



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

00544
2
3

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.
FACULTAD DE QUIMICA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
UNIDAD MEDICA: INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGIA
SSA. MEXICO, D.F.

MORFOLOGIA, INMUNOFENOTIPO Y ESTUDIO CITOGENETICO
EN ADULTOS CON LEUCEMIA AGUDA, DIAGNOSTICADOS EN EL
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGIA.

TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD DE
BIOQUIMICA CLINICA AREA DE HEMATOLOGIA.
PRESENTA:
QFB CRUZ RICO GRACIELA

ASESOR DE TESIS:
DRA. JEANNETTE GUARNER *LMS*
Jefe Div. Serv. Aux. Diag. Trat. y titular del curso en la
Especialidad de Bioquímica Clínica.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**AGRADECIMIENTO ESPECIAL PARA EL ASESOR DE TESIS
DRA. JEANNETTE GUARNER L., ASIMISMO AL PERSONAL DEL
SERVICIO DE GENETICA Y HEMATOLOGIA DEL INCAN, SU
ASESORIA, INTERES Y CONSEJOS FUERON FUNDAMENTALES
PARA LA REALIZACION Y CULMINACION DEL PRESENTE TRABAJO.**

INDICE

	Pág (s).
I).- ANTECEDENTES	1 - 6
I.1.- Diagnóstico	
I.2.- Morfología y citoquímica	
I.3.- Citogenética	
I.4.- Inmunofenotipo	
I.5.- Clasificación MIC	
II).- INTRODUCCION	7 - 14
II.A.- Leucemia Aguda Linfoide (LAL)	7 - 11
II.A.1.- Morfología	
II.A.2.- Inmunofenotipo	
II.A.3.- Citogenética	
II.A.4.- Clasificación MIC en LAL	
II.B.- Leucemia Aguda Mieloide (LAM)	11 - 14
II.B.1.- Morfología	
II.B.2.- Inmunofenotipo	
II.B.3.- Citogenética	
II.B.4.- Clasificación MIC en LAM	
III).- OBJETIVOS	15
IV).- HIPOTESIS	16
V).- DISEÑO DEL ESTUDIO	17
VI).- MATERIAL Y METODOS	18- 23
VI.1.- Pacientes	
VI.2.- Morfología y citoquímica	
VI.2.1.- Material y método	
VI.3.- Inmunofenotipo	
VI.3.1.- Material y método	
VI.4.- Estudio citogenético	
VI.4.1.- Material y método	
VII).- RESULTADOS	24- 33
VII.1.- LEUCEMIA AGUDA LINFOIDE	24 - 28
A.1).- Datos clínicos en 23 pacientes con LAL	
B.1).- Parámetros de laboratorio	

C.1).- Clasificación Morfológica (FAB) y citoquímica en LAL	
D.1).- Análisis de inmunotipificación	
E.1).- Estudio citogenético	
F.1).- MIC en pacientes con LAL	
VII.2.- LEUCEMIA AGUDA MIELOIDE	29 - 33
A.2).- Datos clínicos de los pacientes con LAM	
B.2).-Parámetros de laboratorio en 18 pacientes con LAM	
C.2).- Clasificación morfológica (FAB) y citoquímica	
D.2).- Análisis de inmunotipificación	
E.2).- Estudio citogenético.	
F.2).- Clasificación MIC en LAM	
VIII.- DISCUSION	34 - 37
A.- LEUCEMIA AGUDA LINFOIDE (LAL)	
B.- LEUCEMIA AGUDA MIELOIDE (LAM)	
IX).- CONCLUSIONES	38
X.- REFERENCIAS	39 - 44

1).- ANTECEDENTES.

En 1845, John Bennet, en Edimburgo y Rodolfo Virchow, en Berlín publicaron en forma independiente sus observaciones en pacientes leucémicos. A ellos se acredita generalmente la definición de leucemia y el reconocimiento de su importancia como entidad patológica específica (1-2). En 1889 Ebstein propuso una clasificación adicional de las leucemias; determinó que un tipo parecía tener pronóstico sombrío y no respondía al tratamiento, a este tipo le llamó LEUCEMIA AGUDA (LA), el segundo grupo recibió la denominación de LEUCEMIA CRONICA, debido a que el paciente podía recibir alivio temporal de sus síntomas. Las leucemias agudas y crónicas pueden clasificarse a su vez, considerando la línea celular proliferante en linfoides y mieloides (3).

Se ignora la causa de la mayor parte de las leucemias, aunque se sabe que existen factores genéticos y ambientales que se han relacionado con el desarrollo de las mismas. De tiempo atrás se ha reconocido que la radiación ionizante es capaz de inducir leucemia. En Japón, después de las explosiones nucleares en 1945 en Hiroshima y Nagasaki, hubo un incremento notable en el desarrollo de leucemia entre los supervivientes. No obstante, es más probable que la leucemia no se deba a un factor sino a un conjunto de aspectos etiológicos que incluyen aspectos genéticos y exposiciones ambientales. También, es posible que la causa varíe de una persona a otra y que algunas sean más susceptibles a presentar trastornos hematopoyéticos (4).

El mecanismo preciso por el cual los factores previamente citados determinan la transformación leucémica no está claro, pero la alteración en la estructura del ADN parece ser un factor crítico en la adquisición de las características neoplásicas de la célula transformada. Esta hipótesis se fundamenta en el estudio a nivel molecular tanto de las leucemias inducidas por virus en animales, como de las alteraciones cromosómicas específicas asociadas a determinadas leucemias humanas. El estímulo carcinogénico inicial producirá cambios en el ADN de un progenitor hematopoyético, responsable del desarrollo y expansión de una clona patológica autopropagable con cierta capacidad de diferenciación. Nuevas agresiones y/o la propia inestabilidad genética de la clona anómala, dará lugar a subclonas con alteraciones cromosómicas específicas, con una gran ventaja proliferativa sobre las células hematopoyéticas normales, e incapacidad de diferenciarse. El resultado de estos hechos es la acumulación progresiva de las células leucémicas en la médula ósea y una disminución paralela de los progenitores hematopoyéticos normales, lo que en última instancia determina la insuficiencia medular (5-6).

1.1.- DIAGNOSTICO

Por definición las LA son un grupo heterogéneo de enfermedades caracterizadas por la proliferación y acumulación progresiva de precursores hematopoyéticos malignos, inmaduros en la médula ósea (blastos) o sangre periférica produciendo leucocitosis; la mayoría de las LA cursan con leucocitosis, sin embargo, una parte de ellas presentan cifras normales o bajas de leucocitos (7).

Si predominan las células mieloides y otras derivadas de la célula tronco CFU-S, la enfermedad se llama leucemia mieloblástica (LAM) o no linfoblástica; el término de LA "no linfoblástica" es más adecuado que el de LA mieloblástica, ya que dentro de este grupo no sólo se incluyen leucemias de la serie blanca, sino también del resto de líneas celulares, es decir, roja y plaquetaria. En el caso de predominar las células linfoides, el trastorno se conoce como leucemia linfoblástica (LAL), la distinción inicial entre estos dos grandes grupos es crucial para el tratamiento y pronóstico (8-9).

Los estudios que se requieren para realizar el diagnóstico y evaluar el pronóstico incluyen una biometría hemática completa con recuento diferencial y estudio morfológico, aspirado de médula ósea donde se establecerá el subtipo morfológico de leucocitos, inmunofenotipo y estudio citogenético. Otros datos que son importantes al momento del diagnóstico son la presencia y grado de hepatoesplenomegalia, masa mediastínica, linfadenopatía y afección testicular así como la infiltración, o no, a SNC (4). Los diferentes tipos de leucemias agudas tienen signos clínicos en común, derivados de dos hechos fisiopatológicos fundamentales: la insuficiencia medular y la infiltración de órganos, tabla 1.

Tabla 1.- CARACTERÍSTICAS CLINICAS DE LA LEUCEMIA AGUDA

INSUFICIENCIA MEDULAR:

- Anemia
- Granulocitopenia: Tendencia a infecciones
- Trombocitopenia: Diátesis hemorrágica

INFILTRACION DE ORGANOS:

- Linfadenopatías especialmente en LAL
- Esplenomegalia y hepatomegalia moderadas
- Hipertrofia gingival, úlceras anorrectales (LAM)
- Infiltración neuromeningea
- Dolor óseo, inflamación testicular, masa mediastínica por infiltración

OTRAS MANIFESTACIONES:

- Coagulación intravascular diseminada (LAM)
 - Trastornos metabólicos
 - Síndromes de leucostasis
-

1.2.- MORFOLOGIA Y CITOQUIMICA

En el laboratorio, el examen del frotis sanguíneo puede revelar la presencia de numerosas células no diferenciadas o apenas diferenciadas (blastos), en los polimorfonucleares se observa degranulación, y en ocasiones la anomalía de Pelger Huet (hiposegmentación de los neutrófilos), sin embargo el examen de médula ósea es decisivo para establecer el diagnóstico de LA. En general, la médula ósea es hiper celular con infiltración masiva de elementos blásticos monomorfos, acompañada de una marcada disminución de los

precursores hematopoyéticos normales. En casos aislados, la médula puede ser hipocelular, aunque la mayoría de las células presentes serán leucémicas. También puede ocurrir que el aspirado medular sea difícil de obtener, por la existencia de mielofibrosis asociada, por ejemplo en las leucemias megacarioblásticas ó que el material celular se encuentre aprisionado por aumento de cohesión celular (médula "empaquetada"), frecuentemente en la LAM promielocítica; es entonces imprescindible para el diagnóstico la realización de una biopsia ósea (10-12).

La citoquímica constituye, un complemento indispensable de la morfología. Su finalidad es estudiar la presencia de ciertos componentes químicos (enzimas o sustancias diversas) en el interior de las células tanto hematopoyéticas como circulantes en sangre periférica (13). La citoquímica puede determinar a cual línea celular pertenecen los blastos en la LA (tabla 2), éstas pueden ser características pero no específicas, ejemplo: la deoxinucleotidil transferasa terminal (TdT), un marcador característico de la LAL, se encuentra también en un 10% de la LAM (14-15).

Tabla 2 . CARACTERISTICAS CITOQUIMICAS DIFERENCIALES ENTRE LAL Y LAM

	LAL	LAM
- MORFOLOGIA		
Bastones de Auer	-	+
-CITOQUIMICA		
Mieloperoxidasa	-	+
Negro sudán	-	+
Esterasa no específica	-	+(monocitos)
PAS	+(en cúmulos)	+(gránulo fino)
Fosfatasa ácida	+(LAL-T)	-

PAS= Acido peryódico de Schiff

Las reacciones de tinción citoquímica son de dos tipos, enzimáticos y no enzimáticos. El grupo enzimático incluye tinción para: mieloperoxidasa, esterases y fosfatasas ácida y alcalina. Mientras que el grupo no enzimático incluye: negro sudán B para lípidos, ácido peryódico de Schiff (PAS) para glucógeno (13).

Para el diagnóstico de LAL, las tinciones citoquímicas más relevantes son PAS, fosfatasa ácida y mieloperoxidasa, requiriendo la negatividad para la mieloperoxidasa. El hallazgo de bastón de Auer ayuda a identificar los blastos del linaje mielóide. Los bastoncillos de Auer se encuentran en mieloblastos, monoblastos y en ocasiones, en células monocíticas y mielocíticas más diferenciadas. Sin embargo en algunos casos la morfología de los mieloblastos que no contienen cuerpos de Auer no se distingue de los linfoblastos, en este caso la citoquímica es necesaria para definir la naturaleza mielóide de la población blástica (16-17). La tinción de la esterasa no específica, usando acetato de alfa-naftilo o butirato de alfa-naftilo como sustrato, se utiliza en forma primaria para diferenciar las leucemias granulocíticas de aquéllas que tienen origen monocítico.

En un esfuerzo para mejorar y estandarizar la clasificación de la LA, en 1976 un grupo de médicos franceses, estadounidenses y británicos propusieron un sistema de clasificación y nomenclatura basados en las células blásticas en el frotis con tinción de Romanovsky y en los resultados de tinciones citoquímicas. Este sistema, de amplia aceptación, se conoce como clasificación FAB; fue diseñado únicamente para pacientes sin tratamiento previo, debido a que la terapéutica citotóxica tiende a distorsionar las dos clases de células, normales y malignas haciendo difícil su identificación. El grupo FAB definió como diagnóstico de LA, una cifra de blastos mayor de 30% del total de células nucleadas no eritroides en el aspirado de médula ósea (17-19).

A su vez de cada grupo principal pueden identificarse más subtipos basados en la morfología de blastos medulares, del grado de maduración de las células y de los resultados de tinciones citoquímicas adicionales. Por lo que, la LAL se divide en tres morfotipos (L1, L2 y L3) y la LAM se subclasifica en seis variedades (M1-M6) (19). Esta clasificación inicial fue sujeta, por el propio grupo FAB, a ampliaciones y matizaciones, con el resultado del reconocimiento de una séptima variedad de LAM denominada M7 o LA de megacarioblastos. Su identificación fue posible gracias a la aplicación de técnicas inmunológicas (anticuerpos dirigidos contra las glicoproteínas plaquetares) y de citoquímica ultra estructural (reacción de la peroxidasa plaquetar). Con ello quedó patente la necesidad de usar una más amplia tecnología para la filiación de todo tipo de LA, a fin de identificar también las de estirpe megacarioblástica, eritroblástica o la de blastos multilínea o híbridos. Finalmente, se conoce una nueva clasificación de la LAM de acuerdo a los criterios de la FAB en 8 variedades morfológicas (M0 - M7) (20-23).

1.3.- CITOGENETICA

Muchas de las alteraciones citogenéticas están asociadas a tipos morfológicos particulares de enfermedades, contribuyendo así a su diagnóstico; tal es el caso del descubrimiento de la asociación entre el cromosoma Filadelfia (Ph+) y la leucemia mieloide crónica por Nowell y Hungerford (24-25). El cromosoma Filadelfia se descubrió en 1960; es una mutación somática adquirida del cromosoma 22 y se pensó en un principio que faltaba el brazo largo del cromosoma 22 q- (26-27). No hubo mayor avance en esa época por falta de procedimientos técnicos adecuados.

La correlación más precisa entre las aberraciones cromosómicas y los cuadros clínicos que éstas ocasionan pudo establecerse gracias al sorprendente avance de las distintas técnicas de bandas cromosómicas en la década de 1970 (28). Actualmente, sabemos que el cromosoma Ph+ resulta de una translocación balanceada t(9;22) (q34;q11), produciendo como consecuencia un reordenamiento de genes BCR-ABL que se traduce en la expresión de una proteína quimérica, con dos formas distintas dependientes del punto de ruptura en el gen BCR del cromosoma 22: ruptura en el M-bcr (p210) o ruptura en el m-bcr (p190) (29).

Sabemos que en más del 50% de las neoplasias hemopoyéticas existen alteraciones citogenéticas, algunas de las cuales guardan una cierta relación con tipos morfológicos especiales. Estas alteraciones de los cromosomas no son constantes ni características. Se han hallado LAM con cromosoma Ph+ (2-3% de los casos); posiblemente, pudiera tratarse de leucemias mieloides crónicas en crisis blástica (30-31).

En la LAL se han reportado, diversas anomalías cromosómicas entre las que destacan los casos cromosoma Ph+ positivos, esto acontece en el 25% de los pacientes adultos, frente a un 3-5% en los niños. Una anomalía particularmente interesante es la delección del brazo largo del cromosoma 17, que es en realidad una translocación t(15;17) (q22;q12-21) frecuentemente encontrada en la leucemia aguda promielocítica (31).

Además del estudio de las alteraciones constitucionales, la citogenética tiene actualmente gran importancia en el diagnóstico y pronóstico de las leucemias. Así, en pacientes con LAL, la hiperdiploidía mayor de 50 cromosomas y el cariotipo normal se correlacionan con pronóstico favorable, mientras que la t(6;9) (p23;q34), presente en algunos pacientes adultos con LAM, ha sido asociada con un mal pronóstico (32).

1.4.- INMUNOFENOTIPO

El desarrollo, a partir de los años '70, de diversas técnicas inmunológicas, ha permitido identificar una serie de estructuras antigénicas, receptores de membrana, estructuras enzimáticas, etc., que parecen comportarse como "marcadores" de linaje celular y de diferenciación dentro de cada línea hematopoyética (33). En la tabla 3 se enumeran las técnicas que se han usado para el diagnóstico de procesos neoplásicos hematológicos.

Tabla 3.- PRUEBAS INMUNOLOGICAS UTILIZADAS EN EL DIAGNOSTICO DE LAS LEUCEMIAS.

1.- Determinación de receptores de membrana.

- a).- Formación de rosetas espontáneas con hematíes heterólogos
Rosetas E (hematíes de camero).
Rosetas M (hematíes de ratón).
- b).- Formación de rosetas para la detección de receptores para el complemento (EAC) y para los fragmentos Fc de las inmunoglobulinas (EA).
- c).- Determinación de inmunoglobulinas de superficie (Igs).

2.- Determinación de antígenos de membrana mediante heteroanticuerpos y anticuerpos monoclonales (AcMon).

3.- Determinación de enzima nuclear.

- a).- Deoxinucleotidil transferasa terminal (TdT).
-

Por medio de anticuerpos monoclonales específicos, el análisis fenotípico ha proporcionado información sobre las etapas de maduración de linfocitos T y B, basada en la constitución antigénica de la célula. Para evitar confusión en la nomenclatura de las distintas moléculas según el origen del anticuerpo monoclonal utilizado, actualmente se usa la designación CD, donde las moléculas están numeradas: CD1, CD2, etc. El término CD, se refiere a grupos de anticuerpos monoclonales en los que cada grupo se une específicamente a un determinado marcador celular (34).

Así tenemos que ahora es posible estudiar a las células linfoides T y B. El desarrollo antigénico de

las células mieloides ha sido más difícil de estudiar, aunque se han identificado algunos antígenos mieloides con anticuerpos monoclonales (AcMon) capaces de detectar estructuras antigénicas de la serie granulomonocítica (My1=CD 11, My4=CD14, My7= CD13, My9= CD33, etc), de la serie eritroblástica (T9= CD71, antiglicoproteína A) y de la serie megacariocítica (anticuerpos antiglicoproteínas IIb-IIIa, factor VIII-vW, etc). Su utilidad diagnóstica ha sido escasa para la identificación de las leucemias granulomonocíticas y eritroleucemias. Sin embargo, estos anticuerpos han contribuido a identificar el cuadro de la LAM-M7 y para comprobar la relativa frecuencia de fenotipos mieloides en neoplasias linfoides que nos obligan a ser suspicaces y buscar una interpretación razonable a fenotipos promiscuos (35- 36).

A pesar de la amplia metodología a nuestro alcance para la caracterización de las células blásticas, existen leucemias que no muestran ningún signo de diferenciación y que se califican como leucemias indiferenciadas. Para Flandrin y Bernard representan el 3.5% de los casos estudiados, si bien para otros autores llega hasta un 10% (37).

1.5.- CLASIFICACION MIC.

En los últimos años, se han dado los primeros pasos para implantar una nueva clasificación de las LA, combinando criterios morfológicos de frotis, médula ósea y sangre periférica, análisis inmunológico de los marcadores de membrana y análisis citogenético (Clasificación de trabajo MIC) (38).

El grupo cooperativo MIC se reunió por primera vez en Leuven (Bélgica) en abril de 1985 para definir una clasificación de la leucemia aguda linfóide y cuyos resultados fueron publicados en 1986 (39). Se hizo hincapié en la negatividad de la mieloperoxidasa y en la utilidad de la localización centrosómica de la fosfatasa ácida para reconocer las LAL- T. Se llegó a una clasificación en que se consideran el cariotipo y la morfología FAB, para dar el diagnóstico de leucemia aguda linfóide B ó T. En Leuven, en septiembre de 1986; se aplicaron los criterios para las leucemias mieloides por el mismo grupo de expertos, sus resultados no fueron dados a conocer hasta 1988 (40). La nomenclatura propuesta empieza por consignar el tipo morfológico FAB seguido del signo barra (/) y la anomalía cromosómica específica entre paréntesis, ejemplo: M2/ t(8:21), con esta nueva nomenclatura se considera no sólo las leucemias linfoides y mieloides, sino también las procedentes de dos o más líneas celulares (bilineales o multifínea) y las que expresan marcadores simultáneos de más de una línea en la misma célula (bifenotípicas) (39).

Ambas clasificaciones, FAB y MIC, constituyen importantes herramientas de trabajo. Justo es reconocer que la clasificación FAB ha facilitado la uniformidad de informes y el entendimiento entre hematólogos. Ambas clasificaciones no son excluyentes sino complementarias.

En el Instituto Nacional de Cancerología se han trabajado por separado las clasificaciones morfológica, inmunológica y citogenética. Este estudio es el primero que intenta conjuntar estas tres clasificaciones; se hace de forma retrospectiva para poder determinar la frecuencia de las diversas alteraciones en nuestra población de pacientes adultos con leucemia aguda al momento del diagnóstico.

II).- INTRODUCCION

II.A.- LEUCEMIA AGUDA LINFOIDE (LAL).

La leucemia aguda linfóide se define en base a la morfología de las células blásticas que no presentan diferenciación mieloide por criterios citológicos y citoquímicos. Se caracteriza por proliferación maligna de células precursoras linfoides; éstas reemplazan al tejido hemopoyético normal en la médula ósea y se infiltran en ganglios linfáticos, bazo, hígado y otros órganos. La célula predominante en médula ósea y sangre periférica se puede identificar como linfoblasto. Estadísticamente la LAL es una enfermedad predominantemente infantil, 75% de los casos diagnosticados cada año corresponden a niños y sólo el 20% a adultos (41).

II. A.1.- MORFOLOGIA

Para la clasificación de la LAL, los criterios del grupo cooperativo FAB toman en cuenta, tamaño celular, cromatina nuclear, forma nuclear, número de nucléolos, cantidad de citoplasma y vacuolización citoplásmica; en base a esto se divide en 3 morfotipos, designados como L1, L2 y L3, cuyas características se resumen en la tabla 4. Además de la morfología, se requiere de tinciones citoquímicas (PAS, Fosfatasa ácida, TdT y Mieloperoxidasa como las más relevantes); es fundamental que la mieloperoxidasa sea negativa (42-43).

Tabla 4.- CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE LAS LEUCEMIAS LINFOBLASTICAS

CARACTERISTICA	L1	L2	L3
Tamaño Celular	Predominio de células pequeñas (12 - 15 μ m)	Grandes, tamaño variable (más de 15 μ m)	Uniformemente grandes.
Cromatina nuclear	Homogénea .	Heterogénea .	Homogénea y laxa.
Forma nuclear	Regular, hendiduras ocasionales.	Irregular, hendiduras frecuentes.	Regular, oval o redonda.
Citoplasma	Escaso, poco basófilo.	Variable, a veces -- abundante.	Abundante, con intensa basofilia
Vacuolas citoplasmáticas.	Raras.	Raras.	Muy abundantes

Alrededor del 30-40% de adultos con LAL presentan L1, el 50-60% corresponden LAL-L2 y 5% son morfológicamente LAL-L3. Desde el punto de vista pronóstico, esta clasificación tiene cierta utilidad, los pacientes con LAL-L3 tienen en términos generales un pronóstico más desfavorable que aquellos pacientes con LAL-L1 (19).

II.A.2.- INMUNOFENOTIPO

Las investigaciones recientes con marcadores de superficie e intracelulares indican que los linfoblastos varían de manera considerable en su maduración inmunológica. Debemos tener en cuenta la tecnología y definiciones utilizadas en el inmunofenotipo, puesto que esto se traduce en una diferente clasificación. En un principio se reconocieron la LAL-B, LAL-T y LAL-NULA. Posteriormente se añadió la denominación LAL-CALLA positiva o LAL COMUN (44-46). Actualmente se utilizan anticuerpos monoclonales para el fenotipo, en la tabla 5 se presenta esta clasificación.

Tabla 5.- CLASIFICACION INMUNOLOGICA DE LA LAL

TIPO DEL LAL	TdT	Ia	CD19 (B4)	CD10 (CALLA)	Clg- μ	SIg	CD2 (RE)
NULA	+	+	-/+	-	-	-	-
COMUN	+	+	+	+	-	-	-
PRE- B	+	+	+	+	+	-	-
B	-	+	+	-/+	-	+	-
T	+	-	-	-	-	-	+

TdT = Deoxinucleotidil transferasa terminal, puede ser positiva en el 5-10% de las LAM

RE = Rosetas espontáneas con hematíes de carnero

Clg- μ = Inmunoglobulinas IgM en su citoplasma

SIg = Inmunoglobulinas de superficie

Ia = Antígeno, HLA-DR

La gran mayoría de los casos clasificados anteriormente como LAL-nula, ahora corresponden a LAL- pre-B precoz CD10 negativa. La LAL-Común (CD10+) actualmente se refiere a una leucocitosis de progenitor de célula B. El valor pronóstico del inmunofenotipo varía en forma importante en relación al tratamiento que se utilice (46).

LAL tipo B cuya característica fundamental es la presencia de inmunoglobulinas de superficie en la membrana celular (SIg), representa menos del 5% de los pacientes y es fácilmente reconocible por su morfología L3; suelen ser TdT negativas (47).

La LAL común está constituida por linfoblastos B muy precoces en el desarrollo inmunológico, que poseen el antígeno común de la LAL (CALLA o CD10) y otros antígenos de células B inmaduras, pero no expresan SIg. Es el grupo más frecuente, aproximadamente el 60% del total de LAL (48).

En la LAL pre-B, las células blásticas presentan un estadio de diferenciación intermedio entre la LAL común y la LAL-B. Son por lo tanto CALLA positivas y específicamente, poseen cadenas pesadas de inmunoglobulinas IgM en su citoplasma (C1g- μ), aunque carecen de inmunoglobulinas de superficie (SIg negativas) (49).

Se denominan como LAL-Nula, aquellas leucemias linfoblásticas que no expresan marcadores de línea celular T ni B pero son TdT e Ia positivas. Recientemente, con el desarrollo de nuevos anticuerpos monoclonales y con el empleo de las técnicas de biología molecular que son extremadamente sensibles para la identificación de los linfocitos B y T, se ha demostrado que estas leucemias son de origen B en su mayor parte. Como puede verse en la tabla 5, algunas LAL consideradas, "nulas" expresan el antígeno B4 (CD19+), que aparece muy precozmente en la diferenciación B; son las llamadas LAL pre-pre B (50).

La LAL de tipo T, se caracteriza por formar rosetas espontáneas con hematíes de carnero (RE). Son TdT positivas y tienen afinidad para la tinción con fosfatasa ácida. Representan el 20% de los casos de LAL, suelen ocurrir en varones adolescentes y se asocian con una cifra de leucocitos alta, masa mediastínica y frecuente infiltración del sistema nervioso central (47-49).

II.A.3.- CITOGENETICA

Los estudios muestran que en la LAL, las alteraciones citogenéticas ocurren en un 65-94% de los pacientes según las series consultadas (50-51), algunas de las cuales guardan una cierta relación con tipos morfológicos especiales. Se han descrito más de 15 anomalías estructurales diferentes como eventos primarios en LAL, encontrándose t(1;19) (q23; p13), t(4;11) (q21: q23), t(9;22) (q34;q11), t(8;14) (q22;q11), t(10;14) (q24; q11), t(11;14) (p13; q11) y del 6(q) entre las más frecuentes. Algunas de estas aberraciones se asocian con un inmunofenotipo y una morfología distintas, lo que ha permitido establecer una nueva clasificación de LAL. (52).

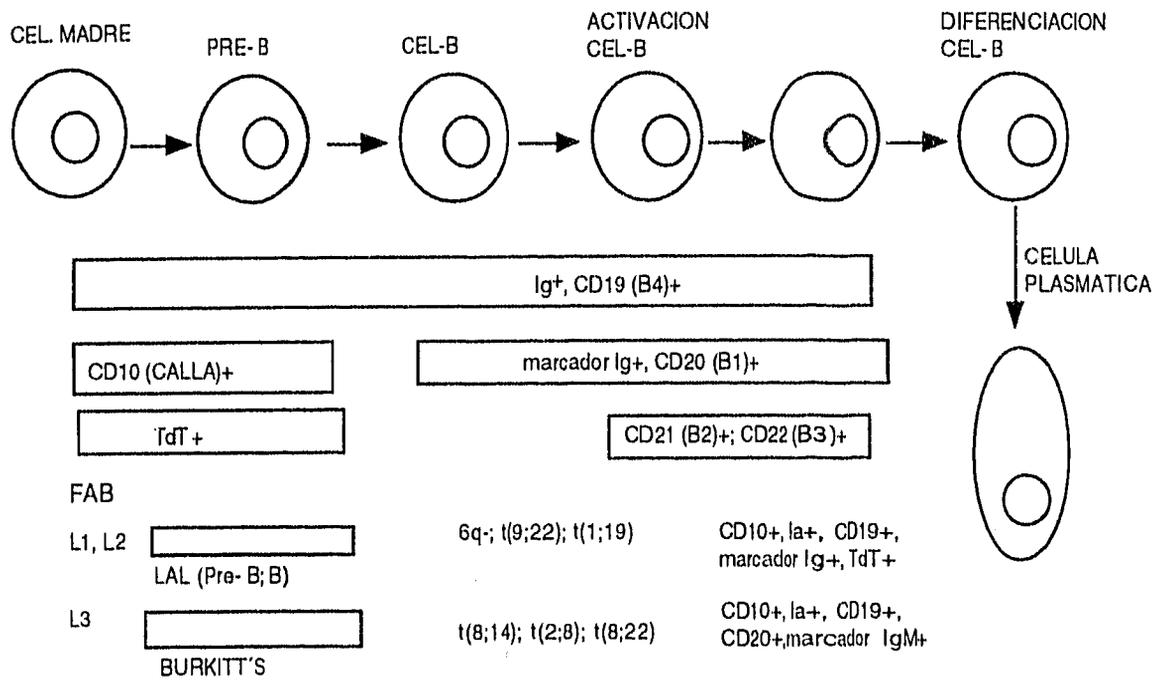
En las LAL se dan diversos trastornos cromosómicos entre los más frecuentes existen dos clases:

- 1.- Las hiperdiploidias, es decir la existencia de más de 46 cromosomas, que suelen ocurrir en las LAL de tipo "común" y se asocian con un buen pronóstico.
- 2.- Las translocaciones recíprocas o intercambio de material genético entre dos cromosomas. La más típica es la t(8;14), que se encuentra con mayor frecuencia en la LAL-B (50-52).

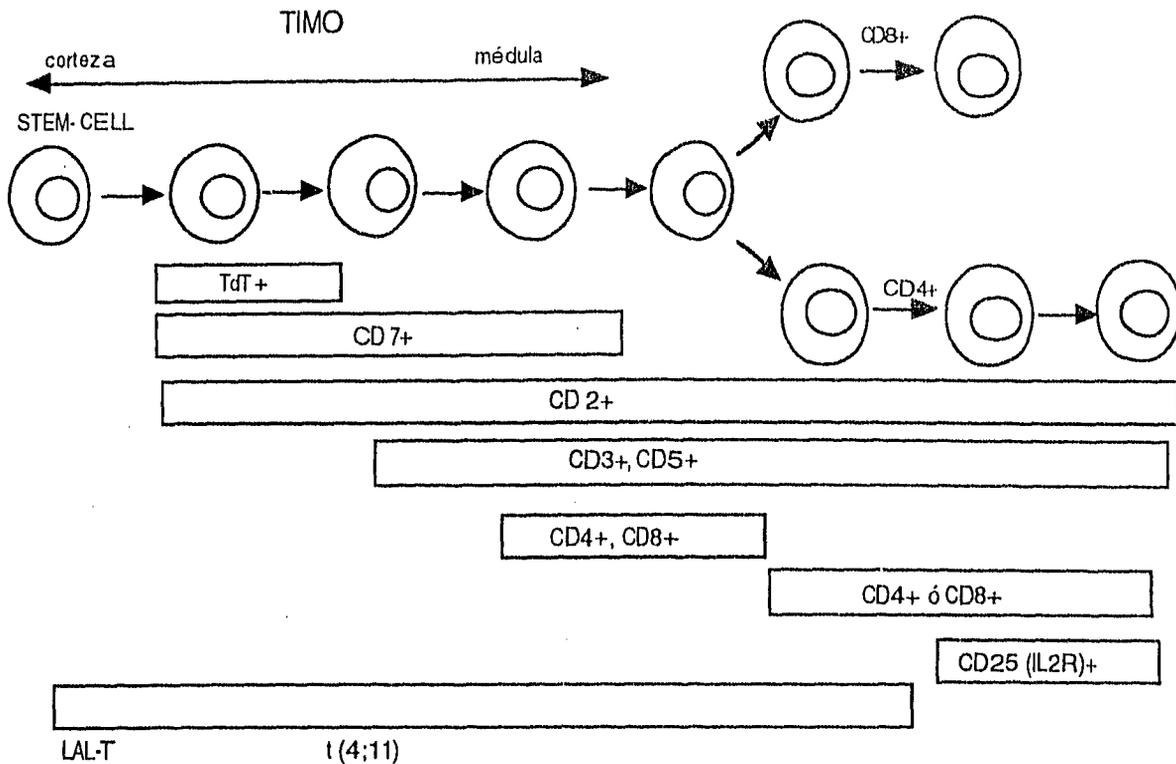
II.A.4.- CLASIFICACION MIC EN LAL

La correlación más típica entre inmunofenotipo y citogenética es la t(8;14), que afecta a la LAL-B, con morfología de LAL-L3. Otras translocaciones recientemente descritas son la t(11;14) en la LAL-T, la t(1;19) y la t(4;11) en la LAL pre-B. Esta clasificación es abierta, así una nueva categoría puede ser añadida a medida que sea reconocida (38). En los esquemas 1 y 2 se presenta la clasificación MIC propuesta para los tipos de LAL.

ESQUEMA 1.- CLASIFICACION MIC EN LAL-B



ESQUEMA 2.- CLASIFICACION MIC EN LAL-T



II.B.- LEUCEMIA AGUDA MIELOIDE (LAM).

La leucemia aguda mieloide, también llamada no linfoblástica es una enfermedad clonal, en la que se produce la transformación neoplásica de una sola célula en cualquier estadio a lo largo de la diferenciación mieloide. Una serie de pasos oncogénicos escalonados, lleva a una clona celular a perder la sensibilidad de los mecanismos normales de control de la reproducción y maduración (53).

Es la leucemia más frecuente en el adulto, con dos picos de incidencia máxima a los 25-30 y a los 60-70 años. Generalmente los pacientes se presentan, con la aparición de forma más o menos aguda, con cuadro general de astenia, malestar y anorexia, acompañado de manifestaciones hemorrágicas (típicamente púrpura cutánea y gingivorragias), síntomas anémicos y fiebre, habitualmente reflejo de infección bacteriana, con o sin foco aparente (17).

II.B.1.- MORFOLOGIA

La clasificación FAB reconoce granulocitos (M1, M2, M3), monocitos (M5a y M5b), granulocitos-monocitos (M4), eritroblastos (M6) y muy recientemente, la leucemia megariocítica y la LAM-M0. En la tabla 6 se resumen sus características morfológicas (17).

Tabla 6.- CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE LAS LAM

SUBTIPO	MORFOLOGIA
M0. LAM	Blastos indiferenciados
M1. LAM Sin maduración	Blastos con muy pocos gránulos
M2. LAM Con maduración	Blastos con gránulos
M3. Leucemia promielocítica	Promielocitos hipergranulares con abundantes bastones de Auer y la variante microgranular
M4. Leucemia mielomonocítica aguda	Blastos con diferenciación granulocítica y monocítica
M4a. Leucemia mielomonocítica aguda subvariedad eosinófila.	Blastos con diferenciación granulocítica y monocítica con eosinófilos
M5. Leucemia monocítica aguda	Dos subtipos: M5a con >80% de monoblastos; M5b monoblastos, promonocitos y monocitos
M6. Eritroleucemia	Eritroblastos displásicos >50%; mieloblastos >30%
M7. Leucemia megacarioblástica	Megacarioblastos reconocibles mediante la reacción de peroxidasa plaquetaria.

Existe una serie de casos difíciles de clasificar por criterios morfológicos debido a circunstancias diversas: indiferenciación marcada, infidelidad lineal con expresión de marcadores aberrantes, leucemias biclonales con dos poblaciones netamente distintas o cambios fenotípicos con la evolución de la enfermedad. En estos casos puede ser de ayuda la citogenética o la realización del inmunofenotipo (55).

II.B.2.- INMUNOFENOTIPO

En la LAM, los anticuerpos monoclonales como CD13, CD33 y CD15 han sido de gran utilidad ya que evidencian perfectamente la línea celular mielóide. De estos tres específicamente el anticuerpo CD13 (My7) reacciona con la mayoría de los casos de LAM M1-M5, aunque el porcentaje de positividad es más bajo entre los casos de diferenciación monocítica (M4 y M5); además el CD13 da reacción positiva en un mínimo de leucemias inmaduras (M0) (56-58). En la tabla 7 se resumen un conjunto de marcadores específicos de cada línea celular que permiten una caracterización precisa de la mayoría de las leucemias.

Tabla 7 .- INMUNOFENOTIPO DE VARIANTES EN LAM

Ac MON	CD*	CLASIFICACION FAB						
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
HLA.DR		+	+	-	+	+	+/-	+/-
MY9	CD33	+	+	+	+	+	+/-	+/-
MY7	CD13	+/-	+	+	+	+	-	NR
Mo1	CD11b	-	+	+/-	+	+	-	NR
Leu M1	CD15	-	+	+/-	+	+	+/-	NR
Mo2	CD14	-	+/-	-	+	+	-	NR
Glicoproteína A II/b/II/a	CDw41	-	-	-	-	-	-	+
Glico- proteína Ib	CDw42	-	-	-	-	-	-	+
Factor Von Willebrand		-	-	-	-	-	-	+

CD= * (Cluster of differentiation) Grupos de diferenciación
NR= No reportado

II.B.3.- CITOGENETICA

Las alteraciones citogénéticas detectables en el 70% de las LAM, definen subgrupos con compartimientos biológicos diferentes. En la tabla 8, se describen las anomalías cromosómicas específicas más frecuentes (51).

Casi el 100% de los casos con LAM-M3 presentan la translocación t(15:17) en la que hay un intercambio recíproco de material cromosómico entre los brazos largos de ambos cromosomas. Resulta que en el punto de ruptura del cromosoma 17 reside el intrón de la cadena A del receptor del ácido retinoico, lo que seguramente está relacionado con la respuesta que se produce en esta leucemia cuando se da tratamiento oral con ácido trans-retinoico (59- 60).

En la M4 se ha observado la inversión del cromosoma 16, inv (16) (p13 q22) asociada a eosinofilia medular (PAS y Cloroacetato-esterasa positiva) cuyo pronóstico es menos desfavorable. Así mismo en la M5 se han comprobado, sobre todo en niños, translocaciones o deleciones del brazo largo del cromosoma 11 (61).

Tabla 8.- ALTERACIONES CROMOSOMICAS EN LAM.

LAM (s)	HALLAZGOS CITOGENETICOS
M1	t(9;22) , +8
M2	t(8; 21)
M3	t (15; 17)
M4	inv 16 (M4 con eosinofilia)
M5	t(9;11)
M6	+8,del (5q)

II.B.4.- CLASIFICACION MIC EN LAM

Otra clasificación propuesta para la LAM es la del grupo cooperativo MIC. Los casos con esta neoplasia pueden ser estudiados por morfología, técnicas citogenéticas e inmunológicas. Esto define diez categorías, pero la clasificación queda abierta y una nueva categoría puede ser añadida en el momento en el que sea claramente definida. En la tabla 9, se presentan algunos ejemplos de denominación MIC para LAM (39).

Tabla 9.- CLASIFICACION MIC EN LAM

M1 tromb /inv. (3)
M1: M2 / t(9;22)
M2 /t(8;21)
M2 Bas /t(6;9)
M3 / t(15;17)
M4 Eo/ Inv (16)
M5a / t(11q)

III).- OBJETIVOS

- A).- Analizar la frecuencia de los diversos tipos morfológicos y citoquímicos en los enfermos con leucemia aguda, atendidos en el Servicio de Hematología del INCAN.
- B).- Correlacionar el tipo morfológico, con el análisis inmunológico y estudio citogenético, de los pacientes adultos con leucemia aguda.
- C).- Comparar los datos encontrados, con la literatura (reportes del grupo cooperativo MIC).

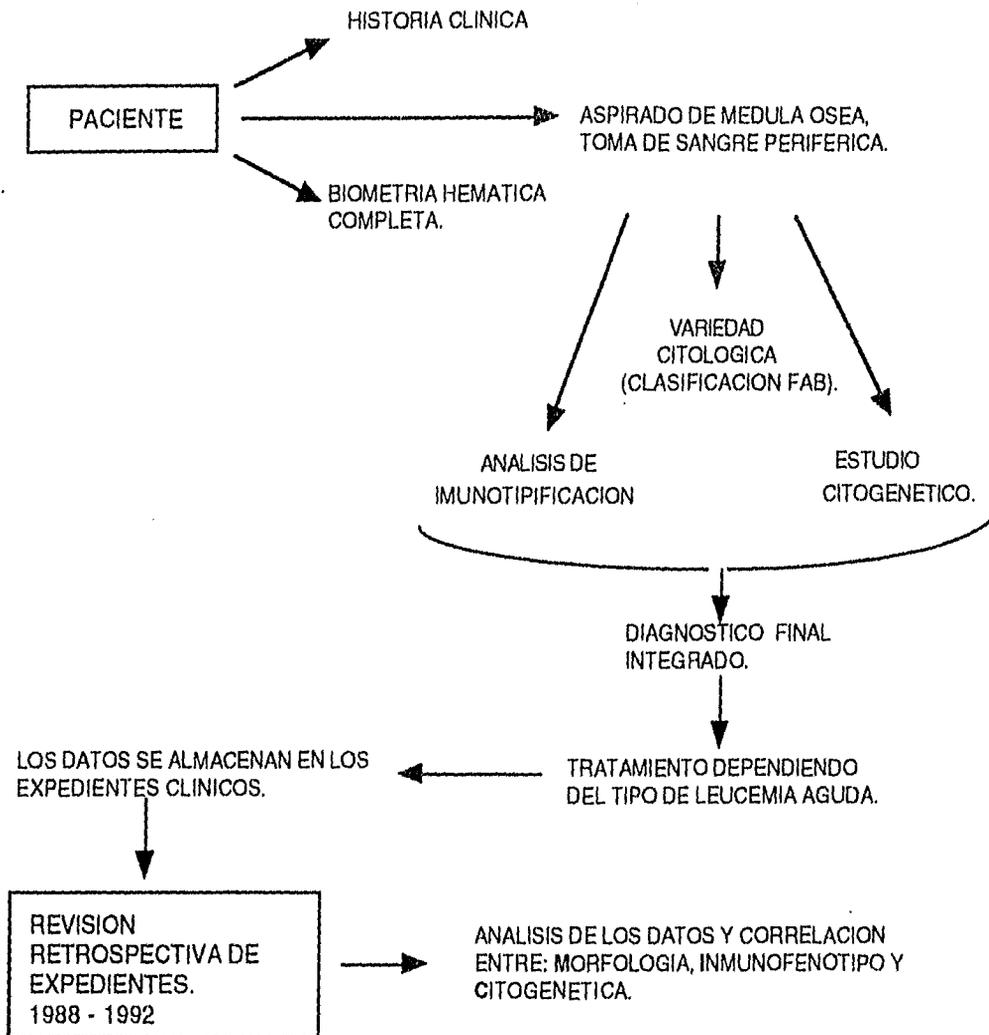
IV).- HIPOTESIS

* Si la clasificación MIC para los pacientes adultos con LA se utiliza en el INCAN, podremos conocer la frecuencia y distribución en nuestra población y por tanto, el diagnóstico será preciso y el tratamiento más adecuado.

V).- DISEÑO DEL ESTUDIO.

DESCRIPCION.- Es un estudio retrospectivo, descriptivo. En el siguiente diagrama se presenta el algoritmo de la recopilación de los datos para la realización del trabajo.

DIAGRAMA DE FLUJO DEL PACIENTE



VI).- MATERIAL Y METODOS.

VI.1.- PACIENTES.

Se incluyeron todos los pacientes en quienes se estableció el diagnóstico de leucemia aguda, estudiados en el Instituto Nacional de Cancerología; durante el período de 1988 a 1992.

Para este análisis, se consideraron todos los pacientes vírgenes al tratamiento, se les realizó de manera completa una historia clínica, determinación de la clasificación morfológica FAB, inmunofenotipo y estudio citogenético de su leucemia.

VI.2.- MORFOLOGIA Y ESTUDIO CITOQUIMICO.

En muestras de médula ósea y sangre periférica se realizó tinción de Wright, ácido peryódico de Schiff (PAS), mieloperoxidasa (MPO) y alfa naftil acetato esterasa (ANAE).

TINCION DE WRIGHT:

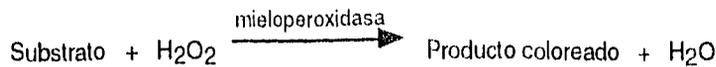
Se hizo cuenta diferencial de 100 células en sangre periférica y de 300 en médula ósea.

En una primera etapa se examinó el frotis de médula ósea mediante un objetivo de poco aumento (objetivo, x10), para apreciar la celularidad global, la presencia, ausencia o aumento del número de las células y de megacariocitos. La celularidad hematopoyética se puede encontrar: normal, aumentada (hipercelularidad) o disminuida (hipocelularidad o aplasia). Debe señalarse, que la apreciación de la celularidad mediante el aspirado medular, aunque siempre es muy útil, tiene a veces un valor limitado ya que existen diversas situaciones patológicas en las que ésta no corresponde con la que existe realmente (8).

En una segunda etapa se procedió al examen a gran aumento (objetivo, x100), con lo cual se apreciaron las características morfológicas de las diferentes células y se realizó un recuento diferencial de las mismas.

MIELOPEROXIDASA:

Las peroxidasas son enzimas que catalizan la oxidación de sustancias por el H_2O_2 . En la reacción catalizada por la peroxidasa, el peróxido de hidrógeno es reducido a expensas de varias sustancias que actúan como aceptores de electrones tales como el citocromo c (62). En citología para demostrar la actividad de peroxidasa, se emplea un substrato indicador que formará un producto coloreado cuando se oxida. La reacción catalizada por la peroxidasa es compleja, pero la reacción global es como sigue:



Algunos de los primeros métodos para la demostración de peroxidasa, es el método de Kaplow (63). Los depósitos de color dentro de una célula son prueba indirecta de actividad de peroxidasa en ella, la mieloperoxidasa es una enzima lisosomal que se almacena en los gránulos primarios de las células mieloides, incluyendo neutrófilos, eosinófilos y monocitos.

REACCION DEL ACIDO PERYODICO DE SCHIFF (PAS).

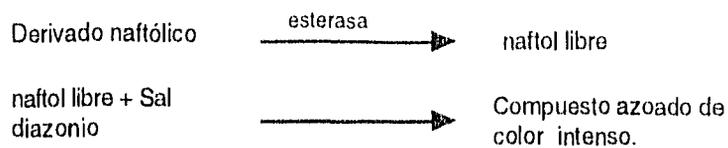
El ácido peryódico es un oxidante que rompe los enlaces - C-C- de los grupos CHOOH - CHOH para formar aldehídos (CHO), que seguidamente pueden ser visualizados en rojo intenso con el reactivo de Schiff (fucsina-ácido-sulfuroso) (14). Este ácido se utiliza principalmente para identificar depósitos anormales de glucógeno en linfoblastos y eritroblastos. Las células con material PAS- positivo en su citoplasma (glucógeno, mucopolisacáridos, mucoproteínas, glucoproteínas y glucolípidos) muestran un precipitado de color rojo púrpura intenso. Entre ellas destacan los neutrófilos polisegmentados y otros elementos de la serie mieloides, algunos linfocitos (10-20% de los linfocitos normales), los megacariocitos, plaquetas y ocasionalmente las células plasmáticas (64).



ESTERASAS:

Las esterasas son enzimas capaces de hidrolizar a los ésteres alifáticos y aromáticos. Las reacciones de las esterasas, que distinguen precursores de granulocitos de precursores de monocitos, son útiles en la diferenciación de los subtipos de LAM. La actividad enzimática se pone de manifiesto en forma de un precipitado ocre marrón en el citoplasma de diversas células, entre las que destacan; los monocitos (reacción muy intensa), las células plasmáticas, los eritroblastos de la anemia perniciosa o de algún caso de eritroleucemia y por último en los linfocitos de origen T (19).

Las esterasas específicas en citoquímica hematológica son capaces de liberar naftol y se encuentran en las células granulocíticas. Las esterasas inespecíficas, encontradas primariamente en monocitos, pueden liberar acetato de α -naftilo o del butirato de α -naftilo (65).



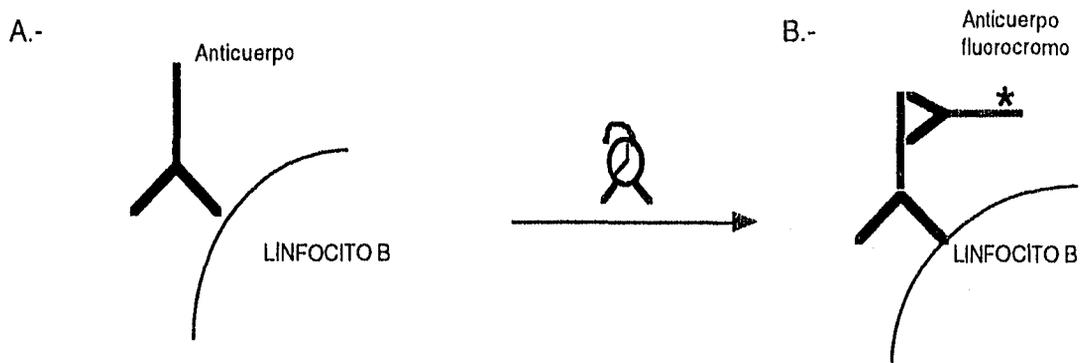
Para los tres estudios citoquímicos se llevan a cabo los siguientes pasos:

- 1.- Fijación de los frotis.
- 2.- Las células se incuban con substratos que reaccionan con constituyentes celulares determinados. Si el constituyente específico está presente en la célula, su reacción con el substrato se confirma al aparecer un producto coloreado dentro de la célula.
- 3.- Se valora con un microscopio de luz ordinario.

VI.3.- INMUNOFENOTIPO:

El estudio de las poblaciones celulares se realizó mediante marcaje con anticuerpos monoclonales (producidos comercialmente por Coulter, Hialeah, FL, E.U.A). Cada anticuerpo es específico para un marcador de membrana particular.

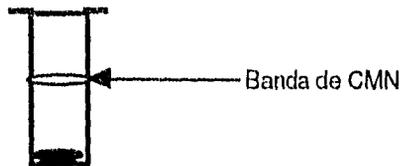
Las células mononucleadas (CMN) se incuban con el anticuerpo monoclonal (A); posteriormente se exponen a inmunoglobulina anti-ratón conjugada con fluoresceína (B) valorándose por la técnica de inmunofluorescencia indirecta, y se observa con microscopio de fluorescencia; simultáneamente se realiza un control de isotipo (66), ver figura 1.



VI.3.1.- METODOLOGIA

Se partió de 5.0 mL de sangre periférica ó de 3.0 mL de médula ósea, heparinizada (25 UI /mL).

- 1.- Diluir 1 volumen de sangre con 1 ó 2 volúmenes de solución amortiguadora de fosfatos (SAF).
- 2.- Colocar en un tubo 3 mL de la solución Ficoll- Hypaque y mediante una pipeta Pasteur verter cuidadosamente encima de aquella 7 mL de sangre diluida.
- 3.- Centrifugar a 1800 rpm/ 35 min.
- 4.- Las CMN se hallan encima de la solución separadora y se extraen cuidadosamente mediante una pipeta de Pasteur. En el fondo se hallan, los hematíes y granulocitos, y en la parte superior, el plasma.

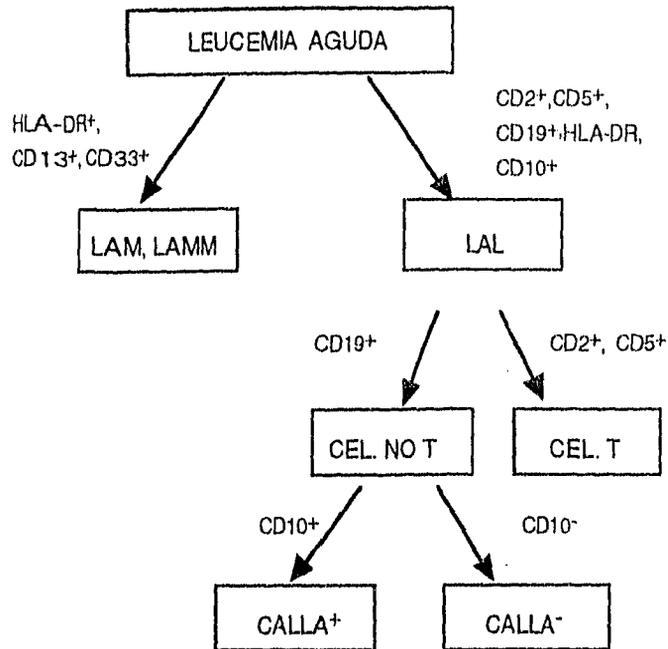


- 5.- Resuspender las CMN en 1 ml de SAF, contar las células en la cámara de Neubauer ajustando la concentración a 5×10^6 células/mL.
- 6.- En un tubo colocar 100 μ L del anticuerpo monoclonal (AcMon) y añadir 50 μ L de la suspensión celular.
- 7.- Incubar durante 30 min a 4 °C en la oscuridad, lavar 3 veces con SAF centrifugando durante 5 minutos a 1800 rpm, decantando el líquido sobrenadante después de cada lavado.
- 8.- Resuspender el botón celular y añadir 100 μ L del anticuerpo conjugado fluoresceinado (GAM-FITC), agitar suavemente e incubar durante 30 min a 4 °C.
- 9.- Lavar dos veces con SAF, resuspender el botón celular y agregar 50 μ L de formaldehído al 10%.
- 11.- Colocar una gota de esta suspensión sobre un portaobjetos y cubrir. Usando un microscopio de fluorescencia contar 200 células por muestra de paciente, considerando positivas las que tenían fluorescencia de superficie.

El límite de corte se fijó en 25% o más de positividad para los marcadores linfoides y 30% o más para los marcadores mieloides.

En la figura 2 se presenta el algoritmo para la interpretación de los anticuerpos monoclonales y la lista de los que se utilizaron para este estudio.

Fig 2. PRESENTACION ESQUEMATICA DE LA TIPIFICACION Y EL DIAGNOSTICO DEL TIPO DE LEUCEMIA AGUDA EN EL INCAN.



NOTA: LAMM= Leucemia aguda mielo-monocítica

LEUCEMIA AGUDA LINFOIDE:

TIPO COMUN: CD10+ (J5), CD19+/- (B4), PAS +/-

TIPO NULA: Ausencia de reactividad de los blastos con cualquiera de los siete inmunorreactivos.

TIPO B: CD19+ (B4), PAS +/-

TIPO T: CD2+, CD5+, PAS +/-

LEUCEMIA AGUDA MIELOIDE:

MIELOIDES: CD13 (My7), CD33 (My9), MPO +/- ANAE+, cuerpos de Aüer.

LEUCEMIA HIBRIDA:

Presencia simultánea de marcadores linfoides, CD 2, CD 5, CD10, CD 19, PAS y mieloides como CD 13, CD33, MPO, ANAE y cuerpos de Aüer.

LEUCEMIA INDIFERENCIADA:

HLA- DR (+), marcadores linfoides y mieloides ausentes.

VI.4.- ESTUDIO CITOGENETICO

Se analizaron muestras de médula ósea y/o sangre periférica de pacientes con leucemia aguda, con el propósito de conocer la frecuencia y el tipo de alteraciones cromosómicas.

VI.4.1.- METODOLOGIA

Las muestras de cada paciente obtenidas, fueron procesadas en cultivos simultáneos; para sangre periférica se hizo cultivo a 72 y 96 h, con y sin estímulo con fitohemaglutinina (PHA). Mientras que en médula ósea se realizó, cultivo directo, 24, 48 y 72 h. con y sin estímulo.

- 1.- Las células se cultivaron a una concentración de 0.5×10^6 / mL en medio RPMI 1640, incubando a 37° C.
- 2.- Las metafases se bloquearon utilizando colchicina durante 15 min/ 37°C para sangre periférica y 10 min/ 37°C para médula ósea, después se realizó choque hipotónico a 37°C durante 10 min, centrifugando en cada paso a 1500 rpm.
- 3.- Finalmente se realizó una fijación seguida de tres cambios de fijador con carnoy (3 partes de metanol y una parte de ácido acético) antes de la elaboración de laminillas en frío (67).
- 4.- La técnica de identificación cromosómica utilizada fue la de bandas G, tripsina giemsa "GTG" (68). Siempre que fue posible se observaron en cada paciente un mínimo de 20 metafases. Los cromosomas se clasificaron de acuerdo al sistema internacional de nomenclatura en citogenética humana (ICSN).

VI.5.- REVISION DE EXPEDIENTES.

Se realizó revisión retrospectiva de expedientes, buscando los siguientes datos:

- Todos aquellos pacientes que tenían estudio Morfológico, Inmunológico y Citogenético.
- Edad
- Sexo
- Tiempo de evolución
- Síntomas y signos: Ictericia, linfadenopatías, hepato-esplenomegalia.
- Datos de laboratorio: Biometría hemática, pruebas de función renal y hepática.

VI.6.- ANALISIS ESTADISTICO.

Se hizo análisis de las frecuencias de los diversos parámetros estudiados.

VII).- RESULTADOS

VII.1 .- LEUCEMIA AGUDA LINFOIDE

A.1). DATOS CLINICOS EN 23 PACIENTES CON LAL.

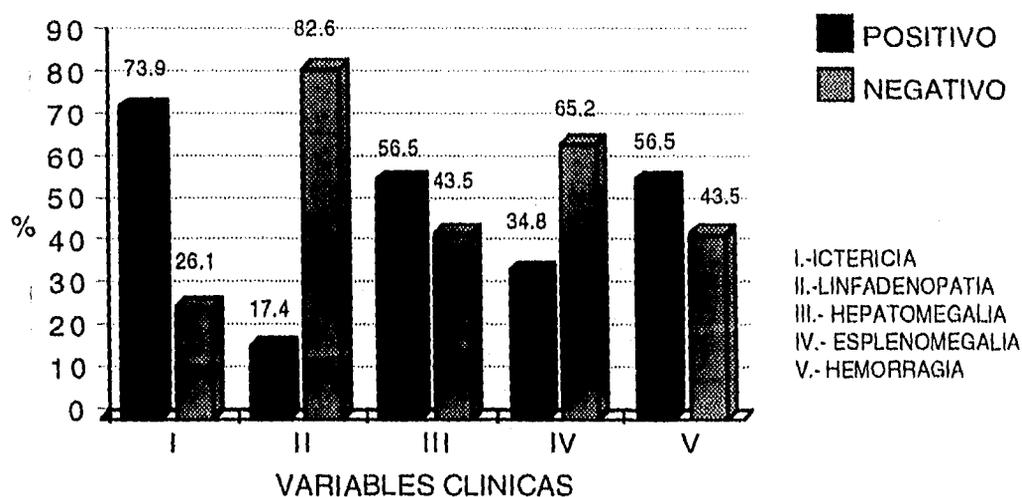
El grupo con LAL presentó los siguientes datos clínicos: Sexo: femenino 10 (43.4%), masculino 13 (56.5%), edad promedio global de 27.5 años (desv. std. 12.3 años), esto se presenta en el cuadro 1.

Cuadro 1.- DISTRIBUCION POR EDAD Y SEXO.

	MASCULINO	FEMENINO
RANGO DE EDAD	16 - 36 AÑOS	18 - 58 AÑOS
MEDIANA	20 AÑOS	32 AÑOS
TOTAL	13 PACIENTES	10 PACIENTES

Los datos clínicos al tiempo de diagnóstico están esquematizados en la figura 2; obsérvese que la mayoría de la población presenta afección hepática con presencia de ictericia y hepatomegalia.

FIG.2.- CARACTERISTICAS CLINICAS DE LOS PACIENTES CON LAL.

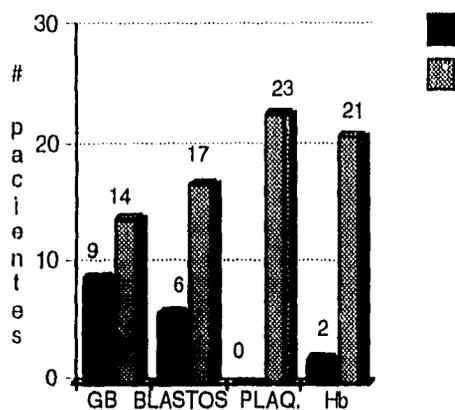


B.1).- PARAMETROS DE LABORATORIO.

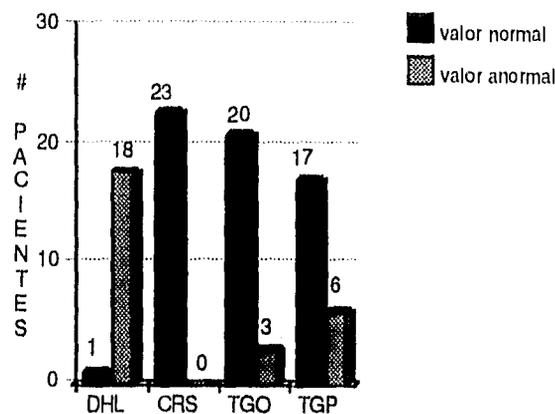
Los parámetros de laboratorio de interés se presentan en la tabla 10; estos datos nos dan información del estado inicial del paciente al momento del diagnóstico, como es la presencia de anemia en 21 pacientes y plaquetopenia en todos los pacientes, asimismo en 17 casos se observó la presencia de blastos en sangre periférica. De la química sanguínea se tomó la determinación de deshidrogenasa láctica (DHL), que como se observa, de los 23 pacientes estudiados únicamente en 19 se cuantificó, siendo elevada en 18 casos, también se buscó alteración en la función renal y hepática. La cuantificación de la TGP como la TGO presentaron valores aumentados.

Tabla 10. - PARAMETROS DE LABORATORIO EN 23 PACIENTES CON LAL.

BIOMETRIA HEMATICA



QUIMICA SANGUINEA



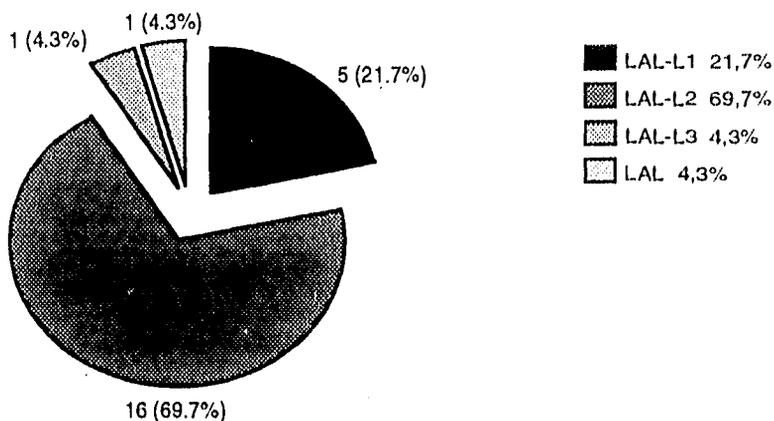
PARAMETROS	MEDIA	RANGO
GB (cellx10 ⁹ /l)	41.8	1.1- 191.4
BLASTOS (%)	32.9	0.0- 84.0
PLAQUETAS (cellx10 ⁹ /l)	57.8	2.7- 186.0
HEMOGLOBINA (g/dl)	8.1	3.4- 12.5
DHL (U/l)	443.5	140.0- 1441.0
CRS (mg/dl)	0.8	0.4- 1.3
TGO (U/l)	29.8	13.0- 63.0
TGP (U/l)	50.9	8.0- 245.0

GB= Glóbulos blancos, DHL= Deshidrogenasa láctica, CRS=Creatinina sérica, TGO=Transaminasa glutámico oxalacética, TGP= Transaminasa glutámico pirúvica.

C.1).- CLASIFICACION MORFOLOGICA (FAB) Y CITOQUIMICA EN LAL.

La figura 3 presenta los resultados agrupados de acuerdo a la clasificación FAB, análisis obtenido de 23 pacientes con LAL. Cinco pacientes fueron clasificados en subgrupo L1, 16 pacientes en L2 (69.7%), 1 paciente en L3, y un paciente sin diferenciación morfológica. La tinción de mieloperoxidasa fue realizada en 21 pacientes, siendo en todos ellos negativa.

Fig.3.- CLASIFICACION CITOQUIMICA Y MORFOLOGICA EN PACIENTES CON LAL.



TINCION	No. PACIENTES	REACTIVIDAD	%
Mieloperoxidasa	21	negativa	100

D.1).- ANALISIS DE IMUNOTIPIFICACION.

La expresión de marcadores de superficie en los 23 adultos con LAL analizados está resumida en la tabla 11. El inmunofenotipo se realizó en 13 (56.5%) en médula ósea y 10 (43.5%) en sangre periférica. Es claro que la variedad más frecuentemente identificada fue la LAL- COMUN (82.6%)

Tabla 11.- CLASIFICACION INMUNOLOGICA DE LOS PACIENTES CON LAL.

TIPO INMUNOLOGICO	No. PACIENTES (Positivos)	%
LAL- COMUN	19	82.6
LAL- NULA	1	4.3
LAL- B	2	8.6
LAL- T	1	4.3

ANTICUERPOS: LAL COMUN (CD10 +, CD19 +/-, PAS +.

LAL-B (CD19 +, PAS +/-).

LAL-T (CD2+, CD5+, PAS+/-).

LAL- NULA (HLA-DR+. Ausencia de marcadores linfoides y mieloides).

E.1).- ESTUDIO CITOGENETICO.

Los hallazgos cromosómicos se observan en la tabla 12. Estos fueron agrupados en: cariotipo normal, cariotipo Filadelfia positivo (Ph+), cariotipo Ph+ más otras alteraciones, cariotipo con alteraciones numéricas y estructurales, cultivo sin metafases. En todos los casos se procesaron muestras de médula ósea y/o sangre periférica.

Tabla 12.- HALLAZGOS CITOGENETICOS EN PACIENTES CON LAL.

HALLAZGOS CITOGENETICOS	No. PACIENTES	%
SIN METAFASES	11	47.8
NORMAL	6	26.1
Ph+	3	13.0
Ph +,+ OTRAS ALT.	1	4.3
ALTERACIONES NUMERICAS.	2	8.7

Ph+ = Cromosoma filadelfia positivo

La alteración más frecuente fue la presencia del cromosoma filadelfia en 4 pacientes; en uno de ellos asociado a otras alteraciones; esto representa el 17.3% de la población analizada; este porcentaje es similar a lo reportado por otros autores (29). Es de notar que los porcentajes que se manejan están dados en base al grupo total (23 pacientes); si se excluyen los casos en donde no se obtuvieron metafases, nos quedan 12 pacientes y por tanto el porcentaje de estudios con cromosoma Filadelfia aumenta a 33%. Un dato importante que nos llama la atención es la pobre respuesta de crecimiento (metafases) que se obtuvo en nuestro pequeño grupo de pacientes 47.8%; se sabe que alrededor del 10% de los casos con este tipo de neoplasia no tiene alteraciones cromosómicas numéricas ni estructurales.

F.1).- MIC EN PACIENTES CON LAL

La clasificación MIC, para nuestro grupo se presenta en la tabla 13. La asociación entre LAL-L2/LAL-Común/ con presencia de Ph(+) se presentó en 3 pacientes de 12 (25%), esta alteración cromosómica; se presentó también en uno de los dos pacientes con morfología LAL-L2/LAL-B.

TABLA 13.- CLASIFICACION MIC EN PACIENTES CON LAL

No. PACIENTE	M	I	C
1			L1 /LAL- COMUN/S.M
2			L1 / LAL- COMUN/ S.M
3			L1 / LAL-COMUN /S.M
4			L1 / LAL-COMUN/ S.M
5			L1 / LAL-COMUN/ 46, XY
6			L2 / LAL-COMUN/ S.M
7			L2/ LAL-COMUN/ S.M
8			L2/ LAL-COMUN/ S.M
9			L2/ LAL-COMUN/ S.M
10			L2/ LAL-COMUN/ 46, XX
11			L2/ LAL-COMUN/ 46, XY
12			L2/ LAL-COMUN/ 46, XY
13			L2/LAL- COMUN/ 46, XY
14			L2/ LAL-COMUN/ 46, XY
15			L2/ LAL-COMUN/ 46, XX, Ph+
16			L2/LAL- COMUN / 46, XY, Ph+
17			L2/ LAL- COMUN/ 46, XX, Ph+
18			L2/ LAL-NULA/ S.M
19			L2/ LAL-B/ S.M
20			L2/ LAL-B/ 46, XY, Ph+, hiperdiploidias 17%
21			L2/LAL-T/ S.M
22			L3/ LAL-COMUN/ hiperdiploidias
23			LAL/ LAL-COMUN/ 46, XX, hiperdiploidias

SM= Sin mitosis, Ph(+)= Cromosoma filadelfia positivo

VII. 2.- LEUCEMIA AGUDA MIELOIDE.

A.2).- DATOS CLINICOS DE LOS 18 PACIENTES CON LAM.

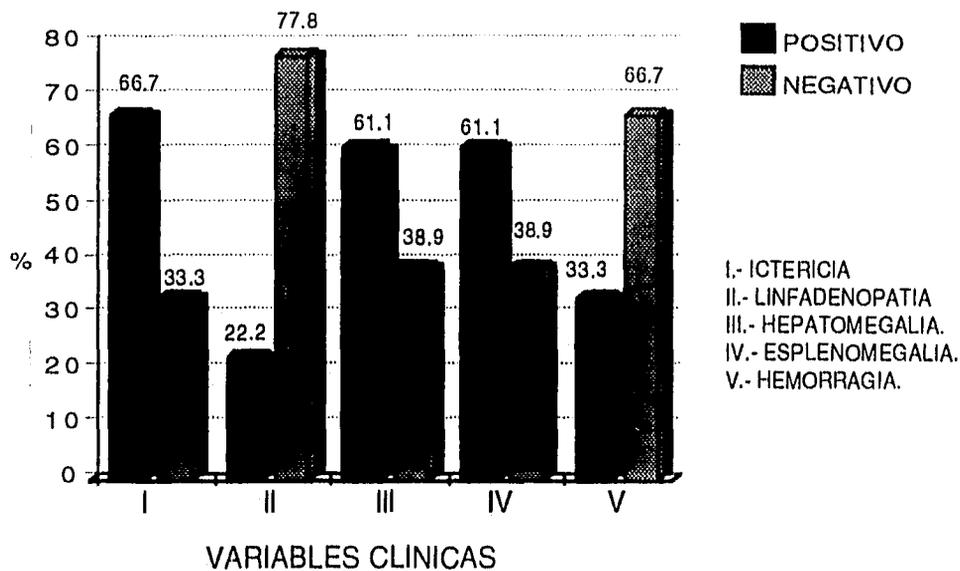
La edad media de los pacientes masculinos con leucemia aguda mieloide fue de 19 años con un rango de 17 - 47 años, mientras que en los pacientes con sexo femenino fue de 42 años con un rango de 16-76 años; esto se aprecia en el cuadro 2.

CUADRO 2.- DISTRIBUCION POR EDAD Y SEXO.

No. Pacientes	Sexo	Media (Años)	Rango (Años)
7	Masculino	19	17 - 47
11	Femenino	42	16 - 76

Generalmente los pacientes con LAM presentan un cuadro de astenia, malestar y anorexia, acompañado de manifestaciones hemorrágicas, síntomas anémicos y fiebre, habitualmente reflejo de infección bacteriana. La frecuencia de los diversos signos de los pacientes estudiados con leucemia aguda mieloide se presenta en la figura 4.

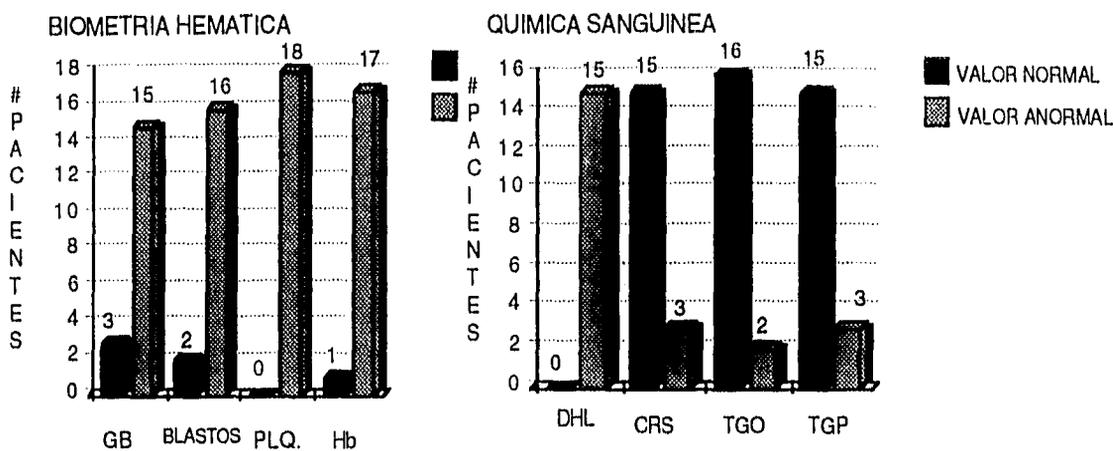
Fig. 4.- CARACTERISTICAS CLINICAS DE LOS PACIENTES CON LAM



B.2).- PARAMETROS DE LABORATORIO.

En cuanto a los parámetros del laboratorio la cuenta media leucocitaria fue de 68.2×10^9 , con una cuenta media de blastos en sangre periférica de 33.9% con un rango de 0-90%. La cuenta de leucocitos es variable, 3 pacientes presentaron cifras "normales", mientras que 15 pacientes tuvieron cifras anormales al tiempo del diagnóstico. Los signos clínicos de los pacientes con LAM se acompañan en general de anemia y trombocitopenia siendo graves en el diagnóstico, así mismo en la LAM encontramos elevación de la DHL, contrario a la TGO y TGP en donde generalmente fue normal. Esto se presenta en la tabla 14.

TABLA 14.- PARAMETROS DE LABORATORIO EN 18 PACIENTES CON LAM



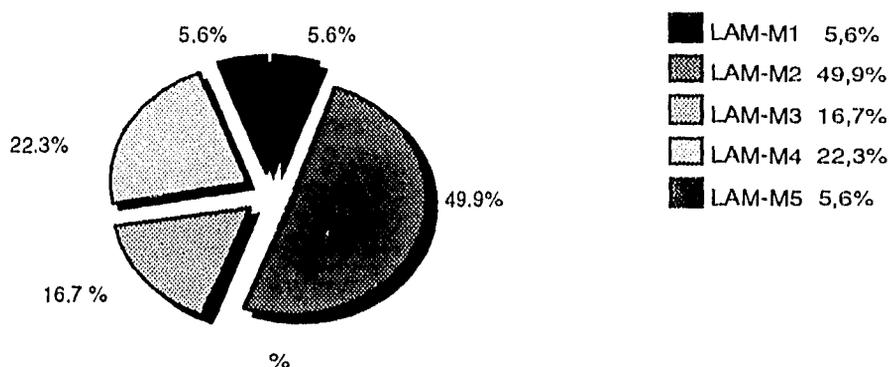
PARAMETROS	MEDIA	RANGO
GB (cellx10 ⁹ /l)	68.2	1.2- 400.0
BLASTOS (%)	33.9	0.0- 90.0
PLAQUETAS (cellx10 ⁹ /l)	47.7	5.0 - 169.0
HEMOGLOBINA (g/dl)	8.4	2.5- 15.0
DHL (U/l)	707.6	152.0-2922.0
CRS (mg/dl)	1.0	0.7-1.7
TGO (U/l)	30.5	6.0- 117.0
TGP (U/l)	35.8	7.0-156.0

GB= Glóbulos blancos, TGO= Transaminasa glutámico oxalacética. CRS= Creatinina sérica
TGP= Transaminasa glutámico piruvica, DHL= Deshidrogenasa láctica.

C.2).- CLASIFICACION MORFOLOGICA (FAB) Y CITOQUIMICA .

Las tinciones citoquímicas que se emplearon fueron mieloperoxidasa y ANAE. Unicamente se realizaron en 16 pacientes, siendo el 80% mieloperoxidasa positiva. De acuerdo a los criterios establecidos por el grupo cooperativo FAB, los 18 pacientes analizados fueron subclasificados morfológicamente en 5 grupos de LAM, esto se presenta en la fig. 5, se puede apreciar que la LAM-M2 fue la más frecuente, seguida por la LAM-M4.

Fig. 5.- CLASIFICACION MORFOLOGICA Y CITOQUIMICA EN PACIENTES CON LAM.



TINCION	No. PACIENTES	%
MIELOPEROXIDAS (MPO+)	12	80.0
α NAFTOL ACETATO ESTERASA (ANAE+)	3	20.0

NOTA: A 2 pacientes no se realizó citoquímica y un paciente dio reacción negativa para MPO y ANAE.

D.2).- ANALISIS DE IMUNOTIPIFICACION.

La caracterización inmunológica de los marcadores en la LAM no se conoce muy bien; sin embargo, la morfología y la citoquímica (mieloperoxidasa, esterasas inespecíficas) son especialmente útiles junto con los anticuerpos monoclonales de los grupos CD13 y CD14 para precisar el subtipo M1 a M5. El estudio inmunológico fue realizado en 18 pacientes, los resultados se resumen en la tabla 15.

TABLA 15.- ANALISIS INMUNOLOGICO EN 18 PACIENTES CON LAM.

AcMON-mieloides	No. Pacientes positivos	%
HLA-D/DR (I2)	12	66.6
CD13 (MY7)	14	77.7
CD33 (MY9)	8	44.4
CD14 (MY4)	2	11.1

E.2).- ESTUDIO CITOGENETICO.

Los hallazgos citogenéticos encontrados en nuestros pacientes, se clasificaron en grupos diferentes según las alteraciones encontradas; esto se presenta en la tabla 16. Cinco pacientes (27.7%) presentaron un cariotipo normal, once pacientes (60.9 %) presentaron una o diversas anomalías cromosómicas y en dos pacientes (11.1%) no hubo metafases analizables.

TABLA 16.- HALLAZGOS CITOGENETICOS EN PACIENTES CON LAM

GRUPOS	No. PACIENTES	%
Sin metafases	2	11.1
Normal	5	27.7
Filadelfia (Ph+)	5	27.7
Filadelfia (Ph+) + Otras alteraciones.	1	5.5
Alt. Numéricas/ Estructurales	5	27.7

Las alteraciones numéricas que se encontraron con mayor frecuencia fueron las hiperdiploidias en 5 pacientes, mientras que la alteración estructural más frecuente en nuestra población fue el cromosoma filadelfia en 6 pacientes (33.2%), este porcentaje es más elevado a lo que reporta la literatura (5-10%). Se obtuvo un porcentaje de casos sin metafases aceptable puesto que únicamente 2 paciente no se pudieron evaluar.

F.2).- CLASIFICACION MIC EN LAM.

Al correlacionar la morfología, inmunofenotipo y citogenética (MIC) encontramos cromosoma Ph+ en LAM-M2, M3 y M4, así como hiperdiploidias en los mismos tipos morfológicos. Las alteraciones específicas tales como la t(8;21) que corresponde a la LAM-M2 o bien la t(15;17) a la LAM-M3 no se encontraron en nuestra población. En la tabla 17, se muestran los resultados para estas tres variantes.

TABLA 17.- CLASIFICACION MIC EN LAM.

Paciente	Morfología (FAB)	Marcadores Inmunológicos				Citogenética
		HLA-D/DR (I2)	CD13 (MY7)	CD33 (MY9)	CD14 (MY4)	
1	M1	+	-	-	-	46, XX
2	M2	+	-	-	NR	S.M
3	M2	+	+	+	-	S.M
4	M2	-	+	-	NR	46, XX
5	M2	+	+	+	NR	46, XX
6	M2	-	+	-	+	46, XX
7	M2	+	+	+	NR	46, XX, Ph+
8	M2	+	+	+	NR	46, XY, Ph+
9	M2	+	+	-	NR	46,XY, Ph+, Hiperdiploidias 20%, Rompimientos 39%
10	M2	+	+	+	NR	46, XY, Aneuploidias 20%
11	M3	-	-	-	NR	46, XX, Ph+
12	M3	+	+	+	NR	46, XX, Hiperdiploidias 17%, Hipodiploidias 13%
13	M3	-	+	-	+	46, XX, Hiperdiploidias 16%
14	M4	-	+	+	-	46, XX, Ph+
15	M4	+	+	+	NR	46,XX, Ph+
16	M4	+	+	-	NR	46, XY
17	M4	-	+	-	NR	46, XY, Hiperdiploidias 9%
18	M5a	+	-	-	NR	46, XY

SM= Sin mitosis.

Ph+= Cromosoma filadelfia +

NR= No realizado

VIII.- DISCUSION.

En este estudio retrospectivo se revisó el período comprendido entre el 1 de enero de 1988 al 30 de junio de 1992. El material obtenido fue del archivo clínico y del laboratorio de hematología y citogenética. Se han recogido toda una serie de datos que han permitido conocer el perfil clínico de los pacientes con LA atendidos en el Instituto Nacional de Cancerología con respecto a los hallazgos de biometría hemática completa y estudios bioquímicos, variedad citológica (Clasificación FAB), inmunofenotipo y hallazgos citogenéticos.

A.- LEUCEMIA AGUDA LINFOIDE (LAL).-

La edad y el sexo son considerados como factores pronósticos. Algunas series han reportado una edad media de 30 años para pacientes adultos con LAL. Esto comparado con lo obtenido en este estudio es similar. La razón de diferentes pronósticos según la edad no se conoce, lo que está probado es que la duración de la remisión completa disminuye a medida que la edad aumenta. En cuanto al sexo otros estudios han demostrado que los varones tienen un mayor riesgo de recidiva precoz (69).

La insuficiencia en la hematopoyesis normal es la consecuencia más grave de las leucemias agudas (4). Los problemas médicos más importantes son anemia, infección, episodios de sangrado que ocurren como hemorragias, petequias o equimosis debido a trombocitopenia, dolor óseo por la expansión de la médula y pérdida de peso (70). Aunque la enfermedad se origina en la médula ósea, las células pueden infiltrarse en cualquier tejido corporal, en especial bazo, hígado y ganglios linfáticos. En nuestra serie se comprueba esto, ya que 17 (73.9%) pacientes presentaron ictericia, 4 (17.4%) casos linfadenopatía, 13 (56.5%) hepatomegalia, 8 (34.8%) esplenomegalia, y 10 (43.4%) hemorragias. Llama la atención la alta positividad para ictericia y hepatomegalia y que ésta sea más frecuente que la adenopatía y la esplenomegalia.

Las células leucémicas en 21 casos fueron mieloperoxidas negativa, en dos pacientes no se realizó esta tinción y la reacción a PAS resultó positiva en todos los casos. De acuerdo a la clasificación FAB (9,16), el 21.7% de los pacientes fueron LAL-L1, 69.7% de los casos LAL-L2, y el 4.3% de los pacientes fue LAL-L3 y un caso fue identificado como LAL indiferenciada. Esta distribución es similar a otros reportes, siendo más frecuente la LAL-L2 (50-60%) en la población adulta (16).

Nuestro estudio encontró que la variedad más frecuente es la LAL-Común (82.6%) y la menos frecuente la LAL-T (4.3%). Cuando comparamos estos resultados de la clasificación inmunológica con dos estudios uno realizado en Puebla (México) y otro en Francia (71-73), tuvimos interesantes diferencias (tabla 18): La prevalencia de LAL-T en Puebla y lo reportado en este estudio es mucho menor que lo reportado en Francia: 7.4% y 4.3% versus 15.6% respectivamente. Curiosamente las LAL-B son más frecuentes en el estudio realizado en Puebla (México) que en nuestro estudio y en otros países. Estas diferencias no tienen una clara explicación pero pueden deberse a diferencias de raza y/o prevalencia de infección por retrovirus de tipo del HTLV-I y HTLV-II, implicados en la etiología de neoplasias linfoproliferativas de estirpe T (69). De hecho, es posible aplicar el término de "Hematología geográfica", introducido por Jean Bernard hace algunos

años (74), en que se refiere a las diferencias geográficas y/o raciales en la prevalencia de diversos padecimientos hematológicos.

TABLA 18.- DISTRIBUCION PORCENTUAL DEL FENOTIPO INMUNOLOGICO DE LAS LEUCEMIAS LAL EN PUEBLA (MEXICO) Y FRANCIA, COMPARADOS CON LOS RESULTADOS DE ESTE GRUPO.

	ADULTOS		
	FRANCIA (66)	PUEBLA (67)	ESTE ESTUDIO
Número de casos	32	68	23
SUBTIPO DE LAL	(%)	(%)	(%)
LAL-Común	59.4	55.8	82.6
LAL-Nula	17.0	23.5	4.3
LAL- T	15.6	7.4	4.3
LAL-B	0.0	13.2	8.6

Según las series consultadas aproximadamente entre el 70 y 94% de los casos con LAL presentan rearrreglos cromosómicos numéricos y estructurales demostrables (31). En la LAL-L2 existen con mayor frecuencia alteraciones numéricas de tipo hipodiploide y más escasas hiperdiploidias, mientras que el 20% de los casos del subgrupo L1 presentan hiperdiploidias, con un número modal de cromosomas mayor de 50. En LAL-L3 la anomalía más común es la pseudodiploidia (69%) que se asocia con un pronóstico desfavorable (menos de 12 meses de supervivencia en los adultos) (30). Nosotros obtuvimos únicamente 3 pacientes (13.0%) con hiperdiploidias. Una de las cosas que nos llaman la atención es que en 6 pacientes (26.1%), el análisis no reveló la presencia de clonas anormales. Es interesante también que en 11 pacientes (47.8%) no se haya obtenido material analizable, lo que pudiera ser producto de la metodología (63). La mayoría de los autores descartan las leucemias de las que no obtienen un cultivo con mitosis ya que no es posible analizar estos casos, a pesar de tratarlos con mitógenos y agentes que elongan los cromosomas, sin embargo en este estudio fueron tomados en cuenta.

Las alteraciones numéricas y estructurales son importantes para el diagnóstico y pronóstico de esta patología. La translocación t(1;19)(q23;p13), fue descrita por primera vez en 1984 por tres grupos independientes de investigadores. La translocación t(4;11)(q21;q23) se ha visto frecuentemente en pacientes con LAL bifenotípica (5-10%) (30). En nuestra población no se encontró ninguna de estas translocaciones; la alteración estructural más frecuente en nuestros pacientes fue la presencia de cromosoma Filadelfia (Ph +) siendo el porcentaje global de (17.3), de estos casos, 3 pacientes (13%) presentaron únicamente la presencia de Ph(+), y un caso (4.3%) asociada a hiperdiploidia. El porcentaje del marcador Filadelfia en células de pacientes con LAL es de 15-20% de los casos, nuestro reporte es similar con respecto a lo visto por otros autores.

Algunas de estas aberraciones se asocian con un inmunofenotipo y una morfología distintivas, lo que ha permitido establecer la clasificación MIC de la LAL (39). Es así como la translocación t(1:19) ha sido

asociada con la LAL-L1 y con el fenotipo pre-B principalmente en población infantil (70). El porcentaje actual de estos casos no se conoce, no obstante algunos autores han reportado un número pequeño de niños con esta combinación (71). Asimismo, se ha descrito la translocación t(8;14) con morfología LAL-L3 e inmunofenotipo LAL-B (73). En cuanto a la categoría inmunológica de LAL-T el sistema MIC define dos grupos, la LAL-precursor T- temprano y LAL-T, ambos pueden ser morfológicamente L1 ó L2 siempre que den reacción positiva a la fosfatasa ácida, se asocia con translocaciones t(10;14) ó t(11;14) en el 85% de los casos (38).

A pesar de que se tiene cierta información sobre la clasificación MIC, nuestra población presentó gran diferencia en cuanto a los reportes previos, salvo para la LAL-L2 con t(9;22) que se asocia con el inmunofenotipo de LAL-Común, esto corresponde al 13% de la población estudiada, el porcentaje de esta combinación MIC no se conoce, ya que esta asociación de LAL-L2 con t(9;22) puede ser inmunológicamente pre-B ó precursor B- temprano (38 y 72). Esta translocación también ha sido asociada ocasionalmente a la LAL-T (76). Aunque en adultos con LAL, el marcador Filadelfia se presenta en aproximadamente de 15-20% de los casos, la morfología con Ph(+) ha correspondido mayormente a LAL-L2, los casos son compatibles con células inmaduras "B".

B.- LEUCEMIA AGUDA MIELOIDE.

La leucemia aguda mieloide ha sido caracterizada como una alteración de personas adultas (62); en nuestra población la edad media de los 18 pacientes estudiados fue de 30 años (mediana: 36; rango: 16-76); en un estudio realizado en los Estados Unidos, la edad media de los pacientes fue 66 años, sin embargo en otro estudio de 154 pacientes la edad media fue de 41.5 con un rango de 15- 64 años, (53 y 56), nuestros pacientes tienden a ser más jóvenes que en las dos serie mencionadas. No hay diferencia en cuanto a incidencia en ambos sexos.

La insuficiencia en la hemopoyesis normal es la consecuencia más grave. Esplenomegalia, hepatomegalia y linfadenopatía ocurren más o menos en el 50% de los pacientes al tiempo del diagnóstico (4). En nuestro análisis 11 (61.1%) pacientes presentaron hepatomegalia y esplenomegalia, lo que es similar a lo reportado por otros autores, excepto para linfadenopatía ya que únicamente 4 (22.2%) de nuestros pacientes presentaron crecimiento ganglionar. Llama la atención que la ictericia y hepatomegalia sean positivas en tan alto porcentaje. También que la esplenomegalia sea más frecuente que en las leucemias agudas linfoides.

Aunque el término de leucemia implica una cuenta elevada de leucocitos, algunos pacientes presentan cifras normales o bajas de células blancas en sangre periférica al diagnóstico (4). Nuestros pacientes presentaron un rango amplio que oscila entre (1.2-400.0 cel x10⁹/l) con una cuenta media de 68.2 cel x 10⁹/l. Algunos autores han tomado en consideración la cuenta leucocitaria como un factor pronóstico (20), nosotros no dividimos la población en grupos de riesgo, debido al pequeño número de pacientes analizados. La mayoría de los casos presentaron anemia y plaquetopenia al momento del diagnóstico, mientras que la DHL, TGO y la TGP presentaron cifras elevadas. La cuantificación de la DHL puede ser considerada como parámetro pronóstico, pero no como marcador biológico de LAM.

El diagnóstico de LAM, se realiza con el estudio morfológico y citoquímico de la sangre y médula ósea, al encontrar blastos leucémicos de estirpe mieloide y la ausencia de hemopoyesis normal. En este estudio se obtuvo un paciente en el subgrupo M1 (5.6%), 9 pacientes en M2 (50%), 3 pacientes en M3 (16.7%), 4 pacientes en M4 (22.2%) y un paciente en M5a (5.6%). Las reacciones citoquímicas de mayor importancia para el diagnóstico fueron mieloperoxidasa positiva en el 80% de los casos y α naftol acetato esterasa en el 20%. En dos pacientes no se realizó citoquímica pero morfológicamente correspondieron a LAM y un paciente dio reacción negativa para MPO y ANAE. Los reportes de otros autores, son similares a lo encontrado en este estudio, siendo más frecuentes los subtipos de LAM-M2 y M3 (19-21).

El uso de marcadores inmunológicos para caracterización de subtipos en LAM se ha investigado menos que en LAL. Sin embargo nosotros empleamos un panel de 8 anticuerpos monoclonales, de los cuales únicamente el CD13, CD33, CD14, y el HLA-D/DR fueron empleados para identificar LAM y distinguirlos de las formas de LAL (72-73). En este estudio de los 18 pacientes con LAM, el 77.7% resultaron positivos para el marcador CD13 (77.7%). De éstos, el 44.4% fueron LAM-M2, 22.2% a LAM-M4 y el 11.1% a LAM-M3. Según diversos autores este marcador reacciona con la mayoría de las LAM-M1 a M5 siendo el porcentaje variable.

La citogenética puede ayudar a determinar el pronóstico y tratamiento de pacientes con LAM, independientemente de otros factores. Entre las translocaciones más frecuentes en LAM esta la t(8;21) y la t(15;17), en este estudio no se obtuvo ninguna de estas translocaciones quizás por el número tan pequeño de pacientes. Sin embargo el 33.2% de nuestros casos presentaron cromosoma Ph(+), cabe mencionar que en la literatura se reporta que los casos Ph(+) en la población adulta es de 5-10%, por lo que nuestro porcentaje fue más alto. En este grupo de pacientes hubo dos en los que no se pudieron analizar mitosis, lo cual es bastante aceptable en comparación a los casos de LAL que fueron 11 pacientes. Cinco pacientes (27.7%) presentaron hiperdiploidías con rompimientos cromosómicos, este porcentaje es similar a lo que se reporta en la población adulta con alteraciones numéricas y estructurales.

Finalmente al integrar estas tres variables, 9 pacientes con LAM-M2 (50%), presentaron marcadores de superficie para CD13(44.4%), CD 33(27.7%), y HLA-D/DR (38.8%) y presencia de cromosoma Filadelfia en 3 (16.6%) de los casos. La asociación de LAM-M2 con cromosoma Filadelfia es de 5-10% de los pacientes, nuestro porcentaje es comparable puesto que únicamente se presentó en 3 pacientes esta asociación. Llama la atención que esta translocación fue encontrada tanto en un paciente con LAM-M3 (5.5%) sin reacción inmunológica a CD13, como en dos pacientes con LAM-M4 (11.1%) con reacción inmunológica positiva para CD13, CD33, y HLA-D/DR. Sin embargo la asociación entre los subtipos de la FAB y los diversos fenotipos han sido intensamente investigados: CD14 y CD33 han sido asociados con LAM de subtipo monocítico, CD34 aparentemente ha sido detectado principalmente en M0 y M1, así mismo la falta de expresión de HLA-DR se ha reportado en la mayor parte de los subtipos de LAM-M3 (76). La translocación t(8;21) está asociada con la LAM-M2, en aproximadamente el 9% de los casos (47); siendo más común en niños (14%) que en adultos (6%). La translocación t(15;17) está presente en la gran mayoría de los pacientes con LAM-M3 y M3 variante, que representan el 9% de los casos. Algunos estudios han demostrado una carencia de correlación entre los marcadores de superficie mieloide y la morfología de las células blásticas (75) y este estudio en pacientes adultos parece estar de acuerdo con estos últimos autores.

IX.- CONCLUSIONES

* Desde nuestro punto de vista, el estudio morfológico y citoquímico es sencillo de llevar a cabo tanto en LAL como en LAM y nos ayuda para el diagnóstico en más del 90% de los casos.

* El inmunofenotipo ayuda a hacer la distinción entre LAM y LAL en un pequeño porcentaje de los pacientes; sin embargo en LAL nos brinda mejor conocimiento acerca del estadio de diferenciación de la célula.

* En nuestro estudio tuvimos 47.8% de casos con LAL que no presentaron mitosis en los cultivos, este porcentaje disminuyó a 11.1% para los pacientes con LAM.

* A pesar de que el número de pacientes es pequeño, en la LAL existe correlación entre L2/LAL-Común/Ph(+) en 3 de 12 pacientes (25%) y en la LAM se observó asociación de LAM-M2/CD13(+)/Ph(+) en 3 de 9 casos (33.3%).

* Se concluye que la clasificación MIC en las LA resultaría útil para conocer la distribución de los diversos marcadores en estas neoplasias en nuestra población, que parece tener algunas diferencias con las observadas por el grupo MIC.

* A nuestro juicio, en el momento actual, todo centro que tenga la infraestructura pertinente para llevar a cabo estos métodos deben adjudicar a toda Leucemia Aguda dos apellidos: FAB y MIC. En caso de no ser posible esto, sigue siendo válido utilizar sólo la clasificación FAB que está al alcance de todos.

* La clasificación MIC será en un futuro más útil cuando se preste mayor atención a la relación entre expresiones antigénicas, alteraciones cromosómicas y curso clínico, supervivencia, respuesta a la terapia y demás datos clínico-evolutivos: en suma, su éxito va a depender, como siempre, de la íntima colaboración entre el médico tratante y el laboratorio.

X.- REFERENCIAS.

1. - Bennett, J.H.: Two cases of disease and enlargement of the spleen in which death took place from the presence of porulent matter in the blood. *Edinburgh Med. Surg. J.*, 64: 413, 1845
- 2.- Virchow, R.: Weisses blut. *Frarierpis Notizen*, 36: 151, 1854
- 3.- Ebstein, W.: Veber die acute leukemie and pseudoleukemie, *Dtsch. Arch. Klin, Med.*, 44: 342, 1888 - 1889
- 4.- Henderson, E.S., and Gunz, F.W, (Eds); *Clinical Diagnosis in Leukemia*. 4 th Ed. New York, Grune and Stratton, 1983
- 5.- Sánchez Fayos J, Calabuig T, Sánchez Guilarte J, Bosch JM. Linfadenopatías clonales. *Medicine (5a. edición) 12: 53 - 58; 1982*
- 6.- Lilleyman JS, Hann IM, Stevens RF. The clinical significance of blast cell morphology in childhood lymphoblastic leukaemia. *Med Pediatr Oncol*, 14: 144- 197, 1986
- 7.- McDonald, G.A., Dodds, T.C., and Cruickshank, B., *Atlas of Haematology*. 4 th Ed. New York, Chiorchill Livingtone, 1978
- 8.- Woessner, S., La Fuente, R y Florensa, L. *La citología óptica en el diagnóstico hematológico*. Medicina (Barcelona), 1984
- 9.- Hunh, D.: Morphology, cytochemistry and ultra structure of leukemia cells with regard to the classification of leukaemias. *Recent Results Cancer Res.*, 93: 51, 1984
- 10.- Hernández Nieto L., y Rozman, C. *Biopsia Medular en la Clínica Hematológica*. Salvat Editores (Barcelona). 1980
- 11.- Den Ottolander, G.J., et al.: Megakaryoblastic leukemia (acute myelofibrosis): A report of three cases. *Br. J. Haematol*, 42: 9, 1979
- 12.- Bloomfield CD & Brunning RD: FAB M7: Acute megakaryoblastic leukemia. *Beyond morphology*. *Ann Intern Med*, 103: 450, 1985
- 13.- Shaw, M.T.: The cytochemimistry of acute leukemia: A diagnostic and pronostic evaluation. *Sem. Oncol.*, 3 (3): 219, 1976

ESTO ES UN
LIBRO DE
BIBLIOTECA

- 14.- Lilleyman JS, Britton JA, Sugden PJ, Hoyle BJ. Periodic acid Schiff reaction changes during the course of relapsing lymphoblastic leukemia. *Scand J Haematol*; 23: 30-32, 1979
- 15.- Yanagihara, E.T., et al.: Acute lymphoblastic leukemia with giant intra-cytoplasmic inclusions. *Am. J. Clin. Pathol.*, 74 (3): 345, 1980
- 16.- Gralnick HR, Galton DAG, Catovsky D, Sultan C&. Bennett JM: Classification of acute leukemia. *Ann Intern Med*, 87: 740, 1976
- 17.- Bennett, J.M., Catovsky, D., Daniel, M.T., Flandrin, G., Galton, D.A.G., Gralnick, H. & Sultan C. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. *Ann Intern Med.* 103, 406 - 462, 1985
- 18.- Bennett, J.M., Catovsky, D., Daniel, M.T., Flandrin, G., Galton DAG., Gralnick, H. & Sultan, C. Proposals for the classification of the acute leukemias. *Br. J. Haematol*, 33, 451 - 458, 1976
- 19.- Bennett, J.M, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Greneck HR, Sultan C. The morphologic classification of acute lymphoblastic leukemia: concordance among observers and clinical correlation. *Br. J. Haematol*; 47: 553-561, 1981
- 20.- Van Rhenen, DJ., Verhulst, JC., Huijgens, P.C., and Langenhuijsen, M.M.A.C.: Maturation Index: A contribution to quantification in the FAB classification of acute leukemia. *Br. J. Haematol*, 46: 581, 1980
- 21.- Champlin R, Gale RP. Acute myelogenous leukemia: recent advances in therapy. *Blood*, 69: 1551-62, 1987
- 22.- Bennett, J.M., Catovsky, D., Daniel, M.T., Flandrin, G., Galton, D.A.G., Gralnick, H. & Sultan, C. Criteria for the diagnosis of acute leukemia of megakaryocyte lineage. *Ann Intern Med.* 103, 626 - 629 1985
- 23.- Bennet JM, Catovsky D, Daniel M.T., et al. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML- M0). *Br J Haematol*; 78: 325- 329, 1991
- 24.- Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* 132: 1497. 1960
- 25.- Fenaux P, Preudhome C, Lai JL, Morel P, Banters F. Cytogenetics and their prognostic value in the novo acute myeloid leukaemia: a report on 283 cases. *Br. J Haematol* 73: 61- 67, 1989
- 26.- Maurer J, Janssen JWG, Threl E, van Denderen J, Ludwig WT, Aydemir U, Heinze B, Fonatsch C, Harbott J, Reiter A, Riehm H, Hoelzar D, Bartram CR: Detection of chimeric BCR- ABL genes in acute lymphoblastic leukaemia by the polymerase chain reaction. *Lancet* 337: 1055, 1991

- 27.- Saglio G, Guerrasio A, Rosso C, Lo Coco F, Frontani M, Annino L, Mandelli F: Detection of Ph (+) positive acute lymphoblastic leukemia by PCR. *Lancet* 338: 958, 1991
- 28.- Cortes F. Bando de cromosomas. Investigación y ciencia (edición en español de Scientific American), vol 97: 20 - 29, 1984
- 29.- Helenglass Gilla, Testa R.J., Schiffer A. Philadelphia Chromosome- Positive Acute Leukemia: Morphologic and Clinical Correlations. *Am J Haematol.* 25: 311 - 324. 1987
- 30.- Yunis J Jorge, Brunnig D Richard. Prognostic Significance of Chromosomal Abnormalities in Acute Leukaemias and Myelodysplastic Syndromes. *Clinics Haematol*, Vol 15, No. 3: 597 - 620, 1986
- 31.- Rowley JD, Golomb HM, Dougherty C: t (15;17) translocation, a consistent chromosomal change in acute promyelocytic leukemia. *Lancet* 1: 549, 1977
- 32.- Hayashi Y, Sugita K, Nakazawa S, Abe T, Kojima S, Inaba T, Hanada R, Yamamoto K. Karyotypic patterns in acute mixed lineage leukemia. *Leukemia* 4: 121 - 126, 1990
- 33.- Foon KA, Schroff R, Gale RP. Surface markers on leukemia and lymphoma cells. *Recent advances. Blood*, 60: 1 - 19; 1982
- 34.- Poncelet P. Carayon P: Cytofluorometric quantification of cell-surface antigens by indirect immunofluorescence using monoclonal antibodies. *J. Immunol. Methods* 85: 65- 74, 1985
- 35.- Campos L, Guyotat D, Archimbaud E, Devaux Y, Treille D, Larese A, Maupas J, Gentilhomme O, Ehram A, Fiere D: Surface marker expression in adult acute myeloid leukaemia: Correlations with initial characteristics, morphology and response to therapy. *Br J Haematol* 72: 161, 1989
- 36.- Immamura N& Kuramoto A. Acute unclassifiable leukaemia in adults, demonstrating myeloid antigens and myeloperoxidase proteins. *Br J Haematol.* 69, 427- 428, 1988
- 37.- Greaves MF, Chan LC, Furley AJ, Wat SM, Molgaard HV. Lineage promiscuity in hemopoietic differentiation *Leukemia*; 67: 1 - 11, 1986
- 38.- Morphologic, Immunologic and Cytogenetic (MIC) working classification of acute lymphoblastic leukemias. Report of Workshop held in Leuven, Belgium. First MIC Cooperative Study Group. *Cancer Genet Cytogenet* 189 - 197; 1986
- 49.- Morphologic, Immunologic and Cytogenetic (MIC) working classification of the acute myeloid leukemias. Report of the Workshop held in Leuven, Belgium. September 15 - 17, 1986. Second MIC Cooperative Study Group. *Cancer Genet Cytogenet*, 30: 1 - 15; 1988

- 40.- Meeting report. Morphologic, Immunologic and Cytogenetic (MIC) working classification of acute myeloid leukaemia. Br. J. Haematol; 68: 487 - 494; 1988
- 41.- Viana MB, Baurer HS, Farenc C: Subclassification of acute lymphoblastic leukemia in children: analysis of the reproducibility morphological criteria and prognostic implications. Brit J. Haematol: 44; 383, 1980
- 42.- Champlin, R.: Gale, R.P.: Acute lymphoblastic Leukemia. Recent advances in biology and therapy. Blood; 73, 2052-66, 1989
- 43.- Bollo. F.J.: Terminal deoxynucleotidyl transferases as a hematopoietic cell marker. Blood, 54 : 1203, 1979
- 44.- Greaves, M.F., Janossy, G., Peto, J., and Kay, H.: Immunologically defined subclasses of acute lymphoblastic leukemia in children: their relationship to presentation features and prognosis. Br. J Haematol., 48: 179, 1981
- 45.- San Miguel JF, González M, Caballero MD, Moru MJ, Prieto M, Moraloda JM, Tamagnini G & López Borrasca A: Fenotipos inmunológicos de las leucemias linfoblásticas agudas y sus correlaciones clínico-biológicas. Sangre, 29: 849 1984
- 46.- Carroll AJ, Christ WM, Parmley RT, Roper M, Cooper MD, Finley WH: Pre- B cell leukemia associated with chromosome translocation (1;19). Blood 63: 721, 1984
- 47.- Crist. W. Boyett J, Roper M, Pullen J, Metzgar R, Van Eys J, Ragab A, Starling K, Vietti T & Cooper M (1984) PRE - B cell leukemia responds poorly to treatment: a pediatric Oncology Group study. Blood; 63, 407 - 417 ,1984
- 48.- Sobol, R.E.: Adult acute lymphoblastic leukemia phenotypes defined by monoclonal antibodies. Blood, 65: 730, 1985
- 49.- Gallo RC & Blattner WA: Human T-Cell leukemia lymphoma viruses: ATL and SIDA. En De Vita VT, Helmans Rosenberg SA (Editores). Important advances in Oncology, Philadelphia, Lippincott, 104, 1988
- 50.- Ching-Han P, Raimond, CS. Dodge KR, et al. Prognostic importance of structural chromosomal abnormalities in children with hyperdiploid (>50 chromosomes) acute lymphoblastic leukemia. Blood: 73: 1963- 67, 1989
- 51.- Sandberg A, Avery. The chromosomes in Human Leukemia. Semin Haematol vol. 23, No. 3 (july) pp 201- 217, 1986
- 52.- Testa R Joseph, Misawa Shinichi. En el libro: Chromosome changes in Leukemia Cap 11, 159- 183

- 53.- Catovsky D, Matutes . The classification of acute leukemia. *Leukemia*; 6 (Suppl.2): 1-6, 1992
- 54.-Fenaux P, Lai JL, Morel P, Nelken B, Taboureau O, Deminatti M & B. F. Cytogenetics and their prognostic value in childhood and adult acute lymphoblastic leukemia (ALL) . *Haematology Oncology*, 7, 307-317, 1989
- 55.- Kristensen JS, Hokland P: Monoclonal antibody ratios in malignant myeloid diseases. Diagnostic and prognostic use in myelodysplastic syndromes. *Br. J Haematol* 74: 270, 1990
- 56.- Pompo de Oliveira M, Matutes E, Rani S, Morilla R & Catovsky D. Early expression of MCS2 (CD13) in the cytoplasm of blast cells from acute myeloid leukaemia. *Acta Haematologica*, 80, 61- 64, 1988
- 57.- Morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification of the acute myeloid leukaemias. *Br. J. Haematol* 68: 487, 1988
- 58.- Griffin JD, Davis R, Nelson OA, Davey FR, Mayer RJ, Schiffer C, McIntare OR, Bloomfield C: Use of marker analysis to predict outcome of adult acute myeloblastic leukemia. *Blood* 68: 1232, 1986
- 59.- Rowley JD. Recurring chromosome abnormalities in leukemia and lymphoma. *Semin Hematol*, 27: 122 - 136.1990
- 60.- Yunis, J.J., Lobell, M., Arnesen, M.A., et al (1988). Refined chromosome study helps define prognostic subgroups in most patients with primary myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukaemia. *Br. J Haematol*, 68, 189- 194.
- 61.- Michael Averbach, M.D., Baltimore, Maryland. Acute Myeloid Leukemia in patients more than 50 years of age: Special considerations in diagnosis, treatment, and prognosis. *American Journal of Medicine*. Vol 96, 1994
- 62.- Clarke, A.A., Coleman, S.J., Prall. A. and Wootton, I. D.P. Data processing in pathology laboratories: the extension of the Phoenix System into haematology. *Clinical and laboratory haematology*, 2,63, 1980
- 63.- Kaplow, L.S: Simplified myeloperoxidase stain using benzidina dihydrochloride. *Blood* 26: 215. 1965
- 64.- Hayhoe, F.G.J., Quaglino, D., and Doll, R.: The cytology and cytochemistry of acute leukaemias. *Clin. Haemol*. 1: 49, 1972
- 65.- Li, C.Y., Lam, K.W. and Yam, L.T (1973). Esterases in human leukocytes. *J. of Histochemistry and Cytochemistry*, 21, 1. 1973
- 66.- Eli Benjamini, Sidney Leskowitz, Wiley-Liss. *Immunology: A Short Course Second Edition*: 122-123. 1991

- 67.- Morrhead, P. et al. Chromosome Preparations of Leukocytes cultured from Human Peripheral Blood. *Exptl Cell Research*. 20: 613-616, 1960
- 68.- Wang HC, Fedoroff S. Banding in human chromosomes treated with trypsin. *Nature New Biol*; 253: 52-4. 1972
- 69.-- Carrasco-Delgado FL: La leucemia aguda linfoblástica del adulto clasificada de acuerdo a la FAB. Revisión de 6 años. Tesis profesional para obtener el grado de Especialista en Hematología. División de Estudios Superiores. Facultad de Medicina. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. Universidad Nacional Autónoma de México 1982.
- 70.- Ries LAG, Hankey BF, Miller BA, et al. Cancer Statistics review 1973 - 1988. National Cancer Institute. NIH pub. No. 91 - 2789, 1991
- 71.- Ruiz- Argüelles GJ, Marín-López A, Ruiz-Argüelles A. Immunologic Classification of the acute non-granular leukemias in the city of Puebla, México: Its value in the diagnosis and prognosis. *Rev. Invest. Clín (Méx)*. 39: 143-147, 1987
- 72.- Ifrah N, Perrot JY, Marie JP, Rio B, Julien C, Madioum, Boucheix C & Zittoun R: Leucemias aigues non myeloides de l'adulte. Etudes des antigenes de membrane et de la terminal transferase. Valeur diagnostique et pronostique. *Press Med*, 14: 137, 1985
- 73.- Ruiz- Argüelles GJ, Marín-López A, Ruiz-Argüelles A, Valls de Ruiz M, Pérez-Romano B, Ruiz González DS. Estudio prospectivo de la clasificación inmunológica de 128 casos de leucemia aguda linfoblástica en la ciudad de Puebla, México. *Rev. Invest. Clín (Méx)* 39:137-142, 1987
- 74.- Bernard J: Esquisse d'une hematologic géographique. *Nouv Rev Fr Hematol*, 3; 51, 1963
- 75.- Matutes E, Rodriguez B, Polli N, Tavares de Castro J, Parreira A, Andrews C, Griffin JD, Tindle RW & Catovsky D. Characterization of myeloid leukemias with monoclonal antibodies 3C5 and My9. *Haematological Oncology* 3, 179- 186, 1985