

CITOMETRÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR EN NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

Sotelo-Jimenez, Leidy Johana¹

1-Laboratorio clínico Prolab S.A.S, Unidad de Hemopatología.

RESUMEN

Las neoplasias hematológicas son un grupo heterogéneo de enfermedades malignas que afectan la sangre, medula ósea y los ganglios linfáticos. Las causas más comunes son las translocaciones cromosómicas y las múltiples mutaciones en las células madre hematopoyéticas. El diagnóstico de estas patologías ha evolucionado a través del tiempo adaptándose a las necesidades e implementándose en los exámenes de rutina del laboratorio clínico. La citometría de flujo y la biología molecular han jugado un papel importante para que esto suceda, ambas son herramientas indispensables para el diagnóstico diferencial, subclasificación, monitoreo de enfermedad residual mínima y selección de terapia. En los últimos 20 años se crearon ensayos de laboratorio de rutina de alta complejidad basados en la citometría de flujo y la biología molecular lo que abrió las puertas para la nueva clasificación de estas patologías realizada por la organización mundial de la salud (OMS).

ABSTRACT

Hematologic neoplasms are a heterogeneous group of malignancies that affect the blood, bone marrow and lymph nodes. The most common causes are chromosomal translocations and multiple mutations in hematopoietic stem cells. The diagnosis of these pathologies has evolved over time adapting to the needs and implemented in the routine exams of the clinical laboratory. Flow cytometry and molecular biology have played an important role in making this happen, both of which are indispensable tools for differential diagnosis, subclassification, minimal residual disease monitoring and therapy selection. In the last 20 years, highly complex routine laboratory tests based on flow cytometry and molecular biology have opened the door for a new classification of these pathologies by the World Health Organization (WHO).

PALABRAS CLAVES: neoplasias hematológicas, citometría, biología molecular

Las neoplasias hematológicas son un grupo heterogéneo de enfermedades malignas que afectan la sangre, medula ósea y los ganglios linfáticos. Las causas más comunes son las translocaciones cromosómicas y las múltiples mutaciones en las células madre hematopoyéticas. Estas neoplasias pueden dividirse de acuerdo al sitio afectado; las leucemias afectan la medula ósea y se extiende a

sangre periférica, mientras que los linfomas se originan en los diferentes tejidos linfoides.

La incidencia de las neoplasias hematológicas es mayor en los países desarrollados. Sin embargo, en los países subdesarrollados puede estar subestimada debido a las debilidades existentes en los sistemas de salud y vigilancia. De acuerdo con la información publicada en Globocan de la Organización Mundial de la salud (OMS), se estima que en el año 2012 en Colombia se presentaron 413 nuevos casos de Linfoma de Hodgkin, 2628 de Leucemias, 607 de Mieloma Múltiple y 3176 de Linfoma No Hodgkin.

La descripción de enfermedades hematológicas comenzó en 1800 gracias a la aparición del microscopio y al desarrollo de técnicas de tinción que permitieron descubrir una serie de rasgos morfológicos característicos en estas patologías. Estas herramientas fueron las bases para el diagnóstico y la clasificación realizada por primera vez en 1976, por el grupo cooperativo Franco Americano Británico (FAB). Sin embargo, una desventaja de esta clasificación es que no permite diferenciar en términos de síntomas clínicos, pronóstico y anomalías genéticas.

La citometría de flujo se desarrolló en la década de 1970. Esta tecnología permite la medición simultánea de múltiples características físicas y químicas de una célula en suspensión o componentes celulares de forma individual a medida que pasan por un haz de luz láser. Esta técnica fue descrita por primera vez por Wallace Coulter en la década de 1950, y se aplicó al conteo automático de células sanguíneas. Los primeros citómetros de flujo comerciales eran grandes, complejos, caros y difíciles de operar por lo que solo fueron utilizados en laboratorios de investigación.

Los desarrollos posteriores en los campos de la informática, la tecnología láser, la producción de anticuerpos monoclonales, la citoquímica y la química de los fluorocromos condujeron al desarrollo del citómetro de flujo dos décadas más tarde. Todo esto impulsado por la pandemia del VIH y a una serie de descubrimientos en hematología en los años 70s. Estos rápidamente se convirtieron en un instrumento esencial para las ciencias biológicas, su costo y complejidad disminuyeron gradualmente a medida que aumentó su capacidad analítica y su adaptación para el uso rutinario en el laboratorio clínico.

En las últimas décadas, gracias a los grandes avances en la instrumentación de los citómetros de flujo multiparamétricos y a la amplia gama de anticuerpos y fluorocromo disponibles se ha podido mejorar la identificación de poblaciones de células normales y reconocer aberraciones fenotípicas, incluso cuando están presentes en una pequeña proporción dentro del total de células analizadas. La citometría de flujo continúa siendo una herramienta indispensable para el diagnóstico diferencial y monitoreo de varios procesos hematológicos como:

linfomas, leucemias agudas y crónica, neoplasia de células plasmáticas, hemoglobinuria paroxística nocturna, enfermedad de los mastocitos y síndromes mieloproliferativos y mielodisplásicos, definición de factores pronósticos, identificación de poblaciones de células anormales en sangre periférica, médula ósea o tejidos a través de la presencia o ausencia de antígenos específicos. Los actuales citómetros de flujo "de última generación" son capaces de analizar hasta 13 parámetros por célula a velocidades de hasta 100.000 células por segundo, esto con el fin de reducir el costo analítico y mejorar la eficiencia. (Fiona *et al.*, 2011; Muccio *et al.*, 2017).

Gracias a la biología molecular se introdujo el término "diagnóstico molecular" el cual se basa en la detección y/o cuantificación de secuencias génicas específicas de ADN, ARN o proteínas para el beneficio de la salud. Desde 1953 cuando Watson, Crick, y Rosalind Franklin descubrieran la estructura del ADN se abrió un nuevo horizonte para las futuras generaciones en diferentes áreas de la ciencia, incluida la investigación biomédica (Farfán 2015).

La biología molecular también juega un papel importante en el diagnóstico de las neoplasias hematológicas. Esta herramienta se aplicó por primera vez en este campo en 1958 con el descubrimiento del cromosoma Filadelfia implicado en la leucemia mieloide crónica lo cual dio inicio a la citogenética del cáncer. Este fue, por más de una década, el único cromosoma alterado asociado con una enfermedad específica. En 1972 se identifican la primeras translocaciones implicadas en neoplasias hematológicas t(9:22) de la leucemia mieloide crónica y la t(15;17) de la leucemia promielocítica aguda. Todos estos hallazgos generaron una gran ola de conocimientos no solo sobre el diagnóstico si no sobre la patogénesis molecular tanto benigna como neoplásica de las condiciones hematológicas, impacto diagnóstico, subclasificación, monitoreo de enfermedad residual mínima y selección de terapia los cuales en los últimos 20 años han sido traducido en ensayos de laboratorio de rutina de alta complejidad.

Gracias al aporte diagnóstico que brinda la citometría de flujo y la biología molecular en las neoplasias hematológicas la Organización Mundial de la Salud (OMS) decide implementar estas dos técnicas para la nueva clasificación de estas patologías en el 2001, el objetivo de esta clasificación fue incorporar información científica y clínica nueva para definir los criterios de diagnóstico descritos anteriormente para neoplasias e introducir nuevas entidades reconocidas de la enfermedad. La última actualización de esta clasificación se realizó en el 2016 la cual refleja la opinión de hematopatólogos, hematólogos, oncólogos y genetista. Esta clasificación se basa en la información clínica, morfológica, citoquímica, genética, inmunofenotípica por citometría de flujo y de biología molecular e incluye los cambios de las neoplasias hematológicas actuales. Adiciona también un número limitado de nuevas entidades provisionales y avances en el diagnóstico y tratamiento en las primeras etapas. Además, refina los criterios diagnósticos, moleculares, la citogenética y su correlación clínica.

BIBLIOGRAFIA

Farfán, MJ. 2015. Biología molecular aplicada al diagnóstico clínico. [REV. MED. CLIN. CONDES - 2015; 26(6) 788-793]

Fiona et al. Flow Cytometric Immunophenotyping of Cerebrospinal Fluid Specimens. Am J Clin Pathol 2011; 135: 22-34.

Muccio, V.E. Relevance of sample preparation for flow cytometry. Int J Lab Hematol. 2017 Oct 6. doi: 10.1111/ijlh.12755.

Arber, D.A. *et al.* 2016. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. May 19;127(20):2391-405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544.