



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

CLASIFICACIÓN INMUNOLÓGICA DE LAS LEUCEMIAS  
LINFOBLÁSTICAS AGUDAS DEL HOSPITAL INFANTIL DE  
MÉXICO FEDERICO GÓMEZ, DE ACUERDO AL EGIL  
(EUROPEAN GROUP FOR THE IMMUNOLOGICAL  
CLASSIFICATION OF LEUKEMIA) DURANTE EL PERÍODO  
2010-2015

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

PRESENTA:

**ROSALBA MAYER VEGA**



CIUDAD DE MÉXICO

AÑO 2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE: ENRIQUE ORTEGA SOTO**

**VOCAL: ARACELI MENDIETA RERGIS**

**SECRETARIO: ISRAEL PARRA ORTEGA**

**1er. SUPLENTE: JULIO CESAR MARTÍNEZ ÁLVAREZ**

**2° SUPLENTE: GIBRAN PÉREZ MONTESINOS**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**LABORATORIO DE CITOMETRÍA DE FLUJO DEL HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO  
GÓMEZ**

**ASESOR DEL TEMA:**

**Q.C. ISRAEL PARRA ORTEGA**

\_\_\_\_\_

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

**Q.B.P. NOEMÍ NÁJERA MARTÍNEZ**

\_\_\_\_\_

**SUSTENTANTE:**

**ROSALBA MAYER VEGA**

\_\_\_\_\_

## **AGRADECIMIENTOS**

A la que fue mi segunda casa la UNAM por la formación académica recibida.

A Dios, por darme el don de la vida, por todas las bendiciones que me ha dado entre ellas mi hija y porque siempre has estado conmigo guiándome por el camino del bien.

A mis padres, por haberme apoyado cuando más lo necesite, por nunca perder las esperanzas en mí y estar siempre pendiente de nosotras por todos los sacrificios que hicieron para sacar adelante a mi hija y a mí, Los amo, padres.

A mi hermana por todos los consejos que me ha dado y por todos los hermosos momentos que hemos tenido a lo largo de este camino. Te quiero

A la QBP Noemí Nájera Martínez por compartir conmigo todos sus conocimientos para la realización de esta tesis. Por la valiosa amistad que se ha forjado entre nosotras y por esos momentos de alegría y de tristeza que vivimos en el laboratorio. Por hacerme crecer como persona y profesionalmente. Disculpe los dolores de cabeza que le cause por mis acciones.

Al QC Israel Parra Ortega por haberme apoyado durante la realización de mi servicio social, estancia y tesis, por todos los regaños para que no me desviara del camino.

A la QFB Marcela Jiménez Jiménez por todos los consejos que me ha dado tanto académicos como personales. Por esa bonita amistad que construimos durante este camino.

Al Biologo exp. Celedonio por haberme permitido jugar en su equipo de futbol, por toda la confianza que me brindo. Por todos los momentos buenos y los no tan

buenos. Por hacerme reír mucho y por ser un excelente ser humano.

A la QFB Gie Bele Vargas por esa bonita amistad que en tan poco tiempo logramos tener, por todas las contribuciones brindadas a este trabajo y por hacerme reír mucho.

Al Dr. Enrique Ortega Soto por las revisiones y correcciones que le hizo al trabajo final y por el tiempo que dedico en revisarlo

A mis amigos Janín, Sandra, Ale, Diana, Lore, Monse, Erika, Eve, Caty por la amistad tan bonita que construimos durante nuestra estancia en la facultad, por todos los momentos divertidos, que Dios me las bendiga.

## **DEDICATORIAS**

A mi hija Melanie Lizeth, porque es mi principal motor para seguir adelante y levantarme cuando he caído. Gracias por haber llegado a mi vida y hacerme la mamá más feliz del mundo. Sabes que siempre voy a estar ahí para apoyarte y orientarte en todo lo que te propongas. Eres la persona que más amo en esta vida y recuerda que siempre voy a estar para ti.

A mis padres Pilar y Javier. Gracias porque sin ustedes no habría llegado a esta etapa final de la carrera. Quiero que sepan que los amo con todo mi ser y que todos los días agradezco a Dios el haberme mandado a los mejores padres del mundo. También quiero pedirles perdón si les he fallado nunca fue mi intención. Los amo.

A todos los niños con cáncer que hicieron posible esta tesis y espero que este trabajo pueda aportar aunque sea un granito de arena para poderles brindar una mejor calidad de vida.

## ÍNDICE

ÍNDICE	I
ÍNDICE DE FIGURAS	III
ÍNDICE DE TABLAS	IV
GLOSARIO	V
ABREVIATURAS	VII
RESUMEN.	IX
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1. HEMATOPOYESIS	1
1.2. ONTOGENIA DE CÉLULAS B Y T.	2
1.3. GENERALIDADES DE LAS LEUCEMIAS.	5
1.4. CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS.	6
1.5. LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.	12
1.6. EPIDEMIOLOGÍA.	12
1.7. FACTORES DE RIESGO.	13
1.8. FACTORES PRONÓSTICOS.	14
1.9. ALTERACIONES CITOGENÉTICAS EN LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.	16
1.9.1. TRANSLOCACIÓN TEL-AML1 t(12;21)(p13;q22).	18
1.9.2. TRANSLOCACIÓN BCR-ABL t(9;22)(q34;q11).	19
1.9.3. TRANSLOCACIÓN MLL-AF4 t(4;11)(q21;q23).	19
1.9.4. TRANSLOCACIÓN E2A-PBX1 t(1;19)(q23;p13)	19
1.10. DIAGNÓSTICO DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS.	20
1.11. INMUNOFENOTIPIFICACIÓN DE LEUCEMIAS.	20
2. JUSTIFICACIÓN.	22
3. HIPÓTESIS.	23
4. OBJETIVOS.	24
4.1. OBJETIVO GENERAL.	24
4.2. OBJETIVOS PARTICULARES.	24
5. MATERIAL Y MÉTODOS.	25
5.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.	25

5.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.	25
5.3. DIAGRAMA DE FLUJO.	26
5.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	26
6. RESULTADOS.	27
7. DISCUSIÓN.	36
8. CONCLUSIONES.	41
9. PERSPECTIVAS.	42
10. REFERENCIAS.	43
11. ANEXOS	52

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Origen y desarrollo de las células madre hematopoyéticas pluripotenciales.
- Figura 2.** Ontogenia de la célula B.
- Figura 3.** Ontogenia de la célula T.
- Figura 4.** Morfología característica de la LLA de acuerdo a la clasificación de la FAB.
- Figura 5.** Morfología característica de la LMA de acuerdo a la clasificación de la FAB: a) M0, b) M1, c) M2, d) M3, e) M4, f) M5, g) M6 y h) M7
- Figura 6.** Diagrama de flujo.
- Figura 7.** Distribución de los pacientes por género.
- Figura 8.** Distribución de los grupos de edades de los pacientes estudiados
- Figura 9.** Distribución de pacientes por inmunofenotipo
- Figura 10.** Distribución de los subtipos de LLA-B.
- Figura 11.** Cantidad de leucocitos en los pacientes diagnosticados con LLA.
- Figura 12.** Distribución de leucemias bifenotípicas en la población pediátrica del HIMFG.
- Figura 13.** Distribución de las translocaciones presentes en la LLA durante el período 2010-2015.
- Figura 14.** Distribución de las translocaciones presentes en la LMA durante el período 2010-2015.
- Figura 15.** Fundamento de la CMF.
- Figura 16.** Procedimiento para determinar inmunofenotipo de leucemias

## ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1.** Clasificación FAB de las leucemias linfoblásticas agudas.
- Tabla 2.** Clasificación FAB de las leucemias mieloblásticas agudas.
- Tabla 3.** Clasificación OMS de las leucemias agudas linfoides.
- Tabla 4.** Clasificación OMS de las leucemias mieloblástica aguda.
- Tabla 5.** Sistema de clasificación del Grupo Europeo de Clasificación Inmunológica de Leucemias (EGIL).
- Tabla 6.** Subtipos inmunológicos de LLA-B, según el Grupo Europeo para la caracterización inmunológica de leucemias agudas (EGIL), 1995.
- Tabla 7.** Factores asociados con el origen de leucemias en niños.
- Tabla 8.** Factores pronósticos relacionados con la mortalidad en niños con leucemia linfoblástica aguda.
- Tabla 9.** Alteraciones genéticas en la leucemia linfoblástica aguda infantil y su valor pronóstico.
- Tabla 10.** Alteraciones genéticas en la leucemia mieloblástica aguda infantil y su valor pronóstico
- Tabla 11.** Resultados detallados al aplicar la escala de EGIL y translocaciones presentes en las Leucemias bifenotípicas.

## GLOSARIO

**Alteración cromosómica:** mutaciones que cambian el número de cromosomas (anomalías numéricas) o la estructura de un cromosoma (anomalías estructurales).

**Blastos:** células hematopoyéticas inmaduras que se encuentran en la médula ósea.

**Citogenética:** es el estudio de los cromosomas tanto en número como en estructura.

**Citometría de flujo:** método analítico que permite la medición rápida de ciertas características físicas y químicas de células o partículas suspendidas en líquido que producen una señal de forma individual al interferir con una fuente de luz.

**Cromosoma Philadelphia:** anomalía del cromosoma 22 en la que este recibe una parte del cromosoma 9, asociada a la leucemia mieloide crónica.

**Fenotipo:** conjunto de caracteres visibles que un individuo presenta como resultado de la interacción entre su genotipo y el medio.

**Hematopoyesis:** proceso biológico por el cual se forman nuevas células sanguíneas.

**Inmunofenotipo:** caracterización de las células según los marcadores inmunológicos que hay en su superficie.

**Leucemia aguda (LA):** enfermedad hematológica maligna que resulta de la alteración en la proliferación y diferenciación de un grupo de células inmaduras, de estirpe mieloide o linfoide, hasta reemplazar completamente la médula ósea.

**Leucemia Bifenotípica Aguda (BAL):** tipo de leucemia en la que existe una sola población de blastos, la cual coexpresa simultáneamente marcadores antigénicos mieloides y linfoides.

**Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA):** neoplasia que se origina por la proliferación en médula ósea y tejidos linfoides de células blásticas de origen B o T.

**Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA):** neoplasia que se origina a partir de

células de la línea mieloide (mieloblastos) que proliferan de forma anormal invadiendo progresivamente la médula ósea interfiriendo la producción de células normales de la sangre.

**Translocación:** anomalía cromosómica estructural, en el cual implica un intercambio entre dos fragmentos de dos cromosomas.

## ABREVIATURAS

Ac	Anticuerpo
AcMo	anticuerpos monoclonales
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
Ag	antígeno
AMO	aspirado de médula ósea
BAL	Leucemia Aguda Bifenotípica
CALLA	antígeno de la leucemia linfoblástica común
CTH	células troncales hematopoyéticas
CPH	células progenitoras hematopoyéticas
CPH	células precursoras hematopoyéticas
CD	cluster of differentiation, grupo de diferenciación
CMF	citometría de flujo
EGIL	Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de las Leucemias
<i>et. al</i>	colaboradores
FAB	Sistema Franco-Americano-Británico
FSC	forward scatter
FISH	hibridación fluorescente in situ
HIMFG	Hospital Infantil de México Federico Gómez
HLA-DR	antígeno leucocitario común
IgG	inmunoglobulina G
IgM	inmunoglobulina M
IgD	inmunoglobulina D
LA	Leucemia Aguda
LDH	lactato deshidrogenasa
LLA	Leucemia Linfoblástica Aguda
LLC	Leucemia Linfoblástica Crónica
LMA	Leucemia Mieloide Aguda
LMC	Leucemia Mieloide Crónica
LPA	Leucemia Promielocítica Aguda

MO	médula ósea
MLL	leucemia de linaje mixto
MPox	mieloperoxidasa
NK	célula asesina natural
OMS	Organización Mundial de la Salud
Ph	cromosoma Filadelfia
RT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa
SP	sangre periférica
SSC	side scatter
TdT	Transferasa desoxinucleotidil Terminal

## RESUMEN

El cáncer es hoy en día la segunda causa de muerte a nivel mundial y son las leucemias el tipo histológico de mayor prevalencia en la población pediátrica, las cuales representan en México el 40% de todas las neoplasias. El diagnóstico definitivo de leucemia aguda (LA) se establece mediante el estudio de médula ósea, clasificándola según los aspectos: morfológicos, inmunofenotípicos y citogenéticos. El inmunofenotipo se ha convertido en una herramienta de gran ayuda que permite identificar la población celular patológica, determinar la línea hematopoyética y su estadio madurativo. El objetivo principal de este estudio fue determinar la clasificación inmunológica de las leucemias agudas aplicando los criterios del Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de las Leucemias (EGIL) para determinar el inmunofenotipo más frecuente presente en pacientes pediátricos diagnosticados con LA en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG), durante un período comprendido de 2010 a 2015. Se llevó a cabo un estudio retrospectivo en el cual se revisaron los resultados de 549 pacientes pediátricos con diagnóstico de LA que acudieron al HIMFG de enero de 2010 a diciembre de 2015, se utilizó la Clasificación del EGIL para clasificar a las LA. Los resultados obtenidos mostraron que de los 549 pacientes estudiados el 55% correspondió al género masculino y el rango de edad más frecuente fue 1 a 4 años de edad con 31%. El inmunofenotipo de mayor prevalencia fue Leucemia Linfoblástica Aguda de linaje B (LLA-B) con un 61.6%, seguido de LLA de linaje T con 23.7%, la Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA) con el 9.5% y finalmente, las leucemias bifenotípicas con el 5.3%. Los subtipos de LLA-B fueron Pro-B con 14%, Pre-B común con 82% y Pre-B con 4%. Se encontraron 29 pacientes clasificados como portadores de leucemia bifenotípica aguda; 13 para B/T con 2%, 12 para T/Mieloide con un 2% y 4 B/Mieloide con el 1%. Se encontró que el 68.1% tenían cuentas de leucocitos <50,000 y 28.8% tuvieron un recuento de leucocitos mayor a 50,000. La presencia de translocaciones se observó en 140 pacientes que equivalieron al 25.5%, de los cuales el cromosoma Philadelphia fue el más frecuente con 34.8% para el caso de LLA, para la LMA la t(15;17) con 44.6% fue la de mayor prevalencia. Se concluyó que en la población pediátrica del HIMFG las LA fueron más frecuentes en pacientes entre uno a cuatro años de edad y fue el género masculino donde predominaron las LA. El inmunofenotipo más frecuente fue el linaje B y el subtipo de mayor prevalencia fue el pre-B común, dentro de las leucemias bifenotípicas la de fenotipo B/T fue la de mayor frecuencia y la translocación que más se observó fue la t(9;22).

**Palabras clave:** leucemia aguda, leucemia linfoblástica aguda, inmunofenotipo, leucemia mieloblástica aguda, fenotipo, Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de las Leucemias, leucemia bifenotípica aguda.

# 1. MARCO TEÓRICO

## 1.1. HEMATOPOYESIS

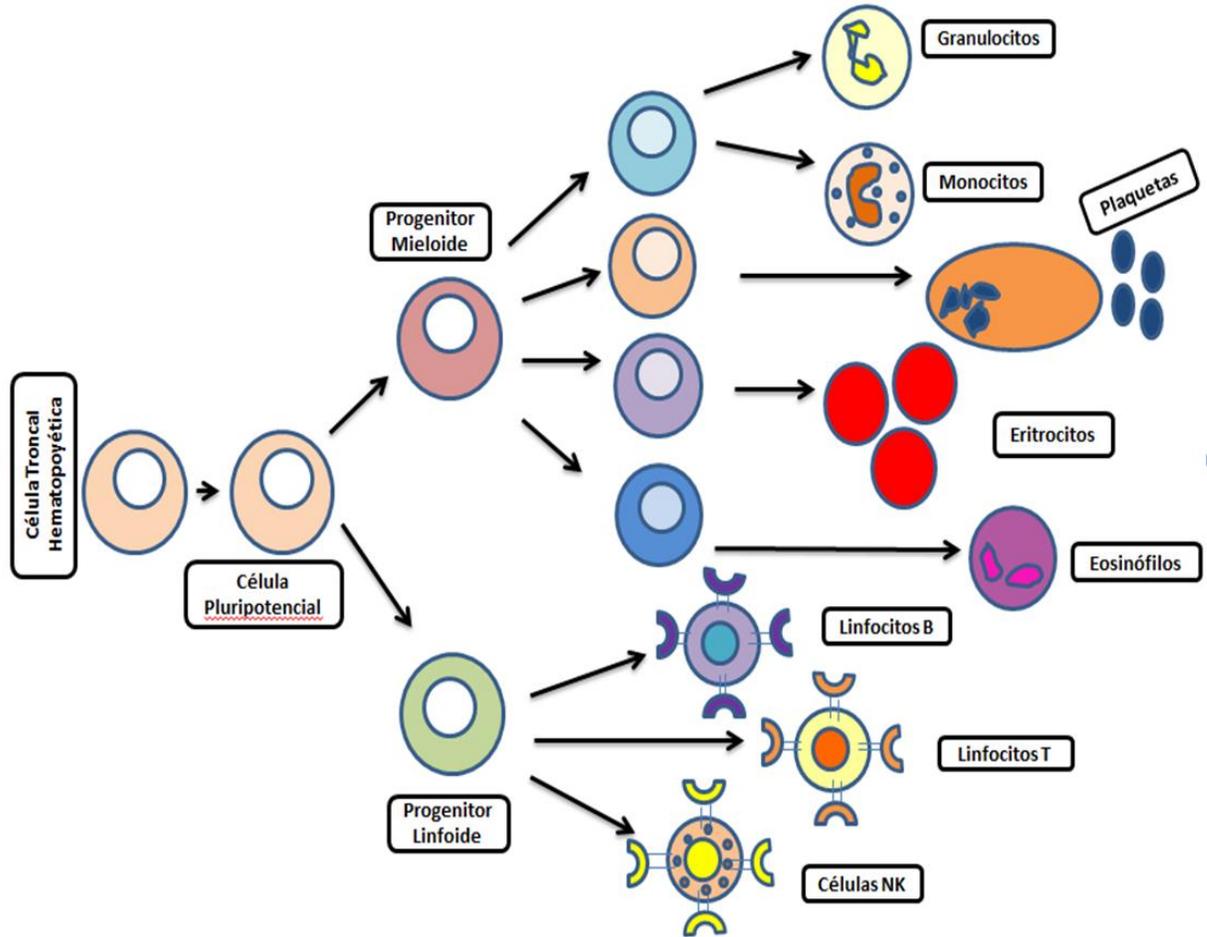
La hematopoyesis es un proceso complejo a través del cual las células troncales hematopoyéticas proliferan y se diferencian, dando lugar a los distintos tipos de células maduras circulantes (Figura 1). Reside principalmente en el hígado en la vida fetal y en la médula ósea (MO) a partir del nacimiento. Su diferenciación continua de la hematopoyesis es estrictamente regulada y crucial para la producción balanceada de progenitores y precursores, y el reabastecimiento de todas las células de la sangre a lo largo de la vida <sup>(33, 44)</sup>.

El proceso de la hematopoyesis es iniciado por una población única de células troncales hematopoyéticas (CTH) que expresan antígenos como CD34 y carecen de expresión de antígenos específicos de linaje. Estas células tienen dos características principales: son capaces de auto-renovarse (al dividirse, por lo menos una de las células hijas conserva las propiedades de la célula madre) y son multipotenciales (pueden dar origen a los distintos linajes sanguíneos) <sup>(33)</sup>.

Las CTH dan origen a las células progenitoras hematopoyéticas (CPH), las cuales han perdido su capacidad de auto-renovación, pero conservan su potencial proliferativo. Estas células comparten ciertas características inmunofenotípicas con las CTH, como la expresión del antígeno CD34 <sup>(44)</sup>.

Posteriormente, las CPH dan lugar a células precursoras las cuales constituyen más del 90% de la médula ósea. Y finalmente, los precursores hematopoyéticos al madurar, generan a las células sanguíneas circulantes <sup>(33)</sup>.

Alteraciones en la hematopoyesis pueden conducir a situaciones de producción deficiente y/o sobreproducción de células hematopoyéticas, como las leucemias



**Figura. 1** Origen y desarrollo de las células madre hematopoyéticas pluripotenciales. (Rosalba Mayer Vega, 2016).

## 1.2. ONTOGENIA DE CÉLULAS B Y T

Los linfocitos B y T atraviesan diferentes estadios de maduración en los que adquieren y pierden antígenos <sup>(44)</sup>.

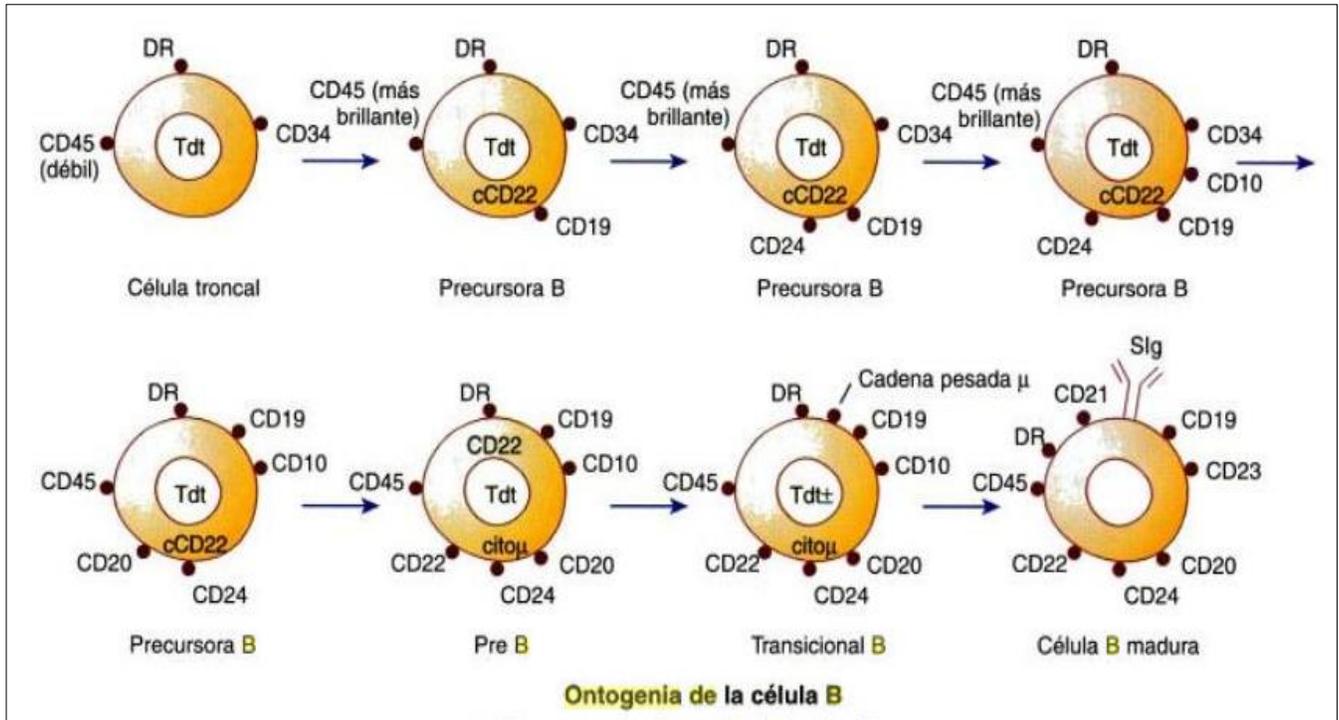
La célula troncal más temprana del linaje linfoide B se encuentra en la médula ósea y expresa la enzima Transferasa desoxinucleotidil Terminal (TdT), el antígeno común leucocitario (HLA-DR), el antígeno cluster of differentiation (CD) 34 y CD45

débil. Conforme la célula madura, va expresando de manera secuencial los antígenos de superficie CD19, CD10, CD20 y los antígenos citoplasmáticos CD22 y CD79 pero la expresión de HLA-DR y TdT va disminuyendo. Después de la aparición de CD20, la expresión de TdT se debilita y la porción *mu* de la cadena pesada de la molécula de inmunoglobulina M (IgM) puede detectarse en el citoplasma de la célula B, que ahora se denomina célula pre-B <sup>(54)</sup>.

Las células pre-B se caracterizan por la presencia de la cadena pesada *mu* citoplasmática. La célula B de transición es similar a la célula pre-B pero esta expresa una cadena pesada *mu* tanto en la superficie como en el citoplasma de la célula <sup>(54)</sup>.

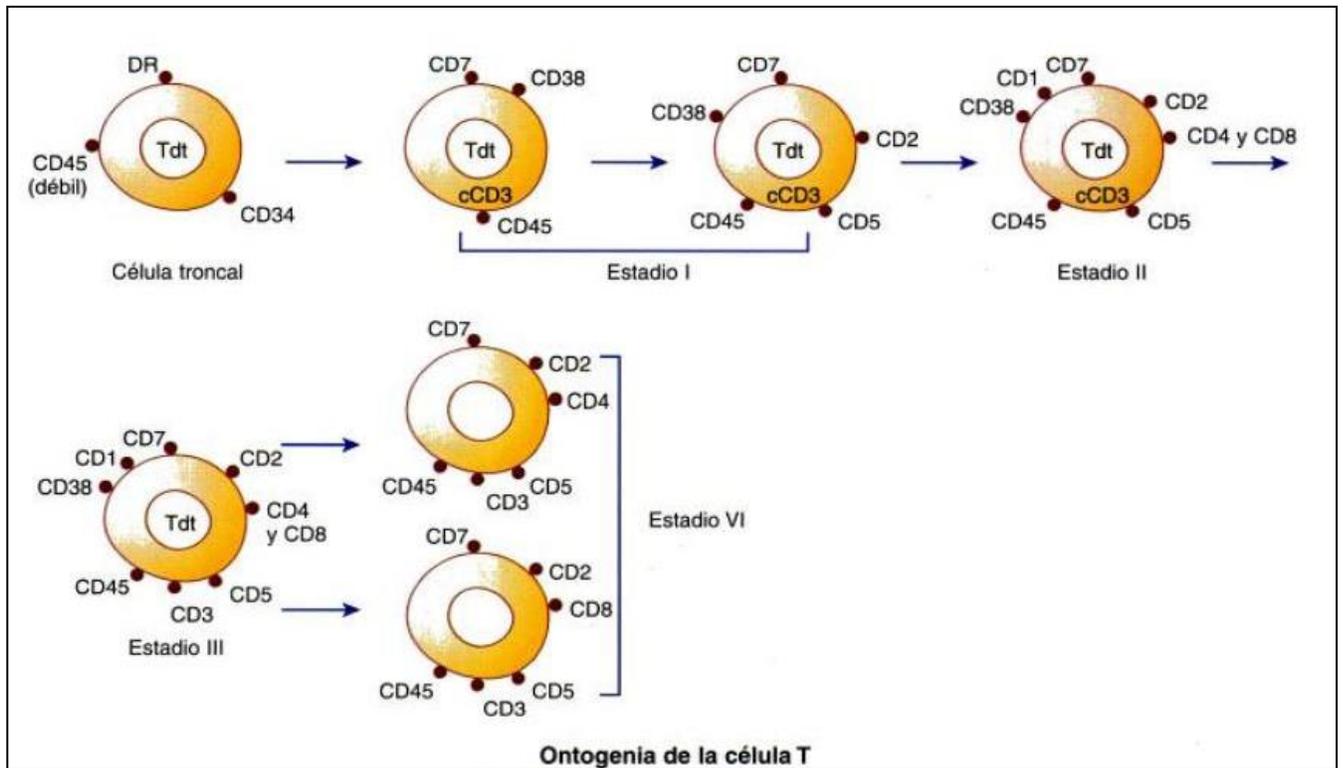
El paso de diferenciación final produce células B maduras que expresan las moléculas completas de inmunoglobulina como IgG, IgM e IgD en su superficie <sup>(54,57)</sup>.

Los marcadores de linfocitos B, como CD19, CD20 y CD22, persisten, y la expresión de la cadena pesada *mu* citoplasmática, TdT, CD10 y CD34 se debilita por completo. Luego las células B maduras abandonan la médula ósea y se diseminan por la sangre periférica a los ganglios linfáticos y otros tejidos linfoides (Figura 2) <sup>(54,57)</sup>.



**Figura 2.** Ontogenia de la célula B (Tomado de Rodak BF, 2005).

El desarrollo y maduración de las células T se produce en un órgano denominado timo. El precursor linfocitario T más temprano expresa CD45 débil, HLA-DR, CD34 y TdT. En el estadio I de diferenciación las células T expresan CD7, CD2, TdT y CD3 citoplasmática. Conforme la célula madura a un estadio II a III, adquiere marcadores T adicionales, como CD3, CD5, CD4 y CD8, CD1 y CD38. Finalmente el estadio IV dará como resultado células linfocitarias T maduras, las cuales se dividen en los subtipos de células cooperadoras (helper) CD4<sup>+</sup> o citotóxicas CD8<sup>+</sup>; los antígenos como TdT, CD34, y CD1 están ausentes y las células T expresan diversos antígenos como CD7, CD2, CD3 y CD5 (Figura 3) <sup>(54)</sup>.



**Figura 3.** Ontogenia de la célula T (Tomado de Rodak BF, 2005).

### 1.3. GENERALIDADES DE LAS LEUCEMIAS

Las leucemias representan las neoplasias hematológicas más frecuentes en la infancia. Son trastornos malignos de la médula ósea y de la sangre periférica caracterizados por el aumento en la producción de células inmaduras llamadas blastos <sup>(27, 65, 51)</sup>.

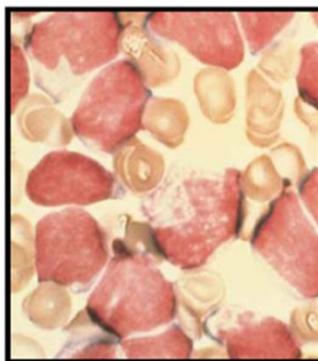
Las leucemias se pueden clasificar según el grado de diferenciación celular en agudas o crónicas. Se denominan agudas cuando se encuentran mayoritariamente células inmaduras e indiferenciadas y el porcentaje de blastos sea mayor al 20% y crónicas cuando estas células son maduras y diferenciadas con una blastosis menor al 10%. En la población infantil, el 97% de las leucemias son agudas y el 3% son crónicas <sup>(64, 14)</sup>.

Las leucemias afectan tanto a niños como adultos y pueden originarse de una estirpe celular linfoide o mieloide, de acuerdo a lo anterior, se distinguen dos tipos: Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) y Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA) <sup>(44)</sup>.

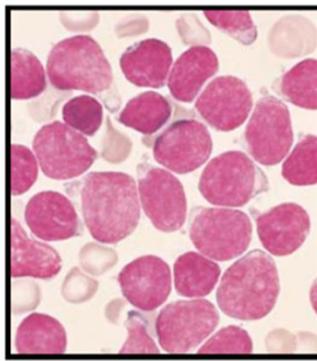
#### 1.4. CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS.

Las LA se pueden clasificar por varios métodos complementarios que incluyen morfología, inmunofenotipo, citogenética y análisis molecular <sup>(4)</sup>.

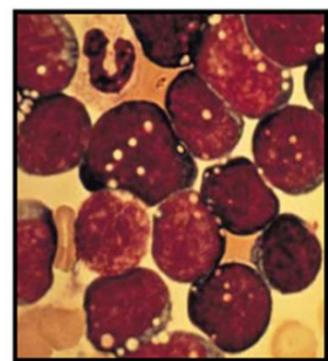
En 1976 el grupo Franco Americano Británico (FAB) propuso una clasificación basada en las características morfológicas de las células (Figura 4), en ella se evalúan parámetros como el tamaño celular, la irregularidad y tamaño del núcleo, el aspecto de la cromatina, el número y tamaño de los nucléolos, el grado de basofilia y la presencia de vacuolas en el citoplasma. Dicho grupo distingue tres variedades para la LLA: L1, L2 y L3 (Tabla 1) y para la LMA lo subdivide desde la M0 hasta la M7 (Tabla 2) (Figura 5) <sup>(4, 55, 25)</sup>.



a) L1  
Blastos regulares



b) L2  
Blastos heterogéneos con  
núcleolo prominente



c) L3  
Blastos grandes con  
vacuolas

**Figura 4.** Morfología característica de la LLA de acuerdo a la clasificación de la FAB. a) L1, b) L2 y c) L3. (Tomado de Gamal Abdul H, 2016).

**Tabla 1.** Clasificación FAB de las leucemias linfoblásticas agudas.

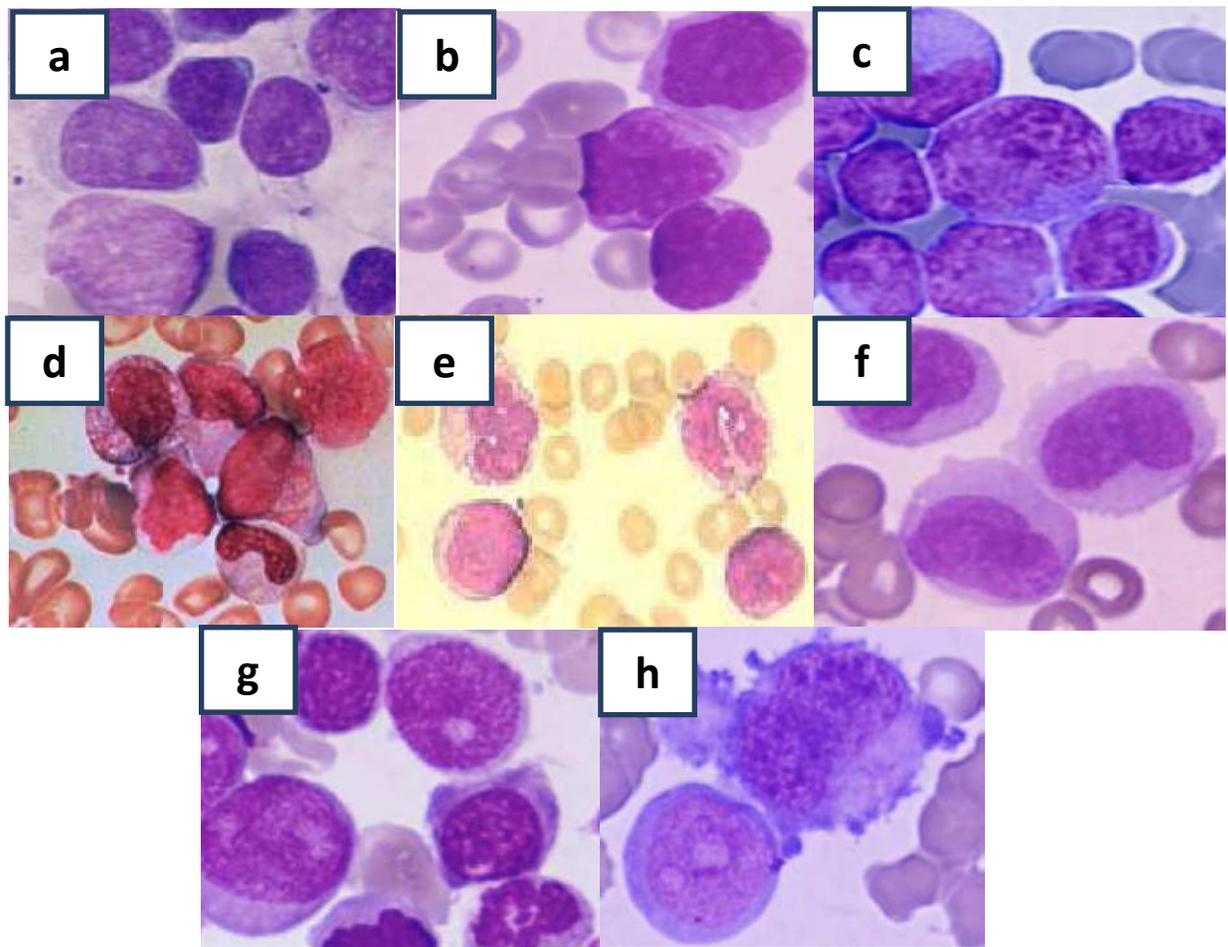
<b>Subtipo</b>	<b>Categoría</b>	<b>Comentarios</b>
<b>L1</b>	LLA infantil	Blastos son células pequeñas con citoplasma pequeño.
<b>L2</b>	LLA adulto	Blastos son células grandes con citoplasma medio.
<b>L3</b>	B-células maduras	Blastos son células redondas con citoplasma basófilo con presencia de vacuolas

(Tomado de Romero A, 2002; Sabrafen SJ, 2001)

**Tabla 2.** Clasificación FAB de las leucemias mieloblásticas agudas.

<b>Subtipo FAB</b>	<b>Denominación</b>
<b>M0</b>	Mieloblástica aguda con mínima diferenciación
<b>M1</b>	Mieloblástica aguda sin maduración
<b>M2</b>	Mieloblástica con maduración
<b>M3</b>	Leucemia Promielocítica Aguda
<b>M3h</b>	LAP, variante hipergranular
<b>M3v</b>	LAP, variante microgranular
<b>M4</b>	Leucemia Mielomonocítica Aguda
<b>M5</b>	Leucemia Monoblástica aguda
<b>M6</b>	Eritroleucemia
<b>M7</b>	Leucemia Megacarioblástica Aguda

(Tomado de Gamal Abdul H, 2016)



**Figura 5.** Morfología característica de la LMA de acuerdo a la clasificación de la FAB. a) M0, b) M1, c) M2, d) M3, e) M4, f) M5, g) M6 y h) M7 . (Tomado de Gamal Abdul H, 2016).

Otra clasificación se dio en 1997 propiciada por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Esta clasificación diferencia neoplasias mieloides y linfoides pero hace énfasis en las alteraciones citogenéticas presentes en la LLA y la LMA (Tabla 3 y Tabla 4)<sup>(4)</sup>.

**Tabla 3.** Clasificación OMS de las leucemias agudas linfoides.

---

<b>1) LLA de células precursoras-B</b>
Anormalidades citogenéticas
1. t(9;22)(q34;q11); BCR/ABL
2. t(4;11)(q21;q23); re-arreglos de MLL
3. t(1;19)(q23;p13); E2A/PBX1
4. t(12;21)(p13;q22); TEL/AML1
5. Hipodiploidías
6. Hiperdiploidías, >50 cromosomas
<b>2) LLA de células precursoras-T</b>
<b>3) LLA de células B maduras/ linfoma de Burkitt</b>

(Tomado de Vardiman JW, 2009)

**Tabla 4.** Clasificación OMS de las leucemias mieloblásticas agudas.

---

<b>1) LMA con anomalías citogenéticas recurrentes:</b>
LMA con t(8;21) (q22;q22), (AML1/ETO) LMA con Inv 16 (p13;q22), (CBFb/MYH11) LPA (LMA con t(15;17) (q22;q21), (PML/RAR $\alpha$ y variantes)
<b>2) LMA con displasia multilineaje:</b>
Con síndrome mielodisplásico previo Sin síndrome mielodisplásico previo
<b>3) LMA y síndromes mielodisplásicos relacionados con tratamientos previos:</b>
Relacionados con agentes alquilantes Relacionados con inhibidor de la topoisomerasa II

---

#### 4) LMA sin otra especificación:

LMA sin maduración  
LMA mínimamente diferenciada  
LMA con maduración  
Leucemia mielomonocítica aguda  
Leucemia aguda monocítica/monoblástica  
Leucemia aguda eritroide (eritroide/mieloide, eritroleucemia y puro)  
Leucemia aguda megacarioblástica  
Leucemia aguda basófila  
Panmielosis aguda con mielofibrosis  
Sarcoma mieloide

(Tomado de Vardiman JW, 2009)

En 1995 el Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de las Leucemias (EGIL) propuso un sistema de clasificación para distinguir los casos de leucemias agudas bifenotípicas, de aquellos con expresión aberrante de otro linaje. Este sistema se basa en puntajes que dan grados de especificidad a los linajes hematopoyéticos linfoide y mieloide, expresados en las células leucémicas <sup>(18, 11, 22, 32)</sup>.

De acuerdo a este sistema de clasificación, un caso considerado como bifenotipia se presenta cuando el valor del puntaje es mayor a 2 para el linaje mieloide y uno para el linaje linfoide (Tabla 5) <sup>(4, 7, 22)</sup>.

Los antígenos o marcadores seleccionados por EGIL fueron para el linaje B-linfoide: CD79a, que corresponde a una proteína transmembranal unida a inmunoglobulina, que forma parte del receptor para el reconocimiento de antígenos de linfocitos B. Así mismo, se seleccionó el CD22 que se expresa primero en el citoplasma de las células pro-B y pre-B. El CD10 también conocido como el antígeno común de la LLA, que es una metaloendopeptidasa de superficie celular de 100 kD que inactiva una serie de péptidos biológicamente activos <sup>(71)</sup> y la enzima TdT que se expresa en toda las etapas de maduración del linfocito B.

Para el caso del linaje T-linfoide, se eligió el CD3 que se une al receptor de células T y que se expresa en el citoplasma en el desarrollo temprano del linaje T. Y finalmente, para el linaje mieloide, se indicó la mieloperoxidasa (MPOx), que puede ser detectada por inmunocitoquímica convencional o anticuerpos monoclonales (AcMo) <sup>(4, 64, 67)</sup>.

**Tabla 5.** Sistema de clasificación del Grupo Europeo de Clasificación Inmunológica de Leucemias (EGIL).

<b>Escala EGIL</b>			
<b>Linajes</b>			
<b>Puntos</b>	<b>Linfoide B</b>	<b>Linfoide T</b>	<b>Mieloide</b>
<b>2</b>	CD79a		
	CD22	CD3	MPO
	IgM cyt		
<b>1</b>	CD19	CD2	CD13
	CD10	CD5	CD33
<b>0.5</b>	TdT	TdT	CD14,CD15
		CD7	CD11b,CD11c

(Tomado de Dorantes AE, 2013)

Los criterios propuestos por el EGIL distinguen tres tipos fundamentales de Leucemias Agudas Bifenotípicas (BAL): B-mieloide, T-mieloide y B-T-linfoide. Se ha descrito que la leucemia bifenotípica de mayor frecuencia es la de B-Mieloide siendo ésta de buen pronóstico. El fenotipo B/T es considerada como de pronóstico desfavorable <sup>(43, 63, 12)</sup>.

Este mismo grupo reconoce subtipos B o T caracterizados por la presencia de diversos marcadores inmunológicos. En la siguiente tabla se resume la clasificación de las LLA de fenotipo B (Tabla 6) <sup>(54, 8)</sup>.

**Tabla 6.** Subtipos inmunológicos de LLA-B, según el Grupo Europeo para la caracterización inmunológica de leucemias agudas (EGIL), 1995.

Subtipos	Marcadores inmunológicos
<b>LLAB1 o Pro-B</b>	CD79a+ y/o CD22+ y/o CD19+
<b>LLAB2 o Pre-B común</b>	CD79a+ y/o CD22+ y/o CD19+, CD10+
<b>LLAB3 o Pre-B</b>	CD79a+ y/o CD22+ y/o CD19+, $\mu$ intracitoplasmática
<b>LLAB4 o B madura</b>	CD79a+ y/o CD22+ y/o CD19+, IgM superficie +

(Tomado de Sabrafen SJ, 2001)

### 1.5. LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.

La LLA es una neoplasia que se origina por la proliferación en médula ósea y tejidos linfoides de células blásticas de origen B o T. Esta proliferación descontrolada, resulta en la acumulación de células inmaduras que interfieren y suprimen el adecuado desarrollo de las células normales, evitando la hematopoyesis normal e infiltrando órganos como ganglios linfáticos, bazo, hígado, meninges, sistema nervioso central (cerebro y médula espinal), gónadas y otros órganos <sup>(57, 17)</sup>.

### 1.6. EPIDEMIOLOGÍA

En México la frecuencia del cáncer en menores de 18 años de edad se encuentra entre las más altas del mundo. Esto se debe a que la incidencia es de 122 casos nuevos/millón de habitante por año, en niños menores de 15 años; además de que

el cáncer ocupa el segundo lugar de mortalidad en personas de 4 a 15 años de edad <sup>(53)</sup>.

Las leucemias agudas son el cáncer más frecuente en menores de 15 años; en México representan alrededor del 40% de todos los casos de cáncer y ocupan aproximadamente del 95 a 97% de todas las leucemias de la población infantil. Dentro de éstas, la LLA de precursores B, que es la más frecuente, representa el 76%, mientras que la LLA de fenotipo T constituye el 20% y finalmente la de estirpe mieloide el 15% <sup>(11, 41, 45, 53, 57, 61, 63, 69)</sup>.

En términos generales, el cáncer puede presentarse en cualquier etapa de la vida. En ese mismo contexto, el pico de incidencia máximo se establece entre los dos y los cinco años de edad. Además, la LLA predomina ligeramente en niños con respecto a niñas <sup>(29, 41, 53, 17)</sup>.

Se ha observado que en algunas zonas geográficas como los del Norte de África y Oriente Medio predominan las LLA de estirpe T; sin embargo, en los países industrializados la LLA de estirpe B es la neoplasia hematología más frecuente <sup>(29)</sup>.

## **1.7. FACTORES DE RIESGO**

Aunque la causa o las causas que originan las leucemias agudas se desconocen con precisión, se sabe que hay diversos factores que predisponen a sufrir este tipo de leucemias como son, principalmente, factores genéticos, ambientales, biológicos, inmunodeficiencias, entre otros (Tabla 7), aunque en la mayoría de los casos no es posible detectar las asociaciones que desencadenan dicho padecimiento <sup>(34, 55, 61)</sup>.

**Tabla 7.** Factores asociados con el origen de leucemias en niños.

<b>Factores</b>	<b>Ejemplos</b>
<b>Genéticos</b>	Síndrome de Down Síndrome de Klinefelter Anemia de Fanconi Síndrome de Bloom Síndrome de Kostman
<b>Ambientales</b>	Radiaciones Campos magnéticos Productos químicos y/o tóxicos Exposición <i>in utero</i> a rayos x Pesticidas
<b>Otros</b>	Edad de la madre Consumo de alcohol, tabaquismo Dieta

(Tomado de Mejía Aranguré, 2005; Romero A, 2002)

## 1.8. FACTORES PRONÓSTICOS

El pronóstico de las LLA y las LMA en niños ha mejorado notablemente gracias a las terapias adaptadas al riesgo y alcanzan tasas de curación hasta del 80% <sup>(53)</sup>.

Los criterios actuales para la estratificación de los pacientes en distintos grupos de riesgo no sólo son clínicos (edad, número de leucocitos, infiltración del sistema nervioso central y respuesta inicial al tratamiento), sino también se basan en inmunofenotipos, alteraciones genéticas y moleculares <sup>(52)</sup>.

El tratamiento en pacientes con leucemia aguda, tanto LLA como LMA, depende de los factores pronósticos, es decir, el tratamiento se intensifica en individuos con

factores de mal pronóstico, y por el contrario, se administra un tratamiento menos agresivo en aquellos con factores de buen pronóstico, con el fin de atenuar la mortalidad por toxicidad. De esta manera, se ha aumentado la supervivencia a nivel mundial y por ello, es muy importante identificar todos los factores pronósticos para estos enfermos (Tabla 8) <sup>(57)</sup>.

**Tabla 8.** Factores pronósticos relacionados con la mortalidad en niños con leucemia linfoblástica aguda.

<b>Factor</b>	<b>Indicador</b>	<b>Pronóstico (relacionado con la mortalidad)</b>
Edad al diagnóstico	1 a 10 años	Bueno
Sexo	Femenino	Bueno
Cuenta inicial de leucocitos	>50,000/ $\mu$ L	Malo
Inmunofenotipo	Cel B CALLA* (+)	Bueno
Hiperdiploidia(>50 cromosomas)	Presencia	Bueno
Translocación t(9;22)	Presencia	Malo
Translocación t(12;21)	Presencia	Bueno
Translocación t(4;11)	Presencia	Malo

\* CALLA: antígeno de la leucemia linfoblástica común

(Tomado de Layton Tovar C, 2015; Villasis Keever, 2012)

## 1.9. ALTERACIONES CITOGÉNÉTICAS EN LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

El análisis citogenético en pacientes con LLA ha permitido el reconocimiento de alteraciones cromosómicas específicas de gran importancia pronóstica. Los niños con LLA pueden presentar anormalidades citogenéticas tanto numéricas como estructurales, pudiendo encontrar casos con hipodiploidía (<46 cromosomas), hiperdiploidía (>46 cromosomas), trisomías, tetraploidías y translocaciones balanceadas. <sup>(31, 57)</sup>.

De acuerdo a la OMS, las alteraciones más frecuentes en los pacientes con LLA son las translocaciones t(9;22)(q34;q11) (BCR-ABL); t(12;21)(p12;q22) (TEL-AML1); t(1;19) (E2A-PBX1); y los re-arreglos en el gen MLL (mixed lineage Leukemia) como t(4;11)(q21;q23). (Tabla 9) <sup>(1, 62)</sup>.

Las anormalidades citogenéticas con mayor frecuencia y significado en la LMA, de acuerdo a la OMS, son las translocaciones (15;17)(q21;q22) de la LMA-M3, la translocación (8;21)(q22;q22) de la LMA-M2, la t(9;11)(q22;q23) (menos frecuente), además de la inversión del cromosoma 16 (Inv 16) presente en la LMA-M4. (Tabla 10) <sup>(1, 62)</sup>

Las translocaciones (15;17), (8;21) e Inv 16 se relacionan con un mejor pronóstico, con una mayor probabilidad de lograr la remisión y una supervivencia más prolongada.

El mayor impacto en el tratamiento de pacientes con LLA ha sido la demostración de que la citogenética es un indicador pronóstico independiente de otras variables clínicas <sup>(31)</sup>.

**Tabla 9.** Alteraciones genéticas en la leucemia linfoblástica aguda infantil y su valor pronóstico.

<b>Anomalia cromosómica</b>	<b>Anomalia molecular</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Valor pronóstico</b>
<b>t(12;21)(p13;q22)</b>	Fusión TEL-AML1	20-25%	Bueno-excelente
<b>t(9;22)(q34;q11)</b>	Fusión BCR-ABL	3%	Desfavorable
<b>t(1;19)(q23;p13)</b>	Fusión E2A-PBX1	5-6%	Normal
<b>t(4;11)(q21;q23)</b>	Fusión MLL-AF4	2%	Muy desfavorable
<b>t(11;19)(q23;p13)</b>	Fusión MLL-ENL	1%	Desfavorable
<b>Hiperdiploidía</b>	>50 cromosomas	20-25% (LLA-B)	Favorable
<b>Trisomías</b>	Cromosomas 4,10,17	¿?	Excelente
<b>Hipodiploidía</b>	<45 cromosomas	1%	Desfavorable

(Tomado de Martín Ramos ML, 2001; Alonso J, 2005)

**Tabla 10.** Alteraciones genéticas en la leucemia mieloblástica aguda infantil y su valor pronóstico

Anomalía cromosómica	Genes implicados	Frecuencia	Valor pronóstico
t(8;21)(q22;q22)	RUNX1/CBF	12%	Favorable
Inv 16(p13q22)	A2T1	12%	
t(15;17)(q21;q12)	CBFb-MYH11 PML-RARa	7%	
Alteraciones 11q23 <sup>1</sup>	MLL	60%	Desfavorable
t(6;9)(p23;q34)	DEK/CAN	Escasa	
t(3;3)(q21;q26)	EVI1	3%	
Inv 3(q21;q26)		Escasa	
-5/del(5q)		10%	
-7/del(7q)			
<sup>1</sup> Alteraciones de 11q23 incluyen: t(4;11)(q21;q23), t(9;11)(p22;q23), t(11;19)(q23;p13.3), t(11;19)(q23;p13).1)			

(Tomado de Martín Ramos ML, 2001; Alonso J, 2005)

### 1.9.1. TRANSLOCACIÓN TEL-AML1 t(12;21)(p13;q22)

*TEL(ETV6)-AML1(RUNX1)* es el transcrito resultante de la t(12;21)(p13;q22) y se puede encontrar aproximadamente en el 25% de la LLA de origen B de la infancia, es una característica constante en este subtipo de leucemia la positividad para CD10. En la mayoría de las series publicadas se encuentra asociada a una evolución favorable <sup>(10, 49)</sup>.

### **1.9.2. TRANSLOCACIÓN BCR-ABL t(9;22) (q34;q11)**

Fue la primera anomalía asociada al cáncer. De dicha translocación se genera el reordenamiento BCR-ABL que da lugar a una proteína quimérica con una actividad tirosin cinasa aumentada <sup>(10)</sup>. Se detecta en el 95% de los casos de las leucemias mieloides crónicas por lo que se considera específica de esta patología; mientras que en las LLA del adulto, la t(9;22) se detecta en el 15 y 30% de los casos y en el 5% de los niños. Esta alteración confiere un mal pronóstico <sup>(31, 58, 20)</sup>.

### **1.9.3. TRANSLOCACIÓN MLL-AF4 t(4;11)(q21;q23)**

Esta translocación está asociada específicamente con LLA de infantes menores de 1 año de edad, es descrita en el 85% de los casos. Estos pacientes usualmente tienen inmunofenotipo pro-B (CD10-) y un alto conteo en el número de leucocitos. El pronóstico es malo y la supervivencia es menor de 2 años, por lo que el trasplante alogénico es el tratamiento de elección <sup>(23, 60)</sup>.

### **1.9.4. TRANSLOCACIÓN E2A-PBX1 t(1;19)(q23;p13)**

La t(1;19) se halla en el 25% de los niños con LLA pre-B. Existen dos formas de la translocación: la balanceada t(1;19)(q23;p13) y la desbalanceada der(19)t(1,19). La consecuencia molecular en ambas es la fusión del gen E2A localizado en 19p13 con el gen PBX1 en 1q23, originando un gen quimérico cuyo producto es una proteína aberrante que actúa como un potente activador de la transcripción. Las características clínicas de LLA con t(1;19) incluyen una edad media de 5 años, un recuento de células blancas de 21-28 x 10<sup>9</sup>/L, altos valores de lactato deshidrogenasa (LDH) y un índice de ácido desoxirribonucleico (ADN) < 1.6 <sup>(31, 60)</sup>.

## **1.10. DIAGNÓSTICO DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS**

El diagnóstico en caso de sospecha de LA se hace con base en las manifestaciones clínicas, exploración física y datos de laboratorio como el estudio citológico, citoquímico, inmunofenotípico y citogenético <sup>(29, 9)</sup>.

La evaluación de la MO es esencial en el diagnóstico y manejo de numerosas hemopatías y el aspirado de médula ósea (AMO) es la técnica de elección para el estudio citológico de los elementos de las distintas líneas hematopoyéticas <sup>(40)</sup>.

Finalmente, para establecer el diagnóstico de leucemia aguda, el porcentaje de blastos de sangre periférica (SP) o de MO debe ser más del 20%, esto es con base a las recomendaciones internacionales de la OMS <sup>(21, 57)</sup>.

### **1.11.2. INMUNOFENOTIPIFICACIÓN DE LEUCEMIAS**

Se define como inmunofenotipo al proceso de identificación de los marcadores de la membrana celular y citoplasmáticos que expresa una célula, en las diversas etapas de su maduración con el uso de anticuerpos monoclonales <sup>(36)</sup>.

El inmunofenotipo de leucemias mediante citometría de flujo es un componente útil y necesario clínicamente para la clasificación, pronóstico y monitoreo de estas patologías ya que contribuyen a definir grupos de riesgo y a determinar el origen de las células neoplásicas si son de línea linfoide o mieloide <sup>(15)</sup>.

Para determinar el inmunofenotipo, es recomendable el empleo simultáneo de anticuerpos monoclonales (AcMo) citoplasmáticos y de membrana que permitan identificar con mayor exactitud la población blástica. La utilización del anticuerpo CD45 combinado con el side scatter (SSC) es de gran utilidad, pues permite una mejor identificación y caracterización fenotípica de las células leucémicas <sup>(57)</sup>.

Para determinar la positividad de una población celular respecto a la expresión un marcador específico el grupo Europeo EGIL recomienda establecer un punto de corte de más del 20% <sup>(42, 54)</sup>.

## **2. JUSTIFICACIÓN**

El cáncer es hoy en día la segunda causa de muerte a nivel mundial y son las leucemias el tipo histológico de mayor prevalencia en la población pediátrica, las cuales representan en México el 40% de todas las neoplasias. Una manera de clasificar a las leucemias agudas es por medio de marcadores inmunológicos (inmunofenotipo), que se realiza por citometría de flujo; con base a ello, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda ampliamente seguir la clasificación del Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de las Leucemias (EGIL) y de esta manera, establecer un diagnóstico, pronóstico y tratamiento específico para este tipo de enfermedades hematológicas en pacientes pediátricos.

### **3. HIPÓTESIS**

La utilización de los criterios inmunológicos propuestos por el Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de las Leucemias nos va permitir conocer el inmunofenotipo más frecuente en pacientes pediátricos.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. OBJETIVO GENERAL**

Clasificar inmunológicamente a las leucemias agudas (LA) aplicando los criterios propuestos por el EGIL, para determinar el inmunofenotipo más frecuente presente en pacientes pediátricos con diagnóstico de LA en el HIMFG, durante un período comprendido del 2010 a 2015.

### **4.2. OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Conocer la distribución por grupo de edad y género de los pacientes diagnosticados con LA del HIMFG.
2. Establecer la frecuencia de las leucemias bifenotípicas en pacientes pediátricos del HIMFG.

## **5. MATERIAL Y MÉTODOS**

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo en el cual se revisaron los resultados de 549 pacientes pediátricos con diagnóstico de Leucemia Aguda (LA) que acudieron al Hospital Infantil de México Federico Gómez de enero de 2010 a diciembre de 2015. Se utilizaron los criterios propuestos por el EGIL para clasificar a las LA (Véase Tabla 5)

### **5.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.**

- ✓ Pacientes menores de 18 años de edad.
- ✓ Pacientes con diagnóstico de LA confirmada por citometría de flujo.
- ✓ Ambos géneros.
- ✓ Expresión de antígenos  $\geq 20\%$ .
- ✓ Pacientes del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

### **5.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.**

- ✓ Pacientes sin expediente en HIMFG.
- ✓ Pacientes con diagnóstico diferente a LA.
- ✓ Expresión de antígenos  $<20\%$ .

### 5.3. DIAGRAMA DE FLUJO.

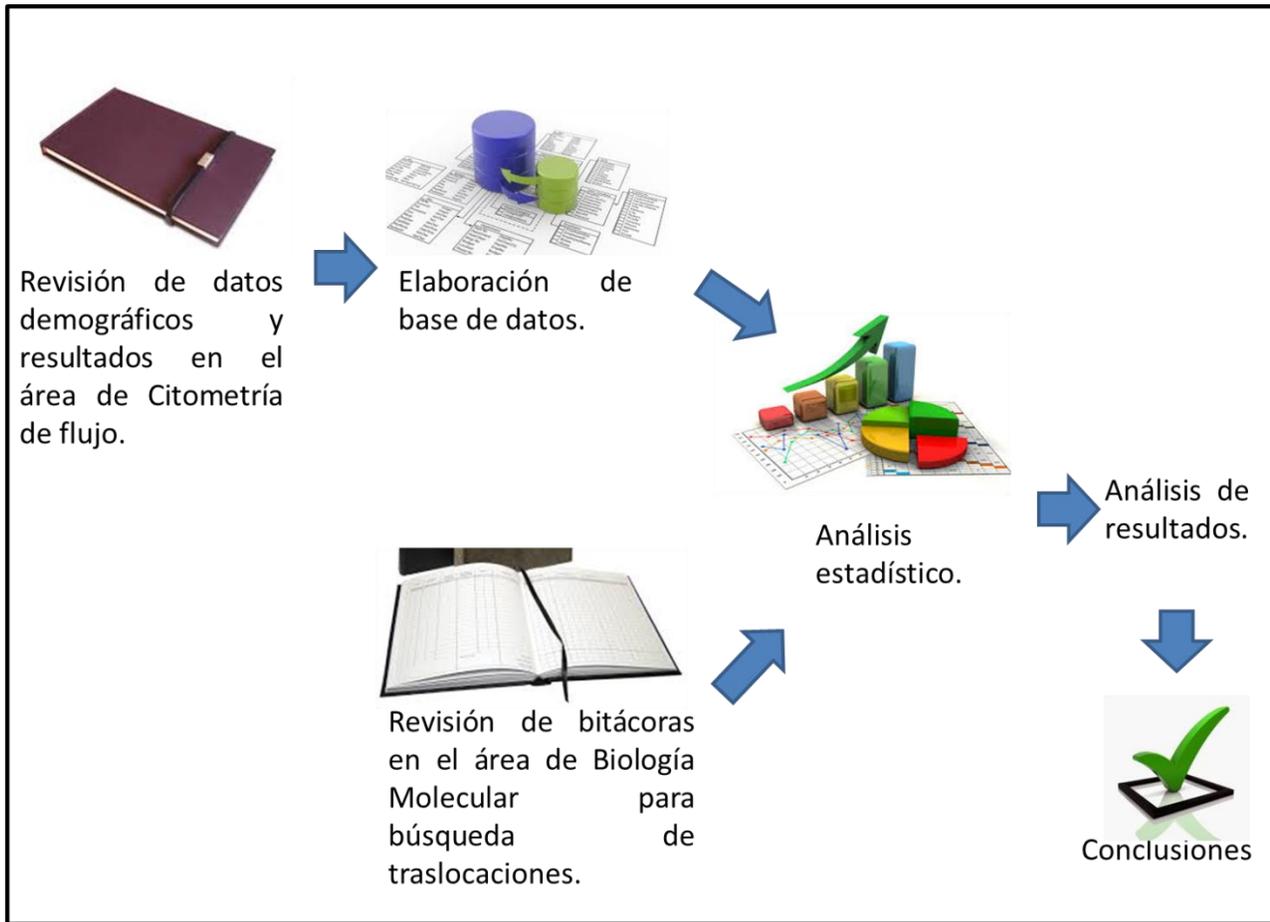


Figura 6. Diagrama de flujo.

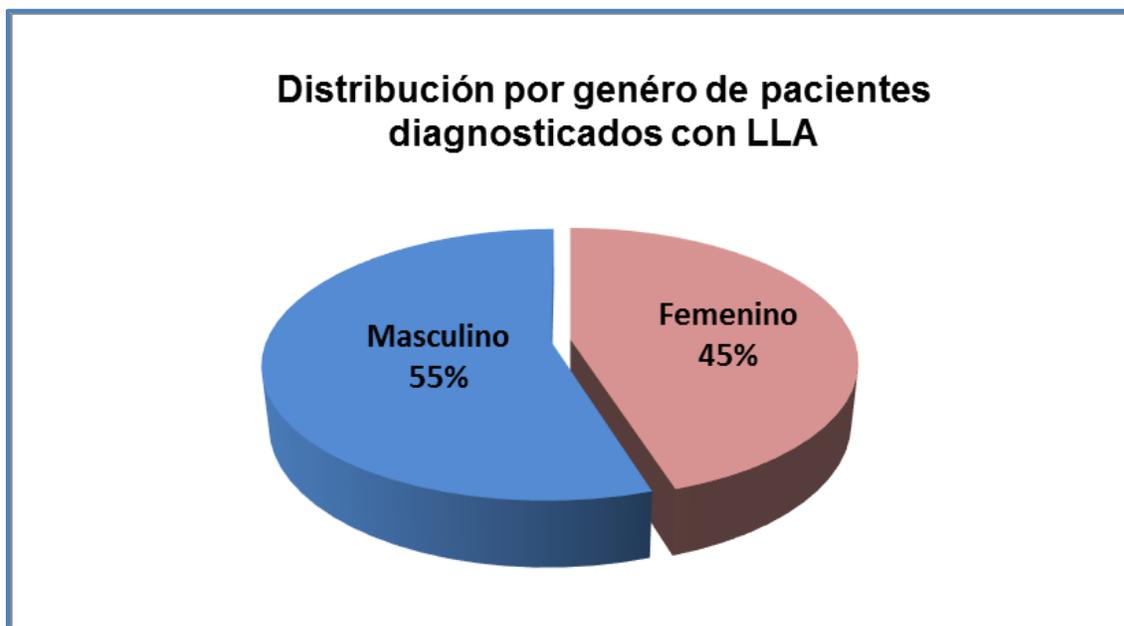
### 5.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los resultados se analizaron mediante estadística descriptiva. Se determinaron frecuencias y porcentajes.

## 6. RESULTADOS

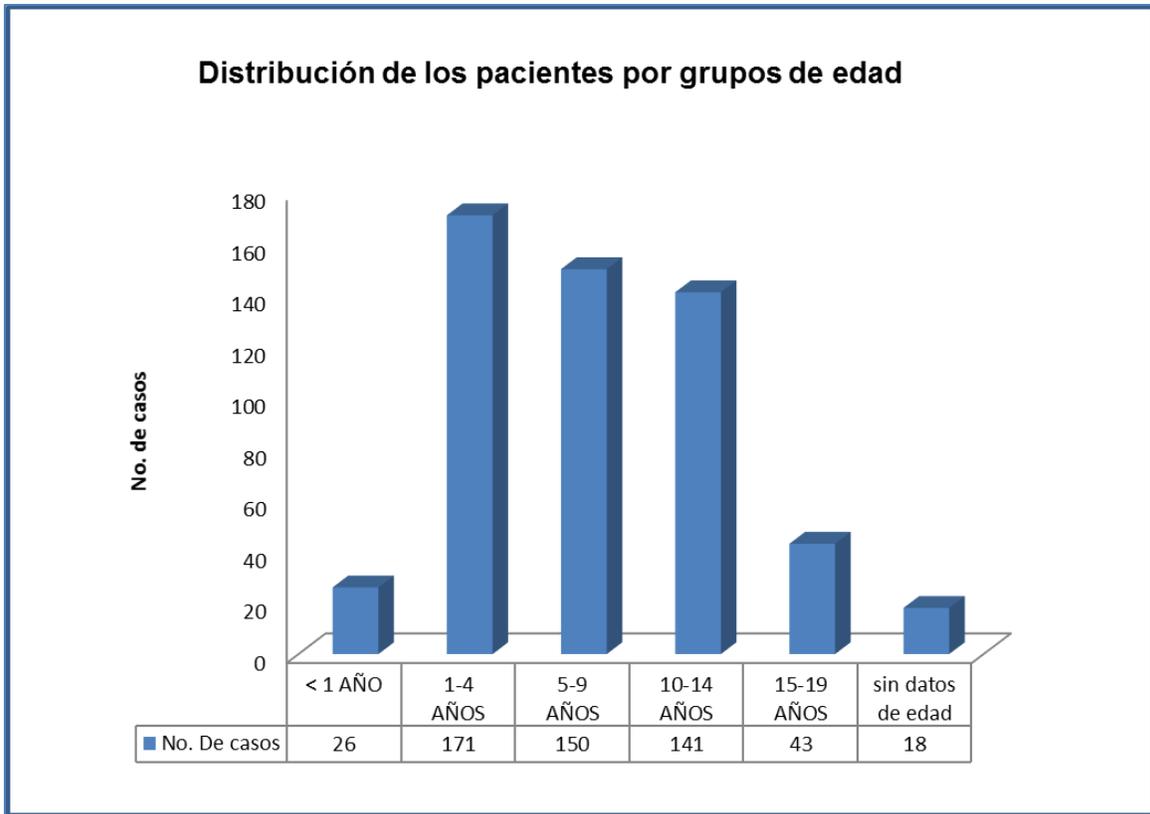
Se revisó la bitácora de trabajo del laboratorio de citometría de flujo del Hospital Infantil de México Federico Gómez, a partir de enero del 2010 a diciembre de 2015.

Se encontraron 549 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión. De los cuales 302 (55%) correspondieron al género masculino y 247 (45%) al femenino (Figura 8).



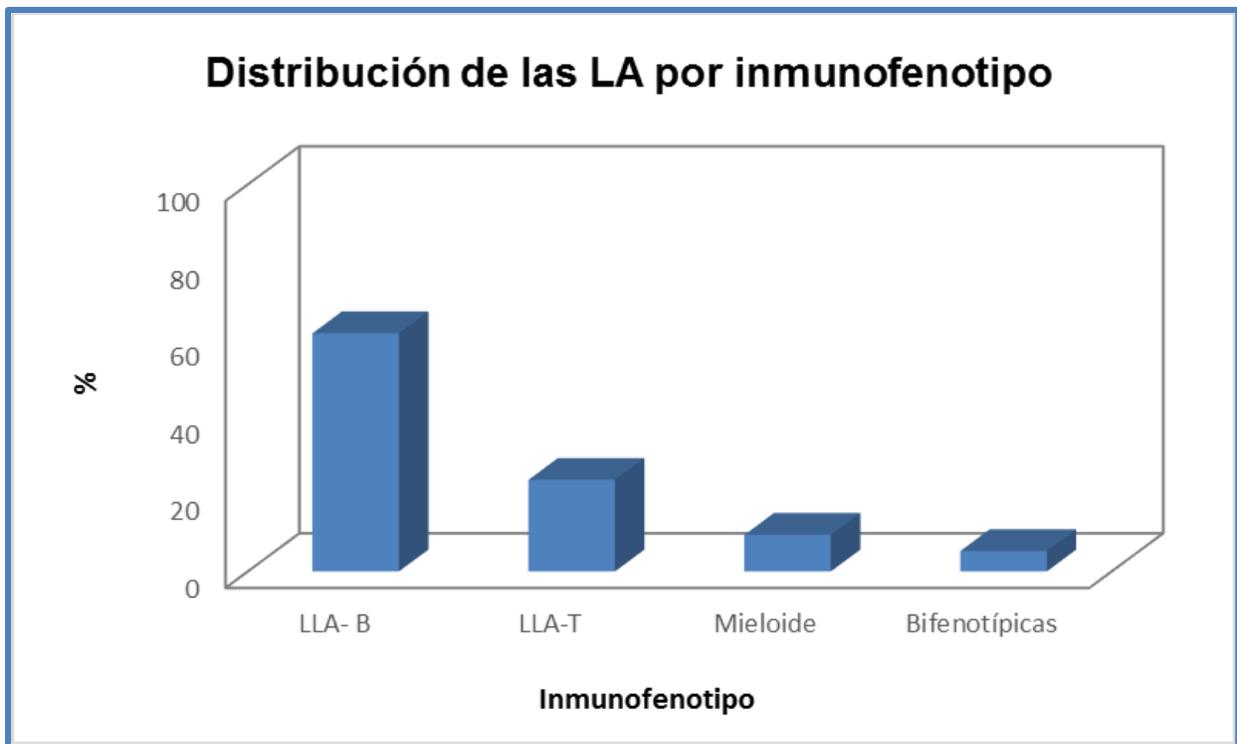
**Figura 7.** Distribución de los pacientes por género expresada en porcentaje.

El total de la población de estudio fue dividida en cinco grupos de edad, basados en el Perfil Epidemiológico del Cáncer en Niños y Adolescentes de la Secretaría de Salud <sup>(47)</sup>. En este estudio las edades de los pacientes se encontraron entre 2 meses y 18 años de edad, el rango más frecuente fue de 1-4 años (31%) mientras que los pacientes menores de 1 año, representaron el menor porcentaje (Figura 9).



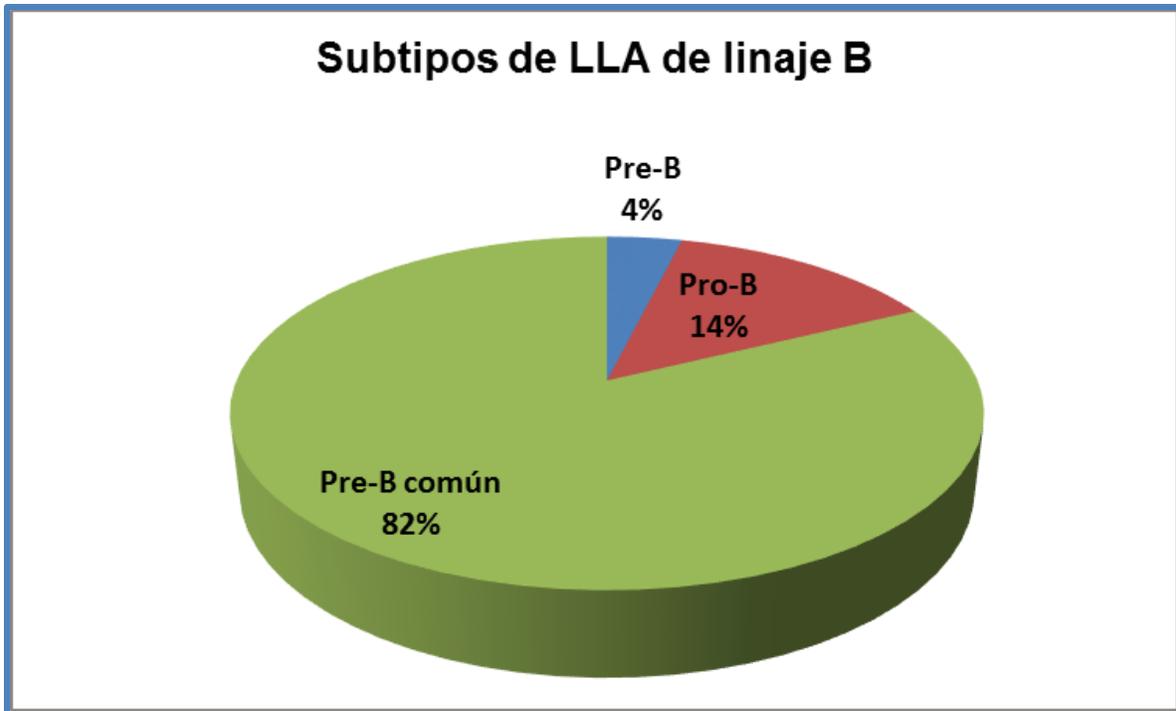
**Figura 8.** Distribución de los grupos de edades de los pacientes estudiados. Los resultados se expresan en frecuencias.

De los 549 pacientes diagnosticados con leucemia aguda, 338 casos (61.6%) correspondieron a LLA-B, 130 (23.7%) casos de LLA-T, 52 (9.5%) casos para LMA y finalmente las leucemias bifenotípicas con 29 casos y que conformaron el 5.3% de la población estudiada (Figura 10).



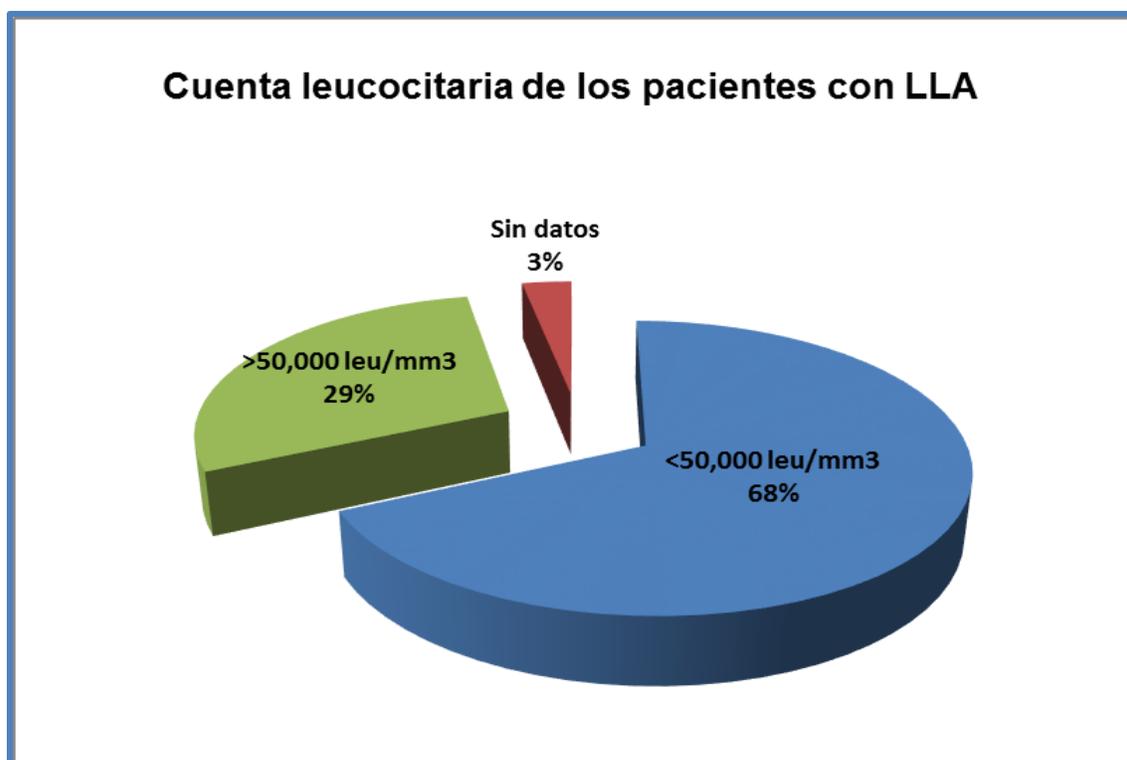
**Figura 9.** Distribución de pacientes por inmunofenotipo

Los pacientes diagnosticados con LLA de linaje celular B se subclasificaron en subtipos. Los resultados encontrados mostraron para el linaje Pro-B 47 casos (14 %), para el Pre-B común 278 (82 %) y para Pre-B 13 casos (4 %) (Figura 11).



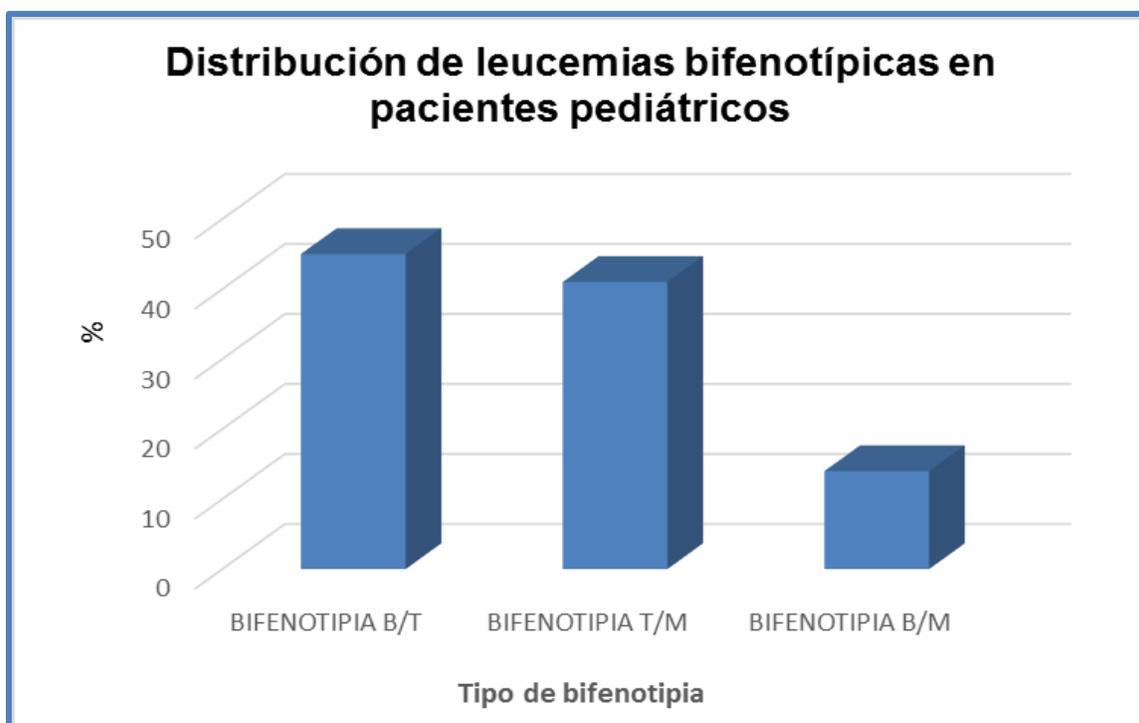
**Figura 10.** Distribución de los subtipos de LLA-B.

De la misma manera, se revisaron los datos de cuenta leucocitaria para cada paciente. Se encontró que 374 pacientes (68.1%) tenían cuentas leucocitarias menores a  $50,000 \text{ leu/mm}^3$ , en 158 casos (28.8%) los recuentos de leucocitos fueron mayores a  $50,000 \text{ leu/mm}^3$  y finalmente, no se encontró este dato de 17 pacientes (3.1%) (Figura 12).



**Figura 11.** Cantidad de leucocitos en los pacientes diagnosticados con LLA.

Asimismo, se analizaron los 29 pacientes que cumplieron con los criterios de leucemia bifenotípica aguda de acuerdo al EGIL, se encontró que 12 casos (41.4 %) se clasificaron como fenotipo B/Mieloide, 13 (44.8 %) como B/T y 4 (13.8 %) pacientes como T/Mieloide (Figura 13).

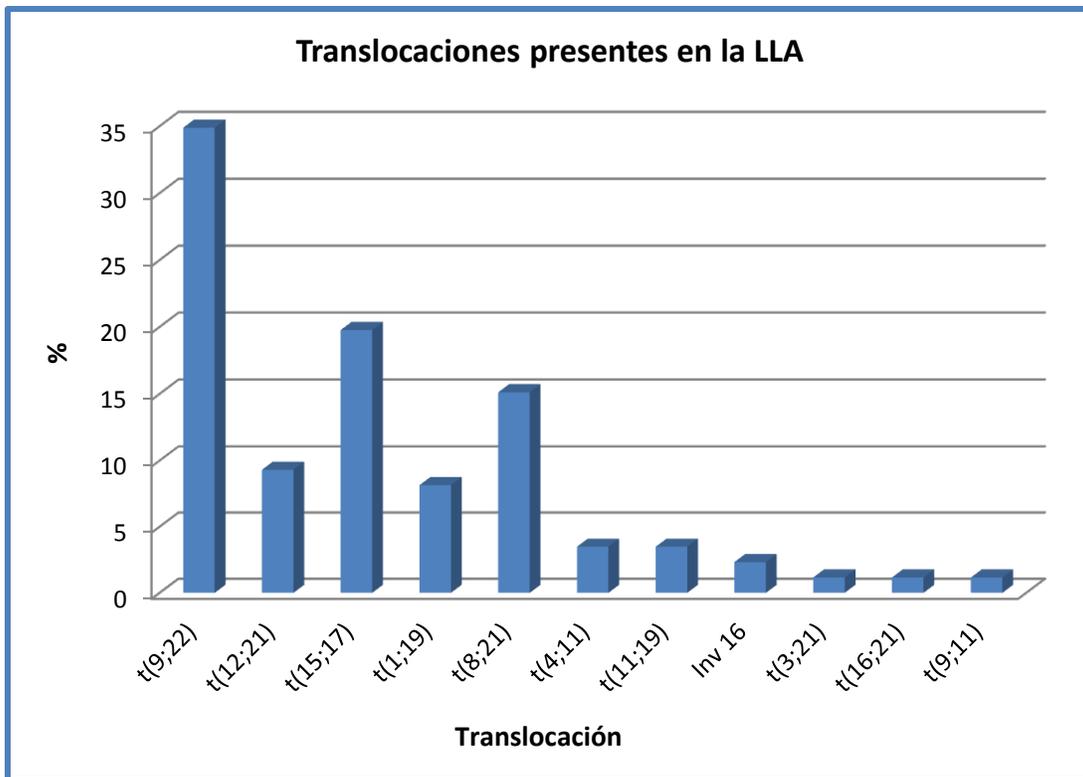


**Figura 12.** Distribución de leucemias bifenotípicas en población pediátrica del HIMFG. Los resultados se expresan en porcentajes.

Además, se revisaron las bitácoras del área de Biología Molecular para la búsqueda de alteraciones cromosómicas presentes en los pacientes con LA. De los 549 pacientes estudiados se encontró que 140 (25.5%) pacientes presentaron una translocación.

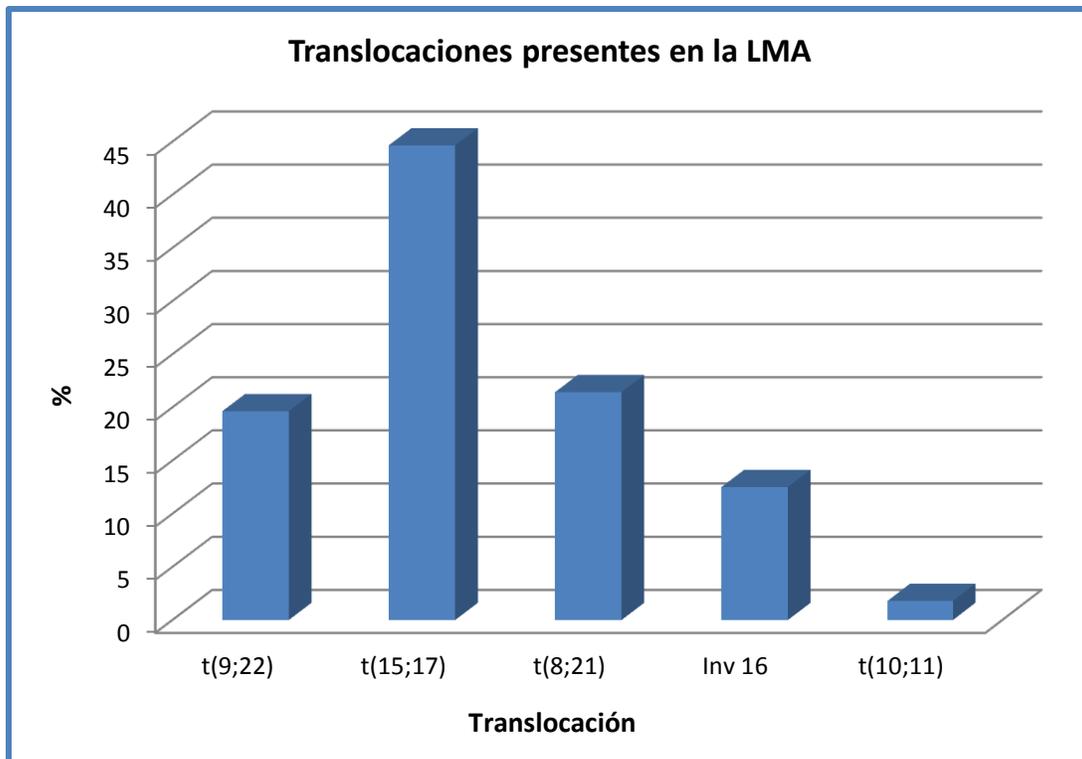
Se analizaron dos períodos diferentes a partir de enero del 2010 a mayo 2013 y de mayo 2013 a diciembre del 2015, esto es debido a que durante el primer período únicamente se determinaban cuatro translocaciones (9;22), (15;17), (8;21) e Inv 16 y para el segundo período se implementó un panel con 28 de translocaciones cromosómicas.

Para la LLA durante los dos periodos se encontraron un total de 86 pacientes con alteraciones cromosómicas de las cuales el cromosoma Ph fue el más frecuente con 30 casos (34.8%), 17 (19.7%) presentaron la t(15;17) , 13 (15.1%) la t(8;21), seguida de la t(12;21) con 8 casos (9.3%), después la t(1;19) se observó en 7 pacientes (8.1%) , la t(11;19) se detectó en 3 casos (3.4%), tres pacientes (3.4%) tuvieron la t(4;11), Inv 16 se encontró en dos pacientes (2.3%) y finalmente las t(9;11), t(3;21), y t(16;21) con un caso cada una (1.1%) (Figura 14).



**Figura 13.** Distribución de las translocaciones presentes en la LLA durante el período 2010-2015. Los resultados se expresan en porcentajes.

Para la LMA se encontró un total de 56 pacientes, la translocación (15;17) fue la de mayor frecuencia con 25 casos que corresponden al 44.6%, 12 casos (21.4%) para t(8;21), el cromosoma Ph se observó en 11 pacientes (19.6%), seguida de la Inv 16 con 7 casos (12.5%) y finalmente la t(10;11) con 1 caso (17%). (Figura 15)



**Figura 14.** Distribución de las translocaciones presentes en la LMA durante el período 2010-2015. Los resultados se expresan en porcentajes.

Finalmente, también se analizaron las alteraciones cromosómicas presentes en los pacientes diagnosticados con leucemia aguda bifenotípica (BAL) encontrando únicamente dos pacientes que presentaron la t(9;22) (Tabla 11).

**Tabla 11.** Resultados detallados al aplicar la escala de EGIL y translocaciones presentes en las Leucemias bifenotípicas.

Caso #	Puntuación EGIL			Diagnóstico final	Translocaciones						
	M	L-B	L-T		t(9;22)	Inv 16	t(15;17)	t(8;21)	t(1;19)	t(4;11)	t(12;21)
1	0.0	3.0	3.5	B/T	Sin datos						
2	3.0	3.0	0.0	B/M	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
3	3.5	3.0	0.0	B/M	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
4	3.5	3.0	0.0	B/M	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
5	3.5	3.0	0.0	B/M	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
6	3.0	3.0	0.0	B/M	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
7	3.0	3.0	0.0	B/M	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
8	3.5	3.0	0.0	B/M	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
9	0.0	3.0	3.5	B/T	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
10	0.0	3.0	3.5	B/T	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
11	0.0	3.0	1.5	B/T	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
12	3.0	3.0	0.0	B/M	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
13	0.0	3.0	3.5	B/T	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
14	0.0	3.0	1.5	B/T	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
15	3.0	0.0	3.0	T/M	Sin datos						
16	0.0	3.0	3.5	B/T	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
17	2.5	0.0	3.5	M/T	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
18	0.0	3.0	1.5	B/T	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
19	0.0	1.5	1.5	B/T	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
20	3.0	0.0	1.5	T/M	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
21	3.5	3.0	0.0	M/B	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
22	3.5	3.0	0.0	M/B	POSITIVO	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
23	3.5	3.0	0.0	M/B	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
24	0.0	3.0	1.5	B/T	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
25	0.0	3.0	3.0	B/T	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
26	3.5	0.0	3.0	T/M	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
27	0.0	3.0	3.5	B/T	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
28	0.0	3.0	3.5	B/T	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
29	3.0	3.0	0.0	B/M	POSITIVO PARA t(9;22)						

## 7. DISCUSIÓN

La Leucemia Linfoblástica Aguda, es el cáncer que se presenta con mayor frecuencia en pacientes menores de 18 años <sup>(29)</sup>.

En la literatura internacional se han descrito los factores de riesgo en este tipo de pacientes; siendo los más conocidos la edad, la cuenta de leucocitos al diagnóstico, el tipo celular, la presencia de alteraciones numéricas o estructurales entre otros <sup>(65)</sup>.

En el presente trabajo se revisaron un total de 549 resultados de inmunofenotipo por Citometría de Flujo de pacientes pediátricos del HIMFG. Con respecto al género, la literatura establece que la LLA es más frecuente en niños con respecto a niñas, con base a los resultados obtenidos se pudo observar que la leucemia predomina en el género masculino (55%), esto coincide con estudios previos realizados por Bekker Mendez *et al.* en el 2010 quienes estudiaron una población de 638 pacientes con diagnóstico de LA y encontraron esta enfermedad presente en el 52.4% de hombres y 47.6% en mujeres. De la misma manera, Muthappa A. *et al.* en un estudio realizado en Omán en el año 2002 encontraron que el 63.89% correspondía al género masculino y en la Ciudad de México Jiménez Morales *et al.* analizaron un total de 52 pacientes de los cuales el 55% de casos de LA eran del género masculino y 45% para el femenino <sup>(26, 29, 37, 38, 41, 43 65)</sup>.

La edad de los pacientes estuvo comprendida entre los 2 meses hasta los 18 años de edad. Los grupos de edades se hicieron con base a la clasificación de la Secretaría de salud <sup>(47)</sup>. En la literatura se reporta que el pico de incidencia de las leucemias agudas es de los 2 a los 5 años de edad, y el rango de edad más frecuente en la población del HIMFG fue de 1 a 4 años (31%), seguido por pacientes de 5 a 9 años con un 27%. Estos resultados son similares a los obtenidos por Muthappa A. *et al.* en el 2002 en Omán quienes encontraron que la LLA se presentó con mayor frecuencia en pacientes de 1- 10 años (76.5%) <sup>(37, 59)</sup>. Esto nos dice que las LA se pueden presentar en cualquier etapa de la vida, desde recién nacidos hasta personas de la tercera edad, sin embargo, podemos observar que los niños y niñas dentro de este rango de edad son más susceptibles de adquirir este tipo de enfermedades

hematológicas.

El inmunofenotipo de mayor frecuencia en pacientes pediátricos fue la LLA de precursores B (61.6%), ésta fue baja al compararla con la obtenida en la Ciudad de México por Jiménez Morales *et al.* en 2008 que trabajaron con 52 pacientes y reportaron el 77.5% y por Bekker Méndez *et al.* en 2010 quienes recolectaron datos de 8 hospitales de concentración del área metropolitana y obtuvieron 85.1% de prevalencia. También, en un estudio realizado por Coccé C. *et al.* en 1991 en Argentina, demostraron la prevalencia de la LLA-B con un 82.6%. A pesar de que los resultados obtenidos en este estudio fueron menores respecto a los reportados por otros autores, se confirmó que la LLA-B es la enfermedad hematológica más frecuente en pacientes pediátricos <sup>(3, 5, 13, 26, 29, 50, 53)</sup>.

Con respecto a la LLA de precursores B, el subtipo de mayor frecuencia en los pacientes del HIMFG fue Pre-B común (CD10+) con un 82% lo cual coincide con un estudio realizado en la Ciudad de México por Jiménez Morales *et al.* quienes observaron al subtipo Pre-B común como el fenotipo de mayor frecuencia con 67% <sup>(26)</sup>. Se ha demostrado que los pacientes con positividad para CD10+ tienen un pronóstico favorable, es decir, reaccionan mejor ante la quimioterapia en comparación con aquellos que no lo tienen <sup>(57)</sup>.

Asimismo, se revisaron las cuentas leucocitarias de los pacientes incluidos en este estudio y se encontró que en el 68.1% de ellos tuvieron el número de leucocitos inferiores a 50,000 leu/mm<sup>3</sup>. Se ha descrito que el número de leucocitos al momento del diagnóstico es un factor pronóstico clave y universal que generalmente define a los pacientes como de alto o bajo riesgo ya que pacientes con cuentas leucocitarias superiores a 50,000 leu/mm<sup>3</sup> son considerados como casos de alto riesgo, y por lo general requieren de un tratamiento más intensivo <sup>(30)</sup>.

Las leucemias bifenotípicas son raras en los niños y representan menos del 5% de todas las leucemias agudas <sup>(6, 19, 32, 35, 66, 67)</sup>. En este estudio se encontró que el grupo de leucemias bifenotípicas correspondió al 5% de todas las leucemias, una vez más nuestro resultado coincidió con lo que se menciona en la literatura acerca de la frecuencia de este tipo de

leucemia en pacientes pediátricos también concordó con los estudios realizados por Bekker Méndez *et al.* en la Ciudad de México en el año 2010 quienes obtuvieron el 4.1% y con los de Coccé C. *et al.* en Argentina en 2014 que reportaron el 2.4%. Sin embargo, no coincidieron con lo obtenido por Dorantes *et al.* en México en el 2008 quienes también realizaron dichas clasificaciones en pacientes pediátricos del HIMFG y obtuvieron el 28.3% de casos de bifenotipia <sup>(5, 13, 18)</sup>.

El fenotipo que más se presentó en los pacientes del HIMFG fue la B-T-linfoide con un total de 13 casos que representaron el 2%, dichos datos son similares a los obtenidos en estudios previos realizados por Dorantes *et al.* quienes encontraron 7 casos para fenotipo B/T siendo este el más frecuente en su población, no obstante, Owaidah TM *et al.* en el 2000 obtuvo que el 65% de pacientes pediátricos en Arabia Saudita eran portadores de bifenotipia B/M y Al-Seraihy *et al.* en el 2000 encontraron al fenotipo B/M (58.3%) como el de mayor frecuencia en población pediátrica de Malasia <sup>(2,18, 26, 43, 67, 68)</sup>.

Se han determinado otros factores aparte de la edad, género, cuenta de leucocitos al diagnóstico e inmunofenotipo, los cuales también determinan una respuesta al tratamiento como son las alteraciones genéticas ya sean numéricas o estructurales. El análisis molecular y citogenético en pacientes con LA, se basa principalmente en la búsqueda de alteraciones cromosómicas mediante la técnica de hibridación fluorescente in situ (FISH) o Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) <sup>(52)</sup>.

Las translocaciones más frecuentes en la LLA son: t(9;22), t(4;11), t(1;19) y la t(12;21). Las tres primeras alteraciones son consideradas de muy mal pronóstico y además, se asocian con falla terapéutica, especialmente la t(9;22); por el contrario, la t(12;21) está asociada con un buen pronóstico <sup>(1)</sup>.

De los 549 pacientes con diagnóstico de LA analizados en este estudio, se encontró que 140 (25.5%) tenían alteraciones cromosómicas. Como se mencionó antes se dividieron en dos períodos debido a la diferente forma de trabajo que se empleó para cada uno de ellos. Para la LLA se observó al cromosoma Ph como la translocación más frecuente con 34.8%. Este

resultado no es similar con lo que actualmente se reporta en la literatura <sup>(30, 31, 65)</sup> ya que la presencia de esta translocación en pacientes pediátricos es menor al 5% y se confirma con lo reportado en México por Jiménez Morales *et al.* quienes obtuvieron el 3.8%, con lo descrito por Cravioto Daniel *et al.* (3.8%), con lo informado por Morales Peralta *et al.* (5.6%), con lo observado por Pérez Vera *et al.* (2.7%) y con lo estudiado por Bekker Méndez *et al.* (1.8%), todos para la misma translocación <sup>(5, 26, 16, 38, 46)</sup>. Se desconoce la causa de la alta frecuencia obtenida para la t(9;22).

La t(12;21) se presentó en el 9.3% de la población estudiada; sin embargo, este resultado no coincide con el 3.8% que reportaron Daniel Cravioto *et al.* pero es similar a los obtenidos en el estudio realizado por Ariffin H *et al.* en 2002 en Malasia quienes encontraron que la frecuencia para el reordenamiento TEL-AML1 fue del 13.3 % para China y del 22.2 % en Malasia <sup>(3, 16)</sup>.

En este estudio la t(1;19) se detectó en 7 pacientes (8.1%), esta frecuencia es baja si la comparamos con lo obtenido en México por Jiménez Morales *et al.* en 2008 quienes obtuvieron un 11.5% para esta translocación <sup>(26)</sup>.

La t(4;11) se describió únicamente en 3 pacientes (3.4%), esta frecuencia es muy baja comparada con lo reportado en la literatura que menciona que dicha translocación en niños mexicanos con LLA es una de las más altas del mundo y esto se corroboró con el estudio realizado en México por Daniel Cravioto *et al.* quienes encontraron una frecuencia del 65.4 % para la t(4;11). A pesar de esto, nuestros resultados fueron similares a los obtenidos en México por Bekker Méndez *et al.* en 2010 quienes detectaron esta translocación en 1.4% en una población similar <sup>(5, 16)</sup>.

Para la LMA se puede observar que la translocación de mayor frecuencia es la (15;17), la detección de esta es fundamental en los pacientes con la variedad LMA-M3, pues es la causante del detenimiento de la maduración de la línea mieloide (paso de promielocito a mielocito), con la cual una vez detectada, el paciente se vuelve candidato al tratamiento con ácido *trans*-retinoico (ATRA), el cual promueve la diferenciación celular de la línea afectada

(36).

Finalmente, se analizaron las leucemias bifenotípicas agudas (BAL), se encontraron únicamente dos casos de niños que presentaron positividad para la t(9;22). Sin embargo, cabe mencionar que en este tipo de leucemias no existe una anomalía citogenética específica, pero sí se puede observar con mayor frecuencia la t(9;22) <sup>(36, 57)</sup>. Nuestros resultados coinciden con lo que está reportado en la literatura ya que la alteración que más se observó en pacientes con BAL es la t(9;22) <sup>(6)</sup>. Esta anomalía genética confiere a los pacientes con LLA un pronóstico pobre a menos que sean tratados con inhibidores de tirosin cinasa o bien que se les realice un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas <sup>(5)</sup>.

Los estudios citogenéticos han sido una contribución muy importante en pacientes con LA, ya que nos permiten saber si existen alteraciones cromosómicas y de esta manera establecer un pronóstico dependiendo del tipo de las mismas. También son de gran ayuda para la estratificación de los pacientes en grupos de riesgo ya que favorecen al oncólogo para que brinde un tratamiento menos agresivo y tóxico para los pacientes que así lo requieran <sup>(30, 31, 64)</sup>.

## 8. CONCLUSIONES

- ✓ Los criterios propuestos por el EGIL nos permitieron clasificar inmunológicamente a las leucemias y conocer su frecuencia en población pediátrica del HIMFG. De las diversas características inmunofenotípicas predominó el Pre- B común y la leucemia de linaje ambiguo B/T.
- ✓ Los resultados obtenidos para género y edad concuerdan con lo reportado a nivel nacional e internacional acerca de las leucemias agudas.
- ✓ Esta clasificación ayuda a ponderar el riesgo para establecer el tratamiento de los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda, ya que al presentar bifenotipia estos pacientes se catalogan como de alto y se requiere de un esquema de tratamiento de mayor intensidad.
- ✓ La frecuencia de las leucemias bifenotípicas agudas fue del 5% lo cual es similar a lo reportado por otros estudios realizados.
- ✓ En pacientes pediátricos con Leucemia de linaje ambiguo se observó la presencia de la translocación (9;22).

## **9. PERSPECTIVAS**

Es muy importante la implementación de estudios inmunofenotípicos, citogenéticos y de biología molecular en las instituciones del Sector Salud así como el análisis de todos los factores pronósticos en pacientes oncológicos ya que de esta manera se puede proporcionar un diagnóstico certero que permitirá ofrecer un tratamiento más eficaz, con la finalidad de brindar una terapia menos agresiva cuando se identifiquen características que lo definan como de bajo riesgo.

## 10. REFERENCIAS

1. Alonso J, Sastre A. (2005). Genética del cáncer. *An Pediatr Contin.* 3(1): 34-9.
2. Al-Seraihy SA, Owaidah MT, Ayas M, El-Solh H, Al-Mahr M, Al-Ahmari A. (2009). Clinical characteristics and outcome of children with biphenotypic acute leukemia. *Haematologica.* 94(12): 1682-1690.
3. Ariffin H *et al.* (2007). Ethnic Differences in the Frequency of Subtypes of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Results of the Malaysia-Singapore Leukemia Study Group. *J Pediatr Hematol Oncol.* 29(1): 27-31.
4. Behm GF. Classification of Acute Leukemias. 43-58. [Consulta: 11 de febrero 2016]. Disponible en: file:///C:/Users/SICA/AppData/Local/Temp/9780896038349-c2-1.pdf
5. Bekker-Méndez VC, Miranda-Peralta E. *et al.* (2014). Prevalence of Gene Rearrangements in Mexican Children with Acute Lymphoblastic Leukemia: A Population Study- Report from the Mexican Interinstitutional Group for the Identification of the Causes of Childhood Leukemia. *Bio Med Research International.* 1-8.
6. Béne CM *et al.* (2012). Acute leukemias of ambiguous lineage. *Seminars in Diagnostic Pathology.* 29(1): 12-18.
7. Béne CM. (2009). Biphenotypic, bilineal, ambiguous or mixed lineage: strange leukemias. *Haematologica.* 94(7): 891-893.
8. Béne CM. (2005). Immunophenotyping of acute leukaemias. *Immunology Letters.* 98: 9-21.
9. Besalduch J, Bargay J, Durán A, Morey M. Leucemia aguda linfoblástica (LAL), Leucemia Aguda no Linfoblástica (LANL). Revisión y experiencia en el Hospital Son

Dureta. [Consulta: 12 de febrero 2016]. Disponible en: [http://ibdigital.uib.es/greenstone/collect/medicinaBalear/archives/Medicina/\\_Balear\\_/1996v11n3p138.dir/Medicina\\_Balear\\_1996v11n3p138.pdf](http://ibdigital.uib.es/greenstone/collect/medicinaBalear/archives/Medicina/_Balear_/1996v11n3p138.dir/Medicina_Balear_1996v11n3p138.pdf)

10. Burgaleta Alonso de Ozalla C, Alegre Amor A. Manual del Médico Residente en Hematología y Hemoterapia. Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia. [Consulta: 10 de febrero 2016]. Disponible en: [https://elenfermerodelpendiente.files.wordpress.com/2015/10/manual\\_medico\\_residente\\_hematologia\\_2015.pdf](https://elenfermerodelpendiente.files.wordpress.com/2015/10/manual_medico_residente_hematologia_2015.pdf)
11. Carrara CD, Zanella L, Bernasconi A, Eberle E, Rubio P, Alonso C, Gallego M, Felice M, Rossi J. (2009). Leucemias agudas pediátricas de inmunofenotipo inusual. *Medicina Infantil*. 16(3): 292-304.
12. Chen R, Ryder J, Robinson W, Myint H. (2008). Biphenotypic Acute Leukemia. *Clinical Leukemia*. 2(3): 193-197.
13. Coccé CM, Alonso NC, Rossi GJ, Bernasconi RA, Rampazzi AM, Felice SM *et al.* (2015). Cytogenetic and Molecular Findings in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia: Experience of Single Institution in Argentina. *Mol Syndromol*. 6: 193-203.
14. Colby Graham. (2003). The Childhood Leukemias. *Journal of Pediatric Nursing*. 18(2): 87-95.
15. Coronel Moran RC. (2005). Importancia del laboratorio en el diagnóstico y pronóstico de leucemia aguda linfoblástica de la infancia. *Acta pediátrica de México*. 26(3): 129-134.
16. Daniel Cravioto A, Gonzalez Bonilla CR, Mejia Arangure JM *et al.* (2008). Genetic rearrangement MLL/AF4 is most frequent in children with acute lymphoblastic leukemias in Mexico City. *Leukemia and lymphoma*. 32(10): 1352-1360.

17. Díaz-Ruiz R, Aguilar-López L, Vega-Ruiz A, Garcés-Ruiz O, Nava-Zavala A, Rubio-Jurado B. (2015). Análisis de características clínico biológicas de leucemia aguda linfoblástica (LAL) del adulto. *Gaceta Médica de México*. 151: 150-156.
18. Dorantes AE, Medina SA, Dávila OK, López MB. (2013). Clasificación inmunológica de las leucemias agudas linfoblásticas del Hospital Infantil de México Federico Gómez, de acuerdo al EGIL (European Group for the Immunological Classification of Leukemia). *Gaceta Mexicana de Oncología*. 12(3): 136-142.
19. Frank Zhao X, Gojo I, York T, Ning Y, Baer RM. (2010). Diagnosis of biphenotypic acute leukemia: a paradigmatic approach. *Int J Clin Exp Pathol*. 3(1): 75-86.
20. Fuster Soler JL, Salido Fierrez E, Galera Miñarro A, Riberiro R. Diagnóstico y tratamiento de la Leucemia Aguda Linfoblástica Cromosoma Filadelfia Positiva Infantil. [Consulta: 10 de febrero 2016]. Disponible en: [http://www.leucemiaylinfoma.com/modulos/CH/2010/Capitulo\\_1-I\\_2010.pdf](http://www.leucemiaylinfoma.com/modulos/CH/2010/Capitulo_1-I_2010.pdf)
21. Gamal Abdul H. Classification of Acute Leukemia. [Consulta: 8 de febrero 2016]. Disponible en: <http://cdn.intechweb.org/pdfs/25114.pdf>
22. Gural S, Polampalli S, Badrinath Y, Kumar A, Chogule A, Subramanian PG *et al.* (2009). Clinico-hematological profile in biphenotypic acute leukemia. *Indian Journal of Cancer*. 49: 160-168.
23. Harrison JC. (2001). Acute lymphoblastic leukaemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 14(3): 593-607.
24. Heller D. (2004). A Review and Applications of Flow Cytometry. Department of Chemistry, University of Illinois at Urbana-Champaign.
25. Hernández C. Leucemia Linfocítica Aguda. Diagnóstico, Estudio y Tratamiento. Manual de

Prácticas Médicas. [Consulta: 5 de febrero 2016]. Disponible en: <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/hematologia/llaarreglado.pdf>

26. Jiménez Morales S, Miranda Peralta E, Saldaña Álvarez Y, Pérez Vera P, Paredes Aguilera R, Rivera Luna R *et al.* (2008). BCR-ABL, ETV6-RUNX1 and E2A-PBX1: Prevalence of the most common acute lymphoblastic leukemia fusion genes in Mexican patients. *Leukemia Research*. 32: 1518-1522.
27. Labardini Méndez JR, Cervera Ceballos E, López Navarro OM, Corrales Alfaro C, Balbuena Martínez M, Barbosa Ibarra AA *et al.* (2011). ONCOguía. Leucemia Linfoblástica Aguda. *Instituto Nacional de Cancerología*. 6: 111-115.
28. Lampert F, Harbott J, Ritterbach J. (1992). Cytogenetic findings in acute leukaemias of infants. *Br. J. Cancer*. 66 (XVIII): 20-22.
29. Lassaletta AA. (2012). leucemias. Leucemia linfoblástica aguda. *Pediatría Integral*. XVI(6): 453-462.
30. Layton Tovar C. (2015). Factores de pronóstico en leucemia linfoblástica aguda pediátrica: posibles marcadores moleculares. *Medicina e Investigación*. 3(1): 85-91.
31. Martín Ramos ML, Fernández Martínez FJ, Barreiro Miranda E. (2001). Alteraciones cromosómicas en la leucemia linfoblástica aguda. *Anales Españoles de Pediatría*. 55(1): 45-52.
32. Matutes E, Morilla R, Farahat N, Carbonell F, Swansbury J, Dyer M *et al.* (1997). Definition of acute biphenotypic leukemia. *Haematologica*. 82: 64-66.
33. Mayani H, Flores-Figueroa E, Pelayo R, Montesinos JJ, Flores-Guzman P, Chávez González A. (2007). Hematopoyesis. *Cancerología*. 2: 95-107.

34. Mejía Aranguré JM, Ortega Álvarez MC, Fajardo Gutiérrez A. (2005). Epidemiología de las leucemias agudas en niños. *Revista Médica del Instituto Mexicano de Seguridad Social*. 43(4): 323-333.
35. Mejstrikova E, Volenjkova J, Fronkova E, Zdrahalova K, Kalina T, Sterba J *et al.* (2010). Prognosis of children with mixed phenotype acute leukemia treated on the basis of consistent immunophenotypic criteria. *Haematologica*. 95(6): 928-935.
36. McKenzie S. Hematología clínica. 2a. ed. México. Editorial El Manual Moderno 2000; 455-480.
37. Muthappa Udayakumar *et al.* (2007). Cytogenetic Profile of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in Oman. *Archives of Medical Research*. 38: 305-312.
38. Morales Peralta A, Covarrubias Espinoza G, Rendón García H, Larios Farak TC. (2014). Supervivencia en Niños con Leucemia Aguda Linfoblástica Tratados en Base a Factores de Riesgo Inmunomoleculares. *Bol Clin Infant Edo Son*. 31(12): 90-95.
39. Ogawa M. (1993). Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. *Blood*. 81(11): 2844-2853.
40. Olarte Carrillo I, Ramos Peñafiel CO, Miranda Peralta E, Mendoza Salas I, Nacho Vargas KA, Zamora Domínguez JA *et al.* (2015). Frequency of the minor BCR-ABL (e1;a2) transcript oncogene in a Mexican population with adult acute lymphoblastic leukaemia. *Rev Med Hosp Gen Méx*. 78(3): 119-123.
41. Ortega Sánchez MA, Osnaya Ortega ML, Rosas Barrientos JV. (2007). Leucemia linfoblástica aguda. *Medicina Interna de México*. 23 (1): 26-33.
42. Ortuño Giner FJ, Orfao A. (2002). Aplicación de la citometría de flujo al diagnóstico y seguimiento inmunofenotípico de las leucemias agudas. *Elsevier*. 118(11): 1-16.

43. Owaidah TM, Beihany AA, Iqbal MA, Elkum N, Roberts GT. (2006). Cytogenetics, molecular and ultrastructural characteristics of biphenotypic acute leukemia identified by the EGIL scoring system. *Leukemia*. 20: 620-626.
44. Pelayo R, Santa Olalla J, Velasco I. Células troncales y medicina regenerativa. 1ª ed. México, D.F: Universidad Nacional Autónoma de México 2011.
45. Perez Saldivar ML *et al.* (2011). Childhood acute leukemias are frequent in Mexico City: descriptive epidemiology. *BMC Cancer*. 11: 1-11.
46. Perez Vera P, Salas C, Montero Ruiz O, Frias S, Dehesa G, Jarquin B *et al.* (2008). Analysis of gene rearrangements using a fluorescence in situ hybridization method in Mexican patients with acute lymphoblastic leukemia: experience at a single institution. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 184: 94-98.
47. Perfil Epidemiológico del Cáncer en Niños y Adolescentes. Secretaria de Salud, Junio 2011. [Consulta: 9 de febrero 2013]. Disponible en: [http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/publicaciones/2011/monografias/P\\_EPI\\_DEL\\_CANCER\\_EN\\_NI%C3%91OSyADOLESCENTES\\_MEXICO.pdf](http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/publicaciones/2011/monografias/P_EPI_DEL_CANCER_EN_NI%C3%91OSyADOLESCENTES_MEXICO.pdf)
48. Piedras J. (2006). Citometría de flujo en el diagnóstico y clasificación de padecimientos hematológicos: leucemias agudas, síndromes linfoproliferativos crónicos y glicoproteínas plaquetarias. *Revista de Hematología*. 7(2): 56-64.
49. Pui C. (2008). Acute lymphoblastic leukaemia. Cambridge University Press; 371: 1030-1043.
50. Quero Hernández A, Estrada Correa R, Pacheco Pérez I, Reyes Gómez U, Álvarez Solís RM, Vargas Vallejo M. (2012). Características clínicas e inmunofenotípicas en un grupo de niños con leucemia aguda linfoblástica. *Pediatría de México*. 14(2): 166-171.

51. Rizo Ríos P, Sánchez Cervantes F, González Rivera A, Betancourt Cravioto M, Meneses García A, Mohart A *et al.* (2005). Mortalidad por leucemias en menores de 20 años. México 1998-2002. *Bol Med Hosp Méx.* 62: 9-18.
52. Rivera Luna R. (2000). La importancia de los factores pronósticos en leucemia aguda linfoblástica (LAL) de la población pediátrica en un país en vías de desarrollo. *Revista del Instituto Nacional de Cancerología.* 46(4): 260-266.
53. Rivera Luna R. Generalidades del cáncer infantil. Instituto Nacional de Pediatría, México.
54. Rodak BF. Hematología Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 2° ed. Buenos Aires, Argentina: editorial Médica Panamericana 2005, 838 pp.
55. Romero A, Jiménez RM. (2002). Leucemias agudas. *Medicina de Familia.* 3(1): 40-48.
56. Ruiz Argüelles A. (2001). La citometría de flujo en la medicina de trasplante. *Medicina Universitaria.* 3(12): 153-162.
57. Sabrafen SJ, Raebel CB, Corrons VJL. Hematología Clínica. 5° ed. España: editorial Elsevier 2001; 889 pp.
58. Sánchez Salinas A, Monserrat Coll J, Rosique Cortina P, Moraleda Jiménez JM. (2012). Leucemias agudas. *Medicine.* 11(21): 1268-79.
59. Santoyo-Sánchez A, Ramos-Peñafiel C, Palmeros-Morgado G, Mendoza-García E, Olarte-Carrillo I, Martínez-Tovar A *et al.* (2014). Leucemias agudas, características clínicas y patrón estacional. *Revista Médica del Instituto Mexicano de Seguridad Social.* 52(2): 176-81.
60. Secker Walker LM. (1990). Prognostic and Biological Importance of Chromosome

Findings in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 49: 1-13.

61. Torres Gómez A, García Castellanos JM, Serrano López J, Sánchez García J. (2008). Leucemias agudas. *Medicine.* 10(21): 1390-1401.
62. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. (2009). The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood.* 114(5): 937-51.
63. Vargas Montero MA. LAS LEUCEMIAS BIFENOTÍPICAS. . [Consulta: 8 de febrero 2016]. Disponible en: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rccm/v16n1-2/art3.pdf>
64. Vargas Vallejo MP, Covarrubias Zapata D, Gómez Valencia L, Barbolla Sala ME, Pacheco Gil L. (2011). Alteraciones citogenéticas en niños con leucemia aguda linfoblástica en Tabasco. *Salud en Tabasco.* 17(1 y 2): 22-29.
65. Verduzco-Rodríguez L, Verduzco- Aguirre HC, López Ariza B. (2012). Leucemia linfoblástica aguda hiperdiploide en niños. *Revista de Hematología.* 13(4): 172-176.
66. Villasis Keever MA, Arias Gómez J, Escamilla Núñez A, Bonilla Rojas J. (2012). Metaanálisis sobre los factores pronóstico relacionados con la mortalidad en niños con leucemia linfoblástica aguda. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 69(3): 175-189.
67. Vizcaíno M, Guzmán C, De los Reyes L, Quijano S, Campos A. (2010). Diagnóstico de leucemias bifenotípicas por citometría de flujo. *Biomédica.* 30(Supl): 22-26.
68. Weinberg KO, Md, Seetharam M, MD, Ren L, Alizadeh A *et al.* (2014). Study of 61 Cases Using World Health Organization and European Group for the Immunological Classification of Leukaemias Criteria. *Am J Clin Pathol.* 142: 803-808.
69. Xicoy B, Grande C, Ribera JM. (2007). Leucemia linfoblástica aguda de línea T. *Med*

*Clin.* 129(Supl 1): 45-49.

70. [Consulta: 16 de febrero 2016] Disponible en <http://epidemiologiamolecular.com/citometria-flujo/>

71. [Consulta: 7 de marzo 2016] Disponible en: <http://www.leicabiosystems.com/es/ihc-ish/reactivos-novocastra/anticuerpos-primarios/detalles/product/cd10/>

## 11. ANEXOS

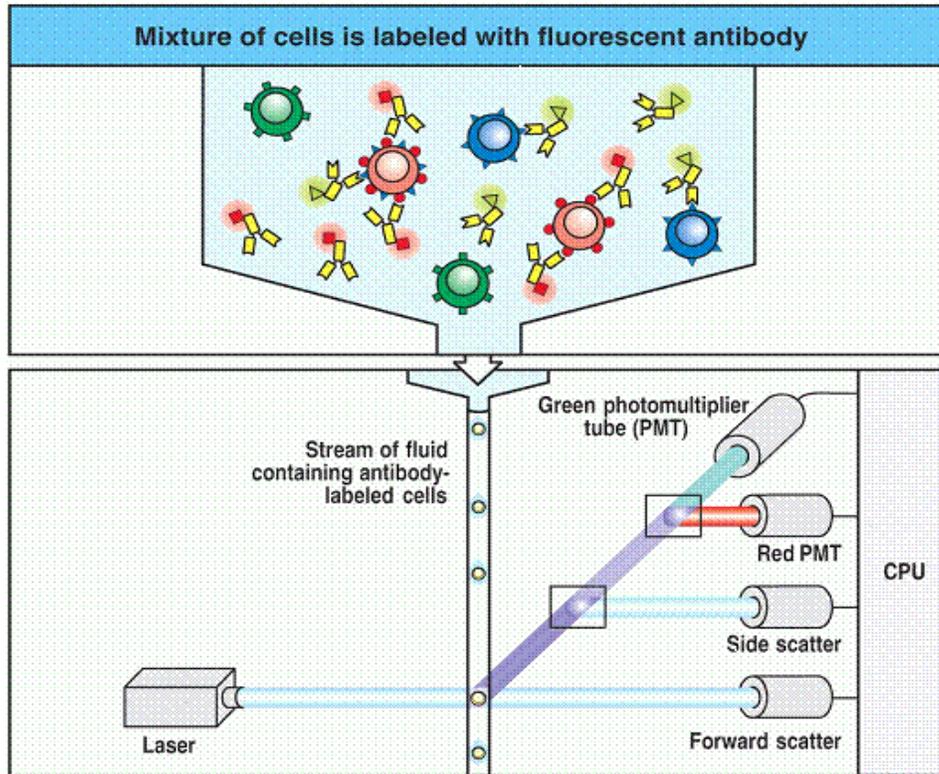
### CITOMETRÍA DE FLUJO

La citometría de flujo (CMF) es un método rápido para la detección, cuantificación y caracterización de células o partículas que estén suspendidas en un fluido, es una técnica que genera información de manera objetiva, sensible y multiparamétrica, por lo que se ha incorporado a los laboratorios clínicos y se ha convertido en una herramienta de gran ayuda en el estudio de las enfermedades hematológicas. Dicha técnica entrega información sobre el tamaño celular, la granularidad o complejidad interna, así como también la intensidad de fluorescencia relativa que poseen las células en estudio <sup>(56)</sup>.

Algunas de las aplicaciones de la CMF son: inmunofenotipo de leucemias, subpoblaciones linfocitarias (CD4 y CD8), cuantificación de ADN entre otras <sup>(54)</sup>.

### FUNDAMENTO

Se basa principalmente en hacer pasar una suspensión de partículas (generalmente células) alineadas una a una por delante de un haz de láser focalizado. Al incidir el rayo láser sobre las células, éstas dispersarán la luz de manera vertical u horizontal midiendo complejidad y tamaño celular, respectivamente (Figura 6) (Véase anexo 11.1) <sup>(24, 48)</sup>.



**Figura 15.** Fundamento de la CMF (Tomado de <http://epidemiologiamolecular.com/citometria-flujo/>)

## DETERMINACIÓN DE INMUNOFENOTIPO POR CITOMETRIA DE FLUJO

La citometría de flujo para la determinación de inmunofenotipo se realiza en muestras provenientes de aspirado de médula ósea (AMO).

Las células se tiñen con los siguientes fluorocromos y antígenos: CD19/FITC, CD79a/Pe, CD45/PerCp, CD34/APC, TdT/FITC, MPox/Pe, cCD3/FITC, CD7/Pe, CD10/FITC, CD20/Pe, CD22/Pe, CD3/FITC, CD5/FITC, CD15/FITC, CD8/Pe, CD2/Pe, CD7/Pe, CD13/Pe, CD56/Pe, HLA-DR/FITC, CD61/FITC, CD36/FITC, CD117/Pe, CD33/Pe, CD64/Pe, CD16/Pe, CD14/Pe.

Las muestras que se recibieron durante el período del 2010 a mayo del 2014 se adquirieron en un citómetro FACSCalibur (Becton Dickinson Biosciences) y se analizaron utilizando el programa CellQuest (Becton Dickinson Biosciences). Y las muestras que posteriormente llegaron se procesaron en un citómetro FACSCanto II y fueron analizadas mediante el programa DIVA.

Finalmente se establece un punto de corte si más del 20% de las células en estudio reaccionan con un anticuerpo monoclonal como criterio de positividad para ese Ac.

Se marcan tres tubos como 1, 2 y 3 a los cuales se les agregan 5 µL de los siguientes marcadores: para el tubo 1: CD45, CD34 y CD19, para el tubo 2: CD45 y CD34, para el tubo 3: CD45, CD34, CD3 y CD7. Después se le adicionan 100 µL de muestra y se incuban durante 15 min a temperatura ambiente y en oscuridad. Transcurrido el tiempo se le agrega 1 mL de solución de lisis y se vuelve a incubar por 10 minutos con las mismas condiciones. Después se centrifuga a 1500 rpm durante 5 minutos, se decanta el sobrenadante y se adicionan 500 µL de solución permeabilizante, se vuelve a incubar por un tiempo de 10 min. Se hace un primer lavado añadiendo 2 mL de solución PBS, se centrifuga a 1500 rpm por 5 minutos, se decanta el sobrenadante y se agregan los siguientes marcadores: tubo 1: CD79, tubo 2: TdT y MPox. Se incuban por 15 minutos, se hace un segundo lavado agregando 2 mL de solución PBS, se centrifuga con las mismas condiciones de tiempo y rpm, se decanta el sobrenadante y se le adicionan 500 µL de formaldehído y finalmente se lee en el Citómetro de

flujo (figura 6).

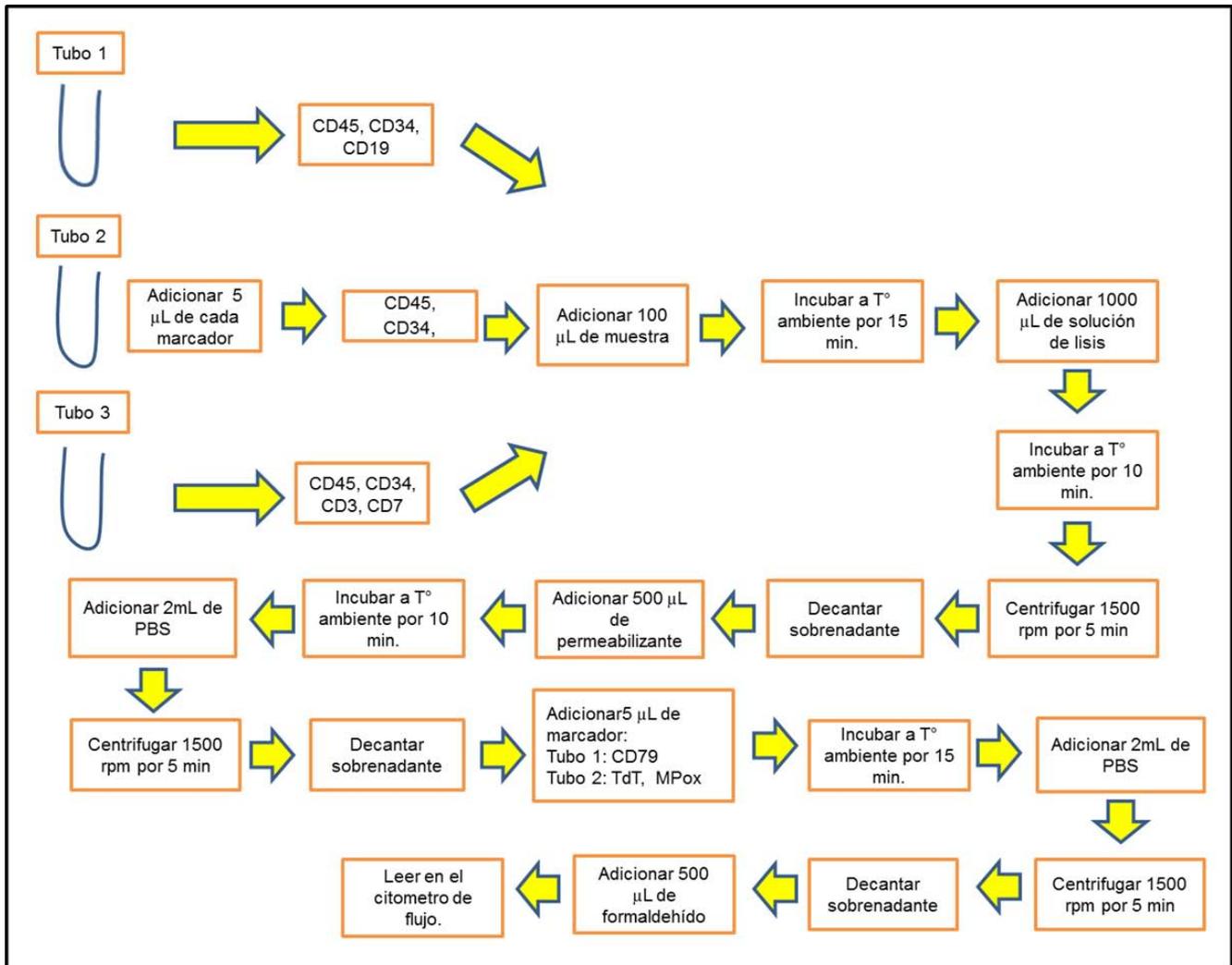


Figura 16. Procedimiento para determinar inmunofenotipo de leucemias