



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

---

---

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA  
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD  
HOSPITAL GENERAL  
"DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA"

*CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y POR  
INMUNOFENOTIPO DE LA LEUCEMIA PROMIELOCITICA  
AGUDA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS EN UN  
HOSPITAL DE TERCER NIVEL*

## TESIS

QUE PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD EN:

**HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA**

**PRESENTA:**

**DRA. ABRIL MARCELA BALAM CANUL**

**ASESORA:**

**DRA. GABRIELA JAZMIN FERNANDEZ CASTILLO**



MÉXICO, D.F. NOVIEMBRE DE 2015



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.



**Dirección de Prestaciones Médicas**  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Coordinación de Investigación en Salud



"2015, Año del Generalísimo José María Morelos y Pavón".

**Dictamen de Autorizado**

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3502  
HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA, CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA, D.F. NORTE

FECHA 03/11/2015

**DRA. GABRIELA JAZMIN FERNANDEZ CASTILLO**

**P R E S E N T E**


Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

**Características Morfológicas y por Inmunofenotipo de la Leucemia Promielocítica Aguda en pacientes pediátricos en un Hospital de Tercer nivel**

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2015-3502-160

ATENTAMENTE

  
**DR.(A). GUILLERMO CAREAGA REYNA**  
Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3502

**IMSS**

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL



---

## **INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

**DIRECCION DE PRESTACIONES MEDICAS**

Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud

Coordinación de Investigación en salud

---

**DRA. LUZ ARCELIA CAMPOS NAVARRO**  
**DIRECTORA DE EDUCACION E INVESTIGACION EN SALUD**  
Unidad Médica de Alta Especialidad “Dr. Gaudencio González Garza”  
Centro Médico Nacional “La Raza”

---

**DRA. ELVA JIMENEZ HERNANDEZ**  
**PROFESORA TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACION EN HEMATOLOGIA PEDIATRICA**  
**UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD**  
“Dr. Gaudencio González Garza” Centro Médico Nacional “La Raza”

---

**DRA. GABRIELA JAZMIN FERNANDEZ CASTILLO**  
**ASESOR TEMATICO PRINCIPAL DE TESIS**  
**MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE HEMATOLOGIA PEDIATRICA**  
**UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD**  
“Dr. Gaudencio González Garza” Centro Médico Nacional “La Raza”

---

**DRA. NORA NANCY NUÑEZ VILLEGAS**  
**ASESOR METODOLOGICO DE TESIS**  
**MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE HEMATOLOGIA PEDIATRICA**  
**UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD**  
“Dr. Gaudencio González Garza” Centro Médico Nacional “La Raza”

---

**DRA. GABRIELA JAZMIN FERNANDEZ CASTILLO**  
**INVESTIGADOR ASOCIADO**  
**M EN C. JUANA WENDY AGUILERA VALERA**  
**JEFA DEL LABORATORIO DE HEMATOLOGIA ESPECIAL**  
**UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD**  
“Dr. Gaudencio González Garza” Centro Médico Nacional “La Raza”

---

**DRA. ABRIL MARCELA BALAM CANUL**  
**RESIDENTE DE 2º AÑO DEL**  
**CURSO DE ESPECIALIZACION EN HEMATOLOGIA PEDIATRIA**

### **Investigador Responsable**

Dra. Gabriela Jazmín Fernández Castillo.  
Médico Adscrito al Servicio de Hematología Pediátrica  
Unidad Médica de Alta Especialidad. Hospital General CMN La Raza.  
Tel: 5541906577  
gaby2573@hotmail.com

### **Investigador Asociado**

Dra. Abril Marcela Balam Canul.  
Médico Residente de la Especialidad de Hematología Pediátrica.  
Unidad Médica de Alta Especialidad. Hospital General CMN La Raza  
Tel: 9992420742  
abrilbc@gmail.com

### **Servicios Participantes**

Hematología Pediátrica  
Laboratorio de Hematología Especial.

## **INDICE**

Antecedentes.....	1
Planteamiento del problema.....	5
Justificación.....	6
Objetivos.....	7
Materiales y métodos.....	8
Resultados.....	13
Discusión.....	18
Conclusiones.....	20
Referencias bibliográficas.....	21
Anexo 1.....	23

## RESUMEN

Características Morfológica y por Inmunofenotipo de la Leucemia Promielocítica Aguda en pacientes pediátricos en un Hospital de Tercer nivel.

**Introducción.** La Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA) representa un grupo de alteraciones clonales de la célula madre hematopoyética, en las cuales hay falla para la diferenciación, así como sobreproducción de éstas, lo que lleva a acumulación de células no funcionales. La Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) es un subtipo bien conocido de estas leucemias con diferenciación, características clínicas y biológicas como la presentación hipergranular que es la más frecuente (80%) con una variante M3v microgranular (20%); se ha reportado mayor frecuencia en países de origen latino. La presencia de la translocación t(15;17)(q22;q12) resultado de la fusión de los genes PML-RAR $\alpha$ .

**Objetivo:** Determinar las características por morfología y por inmunofenotipo de los pacientes con Leucemia Promielocítica Aguda en pacientes pediátricos de un Hospital de tercer nivel en la Ciudad de México.

**Diseño:** Se realizó un estudio observacional, descriptivo, retrospectivo, transversal.

**Material y Método.** Se incluyeron los expedientes de pacientes menores de 16 años de edad, con diagnóstico de LPA, diagnosticados y tratados en esta unidad, en el periodo comprendido entre el 1 de enero de 2009 al 31 de diciembre del 2013.

**Análisis estadístico.**

Se utilizó estadística descriptiva con cálculo de frecuencias simples, porcentajes y medidas de tendencia central y dispersión.

**Resultados:** Se incluyeron en el estudio 16 pacientes con diagnóstico de Leucemia Promielocítica Aguda. Se eliminó 1 paciente del estudio por falta de reporte de Inmunofenotipo, se eliminaron 4 pacientes del estudio ya que el reporte de inmunofenotipo no corresponde al diagnóstico de Leucemia Promielocítica Aguda. De los 16 pacientes incluidos en el estudio, 68.75% se encontró en el rango de 11 a 15.9 años, 18.75% en el rango de 6 a 10 años y 12.5% se encontró en el rango de 0 a 5 años. El género masculino correspondió al 37.5% (n=6) y el 62.5% (n=10) al género femenino. En el 93.75% (n=15) se observó la variante clásica con las siguientes características, se encontró 6.25%, que correspondió a un solo paciente con morfología de variante hipogranular. El marcador CD45 y anti-MPO se expresaron positivos en el 100% de los casos, el marcador CD13 se reportó positivo en 93.73% de los pacientes (n=14), el marcador CD33 se reportó positivo en 87.5% (n=13) y negativo en 12.5% de ellos (n=2) con diagnóstico de variante Clásica. La expresión positiva del marcador CD117 correspondió a 12 pacientes (75%) y negativo en 3 pacientes (18.75%). El marcador CD10 se expresó negativo en el 100% de los casos. El marcador HLA-DR se expresó negativo en el 100% de los casos. Encontramos el perfil inmunofenotípico CD13(+), CD33(+), CD 117(+/-) y falta de expresión de HLA-DR(-), CD34(-) en el 80% (n=12) de los casos de la variedad clásica y en la variedad hipogranular el patrón CD34 (+/-), CD13(+), CD33 (+), CD117 (+) y HLA-DR (-). La evaluación citoquímica reporta en 100% (n=16) de los pacientes MPO intensamente positiva, PAS negativa en 100% (n=16) pacientes, Esterasa positiva en 37.5% (n=6) pacientes y negativa en 62.5% (n=10), fosfatasa ácida positiva en 37.5% (n=6) pacientes y negativa en 62.5% (n=10).

**Conclusiones:** El Servicio de Hematología Pediátrica de la UMAE del Hospital General del CMN La Raza la Leucemia Promielocítica Aguda tiene un porcentaje de presentación

del 21% de todas las leucemias mieloblásticas igual a lo descrito en la literatura a nivel mundial. El rango de edad observado en esta investigación coincide con predominio en adultos jóvenes y niños mayores de 10 años. La morfología del tipo variante clásica fue más frecuentemente encontrada, con un perfil inmunofenotípico característico y homogéneo. El análisis de inmunofenotipo por citometría de flujo puede facilitar el estudio y el diagnóstico oportuno de la LPA, es altamente sensible (100%) si se utiliza un panel de screening específico, tiene una correlación con la morfología en la variedad clásica y por lo tanto es útil para el inicio del tratamiento con ATRA, ya que la mortalidad es muy alta en estos pacientes por fenómenos hemorrágicos. En la variedad hipogranular, probablemente el inmunofenotipo no sea tan sensible o específico por la heterogeneidad que puede encontrarse. De acuerdo a este estudio la prevalencia de esta variedad es menor en niños que en adultos. Por lo tanto se debe realizar aspirado de médula ósea, frotis de sangre periférica citometría de flujo, citogenética y biología molecular a todos los pacientes con sospecha de LMA para su adecuada clasificación. La prueba de FISH para la detección del gen PML-RAR se debe realizar en los pacientes con LPA para un diagnóstico temprano y son necesarios para poder establecer un pronóstico y evaluar una respuesta a largo plazo. Y por último, este estudio podría ser utilizado como precedente para futuras investigaciones, incluyendo el uso de inmunofenotipo como factor pronóstico para pacientes con LPA.



## ANTECEDENTES

La Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA) representa un grupo de alteraciones clonales de la célula madre hematopoyética, en los cuales hay tanto falla para la diferenciación, así como sobreproducción de éstas, lo que lleva a acumulación de células no funcionales llamadas mieloblastos. Involucra un número heterogéneo de enfermedades que difieren en sus características clínicas, pronóstico y de respuesta a tratamiento<sup>1</sup>. La LMA se produce por una mutación somática en una célula troncal hematopoyética o en una célula algo más diferenciada.

La Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) es un subtipo bien conocido de leucemia mieloblástica aguda con diferenciación, predominio de promielocitos anormales, características clínicas, citológicas, inmunofenotípicas, genéticas y biológicas que incluyen la presencia de la translocación t(15;17)(q22;q12) resultado de la fusión del gen PML en el cromosoma 15 con el gen RARa en el cromosoma 17; es particularmente agresiva por su evolución hiperaguda y marcada por una coagulopatía potencialmente fatal. Constituye una neoplasia única, que con tratamientos dirigidos podría alcanzar la curación, sin exposición a quimioterapia citotóxica.<sup>2</sup>

La Leucemia Promielocítica Aguda, constituye el 6-8% de todos los casos de LMA en adultos en Estados Unidos y 20-25% de todos los casos en América Latina. La edad media del diagnóstico es de 7 a 9 años. Raramente se presenta en pacientes menores de 1 año . Representa 5-10% de las LMA pediátricas en series internacionales.

La presentación clásica hipergranular es la más frecuente (80-85%) y la microgranular (M3v) se presenta en aproximadamente 10-25% de los adultos con LPA y posiblemente en una fracción mayor en niños.

Dentro de la clasificación del grupo cooperativo Franco-Americano-Británico (FAB) corresponde a la M3 en la cual se determina con los siguientes criterios, la presencia de promielocitos anormales con granulación intensa. Núcleo variable, reniforme o bilobulado. El citoplasma de la mayoría de las células está ocupado por gránulos de color rojo, rosa o púrpura, presencia de bastones de auer en más de 50% y M3v (variante hipogranular) en donde los gránulos están en el límite de la visibilidad. En la clasificación de la Organización Mundial de la Salud de 2008 integra el subgrupo de LMA con anomalías citogenéticas

recurrentes: LPA (LMA con t(15;17)(q22;q12); (PML/RAR $\alpha$ ) y variantes.<sup>3,4</sup>. La LPA es una neoplasia de muy rápida evolución, por lo general, los pacientes no desarrollan visceromegalias ni otros síntomas de infiltración, los signos y síntomas dependen de la diátesis hemorrágica e implica un alto riesgo de muerte. A diferencia de otras LMA, cuando los pacientes se presentan con recuentos leucocitarios superiores a 10,000/mm<sup>3</sup> son considerados “hiperleucocitarios”. En la variante microgranular, suelen presentar >50,000/mm<sup>3</sup> o superar los 100,000/mm<sup>3</sup>. La presentación frecuente incluye leucopenia, trombocitopenia y diátesis hemorrágica. Las complicaciones trombóticas son poco frecuentes, espontáneas o por procedimientos.<sup>5</sup>

Históricamente, el diagnóstico y la respuesta al tratamiento se han evaluado a través de criterios morfológicos y aunque son la herramienta inicial para el diagnóstico, en las últimas décadas ha adquirido importancia la utilización de Inmunofenotipo, realizado con citometría de flujo, así como los marcadores genéticos y moleculares, los cuales, además son de importancia para el pronóstico de estos pacientes. Tradicionalmente se realiza la identificación morfológica de células de leucemia, desafortunadamente un diagnóstico definitivo morfológico puede ser difícil en muchos centros hospitalarios, especialmente cuando se está frente a muestras inadecuadas de médula ósea o variantes morfológicas.

La morfología celular es evaluada en el extendido de médula ósea, observándose blastos promielocitoides, cuyo núcleo de forma arriñonada o bilobulado, suele estar oculto por gránulos muy prominentes, es frecuente la presencia de bastones de Auer que pueden disponerse en manojos (células Faggot).<sup>6</sup> En la variante M3v, la granulación pulverulenta en el límite de la visibilidad.<sup>7</sup>

Para facilitar el rápido diagnóstico de LPA, la citometría de flujo (CMF) ha sido ampliamente utilizada y extensamente estudiada y se ha convertido en un procedimiento rutinario para sangre periférica o médula ósea en los Estados Unidos para todas las patologías hematológicas malignas. El inmunofenotipo, evaluado por CMF: HLA-DR (-/+), CD13 (+/++) heterogéneo, CD33 (+++) homogéneo, CD117 (+/-), CD11b (-). A diferencia de los promielocitos normales el CD15 será de baja expresión (-/+). Puede existir una expresión aberrante de CD2. La expresión de CD56 tiene impacto pronóstico, junto a CD34, los cuales se observan más en la M3v. Fang Xu y colaboradores en 2014 demostraron que de forma consistente conforme a lo descrito en la literatura, el patrón de inmunofenotipo en la LPA

clásica presenta falta de expresión de HLA-DR, CD34- y CD117+CD13+CD33+, la expresión de CD64 es heterogénea, y su expresión junto con CD9 pueden facilitar el diagnóstico oportuno de LPA. El patrón de inmunofenotipo para LPA M3v (hipogranular) es CD34 parcialmente positivo, y altamente positivo para CD117+CD33+, HLA-DR negativo, CD13+, CD2+ pero tenuemente expresado.<sup>8,9</sup>

Considerando que las principales manifestaciones clínicas y complicaciones son las hemorrágicas y su asociación con coagulación intravascular diseminada (CID), debe realizarse perfil de tiempos de coagulación (TP, TT, TTPa) así como determinación de fibrinógeno y Dímero D. La citoquímicas incluyen mieloperoxidasa (MPO) intensamente positiva.

En la actualidad para el diagnóstico además de los anterior se requiere de estudio citogenético y molecular que puede ser por técnica de fluorescencia por hibridación in situ (FISH), reacción en cadena de polimerasa con transcriptasa reversa (RT-PCR) y/o anticuerpos monoclonales anti-LPA. Se encuentran cuatro translocaciones: t(15;17)(q22;q11-12), PML/RARa, t(11;17)(q23;q21), PLZF-RARA, t(11;17)(q13;21), NuMA-RARA y t(5;17)(q35;q21) NPM1-RARA.

La presencia de t(15;17) con la fusión de genes PML-RARa es considerado el pilar del diagnóstico de la LPA; Los rearrreglos citogeneticamente detectables son encontrados en un 70-80%, pero combinando la citogenética y la biología molecular, la t(15;17) se observa en un 90% de los casos de LPA<sup>10</sup>. El análisis de RT-PCR es el método más sensible y específico para identificar esta alteración. La fusión del gen quimérico PML/RARa es expresado en el 100% de los casos de la LPA con t(15;17)<sup>11</sup>

Ante la sospecha diagnóstica citomorfológica de Leucemia Promielocítica Aguda, es importante iniciar el tratamiento con ATRA (ácido trans-retinoico) sin demora junto con sostén hemoterapéutico (transfusión de plasma fresco congelado, aféresis plaquetaria, crioprecipitados) que consiste en corregir trombocitopenia y factores de coagulación deficientes<sup>12</sup>

Desde la introducción del ATRA (ácido trans-retinoico) como tratamiento de primera línea se ha considerado a la LPA como el subtipo de LMA con más posibilidades de curación. A pesar del gran avance en el tratamiento, la muerte temprana secundaria a hemorragia severa es uno de los mayores problemas de la LPA, la cual ocurre hasta en el 5-10% de los nuevos

casos diagnosticados. El tratamiento para las hemorragias que ponen en peligro la vida, asociadas a la coagulopatía diseminada requieren tratamiento inmediato con ATRA y el diagnóstico correcto debe considerarse como una urgencia médica en los pacientes con LPA que requieren un diagnóstico veloz, de preferencia en horas. <sup>13</sup>

En el 2009, Ibrahim FA y colaboradores reportaron las características clinicopatológicas en LPA en pacientes adultos, incluyeron 34 pacientes con LMA de los cuales 11 (32%) fueron LPA. 91% presentaron CID al diagnósticos.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En base a lo anterior se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuáles son las características morfológicas y por Inmunofenotipo de la Leucemia Promielocítica Aguda en pacientes pediátricos del Servicio de Hematología Pediátrica de la UMAE del Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” del CMN La Raza?

## **JUSTIFICACIÓN**

Dentro de la Leucemias Mieloblásticas Agudas, la Leucemia Promielocítica Aguda tiene una baja incidencia, pero mayor porcentaje de curación; esto gracias al uso temprano de ATRA junto con el tratamiento de soporte por lo que la sobrevida de estos pacientes ha mejorado notablemente. Debe ser considerada y tratada como una emergencia médica debido al alto riesgo de complicaciones hemorrágicas y muerte temprana, iniciando el manejo en las primeras 24 horas de diagnóstico o sospecha del mismo. No se cuenta hasta el momento con un estudio sobre la frecuencia de esta enfermedad y características morfológicas en población mexicana pediátrica, por lo cual consideramos factible la realización del mismo, ya que además en el servicio de Hematología Pediátrica contamos con Inmunofenotipo por Citometría de flujo y citoquímicas, que permiten el diagnóstico oportuno de estos pacientes, y en un futuro se espera poder tener integrado los estudios complementarios como la biología molecular y cariotipo los cuales tienen una alta sensibilidad y especificidad para la detección de la translocación lo que es necesario para dirigir el tratamiento ya conocido.

## **OBJETIVO GENERAL**

1. Determinar las características morfológicas y por Inmunofenotipo de la Leucemia Promielocítica Aguda en pacientes pediátricos de la UMAE del Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” del CMN La Raza del IMSS, diagnosticados del 1 de enero 2009 al 31 de Diciembre del 2013.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Identificar las características morfológicas de la Leucemia Promielocítica Aguda.
2. Identificar la frecuencia de cada inmunofenotipo de la Leucemia Promielocítica Aguda.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **DISEÑO DEL ESTUDIO**

El estudio es observacional, descriptivo, retrospectivo, transversal.

### **UNIVERSO DE TRABAJO**

Pacientes menores de 16 años de edad, con diagnóstico de Leucemia Promielocítica Aguda en el Servicio de Hematología Pediátrica de la UMAE del Hospital General. “Dr. Gaudencio González Garza” del Centro Médico Nacional La Raza del IMSS en el periodo comprendido entre 1 de enero de 2009 y 31 de diciembre del 2013.

### **MUESTRA**

Se Incluyó a los pacientes con diagnóstico de Leucemia Promielocítica Aguda del 1 de enero 2009 al 31 de diciembre del 2013. Por conveniencia.



## **CRITERIOS DE SELECCIÓN**

### **Criterios de inclusión**

1. Expedientes de Pacientes de 1 a 15.9 años de edad con diagnóstico de Leucemia Promielocítica Aguda de acuerdo a los criterios morfológicos de la FAB o de la clasificación de la OMS 2008, atendidos en el servicio de Hematología Pediátrica de la UMAE del Hospital General “Dr Gaudencio Gonzalez Garza” del CMN La Raza del IMSS en el período comprendido entre el 1 de enero del 2009 al 31 de diciembre del 2013.
2. Expedientes que tengan reporte de inmunofenotipo y aspirado médula ósea.

### **Criterios de exclusión:**

1. Expedientes de pacientes que no cuenten con información completa.
2. Niños mayores de 16 años.

### **Criterios de eliminación:**

1. No aplica todos los pacientes se incluirán en el análisis en el grupo original.

## DEFINICIÓN DE VARIABLES

Variable	Escala	Unidad de Medición	Definiciones conceptuales/operacionales
Inmunofenotipo	Nominal	Porcentaje	Expresión de antígenos citoplasmáticos o de membrana que pueden ser detectados por anticuerpos monoclonales permitiendo así la determinación de maduración y linaje. Porcentaje mayor a 20% del antígeno citoplasmático o de membrana.
Tinciones citoquímicas	Continua	Porcentaje	Tinciones recomendadas por el British Haematological Council: MPO, Esterasa, PAS. Positivo porcentaje mayor a 20%.
Mieloperoxidasa (MPO)	Nominal	Positiva/negativa	Enzima que en presencia de peróxido de hidrógeno oxida al clorhidrato de bencidina, pasando de su forma incolora a un derivado marrón que se localiza en el lugar de la enzima, en los gránulos azurófilos presentes desde el estadio de mieloblasto en todas las formas evolutivas de la serie mielóide. Positivo en células de estirpe granulocítica.
Esterasa específica cloroacetatoesterasa	Nominal	Positiva/negativa	Las esterases leucocitarias hidrolizan un éster derivado del naftaleno, entonces se libera un compuesto naftílico que se acopla rápidamente a una sal diazónica presente en la mezcla lo que produce un precipitado de color brillante en la zona de actividad enzimática o en sus proximidades. La reacción de la cloroacetatoesterasa, utilizando naftol AS-D cloroacetato como sustrato, es positiva en los neutrófilos y sus precursores y débil o negativa en monocitos y sus precursores y en otras células sanguíneas.
Reacción del ácido periódico de Schiff (PAS)	Nominal	Positiva/Negativa	Se basa en el principio de que el ácido periódico es un agente oxidante que convierte los grupos oxidrilo de los átomos de carbono adyacentes en aldehídos. Los aldehídos resultantes se combinan con el reactivo de Schiff, dando un producto de color rojo. Se observa un precipitado de color rojo púrpura intenso los polinucleares neutrófilos y otros elementos de la serie mielóide; los mieloblastos contienen solo pocos gránulos PAS-positivos.

## DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

1. El inicio del estudio fue a partir de la autorización por el Comité local de Investigación en Salud.
2. Se identificaron los nombres de los pacientes en la base de datos del Servicio de Hematología Pediátrica de la UMAE del Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” del Centro Médico Nacional La Raza del IMSS.
3. Previa autorización se revisaron los expedientes clínicos de los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión. Se identificó el diagnóstico inicial de LPA y subtipo corroborándolo con el reporte de aspirado de médula ósea.  
Para evaluar el frotis de médula ósea de una laminilla en la que se utilizó tinción de Wrigth, ésta se visualizó por tres observadores diferentes. Se revisaron los históricos de laboratorio para identificar inmunofenotipo e histoquímicas al diagnóstico; se vaciaron los datos obtenidos del mismo a una hoja de recolección de datos diseñada para el estudio. (Anexo 1): Nombre del paciente, edad, género, fecha de diagnóstico inicial de LPA y subtipo, inmunofenotipo y citoquímicas.
4. Todos los datos se registraron en una base de datos para su posterior análisis estadístico.

## PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Estadística descriptiva: Utilizando medidas de tendencia central y dispersión, con las variables cuantitativas, para variables nominales y ordinales se calcularon las frecuencias y en caso necesario los intervalos de confianza.

## **FINANCIAMIENTO:**

Todos los insumos utilizados, forman parte del tratamiento de estos pacientes, por lo que no hubo costo extra. El resto del material fue cubierto con recursos propios del investigador.

## **RECURSOS HUMANOS:**

Investigador: Dra. Abril Marcela Balam Canul.

Asesoría: Dra. Gabriela Fernandez Castillo.

Equipo de Médicos del Servicio de Hematología Pediátrica.

Personal del Archivo Clínico.

Personal del Laboratorio de Hematología Especial.

## **RECURSOS MATERIALES:**

1. Área física del servicio de Hematología Pediátrica en el noveno piso ala “A”de la UMAE del Hospital General “Dr Gaudencio González Garza” del CMN La Raza.
2. Computadora personal MacBook Air
3. Impresora HP, 2 cartuchos de tinta negra.
4. 500 hojas de papel bond tamaño carta.
5. 2 lápices mirado punto medio, goma y sacapuntas, 3 bolígrafos tinta negra.

## **CONSIDERACIONES ETICAS:**

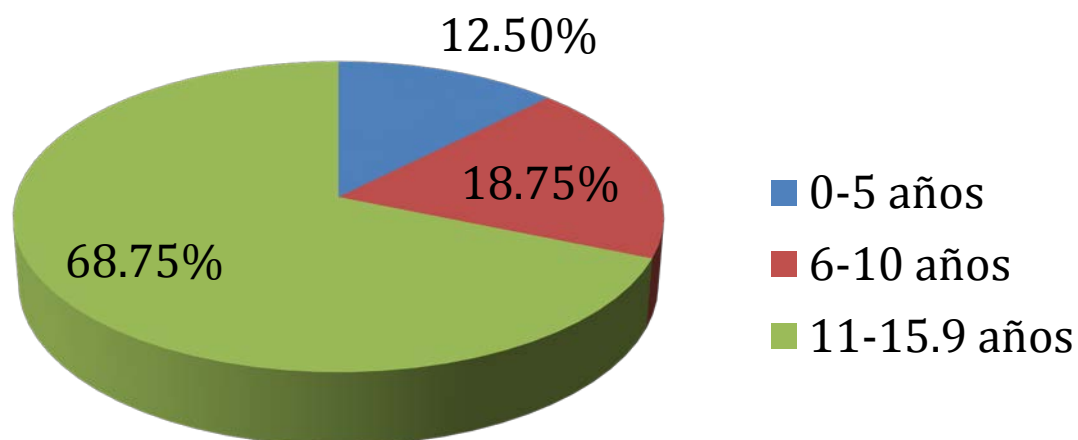
Este estudio de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos. Con modificación con fecha el 05 de agosto del 2010, establece en su apartado 11.3: En los casos de investigaciones sin riesgo o con riesgo mínimo, la carta de consentimiento informado no será requisito para solicitar la autorización del proyecto o protocolo de investigación.

## RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 16 pacientes con diagnóstico de Leucemia Promielocítica Aguda, procedentes del Servicio de Hematología Pediátrica de la UMAE del CMN La Raza. Se eliminó 1 paciente del estudio por falta de reporte de Inmunofenotipo, se eliminaron 4 pacientes del estudio ya que el reporte de inmunofenotipo no corresponde al diagnóstico de Leucemia Promielocítica Aguda, se reportan con HLA-DR positivo mayor a 90% con marcadores CD 15 y CD117 positivos.

De los 16 pacientes incluidos en el estudio, 68.75% se encontró en el rango de 11 a 15.9 años, 18.75% en el rango de 6 a 10 años y 12.5% se encontró en el rango de 0 a 5 años. *Gráfica1.*

**Gráfica 1. Frecuencia de LPA por edad**

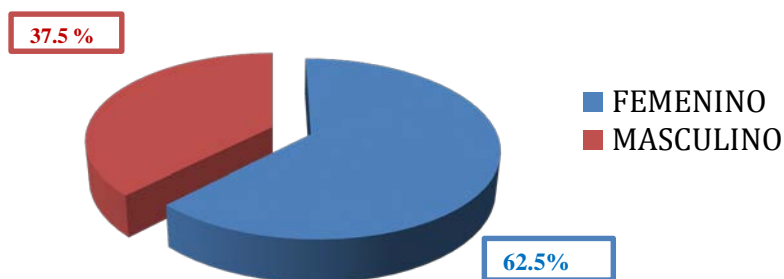


**Tabla 1. Rangos por edad de pacientes con diagnóstico de Leucemia Promielocítica Aguda.**

Edad (años)	0-5	6-10	11-15.9
Porcentaje (%)	12.5%	18.75%	68.75%
Número	2	3	11

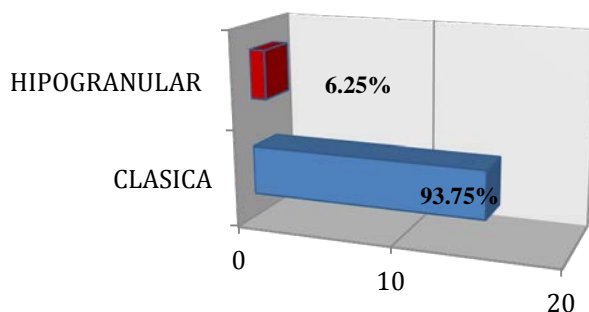
El género masculino correspondió al 37.5% (n=6) y el 62.5% (n=10) al género femenino con una relación H:M 1:1.5. *Gráfica 1.*

**Gráfica 2. Frecuencia de LPA por género**



En todos los pacientes se revisaron los extendidos de médula ósea y en el 93.75% (n=15) se observó la variante clásica con las siguientes características, blastos de aspecto promielocitoide, con núcleo arriñonado o bilobulado, con presencia de gránulos prominentes. Únicamente se encontró 6.25%, que correspondió a un solo paciente con morfología de variante hipogranular. *Gráfica 3.*

**Gráfica 3. Frecuencia por tipo de Variante de Leucemia Promielocítica Aguda.**



**Tabla 2.** Características morfológicas en aspirado de médula ósea en pacientes con LPA

Variedad	CITOPLASMA		Promielocitos (%)	Bastones de Auer	Total
	Hipergranular	Hipogranular			
LMA M3 clásica	15	0	15	15	15
LMA M3v	0	1	1	1	1

El marcador CD45 y anti-MPO se expresaron positivos en el 100% de los casos, el marcador CD13 se reportó positivo en 93.73% de los pacientes (n=14), el marcador CD33 se reportó positivo en 87.5% (n=13) y negativo en 12.5% de ellos (n=2) con diagnóstico de variante Clásica. La expresión positiva del marcador CD117 correspondió a 12 pacientes (75%) y negativo en 3 pacientes (18.75%). El marcador CD10 se expresó negativo en el 100% de los casos. El marcador HLA-DR se expresó negativo en el 100% de los casos. Encontramos el perfil inmunofenotípico CD13(+), CD33(+), CD 117(+/-) y falta de expresión de HLA-DR(-), CD34(-) en el 80% (n=12) de los casos de la variedad clásica y en la variedad hipogranular el patrón CD34 (+/-), CD13(+), CD33 (+), CD117 (+) y HLA-DR (-). Tabla 3

**Tabla 3. Inmunofenotipo por cada paciente con Leucemia Promielocítica Aguda.**

No. de caso	Tipo LPA	CD10	CD7	CD4	CD2	HLA DR	CD34	CD45	CD15	CD33	CD14	CD13	Anti-MPO	CD117
1	M3c	1.17	1.67	1.2	2	8.2	0.8	<b>98.2</b>	<b>92</b>	<b>93</b>	17	<b>96</b>	<b>93.7</b>	1.16
2	M3c	0.2	1	0.68	3.6	3.4	0.44	<b>98.3</b>	3.76	<b>96.47</b>	0.1	<b>97.85</b>	<b>98.8</b>	<b>99.2</b>
3	M3c	0.16	0.49	0.17	0.73	0.9	1	<b>98.43</b>	0.98	<b>97.92</b>	0.07	<b>98</b>	<b>99.28</b>	<b>94.13</b>
4	M3c	0.03	1.27	1.19	1.71	13.69	0.11	<b>99.44</b>	8.88	<b>99.23</b>	0.86	<b>98.9</b>	<b>98.77</b>	<b>97.84</b>
5	M3c	2.3	14.13	4	13.34	7.7	<b>67.85</b>	<b>88.2</b>	<b>34.1</b>	<b>60.7</b>	2.2	<b>53.69</b>	<b>67.05</b>	<b>62.1</b>
6	M3c	1.39	0.72	0.96	0.17	13.7	<b>59.2</b>	<b>99</b>	2.19	<b>97.96</b>	5.1	1.1	<b>98</b>	<b>96.3</b>
7	M3c	1.13	2.4	1.5	3.3	18.99	<b>37.4</b>	<b>99.9</b>	8.8	<b>98.3</b>	2.7	<b>97.9</b>	<b>99.2</b>	<b>83.9</b>
8	M3c	0	0	0	0	1	0.1	<b>56.5</b>	2.3	8.05	0	<b>88.1</b>	<b>69.5</b>	0
9	M3c	0	0.1	1.2	0	0	16.6	<b>76</b>	14.5	<b>93.2</b>	1.1	<b>91.6</b>	<b>91</b>	0
10	M3c	0.3	0	0.3	2	16.1	0.3	<b>99.1</b>	28	<b>82.2</b>	0.2	<b>90.3</b>	<b>95.9</b>	<b>60.1</b>
11	M3c	0.4	0.3	1.3	1.4	0.3	0.6	<b>98.5</b>	<b>89</b>	<b>99</b>	0.7	<b>89</b>	<b>93.5</b>	<b>76.9</b>
<b>12</b>	<b>M3v</b>	0.8	1.9	0.7	<b>48.8</b>	9.3	<b>22.4</b>	<b>76.6</b>	2.3	<b>50</b>	<b>55.8</b>	<b>47.4</b>	<b>75.9</b>	<b>44.9</b>
13	M3c	0.4	0.4	0.1	0.3	2.3	1.8	<b>96.3</b>	1.3	0.2	0	<b>68.1</b>	<b>67</b>	<b>73.4</b>
14	M3c	0	0.1	1	0.7	0.3	7	<b>93</b>	30	<b>90.4</b>	0.1	<b>82.7</b>	<b>77.5</b>	<b>66.2</b>
15	M3c	0	0.6	3.3	0	0.2	0	<b>90.5</b>	3.6	<b>92.4</b>	0	<b>99.6</b>	<b>98.2</b>	<b>88.1</b>
16	M3c	0.9	<b>98</b>	0	0.3	0.5	0.2	<b>99</b>	<b>99.8</b>	<b>98.9</b>	1.3	<b>94.8</b>	<b>97</b>	<b>88.5</b>

Tabla 4. Inmunofenotipo de la LMA M3 variedad Clásica.

MARCADOR	FRECUENCIA
CD2+	0%
CD4+	0%
CD7+	6.6%
CD10+	0%
HLA-DR+	0%
CD13+	93.3%
CD14+	0%
CD15+	26.6%
CD33+	86.6%
CD34+	20%
CD45+	100%
ANTI-MPO+	100%
CD117+	80%

Tabla 5. Inmunofenotipo de la LMA M3v

MARCADOR	FRECUENCIA
CD2+	100%
CD4+	0%
CD64+	100%
CD10+	0%
HLA-DR+	0%
CD13+	100%
CD14+	100%
CD15+	0%
CD33+	100%
CD34+	100%
CD45+	100%
ANTI-MPO+	100%
CD117+	100%



La evaluación citoquímica reporta en 100% (n=16) de los pacientes MPO intensamente positiva, PAS negativa en 100% (n=16) pacientes, Esterasa positiva en 37.5% (n=6) pacientes y negativa en 62.5% (n=10), fosfatasa ácida positiva en 37.5% (n=6) pacientes y negativa en 62.5% (n=10). *Tabla 6*

**Tabla 6. Tinciones Especiales en Aspirado de Médula ósea.**

No. de caso	PAS	Esterasa	MPO	Fosfatasa ácida
1	Negativa	Positivo	Positivo	Positivo
2	Negativa	Negativo	Positivo	Negativo
3	Negativa	Positivo	Positivo	Positivo
4	Negativa	Positivo	Positivo	Negativo
5	Negativa	Negativo	Positivo	Negativo
6	Negativa	Negativo	Positivo	Negativo
7	Negativa	Negativo	Positivo	Negativo
8	Negativa	Negativo	Positivo	Negativo
9	Negativa	Positivo	Positivo	Positivo
10	Negativa	Negativo	Positivo	Negativo
11	Negativa	Negativo	Positivo	Positivo
12	Negativa	Negativo	Positivo	Negativo
13	Negativa	Negativo	Positivo	Negativo
14	Negativa	Negativo	Positivo	Positivo
15	Negativa	Positivo	Positivo	Positivo
16	Negativa	Positivo	Positivo	Negativo

## DISCUSIÓN

Las Leucemias Mieloblásticas Agudas constituyen el 20% de las leucemias pediátricas de acuerdo a la epidemiología internacional y latinoamericana. En total la prevalencia de LPA en 5 años fue 21.9% (n=16) de todas las leucemias mieloblásticas diagnosticadas (n=73); lo que es similar a los estudios recientes que han demostrado una frecuencia relativamente alta en ciertas poblaciones y grupos en América Latina, en el que el porcentaje fluctúa entre 17-58% de todos los casos de LMA en niños

<sup>14</sup>. En el presente estudio se encontró que el mayor porcentaje se presenta en el rango de edad de 11 a 15.9 años, conforme lo descrito por Rivera y colaboradores en el año 2011, según el perfil epidemiológico del cáncer infantil en México y difiriendo con lo reportado por Amaru y colaboradores en Bolivia en 2012, quienes reportan una mayor incidencia en el rango de 6 a 10 años.<sup>15</sup> Aunque a nivel mundial se menciona que no existe predominio de género, en esta investigación encontramos una mayor prevalencia en el género femenino.

De acuerdo al Protocolo de tratamiento con el esquema NOPHO-AML 93 modificado en pacientes pediátricos del HIMFG con leucemia mieloide aguda en 2007 el uso de inmunofenotipo por citometría de flujo, para la determinación de la presencia del HLA-DR contribuye a identificar la LPA. En general, el HLA-DR se expresa en 75% a 80% de las LMA pero rara vez lo hace la LPA. Además, se ha observado que los casos de LPA en los cuales está presente el PML/RAR- $\alpha$  expresan CD34/CD15 y revelan un patrón heterogéneo de expresión de CD13.<sup>16</sup>

La Leucemia Promielocítica Aguda tiene un patrón específico caracterizado por falta de expresión de marcadores HLA-DR y CD34, CD117(+/-), positividad para CD13 y CD33, negatividad o positividad débil para CD15. Descrito por Wojciech el tipo más frecuentemente diagnosticado fue la variedad clásica constituyendo 15 de los 16 casos incluidos en el presente estudio.<sup>17</sup>

En el 100 % de los pacientes con variedad clásica hay correspondencia entre la morfología y el inmunofenotipo reportado, como menciona Hernández et al. en 2005, esta variedad constituye el único subtipo inmunológico donde la morfología y el inmunofenotipo habitualmente coinciden.<sup>18</sup>

El patrón de Inmunofenotipo de la LPA variante hipogranular se ha reportado en la literatura algo más heterogéneo, con un mayor porcentaje de expresión de marcadores de células-T positivos (CD2, CD7), aunque en una forma leve a moderada<sup>19</sup>

La dificultad se marca en los pacientes con variantes hipogranulares por lo heterogéneo del inmunofenotipo. En este caso como marca la literatura, se requiere también del apoyo del marcaje molecular para estos pacientes.

De acuerdo a lo evaluado en la bibliografía, el inmunofenotipo por citometría de flujo puede incrementar la exactitud de una morfología con sospecha de PML/RARa positivo. Típicamente los que presentan esta alteración pueden tener presentaciones inmunofenotípicas similares a los promielocitos normales, sin embargo los promielocitos anormales pueden presentar porcentajes débiles de CD15.<sup>20, 21</sup>

## CONCLUSIONES

- 1.- El Servicio de Hematología Pediátrica de la UMAE del Hospital General del CMN La Raza la Leucemia Promielocítica Aguda tiene un porcentaje de presentación del 21% de todas las leucemias mieloblásticas igual a lo descrito en la literatura a nivel mundial.
- 2.- El rango de edad observado en esta investigación coincide con predominio en adultos jóvenes y niños mayores de 10 años.
- 3.- La morfología del tipo variante clásica fue más frecuentemente encontrada, con un perfil inmunofenotípico característico y homogéneo.
- 4.- El análisis de inmunofenotipo por citometría de flujo puede facilitar el estudio y el diagnóstico oportuno de la LPA, es altamente sensible (100%) si se utiliza un panel de screening específico, tiene una correlación con la morfología en la variedad clásica y por lo tanto es útil para el inicio del tratamiento con ATRA, ya que la mortalidad es muy alta en estos pacientes por fenómenos hemorrágicos.
- 5.- En la variedad hipogranular, probablemente el inmunofenotipo no sea tan sensible o específico por la heterogeneidad que puede encontrarse. De acuerdo a este estudio la prevalencia de esta variedad es menor en niños que en adultos. Por lo tanto se debe realizar aspirado de médula ósea, frotis de sangre periférica citometría de flujo, citogenética y biología molecular a todos los pacientes con sospecha de LMA para su adecuada clasificación. La prueba de FISH para la detección del gen PML-RAR se debe realizar en los pacientes con LPA para un diagnóstico temprano y son necesarios para poder establecer un pronóstico y evaluar una respuesta a largo plazo.
- 6.- Y por último, este estudio podría ser utilizado como precedente para futuras investigaciones, incluyendo el uso de inmunofenotipo como factor pronóstico para pacientes con LPA.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- 
- <sup>1</sup> Williams J. Hematology, 2d. Ed. Interamericana, 3a. Edición, 1983.
  - <sup>2</sup> Nathan DG, Stuart H. Hematology of infant and childhood: Acute lymphoblastic leukemia. 1998; 2: 1245-1285.
  - <sup>3</sup> Bennet JM et al. Proposals for the classification of the acute leukemias. FAB Cooperative Group. Journal of Haematology 1976, 33:451-458.
  - <sup>4</sup> W James. 2009. The 2008 revision of the WHO classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. Blood 114:937-951
  - <sup>5</sup> Bernier M, Casanovas RO, et al. Acute Myeloid leukaemia M0: Haematological, immunophenotypic and cytogenetic characteristics and their prognostic significance: an analysis in 241 patients. Br J Haematol, 2001;113:737-745.
  - <sup>6</sup> Neam PB, et al. Morphology of acute promyelocytic leukemia with cytogenetic or molecular evidence for the diagnosis: characterization of additional microgranular variants. American journal OF Hematology, 1997, 56: 131-142
  - <sup>7</sup> Bennet JM et al. A Variant form of hypergranular promyelocytic leukemia M3. British Journal of Haematology, 1980, 44:168-170.
  - <sup>8</sup> Fang Xu et al. Immunophenotypes and Immune Markers Associated with Acute Promyelocytic Leukemia Prognosis. Hindawi, Disease Markers 2014;1-6.
  - <sup>9</sup> Rizzatti EG et al. Expression of CD117 and CD11b in bone marrow can differentiate acute promyelocytic leukemia from recovering benign myeloid proliferation. American Journal of clinical pathology 2002, 118:31-37.
  - <sup>10</sup> Yoshii M, Ishida M, Yoshida T, et al. Clinicopathological features of acute promyelocytic leukemia: an experience in one institute emphasizing the morphological and immunophenotypic changes at the time of relapse. Int J Clin Exp Pathol 2013;6(10):2192-2198.
  - <sup>11</sup> Borrow J, et al. Diagnosis of acute promyelocytic leukaemia by RT-PCR: Detection of PML-RARa-PML fusion transcripts. Br J Haematol 82:529, 1992.
  - <sup>12</sup> Ahn S, Park JS, Jeong SH, et al. Current routine practice and clinico-pathological characteristics associated with acute promyelocytic leukemia in Korea. Blood Res 2013;48:31-34.

- 
- <sup>13</sup> Avvisati G, Lo-Coco F, et al. AIDA 0493 protocol for newly diagnosed acute promyelocytic leukemia: very long-term results and role of maintenance. *Blood* 2011;117:4716-4725.
- <sup>14</sup> Milanés MT, et al. Frecuencia de la Leucemia Promielocítica en Cuba. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2001;17(1):49-54.
- <sup>15</sup> Rivera R. Concepto Epidemiológico del cáncer infantil en México; *Hemato-oncología Pediátrica*. 1:1-33.
- <sup>16</sup> Dorantes E, Medina A. Protocolo de tratamiento con el esquema NOPHO-AML93 modificado en pacientes pediátricos del HIMFG con leucemia mieloide aguda. 2007.
- <sup>17</sup> Wojciech G. Acute Promyelocytic leukemia: four distinct patterns by flow cytometry. *Pol J Pathology* 2012;1:8-17.
- <sup>18</sup> Hernández P, Milanés MT, Svarch E, Martínez G, Ballester JM. High relative proportion of acute promyelocytic leukaemia in children: experience of a multicenter study in Cuba. *Leuk Res* 2000;24:739-40.
- <sup>19</sup> Ibrahim FA, Yassin MA, et al. Clinico-pathological profile of acute promyelocytic leukaemia at AL- Amal oncology-haematology centre, Qatar. *Eastern Mediterranean Health Journal* 2010;16(9):958-964.
- <sup>20</sup> Sanz M, Grimwade D, Tallman MS, et al. Management of acute promyelocytic leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2009;113(9):1875-1891.
- <sup>21</sup> Dekking E, Van der Velden VHJ, Varro R, et al. Flow cytometric immunobead assay for fast and easy detection of PML-RARA fusion proteins for the diagnosis of acute promyelocytic leukemia. *Leukemia* 2012;26:1976-1985.

---

## ANEXO 1. FICHA DE IDENTIFICACIÓN

Nombre: \_\_\_\_\_

No. De Seguridad Social: \_\_\_\_\_

Fecha de nacimiento: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ Género: \_\_\_\_\_

Fecha del diagnóstico: \_\_\_\_\_

Diagnóstico: \_\_\_\_\_

Protocolo de Quimioterapia: \_\_\_\_\_

Clasificación: Clásica \_\_\_\_\_ Hipogranular \_\_\_\_\_

Aspirado de Médula Ósea: \_\_\_\_\_

### *Inmunofenotipo*

CD79		CD3		HLA-DR		CD15	
CD19		CD7		CD34		CD33	
CD20		CD5		CD45		CD14	
CD22		CD4		CD38		CD13	
CD10		CD2		Anti-Tdt		Anti-MPO	
IgMc		CD1a				CD64	
						CD117	

### *Citometría Hemática Inicial*

Hb: \_\_\_\_\_ g/dL

Leucocitos \_\_\_\_\_  $\mu$ l

Neutrófilos \_\_\_\_\_  $\mu$ l

Blastos \_\_\_\_\_  $\mu$ l

Plaquetas \_\_\_\_\_  $\mu$ l

### *Tinciones*

PAS \_\_\_\_\_

Esterasa: \_\_\_\_\_

MPO \_\_\_\_\_

Fosfatasa Acida \_\_\_\_\_