

UTILIDAD DEL FLAER EN EL DIAGNÓSTICO DE LA HEMOGLOBINURIA PAROXÍSTICA NOCTURNA MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO

M.A. Cabero¹, E. Ojeda², R. Forés², G. Bautista², B. Navarro², I. Krsnik², A. de Laiglesia², N. Claros¹, P. Beltrán¹, I. Moreno², J. Coronado², R. Cabrera²

¹Médicos residentes de Hematología y Hemoterapia. ²Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda (Madrid)

Introducción: El diagnóstico de la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) se ha basado en poner de manifiesto la ausencia de determinadas proteínas unidas a GPI en la superficie de granulocitos y hematíes. La cuantificación del CD55 y CD59 en los granulocitos mediante la citometría de flujo (CMF) ha sido el método estándar en los últimos años. Recientemente la introducción del marcaje con FLAER (un derivado de la aerolisina marcado con Alexa Fluóor 488) en granulocitos se ha revelado como la técnica de elección en el diagnóstico de la HPN.

Material y métodos: Hemos comparado el marcaje convencional con CD55 y CD59 con el marcaje con FLAER en 27 pacientes [12 con HPN clásica, 11 con HPN en el contexto de otra enfermedad hematológica (HPN-APLASIA), y 4 casos con disminución de CD55 de los cuales 1 presentó Lupus Eritematoso Sistémico (LES), 2 con Síndrome mielodisplásico (SMD) y 1 con Leucemia mielomonocítica crónica (LMMC)] y 10 controles. La técnica se realizó mediante lisis de hematíes con solución AutoLyse® (cloruro amónico), luego se lavó con CellWash solution®, y se añadió 5 mcl de cada uno de los anticuerpos monoclonales correspondientes: CD55/CD45; CD59/CD45; 10 mcl de FLAER (dilución al 1/10 en PBS)/CD45, luego se volvió a lavar con CellWash solution®, y se realizó la lectura en el Citómetro de Flujo FACScalibur® y se analizó con el software Cellquest®.

Resultados: El porcentaje de granulocitos negativos para cada marcador ha sido:

Granulocitos negativos (%)	CD55	CD59	FLAER
Controles (10)	< 1%	< 1%	< 1%
HPN Clásica (12)	59.92%	56.7%	60.6%
HPN-APLASIA	11.9%	9.6%	11.7%
LES (1)	15.8%	0.81%	< 1%
SMD (2)	4.25%	1.48%	< 1%
LMMC (1)	21.24%	1.47%	< 1%

Hemos observado con el FLAER una mayor separación entre las poblaciones positivas y negativas en los diagramas de CMF. Permite distinguir los casos de HPN de otras citopenias con deficiencias en CD55.

Conclusiones: La detección de granulocitos deficientes en el marcaje con FLAER por CMF constituye la técnica de elección en el diagnóstico de la HPN en el momento actual.