

## UTILIDAD DE LOS ESTUDIOS DE CLONALIDAD IGH/TCR $\gamma$ POR PCR EN SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS DE CLONALIDAD DUDOSA POR CITOMETRÍA DE FLUJO

J. Ribera, L. Zamora, J. Juncà, I. Rodríguez, L. San Miguel, M. Cabezón, S. Marcé, D. Domínguez, J.T. Navarro, I. Granada\*, N. Ruiz-Xivillé, F. Millà, E. Feliu, J.M. Ribera

*Serveis d'Hematologia, Laboratori i Clínica. Institut Català d'Oncologia. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona (Barcelona). Institut de Recerca Contra la Leucèmia Josep Carreras (IJC)*

**Fundamentos:** En un 5-10% de los procesos linfoproliferativos analizados por citometría de flujo (CF) no es posible distinguir entre poblaciones malignas y poblaciones reactivas ya sea por una relación de cadenas  $\kappa/\lambda$  no concluyente o por no presentar expresión aberrante de marcadores. El estudio de los reordenamientos de los receptores antigénicos IgH y TCR mediante PCR permite detectar la presencia de clonalidad B o T, respectivamente.

**Objetivo:** Analizar la clonalidad B o T mediante PCR en muestras de pacientes con sospecha o diagnóstico de síndrome linfoproliferativo (SLP) de clonalidad dudosa por CF.

**Métodos:** De un total de 840 estudios de CF realizados entre Octubre de 2007 y Febrero de 2011, se extrajo DNA de los 126 casos con resultado dudoso (71 al diagnóstico y 55 de seguimiento) y se amplificaron por PCR los genes IgH (FR1, FR2 y FR3) y TCR $\gamma$  (CDR3). El producto se visualizó en un secuenciador automático por el método de análisis de fragmentos (Genescan). Se clasificaron los resultados como: 1) Clonal cuando el área de un reordenamiento concreto era tres veces superior al área del tercer reordenamiento más abundante, 2) Policlonal cuando existía una distribución en campana de Gauss de los distintos reordenamientos, 3) Dudoso cuando se observaba un pico con un tamaño considerable pero que no llegaba a cumplir criterios de clonalidad y 4) No informativo cuando no amplificaba ninguna de las regiones FR o CDR pero sí lo hacía el control de calidad de la muestra.

**Resultados:** La **Tabla** muestra la frecuencia de resultados informativos y no informativos por PCR.

Gen	Al diagnóstico (n=71)		Seguimiento (n=55)		Total estudios (n=126)	
	IgH (n=44)	TCR $\gamma$ (n=27)	IgH (n=28)	TCR $\gamma$ (n=27)	IgH (n=72)	TCR $\gamma$ (n=54)
Clonal	7/21 (33%)	14/21 (67%)	3/18 (17%)	15/18 (83%)	10/39 (26%)	29/39 (74%)
Policlonal	26/34 (76%)	8/34 (24%)	20/25 (80%)	5/25 (20%)	46/59 (78%)	13/59 (22%)
Dudoso	4/8 (50%)	4/8 (50%)	-	7/7 (100%)	4/15 (27%)	11/15 (73%)
No informativo	7/8 (88%)	1/8 (12%)	5/5 (100%)	-	12/13 (92%)	1/13 (8%)

Hasta el momento actual, se ha confirmado un SLP en el 57% de los casos clonales por PCR y en el 26% de los policlonales.

Las muestras dudosas por biología molecular (tendencia a la clonalidad) son un posible indicador de enfermedad puesto que 4/8 han desarrollado un SLP.

**Conclusiones:** La PCR es una técnica eficaz para determinar la clonalidad linfóide en los casos dudosos por CF al ser informativa en el 78% de los estudios.

*Financiado por RD/0020/1056 del RTICC-ISCIII.*