

CITOMETRÍA DE MASAS, EL NICHE SCORE Y LA HISTORIA DEL PANEL DE 43 MARCADORES

Zamora-Herrera G^{1,2}, Romo-Rodríguez R^{1,2}, Casique-Aguirre D¹, López-Blanco JA¹, Vilchis A¹, Ramos-Mejía V³, Davis KL⁴, Pelayo R¹

1 Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil, Centro de Investigación Biomédica de Oriente, HGZ No. 5, Instituto Mexicano del Seguro Social; Metepec-Atlixco, Puebla, México
Pronai Leucemia Infantil

2 Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

3 Laboratorio de Regulación Génica, Células madre y Desarrollo, GENYO, Genómica e Investigación Oncológica, Granada, España

4 Anne T. and Robert M. Bass Endowed Faculty Scholar in Pediatric Cancer and Blood Diseases, Stanford Child Health Research Institute, California, EUA.

Principios y fundamentos: CITOMETRÍA DE MASAS

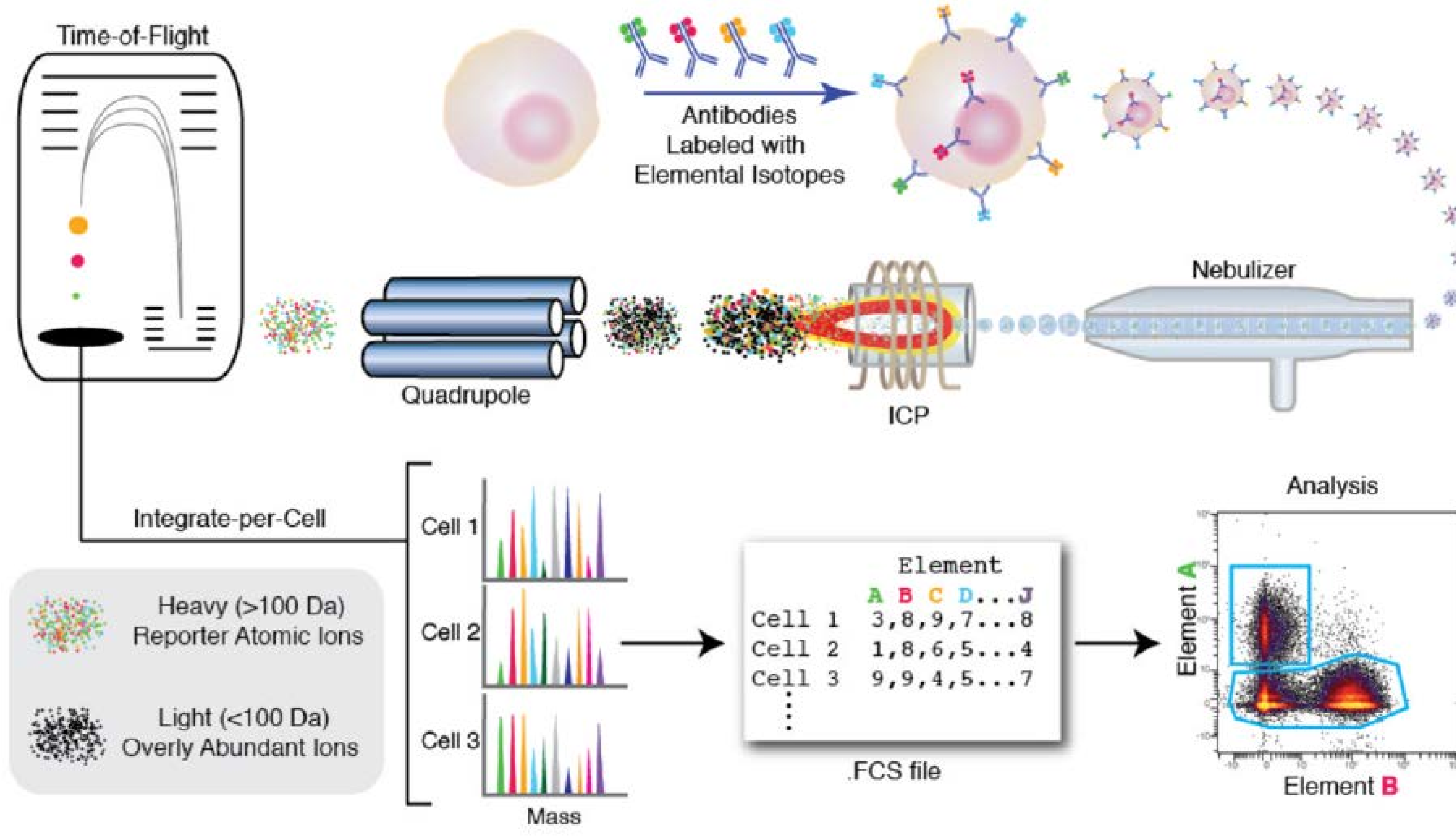
La citometría de masas se basa en la fusión de la citometría de flujo y la espectrometría de masas.

Esta tecnología permite la medición simultánea en **resolución de célula única de más de 40 parámetros**.

La capacidad de analizar millones de células al mismo tiempo y con alta definición, permite la identificación de poblaciones raras y con actividades biológicas únicas, como es el caso de las células troncales hematopoyéticas, o de respuestas celulares ante estímulos externos, un ejemplo de esto es la fosforilación de proteínas de señalización.

La citometría de masas se basa en el Tiempo de Vuelo o **Time-Of-Flight (CyTOF)**. Los anticuerpos empleados en esta tecnología son acoplados a isótopos de metales pesados estables, los cuales servirán de reporteros para los niveles de expresión de la proteína blanco.

Las células analizadas primeramente encontradas en un medio líquido, al ser adquiridas en el instrumento serán pasadas por un plasma de argón, produciendo átomos libres en una nube iónica, que serán separados, eliminando los elementos biológicamente comunes, lo que enriquece los iones de los metales pesados reporteros. Estos serán separados por un radio "masa/carga" en el TOF. Una vez en el detector, las cuentas iónicas serán convertidas en señales eléctricas y de ahí a una matriz de datos.

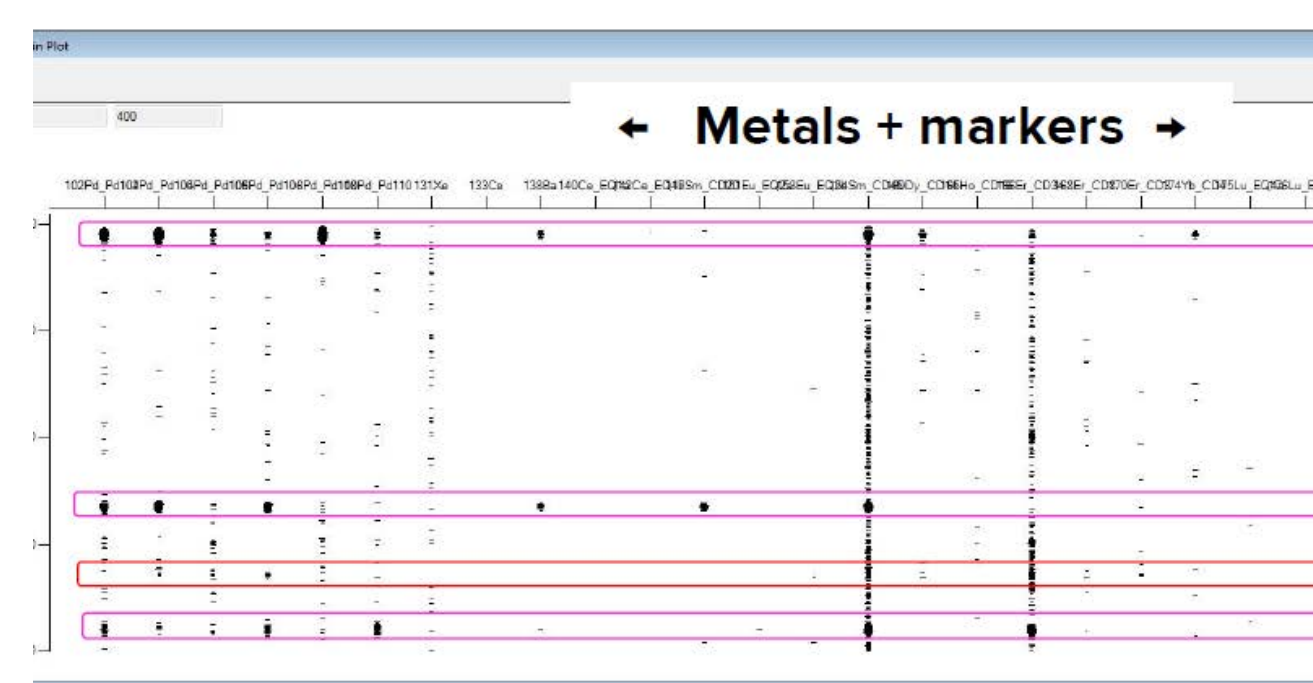


Obtenido de: Bendall et al., 2012

Modelo de predicción de recaídas por CITOMETRÍA DE MASAS

La heterogeneidad del cáncer es un factor muy importante que dificulta la predicción de recaída y respuesta al tratamiento.

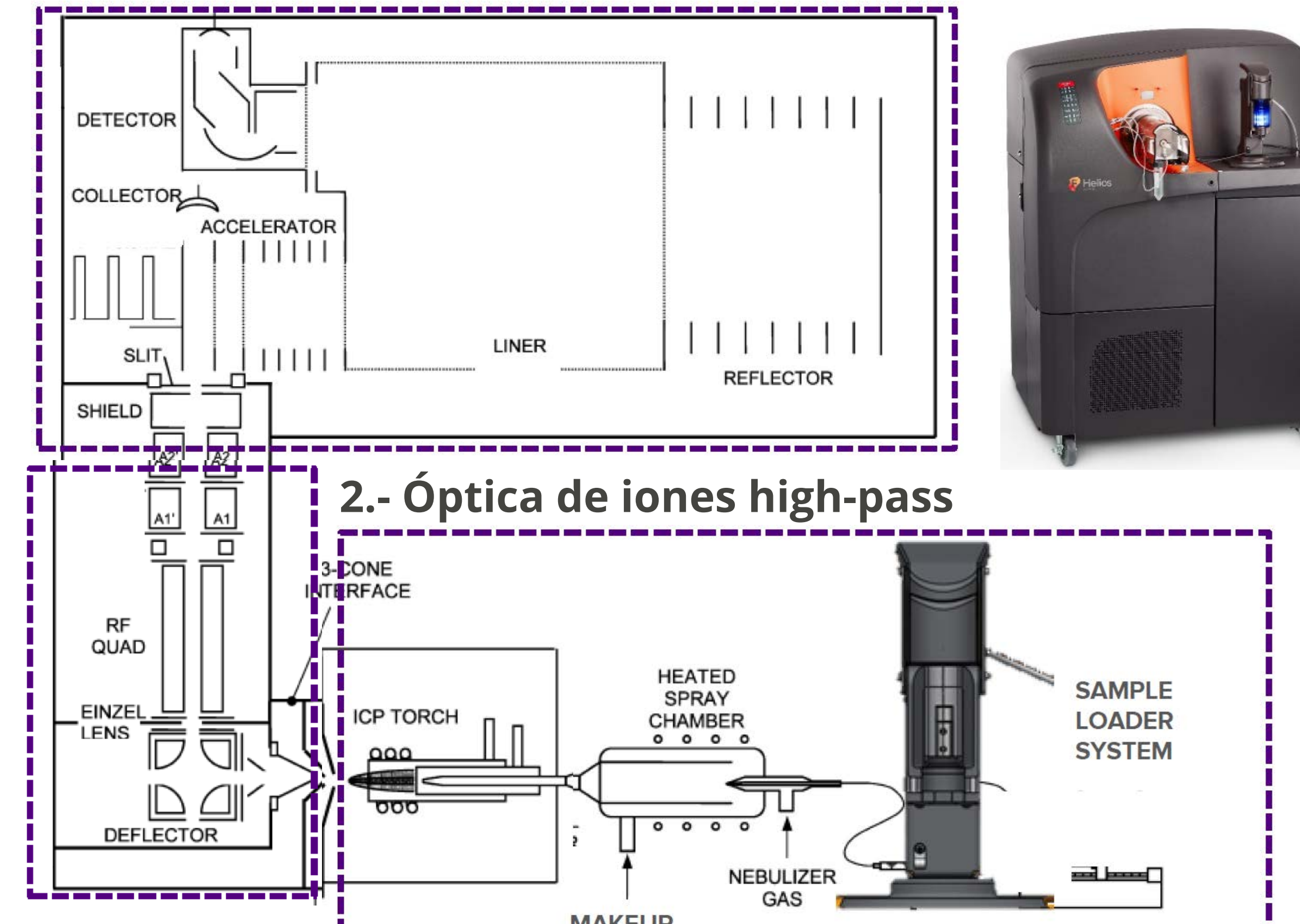
El laboratorio de la Dra. Kara Davis de la Universidad de Stanford generó un **modelo de predicción de recaída para LLA-B**, basado en los diferentes **estadios de desarrollo** de precursores de linfocitos B capaces de ser **detectados únicamente con citometría de masas**.



Rain plot

3.- Separación de iones por TOF y detección

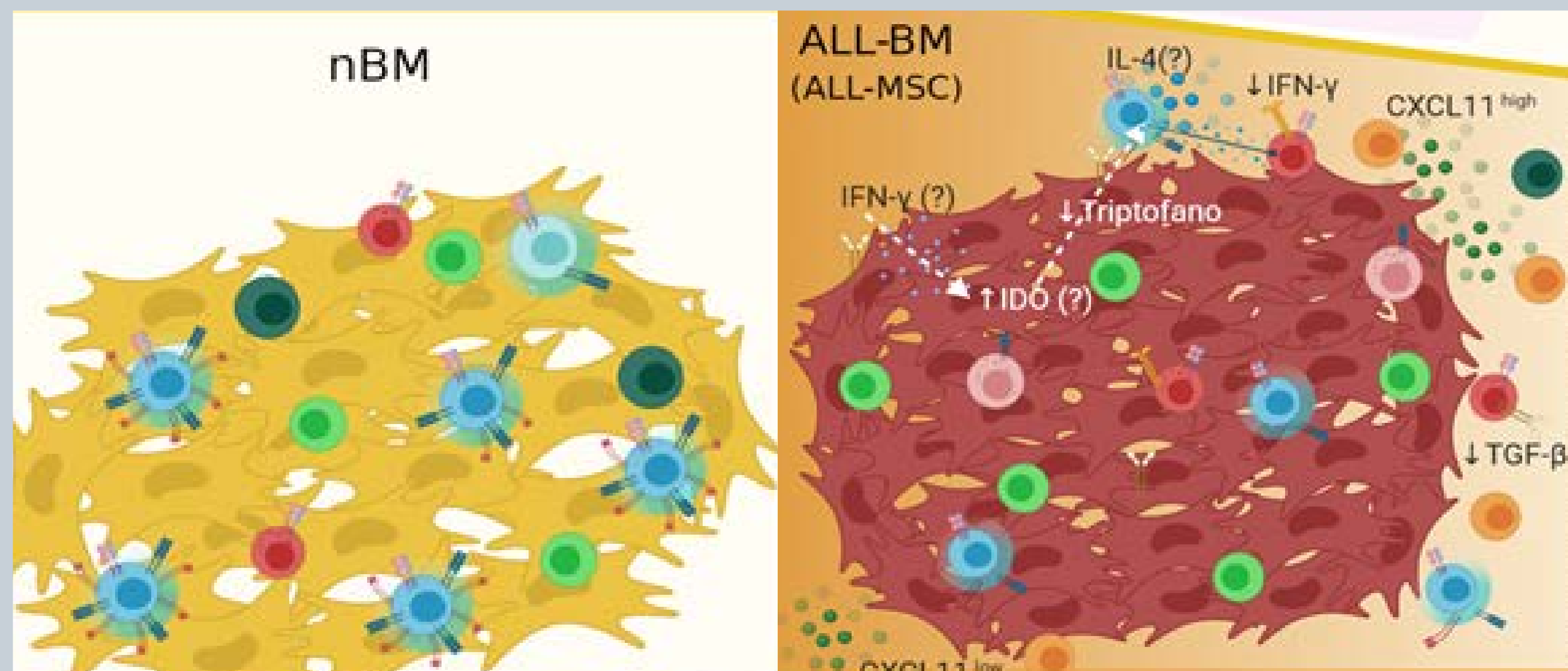
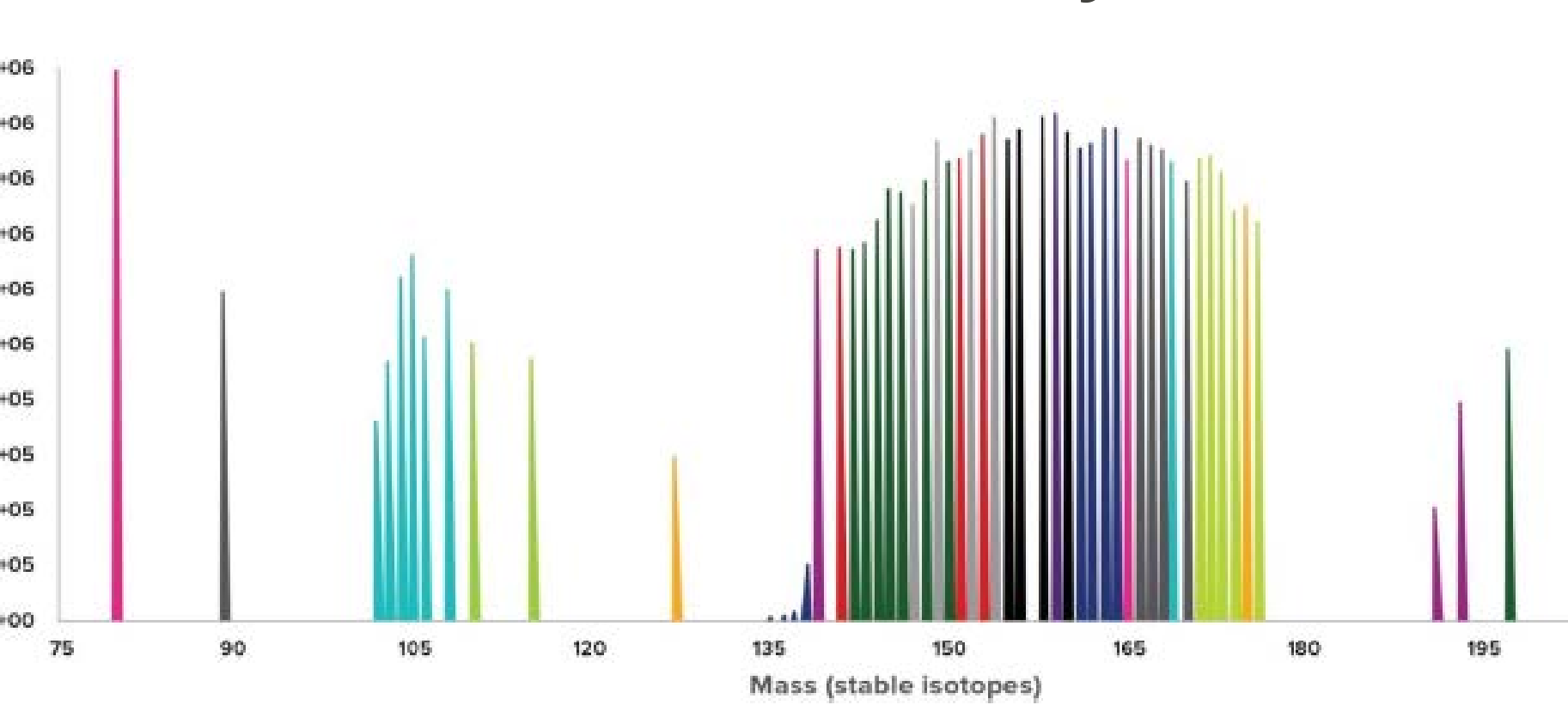
Obtenido de: Fluidigm®



2.- Óptica de iones high-pass

1.- Introducción de la muestra y ionización

Obtenido de: Fluidigm®



Nichescore: Identificación del tumor y su hogar

Las clonas leucémicas provenientes de leucemia linfoblástica aguda (LLA) se expanden en la médula ósea (MO), donde las células iniciadoras de leucemia (LICs) reciben las condiciones necesarias para la supervivencia, proliferación, inicio de la enfermedad y recaída. Esto es gracias a los nichos hematopoyéticos y señales microambientales.

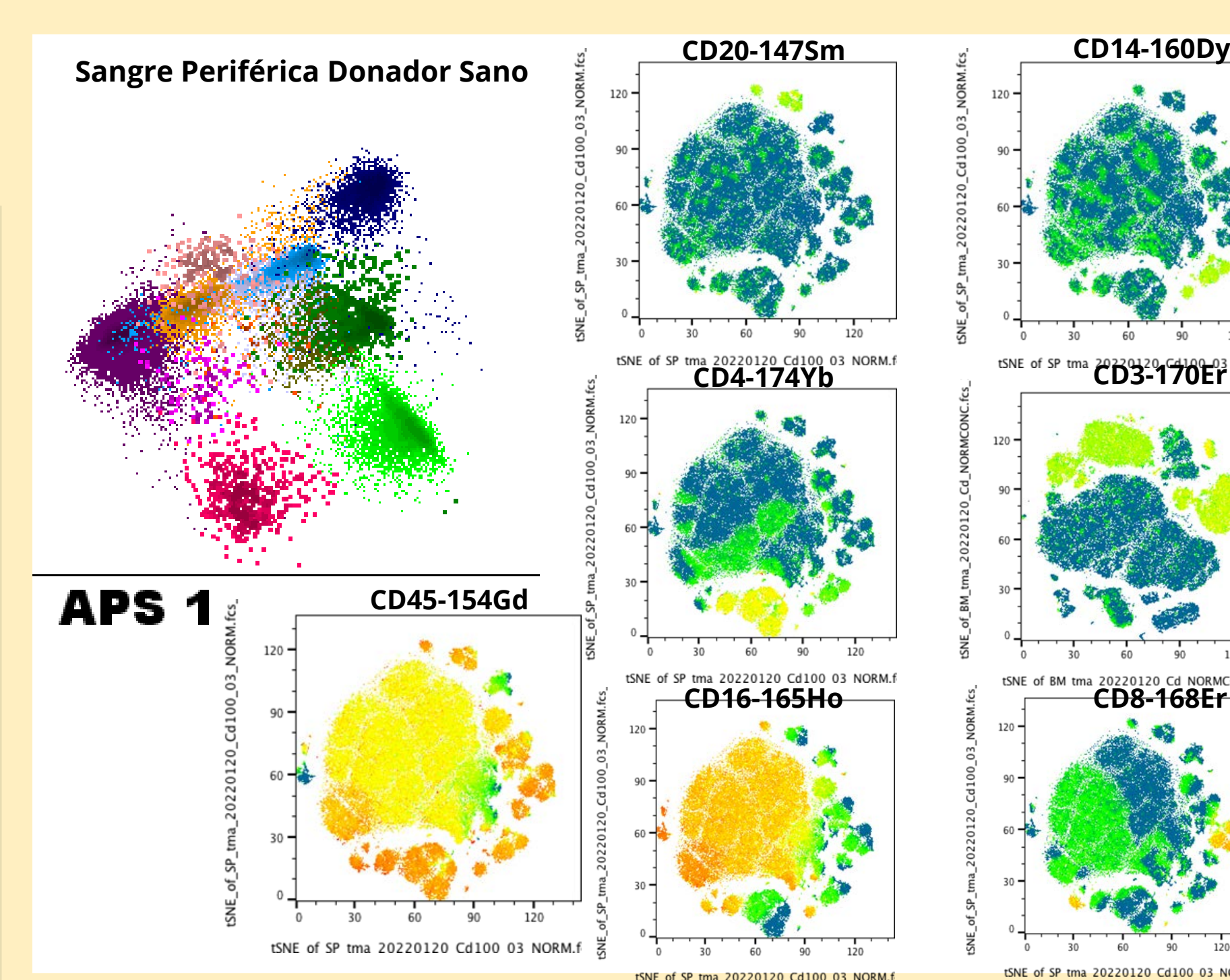
Identificar los ejes de señalización entre los **nichos, las clonas leucémicas y su microambiente**, permitirá no solo conocer mejor la enfermedad, desde su origen y mantenimiento, sino también la identificación de nuevos blancos terapéuticos y de huellas leucémicas (**Nichescore**)

Nicho supresor de las células iniciadoras de la leucemia SLIC

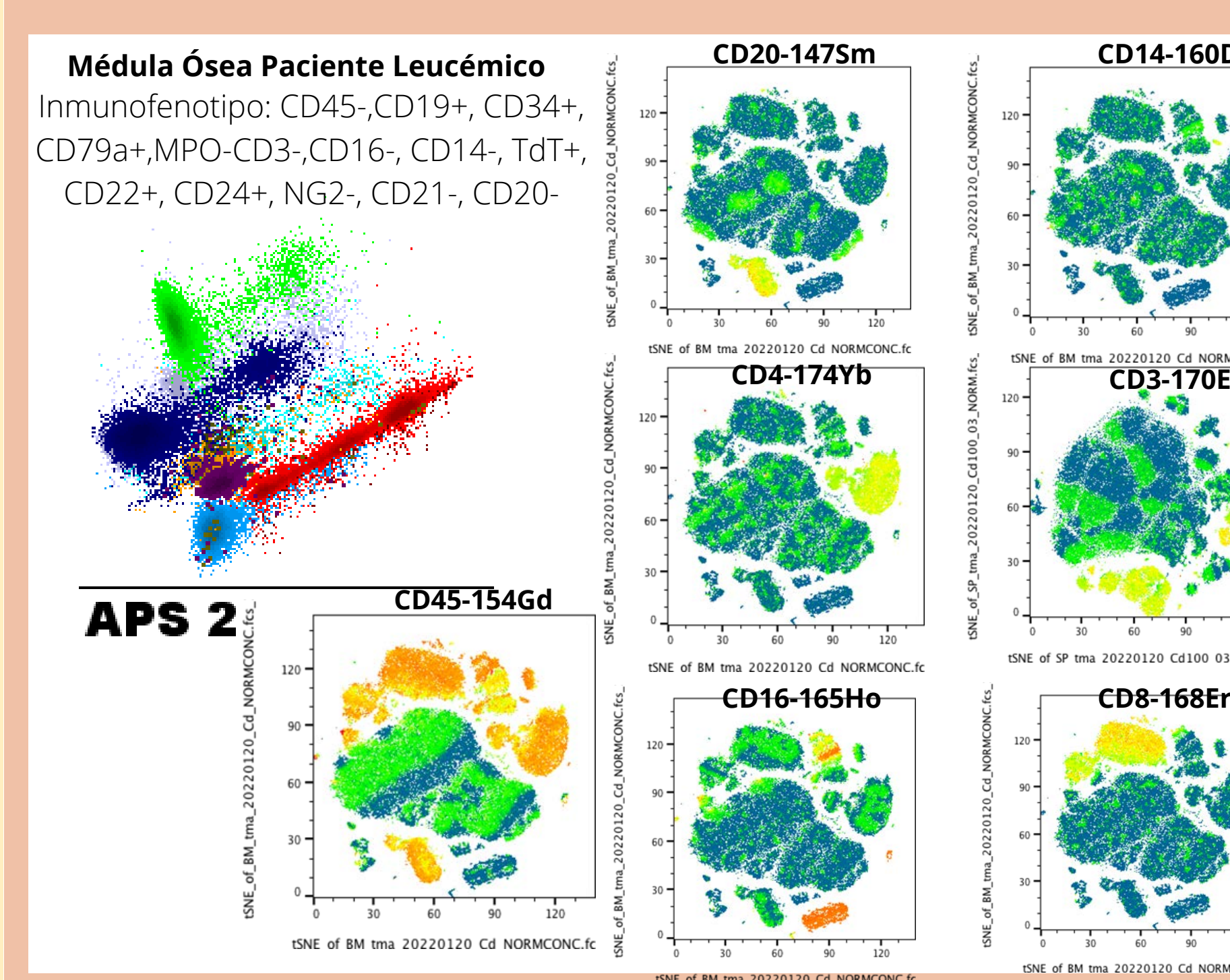
- ↑ Quimiorresistencia
- ↑ Dormancia
- ↑ ↑ Inmunosupresión
- ? Soporte hematopoyético

Nicho inflamatorio y de expansión de leucemia ILE

- ↑ ↑ ↑ Proliferación de leucemia
- ↑ ↑ Inflamación
- ↓ ↓ ↓ Soporte hematopoyético
- ? Inmunosupresión

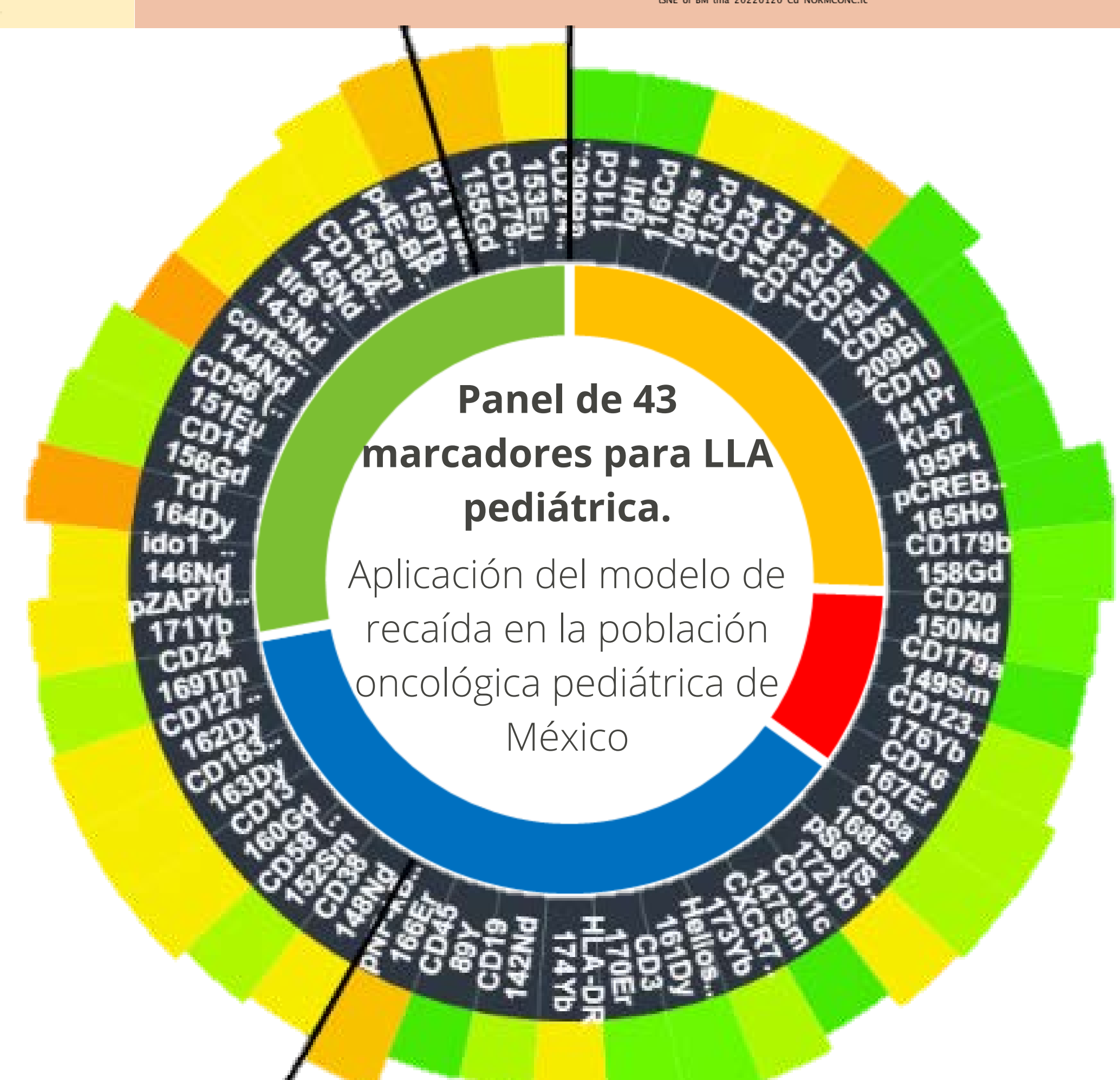


Sangre Periférica Donador Sano



Médula Ósea Paciente Leucémico

Linaje B de células hematopoyéticas		
Huella de recaída		
Identidad tumoral y contexto inmunológico		
Microambiente		
1. CD34	12. p4ebp1	16. CD45
2. CD38	13. pCREB	17. CD61
3. CD19	14. pS6	18. CD10
4. TdT	15. ZAP70	19. CD123
5. CD179a		20. CD16
6. CD179b		21. CD3
7. CD127		22. CD33
8. CD24		23. CD58
9. CD20		24. HLA-DR
10. IgHi		25. Ki-67
11. IGHS		26. CD14
		27. CD66c
		28. CD13
		29. CD56
		30. pNF-KB
		31. CXCR4
		32. CXCR7
		33. Cortactin
		34. CXCR3
		35. TLR8
		36. p21
		37. CD8
		38. CD11c
		39. Helios
		40. PD-1
		41. PD-L1
		42. IDO-1
		43. CD57



Panel de 43 marcadores para LLA pediátrica.

Aplicación del modelo de recaída en la población oncológica pediátrica de México



Agradecimientos

LABORATORIO DE CITÓMICA



Referencias

Bendall, S.C., Nolan, G.P., Roederer, M., Chattopadhyay, P.K., (2012). A Deep Profiler's Guide to Cytometry. *Trends Immunol.* 33(7), 323-332. doi:10.1016/j.it.2012.02.010.

Spitzer, M.H., Nolan, G.P., (2016). Mass Cytometry: Single Cells, Many Features. *Cell.* 165(4), 780-791. doi:10.1016/j.cell.2016.04.019.

Good, Z., Sarno, J., Jager, A., Samusik, N., Agheapeour, N., Simonds, E.F., White, L., Lacayo, N.J., Fantl, W.J., Fazio, G., Gaipa, G., Biondi, A., Tibshirani, R., Bendall, S.C., Nolan, G.P., Davis, K.L., (2018). Single-Cell developmental classification of B cell precursor acute lymphoblastic leukemia at diagnosis reveals predictor of relapse. *Nature Medicine.* 24(4), 474-483. doi:10.1038/nm.4505

Balandrán, J.C., Dávila-Velderrain, J., Sandoval-Cabrera, A., Zamora-Herrera, G., Terán-Cerqueda, V., García-Stivalte, L.A., Limón-Flores, J.A., Armenta-Castro, E., Rodríguez-Martínez, A., Leon-Chavez, B.A., Vallejo-Ruiz, V., Hassane, D.C., Pérez-Tapia, S.M., Ortiz-Navarrete, V., Guzman, M.L., Pelayo, R., (2021). Patient-Derived Bone Marrow Spheroids Reveal Leukemia-Initiating Cells Supported by Mesenchymal Hypoxic Niches in Pediatric B-ALL. *Front. Immunol.* 12:746492. doi: 10.3389/fimmu.2021.746492