

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA**



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE PEDIATRÍA
CENTRO MÉDICO NACIONAL DE OCCIDENTE**

“CARACTERIZACIÓN INMUNOFENOTÍPICA DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS DEL HOSPITAL DE PEDIATRÍA DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL DE OCCIDENTE, DE ACUERDO A LA CLASIFICACIÓN DE LA OMS 2008/2016”.

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
SUBESPECIALISTA EN HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA**

PRESENTA

Nereyda Salvadora Salinas Pérez

Director de tesis:
Dr. José Luis Toro Castro
Hematólogo Pediatra

Guadalajara, Jalisco; Marzo 2019.



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.

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MÉDICO NACIONAL DE OCCIDENTE
HOSPITAL DE PEDIATRÍA**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE SUBESPECIALIDAD EN
HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA**

**“CARACTERIZACIÓN INMUNOFENOTÍPICA DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS
DEL HOSPITAL DE PEDIATRÍA DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL DE
OCCIDENTE, DE ACUERDO A LA CLASIFICACIÓN DE LA OMS 2008/2016”.**

IDENTIFICACIÓN DE AUTORES

TESISTA

Dra. Nereyda Salvadora Salinas Pérez
Médico Residente de segundo año de Hematología pediátrica.
Hospital de Pediatría. Unidad Médica de Alta Especialidad.
Centro Médico Nacional de Occidente. Instituto Mexicano del Seguro Social.
Guadalajara, Jalisco, México.
Dirección: Belisario Domínguez #735, Colonia Independencia.
Correo electrónico: dra.neresalinas@gmail.com Teléfono: 9515475141

DIRECTOR DE TESIS

Dr. José Luis Toro Castro
Hematólogo Pediatra adscrito al servicio de Hematología.
Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Pediatría.
Centro Médico Nacional de Occidente. Instituto Mexicano del Seguro Social.
Guadalajara, Jalisco, México.
Dirección: Belisario Domínguez #735, Colonia Independencia.
Correo electrónico: torocjn@hotmail.com Teléfono: 3314855074

ASESOR METODOLÓGICO

Dra. Rosa Ortega Cortes.
Pediatra. Jefe de División de Educación en Salud.
Unidad Médica de Alta Especialidad.
Centro Médico Nacional de Occidente. Instituto Mexicano del Seguro Social.
Guadalajara, Jalisco, México.
Dirección: Belisario Domínguez #735, Colonia Independencia.
Correo electrónico: drarosyortegac@hotmail.com.
Teléfono y fax: 3331378280. Ext 32696

Índice

Abreviaturas	4
Resumen	5
Introducción	7
Marco teórico	8
Antecedentes	15
Justificación	17
Magnitud	17
Trascendencia	17
Factibilidad	18
Pregunta de investigación	18
Objetivos	18
Material y métodos	19
Tipo de estudio	19
Universo de estudio	19
Población de estudio	19
Criterios de inclusión y exclusión	19
Tamaño de la muestra	20
Operacionalización de las variables	21
Desarrollo del proyecto	23
Análisis estadístico	23
Aspectos éticos	23
Recursos humanos físicos y financieros	23
Resultados	24
Análisis y discusión	30
Conclusiones	32
Referencias bibliográficas	33
Anexos	35

Abreviaturas

LA: Leucemias agudas

LLA: Leucemia linfoblástica aguda

LMA: Leucemia mieloide aguda

LLA-T: Leucemia linfoblástica aguda de células T

LLA-B: Leucemia linfoblástica aguda de células B

SNC: Sistema nervioso central

RC: Remisión completa

cALLA: Antígeno común de LLA

CD: Cluster de diferenciación

HLA: Antígeno leucocitario humano

MPAL: Leucemia aguda de fenotipo mixto

LBA: Leucemia aguda bifenotípica

OMS: Organización mundial de la salud

FCM: Citometría de flujo

FITC: Isotiocianato de fluoresceína

PE: Ficoeritrina

PerCP-Cy5.5: proteína peridina clorofila alofococianina

CMNO: Centro médico Nacional de Occidente

EGIL: Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de Leucemias Agudas

mAb: número de anticuerpos monoclonales

RESUMEN

Título: Caracterización inmunofenotípica de las leucemias agudas del hospital de pediatría del centro médico nacional de occidente, de acuerdo a la clasificación de la OMS 2008/2016.

Antecedentes: Las leucemias agudas (LA) son expansiones malignas de células precursoras hematopoyéticas aberrantes detenidas en etapas muy inmaduras de diferenciación. Se pueden distinguir dos subgrupos principales de Leucemia aguda, es decir, leucemia linfoblástica aguda (LLA) y leucemia mieloide aguda (LMA), La subdivisión adicional de LLA depende completamente del inmunofenotipo y permite la identificación de LLA-T y LLA-B. La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el cáncer más frecuente en la niñez, representa el 23% de los diagnósticos de cáncer en menores de 15 años, con una incidencia anual de 30 a 40 casos por millón. En pediatría, la edad más frecuente de presentación es dentro del grupo de edad de 3 a 5 años. En América Latina la incidencia de la LLA es mayor a la reportada en otras partes del mundo, con tasas de hasta 120 pacientes por millón por año. Los síntomas de LLA incluyen hematomas o hemorragias debido a trombocitopenia, palidez y fatiga por anemia, e infección causada por neutropenia. La infiltración leucémica del hígado, el bazo, los ganglios linfáticos y el mediastino es común en el momento del diagnóstico. La leucemia extramedular en el sistema nervioso central (SNC) o los testículos puede requerir modificaciones específicas en la terapia. Por inmunofenotipo podemos indentificar la LLA de células B, entre los antígenos requeridos se incluyen CD19, CD79a, CD22 y CD10, la Leucemia de células T se define por la expresión de los antígenos asociados a las células T (CD3 citoplasmático, con CD7 más CD2 o CD5) en los blastos leucémicos.

La revisión de 2016 de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de neoplasias mieloides y leucemia aguda clasifica la LLA como leucemia linfoblástica B o leucemia linfoblástica T, con más subdivisiones basadas en las características moleculares. La leucemia linfoblástica B o T puede coexpresar antígenos mieloides. Estos casos deben distinguirse de la leucemia de linaje ambiguo. La LLA de células B precursoras, definida por la expresión de antígenos citoplasmáticos CD79a, CD19, HLA-DR y otros antígenos asociados a las células B, representa del 80% al 85% de la LLA infantil. Existen casos de leucemia aguda en niños que requieren especial atención, como es la leucemia aguda de fenotipo mixto (MPAL, por sus siglas en inglés) es un diagnóstico poco común, que representa solo alrededor del 2-5% de los casos de leucemia aguda. Las células blásticas de MPAL expresan marcadores inmunofenotípicos multilinaje y pueden tener un fenotipo B / T / mieloide compartido. **Justificación:** Las leucemias agudas constituyen una patología hematológica frecuente en la infancia, en particular las de estirpe linfoide, su adecuada clasificación en base a características clínicas y citopatológicas de las células malignas aporta información valiosa para un adecuado tratamiento y evaluación pronóstica de la enfermedad. Es imprescindible hacer buen uso de las herramientas con las que disponemos y brindar un tratamiento terapéutico adecuado en base a la información brindada por los datos previos que repercutan en el bienestar del paciente.

Pregunta de investigación: ¿Qué características inmunofenotípicas se presentan en las Leucemias linfoblásticas agudas en la población atendida en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente?

Objetivos: General: Describir las características inmunofenotípicas de los casos de leucemia linfoblástica aguda del Hospital de Pediatría del CMNO.

Específicos: 1.- Determinar la prevalencia de Leucemia linfoblástica B aguda en nuestra población. 2.- Determinar la prevalencia de casos de Leucemia linfoblástica T aguda en nuestra población. 3.- Determinar la prevalencia de casos de Leucemia aguda de fenotipo mixto en nuestra población. 4.- Conocer las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes diagnosticados con Leucemia aguda.

Material y métodos: Tipo de estudio: Se realizará un estudio descriptivo, retrospectivo. Universo de estudio: Resultados de inmunofenotipo reportados en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente del 2016 a la fecha. Población de estudio: Expedientes de pacientes con Leucemia aguda diagnosticados en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente durante el período de 2016 – 2018. **Muestreo:** No probabilístico, de casos consecutivos **Variables dependientes:** reporte del inmunofenotipo de leucemias agudas: Inmunofenotipo para Leucemia aguda de células B, Inmunofenotipo para Leucemia aguda de células T, Inmunofenotipo para Leucemia Aguda de fenotipo mixto. **Variables independientes:** Edad, sexo, hemoglobina, leucocitos, plaquetas. **Desarrollo del proyecto:** Se revisarán expedientes de pacientes que hayan sido diagnosticados con Leucemia Linfoblástica aguda, se obtendrán los datos y se vaciarán en la hoja de recolección, realizando la clasificación para Leucemia linfoblástica en base a los criterios de la OMS 2008/2016. **Análisis estadístico:** Los datos se capturarán en una hoja de cálculo del programa Microsoft Excel 2010. Los resultados se analizarán mediante el programa estadístico SPSS versión 23 para Windows y los resultados se presentarán en tablas y gráficos. **Resultados:** Se recopilaron datos de expedientes de 109 pacientes del servicio de Hematología, que cumplieron los criterios de inclusión antes señalados en el período de enero de 2016 a diciembre de 2018. Masculino 57 (52%), femenino 52 (48%). Promedio de edad de 7 años, mediana de edad 6 años, rango de 1 a 15 años. 42 pacientes (38.5%) se clasificaron de alto riesgo, 25 pacientes (22.9%) por edad mayor o igual a 10 años, 13 pacientes (11.9%) por leucocitos mayores a 50,000 y 4 pacientes (3.7%) cumplieron ambos criterios, los 67 pacientes restantes (61.5%) fueron de riesgo estándar, 51 pacientes (46.8%) correspondieron al año 2018, 46 pacientes (42.2%) al año 2017 y 12 pacientes (11%) al año 2016, de las leucemias agudas linfoblásticas 105 pacientes (96.3%) pertenecen a población de origen de células B con expresión de CD19, CD79, CD22 y CD10 principalmente y 4 pacientes (3.7%) a células T con expresión de CD3, sin encontrarse por inmunofenotipo leucemias de fenotipo mixto.

INTRODUCCIÓN

Las leucemias agudas (LA) son expansiones malignas de células precursoras hematopoyéticas aberrantes detenidas en etapas muy inmaduras de diferenciación. Con base en las investigaciones citomorfológicas, citoquímicas y de citometría de flujo, se pueden distinguir dos subgrupos principales de Leucemia aguda, es decir, leucemia linfoblástica aguda (LLA) y leucemia mieloide aguda (LMA). La subdivisión adicional de LLA depende completamente del inmunofenotipo y permite la identificación de LLA-T y LLA-B. El diagnóstico apropiado de estos tres tipos principales de LA es clínicamente esencial, ya que estos grupos (particularmente LLA frente a LMA) difieren significativamente en tratamiento y pronóstico.(1)

Aproximadamente 6000 casos de leucemia linfoblástica aguda (LLA) son diagnosticados en los Estados Unidos anualmente; la mitad de los casos ocurren en niños y adolescentes. En los Estados Unidos, LLA es el cáncer más común entre los niños y la causa más frecuente de muerte por cáncer antes de los 20 años de edad. Los síntomas de LLA incluyen hematomas o hemorragias debido a trombocitopenia, palidez y fatiga por anemia, e infección causada por neutropenia. La infiltración leucémica del hígado, el bazo, los ganglios linfáticos y el mediastino es común en el momento del diagnóstico. La leucemia extramedular en el sistema nervioso central (SNC) o los testículos puede requerir modificaciones específicas en la terapia. (2)

Más del 95% de los niños con LLA recién diagnosticada logrará una RC dentro de las primeras 4 semanas de tratamiento. De aquellos que no logran RC dentro de las primeras 4 semanas, aproximadamente la mitad experimentará una muerte tóxica durante la fase de inducción (generalmente causada por infección) y la otra mitad tendrá enfermedad resistente (leucemia morfológica persistente).(3)

El progreso en el tratamiento y en la comprensión de la biología de la enfermedad ha sido continuo en la leucemia linfoblástica aguda (LLA) en los últimos 50 años. En la actualidad, la tasa de supervivencia en niños con LLA es excelente, y en adultos ha mejorado notablemente. Estos logros se basaron principalmente en la optimización progresiva de los esquemas de administración de esteroides y quimioterapia y en la adaptación de la intensidad del tratamiento al riesgo inicial y la respuesta temprana al tratamiento.(4) Sin embargo, sigue siendo un importante desafío para la salud ya que representa una gran morbilidad y mortalidad en todo el mundo.(5)

MARCO TEÓRICO

HISTORIA DE LA LEUCEMIA

La historia del cáncer humano data de la antigüedad. El primer documento escrito sobre cáncer apareció en el papiro egipcio. Durante siglos, la teoría de los "cuatro humores" fue la hipótesis principal que explicaba la causa del cáncer. (5) A Virchow se le atribuye acuñar el término leucemia en 1847, para describir casos de leucocitosis sostenida en ausencia de infección. En la segunda mitad del siglo XIX, Ernst Neumann en Königsberg, Alemania, Giulio Bizzozero en Pavia, Italia, y otros investigadores establecieron que tanto la hematopoyesis normal como las leucemias se originan en la médula ósea, mientras que Neumann y Nikolaus Friedreich en Heidelberg, Alemania, distinguió formas crónicas y agudas de leucemia, así como variantes esplénicas (más tarde mieloides) frente a linfáticas de la enfermedad. (6)

Posteriormente, en ése mismo siglo comenzó una nueva era con la detección del origen celular del cáncer; a su debido tiempo, la naturaleza de esta enfermedad letal fue mejor reconocida y condujo a mayores logros en su tratamiento. (5)

Antes de 1950, la leucemia infantil no se diferenciaba en leucemia linfoblástica aguda (LLA) o leucemia mieloide aguda (LMA). El diagnóstico de leucemia infantil fue uniformemente fatal en un período promedio de 3 meses. La muerte por hemorragia e infección severa era de rutina, y las transfusiones de sangre, el único tratamiento disponible en ese momento, en el que se intentaron ocasionalmente, pero no ayudaron. Aproximadamente el 80% de estos casos fueron identificados más tarde como LLA infantil, que todavía es aproximadamente el porcentaje de casos encontrados hoy en día. (7)

Durante el siglo XX, los investigadores descubrieron varios factores de riesgo para el cáncer, como el tabaquismo y los químicos ambientales, además del papel cancerígeno de ciertos virus, la asociación profesional del cáncer, su relación con ciertas hormonas y hábitos dietéticos y las bases genéticas. Estas investigaciones dieron como resultado un manejo del cáncer más eficiente. (5)

De 1950 a 1960, se produjeron cambios dramáticos en el tratamiento. Farber y sus colegas fueron los primeros en probar la quimioterapia en niños con leucemia. Farber probó inicialmente el ácido fólico porque se usaba para tratar la anemia perniciosa, y las médulas óseas de las dos enfermedades se veían similares. Sin embargo, cuando el ácido fólico empeoró la leucemia, decidió utilizar la aminopterina, un análogo del metotrexato, que interfiere con el metabolismo del folato. También en esta década, George Hitchings y Trudy Elion, que posteriormente ganó el Premio Nobel, crearon 6-mercaptopurina específicamente para interferir con el metabolismo del ADN. La cortisona, que se consideraba el nuevo medicamento milagroso, y la prednisona se recetaron para todo en ese momento, incluida la leucemia. Todos estos medicamentos se administraron como agentes únicos, y todos los pacientes murieron.(7)

En los últimos años, hemos sido testigos de avances tremendos en nuestra comprensión de la biología de la LLA y la notable eficacia de los enfoques terapéuticos biológicos y químicos dirigidos en enfermedades que de otra manera serían refractarias. Se prevé que en los próximos años se describirá por completo el panorama genómico de la LLA, se aclararán por completo las causas biológicas del fracaso del tratamiento y se definirá el papel de una gama de nuevos agentes químicos y biológicos. Como la tasa de curación para la LLA infantil se aproxima al 100%, los principales desafíos serán identificar a las personas que requieren una terapia menos intensiva para lograr la curación y refinar regímenes tóxicos complejos para incorporar enfoques más simples y seguros que darán lugar a una alta calidad de vida unida a supervivencia a largo plazo. (2)

LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el cáncer más frecuente en la niñez, representa el 23% de los diagnósticos de cáncer en menores de 15 años, con una incidencia anual de 30 a 40 casos por millón. En pediatría, la edad más frecuente de presentación es dentro del grupo de edad de 3 a 5 años. En América Latina la incidencia de la LLA es mayor a la reportada en otras partes del mundo, con tasas de hasta 120 pacientes por millón por año, por lo que existen argumentos que hacen sospechar que los pacientes con LLA en esta región, podrían tener algunas variaciones biológicas con respecto a otros lugares del mundo.(8)

La superficie celular y la expresión citoplásmica de marcadores de linaje (inmunofenotipo) clasifican a la LLA infantil en subgrupos de células B precursoras (85%) o de células T (15%) que recuerdan las etapas normales de maduración linfoide.(2)

Las leucemias pediátricas son el resultado de mutaciones en la línea germinal y somática que actúan conjuntamente con las alteraciones de la maquinaria epigenética para dar lugar a fenotipos alterados. A pesar de la gran variedad de mutaciones caracterizadas hasta la fecha y la evidencia que apunta a la participación de los defectos del sistema inmune en el contexto de las exposiciones ambientales, la etiología exacta de la leucemia pediátrica sigue siendo en gran parte desconocida. Los avances en genética molecular y medicina genómica ahora permiten una clasificación más precisa e integral de este grupo de enfermedades, una resolución más fina de las estrategias genéticas y epigenéticas para estratificar el riesgo de los pacientes y la optimización de las terapias de precisión para atacar las lesiones iniciadoras y bioquímicas implicadas en la leucemogénesis.(9)

Clínicamente, muchos de los pacientes con LLA B presentan citopenias en sangre periférica. Los leucocitos se pueden encontrar aumentados, normal o disminuidos. La linfadenopatía y la hepatoesplenomegalia son comunes. Es común encontrar dolor en los huesos y síntomas constitucionales en los niños. La base diagnóstica de la leucemia / linfoma linfoblástico (LLA / LLB) sigue siendo la detección de linfoblastos B o T en un sitio extramedular o la presencia de incremento de linfoblastos (> 20%) en médula ósea.(10)

El diagnóstico preciso de LA descansa actualmente en dos grandes pilares: la clínica y la caracterización citopatológica de las células sanguíneas malignas, tanto en sangre periférica como en médula ósea. Esto incluye la cuantificación y observación microscópica de sus características, el inmunofenotipo y los estudios genéticos (índice de DNA, cariotipo y translocaciones moleculares) en médula ósea.(11)

La revisión de 2016 de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de neoplasias mieloides y leucemia aguda clasifica la LLA como leucemia linfoblástica B o leucemia linfoblástica T, con más subdivisiones basadas en las características moleculares. La leucemia linfoblástica B o T puede coexpresar antígenos mieloides. Estos casos deben distinguirse de la leucemia de linaje

ambiguo. La LLA de células B precursoras, definida por la expresión de antígenos citoplasmáticos CD79a, CD19, HLA-DR y otros antígenos asociados a las células B, representa del 80% al 85% de la LLA infantil. Aproximadamente el 90% de los casos de LLA de células B precursoras expresan el antígeno de superficie CD10 (anteriormente conocido como antígeno común de LLA [cALLA]).(3)

Existen subtipos de LLA de células B, la distinción entre LLA pro-B (CD19 +, cCD79a +, cCD22 +, TdT +), LLA-B común (CD10 +) y LLA pre-B (cadena μ +) se basa en el inmunofenotipo, y no se enfatizan las correlaciones morfológicas. Siempre es importante distinguir los linfoblastos B de las hematogonias (precursores de células B). Las hematogonias muestran un continuo de expresión de marcadores de diferenciación de células B y son típicamente brillantes para CD81 y CD38. LLA-B tiene un pronóstico relativamente bueno en niños (remisión completa en > 95% de los casos) y variable en adultos (60-85%). El ochenta por ciento de los niños con LLA-B se curan, un cambio significativo en la mortalidad y el resultado en comparación con lo que se observó hace aproximadamente 20-30 años.(10)

La LLA de células T se define por la expresión de los antígenos asociados a las células T (CD3 citoplasmático, con CD7 más CD2 o CD5) en los blastos leucémicos. La LLA de células T se asocia frecuentemente con una constelación de características clínicas, que incluyen las siguientes: sexo masculino, edad avanzada, leucocitosis, masa mediastínica. Con la terapia apropiadamente intensiva, los niños con LLA de células T tienen un resultado similar al de los niños con LLA de linaje B. (3)

La terapia de inducción estándar actual para la LLA pediátrica incluye dexametasona, vincristina, L asparaginasa y daunorrubicina; ésta combinación produce una remisión completa (CR) en el 95% de los niños. La inducción a la remisión se continúa con terapia de consolidación, y los pacientes con subtipos de LLA que no sean LLA maduras de células B (tipo Burkitt) u otros factores pronósticos deficientes reciben al menos 2 años de terapia de mantenimiento con regímenes

que contienen metotrexato parenteral una vez por semana y 6 -mercaptipurina oral una vez por día. En nuestra unidad el tratamiento se realiza bajo dos protocolos diferentes, Total XV y MEMPHIS XV modificado, los cuales difieren levemente tanto en los medicamentos utilizados, las dosis y en la frecuencia de administración de cada ciclo de quimioterapia.(6)

LEUCEMIA AGUDA DE FENOTIPO MIXTO

Existen casos de leucemia aguda en niños que requieren especial atención, como es la leucemia aguda de fenotipo mixto (MPAL, por sus siglas en inglés) es un diagnóstico poco común, que representa solo alrededor del 2-5% de los casos de leucemia aguda.

Las células blásticas de MPAL expresan marcadores inmunofenotípicos multilíneaje y pueden tener un fenotipo B / T / mielóide compartido.

La leucemia aguda de fenotipo mixto (MPAL) es una categoría heterogénea en la clasificación de la Organización Mundial de la Salud que comprende leucemias agudas con discretas poblaciones mezcladas de blastos mieloides y linfoides ("bilíneal") o con coexpresión extensa de marcadores linfoides y mieloides en una sola población de blastos (" bifenotípica").(12)

Debido a la ambigüedad histórica en el diagnóstico de MPAL, la genética y las características clínicas de esta enfermedad siguen estando mal caracterizadas. Con base en las clasificaciones de la Organización Mundial de la Salud de 2008 y 2016, el linaje mielóide se determina mejor por la presencia de mieloperoxidasa, mientras que los linajes linfoides B y T se demuestran por CD19 y la expresión de CD3 citoplasmática respectivamente. MPAL generalmente tiene un peor pronóstico que la leucemia mielóide aguda (LMA) o la leucemia linfóide aguda (LLA).(13)

La leucemia de fenotipo mixto se mencionó por primera vez en la década de 1980, cuando los anticuerpos monoclonales comenzaron a utilizarse en la clasificación de

las células leucémicas. La aplicación rutinaria de anticuerpos monoclonales mostró que una pequeña proporción de LMA y LLA expresan marcadores inmunofenotípicos aberrantes. Fue necesario desarrollar criterios de diagnóstico para este subgrupo de LA, denominado bifenotípico. Los primeros criterios de diagnóstico para la llamada leucemia aguda bifenotípica (LBA) se establecieron en 1991.(12)

Estos trastornos han sido etiquetados históricamente por una variedad de nombres, como leucemia de linaje mixto, leucemia bilineal y leucemia bifenotípica, y los criterios para el diagnóstico a menudo han sido arbitrarios. Uno de los primeros intentos importantes para definir este trastorno fue el criterio de puntuación propuesto por el Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de Leucemias (EGIL). Se asignó una puntuación para los marcadores mieloides o linfoides específicos expresados por los blastos, y se definió la leucemia aguda bifenotípica cuando se logró una puntuación de más de 2 puntos para cada linaje. La clasificación de 2001 de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de neoplasias hematopoyéticas y linfoides incorporó el sistema de puntuación EGIL para definir las leucemias agudas de linaje ambiguo (Tabla 1).(14)

Puntaje	Linaje B	Linaje T	Linaje mieloide
2	CD79a	CD3 (m/cyt)	Anti-MPO (antilysozyme)
	cyt IgM cyt CD22	Anti-TCR α/β Anti-TCR γ/δ	
1	CD19	CD2	CD117 (c-kit)
	CD10	CD5	CD13
	CD20	CD8	CD33
		CD10	CD65s
0.5	TdT	TdT	CD14
	CD24	CD7	CD15
		CD1a	CD64

Tabla 1: Clasificación del EGIL, se requieren más de 2 puntos para asignar linaje

Con el creciente número de casos de LBA informados y la acumulación de más información sobre la naturaleza de los marcadores inmunológicos y las anomalías

citogenéticas observadas en "LBA", la Clasificación de la OMS de 2008 reconoció las limitaciones del EGIL y propuso definir las como "una sola población" de blastos que cumplirían los criterios para LLA-B o LLA-T, pero que también expresan MPO "o tienen" evidencia inequívoca de diferenciación monoblástica "según los requisitos específicos (Tabla 2). (15)

LINAJE	MARCADOR
Mieloide	MPO o diferenciación monocítica (al menos 2 de los siguientes NSE, CD11c, CD14, CD64 o lisozima)
Linaje T	cyCD3 o SmCD3
Linaje B	CD19 positivo fuerte y al menos 1 de los siguientes con expresión fuerte: CD79a, CD22cy, CD10; o CD19 positivo débil y al menos 2 de los siguientes con expresión fuerte: CD79a, CD22cy, CD10.

Tabla 2: Clasificación de la OMS 2008/actualizada 2016

Con esta clasificación, las leucemias anteriormente conocidas como LAB se definieron recientemente como leucemias agudas de fenotipo mixto (MPAL) y se incluyeron en el grupo de leucemias agudas de linaje ambiguo. Además, el diagnóstico de MPAL se simplificó al incluir menos marcadores pero más específicos. En la nueva clasificación de la OMS de 2016 de tumores de tejidos hematopoyéticos y linfoides, no se introdujeron cambios importantes en el diagnóstico de MPAL, excepto en los casos en que es posible distinguir dos poblaciones distintas de blastos.(12)

El conocimiento de su tratamiento se limita a los análisis retrospectivos de pequeñas cohortes de pacientes. Hasta el momento, no se han publicado recomendaciones de tratamiento verificadas por estudios prospectivos. Los datos informados sugieren que la terapia de inducción para la leucemia linfoblástica aguda seguida de trasplante alogénico de células hematopoyéticas es más efectiva que la terapia de

inducción para la leucemia mieloide aguda o la quimioterapia de consolidación. Se requiere el establecimiento de grupos cooperativos y registros internacionales basados en los recientes criterios de la OMS para garantizar un mayor progreso en la comprensión y el tratamiento de la MPAL.(16)

CLASIFICACION DE LA OMS 2008/2016

En colaboración con la Sociedad de Hematopatología y la Asociación Europea de Hematopatología, la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó la tercera y cuarta edición de la Clasificación de tumores de tejidos hematopoyéticos y linfoides de la OMS, en 2001 y 2008, respectivamente, como parte de una serie de monografías de la "clasificación del libro azul" de la clasificación de los tumores de la OMS (Tabla 3). (17)

WHO myeloid neoplasm and acute leukemia classification
Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm
Acute leukemias of ambiguous lineage
Acute undifferentiated leukemia
Mixed phenotype acute leukemia (MPAL) with t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>
MPAL with t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> rearranged
MPAL, B/myeloid, NOS
MPAL, T/myeloid, NOS
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma, NOS
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with recurrent genetic abnormalities
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> rearranged
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(12;21)(p13.2;q22.1); <i>ETV6-RUNX1</i>
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with hyperdiploidy
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with hypodiploidy
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(5;14)(q31.1;q32.3) <i>IL3-IGH</i>
B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(1;19)(q23;p13.3); <i>TCF3-PBX1</i>
<i>Provisional entity: B-lymphoblastic leukemia/lymphoma, BCR-ABL1-like</i>
<i>Provisional entity: B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with iAMP21</i>
T-lymphoblastic leukemia/lymphoma
<i>Provisional entity: Early T-cell precursor lymphoblastic leukemia</i>
<i>Provisional entity: Natural killer (NK) cell lymphoblastic leukemia/lymphoma</i>

Tabla 2: Clasificación de la OMS para leucemia 2008/actualizada 2016

En la clasificación actual de la OMS, la leucemia aguda bifenotípica y la leucemia bilineal aguda se clasifican como MPAL, porque la presentación clínica y las características genéticas de los dos subtipos son similares. Sin embargo, el informe de patología debe indicar si los blastos son bifenotípicos o bilineales, porque esta información es útil cuando se realizan pruebas para detectar enfermedad residual o recurrente.(18)

El diagnóstico de MPAL por inmunofenotipo se asigna a un caso de leucemia aguda que muestra la expresión de una combinación de antígenos de diferentes linajes, por lo que no es posible asignar un solo linaje. (14)

En relación con las neoplasias mieloides y la leucemia aguda, esta revisión se ha visto influenciada por varios factores, entre los que se incluyen los siguientes: el descubrimiento de características moleculares recientemente identificadas que ha producido nuevas perspectivas con respecto a los marcadores de diagnóstico y pronóstico que proporcionan nuevos conocimientos para la comprensión de la biopatología de estos trastornos; la caracterización mejorada y la estandarización de las características morfológicas que contribuyen a la diferenciación de los grupos de enfermedades, en particular de las neoplasias mieloproliferativas BCR-ABL1 (MPN), ha aumentado la fiabilidad y la reproducibilidad de los diagnósticos y que varios estudios clínicos patológicos han validado el postulado de la OMS de un enfoque integrado que incluye hallazgos hematológicos, morfológicos, citogenéticos y genéticos moleculares.(17)

El algoritmo diagnóstico propuesto por la OMS es más simple para definir la leucemia de fenotipo mixto mixto (MPAL), ya que depende de un menor número de marcadores específicos del linaje. En pocas palabras, el linaje mieloides requiere la presencia de mieloperoxidasa detectada por citometría de flujo, inmunohistoquímica o citoquímica o evidencia de diferenciación monocítica (con al menos dos de los siguientes marcadores positivos: citoquímica de esterasa inespecífica, CD11c, CD14 o CD64). El linaje T puede mostrarse con CD3 citoplasmático o superficial, y se requieren antígenos múltiples para el linaje B, incluidos CD19, CD79a, CD22 y

CD10. MPAL con t (9; 22) y reordenamiento MLL se han separado como subtipos distintos. Los casos restantes ahora están designados como MPAL, no especificados de otra manera.(14)

INMUNOFENOTIPO Y SU SITUACIÓN ACTUAL EN EL HOSPITAL DE PEDIATRIA DEL CMNO IMSS

La inmunofenotipificación por citometría de flujo (FCM) es un pilar mundial en el diagnóstico de la leucemia. Los últimos años han aportado mejoras importantes y una mejor definición de las vías diagnósticas utilizadas para evaluar la leucemia, el arsenal técnico de FCM y la subclasificación basada en información biológica detallada, según se resumió en las revisiones de 2008 y 2016 de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de neoplasias mieloides y leucemia aguda. (19)

Es una herramienta poderosa para la identificación adecuada del linaje linfoide o mieloide y es indispensable en el diagnóstico y tratamiento moderno de la leucemia aguda. (20) Permite la detección de diferentes células de acuerdo a la expresión de marcadores específicos típicos de cada grupo, mediante citometría de flujo.

En nuestra unidad al contar con el diagnóstico clínico o sospecha de Leucemia Aguda por parte de un hematólogo pediatra, se toman muestras de médula ósea en el área de Quimioterapia ambulatoria, o dependiendo de la gravedad del paciente en el sitio donde se encuentre hospitalizado (urgencias, UTIP), en aquellos en los que se sospecha tal neoplasia y las muestras se analizan al microscopio para confirmar o descartar el diagnóstico de leucemia aguda (más del 20% de blastos en médula ósea) dando una clasificación morfológica en base a la apariencia de los blastos, en linfoblástica o mieloblástica y se envían las muestras al laboratorio para determinación de inmunofenotipo.

En todos los casos, el inmunofenotipo se realiza en médula ósea, empleando un citómetro BD FACS Canto II® (Becton Dickinson and Co., New Jersey, USA)

equipado con láseres rojo (633 nm) y azul (488 nm) y anticuerpos conjugados a un fluorocromo [isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE), proteína peridina clorofila (PerCP-Cy5.5) o alofocianina (APC)]. Se emplea tinción celular directa, siguiendo el procedimiento recomendado por el fabricante. Los paneles de marcadores empleados son diseñados internamente, tratando de incluir los anticuerpos recomendados por el consorcio EuroFlow. El estudio de cada muestra se lleva a cabo en dos rondas: en la primera, se determina la existencia de una población clonal neoplásica y la línea celular involucrada empleando un tubo (ALOT), con una combinación de 8 anticuerpos (SmCD3, cyCD3, CD7, CD45, CD34, CD79, CD19, MPO); en la segunda ronda se determina la subpoblación neoplásica y su grado de diferenciación, se descarta la coexistencia de otras líneas neoplásicas y se valora la expresión de marcadores aberrantes. Se emplea un mínimo de 4 tubos por caso de B y T y 7 tubos por cada caso de mielóide. Los anticuerpos conjugados empleados son dirigidos contra los siguientes antígenos: en caso de tratarse de linfoblastos precursores de células B: CD20, CD58, CD66, CD19, CD10, CD38, Smlgk Smlgλ, CD9, TdT, CD22, CD24, CD21, CD81, (aberrantes: CD117, CD33, CD13, CD15, CD123, HLA-DR), en caso de tratarse de linfoblastos de células T: TdT, CD99, CD5, CD10, CD1a, CD2, CD4, CD8, CD7, SmCD3 Y cyCD, TCR γδ, CD44, HLA-DR, CD45, (aberrantes: CD56, CD117, CD19, CD13, CD33, CD123), en caso de tratarse de mieloblastos: HLA-DR, CD16, CD13, CD117, CD11b, CD10, CD35, CD64, IREM2, CD14, CD36, CD105, CD33, CD71, TdT, (aberrantes: CD56, CD 7 Y CD19). Un marcador se considera positivo cuando reacciona con el 20% o más de las células estudiadas. Los resultados se analizan con el programa BD FACS Diva v.6.1.3 (BD Biosciences, Becton Dickinson and Co., New Jersey, USA). Al contar con el resultado

Antecedentes

Se cuenta con varios estudios a nivel mundial que han clasificado las leucemias agudas utilizando tanto la clasificación del EGIL como de la OMS, entre ellos se reporta un estudio realizado en Corea, en el que de un total de 22 pacientes con Leucemia aguda de fenotipo mixto, previamente diagnosticados mediante la

aplicación del sistema de puntaje del Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de Leucemias Agudas (EGIL), fueron reclasificados en base a la clasificación de la OMS de 2008, en la que el número de anticuerpos monoclonales (mAb) requeridos para asignar más de un linaje disminuyó marcadamente, de 26 a 11, en comparación con la del EGIL. Diecisiete de los 22 pacientes MPAL se reclasificaron como MPAL, cinco pacientes fueron excluidos de MPAL en la clasificación revisada. (21)

Dentro de los trabajos realizados en nuestro país, uno de ellos fue elaborado en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, donde se llevó a cabo un estudio retrospectivo y transversal, en el que se revisaron los expedientes de 113 pacientes con diagnóstico de LLA, del 2008 al 2010. Sin embargo se utilizó la clasificación del grupo EGIL, para determinar si las leucemias tenían criterios de Leucemia aguda bifenotípica.

De los casos estudiados, se identificaron 29 pacientes asignados como riesgo habitual y 84 de alto riesgo. En 32 casos se pudo constatar por criterios del EGIL que se trataba de bifenotipia, esto correspondió al 28.3% del total de la muestra. El grupo donde se presentó el mayor número de Leucemia aguda bifenotípica, fue el grupo de alto riesgo de recaída (25 pacientes con bifenotipia en LLA alto riesgo contra 7 en el grupo de riesgo habitual).(8)

Otro estudio publicado en 2016 fue llevado a cabo en el Hospital de Especialidades Pediátricas de Chiapas, donde se clasificaron morfológica, inmunofenotípica y genotípicamente 81 casos de Leucemia Aguda indicando riesgo al ingreso y situación al momento del estudio. Con los resultados del estudio se confirmó el diagnóstico inicial (clínico y de laboratorio) y se determinó con precisión la línea celular neoplásica; la expresión de antígenos aberrantes y los casos se subclasificaron, dependiendo de su estadio de diferenciación o la subpoblación afectada, con base en los lineamientos modificados del Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de las Leucemias (EGIL). (11)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Justificación

Las leucemias agudas constituyen una patología hematológica frecuente en la infancia, en particular las de estirpe linfoide, su adecuada clasificación en base a características clínicas y citopatológicas de las células malignas aporta información valiosa para un adecuado tratamiento y evaluación pronóstica de la enfermedad. En nuestra unidad es posible realizar el análisis morfológico e inmunofenotípico, no así el genotípico de cada nuevo caso, por lo que es imprescindible hacer buen uso de las herramientas con las que disponemos y brindar un tratamiento terapéutico adecuado en base a la información brindada por los datos previos que repercutan en el bienestar del paciente.

Magnitud

En los últimos años se ha observado una creciente demanda de atención médica por patologías hematológicas malignas, siendo la Leucemia Linfoblástica aguda la principal enfermedad emergente en éste rubro de patologías, esto, aunado a que el Hospital de Pediatría del CMNO es considerado centro de referencia, hace que se cuente con una gran población de pacientes con LLA, lo que requerirá hacer uso de las herramientas disponibles en la Institución para la adecuada clasificación de la Leucemia Linfoblástica aguda y así instaurar mejores esquemas de tratamiento quimioterápico, adecuados a cada caso en particular. En nuestro hospital se atienden al año aproximadamente 80 casos nuevos de niños con Leucemia aguda.

Trascendencia

El inmunofenotipo es actualmente reconocido por proveer información esencial en pacientes con malignidades hematológicas, teniendo 3 aplicaciones principales: establecer el diagnóstico, realizar una clasificación pronóstica y evaluar la efectividad del tratamiento, por lo que es importante la realización de éste estudio.

Factibilidad

El Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente, se considera una Unidad Médica que cuenta con los recursos humanos y materiales para la atención integral del paciente con Leucemia, desde su diagnóstico, tratamiento y atención oportuna de complicaciones derivadas de la misma.

Pregunta de investigación

¿Qué características inmunofenotípicas se presentan en la Leucemia linfoblástica aguda en la población atendida en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente?

OBJETIVOS

General

Describir las características inmunofenotípicas de los casos de leucemia linfoblástica aguda del Hospital de Pediatría del CMNO.

Específicos:

- 1.- Determinar la prevalencia de Leucemia linfoblástica B aguda en nuestra población.
- 2.- Determinar la prevalencia de casos de Leucemia linfoblástica T aguda en nuestra población.
- 3.- Determinar la prevalencia de casos de Leucemia aguda de fenotipo mixto en nuestra población.
- 4.- Conocer las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes diagnosticados con Leucemia aguda.

Hipótesis: Por ser un estudio descriptivo no lo requiere

MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Se realizará un estudio descriptivo, retrospectivo.

Universo de estudio

Resultados de inmunofenotipo reportados en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente del 2016 a la fecha.

Población de estudio

Expedientes de pacientes con Leucemia aguda diagnosticados en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente durante el período de 2016 – 2018.

Criterios de inclusión

- Expedientes que cuenten con reporte de inmunofenotipo realizados en el laboratorio del Centro Médico Nacional de Occidente del IMSS durante el período de 2016 – 2018.
- Casos de Leucemias linfoblásticas agudas diagnosticadas morfológicamente

Criterios de exclusión

- Leucemias mieloides agudas diagnosticadas morfológicamente
- Expedientes de Leucemias linfoblásticas agudas que no cuenten con reporte de inmunofenotipo completo para la clasificación de la OMS.
- Expedientes de Leucemias linfoblásticas agudas que no cuenten con estudios de laboratorio completos requeridos para éste estudio.

Tamaño de la muestra

No se requiere tamaño de muestra porque se incluirán a todos los pacientes que cumplan los criterios en el tiempo estipulado.

Muestreo

No probabilístico, de casos consecutivos

Variables

Dependientes: reporte del inmunofenotipo de leucemias agudas.

- Inmunofenotipo para Leucemia aguda de células B
- Inmunofenotipo para Leucemia aguda de células T
- Inmunofenotipo para Leucemia Aguda de fenotipo mixto

Independientes:

- Edad
- Sexo
- Hemoglobina
- Leucocitos
- Plaquetas

OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Independientes:

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	UNIDAD DE MEDICIÓN	TIPO DE VARIABLE	TRATAMIENTO ESTADÍSTICO
Sexo	Condición orgánica, inherente a genitales externos.	Hombre Mujer	Cualitativa nominal	Frecuencias y porcentajes
Edad	Tiempo transcurrido entre el nacimiento y la evaluación para el estudio.	Años	Cuantitativa discreta	Media y desviación estándar
Leucocitos	Glóbulos blancos, principal componente celular de las respuestas inflamatoria e inmunitaria.	células/ μ l	Cuantitativa discreta	Media y desviación estándar
Hemoglobina	Proteína contenida en los eritrocitos que permite que el oxígeno sea llevado desde el sistema respiratorio a los demás órganos y tejidos.	g/dl	Cuantitativa discreta	Media y desviación estándar
Plaquetas	Células que circulan en la sangre; participan en la formación de coágulos sanguíneos y en la reparación de vasos sanguíneos dañados	células/ μ l	Cuantitativa discreta	Media y desviación estándar

Dependientes:

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	UNIDAD DE MEDICIÓN	TIPO DE VARIABLE	TRATAMIENTO ESTADÍSTICO
Inmunofenotipo para Leucemia aguda de células B	Inmunofenotipo con reporte CD19 positivo fuerte y al menos 1 de los siguientes con expresión fuerte: CD79a, CD22cy, CD10; o CD19 positivo débil y al menos 2 de los siguientes con expresión fuerte: CD79a, CD22cy, CD10.	No=0 Sí=1	Cualitativa nominal	Frecuencias y porcentajes
Inmunofenotipo para Leucemia aguda de células T	Inmunofenotipo con reporte positivo para cyCD3 o SmCD3	No=0 Sí=1	Cualitativa nominal	Frecuencias y porcentajes
Inmunofenotipo para Leucemia Aguda de fenotipo mixto	Inmunofenotipo que cumpla criterios para LLA-B o LLA-T, pero que también expresan MPO o tienen evidencia inequívoca de diferenciación monoblástica.	No=0 Sí=1	Cualitativa nominal	Frecuencias y porcentajes

Desarrollo del proyecto

Se revisarán expedientes de pacientes que hayan sido diagnosticados con Leucemia Linfoblástica aguda, se obtendrán los datos y se vaciarán en la hoja de recolección, realizando la clasificación para Leucemia linfoblástica en base a los criterios de la OMS 2008/2016.

LINAJE	MARCADOR
Mieloide	MPO o diferenciación monocítica (al menos 2 de los siguientes NSE, CD11c, CD14, CD64 o lisozima)
Linaje T	cyCD3 o SmCD3
Linaje B	CD19 positivo fuerte y al menos 1 de los siguientes con expresión fuerte: CD79a, CD22cy, CD10; o CD19 positivo débil y al menos 2 de los siguientes con expresión fuerte: CD79a, CD22cy, CD10.

Tabla 2: Clasificación de la OMS 2008/actualizada 2016

Análisis estadístico

Los datos se capturarán en una hoja de cálculo del programa Microsoft Excel 2010. Los resultados se analizarán mediante el programa estadístico SPSS versión 23 para Windows y los resultados se presentarán en tablas y gráficos.

Estadística descriptiva: Para las variables cuantitativas, se determinará el valor medio y DE o mediana y rangos, de acuerdo con la distribución de los datos. Para las variables cualitativas, se determinarán frecuencias y porcentajes.

Aspectos éticos

El protocolo será sometido para su revisión y dictamen por el Comité Local de Ética e Investigación en Salud de la unidad en que se realizará. De acuerdo al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud Título II, Capítulo I, artículos 17 y 23, se clasifica por sus características como un estudio sin riesgo. No requiere carta de consentimiento informado, ya que será una revisión de reportes de inmunofenotipo.

Recursos humanos, físicos y financieros

El Centro Médico Nacional de Occidente cuenta con un laboratorio, equipo de vanguardia y personal entrenado tanto médico como de laboratorio para realizar los procedimientos requeridos para éste protocolo. Los insumos necesarios de papelería y software serán cubiertos por los investigadores y el tesista, por lo que ésta investigación no requiere de financiamiento económico. Se cuenta con los recursos humanos del tesista, de la directora de tesis, Pediatra y Maestra en Ciencias Médicas; el asesor clínico es Hematólogo pediatra, ha sido y es revisor y asesor de tesis de postgrado de especialidad y subespecialidad.

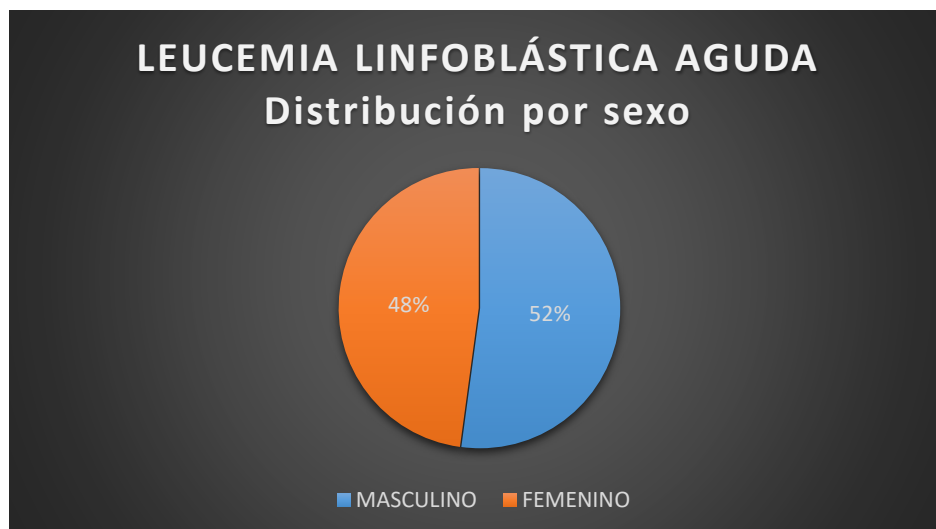
RESULTADOS

El estudio realizado es descriptivo, retrospectivo, en el cual se determinó una incidencia de 80 leucemias agudas al año; de las cuales la estirpe linfoide corresponde al 75% de los casos (60 pacientes), y un 25% a leucemias agudas mieloides (20 pacientes).

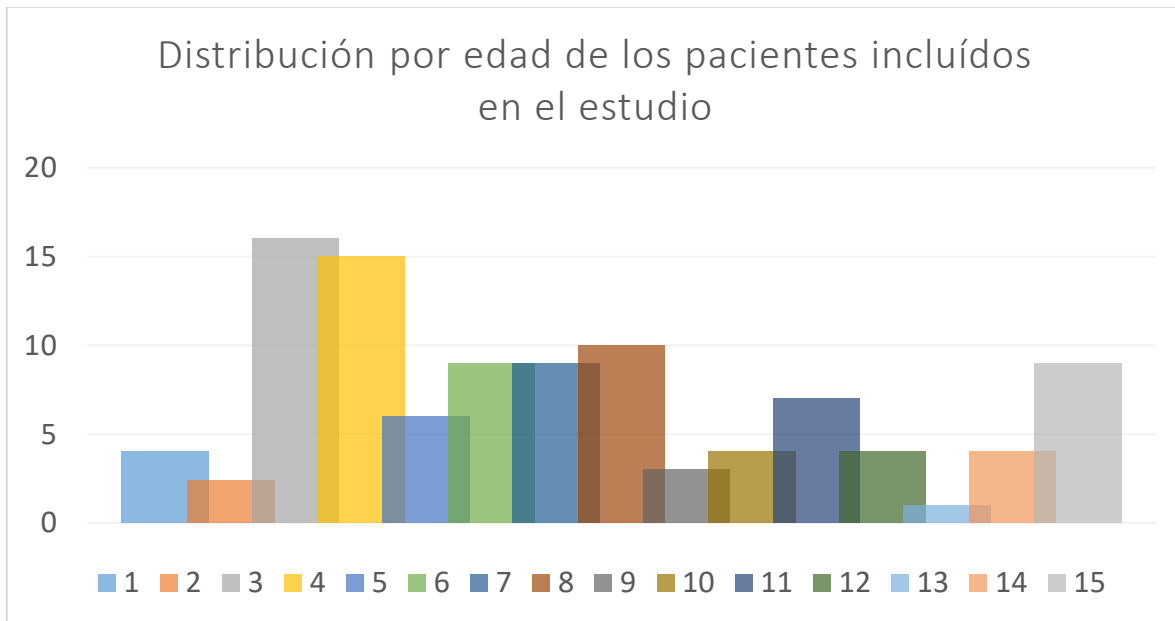


Se recopilaron datos de expedientes de 109 pacientes del servicio de Hematología, que cumplieron los criterios de inclusión antes señalados en el período de enero de 2016 a diciembre de 2018, cuyas características se describen a continuación:

Sexo: Masculino 57 (52%), femenino 52 (48%).



Edad: Promedio de edad de 7 años, mediana de edad 6 años, rango de 1 a 15 años. De los 109 pacientes, 4 (3.7%) de 1 año de edad (3 hombres y 1 mujer), 8 (7.3%) de 2 años de edad (1 hombre y 7 mujeres), 16 (14.7%) de 3 años de edad (10 hombres y 6 mujeres), 15 (13.8%) de 4 años de edad (9 hombres y 6 mujeres), 6 (5.5%) de 5 años de edad (1 hombre y 5 mujeres), 9 (8.3%) de 6 años de edad (4 hombres y 5 mujeres), 9 (8.3%) de 7 años de edad (6 hombres y 3 mujeres), 10 (9.2%) de 8 años de edad (6 hombres y 4 mujeres), 3 (2.8%) de 9 años de edad (1 hombre y 2 mujeres), 4 (3.7%) de 10 años de edad (3 hombres y 1 mujer), 7 (6.4%) de 11 años de edad (1 hombre y 6 mujeres), 4 (3.7%) de 12 años de edad (1 hombre y 3 mujeres), 1 (0.9%) de 13 años de edad (1 mujer), 4 (3.7%) de 14 años de edad (4 hombres), 9 (8.3%) de 15 años de edad (7 hombres y 2 mujeres).



Hemoglobina: valor mínimo 1.9 g/dl, valor máximo 16 g/dl, ambas pacientes del sexo femenino, 98 pacientes (90%) se presentaron con anemia al diagnóstico.

Plaquetas: 82 pacientes (75%) con trombocitopenia al diagnóstico, con valor mínimo de 5,000 plaquetas y máximo de 439,000.

Leucocitos: 18 pacientes (16.5%) con leucocitos mayores a 50,000 y 91 pacientes con menos de 50,000 leucocitos, con cifra mínima de 690 y máxima de 665,100 cels/ μ l.

Neutrófilos: 84 pacientes (77%) con neutropenia al diagnóstico, de los cuales 16 pacientes (14.6%) con neutropenia leve, 25 pacientes (23%) con neutropenia moderada y 43 pacientes (39.4%) con neutropenia grave, con cifra mínima de neutrófilos de 20 y máxima de 22,820 cels/ μ l.

Hallazgos en la Biometría hemática

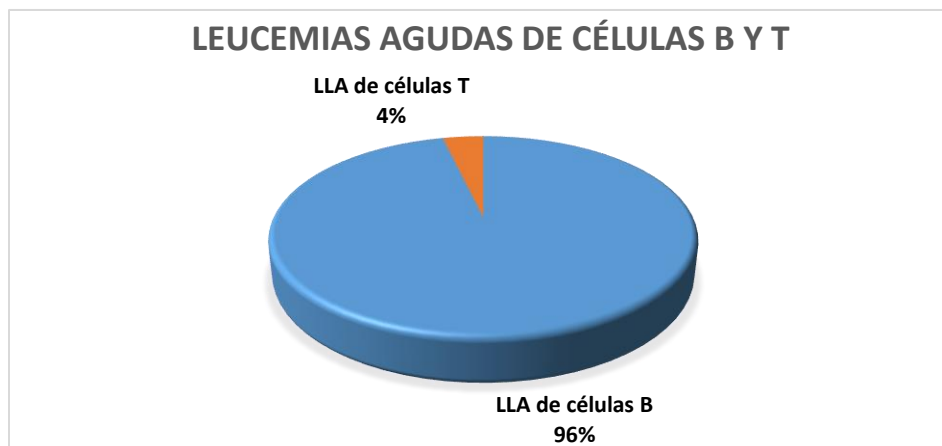
Célula	Cifra mínima	Cifra máxima
Hemoglobina	1.9 g/dL	16 g/dL
Plaquetas	5,000	439,000
Leucocitos	690 cels/ μ l	665,100 cels/ μ l
Linfocitos	230 cels/ μ l	243,400 cels/ μ l
Monocitos	0	13,580 cels/ μ l
Eosinófilos	0	840 cels/ μ l
Basófilos	0	144,400 cels/ μ l
Neutrófilos	20 cels/ μ l	22,820 cels/ μ l

Pacientes afectados al diagnóstico		Porcentaje
Anemia	98	90%
Trombocitopenia	82	75%
Leucocitos >50,000	18	16.5%
Leucocitos <50,000	91	83.5%
Neutropenia	84	77%
Leve	16	14.6%
Moderada	25	23%
Severa	43	39.4%

Clasificación de riesgo de acuerdo al NCI: 42 pacientes (38.5%) se clasificaron de alto riesgo, 25 pacientes (22.9%) por edad mayor o igual a 10 años, 13 pacientes (11.9%) por leucocitos mayores a 50,000 y 4 pacientes (3.7%) cumplieron ambos criterios, los 67 pacientes restantes (61.5%) fueron de riesgo estándar.

	<u>Frecuencia</u>	<u>Porcentaje</u>
<u>Alto riesgo</u>	<u>42</u>	<u>38.5%</u>
Por edad	25	22.9%
Por leucocitosis	13	11.9%
Edad y leucocitosis	4	3.7%
<u>Riesgo estándar</u>	<u>67</u>	<u>61.5%</u>

Leucemia linfoblástica aguda: en total 109 pacientes, de los cuales 51 pacientes (46.8%) correspondieron al año 2018, 46 pacientes (42.2%) al año 2017 y 12 pacientes (11%) al año 2016, de las leucemias agudas linfoblásticas 105 pacientes (96.3%) pertenecen a población de origen de células B con expresión de CD19, CD79, CD22 y CD10 principalmente y 4 pacientes (3.7%) a células T con expresión de CD3, sin encontrarse por inmunofenotipo leucemias de fenotipo mixto.



MARCADORES INMUNOFENOTÍPICOS ENCONTRADOS

Marcadores mieloides	Pacientes
MPO	0
NSE	0
CD11c	0
CD14	4
CD64	1
Marcadores linfoides T	
cyCD3	3
SmCD3	1
Marcadores linfoides B	
CD19	100
CD79	105
CD22	93
CD10	105

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Durante la revisión de la base de datos y recopilación de los mismos, identificamos que en promedio en nuestra institución se diagnostican 80 leucemias agudas al año; de las cuales la estirpe linfoide corresponde al 75% de los casos (60 pacientes), y un 25% a leucemias agudas mieloides (20 pacientes).

De las leucemias agudas linfoblásticas diagnosticadas anualmente, 57 pacientes (95%) pertenecen a población de origen de células B y 3 pacientes (5%) a células T. Correspondiendo la población clonal de origen B al 71.25% del total de leucemias agudas de reciente diagnóstico, y la población clonal de origen linfoide T al 3.75%.

Para la realización de éste estudio se recabaron los inmunofenotipos de los pacientes diagnosticados con leucemia aguda linfoblástica durante el período comprendido de enero de 2016 a diciembre de 2018, obteniendo un total de 184 pacientes, de los cuales se descartaron 75 por no haber cumplido con los criterios de inclusión, las causas principales de exclusión fueron estudios de laboratorio incompletos y no contar con inmunofenotipo realizado en ésta institución, quedando 109 pacientes que fueron los incluidos en éste estudio.

Los resultados de los 109 casos estudiados, con información de alteraciones en la biometría hemática al diagnóstico, permite conocer los tipos y la diversidad de Leucemia aguda que se ha observado en pacientes atendidos en el Hospital de Pediatría del CMNO y proporciona información importante relativa a dicha enfermedad en la población atendida, y en los puntos esenciales que pueden orientar a los médicos a sospechar de alguna neoplasia hematológica, identificando que el 90% de los pacientes debuta con anemia, el 77% con neutropenia en diferentes grados y el 75% con trombocitopenia.

En cuanto a la edad de presentación se vieron afectados en mayor proporción los pacientes de 3 y 4 años, coincidiendo con lo reportado en la literatura donde se informa que la edad más frecuente de presentación es dentro del grupo etáreo de 3 a 5 años.

De acuerdo con el objetivo de éste trabajo se evidencia que la población pediátrica atendida en nuestra institución, muestra un patrón similar al reportado en otras partes del país y a nivel mundial, ya que en la mayoría de nuestros pacientes estudiados con leucemia aguda se observan afectados los linfocitos B, seguidos por las leucemias mieloides y las linfocíticas T, si bien, en nuestro estudio no se reportaron casos de leucemia de fenotipo mixto, en otros estudios ha constituido del 2 al 5% del total de las leucemias.

Al analizar el inmunofenotipo de cada caso de leucemia no se cumplieron criterios para clasificarlas como de fenotipo mixto, incluso cuando dicha clasificación se vio simplificada por la reducción en el número de marcadores necesarios, lo que trajo como consecuencia que se volvieran más específicos.

Durante la revisión de estudios previos en los que analizaban ambas clasificaciones, EGIL y OMS 2016, se dieron cuenta que al aplicar la actual clasificación de la OMS descendía el número de Leucemias catalogadas como de fenotipo mixto.

Con la nueva clasificación de la OMS 2016, para MPAL se requiere un menor número de marcadores específicos de linaje, lo observado en éste estudio es que muchos de ellos son reportados en nuestro servicio de laboratorio, pero no de manera completa para poder llevar a cabo una adecuada clasificación, cabe resaltar que constituye parte esencial contar con el estudio genético, no sólo de las leucemias de fenotipo mixto, sino de todos los casos de leucemia, para poder indicar una terapia personalizada dependiendo de las alteraciones encontradas y así coadyuvar a mejorar la sobrevida de nuestra población atendida.

CONCLUSIONES

La Leucemia aguda linfoblástica es el cáncer más frecuente en la niñez, de ahí la importancia no sólo de realizar un diagnóstico oportuno, sino una adecuada clasificación morfológica e inmunofenotípica, con el objetivo de implementar regímenes de tratamiento enfocados en la línea celular neoplásica específica y contribuir a mejorar la sobrevida de los pacientes, por una parte intensificando el tratamiento en los casos necesarios o evitando la toxicidad al disminuir la exposición a fármacos quimioterápicos en otros pacientes.

Deben ser difundidos entre la población general y a los médicos de primer contacto los signos y síntomas que orientan hacia la sospecha de alguna neoplasia hematológica, logrando así una derivación oportuna a especialistas en dicha patología, ayudando a una detección temprana y por consiguiente la instauración del tratamiento específico.

Es importante considerar que en éste trabajo tuvimos un 40% de pacientes sin resultado de inmunofenotipo, correspondientes al año previo a la aplicación de los anticuerpos recomendados por el consorcio Euroflow, lo cual constituyó una limitante importante para el desarrollo del estudio, como Institución de salud debemos trabajar para que éste número disminuya.

En nuestra población de estudio no se identificaron por inmunofenotipo leucemias agudas de fenotipo mixto, por lo que al emplear ésta clasificación tratamos de identificar oportunidades de mejora para la identificación de las leucemias, considerando que sería muy conveniente normar lineamientos de calidad en citometría de flujo, tratando de contar con marcadores que nos permitan dicha clasificación, además de un estudio genético que identifique alteraciones específicas, las cuales podrían llegar a constituir consideraciones pronósticas que impacten directamente en la salud de los pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lhermitte L, Mejstrikova E, van der Sluijs-Gelling AJ, Grigore GE, Sedek L, Bras AE, et al. Automated database-guided expert-supervised orientation for immunophenotypic diagnosis and classification of acute leukemia. *Leukemia*. abril de 2018;32(4):874-81.
2. Hunger SP, Mullighan CG. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. Longo DL, editor. *N Engl J Med*. 15 de octubre de 2015;373(16):1541-52.
3. PDQ Pediatric Treatment Editorial Board. Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Treatment (PDQ®): Health Professional Version. En: PDQ Cancer Information Summaries [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2002 [citado 26 de agosto de 2018]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65763/>
4. Soulier J, Cortes J. Introduction to the review series on acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 25 de junio de 2015;125(26):3965-6.
5. Azizi MH, Bahadori M, Azizi F. History of cancer in Iran. *Arch Iran Med*. octubre de 2013;16(10):613-22.
6. Freireich EJ, Wiernik PH, Steensma DP. The leukemias: a half-century of discovery. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 de noviembre de 2014;32(31):3463-9.
7. Simone JV. History of the treatment of childhood ALL: A paradigm for cancer cure. *Best Pract Res Clin Haematol*. junio de 2006;19(2):353-9.
8. Dorantes E., Medina A., Dávila K., López B. Clasificación inmunológica de las leucemias agudas linfoblásticas del Hospital Infantil de México Federico Gómez, de acuerdo al EGIL. *Gac Mex Oncol*. junio de 2013;12(3).
9. Ramos KN, Ramos IN, Zeng Y, Ramos KS. Genetics and epigenetics of pediatric leukemia in the era of precision medicine. *F1000Research*. 2018;7.
10. Wenzinger C, Williams E, Gru AA. Updates in the Pathology of Precursor Lymphoid Neoplasms in the Revised Fourth Edition of the WHO Classification of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. *Curr Hematol Malig Rep*. agosto de 2018;13(4):275-88.
11. Lepe-Zúñiga JL, Jerónimo-López FJ, Hernández-Orantes JG. Características citopatológicas de la leucemia aguda en el Hospital de Especialidades Pediátricas de Chiapas, México. *Bol Méd Hosp Infant México*. marzo de 2017;74(2):122-33.
12. Pomerantz A, Rodriguez-Rodriguez S, Demichelis-Gomez R, Barrera-Lumbreras G, Barrales-Benitez O, Lopez-Karpovitch X, et al. Mixed-phenotype

acute leukemia: suboptimal treatment when the 2008/2016 WHO classification is used. *Blood Res.* 2016;51(4):233.

13. Khan M, Siddiqi R, Naqvi K. An update on classification, genetics, and clinical approach to mixed phenotype acute leukemia (MPAL). *Ann Hematol.* junio de 2018;97(6):945-53.

14. Weinberg OK, Seetharam M, Ren L, Alizadeh A, Arber DA. Mixed Phenotype Acute Leukemia. *Am J Clin Pathol.* 1 de diciembre de 2014;142(6):803-8.

15. Zhao XF, Gojo I, York T, Ning Y, Baer MR. Diagnosis of biphenotypic acute leukemia: a paradigmatic approach. *Int J Clin Exp Pathol.* 10 de octubre de 2009;3(1):75-86.

16. Cernan M, Szotkowski T, Pikalova Z. Mixed-phenotype acute leukemia: state-of-the-art of the diagnosis, classification and treatment. *Biomed Pap.* 26 de septiembre de 2017;161(3):234-41.

17. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood.* 19 de mayo de 2016;127(20):2391-405.

18. Charles NJ, Boyer DF. Mixed-Phenotype Acute Leukemia: Diagnostic Criteria and Pitfalls. *Arch Pathol Lab Med.* noviembre de 2017;141(11):1462-8.

19. Dworzak MN, Buldini B, Gaipa G, Ratei R, Hrusak O, Luria D, et al. AIEOP-BFM Consensus Guidelines 2016 for Flow Cytometric Immunophenotyping of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia: iBFM-FLOW STANDARDS FOR IMMUNOPHENOTYPING OF PEDIATRIC ALL. *Cytometry B Clin Cytom.* enero de 2018;94(1):82-93.

20. Pan Z, Yang M, Huang K, Büsche G, Glage S, Ganser A, et al. Flow cytometric characterization of acute leukemia reveals a distinctive 'blast gate' of murine T-lymphoblastic leukemia/lymphoma. *Oncotarget* [Internet]. 5 de enero de 2018 [citado 28 de agosto de 2018];9(2). Disponible en: <http://www.oncotarget.com/fulltext/23410>

21. Park J, Chae H, Kim M, Lim J, Kim Y, Lee J, et al. A Study of Mixed Phenotype Acute Leukemia Based on the 2008 World Health Organization Classification. *Korean J Lab Med.* 2010;30(6):525.

Anexo

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Hoja de recolección de datos				
	1	2	3	4
Sexo				
Edad				
Leucocitos				
Hemoglobina				
Plaquetas				
CD3				
CD19				
CD22				
CD79a				
CD10				
MPO				
CD14				
CD11c				
CD64				
Lisozima				
NSE				
Tipo de leucemia por inmunfenotipo				