



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**CLASIFICACION DE LEUCEMIAS Y LINFOMAS POR MEDIO DE
MARCADORES ESPECIFICOS (ANTICUERPOS MONOCLONALES) DE
LA SUPERFICIE CELULAR DE LAS CELULAS NEOPLASICAS.**

TESIS PROFESIONAL

MARIA ALBA TORRES TOVAR

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

1983



C643

6

.1



1080075044



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

**CLASIFICACION DE LEUCEMIAS Y LINFOMAS POR MEDIO DE
MARCADORES ESPECIFICOS (ANTICUERPOS MONOCLONALES) DE
LA SUPERFICIE CELULAR DE LAS CELULAS NEOPLASICAS.**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :

QUIMICO FARMACOBIOLOGO

P R E S E N T A :

MARIA ALBA TORRES TOVAR

SAN LUIS POTOSÍ, S. L. P.

1983

T
RC 643
T 6



ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL LABORATORIO DE INMUNOLOGIA
DE LA ESCUELA DE MEDICINA DE LA U.A.S.L.P. BAJO LA DIRECCION
DEL DR. BENJAMIN MONCADA GONZALEZ A QUIEN AGRADEZCO PROFUNDA-
MENTE SU ASESORIA.

AL DR. RICARDO URBINA CASTILLO
POR SU VALIOSA COLABORACION PARA LA
ELABORACION DE ESTE TRABAJO.

A TODOS LOS INTEGRANTES DEL LABORATORIO DE INMUNOLOGIA
ESPECIALMENTE A LA DRA. LOURDES BARANDA.

A LA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI
POR HABERME ABIERTO SUS PUERTAS PARA
FORJARME COMO PROFESIONISTA.

A LA ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

A MIS MAESTROS.

A MIS PADRES:

POR SU AMOR, APOYO Y CONFIANZA

HIGINIO TORRES MEDINA

JULIA TOVAR DE TORRES

A MIS HERMANOS:

POR SU ESTIMULO Y EJEMPLO

A MIS AMIGOS.

C O N T E N I D O

- I.- OBJETIVO**
- II.- INTRODUCCION**
- III.- HISTORIA**
- IV.- CLASIFICACION DE LEUCEMIAS Y LINFOMAS**
- V.- REACTIVOS**
- VI.- MATERIAL**
- VII.- METODO**
- VIII.- CONCLUSIONES**
- IX.- BIBLIOGRAFIA**

O B J E T I V O

HACER UNA MEJOR CLASIFICACION DE LAS NEOPLASIAS HEMATOLOGICAS TIPO LEUCEMIA Y LINFOMAS SEGUN SUS MARCADORES DE SUPERFICIE CELULAR, PARA LOGRAR UN MEJOR CONOCIMIENTO DE LAS MISMAS, ASI COMO TAMBIEN DE ESTA MANERA OBTENER UN TRATAMIENTO ESPECIFICO PARA CADA TIPO Y POR LO TANTO UN MEJOR PRONOSTICO DE LOS PACIENTES.

INTRODUCCION.

DESDE LA APARICION DE LA TECNICA DEL HIBRIDOMA PARA LA PRODUCCION DE ANTICUERPOS MONOCLONALES CREADA POR KOHLER Y MILSTEIN, AVANCES IMPORTANTES DENTRO DE LA INMUNOLOGIA HAN CONDUCIDO A PRECISAR - EL ORIGEN CELULAR DE LAS NEOPLASIAS HEMATOLOGICAS (LEUCEMIA Y LINFOMAS). ASI COMO TAMBIEN PRECISAR LOS DIFERENTES ESTADIOS DE LOS LEUCOCITOS Y LINFOCITOS HUMANOS NORMALES.

ESTOS ANTICUERPOS MONOCLONALES, SON MARCADORES ALTAMENTE ESPECIFICOS QUE IDENTIFICAN ANTIGENOS PRESENTES EN LA SUPERFICIE DE LAS CELULAS.

AUNADOS A ESTOS SE SIGUEN UTILIZANDO LOS MARCADORES TRADICIONALES, COMO SON LAS INMUNOGLOBULINAS DE SUPERFICIE Y LOS ERITROCITOS DE CARNERO LOS CUALES IDENTIFICAN LOS LINFOCITOS B Y T RESPECTIVAMENTE.

ASI COMO LAS TINCIONES CITOQUIMICAS, EN LA ACTUALIDAD EXISTE UNA GRAN CANTIDAD DE ESTOS ANTICUERPOS MONOCLONALES LOS CUALES PUEDEN DISTINGUIR UNA VARIEDAD DE CELULAS EN SUS DIFERENTES ESTADIOS DE MADURACION, LO QUE HA PERMITIDO HACER UNA MEJOR CLASIFICACION DESDE EL PUNTO DE VISTA INMUNOLOGICO DE LAS NEOPLASIAS HEMATOLOGICAS E INTENTADO ADEMAS QUE EXISTA UNA CORRELACION ENTRE LA CLASIFICACION Y LA CLINICA.

SE HA HECHO MENCION QUE NINGUNO DE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES POR SI SOLOS INDIQUEN QUE UNA CELULA SEA LEUCEMICA YA QUE TAMBIEN SE ENCUENTRAN EN EL FENOTIPO DE LAS CELULAS NORMALES.

EN RESUMEN EL OBJETIVO DE ESTA NUEVA CLASIFICACION NOS PERMITE CONOCER EL ORIGEN MAS EXACTO DE LAS DIFERENTES NEOPLASIAS, ASI COMO TAMBIEN DE ESTA MANERA OBTENER UN TRATAMIENTO ESPECIFICO DE CADA UNA DE ELLAS, CON EL USO TERAPEUTICO DE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES Y POR LO TANTO UN MEJOR PRONOSTICO DE LOS PACIENTES.

HISTORIA.

LA LEUCEMIA HA SIDO CONSIDERADA DESDE SUS INICIOS COMO UNA ENFERMEDAD INCURABLE, DEBIDO A LA FALTA DE UNA CLASIFICACION QUE PERMITE UN MEJOR CONOCIMIENTO DEL TIPO DE CELULAS MALIGNAS, Y ASI PODER OBTENER UN TRATAMIENTO MAS ESPECIFICO Y UN MEJOR PRONOSTICO PARA LOS PACIENTES.

ESTO PUEDE SER POSIBLE AHORA CON EL RECIENTE DESARROLLO Y PRODUCCION DE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES.

YA EN 1900 PAUL ERLICH HABIA ESCRITO "POR INYECTAR UN ANIMAL CON LAS CELULAS DE OTRO, PODEMOS PRODUCIR SUSTANCIAS EN EL SUERO DE EL PRIMERO QUE PUEDE TENER UNA INFLUENCIA DESTRUCTIVA CONTRA ESTAS-CELULAS" (30).

DURANTE 1960-1970 FUE POSIBLE LA REALIZACION DE ESTE MIELOMA DE PROTEINAS (33).

LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES PRODUCIDOS POR MIELOMAS (HIBRIDOMAS).USANDO TECNICAS INMUNOLOGICAS TIENEN UNA GRAN UTILIDAD.

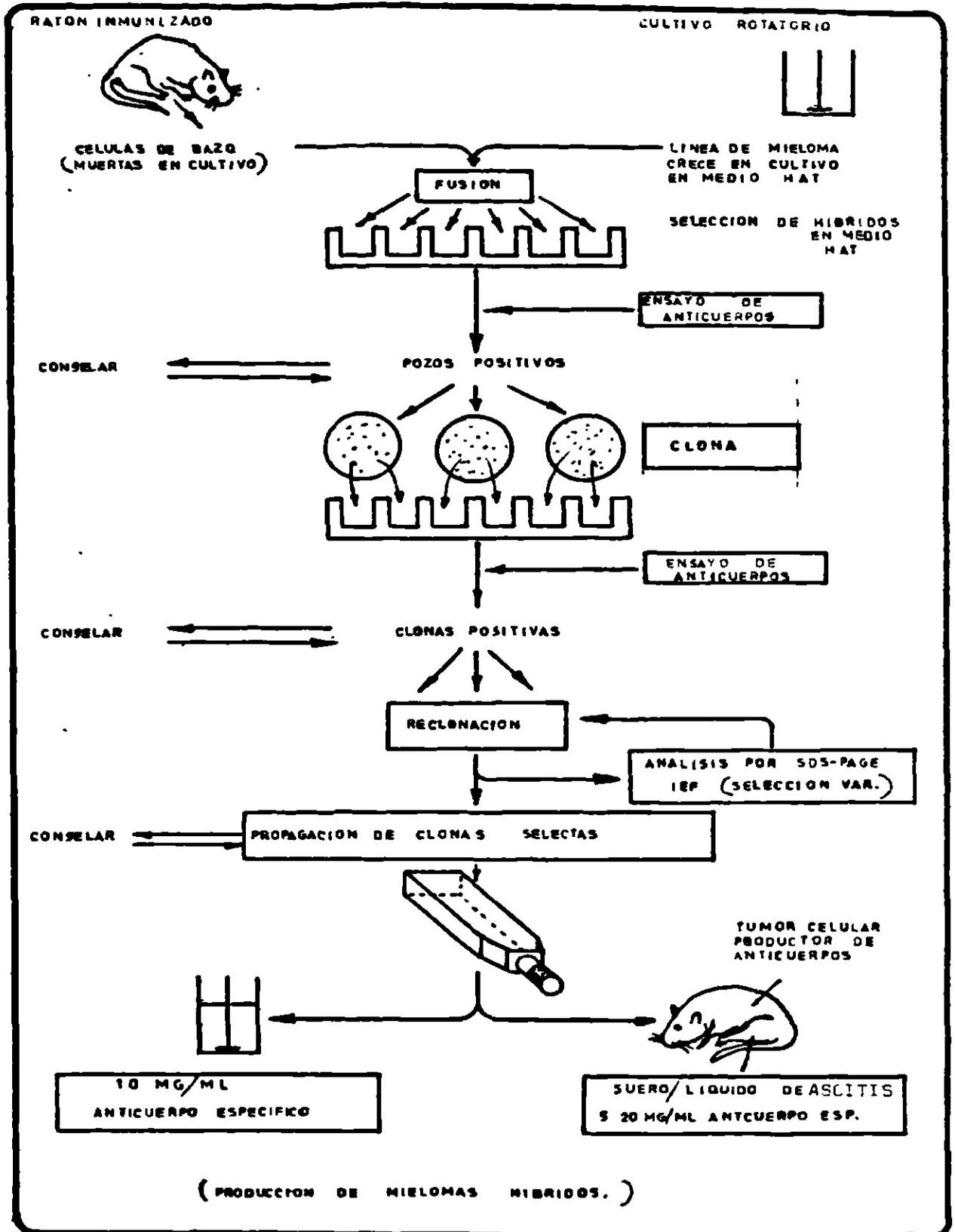
IN VITRO SON PRODUCIDOS POR CULTIVO DE PEQUEÑOS FRAGMENTOS DEBAZO (21).

CASI 5 AÑOS PASARON GEORGES KÖHLER Y CESAR MILSTEIN EN LA INVESTIGACION DE UN METODO GENERAL PARA PRODUCIR ANTICUERPOS MONOCLONALES EN GRANDES CANTIDADES.

LOS ANTICUERPOS ANTI-GLOBULOS ROJOS DE CARNERO FUE HECHA FUNDIENDO JUNTAS LAS CELULAS DE BAZO DE UN RATON INMUNIZADO CON CELULAS DE RATON CON MIELOMA, EN UN MEDIO SELECTIVO CONTENIENDO, HIPOXANTINA, AMINOPTERINA Y TIMIDINA.

LA FIG. 1 REPRESENTA EL METODO AHORA UTILIZADO EN LA PRODUCCION DE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES.

FIG. 1



ESTE METODO HA SIDO MUY POCO CAMBIADO DESDE LA DESCRIPCION ORIGINAL, EL PRINCIPAL CAMBIO HA SIDO LA SUBSTITUCION DE LOS VIRUS QUE SE UTILIZABAN COMO AGENTES FUSIONANTES, POR EL POLIETILENGLICOL, Y LA SUBDIVISION DEL CULTIVO INMEDIATAMENTE DESPUES DE LA FUSION.

ESTE METODO PUEDE TAMBIEN SER AMPLIADO POR EL DESARROLLO ALTERNATIVO DE UNA LINEA DE CELULAS DE MIELOMA QUE PIERDEN LA CAPACIDAD DE PRODUCIR CADENAS DE INMUNOGLOBULINAS.

LA APLICACION DEL METODO PARA PRODUCIR ANTICUERPOS MONOCLONALES ES REALIZADO POR KOHLER Y MILSTEIN QUIENES CONCLUYEN QUE ESTE MIELOMA HIBRIDO PUEDE SER DE GRAN VALOR PARA USO MEDICO (22).

LA TECNICA PUEDE HACERSE DE RUTINA Y ES ESCENCIALMENTE UTIL PARA LA PRODUCCION DE ANTICUERPOS ESPECIFICOS, PARA PROBAR Y CARACTERIZAR UNA VARIEDAD DE SISTEMAS BIOLOGICOS.

LA PRIMER FUSION HECHA CON CELULAS DE BAZO DE UN RATON INMUNIZADO PROPORCIONO UNA PROPIEDAD MAS ADECUADA DE LA TECNICA, COMO 10% DE LAS INMUNOGLOBULINAS SECRETADAS POR HIBRIDOS PRODUCEN ANTICUERPOS ESPECIFICOS, ESTE % AUMENTA LA SELECTIVIDAD DE LAS CELULAS DE BAZO YA QUE SECRETAN EL ANTICUERPO DESEADO.

UN SIGUIENTE ANTIGENO UTILIZADO FUE EL TRINITROFENIL Y EN ESTA FUSION SE OBSERVO QUE EL METODO ES COMPLETAMENTE GENERAL Y QUE EL -- TIEMPO OPTIMO PARA PRODUCIR LA FUSION ES DE 4 DIAS DESPUES DE LA INYECCION FINAL DEL INMUNOGENO, EL INTERVALO ENTRE (17) INYECCION Y FUSION PUEDE ESTANDARIZARSE Y SOLO CAMBIAN LOS INTERVALOS SI SE USAN DIFERENTES TIPOS DE ANTIGENOS (23).

ESTE METODO PUEDE SER IGUALMENTE ADAPTADO PARA PRODUCIR LOS ANTICUERPOS UTILIZANDO BAZO DE OTRAS ESPECIES COMO, COBAYO, CONEJO, HUMANO, ESTO NO SE HA REALIZADO POR CONSIDERAR QUE EL MAYOR PROBLEMA ES LA RAPIDA PERDIDA DE LOS CROMOSOMAS DE LAS CELULAS HIBRIDAS.

UNA ALTERNATIVA AL PROBLEMA DE PRODUCCION DE LOS ANTICUERPOS - MONOCLONALES. ENSAYADA CON CELULAS HUMANAS PUEDE SER LA SUBSTITU -- CION DE ESTAS POR CELULAS DE MIELOMA DE RATON, VARIAS LINEAS DE CE- LULAS PUEDEN SER ESTABILIZADAS POR PACIENTES CON MIELOMA MULTIPLE, PERO NINGUNO ES COMPARABLE CON EL MIELOMA DE RATON EN EL GRADO DE - PRODUCCION DE INMUNOGLOBULINAS PARA ESTAS CELULAS.

LA PRODUCCION DE ANTICUERPOS MONOCLONALES ADEMAS DE PRODUCIDOS PUEDEN SER FACILMENTE PURIFICADOS.

ANTICUERPOS MONOCLONALES (OKTs) MARCADORES DE LA SUPERFICIE CE LULAR DE LAS CELULAS NEOPLASICAS.

OKT1 Y OKT3.- IDENTIFICAN A LAS CELULAS T PERIFERICAS.

OKT4.- IDENTIFICA LA POBLACION DE LINFOCITOS T INDUCTO RES.

OKT5 Y OKT8.- IDENTIFICA LA POBLACION DE LINFOCITOS T SUPRESO RES.

OKT6.- IDENTIFICA ANTIGENOS PRESENTES EN TIMOCITOS CO- MUNES Y CELULAS LEUCEMICAS.

OKT8.- IDENTIFICA LA POBLACION DE LINFOCITOS T SUPRESO RES.

OKT9.- ACTUA COMO RECEPTOR DE TRANSFERRINA.

OKT10.- IDENTIFICA TIMOCITOS MADUROS Y REACCIONA CON UN BAJO % DE LINFOCITOS T Y B CIRCULANTES, MENOS DE 15% Y UN ALTO %- EN CIERTAS INFECCIONES.

OKT11.- REACCIONA CON LINFOCITOS T PERIFERICOS NORMALES E INMADUROS Y ACTUA COMO RECEPTOR DE ERITROCITOS DE CARNERO.

OKM1.- IDENTIFICA A LOS MONOCITOS Y GRANULOCITOS.

OKIa.- ANTIGENO SEMEJANTE QUE ACTUA SOBRE LOS LINFOCI- TOS B, ACTIVANDO A LOS LINFOCITOS T Y A LOS MACROFAGOS. (1, 12).

LA DISTRIBUCION DE ESTOS ANTIGENOS EN LOS LINFOCITOS T VARIA -
CONSIDERABLEMENTE EN LA SANGRE PERIFERICA, MEDULA OSEA Y GANGLIOS -
LINFATICOS.

DESARROLLO DE LOS LINFOCITOS T Y B

EL TIMO Y LA MEDULA OSEA SON LOS ORGANOS LINFATICOS PRIMARIOS EN LOS QUE SE FORMAN LOS LINFOCITOS SIN ESTIMULO ANTIGENICO. EN EL MICROREVESTIMIENTO DEL TIMO SE FORMAN CON CARACTERISTICAS PARTICULARES, EL LINFOCITO T Y EN LA MEDULA OSEA EL LINFOCITO B.

LOS GANGLIOS LINFATICOS, INCLUYENDO EL BAZO SON ORGANOS LINFOIDES SECUNDARIOS EN LOS QUE LA FORMACION DE LOS LINFOCITOS SE ACIIVA TRAS EL ESTIMULO INMUNOLOGICO (FIG.2) (11).

LA MEDULA OSEA ES EL MAYOR SITIO DE DESARROLLO DE LAS CELULAS LINFOIDES PROGENITORAS EMPEZANDO DESDE EL DESARROLLO FETAL Y CONTINUANDO A TRAVES DE LA VIDA ADULTA (20).

VARIOS ESTUDIOS DE DIFERENCIACION LINFOIDE NO SON COMPLETAMENTE DEFINIDOS PERO ES PROBABLE QUE ESTAS CELULAS LINFOIDES PROGENITORAS CONTENGAN LA ENZIMA TdT (DESOXINUCLEOTIDIL TRANSFERASA TERMINAL) COMO ENZIMA CATALIZADORA DEL NUCEOSIDO TRIFOSFATO (6,7), COMO EL PAPEL DE LA ENZIMA TdT NO ES MUY CLARO, SU PRESENCIA EN LAS CELULAS LINFOIDES PROGENITORAS PUEDE SUGERIR QUE ES IMPORTANTE EN LA GENERACION DE DIVERSAS CARACTERISTICAS DE LA POBLACION LINFOIDE. - (3).

EL LINFOCITO PEQUEÑO CUANDO ES INMUNOESTIMULADO POR ANTIGENOS O ESTIMULADO POR MITOGENOS CAMBIA DE ASPECTO ADQUIRIENDO CARACTERES DE CELULA INMADURA (INMUNOBLASTO).

DE ESTA CELULA SE DERIVAN LAS CELULAS EFECTORAS DE LA RESPUESTA INMUNE, LOS LINFOCITOS CITOTOXICOS PARA EL LINFOCITO T Y LAS CELULAS PLASMATICAS PARA EL LINFOCITO B.

EL LINFOCITO B DESDE SU ORIGEN TIENE LA CAPACIDAD DE PRODUCIR IMMUNOGLOBULINAS (ANTICUERPOS) INICIALMENTE ESTAN EN EL CITOPLASMA DESPUES EN LA SUPERFICIE IgS Y FINALMENTE SON SEGREGADAS. FIG. 3- Y FIG. 4.

FIG. 2

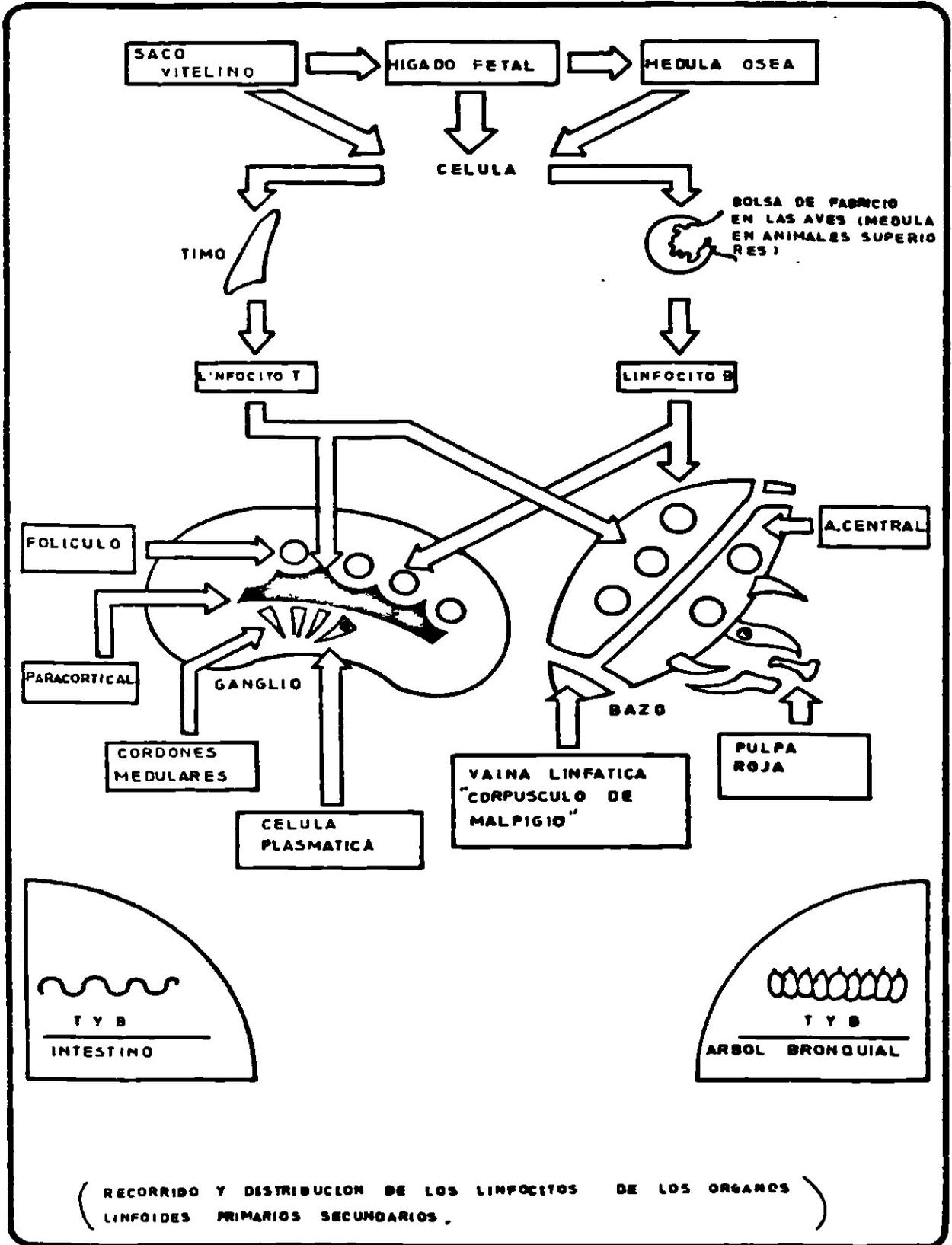


FIG. 3

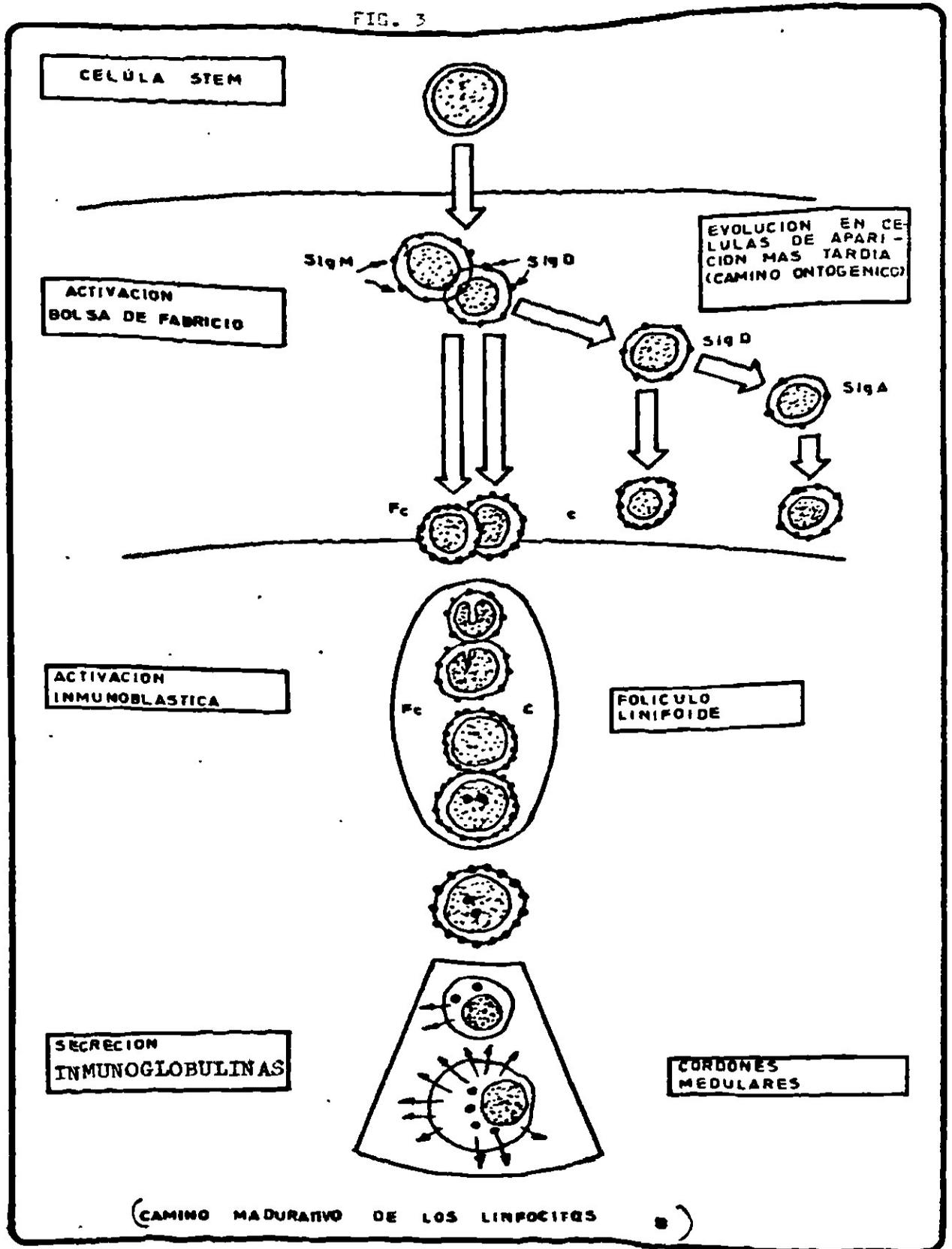
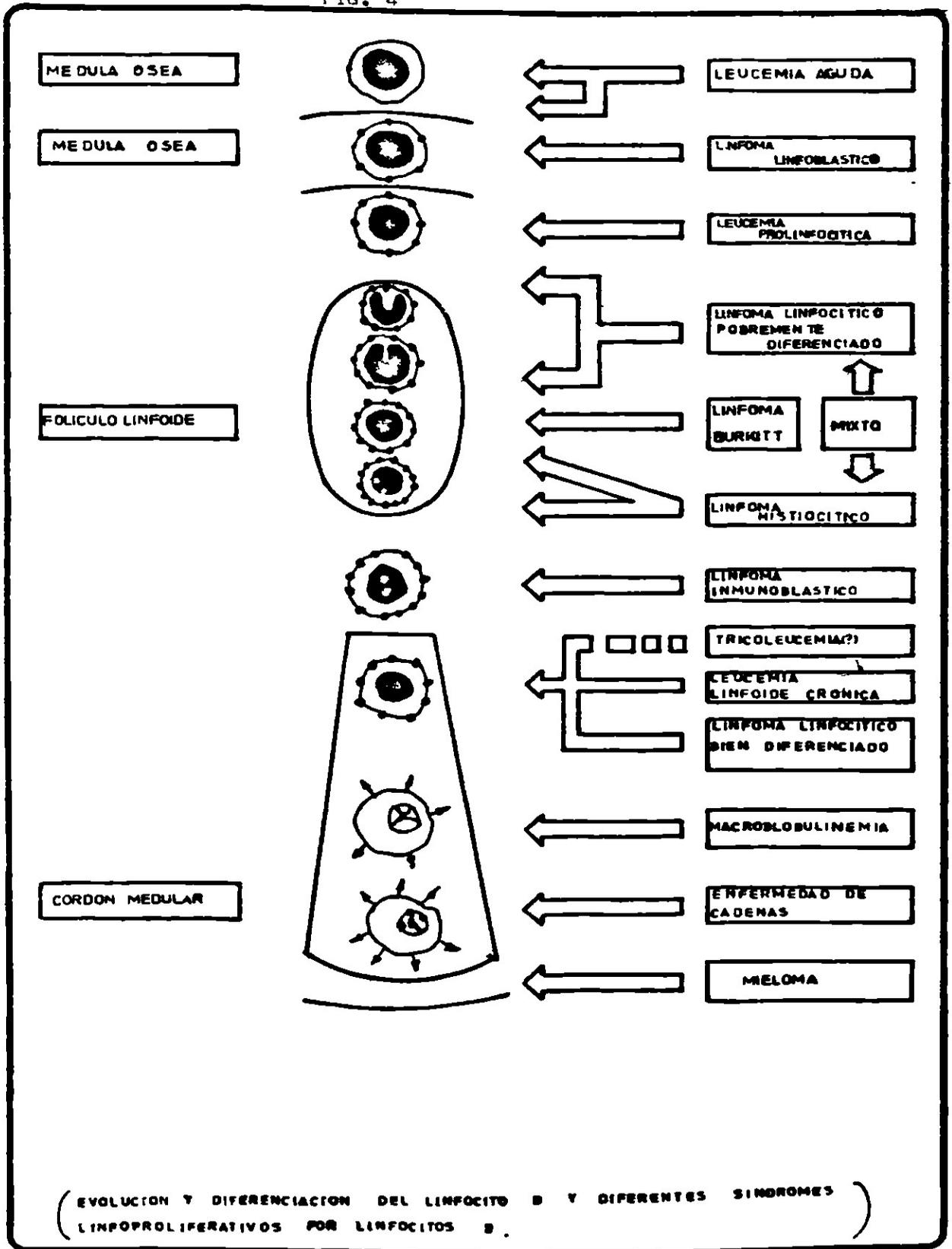


FIG. 4



LA PRESENCIA DE LOS IgS SON EL RASGO MAS CARACTERISTICO DE -
LOS LINFOCITOS B.

LOS LINFOCITOS B TIENEN EN SU SUPERFICIE UN ANTIGENO RELACIO-
NADO CON LA REGION INMUNE. EL Ag. Ia QUE ES UNA GLUCOPROTEINA COM-
PUESTA DE UNA CADENA PESADA DE 35000 DALTONS Y UNA CADENA LIGERA -
DE 27000 DALTONS ESTE Ag. Ia ES UNICO PARA LOS LINFOCITOS B. (12)

LOS LINFOCITOS T SE DIFERENCIAN POR LA FORMACION ESPONTANEA -
DE ROSETAS CON ERITROCITOS DE CARNERO. (1).

UTILIZANDO HETEROANTISUEROS, AUTOANTICUERPOS Y ANTICUERPOS MO-
NOCLONALES FRENTE A ANTIGENOS DE LA SUPERFICIE CELULAR, PUEDEN RE-
CONOCERSE ESTADIOS MADURATIVOS FIG.5 Y AL MISMO TIEMPO SEPARAR --
LAS SUBPOBLACIONES DE LINFOCITOS T CON ACTIVIDAD DIFERENTE.

LINFOCITOS T FACILITADORES (HELPER) Y LINFOCITOS T CITOTOXI -
COS SUPRESORES.

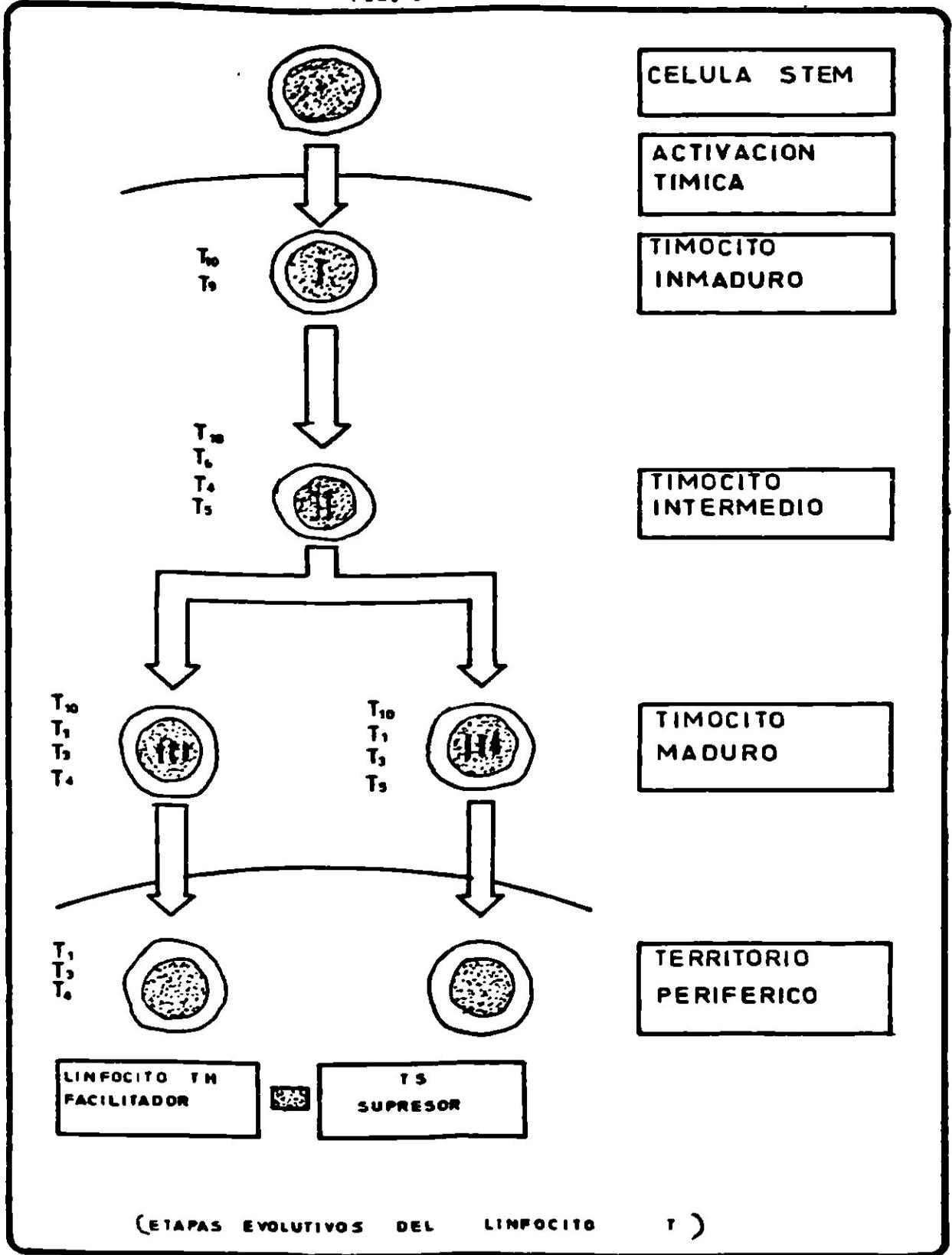
LOS LINFOCITOS QUE SON NEGATIVOS PARA ESTOS DOS ENSAYOS: PRE-
SENCIA DE IgS Y FORMACION ESPONTANEA DE ROSETAS CON ERITROCITOS-
DE CARNERO SON LLAMADOS LINFOCITOS NULL^o O NO T, NO B.

ADEMAS LOS LINFOCITOS T TIENEN LA CAPACIDAD DE IDENTIFICAR O
RECONOCER ANTIGENOS ESPECIFICOS, EFECTUAR FUNCIONES Y REGULAR EL-
TIPO Y LA INTENSIDAD DE LA CELULA Y LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL.
(29).

POR MEDIO DE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES LOS LINFOCITOS T -
PUEDEN SER DIVIDIDOS EN DOS SUBCLASES; OKT-4 ES ESPECIFICA
EN LA INMUNORREGULACION DE LA DIFERENCIACION DE CELULAS B Y OKT-8
QUE CONTIENE CELULAS CAPACES DE SUPRIMIR LA DIFERENCIACION DE LAS
CELULAS B. (35).



FIG. 5



(ETAPAS EVOLUTIVOS DEL LINFOCITO T)

LEUCEMIA.

LA LEUCEMIA ES UNA ENFERMEDAD QUE SE CARACTERIZA DESDE EL PUNTO DE VISTA ANATOMOPATOLOGICO POR LA PROLIFERACION TUMORAL MALIGNA, DE CENTROS FORMADORES DE LEUCOCITOS.- LOS ORGANOS HEMATOPOYETICOS, ESTOS ELABORAN LEUCOCITOS ATIPICOS DISTINTOS DE LOS NORMALES Y LOS VIERTEN EN EXCESO EN LA SANGRE EN DISTINTOS GRADOS DE INMADUREZ. (28).

LA LEUCEMIA ES DE ORIGEN DESCONOCIDO AUNQUE SE HAN SEÑALADO VARIOS FACTORES ETIOLOGICOS POSIBLES EN SU DESARROLLO.

PREDISPOSICION GENETICA.- TIENE RELATIVA FRECUENCIA EN VARIOS MIEMBROS DE UNA MISMA FAMILIA.

ALTERACIONES CROMOSOMICAS.- EN PACIENTES CON SINDROME DE BLOOM. O SINDROME DE DOWN

RADIACIONES IONIZANTES.- POR EJEMPLO; LAS RADIACIONES DE LA BOMBA ATOMICA O RADIACIONES CON RAYOS EN DIFERENTES PARTES DEL CUERPO.

SUBSTANCIAS QUIMICAS.- AGENTES QUIMICOS INCLUYENDO ALGUNOS FARMACOS.

VIRUS ONCOGENICOS.- ONCORNAVIRUS.

SEGUN SEA EL ASPECTO MORFOLOGICO DE LOS LEUCOCITOS Y SU COMPORTAMIENTO CITOQUIMICO FRENTE A LA REACCION DE LA PEROXIDASA PUEDEN SER LINFOBLASTICA O MIELOBLASTICA.

LAS CELULAS LEUCEMICAS TIENEN DEFINIDO POR MEDIO DE UN ANTISUERO, UN ANTIGENO COMUN (CALLA), ES UNA MOLECULA DE PESO MOLECULAR 98000 DALTONS, Y ESTA PRESENTE EN UN 70% DE LAS CELULAS LEUCEMICAS DE PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA, AUNQUE NO ES ESPECIFICA DE LAS CELULAS LEUCEMICAS YA QUE TAMBIEN SE ENCUENTRAN EN CELULAS NORMALES DE LA MEDULA OSEA. (12).

UTILIZANDO MARCADORES B Y T, IgS. Ig CITOPLASMATICAS, ROSETAS Y ANTICUERPOS MONOCLONALES, QUE IDENTIFICAN EL ANTIGENO CALL. LA LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA PUEDE SER DIVIDIDA EN 5 GRANDES SUB - GRUPOS:

LLA- NO CLASIFICADA O NULA- TODAS LAS CELULAS NO EXPRESAN EL Ag. COMUN, PERO GENERALMENTE EXPRESAN EL Ag. Ia, ADEMAS TIENEN ELEVACION DE LA ENZIMA TdT Y DE LOS NIVELES INTRACELULARES DE LAS ISOENZIMAS DE HEXOSAMINIDASA, 5 NUCLEOTIDASA Y PURIN NUCLEOSIDO FOSFORILASA.

ESTE TIPO DE LEUCEMIA TIENE UN PRONOSTICO MENOS FAVORABLE QUE LA LLA COMUN.

LLA COMUN.- TODAS LAS CELULAS EXPRESAN EL Ag COMUN DE LA LLA

LLA-PRE-B.- ESTE SUB-GRUPO ES IDENTIFICADO POR LA PRESENCIA DE CADENAS PESADAS MI INTRACITOPLASMATICAS, Ig DE SUPERFICIE Y AUSENCIA DE CADENAS LIGERAS.

ESTE TIPO TIENE UN PRONOSTICO MENOS FAVORABLE QUE LA LLA COMUN.

LLA-B.- ESTA ES UNA FORMA DE LEUCEMIA RARA 1-5% DE LOS CASOS-TIENE Ig DE SUPERFICIE Y Ag. Ia POSITIVOS, EXPRESA EL Ag. COMUN DE LA LLA SIMILARMENTE A LA LLA COMUN. TIENE UN PRONOSTICO MUY DESFAVORABLE.

LLA-T.- ESTA FORMA DE LEUCEMIA REPRESENTA 15-25% DE LOS CASOS PUEDE SER IDENTIFICADA POR LA FORMACION DE ROSETAS CON ERITROCITOS DE CARNERO, POR MEDIO DE ANTISUEROS O POR ANTICUERPOS MONOCLONALES, ESTAS CELULAS SON GENERALMENTE TdT Y FOSFATASA ACIDA POSITIVA, TIENEN NIVELES ELEVADOS DE ADENOSIN DEAMINASA, Y RARA VEZ PRESENTAN LOS Ag. Ia Y CALLA. ESTE GRUPO TIENE UN PRONOSTICO MUY-DESFAVORABLE.

OTRA CLASIFICACION DE LA LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA T ES DE ACUERDO A SUS NIVELES DE DIFERENCIACION TIMICA:

ESTADIO I.- TIMOCITOS PRIMITIVOS O PROTIMOCITOS REPRESENTAN EL 10% DE LAS CELULAS TIMICAS, ESTAS CELULAS REACCIONAN CON LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES OKT9 Y OKT10.

ESTADIO II.- ESTE FENOTIPO REPRESENTA EL 20% DE LOS LINFOCITOS. REACCIONAN CON LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES OKT-6, OKT-4, -OKT-5/8, OKT-10 Y PIERDE REACTIVIDAD CON OKT-9.

ESTADIO III.- TIENE UNA MAYOR DIFERENCIACION, PIERDE REACTIVIDAD CON OKT-6 PERO SIGUE PRESENTANDO SUB-POBLACIONES SIMILARES A LAS ENCONTRADAS EN LA SANGRE PERIFERICA OKT-4 Y OKT-8, SOLO RARA VEZ TIENEN EL FENOTIPO DE UN LINFOCITO MADURO.

ESTA DIFERENCIACION SE REPRESENTA EN LA FIG. 6.

EL ANALISIS DE LAS ENZIMAS INTRACELULARES TAMBIEN PUEDE SER DE GRAN AYUDA EN LA CLASIFICACION DE LA LLA, LA TdT, DNA, POLIMERAZA INESPECIFICA SON ELEVADAS EN LA LLA-NO CLASIFICADA, LLA COMUN, LLA-PRE-B Y LLA-T, PERO NO EN LA LLA-B.

LA INSOENZIMA HEXOSAMINIDASA ESTA UN POCO ELEVADA EN LA LLA-T.

LA 5' NUCLEOTIDASA Y LA PURIN NUCLEOSIDO FOSFORILASA ESTAN NORMALES EN LA LLA-NO T, PERO REDUCIDAS EN LA LLA-T.

LA FOSFATASA ACIDA ES UNICA EN LAS CELULAS DE LLA-T.

TAMBIEN SE HA PROPUESTO OTRA CLASIFICACION CITOMORFICA DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS ESTA SE REPRESENTA EN EL CUADRO No.1

TABLA No. 1

CLASIFICACION DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS DE DIFERENCIACION LINFOIDE.

CARACTERISTICAS	L1	L2	L3
TAMAÑO	PEQUEÑO (2 VECES EL LINFO PEQUEÑO)	GRANDES HETEROGNEO EN TAMAÑO	GRANDE Y HOMOGNEO.
CROMATINA	HOMOGENEA EN CADA CASO	HETEROGENEA	FINAMENTE-PUNTEADA Y HOMOGNEA.
CONTORNO NUCLEAR	REGULAR IDENTACIONES OCASIONALES	IRREGULAR IDENTACION.	REGULAR OVAL O REDONDO.
NUCLEOLO	NO VISIBLE O PEQUEÑO	UNO O MAS A VECES GRANDES	PROMINENTE UNO O MAS-VESICULOSO
CITOPLASMA	ESCASO	VARIABLE A VECES MODERADAMENTE ABUNDANTE	MODERADA - MENTE ABUNDANTE, CON MULTIPLES-VACUOLAS - QUE SE SUPERPONEN - AL NUCLEO.
BASOFILIA CITOPLASMATICA	LIGERA O MODERADAMENTE INTENSA.	VARIABLE	MUY INTENSO.
VACUOLAS CITOPLASMATICAS	VARIABLES	VARIABLES	A MENUDO - PROMINENTES.

LEUCEMIA LINFOCITICA CRONICA.

LA LEUCEMIA LINFOCITICA CRONICA REPRESENTA UNA PROLIFERACION NEOPLASTICA DE LOS LINFOCITOS B Y SOLO EN ALGUNAS CIRCUNSTANCIAS REPRESENTA SER DE ORIGEN DE CELULAS T (18).

LA LEUCEMIA LINFOCITICA CRONICA Y EL LINFOMA LINFOCITICO BIEN DIFERENCIADO REPRESENTAN UNA PROLIFERACION MONOCLONAL DE LINFOCITOS B POSITIVOS PARA LA Ig, DE SUPERFICIE QUE SON DE CADENA PESADA MI Y DELTA, ASOCIADAS A CADENAS LIGERAS KAPA Y LAMBDA. -- (2, 13).

EL ELEVADO % DE CELULAS QUE FORMAN ROSETAS INDICAN QUE SE TRATA DE CELULAS B EN UN ESTADIO TEMPRANO DE DESARROLLO. (24).

LAS CELULAS B DE LA LLC TIENE USUALMENTE RECEPTORES PARA C3-Y Fc ASI COMO TAMBIEN EL ANTIGENO Ia; ESTA ENFERMEDAD PUEDE EVOLUCIONAR HASTA LINFOMA HISTIOCITICO DIFUSO, Y EN ESTOS CASOS LAS CELULAS DEL LINFOMA PRESENTAN AUSENCIA DE IgS O TIENEN DIFERENTES MARCADORES . (8, 34).

ESTE CASO REPRESENTA UN LINFOMA DE CELULAS B.

LEUCEMIA PROLINFOCITICA (LPL)

LA LEUCEMIA PROLINFOCITICA ES UNA VARIANTE DE LA LLC QUE TAMBIEN SE DERIVA DE LOS CORDONES MEDULARES DE LOS NODULOS LINFATICOS, LAS CELULAS DE LAS LPL PARECE SER QUE SON MORFOLOGICAMENTE INMADURAS CON UNA FINA CROMATINA NUCLEAR Y UNO O DOS NUCLEOLOS, PUEDEN TENER GRANULOS INTRACITOPLASMATICOS Y TIENEN IgS DE ALTA DENSIDAD. (25).

LAS CELULAS DE PACIENTES CON LLA-B TIPICAS O LPL-B REACCIONAN CON ANTISUEROS ANTI-T Y CON EL ANTICUERPO MONOCLONAL OKT-1. (19, 26, 31).

LEUCEMIA MIELOGENA AGUDA.

MUCHAS CLASIFICACIONES DE LMA ESTAN BASADAS SOBRE SU MORFOLOGIA Y CITOQUIMICA ESTA CLASIFICACION SE PRESENTA EN EL CUADRO II.

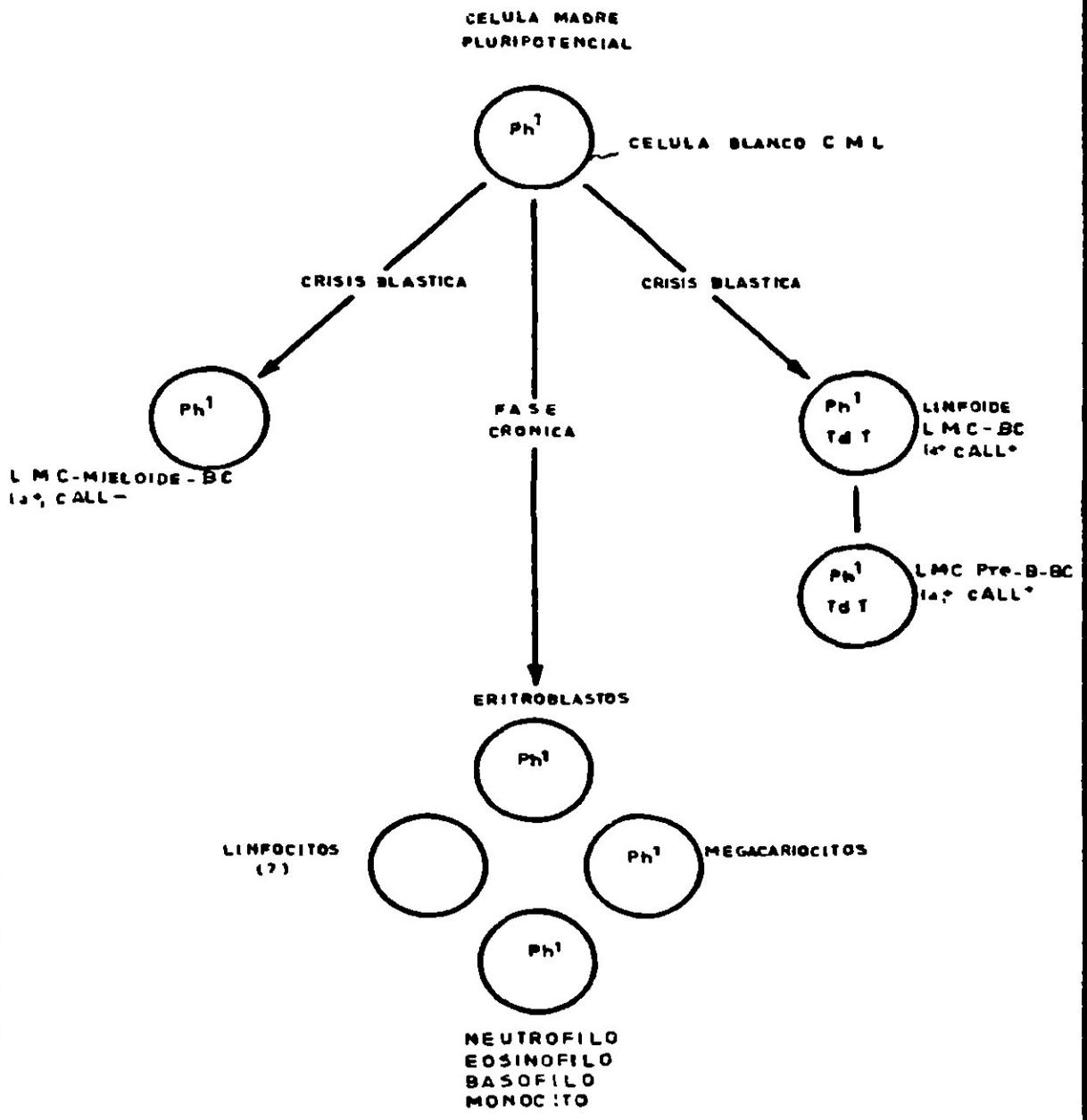
EXISTEN TAMBIEN ANTICUERPOS MONOCLONALES RECIENTEMENTE DESARROLLADOS QUE SON ESPECIFICOS PARA CELULAS MIELOIDES Y QUE PUEDEN SER UTILES PARA SUB-CLASIFICAR LA LMA, ESTE ANTICUERPO ES EL OKM1. (4, 15).

LEUCEMIA MIELOGENA CRONICA.

LA LMC ES UNA PROLIFERACION CLONAL DE GRANULOCITOS MADUROS Y SUS PROGENITORES, ESTA FASE CRONICA ESTA CARACTERIZADA POR UN MARCADO NUMERO DE GRANULOCITOS MADUROS, MEGACARIOCITOS Y ERITROCITOS FIG. 7.

LA HETEROGENEIDAD DE LOS TIPOS CELULARES EN LA FASE CRONICA Y EL FENOTIPO DE SU SUPERFICIE MARCADA, ES EN MUCHOS CASOS UNA ANORMALIDAD DEL CROMOSOMA PHILADELPHIA (Ph'), ESTE ESTA PRESENTE EN NEUTROFILOS, MONOCITOS, NORMOBLASTOS, MEGACARIOCITOS, BASOFILOS Y EOSINOFILOS DE LOS PACIENTES CON LMC MIELOIDE Y LMC LINFOIDE. PARA DISTINGUIR UNA LMC MIELOIDE DE UNA LMC LINFOIDE PUEDEN SER USADOS ANTIGENOS TALES COMO EL Ag MIELOMONOCITICO Y EL Ag M, ASI COMO TAMBIEN ALGUNOS ANTICUERPOS MONOCLONALES QUE SON ESPECIFICOS PARA GRANULOCITOS O PARA MONOCITOS Y ALGUNOS PUEDEN DISTINGUIR LOS SUB-TIPOS DE LOS GRANULOCITOS DE LA LMC MIELOCITICA (M1, M2, M3) DE LOS SUB-TIPOS DE LOS MONOCITOS (M4, M5) (9, 10).

FIG. 5



REPRESENTACION ESQUEMATICA DEL ORIGEN DE LA FASE CRONICA Y CRISIS BLASTICA DE LEUCEMIA MIELOGENA CRONICA.

TABLA No. 2

CLASIFICACION MORFOLOGICA DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS DE DIFERENCIACION MIELOIDE. FIG. 8

INDIFERENCIADA: M1. DIFERENCIACION GRANULOCITICA MUY ESCASA, PUESTA DE MANIFIESTO POR 3% O MAS DE POSITIVIDAD, PEROXIDASA Y UNO O MAS NUCLEOLOS, O PROPORCION VARIABLE DE BLASTOS CONTENIENDO AL MENOS ALGUNOS GRANULOS AZUROFILOS, BASTONES DE AUER O AMBOS.

MIELOBLASTICA: M2. MAS DE 50% DE LAS CELULAS MEDULARES SON MIELOBLASTOS Y PROMIELOCITOS. EXISTEN A MENUDO NUCLEOLOS Y LA EXTENSION DEL CITOPLASMA, ES VARIABLE, CONTENIENDO NORMALMENTE MUCHOS GRANULOS AZUROFILOS. LOS CUERPOS DE AUER, CASI SIEMPRE AISLADOS SON FRECUENTES.

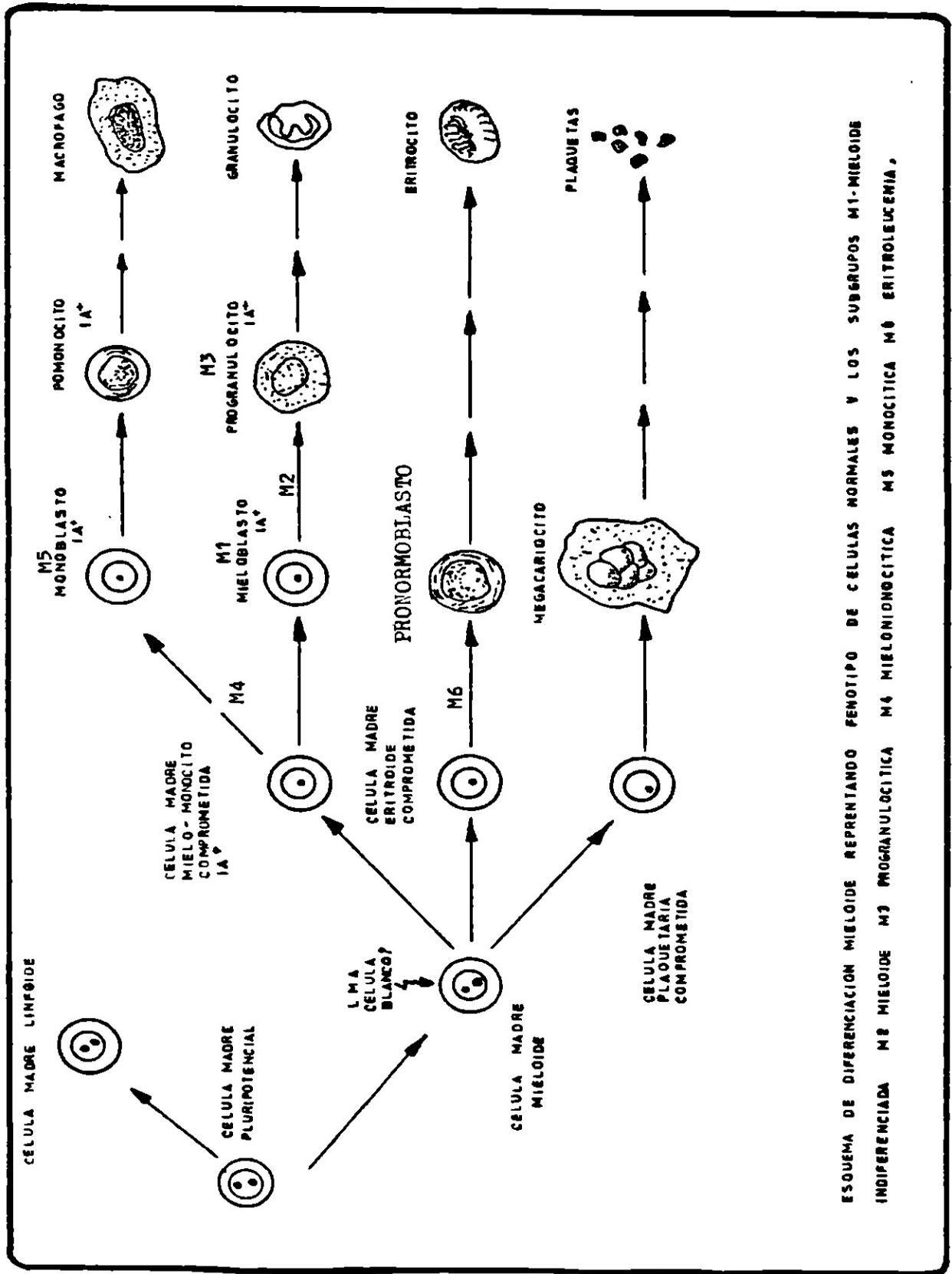
PROMIELOCITICA: M3. LA GRAN MAYORIA DE LAS CELULAS SON PROMIELOCITOS ANORMALES. LA FORMA DEL NUCLEO ES VARIABLE, A VECES OCULTO POR EL GRAN NUMERO DE GRANULACIONES CITOPLASMATICAS. ES CARACTERISTICA LA APARICION DE HACES DE BASTONES DE AUER. ESTOS SON VISTOS AISLADOS POR ROTURA CELULAR AL IGUAL QUE LOS GRANULOS.

MIELOMONOCITICA: M4. EXISTEN A LA VEZ FORMAS MIELOIDES Y MONOCITOIDES. SE DISTINGUEN DE LA M2 EN LA PROPORCION DE LAS FORMAS MONOCITOIDES, POR EXCEDER DEL 20% DE LAS CELULAS DE LA SANGRE PERIFERICA. LA MEDULA PUEDE SEMEJAR M4 O M5.

MONOCITICA: M5. EN SANGRE PERIFERICA BLASTOSIS MONOCITOIDE O MENOS DIFERENCIADA. LAS CELULAS MEDULARES SON MONOBLASTOS CON ESCASO NUMERO DE MIELOBLASTOS MAS PROMIELOCITOS, NUNCA EXCEDE EL 20% (A DIFERENCIA DE M4).

ERITROLEUCEMIA: M6. COMPONENTE ERITROBLASTICO SUPERIOR AL 50% DE TODAS LAS CELULAS MEDULARES NUCLEADAS, CON GRADOS VARIABLES DE ATIPIA, FUNDAMENTALMENTE MULTILOBULACIONES..

HAY UN EXCESO DE MIELOBLASTOS MAS PROMIELOCITOS SUPERIOR A 40%.



ESQUEMA DE DIFERENCIACION MIELOIDE REPRESENTANDO FENOTIPO DE CELULAS NORMALES Y LOS SUBGRUPOS M1-MIELOIDE INDIFERENCIADA M2 MIELOIDE M3 PROGRANULOCITICA M4 MIELOMONOCITICA M5 MONOCITICA M6 ERITROLEUCEMIA.

LINFOMAS

EL LINFOMA DE HODGKIN, ES UNA ENFERMEDAD NEOPLASICA MALIGNA - DEL SISTEMA LINFORRETICULAR.

SU CARACTERISTICA CITOLOGICA COMUN ES LA PRESENCIA DE CELULAS DE REED-STERBERG.

FACTORES ETIOLOGICOS:

FACTORES GENETICOS.- HAY UNA INCIDENCIA MAYOR EN GEMELOS DE PACIENTES CON LA ENFERMEDAD DE HODGKIN, MAYOR INCIDENCIA EN HOM - BRES QUE EN MUJERES. SE HAN ENCONTRADO ALTERACIONES EN EL CROMOSO - MA 14, ESTA ANORMALIDAD CITOGENETICA CONFIERE UNA VENTAJOSA PROLI - FERACION PARA ALTERAR LINFOCITOS Y ASI INCREMENTAR EL DESARROLLO - DEL LINFOMA. (16).

SINDROME DE INMUNODEFICIENCIA.- PACIENTES CON DESORDENES DE - INMUNODEFICIENCIA PRIMARIA TIENEN MAS PROBABILIDAD DE DESARROLLAR - CANCER DEL SISTEMA LINFORRETICULAR (14).

INMUNOSUPRESION TERAPEUTICA.- ESTE TUMOR PREDOMINANTEMENTE - LINFOMA HISTIOCITICO DIFUSO SE CARACTERIZA POR UNA PREDILECCION -- POR EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL. (7, 23).

AGENTES INFECCIOSOS.- ESPECIALMENTE DE NATURALEZA VIRICA- VI - RUS ONCOGENICO, HERPES, EPSTEIN BARR. LOS VIRUS INDUCEN LA PROLI - FERACION LINFOIDE QUE PUEDE SER ACTIVADA Y PRODUCIR ESTIMULACION - ANTIGENICA.

DESORDENES DE INMUNIDAD ADQUIRIDA.- LOS PACIENTES CON ARTRI - TIS REUMATOIDE O CON LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO TIENEN MAYOR PRO - BABILIDAD DE DESARROLLAR LINFOMA NO-HODGKIN. (16).

FACTORES AMBIENTALES.- EXPOSICION A RADIACIONES IONIZANTES - EJ. LOS SUPERVIVIENTES DE LA BOMBA ATOMICA.

DROGAS.- EL USO DE CIERTAS DROGAS INMUNOSUPRESORAS EN COMBINACION CON RADIOTERAPIA.

OCUPACION.- HAY CIERTA INCIDENCIA EN ANESTESIOLOGOS, EN EMPLEADOS DE LAS REFINERIAS DE PETROLEO, ETC.

CLASIFICACION DE LOS LINFOMAS NO-HODGKIN

LINFOCITO BIEN DIFERENCIADO

LINFOCITO POBREMENTE DIFERENCIADO

CELULARIDAD MIXTA (LINFOCITICA E HISTIOCITICA)

HISTIOCITICO

INDIFERENCIADO

TIPO BURKITT

TIPO NO-BURKITT

LINFOMA NO-HODGKIN.

LA ENFERMEDAD DE HODGKIN PROBABLEMENTE REPRESENTA UNA ENFERMEDAD DE ENTIDAD SIMPLE, Y EL LINFOMA NO HODGKIN REPRESENTA MULTIPLES ENTIDADES CON DIVERSA MORFOLOGIA Y EXPRESIONES CLINICAS, EN ALGUNOS CASOS DISTINTAS ENTIDADES MORFOLOGICAS PUEDEN ESTAR RELACIONADAS - CLINICA Y BIOLOGICAMENTE.

LINFOMA NODULAR (FOLICULAR)

ESTE LINFOMA REPRESENTA UN EQUIVALENTE NEOPLASICO DE FOLICULOS LINFOIDES NORMALMENTE ESTE TUMOR EXPRESA LA FORMA, MARCADORES CITOLOGICOS E INMUNOLOGICOS DE LOS LINFOCITOS B FOLICULARES.

LINFOMA NODULAR DE LINFOCITOS POBREMENTE DIFERENCIADOS.

ES UN TIPO DE TUMOR QUE NO PROLIFERA RAPIDAMENTE, PERO LAS CELULAS NEOPLASICAS IGUAL QUE LOS LINFOCITOS NORMALES, ESTAN PROPENSOS A DISMINUIR CONTINUAMENTE, ESTAS CELULAS SON LINFOCITOS B FOLICULARES Y SON ACTIVOS COMPONENTES DEL TUMOR ESTO ESTA BASADO SOBRE-OBSERVACIONES MORFOLOGICA Y CLINICA (30).

LINFOMA DE LINFOCITOS BIEN DIFERENCIADOS-MALIGNOS.

LOS LINFOCITOS BIEN DIFERENCIADOS SON UNA EXPANSION NEOPLASTICA DEL SISTEMA SECRETOR DE CELULAS B ANALOGAMENTE PUEDEN ENCONTRARSE, ENTRE LAS CELULAS NEOPLASICAS Y-DIFERENTES ESTADOS EN LA MADURACION DE UNA CELULA B DEL CORDON MEDULAR DENTRO DEL PLASMA CELULAR.

LINFOMA DE BURKITT'S

SE HAN DEMOSTRADO MARCADORES DE LA SUPERFICIE CELULAR DE LAS - CELULAS B EN ESTOS LINFOMAS.

LAS CELULAS NEOPLASICAS USUALMENTE SON POSITIVAS PARA Igs QUE SON DE LA CLASE IgM PERO CASI NO EXPRESAN CELULAS B MARCADAS COMO RECEPTORAS DE COMPLEMENTO, ANALOGAMENTE LAS CELULAS DEL LINFOMA DE BURKITT'S Y LAS CELULAS DEL LINFOMA DE CELULAS PEQUEÑAS NO PROVIE - NEN DE CENTROS GERMINALES (14).

ESTE TUMOR ES RARO, ES UN MODELO FOLICULAR DE CRECIMIENTO SE - LECTIVO QUE IMPLICA EL CENTRO GERMINAL Y EL NODULO LINFOIDE.

LINFOMA DE TIPO CELULAR T

LAS CELULAS T PERIFERICAS DE ESTE LINFOMA SE CARACTERIZAN POR - SU GRAN EXPRESION MORFOLOGICA, CON UNA COMPOSICION CELULAR PLEOMOR - FICA.

LA PRESENCIA DE GRANDES CELULAS TRANSFORMADAS CON NUCLEO PRO - MINENTE EOSINOFILICO Y OCASIONALMENTE BINUCLEADO O MULTINUCLEADO -- PUEDE SIMULAR LA ENFERMEDAD DE HODGKIN SIN EMBARGO ESTE TUMOR PUEDE DISTINGUIRSE POR EL ATIPOICO DE LA PEQUEÑA CELULA LINFOIDE Y EL RAN - GO DE TIPO CELULAR PRESENTE. UTILIZANDO Ac. MONOCLONALES COMO MAR - CADORES DE SUPERFICIE SE HA RECONOCIDO COMO LINFOMA DE CELULAS T PE - RIFERICAS.

LINFOMA LINFOBLASTICO

EL LINFOMA LINFOBLASTICO ESTA INCLUIDO EN EL GRUPO GENERICO - DEL LINFOMA LINFOCITICO POBREMENTE DIFERENCIADO DIFUSO.

LA SUPERFICIE Y LOS MARCADORES EXPRESADOS POR LAS CELULAS NEO - PLASICAS REFLEJAN LOS ESTADOS DE MADURACION Y DIFERENCIACION DE LIN - FOBLASTOS TIMICOS NORMALES, EL RECEPTOR DEL COMPLEMENTO PUEDE SER - IDENTIFICADO DURANTE EL DESARROLLO FETAL. LOS OTROS MARCADORES PUE - DEN SER EXPRESADOS CONTINUAMENTE DURANTE LA DIFERENCIACION DE CELU - LAS I.

LAS CELULAS NEOPLASICAS PUEDEN PRESENTAR MARCADORES DE UNO DE LOS ESTADOS SECUENCIALES DURANTE LA MADURACION DE ESTAS CELULAS.

EN MUCHOS CASOS PUEDEN PRESENTAR CELULAS T DE LLA EN UNA FASE LEUCEMICA ESTAS CELULAS MALIGNAS FORMAN ROSETAS Y REACCIONAN CON - EL ANTISUERO ANTI T ADEMAS PRESENTAN ESTADIOS II Y III DE LOS TIMO CITOS.

LINFOMA DE CELULAS GRANDES O LINFOMA HISTIOCITICO

EL TUMOR DE CELULAS GRANDES ESTA INCLUIDO EN LA CLASIFICACION DE TUMORES HISTIOCITICOS, MEZCLA LINFOCITICA Y SUBTIPOS INDIFERENCIADOS, ESTO SE REPRESENTA MORFOLOGICAMENTE POR TRANSFORMACION CELULAR DE DIVERSOS ORIGENES, LA TRANSFORMACION O DIFERENCIACION NATURAL DE LA CELULA NEOPLASICA NO REPRESENTA CARACTERISTICAS PARA - SER LINFOMA DE CELULAS T O B.

ESTE TUMOR PUEDE SER UNA MANIFESTACION DE PROGRESION DE UN - LINFOMA FOLICULAR. (5).

MATERIAL

MATERIAL BIOLÓGICO.- SANGRE HEPARINIZADA.

MATERIAL:

CENTRIFUGA CONVENCIONAL,

CENTRIFUGA REFRIGERADA SORVALL.

**MICROSCOPIO DE LUZ ULTRAVIOLETA AMERICAN
OPTICAL (SPENCER).**

BAÑO DE HIELO.

TUBOS DE ENSAYE.

PIPETAS (5,10 ml.).

MICROPIPETAS.

MICROJERINGA.

CONTADOR DE CELULAS.

PORTAOBJETOS.

CUBREOBJETOS.

HEMATOCITO METRO.

REACTIVOS PARA DETECCION DE LINFOCITOS T POR IFI.

PBS.- PH 7.2 CON NaN_3 A CONCENTRACION FINAL DE 0.1% (ES ACONSEJABLE FILTRARLO ANTES DE SU USO).

PREPARACION DE PBS.

NaCl Q.P. (CLORURO DE SODIO Q.P.)	8.5 gr.
$\text{Na}_2 \text{HPO}_4$ (FOSFATO ACIDO DE SODIO DIBASICO)	8.62gr.
KH_2PO_4 (FOSFATO DE POTASIO)	2.48gr.
NaN_3 (AZIDA DE SODIO)	1.0 gr.
AGUA DESTILADA CBP	1000ml.

-ANTICUERPOS MONOCLONALES.- USUALMENTE OBTENIDOS EN FORMA LIOFILIZADA POR ORTHO PHARMACEUTICAL CORP.

PREPARACION.

RECONSTITUIRSE CON 1 ML. DE PBS- NaN_3 (DA UNA CONC.FINAL DE ANTICUERPO DE APROX. 25ug/ml.) Y HAGANSE ALICUOTAS DE 0.1 ML.

CONSERVADAS A 4°C TIENEN ESTABILIDAD DE 1-3 MESES Y CONGELADOS DE 3-6 MESES.

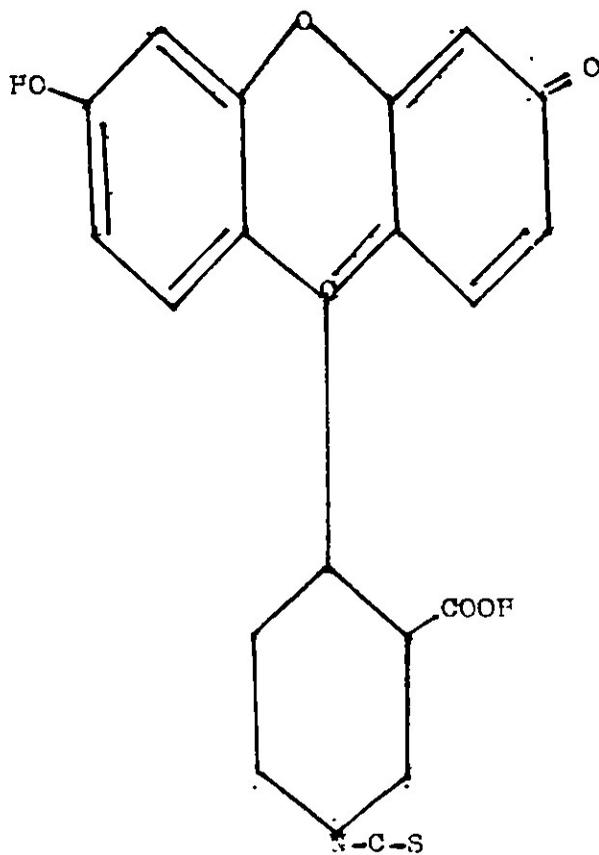
-FICOLL H¹PAQUE. LYMPHOCITE SEPARATION MEDIUM BIONETICS.

-ANTISUERO ANTI-RATON CONJUGADO CON ITCF (ISOTIOCIANATO DE FLUORESCINA).

LA CONC. FINAL DE PROTEINAS (ANTISUERO) ACONSEJABLE ES DE 125-250 ug/ml., SE USA DILUCION 1:20.

-GLICEROL - PBS 30% DE PBS PH7.4 Y 70% DE GLICEROL Y NaN_3 a -- CONC. FINAL DE 0.1%

FORMULA DEL ITCF



METODO

- 1.- 10 ML. DE SANGRE HEPARINIZADA
- 2.- CENTRIFUGAR A 2000 RPM. 10 MINUTOS A TEMPERATURA AMBIENTE.
- 3.- DESECHAR EL PLASMA.
- 4.- EXTRAER LA CAPA DE LEUCOCITOS.
- 5.- COLOCAR EN UN TUBO CONICO DE 15 ML. Y DILUIR CON PBS A 10-12 cc.
- 6.- AÑADIR EN EL FONDO DEL TUBO 3cc DE FICOLL-HIPAQUE.
- 7.- CENTRIFUGAR A TEMPERATURA AMBIENTE A 1500 RPM. DURANTE 40-MINUTOS.
- 8.- EXTRAER LA CAPA DE LINFOCITOS Y COLOCARLOS EN UN TUBO DE-10X75 MM.
- 9.- AÑADIR 2 CC. DE PBS Y CENTRIFUGAR A 1500 RPM. POR 10 MIN. A TEMPERATURA AMBIENTE.
- 10.- DECANTAR Y RESUSPENDER EN 2 cc. DE PBS.
- 11.- REPETIR EL LAVADO.
- 12.- RESUSPENDER EN 1cc. DE PBS. Y REALIZAR EL CONTEO DE CELU - LAS OBTENIENDO EL PORCIENTO DE VIABILIDAD.
- 13.- CORREGIR LA SUSPENSION CELULAR Y LLEVARLA A 5×10^6 ML.
- 14.- COLOCAR UN BAÑO DE HIELO Y ETIQUETAR LOS TUBOS NECESARIOS - (UN TUBO POR CADA ANTICUERPO MONOCLONAL Y UN TESTIGO: I, - OKT-3, OKT-4, OKT-8, OKIa).
- 15.- AÑADIR A CADA TUBO 100 MICROLITROS DE PBS.
- 16.- AÑADIR A TODOS LOS TUBOS PROBLEMA 10 MICROLITROS DEL ANTI - CUERPO MONOCLONAL CORRESPONDIENTE Y AGITAR.
- 17.- AÑADIR A TODOS LOS TUBOS 100 MICROLITROS DE LA SUSPENSION - DE LINFOCITOS.
- 18.- AGITAR.
- 19.- INCUBAR A 4° C POR 30 MINUTOS Y AGITANDO CADA 10 MINUTOS.
- 20.- AÑADIR 1cc. DE PBS Y CENTRIFUGAR A 1500 RPM. 10 MINUTOS A - 4° C.
- 21.- DECANTAR Y RESUSPENDER CON 100 MICROLITROS Y LLEVAR A 1cc.
- 22.- REPETIR EL LAVADO 2 VECES.

- 23.- DECANTAR Y RESUSPENDER AÑADIENDO POSTERIORMENTE 100 MICROLITROS DE ANTISUERO CONJUGADO CON ITCF, ANTI-IgG DE RATON-DILUIDO 1:20.
- 24.- INCUBAR POR 30 MINUTOS EN BAÑO DE HIELO.
- 25.- AÑADIR 1cc DE PBS Y CENTRIFUGAR A 1500 RPM. POR 10 MINUTOS A 4°C.
- 26.- LAVAR 2 VECES DE IGUAL MANERA QUE LAS ANTERIORES.
- 27.- DECANTAR Y RESUSPENDER CON 100 MICROLITROS DE GLICEROL-PBS
- 28.- COLOCAR UNA GOTTA EN UN PORTAOBJETOS, COLOCAR EL CUBREOBJETOS Y SELLAR CON ESMALTE.
- 29.- LEER EL % DE LINFOCITOS FLUORESCENTES CON EL MICROSCOPIO-DE LUZ ULTRAVIOLETA (UV).

PREPARACION DE LINFOCITOS B.

100 MICROLITROS DE LA SUSPENSION DE LINFOCITOS.
100 MICROLITROS DE IgM.
100 MICROLITROS DE IgD,
AFORAR A 2cc. CON PBS.
CENTRIFUGAR 10 MINUTOS A 1500 RPM. A TEMPERATURA AMBIENTE.
DECANTAR Y AÑADIR GLICEROL PARA OKTs.

PREPARACION DE LA SOLUCION LISADORA

0.9 ML. DE NH₄CL AL 0.83%
0.1 ML. DE TRIS-BUFFER AL 2.06% PH 7.3

METODO PARA LISAR.

PONER EN UN TUBO LA CAPA DE LINFOCITOS QUE CONTIENEN GLOBULOS ROJOS.

AÑADIR 1 ML. DE LA SOLUCION LISADORA.
PONERLO EN LA ESTUFA A 37° C. POR 10 MINUTOS.
CENTRIFUGAR 10 MINUTOS A 500 RPM.
CONTINUAR CON EL PROCEDIMIENTO (PASO 10).

VALORES NORMALES DE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES.

OKT-3	52.62 %	<u>+</u>	0.05
OKT-4	32.75 %	<u>+</u>	0.05
OKT-8	23.75 %	<u>+</u>	0.05
OK1a	2 - 4 %	<u>+</u>	0.05
B	5 -15 %	<u>+</u>	0.05
IIR OKT-4/OKT-8	1.39	<u>+</u>	0.05

*** ANTICUERPOS MONOCLONALES EN NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS ***

	DX	OKT-3	OKT-4	OKT-8	IIR	Ia	B
FAT.	LGC	5.0%	2.9%	6.6%	.44	3.7%	1.4%
G.M.S.	LLA	15.7%	4.6%	4.5%	1.02	59.22%	1.45%
R.M.N.	LPM	26.9%	16.9%	10.9%	1.55	5.8%	9.7%
H.S.B.	LLA	33.8%	16.9%	15.5%	1.10	10.5%	21.0%
J.R.L.	LLA	29.7%	16.7%	12.0%	1.03	32.0%	18.0%
R.P.C.	LLA	60.9%	37.2%	22.5%	1.65	44.55%	6%

*** ANTICUERPOS MONOCLONALES EN NEOPLASIAS HEMATOLOGICAS ***

	DX	OKT-3	OKT-4	OKT-8	IIR	Ia.	B
R.T.C.	LH	37.9%	20.4%	28.9%	.70	11.15%	9.7%
J.J.N.	LH	48.8%	38.8%	21.9%	1.77	23.52%	10.37%
P.F.A.	LB	53.7%	34.54%	22.2%	1.56	21.7%	6.86%
M.A.G.	LH	52.0%	22.7%	34.5%	.61	19.1%	3.6%

CONCLUSIONES.

EN LA ACTUALIDAD GRACIAS A LOS PROGRESOS DENTRO DEL CAMPO DE LA INMUNOLOGIA Y LA APLICACION DE ESTOS EN HEMATOLOGIA, HA SIDO POSIBLE LLEVAR A CABO UNA CLASIFICACION MAS ADECUADA DE LAS NEOPLASIAS HEMATOLOGICAS (LEUCEMIAS Y LINFOMAS), POR MEDIO DE ANTICUERPOS MONOCLONALES, LO QUE A SU VEZ HA PERMITIDO CONOCER DE UNA MANERA MAS EXACTA - EL ORIGEN DE ESTAS NEOPLASIAS Y POR LO TANTO LOGRAR UNA TERAPEUTICA ESPECIFICA EN CADA CASO.

ADEMAS, RECIENTEMENTE LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES NO SOLO SON USADOS COMO MARCADORES CELULARES, SINO QUE HAN EMPEZADO A SER USADOS COMO AGENTES TERAPEUTICOS DE ESTAS NEOPLASIAS HEMATOLOGICAS, LO QUE OFRECE UNA MEJORIA EN EL PRONOSTICO, Y MAYOR PERSPECTIVA DE VIDA EN ESTOS PACIENTES.

EN NUESTRO MEDIO EN LA ACTUALIDAD SOLO SE CUENTA CON CANTIDADES PEQUERAS DE ANTICUERPOS MONOCLONALES APENAS SUFICIENTES PARA LLEVAR A CABO UNA CLASIFICACION MAS ADECUADA, QUE LA QUE SE REALIZA CON LOS MEDIOS DIAGNOSTICOS DE RUTINA.

Y QUIZA PRONTO SE PUEDA CONTAR CON CANTIDADES SUFICIENTES PARA LA APLICACION TERAPEUTICA EN NUESTROS PACIENTES.

YA QUE SOLO SE CONTO EN ESTE ESTUDIO CON LOS ANTICUERPOS MONOCLONALES :

OKT-3, OKT-4, OKT-8, OKT-6, OKIa.

SE REALIZO EL ESTUDIO DE 10 PACIENTES DE LOS CUALES EL DIAGNOSTICO CLINICO FUE 6 PACIENTES CON LEUCEMIA, DE LOS 4 FUERON DE LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA, 1 DE LEUCEMIA PROMIELOCITICA Y 1 DE LEUCEMIA GRANULOCITICA CRONICA. Y 4 LINFOMAS DE LOS CUALES FUERON 2 LINFOMA DE HODGKIN Y 1 LINFOMA DE BURKITT'S, A TODOS LOS PACIENTES, SE LES REALIZO BIOMETRIA HEMATICA COMPLETA, PUNCION DE MEDULA OSEA Y DE TERMINACION DE ANTICUERPOS MONOCLONALES A SU INGRESO AL HOSPITAL.

DEPENDIENDO DEL TIPO DE MARCADOR CELULAR SE LOGRA ESTABLECER -
CON MAS EXACTITUD EL ORIGEN DE ESTAS NEOPLASIAS.

ESTA CLASIFICACION SE EXTIENDE FUNDAMENTALMENTE HACIA LOS PA-
TRONES CLINICOS, PRONOSTICOS Y DE RESPUESTA TERAPEUTICA.

LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN ESTE ESTUDIO FUERON LOS SIGUIENTES:

DENTRO DE LAS LEUCEMIAS SE ENCONTRO UN PREDOMINIO DE LA LEUCE-
MIA LINFOBLASTICA AGUDA QUE PERTENECE AL GRUPO DE LA LEUCEMIA NO -
CLASIFICADA, NULA O No-T, No-B.

EN ESTE TIPO DE LEUCEMIA TODAS LAS CELULAS GENERALMENTE EXPRE-
SAN EL ANTIGENO Ia CON UN PREDOMINIO MAYOR QUE OTRO TIPO DE LEUCE -
MIA.

EN LA LEUCEMIA PROMIELOCITICA LA GRAN MAYORIA DE LAS CELULAS -
SON PRGMIELOCITOS ANORMALES, Y SE ENCUENTRA DISMINUIDA LA PRESENCIA
DEL ANTIGENO Ia.

EN LA LEUCEMIA GRANULOCITICA CRONICA TAMBIEN SE ENCONTRO DIS -
MINUIDO LOS NIVELES DEL ANTIGENO Ia, ADEMAS QUE NO SE CONTO CON EL
ANTICUERPO MONOCLONAL OKMI QUE ES ESPECIFICO PARA IDENTIFICAR GRANU
LOCITOS.

DENTRO DEL GRUPO DE LOS LINFOMAS SE ENCONTRO VARIACION EN LOS-
NIVELES DEL ANTIGENO Ia EN COMPARACION CON LOS NIVELES NORMALES.

EN CUANTO AL LINFOMA DE BURKITT'S, SE HAN DEMOSTRADO MARCADO -
RES DE LA SUPERFICIE CELULAR B, YA QUE LAS CELULAS NEOPLASICAS DE -
ESTE LINFOMA SON GENERALMENTE POSITIVAS PARA LAS INMUNOGLOBULINAS -
DE SUPERFICIE, PERO NO EXPRESAN CELULAS B MARCADAS.

POR LO TANTO EN COMPARACION CON EL DIAGNOSTICO CLINICO, LA VEN
TAJA DE CONTAR CON UNA CLASIFICACION MAS ADECUADA POR MEDIO DE LOS-
ANTICUERPOS MONOCLONALES ES QUE AUN ES POSIBLE OBTENER UN DIAGNOSTI
CO MAS EXACTO DE ESTAS NEOPLASIAS.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- AISENBERG ALAN C. THE AMERICAN JOURNAL OF MEDICINE 72: - 695-698, APRIL 1982 T-CELL CHRONIC LIMPHOCTIC LEUKEMIA.
- 2.- AISENBERG A.C. AM. J. MED. 68: 206-213, 1980 CELL SURFACE PHENOTYPE IN LIMPHOPROLIFERATIVE DISEASE.
- 3.- BALTIMORE D. NATURE 248-409, 1974. TERMINAL TRANSFERASE-A SOMATIC MUTAGEN IN LYMPHOCYTES
- 4.- BENNET JM. CATOVSKY J. HEMATOL 33: 451-489, 1976. PROPOSALS FOR THE CLASSIFICATTION OF THE ACUTE LEUKEMIAS.
- 5.- BERARD COSTAN, GREENE MARK ANNALS OF INTERNAL MEDICINE 94: 218-235, 1981. A MULTIDISCIPLINARY APPROACH TO NON-HODGKIN'S LYM-PHOMAS.
- 6.- BOLLUM FJ. BLOOD 54:1203, 1979. TERMINAL DEOXYNUCLEOTYDYL TRANSFERASE AS A HEMATOPOIETIC CELL MAR - KER.
- 7.- BOLLUM FJ. NEW YORK JOHN WILEY & SONS 1979. TERMINAL DEOXYNUCLEOTIDYL TRANSFERASE: BIOLOGICAL STUDYES IN ADVAN-CES IN ENZYMOLOGY.
- 8.- BROUET JC. MED. J. 4: 23-24, 1973. BLAST CELLS WITH MONOCLONAL SURFACE IMMUNOGLOBULIN IN TWO CASES OF- ACUTE BLAST CRISIS SUPERVENING OM CHRONIC LYMPHOCTIC LEUKEMIA.
- 9.- CHEVERNICK, ELLIS, LAWSON SCIENCE 174: 1134-1136, 1971. HUMAN LEUKEMIC CELLS: IN VITRO GROWTH OF CLONIES CONTAINING THE PHI LADELPHIA CHROMOSOME.
- 10.- DENEGRI, NAIMAN, GUILLEN J. HEMATOL 40: 351:356, 1978. IN VITRO GROWTH OF BASOPHILS CONTAINING THE CHROMOSOME PHILADELPHIA IN ACUTE PHASE OF CHRONIC MYELOGENOUS LEUKEMIA.

11.- ESPINOS PEREZ D. TRATADO DE MEDICINA PRACTICA MEDICINE - 580-590 MAYO 1982. CONCEPTOS Y CLASIFICACION DE LAS ENFERMEDADES DE LOS GANGLIOS LINFATICOS.

12.- FOON KENNETH, SCHROFF W ROBERT THE JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY BLOOD 60: 1-18 JULY 1982. SURFACE MARKERS ON-LEUKEMIA AND LYMPHOMA CELLS.

13.- FU SM., WINCHESTER J. IMMUNOL 114: 250-254, 1975. SIMILAR IDIOTIPIC SPECIFICITY OF THE MEMBRANE IgD AND IgM OF HUMAN B LYMPHOCYTES.

14.- GATTI RA CANCER 28: 89-98, 1971. OCURRENCE OF MALIGNANCY IN IMMUNODEFICIENCY DISEASES.

15.- GRALNICK, GALTON, CATOVSKY ANN INTERN MED. 87: 740-753, - 1977. CLASSIFICATION OF ACCUTE LEUKEMIA.

16.- GREENE THE EPIDEMIOLOGY AND PREVENTION OF CANCER 1981. THE EPIDEMIOLOGY OF NON-HODGKIN'S LYMPHOMAS AND MYCODIS FUNGOIDES.

17.- INOSHITA TSUYOSI AND WHITESIDE AMERICAN CANCER SOCIETY - 48: 1754-1760, 1981. IMBALANCE OF T CELL SUBPOPULATIONS DOES NOT RE SULT IN DEFECTIVE HELPER FUNCTION IN LYMPHOCYTIC LEUKEMIA.

18.- JAFFE ES. ANN INTERNAL MED 94: 218-235, 1980. NON-HODGKIN'S LYMPHOMAS AS NEOPLASMA OF THE INMUNE SYSTEM.

19.- KAMEUM M. MARTIN J. EXP. MED. 153: 207-212, 1981. IDENTIFICATION OF HUMAN T LYMPHOCYTE SURFACE PROTEIN ASSOCIATED -- WITH THE E-ROSETTE RECEPTOR.

20.- KERSEY JOHN H. JOURNAL OF CLINICAL IMMUNOLOGY 1981 AUGUST. LYMPHOID PROGENITOR CELLS AND ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA: STUDIES WITH MONOCLONAL ANTIBODIES.

21.- KLINMAN, PRESS, SIGAL ACADEMIC PRESS LONDON 127-149, 1976 THE GENERATION OF ANTIBODYE DIVERSITY.

- 22.- KOHLER G. AND MILSTEIN C. NATURE (LONDON) 256: 495-497 - 1975.
- 23.- KOHLER G. AND MILSTEIN C. J IMMUNOLOGY 6: 511-519, 1976.
- 24.- KOZNER B FILIPPA AM. J. MED. 63: 556-557, 1977.
CHARACTERIZATION OG MALIGNANT LYMPHOME IN LEUKEMIA PHASE BY MULTI -
PLE DIFERENTTIATION MARKERS OR LEUKEMIC CELLS.
- 25.- KOZINER B. KEMPIN BLOOD 56: 815-823, 1980.
CHARACTERIZATION OF B CELLS LEUKEMIA: A TENTATIVE IMMUNOMORPHOLOGICAL SCHEME.
- 26.- MARTIN PJ HANSEN J. IMMUNOLOGY 127: 1920-1923, 1981.
MONOCLONAL ANTOBODIES RECOGNIZING NORMAL BUMAN T LYMPHOCYTES AND -
MALIGNANT HUMAN B LYMPHOCYTES.
- 27.- MATAS AJ. SIMMONS LANCET 1: 1277-9
CHRONIC ANTIGENIC SIMULATION, HERPES-VIRUS INFECTION AND CANCER IN-
TRANSPLANT RECIPIENTS.
- 28.- RAPAPORT.
INTRODUCCION A LA HEMATOLOGIA.
- 29.- REINHERZ ELLIS AND SCHLOOSMAN THE NEW ENGLAND JOURNAL OF
MEDICINE 7: 370-373, 1981.
REGULATION OF THE IMMUNE RESPONSE: INDUCER AND SUPPRESSOR T LYMPHO-
CYTE SUBSETS.
- 30.- RITZ J. BLOOD 59: 1-11, 1982.
UTILIZATION OF MONOCLONAL ANTIBODIES IN THE TREATMANT OF LEUKEMIA -
AND LYMPHOMA.
- 31.- ROYSTON I. MAJDA J. IMMUNOLOGY 125: 725-731, 1980.
HUMAN T CELL ANTIGENS DEFINED BY MONOCLONAL ANTOBODIE.

32.- SCAMARTZ RS. LANCET 1: 1266-9
INMUNORREGULATION ONCOGENIC VIRUSES AND MALIGNANT LYMPHOMAS.

33.- SECHER DAVID IMMUNOLOGY TODAY 22-26, 1980 JULY.
MONOCLONAL ANTOBODIES BY CELL FUSION.

34.- SPLINTER TAW SCAND J. HEMATOL 20: 26-29, 1978
CLL AND DIFFUSE HISTIOCYTIC LIMPHOMA IN ONE PATIENT: CLONAL PROLIFE-
RATION OF TWO DIFFERENT B CELLS.

35.- YOLENE THOMAS, ROGOZINSKI J EXP. MED. 154: 459-467 AUGUST
1981. FUNCTIONAL ANALISIS OF HUMAN T CELL SUBSETS DEFINED BY MONO -
CLONAL ANTIBODIES.

GUADALUPE, CA 94021
DIVERSO CHIEF, CA 94021
SAN ELIZABETH, CA 94021

T
R
T
C