el tumor tímico podía preceder en varias semanas al desarrollo de la LLA, o que ambos procesos podían coincidir desde el inicio.

Es posible que la LLA-T y el linfoma linfoblástico de la infancia correspondan a formar clínicas diferentes de una misma población linfoide neoplásica en forma similar a como sucede con la leucemia linfoide crónica y el linfoma linfocítico bien diferenciado.

La decisión de si la enfermedad debe considerarse primariamente como una leucemia o como un linfoma y cuál debe ser la nomenclatura que va a ser utilizada, es posible que no tenga más que un interés semántico. Sin embargo, el desarrollo casi inevitable de una LLA en los pacientes que se presentan con tumoración tímica de naturaleza linfoide, el hecho de que la mayoría de los casos tienen ya una LLA en el momento del diagnóstico o bien la existencia de algunos casos que no presentan tumoración tímica, ha llevado a sugerir de

que en la práctica la enfermedad debe ser considerada primariamente como una leucemia (LLA-T).^{23,24}

Los casos de LLA-B parecen ser extremadamente raros. Los pacientes informados han tenido en general una respuesta mala al tratamiento, por lo que se ha planteado que este subgrupo debe ser evaluado de mal pronóstico. Con el tratamiento habitual de las LLA la muerte ha ocurrido, en la mayoría de los casos, en cuestión de días o en algunas semanas.⁸ La necesidad de un tratamiento más agresivo ha sido comentada.²⁴

Esta variedad de leucemia aguda de tipo B difiere de los casos descritos recientemente con el nombre de LLA de células pre-B. En estas células la IgM citoplasmática es muy escasa y la IgM de superficie es también escasa o se encuentra ausente. La respuesta a la quimioterapia es favorable.²³

En la LLA excepcionalmente se encuentran inmunoglobulinas de superficie en los blastos. Cuando están presentes, se sugiere que la LLA-B posiblemente representa la fase leucémica de un linfoma mal diferenciado, ya sea del tipo Burkitt (variedad L3 de la clasificación del grupo FAB) o del tipo linfocítico (variedad L2 del grupo FAB y más raramente la L1).^{2,24} Excepcionalmente se han descrito casos de LLA con cito- morfología L3 y marcadores celulares de tipo T:

El tipo Burkitt es más frecuente en niños y adultos jóvenes. En estos casos en los blastos se han hallado las características de las células B.^{23,24}

Contrariamente a los casos de Burkitt africanos, sólo una minoría de las formas endémicas presenta el genoma del virus de Epstein-Barr en las células neoplásicas.^{3,24}

La LLA-B con células linfosarcomatosas es más común en pacientes de edad media y más avanzada. Constituye un grupo menos homogéneo y con una morfología atípica de las células blásticas.

En algunos pacientes es preciso establecer la diferenciación con la leucemia prolinfocítica B, particularmente los sujetos viejos con gran esplenomegalia y cifra de leucocitos muy elevada. La diferenciación celular en estos pacientes se establece mejor por microscopía electrónica.²¹

La reacción del PAS es casi siempre negativa en la LLA-B tipo Burkitt y de resultados variables en la forma linfosarcomatosa.

Se ha informado una LLA-B cuyas células ultraestructuralmente tenían un núcleo de aspecto cerebriforme, característica que es atribuida comúnmente a los procesos linfoproliferativos T. Sin embargo, la observación de ésta y otras alteraciones ultraestructurales sugiere que la conformación *bizarra* del núcleo se relaciona más bien con el proceso neoplásico que con el origen celular.⁸

A medida que se incorporan nuevos métodos para la investigación de las células leucémicas y aumentan las características del fenotipo celular, más heterogéneos son los resultados y mayores conocimientos se requieren de la diferenciación celular. Cada caso de LLA presenta un patrón fenotípico correspondiente a la fase del proceso de diferenciación en que se produjo la detención de la maduración y el surgimiento del clon neoplásico.

La heterogeneidad referida puede comprobarse en los fenotipos de LLA obtenidos en un estudio reciente.³⁰ Además de los caracteres de las LLA-O, LLA-T y LLA-B se señalan patrones de células híbridas con atributos de células nulas y T (O/T), de pretimocitos (pre-T) y de timocitos (Ti) (cuadro V).

Otros autores definen tres niveles de diferenciación celular en los procesos linfoproliferativos T: 1) inmaduro o pretímico, 2) tímico (timocitos) y 3) post-tímico (linfocitos T).

Es recomendable que para la clasificación inmunológica de las leucemias, el estudio de los blastos se haga en la

médula ósea, salvo que exista una gran leucocitosis periférica con gran porcentaje de células blásticas que haga equivalente esta población celular a una formada exclusivamente por blastos. Los estudios periféricos en los que no se especifica el porcentaje de blastos, carece de valor. En los casos en que el estudio se realiza en poblaciones mixtas (linfocitos + linfoblastos) debe haber un predominio de los linfoblastos y resulta muy útil que las células formadoras de rosetas se identifiquen por su tamaño al ser contadas en el hemocitómetro o por su morfología en una extensión.²⁴

De acuerdo con los conocimientos actuales, si solamente se investigan en las LLA algunos marcadores en forma limitada, quedarían varias leucemias con su fenotipo incompletamente identificado. Por esto se recomienda que tanto en el diagnóstico inicial como en las recaídas se utilice una batería de investigaciones lo más completa posible: determinación de receptores de membrana, enzimas y antígenos celulares específicos. La información obtenida con estas investigaciones resulta de gran importancia para un mejor conocimiento de la diferenciación celular y el desarrollo, pronóstico y tratamiento de la enfermedad.

SUMMARY

Hernández, P. et al. *Lymphoblastic leukemia. Present immunological criteria. Study of lymphocytes and lymphoblasts. Rev Cub Med 20: 4, 1981.*

In 21 patients with lymphoblastic leukemia (LBL) an immunologic study of lymphocytes and lymphoblasts was carried out. Cases were divided into two groups according to blastic cells percent in peripheral blood. On the first group lymphoblasts average was 6,5% and for lymphocytes was 61%. Relative values for T-lymphocytes was found to be diminished on 60% of the patients. On the second group lymphoblast average was 73%. Three cases (27%) fulfilled the established criterium for T-LBL type. Kinetic of lymphocytic populations during LBL evolution, present criteria on immunological classification, and importance to perform an immunological study as complete as possible is commented.

RÉSUMÉ

Hernández, P. et al. *Leucémie lymphoblastique. Critères immunologiques actuels. Etude des lymphocytes et des lymphoblastes. Rev Cub Med 20: 4, 1981.*

Vingt et un patients atteints de leucémie lymphoblastique (LLA) ont été soumis a une étude immunologiques des lymphocytes et des lymphoblastes, ils ont été classés en deux groupes suivant le pourcentage de cellules blastiques dans le sang périphérique. Dans le premier groupe le chiffre moyen de lymphoblastes a été de 6,5% et celui de lymphocytes de 61%: 60% des malades ont présenté une diminution des valeurs relatives des lymphocytes T. Dans le deuxième groupe, la moyenne de lymphoblastes a été de 73%. Trois cas (27%) c'accordaient au critère établi pour la LLA type T. Les auteurs commentent la cinétique des populations lymphocytaires pendant l'involution des LLA, les critères actuels concernant la classification immunologique, ainsi que l'importance de réaliser une étude immunologique le plus complete que possible.

PE3KME

n a BD JteMfioOjracMiocKoi denoKpoBHe. AKTyajnb -
mrajiSjHOJiOrHqeoKHe kphodhm. HccaejtoBarae'OTMiiouHTOB h mu- \$O6aaCTOB._
Rev Cub Med 20: k, 1981.

y 21 naupiQHTa, crpazialomero juiMijtodJiacTjjqecKBM OOJIOKPOBHOM (MB)
ONJionpoBeseno uccjieaoBanae jinu\$oqnTOB H ^{OTUg}OC JacTOB* j*
BOTCTB5IM C npOtlOHTOM CjiaCTH'ieCKHX KJIOTOK B nODK ('epineCKOI! Kpo
bhHamH cjiyqan duijn pa33eji0HN Ha ^bq rpynnu. B napBOW rpynne- ' cpeanHH on
©Da MtijofijiacTOB 6hji8 pasna 6.5%, a cpe^HHH UHcппa - jisui'toiiHTOB 61%. B
60% OOJIBHUX Cyljo ofiHapysteHO noHnaoHHe otho-
CHTOJTBHHX SHA'IOH/n JIMM<J)OU/TOB T. no B[OpOfi.rpvnnO CpOfiHHH HH(j)
paJWMiOOJiacTOB dbrja paBHa 73%. Tpa cjinreaH. {27%} OTBO'iaroi kjdh
TepHHM, yCTaKOBJieHHHM JIITH JIHE Tuna T. OficyxaeTcn unhothk3 jih
uAonnTapkoro coflepaanWH B Tquonih pazBHTHH JIMB, aKTyajnbue Kpa
TOPHW HMUYHO-IOpHMeCKOB KJIaCCHOfl KCMW ...H B31HOCTB
npOBaSoHMfl- HMYHOflOrHMCKOpo iCCJIoJUBaHHH no
BO3MOHHOCTH KaHOOJIoHOJHO-
RO.

BIBLIOGRAFIA

1. Humphrey, G. B.J. Lankford. Acute leukemia: the use of surface markers in classification. *Semin Oncol* 3: 243, 1976.
2. Olive, D. et al. Immunological characteristics of lymphoblasts and lymphocytes in acute lymphoblastic leukaemia in children. *Clin Exp Immunol* 29: 220, 1977.
3. Catovsky, D. et al. T-lymphoblastic leukaemia: a distinct variant of acute leukaemia. *Br Med J* 2: 643, 1974.
4. Tsukimoto, I. et al. Surface markers and prognosis factors in acute lymphoblastic leukaemia. *New Engl J Med* 294: 245, 1976.
5. Lin, P.-S.; C. C. J. Hsu. Human leukaemic T-cells with complement receptors. *Clin Exp Immunol* 23: 209, 1976.
6. Kaplan, J. et al. T and B lymphocyte antigen-positive null-cell leukemias. *Blood* 49: 371-371, 1977.
7. Kadin, M. E.; R. J. Billing. Immunofluorescent method for positive identification of null-cell type acute lymphocytic leukemias: Use of heterologous antiserum. *Blood* 50: 771, 1971.
8. Smith, J. et al. B-cell acute lymphatic leukaemia: Immunoglobulin synthesis, morphology and clinical features. *Scand J Haematol* 22: 246, 1979.
9. Bennett, J.M. et al. (French-American-British (FAB) Cooperative Group) Proposals for the classification of the acute leukaemias. *Br J Haematol* 33: 451, 1976.
10. Boyüm, A. Isolation of mononuclear cells- and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. *Scand J Clin Lab Invest* 21 (Sup. 97): 77, 1968.
11. Bach, J.F. Evaluation of T cells and thymic serum factors in man using the rosette technique. *Transplant Rev* 16: 196, 1973.
12. Stjernswärd, J. et al. Lymphopenia and change in distribution of human B and T lymphocytes on peripheral blood induced by irradiation for mammary carcinoma. *Lancet* 1: 1352, 1972.
13. Hann, H. L. et al. Studies of T, Band null lymphocytes during the course of acute lymphocytic leukemia. *Cancer* 39: 1489, 1977.
14. Aniti, F. et al. Lymphocyte membrane markers in acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 27: 635, 1974.
15. Borella, L. L. Sen. T and B-lymphocytes and lymphoblasts in untreated acute lymphocytic leukemia. *Cancer* 34: 646, 1974.
16. Campbell, A.C. et al. Immunosuppressive consequences of radiotherapy and chemotherapy in patients with acute lymphoblastic leukaemia. *Br Med J* 2: 385, 1973.
17. Kishida, K. et al. Cranial Irradiation and lymphocyte subpopulations in acute lymphocytic leukemia. *J Pediatr* 92: 785, 1978.
18. De Rossi, G. et al. Immunological rebound following cessation of chemotherapy in 15 acute lymphoid leukemia patients in complete remission. *Biomedicine* 29: 11, 1978.

19. *Wehinger, H.; D. Karitzky.* Lymphozyten-subpopulationen und immunoglobuline vor, wahrend und nach cytotatis cher theraple bei akuter leukamie (ALL) des Kindes. *Klin Padiat* 189: 234, 1977.
20. *Ruggero, D. et al.* Adult acute lymphoblastic leukaemia: Study of 32 patients and analysis of prognostic factors. *Scand J Haematol* 22: 154, 1979.
21. *Dow, L.W. et al.* Initial prognostic factors and lymphoblast-erythrocyte rosette formation in 109 children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 50: 671, 1977.
22. *Harm, H.W.L. et al.* Lymphoblasts with T -cell markers in five girls with acute lymphocytic leukemia. *Cancer* 39: 2, 001, 1977.
23. *Catovsky, D.; D.A.G. Galton.* Cell markers and the classification of acute leukemia. En: Thierfelder, S., Rodt, H., Thiel, E. (Eds.). *Immunological diagnosis of leukemias and lymphomas. V. 20. P. 25.* Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New York, 1977.
24. *Catovsky, D.* Cell markers In acute lymphoblastic leukaemia and lymphoproliferative disorders. En Hoffbrand, A.V., Brain, M.C. Hirsh, J. (Eds.). *Recent advances in Haematology. P. 201.* Churchill, Livingstone, London, 1977.
25. *Greaves, M.F. et al.* Antisera to acute lymphoblastic leukaemia cells. *Clin Immunol Immunopathol* 4: 67, 1975.
26. *Han, T. et al.* Stimulating capacity of blast cells from patients with chronic myelocytic leukaemia, in blastic crisis in "one-way" mixed lymphocyte reaction: lack of evidence for T lymphoblastic conversion. *Immunology* 35: 299, 1978.
27. *Sotfhill, R. et al.* Terminal deoxynucleotidyl transferase in a case of Ph¹ positive infant chronic myelogenous leukaemia. *Br J Cancer* 33: 664, 1976.
28. *Cooke, J.V.* Mediastinal tumor in acute leukemia. *Am J Dis Child* 44: 1153, 1932.
29. *Vogler, L.B.* Pre-B cell leukaemia: A new phenotype of childhood lymphoblastic leukaemia. *N Engl J Med* 298: 872, 1978.
30. *Thiel, E. et al.* Quantitation of T-antigenic sites and Ig-determinants on leukemic cells by microphotometric immunautoradiography. Proof of the clonal origin of thymus-derived lymphocytic leukemias. En: Thierfelder, S., Rodt, H., Thiel, E. (Eds.). *Immunological diagnosis of leukemias and lymphomas. V. 20. P. 131.* Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg, New York, 1977.

Recibido: octubre 15, 1979.
Aprobado: junio 20, 1980.

Dr. Porfirio Hernández
Instituto de Hematología e Inmunología
Apartado 8070
Ciudad de La Habana.