



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Importancia de las pruebas básicas y especiales en el laboratorio de hematología para el diagnóstico de leucemias agudas, en el primer y segundo nivel de atención médica.

TESIS

Que para obtener el título de:

Licenciada en Bioquímica Diagnóstica.

P R E S E N T A

Guadalupe Ortega Trejo

Asesora de tesis: M. en C. Idalia Carmen Avila Miyazawa

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, junio 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis.**

Importancia de las pruebas básicas y especiales en el laboratorio de hematología para el diagnóstico de leucemias agudas, en el primer y segundo nivel de atención médica.

Que presenta la pasante: **Guadalupe Ortega Trejo**
Con número de cuenta: **305059246** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 31 de Octubre de 2018.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Idalia Carmen Avila Miyazawa	
VOCAL	M. en C. Gloria Leticia Arellano Martínez	
SECRETARIO	Q.F.B. María de Lourdes Galván Ruiz	
1er. SUPLENTE	M. en C. Betsabé Rodríguez Pérez	
2do. SUPLENTE	M. en C. Heidi Johanna Amezcua Hempel	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*

Dedicatoria

Dedico este trabajo principalmente a mi madre Concepción Trejo, por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional sin importar las vicisitudes, porque es para mí ejemplo de superación, y fortaleza. A mi familia por haber sido mi apoyo a lo largo de toda mi carrera universitaria, pero sobre todo a lo largo de mi vida. Y a quienes han partido, pero siempre estarán presentes porque fueron importantes en todo momento.

Agradecimientos

- ♥ A Dios por permitirme la estancia en la tierra y poder cumplir uno de mis sueños.

- ♥ A mis hermanas **Anahí** y **Araceli**, por todo el apoyo que me han brindado a lo largo de mi vida, porque sé que siempre caminaremos juntas y tendré en ellas un amor incondicional a pesar de todo.
 - ♥ A mis hermanos que han creído en mí.

 - ♥ A Pedro que sin su apoyo no hubiera sido posible la culminación de mi carrera universitaria, le agradezco la confianza que deposito en mí, y por brindarle a mi familia el apoyo de manera incondicional en todo momento.

- ♥ A mis asesoras de Tesis y maestras, por la infinita paciencia que me tuvieron para poder terminar este trabajo y porque siempre me dieron las palabras precisas para no claudicar.

- ♥ To R. Cruz. Who has been present at this stage of my life, and has not done more than show me an unconditional love.
“My best teacher driving “

- ♥ To my crazy friend, Angelica university partner
 - ♥ and accomplice of everything

- ♥ **To the life that has given me so much.**

ÍNDICE

	HOJA
Justificación	iii
Objetivos	iv
Listado de imágenes	v
Listado de tablas	vi
Abreviaturas	vii
INTRODUCCIÓN	1
1.-GENERALIDADES DE LAS LEUCEMIAS	3
1.1 Etiología	4
1.2 Patogenia	5
1.3 Cuadro clínico	8
1.3.1 Manifestaciones clínicas de la LLA	10
1.3.2 Manifestaciones clínicas de la LMA	10
2.-CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS	12
2.1 Clasificación Franco-Americana-Británica (FAB)	13
2.2 Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS)	19
2.3 Clasificación del Grupo Europeo para la caracterización inmunológica de las leucemias (EGIL)	28
3.-INCIDENCIA EN LEUCEMIAS AGUDAS	32
3.1 Incidencia en adultos	32
3.2 Incidencia en niños	34
4.-PRUEBAS BÁSICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIAS AGUDAS	38
4.1 Generalidades de la biometría hemática y valores de referencia	38
4.2 Datos de alarma de la biometría hemática en niños	39

4.3 Datos de alarma de la biometría hemática en adultos	42
4.4 Aspirado de médula ósea	43
4.5 Biopsia de médula ósea y mielograma	46
4.6 Otros hallazgos del laboratorio	54
4.7 Citomorfología de los subtipos de LMA	55
4.8 Citomorfología de los subtipos de la LLA	69
5.-PRUEBAS ESPECIALES PARA DIAGNOSTICO DE LEUCEMIAS AGUDAS	71
5.1 Análisis citoquímico	71
5.1.1 Mieloperoxidasa	72
5.1.2 Negro Sudan B (SBB)	73
5.1.3 Esterasas	73
5.1.4 Muramidasa o lisozima	76
5.1.5 Fosfatasa acida	76
5.1.6 Ácido peryódico Shiff	77
5.2 Inmunofenotipo	78
5.2.1 Fundamento y conceptos generales de citometría de flujo	78
5.2.2 Inmunofenotipo de LLA	82
5.2.3 Inmunofenotipo de LMA	86
6.-DISCUSIÓN	89
7.-CONCLUSIONES	94
8.- GLOSARIO	96
9.-REFERENCIAS CONSULTADAS	101

Justificación

La sospecha clínica de una probable leucemia aguda mieloide o linfoide se realiza cuando los pacientes llegan a la consulta habitual con su médico de cabecera, o a un servicio de urgencias, por la aparición aguda de síntomas clínicos de un corto periodo de evolución, por lo general de semanas o de dos a tres meses en los que se destacan la astenia, anorexia, fatiga, cansancio, debilidad generalizada, disnea, deseos de permanecer en reposo o en cama y la palidez en algunos casos, y junto a estas manifestaciones generales suelen aparecer hemorragias cutáneas y/o en otros lugares (epistaxis, melenas, hematurias etc.), cuando la trombocitopenia del paciente llega a valores inferiores a 20,000 plaquetas/mm³. Es entonces que la primera orientación diagnóstica de leucemia aguda debe hacerse con base a lo que se dispone en ese momento, es decir mediante estudios básicos como la biometría hemática y la atenta observación morfológica de los elementos inmaduros. Posteriormente, la aplicación de todos los estudios que en la actualidad se disponen, como las pruebas citoquímicas, inmunofenotipo, citogenética y biología molecular, que permitirá clasificar el tipo de leucemia que presenta dicho paciente, sin embargo no siempre se cuenta con todos los recursos, para la clasificación o diferenciación de leucemias agudas, es por ello que se pretende proporcionar información sobre las pruebas básicas y especiales que se pueden realizar en el primer y segundo nivel de atención médica y que contribuyan a un diagnóstico temprano y oportuno en beneficio del paciente.

Objetivos

General

Proporcionar información, de acuerdo al nivel de atención médica en el que se encuentre el paciente, sobre el uso de técnicas básicas y especiales del laboratorio de hematología que pueden orientar a un diagnóstico temprano de leucemias agudas, mediante la descripción de cada una de ellas, informando sobre los diferentes sistemas de clasificación de las leucemias agudas y estableciendo los datos necesarios para la correcta diferenciación de las mismas.

Particulares

Proporcionar información sobre las pruebas existentes en el laboratorio, que están al alcance en el primer y segundo nivel de atención médica y que pueden contribuir a un diagnóstico temprano y oportuno de leucemias agudas, para el beneficio del paciente.

Describir las células representativas de las leucemias agudas mediante la descripción química y morfológica de cada una de ellas, para poder identificar los subtipos de leucemias agudas mediante este criterio de clasificación.

Fundamentar y describir el procedimiento de la inmunofenotipificación como método de diagnóstico para leucemias agudas y definir los marcadores celulares propios de cada uno de los subtipos de leucemias agudas para su correcta diferenciación.

Listado de imágenes

# Imagen	Descripción	Página
1.	Sitio de punción para aspirado o biopsia de médula ósea	44
2.	Aguja de Jamishidi	49
3.	Aguja Islam	49
4.	Médula Ósea hipocelular	52
5.	Médula Ósea hipercelular	52
6.	Médula Ósea normocelular	53
7.	Blasto de LMA-MO	58
8.	Blasto de LMA-MO canibalismo celular	58
9.	Blasto de LMA-M1	58
10.	Blasto LMA-M1 de MO	58
11.	LMA-M2 Bastones Auer	59
12.	LMA-M2 Blastos hipergranulados	59
13.	Blastos con rasgos dismórficos	59
14.	Blastos con granulación basófila	59
15.	LMA-M3 Promielocito atípico	62
16.	LMA-M3 Promielocito típico	62
17.	LMA-M3v Promielocitos	62
18.	LMA-M3 hiperleucocitaria	62
19.	Blastos granulación eosinofílica	64
20.	Blastos atípicos con granulación eosinofílica	64
21.	LMA-M5a	64
22.	LMA-M5b	64
23.	Eritrofagocitosis	65
24.	LMA-M5c	65
25.	LMA-M6 con maduración	66
26.	LMA-M6 sin maduración	66
27.	Proeritroblastos y eritroblastos MO	68
28.	Dismorfia eritrocitaria	68
29.	LMA-M7	68
30.	LMA-M7 blastos con mamelones	68
31.	LLA-L1 linfocitos pequeños	70
32.	LLA-L2 linfocitos grandes	70
33.	LLA-L3 linfocitos vacuolizados	70
34.	LLA-L3 linfocitos vacuolizados	70
35.	Citoquímica MPO	73
36.	Citoquímica NSBB	74
37.	Citoquímica ANAE	77
38.	Citoquímica PAS	77
39.	Partes de un citómetro de flujo	79
40.	Ejemplo de un diagrama de dispersión	80

Listado de tablas

Tabla	Contenido	Página
1.	Síndromes característicos en el cuadro clínico de las leucemias agudas.	9
2.	Clasificación de leucemias agudas FAB.	14
3.	Clasificación de la leucemia mieloide aguda (LMA) OMS	19
4.	Puntuación para las leucemias agudas según EGIL.	30
5.	Valores hematológicos de referencia en la edad pediátrica.	39
6.	Valores de hematológicos de referencia en adultos	41
7.	Celularidad de médula ósea según con la edad.	47
8.	Mielograma células en la médula ósea de adultos.	54
9.	Clasificación citomorfológica de la leucemia aguda linfoblástica LLA según la FAB	69
10.	Clasificación FAB de las leucemias agudas. Caracterización citoquímica.	71
11.	Clasificación FAB de las LA, caracterización citoquímica de células de precursores B.	82
12.	Clasificación EGIL de las leucemias agudas linfoblásticas.	85
13.	Panel de anticuerpos para la inmunotipificación de la leucemia aguda mieloide.	86
14.	Inmunofenotipo de las leucemias agudas mieloblásticas.	88

Abreviaturas

AcMo: Anticuerpos monoclonales

AMO: Aspirado de médula ósea

BMO: Biopsia de médula ósea

CSF Factor estimulante de colonias de células

CF: Citometría de flujo

EGIL: European Group for the Immunological Characterization of Leukemias

FAB: Asociación Franco-Américo-Británica

LLA: Leucemia aguda linfoblástica

LMA: Leucemia aguda mieloblástica

LAB: Leucemia aguda bifenotípica

LCM: Leucemia mieloide crónica

MCG: May-Gruwald-Giemsa

OMS: Organización mundial de salud

TDT-SD: Trastorno mieloproliferativo transitorio asociado síndrome de Down

TDT-SD: Trastorno mieloproliferativo transitorio asociada síndrome de Down

t-MNs: Sistema de estadificación de cáncer

INTRODUCCIÓN

Las leucemias son un grupo heterogéneo de enfermedades que se distinguen por infiltración de la médula ósea, sangre y otros tejidos, por células neoplásicas del sistema hematopoyético. Son enfermedades neoplásicas que se deben a mutación somática de la célula progenitora, según su estirpe celular afectada, ya sea la línea mieloide o la linfoide. (Ortega, 2007). La clasificación de las leucemias se basa en la evolución de la enfermedad, que puede ser aguda o crónica y en el origen de las células involucradas. Las formas básicas son: leucemia linfoblástica aguda (LLA) leucemia mieloblástica aguda (LMA), leucemia linfocítica crónica (LLC) y leucemia mieloide crónica (LMC) Las leucemias agudas tienen una evolución agresiva y por lo general afectan a pacientes menores de 20 años o más de 60, a diferencia de las crónicas que tienen una evolución más indolente, que por lo general dura varios años y se presenta en la edad adulta, casi siempre después de los 40 años (Lindhe 2009). En las LA se puede presentar una anemia normocítica normocrómica con leucocitos normales, bajos o altos, pero en la mayor parte de los casos con blastos (mieloblastos, linfoblastos o monoblastos) demostrados en el frotis de sangre periférica o en el aspirado de médula ósea, con lo que se lleva a cabo el diagnóstico y la clasificación específica del tipo de leucemia aguda. (Almaguer, 2003). Si se deja de tratar, el paciente sucumbe a las complicaciones de la enfermedad en un lapso de semanas a meses posteriores al diagnóstico. Esta duración corta de la enfermedad desde el diagnóstico hasta la muerte es lo que ha propiciado a los hematólogos a denominar a la enfermedad en “aguda”. (Mackenzie, 2005), es por ello que la clasificación exacta de un determinado tipo de leucemia, nos permite dar tratamientos específicos, con mejores resultados ya que en la actualidad el avance tecnológico y el uso de nuevos agentes farmacológicos y biológicos han mejorado el tratamiento para las leucemias agudas, en donde ya no es suficiente el hecho de integrar remisión, sino cada vez lograr sobrevividas más prolongadas e incluso, mayor porcentaje de curaciones. (García, 2002)

En 1976 un grupo internacional de investigadores (franceses, americanos y británicos) propuso los criterios para realizar la clasificación morfológica de las leucemias agudas (LA) que las dividía en nueve tipos, tres de estirpe linfoide; LLA-L1 linfoblástica (“típica”), LLA-L2 linfoblástica(“atípica”), LLA-L3 (parecida linfoma de Burkitt) y seis de estirpe mieloide; LMA-M1 (mieloblástica sin maduración), LMA-M2 (mieloblástica con

maduración), LMA-M3 (promielocítica), LMA-4 (mielomonocítica), LMA-M5 (monocítica), LMA-M6 (eritroide). El desarrollo de esta clasificación fue franco-americano-británica (FAB) fue debido a la necesidad de un esquema que unificara los criterios morfológicos y sirviera para correlacionarlos con los pronósticos de la enfermedad. Años más tarde los mismos miembros del grupo de la FAB agregaron a esta clasificación dos variedades más de leucemia mieloblástica LAM0 (mínimamente diferenciada) y LAM7 (megacarioblástica). Las que estrictamente no pueden ser diagnosticadas solo con las bases puramente morfológicas. (Ruiz, 2009). La piedra angular del diagnóstico son las características morfológicas de muestras de médula ósea preparadas, con la tinción de Romanowsky. (Rodak, 2004). En la década de los ochentas los estudios morfológicos, citoquímicos, de citogenética convencional y de inmunofenotipo tuvieron un papel importante en la definición del tipo celular neoplásico, por tanto, en el diagnóstico de las leucemias. Sin embargo, es en la década de los 90 cuando se consolida el papel fundamental del estudio morfológico y, al mismo tiempo, adquieren un gran protagonismo otros métodos, tales como la citometría de flujo, la hibridación in situ, la citogenética molecular y la biología molecular (Merino, 2010)

La célula en la que se produce la transformación leucémica es un precursor que pierde la capacidad de seguir su proceso normal de maduración, cuando este precursor es de origen mieloide, se desarrolla una leucemia aguda mieloide (LAM). (Merino, 2010), este tipo de leucemia es una neoplasia hematológica agresiva con una supervivencia media del 19,5% a los 5 años. Existen ocho tipos descritos según la clasificación Franco-Americana-Británica (FAB), de la M0 a la M7. (Méndez, 2011). Por otro lado, la leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el cáncer más frecuente en la edad pediátrica con tasas de curación mayores al 80% en la actualidad. (García 2010). Sin duda la evidencia clínica predomina como la piedra angular de la sospecha diagnóstica de las leucemias y de cualquier padecimiento, pero lo que sigue es complementar el diagnóstico con el apoyo del laboratorio clínico en la citometría hemática completa o especial, lo que quiere decir, la observación minuciosa del frotis de sangre periférica por personal técnico que tenga la preparación en la identificación de células anormales y sobre todo leucémicas. (Hurtado, 2012)

1.-GENERALIDADES DE LAS LEUCEMIAS

La leucemia es una enfermedad neoplásica progresiva del sistema hematopoyético caracterizado por la proliferación no regulada de las células progenitoras asignadas o parcialmente asignadas, estas neoplasias de células hematopoyéticas proliferan inicialmente en la médula ósea, posteriormente se diseminan a la sangre y después a otros tejidos, esas células muestran defectos de maduración y su acumulación en la médula ósea determina un frenado de la hematopoyesis normal, a la que acaban sustituyendo, llegando a ser inmaduros la mayor parte de los elementos linfoides o mieloides que pasan a la sangre. (Arribas, 2005). Esto se debe a una mutación de la célula germinal pluripotencial, que se expresa como la incapacidad que tienen las células precursoras para madurar, por lo que en sangre periférica aparecen *blastos*, que sustituyen progresivamente al tejido hematopoyético normal produciendo un descenso de las tres series hematopoyéticas produciéndose una panmielopatía. (Arias,2000). Históricamente las leucemias han sido clasificadas como mieloides o linfoides, según los tipos celulares predominantes involucrados, y como agudas y crónicas sobre la base de la historia natural de la enfermedad, en general las leucemias agudas se caracterizan por el predominio de precursores leucocitarios indiferenciados sin embargo las leucemias crónicas presentan grandes cantidades circulante de precursores de la serie blanca más maduros y fácilmente reconocibles, y que constituyen el tipo celular leucémico predominante. (Mohand, 2010)

Las leucemias agudas (LA) son un grupo heterogéneo de enfermedades caracterizado por la proliferación clonal maligna de células hematopoyéticas inmaduras de tipo blástico, cuya acumulación progresiva conduce a la insuficiencia de la médula ósea (MO) y a la infiltración de diversos órganos, las LA son expresión de un profundo trastorno en el equilibrado proceso de la proliferación/diferenciación celular que ocasiona el bloqueo de los progenitores hematopoyéticos en un determinado estadio madurativo estas enfermedades pueden surgir *de novo*, o en la evolución final de otras hemopatías.

1.1 Etiología

Al igual que con la mayoría de los cánceres, la etiología exacta de las leucemias es desconocida, sin embargo, existen factores que han sido implicados:

Factores genéticos

Síndromes congénitos con alteraciones genéticas que predisponen a la leucemia

Como el síndrome de Down (LAL), el de Noonan y el de Li-Fraumeni (mutación del gen *TP53*), y los síndromes de fragilidad cromosómica con fallo medular, como el síndrome de Fanconi, Schwachman-Diamond, disqueratosis congénita, ataxia-telangiectasia o enfermedad de Kostmann.

Función inmune aberrante.

Existe un incremento en la incidencia de LA en pacientes con inmunodeficiencias congénitas (síndrome de Wiskott-Aldrich, inmunodeficiencia asociada al cromosoma X) y adquiridas, como en el SIDA, y la inmunosupresión iatrogénica inducida por quimioterapia o radiación, algunas enfermedades autoinmunes, como el síndrome de Sjörger, el sprue no tropical, artritis reumatoide y el lupus eritematoso sistémico (LES). (Sánchez,2012)

Infecciones

Existen evidencia que sugieren que ciertas infecciones, particularmente virales, están involucradas en el desarrollo de leucemias:

Virus linfotrópico T Humano tipo 1 (HTLV-1), Implicado en la etiología de la leucemia-linfoma de las células T del adulto

HTLV-II, para la variante de las células T de la leucemia de las células pilosas este virus posee una homología en secuencia nucleótida de un 60% al compararse con el HTLV-I, así como el Virus Epstein Barr, virus de la Hepatitis C (HCV), Herpes Virus Humano 8 (HVH-8) y Virus de Inmunodeficiencia Humana (HIV). (Mohan,2010)

Factores ambientales

Radiaciones ionizantes: El daño debido a la exposición a las radiaciones ha sido ligado al desarrollo de leucemias y linfomas, se ha encontrado que los individuos expuestos a radiaciones ocupacional, los pacientes que reciben radioterapia y los sobrevivientes japoneses de la bomba atómica presentan mayor riesgo de desarrollar neoplasias malignas hematopoyéticas , con una especial propensión a la presentación de leucemia mieloide

crónica , leucemia mieloide aguda y leucemia linfática aguda, aunque no para leucemia linfática crónica o leucemia de células peludas

Carcinógenos químicos: El benceno, el tabaco, el alcohol, el uso de ciertos colorantes y la exposición a agroquímicos se asocian con aumento del riesgo de aparición de neoplasias hematopoyéticas.

Agentes farmacológicos. La exposición prolongada a ciertos fármacos como la fenitoína, los agentes alquilantes, los agentes quimioterápicos como los inhibidores de la topoisomerasa II (epipodofilotoxinas), que causan LAM con anomalías del gen *MLL* (11q23). Los agentes alquilantes (busulfán, melfalán, clorambucilo) provocan LAM con anomalías de los cromosomas 5 y 7. (Mohan, 2010)

1.2 Patogenia

Las leucemias se caracterizan por tener una proliferación clonal, autónoma y anormal de las células que dan origen al resto de las células normales de la sangre (comportamiento tumoral en general). Lo anterior implica que una célula temprana sufre un cambio genético que hará que se produzca sin control una clona anormal de sí misma, esta producción anormal es desordenada porque las células anormales se multiplican en imagen y semejanza de ellas mismas, por lo que ocupan paulatinamente el espacio de la médula ósea normal provocando anemia progresiva, sangrado anormal y predisposición a las infecciones. Por otro lado, cuando las células anormales invaden otros tejidos, se producirá falla del funcionamiento del órgano que se ocupa. En los niños cuando las células leucémicas proliferan dentro de la médula hematopoyética, la pequeña reserva medular del niño se reemplaza con rapidez por tejido leucémico y el dolor óseo es resultado de la proliferación masiva de células leucémicas en la médula y en el periostio, más. (Fitzgerald, 2004). Los recientes avances en el conocimiento de los mecanismos patogénicos moleculares indican que las LA son enfermedades de los genes y que las mutaciones genéticas responsables de la transformación leucémica y su progresión se producen en las células madre hematopoyéticas multipotenciales. La heterogeneidad de la enfermedad es la resultante de una capacidad variable de estas células madre primitivas para diferenciarse y adquirir marcadores específicos del linaje fenotípicos. La transformación leucémica, al igual que en otras neoplasias, se produce de una forma escalonada, con la adición progresiva de mutaciones en diferentes grupos de genes que alteran rutas de señalización y bioquímicas celulares que cooperan entre sí y determinan el fenotipo

leucémico. En el momento del diagnóstico ya existen diferentes subclones de células madre leucémicas genéticamente distintas. Es preciso enfatizar que las células hematopoyéticas tienen un rápido recambio por lo cual son más vulnerables, al daño cromosómico y a los cambios citogenéticos, bajo la influencia de varios factores etiológicos detallados previamente. (Fitzgerald, 2004).

Mecanismos de patogénesis.

Daño genético a un único clon de células diana: Las leucemias y los linfomas se originan a partir de la transformación de un único clon de células pertenecientes a las progenies mieloide o linfoide, seguida de la proliferación del clon transformado. El mecanismo básico de la transformación maligna es el daño genético al DNA de los leucocitos diana, seguida de proliferación alteración del crecimiento y la diferenciación normales. El daño genético hereditario puede ser inducido por varios agentes etiológicos. La evolución de la leucemia es un proceso de múltiples pasos y en muchos casos la leucemia aguda puede presentarse después de una enfermedad mielodisplásica o de un cuadro mieloproliferativo preexistente.

Translocaciones cromosómicas. Se han detectado varias anormalidades citogenéticas en casos de leucemias-linfomas, la translocación más constante entre las distintas formas de leucemias agudas o crónicas, es el cromosoma filadelfio (ph), que se encuentra en el 70 al 90 %, y consiste en una translocación recíproca de partes del brazo largo del cromosoma 22 hacia el brazo largo del cromosoma 9 denominada t (9; 22).

Defectos de maduración: en la leucemia aguda, la característica más prominente de las células leucémicas es un defecto de la maduración desde el nivel del mieloblasto en la LMA y del linfoblasto en la LLA.

Mielosupresión: a medida que las células leucémicas se acumulan en la médula ósea se produce la supresión de las células madre hematopoyéticas normales; debido al remplazo físico de los precursores medulares y, por inhibición de la hemopoyesis normal. Esto se basa en la observación de que algunos pacientes con leucemias agudas tienen la médula ósea hipocelular, lo cual indica que la insuficiencia medular no se debe solo a la superpoblación de células leucémicas.

Infiltración de órganos: las células leucémicas proliferan principalmente en médula ósea circulan en sangre y se infiltran dentro otros tejidos como los ganglios linfáticos, el hígado, el bazo, la piel, y el sistema nervioso central. (Mohand,2010)

Oncogenes. Actualmente se admite que el cáncer se origina a causa de una alteración genética gracias a la tecnología de DNA recombinante, se sabe que el desarrollo de un tumor se debe a la pérdida del control del crecimiento y la diferenciación celular como consecuencia de mutaciones genéticas estas mutaciones además permiten que las células puedan invadir el sistema hematopoyético y linfático y diseminarse por el organismo, son capaces también de crear mecanismos de resistencia contra agentes terapéuticos como la quimioterapia y la irradiación, se conocen dos grupos de genes relacionados con el desarrollo de células tumorales: los oncogenes y los genes supresores o antioncogenes. Los oncogenes se dividen a su vez en dos subgrupos: los oncogenes celulares (c-onc) y los oncogenes víricos (v-onc), los primeros se originan en su mayor parte de genes presentes en el genoma normal, denominados protooncogenes, la acción de mutaciones somáticas y amplificaciones o reordenamientos de DNA los transforman en oncogenes por otra parte los oncogenes víricos desempeñan un papel en ciertos tumores humanos como el linfoma de Burkitt o el carcinoma papilar se cree que el Virus del Epstein Barr y ciertos papilomavirus transportarían los oncogenes en la célula huésped donde quedarían alojados y podrían ser transmitidos a las células hijas, al estar los oncogenes relacionados con la regulación de la división celular, tienen un alto poder de conservación a lo largo de la evolución. Actualmente se conocen más de 40 oncogenes clasificados en seis tipos según su supuesto mecanismo de acción. (Fitzgerald, 2004)

1. Factores de crecimiento; al que pertenece por ejemplo el oncogén sis, que codifica una de las dos cadenas polipeptídicas que forman el factor de crecimiento derivado de plaquetas. Se asocia con neoplasias epidémicas, osteosarcoma, glioblastoma y leucemia mielomonocítica
2. Receptores de factores de crecimiento, como el oncogén fms, receptor del factor estimulante de colonias celulares (CSF) que actúa en la hematopoyesis o el erbB, que se relaciona con ciertos tumores cutáneos.
3. Proteincinasas, como el oncogén aB1, que a través de su gran actividad de cinasa podría modificar la respuesta del receptor de membrana. Se relaciona con la aparición de la

translocación cromosómica 9; 22 inductora de la leucemia mieloide crónica y con las leucemias y linfomas T tras su introducción con el timo.

4. Traductores de la señal intracelular, como el gen RAS, asociado entre otros tumores al melanoma, neuroblastoma, carcinoma de pulmón, etc.

5. Oncogenes nucleares entre ellos los myc, myb y fas, que actúan como mediadores de otros oncogenes en neoplasias como el linfoma de Burkitt y la leucemia aguda promielocítica.

6. Factores de transcripción. Los genes o antioncogenes en condiciones normales suprimen o bloquean la expresión malignidad de las células transformadas. Su inactivación tiene como consecuencia la proliferación y expansión de clones celulares. El retinoblastoma y el tumor de Wilms o nefroblastoma son ejemplos de neoplasias facilitadas por la inactivación de un gen supresor. (Hernández, 1994).

Hoy en día se tiene un mayor conocimiento acerca de los genes involucrados en la transformación maligna que conduce a ciertas leucemias y se tiene una idea muy clara sobre la identidad de las células inmaduras en donde ocurren dichas transformaciones y del papel que el microambiente hematopoyético parece jugar en la fisiopatología de leucemias y síndromes de falla medular, sin embargo, son todavía muchas las preguntas que quedan por contestar ,desde el punto de vista biológico todas estas enfermedades constituyen campos de estudio extraordinarios; desde el punto de vista clínico, el tratamiento y la prevención de ellas representan grandes retos para la medicina del siglo XXI. (Castañeda, 2009)

1.3 Cuadro clínico

Las manifestaciones clínicas de las leucemias derivan de la insuficiencia medular (anemia y trombocitopenia), y de la infiltración de la sangre y de otros órganos por las células leucémicas. Es frecuente que debute con cuadro infeccioso o hemorrágico con afectación del estado general debido a la infiltración de los órganos, se produce hepatoesplenomegalia, adenopatías, dolor óseo, se puede producir infiltración del sistema nervioso, masas mediastínicas por crecimiento del timo infiltración de piel, encías y testículos. (Arias, 2000) Los signos y síntomas son variables y dependen del grado de infiltración de la médula ósea, la edad y el ritmo de crecimiento de las células leucémicas, los más comunes son: fiebre, palidez, gingivorragia y petequias, sin embargo, algunas veces los síntomas predominantes son los dolores óseos o articulares que se manifiestan como cojera, incapacidad para la marcha o para el movimiento de una articulación siendo difíciles de diferenciar de procesos

reumatológicos o infecciosos. (Marín, 2008). Con menor frecuencia se observan hemorragias dispersas en sujetos con coagulación intravascular diseminada (en las leucemias promielocítica y monocítica agudas), se observan también infecciones que generalmente se deben a neutropenia, y aumenta el riesgo de sufrirlas a medida que disminuye el recuento de neutrófilos por debajo de 500/ μ l, con concentraciones de neutrófilos <100/ μ l, los agentes patógenos más habituales corresponden a bacterias gramnegativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomona*) u hongos (*Candida*, *Aspergillus*). Las manifestaciones frecuentes incluyen celulitis, neumonía e infecciones perirectales. También se pueden presentar cuadros de hiperleucocitosis en la que una cifra muy alta de células primordiales circulantes (por lo general >200 000/ μ l) deteriora la circulación y se manifiesta con dolor de cabeza, confusión y disnea, estos enfermos requieren leucoféresis y quimioterapia urgente. En la exploración física, los sujetos se ven pálidos, con purpura y petequias; en ocasiones pueden observarse estomatitis e hipertrofia gingival, así como fisuras rectales, hay crecimiento variable de ganglios linfáticos y tal vez se encuentre hipersensibilidad ósea, en particular en esternón, tibia y fémur. (McPhee, 2012)

En resumen, el cuadro clínico de la LA se integra con cinco síndromes (tabla 1). Existe una gran variedad de signos y síntomas que pudieran orientar hacia el diagnóstico de leucemias, se debe tomar en cuenta que la evidencia clínica predomina como la piedra angular de la sospecha diagnóstica de las leucemias y de cualquier padecimiento, pero lo que sigue es complementar el diagnóstico con el apoyo del laboratorio clínico. (Hurtado, 2012)

Tabla 1. Síndromes característicos en el cuadro clínico de las Leucemias Agudas (CENETEC, 2010)

Síndrome	Características
Anémico	Palidez y síntomas de hipoxia como: fatiga, irritabilidad, astenia, adinamia, somnolencia, secundarios a la disminución de la hemoglobina.
Neutropénico	Se caracteriza por fiebre y/o procesos infecciosos persistentes o recurrentes, secundarios a neutropenia.
Purpúrico	Petequias púrpuras, equimosis, epistaxis, gingivorragia u otras manifestaciones de sangrado secundarias a la trombocitopenia
Infiltrativo	Presencia de dolor óseo; adenomegalias; hepatomegalia; esplenomegalia; infiltración a piel, parótidas, encías, testículos; formación de tumores sólidos (cloromas); leucocitosis; y masa mediastinal.
Metabólico	Alteraciones bioquímicas que reflejan la carga tumoral total y son la consecuencia de la proliferación y destrucción excesiva de las células leucémicas. Las alteraciones encontradas son: hiperuricemia, hiperkalemia, hipocalcemia, hiperfosfatemia, elevación de la creatinina (síndrome de lisis tumoral) y elevación de la deshidrogenasa láctica.

1.3.1 Manifestaciones clínicas de la LLA

Las manifestaciones clínicas de los enfermos de leucemia linfoblástica aguda reflejan una insuficiencia medular provocada por la proliferación de los linfoblastos en la médula ósea y su infiltración en los distintos órganos y tejidos, el comienzo es casi siempre agudo, las manifestaciones clínicas no suelen preceder al diagnóstico en más de 2 meses, lo habitual es que el enfermo presente síntomas como: pérdida de apetito, sensación de debilidad, fatiga, fiebre, dolores óseos, articulares y musculares, hematomas en brazos y piernas, producidos por la falta de plaquetas, en ocasiones se producen verdaderas hemorragias espontáneas (nariz, encías) o bien hemorragias excesivas en pequeñas heridas. Algunos pacientes pueden presentar infecciones (abscesos, sinusitis, neumonía, etc.) como síntoma inicial, en otros, puede observarse un aumento del tamaño de los ganglios linfáticos y molestias abdominales como consecuencia del crecimiento del hígado y el bazo, un pequeño porcentaje de enfermos puede presentar síntomas derivados de la infiltración del sistema nervioso central, dolor de cabeza, vómitos, somnolencia dolor testicular, e inflamación y dolor óseo, aunque cualquier órgano puede estar infiltrado por los linfoblastos, los más frecuentemente afectados son el hígado, el bazo y los ganglios linfáticos. En los niños, la frecuencia de infiltración de estos órganos es del 80, 70 y 50%, respectivamente, mientras que es algo menor en adultos, la infiltración de otros órganos como las mamas, los testículos o la piel y las mucosas es muy poco frecuente en el momento del diagnóstico. (Carreras, s.f.)

1.3.2 Manifestaciones clínicas de la LMA

Los pacientes con LMA casi siempre se presentan con síntomas inespecíficos que inician de forma gradual o abrupta y que son consecuencia de anemia, leucocitosis, leucopenia o bien trombocitopenia, casi la mitad refiere sintomatología con duración de aproximadamente tres meses antes de que se establezca el diagnóstico de leucemia, la mitad de los individuos menciona fatiga como primer síntoma o debilidad en el momento del diagnóstico, la anorexia y la pérdida de peso son frecuentes. La fiebre con o sin infección identificables constituye el síntoma inicial en cerca del 10 % de los pacientes, en 5 % se observaron signos de hemostasia anormal (hemorragias, equimosis) en ocasiones, el síntoma de presentación lo constituyen dolor óseo, linfadenopatía, tos inespecífica, cefalea o diaforesis. Durante la exploración física se puede encontrar fiebre, esplenomegalia, hepatomegalia, linfadenopatía, hipersensibilidad a la palpación del esternón y datos de infección y hemorragia, se detectan con frecuencia en

el momento del diagnóstico, en el 15 % de los individuos se detectan hemorragias retinianas, la infiltración del tejido gingival, la piel, y los tejidos blandos. (Chabner ,2009)

La presentación de LMA pediátrica refleja signos y síntomas causados por infiltración leucémica de la médula ósea y de sitios extramedulares. La sustitución de las células hematopoyéticas de la médula ósea normal origina neutropenia, anemia y trombocitopenia, los niños afectados se presentan comunmente con signos y síntomas de pancitopenia, incluyendo fiebre, cansancio palidez hemorragias, dolores oseos e infecciones. La cuagulación intravascular diseminada puede aparecer en la presentación de todos los subtipos de LMA , pero es mucho más frecuente en la LPA (Leucemia promielocítica aguda) infantil. La infiltración de órganos extramedulares puede conducir a linfadenopatía, hepatoesplenomegalia, tumores cloromatosos (mieloblastomas y sarcomas granulocíticos) enfermedad de la piel (cutis leucémico), la órbita y el espacio epidural , y en raros casos afectación testicular. El sistema nervioso central esta afectado al establecer el diagnóstico en aproximadamente el 15 % de los casos. Los paciente con cifras altas de leucocitos pueden presentar signos y síntomas de leucostasis, que afectan con más frecuencia al pulmón y al encéfalo.El diagnóstico es sugerido por un recuento hematológico completo que muestra pancitopenia y células blásticas y se confirma mediante examen de médula ósea. (Rubnitz ,2008)

2.- CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS.

El cáncer es una enfermedad monoclonal que se origina a partir de una sola célula, la leucemia es una enfermedad clonal que se origina a partir de precursor hematopoyético literalmente significa “sangre blanca” ya que sus raíces provienen de 2 elementos griegos: leuc, una variante de leuco = λευκός, "blanco" y emia, αἷμα = "sangre". Las leucemias son un conjunto de diversas enfermedades que se caracterizan por un crecimiento desordenado de células inmaduras de la médula ósea y que se originan de una clona que perdió el mecanismo regulador de duplicación celular, debido a cambios en los genes que controlan este proceso y que ocasionan la sobreproducción de células hemáticas inmaduras e ineficientes, la hematopoyesis es un proceso complejo a través del cual las células troncales proliferan y se diferencian, dando lugar a los distintos tipos de células maduras circulantes (eritrocitos, granulocitos, linfocitos, monocitos y plaquetas), tiene lugar en la médula ósea, en donde una intrincada red de células estromales y sus productos, regulan cada una de las etapas que conducen a la generación de células primitivas, intermedias y maduras. Hoy en día, gracias al avance en diversos campos de la biología como la inmunología, la genética molecular, el cultivo celular, la microscopía electrónica, y la bioquímica, por nombrar algunos se ha logrado obtener un panorama muy amplio y detallado de este proceso. Las células de la sangre se dividen en dos grandes grupos: mieloides y linfoides, el primero incluye a los granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos), monocitos, eritrocitos y trombocitos, mientras que el segundo comprende a los linfocitos B, linfocitos T y células NK. Las células mieloides son producidas a través de un proceso conocido como mielopoyesis, mientras que las linfoides son resultado de la linfopoyesis. Ambos procesos, si bien independientes, están muy relacionados y la interacción que existe entre células de uno y otro es muy estrecha. (Castañeda, 2009)

Es evidente que la hematopoyesis es un proceso muy complejo, en el que participan diversos tipos celulares y sus productos; todos éstos interactuando estrechamente para permitir que la producción de células sanguíneas ocurra de manera controlada, es también claro que al ocurrir alteraciones en algunos de los compartimientos celulares del sistema hematopoyético, sobre todo en los más primitivos, la producción de células sanguíneas puede verse modificada, de manera que los niveles de células circulantes sean abatidos drásticamente o,

e incluso, a la muerte del individuo. Enfermedades como las leucemias se originan a partir incrementados muy por encima de lo normal; cualquiera de estas condiciones puede conducir a estados fisiológicos muy delicados de alteraciones en células troncales y progenitoras hematopoyéticas, dependiendo cuál de estos procesos ya sea el de linfopoyesis o el de mielopoyesis se vea afectado es como se dividirán las leucemias en mieloides o linfoides, que a su vez se dividen en crónicas y agudas. Teniendo como las más comunes en edad pediátrica las leucemias agudas y, las leucemias crónicas se observan con mayor frecuencia en edades más avanzadas. (Castañeda, 2009).

Las leucemias crónicas se caracterizan por el comienzo insidioso de los signos; palidez, aumento de tamaño del bazo, el hígado o ambos, pérdida de peso, etc. y síntomas como; debilidad, fatiga, depresión, etc. y la muerte por lo general se produce años después del diagnóstico, se manifiestan generalmente en adultos, aunque hay formas juveniles de leucemia, sin embargo, las leucemias agudas se caracterizan por el comienzo abrupto de signos clínicos; infección, hemorragia, y palidez y síntomas como fatiga, debilidad, dolor óseo y articular, y la muerte se puede producir en el transcurso de meses si no se instituye el tratamiento. (Rodak, 2004). Constituyen un grupo heterogéneo de hemopatías con diferente etiología, patogenia, historia natural y pronóstico. Con su clasificación se ha intentado reducir dicha heterogeneidad e identificar subgrupos biológicamente diferentes y con distintas opciones terapéuticas, lo que ha permitido mejorar el pronóstico de los pacientes con esta enfermedad. Existen varios sistemas de clasificación para estas entidades hematológicas: 1) Clasificación Francesa-Americana-Británica (FAB), 2) Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS), y 3) Clasificación del Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de las Leucemias (EGIL) (Gammal, 2011)

2.1 Clasificación Franco-Americana-Británica (FAB)

Los dos sistemas más utilizados para la clasificación de subtipos de la leucemia mieloide aguda son el sistema de la Organización Mundial de la Salud y la clasificación de la Asociación Franco-Américo-Británica (FAB). La clasificación FAB, mostrada en la tabla 2 fue creada en 1976, se fundamenta en diferenciar entre ocho subtipos de leucemia mieloide aguda de acuerdo con las características morfológicas del tipo de células de las que se ha generado la leucemia y la madurez de las mismas. Esta determinación se realiza mediante

la observación morfológica de las células al microscopio luego de una tinción rutinaria.

(Leyto, 2018)

Tabla 2 Clasificación de Leucemias Agudas (FAB) (Ruiz, 2009)

Leucemia Mieloblástica Aguda LMA	Leucemias Linfooblástica Aguda (LLA)
LMA-M0: Mieloblástica mínimamente diferenciada	LAL1: Linfooblástica “típica”
LMA-M1: Mieloblástica sin maduración	LAL2 Linfooblástica “atípica”
LMA-M2: Mieloblástica con maduración	LAL3 Parecida a linfoma de Burkitt
LMA-M3: Promielocítica hipergranular	
LMA-M4: Mielomonoblástica	
LMA-M5: Monoblástica pura	
LMA-M6: Eritroleucemia	
LMA-M7: Megacarioblástica	

Características de leucemias agudas mieloblásticas

LMA-M0: Leucemia mieloblástica aguda mínimamente diferenciada

En la LMA mínimamente diferenciada los blastos no desarrollan las características morfológicas mieloides y menos del 3% son positivos para mieloperoxidasa o Sudan negro B, no se observan cuerpos de Auer, estos blastos se reconocen por la actividad con al menos un antígeno mieloides relacionado. Los blastos no expresan los antígenos linfocíticos pero pueden expresar TdT. (Rodak,2004)

LMA-M1: Leucemia mieloblástica aguda sin maduración

En este subtipo se desarrolla una diferenciación mieloides mínima. Los mieloblastos deben constituir más del 30 % de las células nucleadas de la médula y la relación M:E es mayor que 1. El 90 % de las células no eritroides son mieloblasto, el 3% de los mieloblastos deben ser positivos cuando se colorean con Sudan negro B. Este subtipo se confunde con facilidad con LLA y la inmunotipificación a menudo es útil para identificar esta leucemia. M1 determina el 20 % de los casos de LMA. (Rodak,2004)

LMA-M2 Leucemia mieloblástica aguda con maduración

De nuevo el 30 % de todas las células nucleadas deben ser blastos en un extendido de médula ósea y las células mieloides exceden en número a los eritrocitos nucleados, los blastos constituyen menos del 90 % de las células no eritroides y hay maduración más allá del estadio promielocítico en más del 10 % de las células no eritroides. Los monocitos deben constituir

menos del 20 % de las células no eritroides. La mayoría de los blastos son positivos cuando se colorean con mieloperoxidas o sudan negro B. Este subtipo es responsable de cerca del 30 % de los casos de LMA . (Rodak,2004)

LMA-M3: Leucemia promielocítica aguda

Hay dos tipo de LMA M3. El más frecuente es la variante hipergranular, en este tipo más del 30 % de las células son mieloblastos y hay promielocitos anormales con gránulos muy abundantes en el citoplasma. Se hayan numerosos cuerpos de Auer, a menudo apilados (denominados células en “ haces “, en inglés “ faggot”). Los nucleos con frecuencia son reniformes o bilobulados. Las células son positivas intensas con la coloración de mieloperoxidasa y Sudan negro B. El segundo tipo de LMA M3, es la leucemia promielocitica microgranular (M3v o M3m), presenta gránulos tan pequeños que no se distinguen entre si con el microscopio óptico. Los numerosos gránulos son visibles por microscopía electronica. Estas células tienen las mismas características nucleares reniformes o bilobuladas que las de la variante hipergranular, con el citoplasmas claro abundante y gránulos similares a polvo observados en una localización excentrica cerca del nucleo. Las células anormales también son positivas con intensidad para la mieloperoxidasa este subtipo a menudo se confunde con la leucemia monocítica aguda (M5). Otro dato no considerado en la clasificación FAB que puede ser util en el diagnóstico de LMA-M3 es la ausencia del antígeno leucocitario humano HLA-DR), detectado por citometría de flujo y la presencia de una traslocación característica del cromosoma t(15;17) y el receptor del acido retinoico anormal. Es muy importante reconocer ambos tipos de LMA-M3 porque puede producirse una díatesis hemorrogica cuando se tratan estos pacientes y se liberan gránulos. La CID puede producirse en los pacientes con cualquiera de los tipos M3v o M3 hipergranular juntos constituyen alrededor del 15% de todas la LMA. (Rodak,2004)(Torres,2008)

LMA-M4: Leucemia mielomonocítica aguda

La leucemia mielomonocítica aguda presenta células malignas con características granulociticas y monocíticas, en una muestra de médula en la que más del 30 % de todas las células nucleadas son blastos, cuando la relación M:E es mayor que 1, más del 20% de las células no eritroides es de origen monocitico. La proporción de las células monocíticas no puede exceder el 80 % de las no eritroides. Si el receunto absoluto de monocitos en sangre periferica es $5 \times 10^9/L$ el diagnóstico es M4. Si no hay monocitosis absoluta en sangre

periférica para establecer el diagnóstico de M4, la coloración inespecífica para esterasa de médula ósea debe ser positiva en más del 20 % de las células precursoras de médula ósea, o los niveles de lisozima en suero o en orina deben ser tres veces más elevados que lo normal. Una proporción pequeña (4%) de las leucemias mielomonocíticas se caracteriza por eosinofilia moderada, este subtipo se denomina mielomonocítica con eosinofilia (M4Eo), las muestras de médula ósea provenientes de pacientes afectados pueden contener un 5 % o más de eosinófilos con núcleos monocitoides y gránulos basófilos grandes que se colorean con un patrón anormal con cloroacetato esterasa y ácido peryódico de Schiff (PAS). Estas leucemias M4Eo también se asocian con una inversión característica del cromosoma 16 (inv[16](p13q22). Es más probable que los pacientes con LMA–M4Eo presenten compromiso del LCR y paradójicamente muestren mejores tasas de remisión y tasas de respuesta a la quimioterapia. Por consiguiente, el reconocimiento de este subtipo es en extremo importante. (Rodak,2004)

LMA-M5: Leucemia monocítica aguda

La leucemia monocítica aguda constituye el 12 % de los casos de LMA el diagnóstico se basa solo en la morfología de la médula ósea, más del 30 % de las células está constituido por blastos, en una médula con más precursores mieloides que eritroides. Más del 80 % de las células deben tener morfología monocítica; las células granulocíticas representan menos del 20 %, se reconocen subtipos de la M5: M5a y M5b. M5a es la leucemia monocítica aguda mal diferenciada ; más del 80% de las células monocíticas son monoblastos estas células tienen cromatina delicada, nucléolos destacados y citoplasma brotante, de color azul oscuro a gris, debido al aspecto indiferenciado, este subtipo puede confundirse con M1, los pacientes con M5a tienden a ser más jóvenes , con recuentos elevados de blastos en sangre periférica y un pronóstico peor. M5b es la leucemia monocítica aguda diferenciada, menos del 80 % de las células monocíticas están representadas por monoblastos y predominan los monocitos y promonocitos reconocibles, con núcleos cerebriformes grandes que pueden tener nucléolos y citoplasma de color gris translucido abundante con gránulos finos de color rosa, la sangre periférica en los pacientes con M5b por lo general tiene un porcentaje de monocitos más maduros este subtipo suele asociarse con hipertrofia gingival (infiltración de las encías). Se observa compromiso cutáneo en ambos subtipos, y en M5 (como M3) también se observa CID. En ambos subtipos más del 80 % de las células leucémicas se colorea con esterasa

inespecífica. Las coloraciones de mieloperoxidasa y sudan negro pueden ser positivas.

(Rodak,2004)

LMA-M6: Eritroleucemia Aguda

La Eritroleucemia aguda es un tipo raro de LMA (3% de los casos) y es la única LMA con hiperplasia de precursores eritroides. Más del 50 % de las células de médula ósea son eritrocitos nucleados (una relación M: E invertida). De las células restantes (no eritroides), el 30 % está constituido por mieloblastos. Las células eritroides a menudo son raras y muestran características megaloblastoides: es común la presencia de varios nucléolos, puede haber vacuolas perinucleares en los pronormoblastos basófilos, las coloraciones de PAS suelen ser positivas en las células eritroides; los precursores tempranos tienen positividad en patrón en bloque, mientras que los eritroblastos más tardíos exhiben coloración de PAS difusa. Pueden observarse sideroblastos en anillo. Con frecuencia un síndrome mielodisplásico precede a la LMA-M6 y se le denomina mielosis eritrémica. Durante esta fase de la enfermedad el paciente tiene anemia progresiva con hiperplasia eritroide de la médula ósea y diseritropoyesis, pero los blastos constituyen menos del 30 % de las células no eritroides, pueden observarse sideroblastos en anillo, así como punteado basófilo periférico prominente. (Rodak,2004)

LMA-M7: leucemia megacariocítica aguda

La leucemia megacariocítica aguda es el tipo más raro de LMA; constituye el 1% o menos de los casos y es la variante que recibió la definición más reciente de la FAB. La incidencia de este trastorno puede subestimarse debido a la dificultad para definir el megacarioblasto por estudios citoquímico, y en realidad puede representar hasta el 10 % de los de LMA. El diagnóstico de M7 depende de la presencia del 30 % de blastos en la médula, el 30 % de estos blastos está constituido por megacarioblastos. Desde el punto de vista morfológico, el tamaño de los megacarioblastos es heterogéneo, algunos tienen el tamaño de linfoblastos L1 con citoplasma escaso, mientras que otros son tres veces más grandes. La cromatina es delicada con nucléolos destacados. Pueden observarse megacariocitos inmaduros y las células pueden tener burbujas citoplasmáticas de color azul claro. Los megacarioblastos no reaccionan con la coloración sudan negro, mieloperoxidasa o α -naftil butirato esterasa, pero pueden colorearse con α -naftil acetato esterasa. Los blastos deben identificarse con la actividad de peroxidasa de las plaquetas detectadas por microscopio electrónico o lo que es preferible por

la tinción positiva con anticuerpos contra las glucoproteínas de las plaquetas IIb/IIIa o Ib, o el antígeno relacionado con el factor VIII (VIII: Ag) o por la expresión de los antígenos de plaquetas CD41, CD42, o CD61. En los adultos M7 tienen manifestaciones clínicas variadas. Muchos pacientes con MA-M7 presentan un trastorno mieloproliferativo previo con pancitopenia o mielofibrosis, en los niños se observa con frecuencia entre los menores de tres años y con síndrome de Down. (Rodak, 2004)

Característica Leucemias Linfoblástica Aguda (LLA)

La LLA se divide según la FAB L1, L2 (se manifiesta generalmente en niños) y L3 (pacientes con leucemia secundaria al linfoma de Burkitt). Estos tipos se definen en función de dos criterios (1) la aparición de características citológicas individuales y (2) el grado de heterogeneidad entre las células leucémicas. Las características que se consideran son la célula, tamaño, la cromatina, la forma nuclear, nucléolos, y el grado de basofilia en el citoplasma y la presencia de vacuolización en el citoplasma.

LLA-L1: Presenta células homogéneas, pequeñas predominantes, forma nuclear es regular ocasionalmente los contenidos nucleares son raramente visibles. Escaso citoplasma, moderadamente basófilo, cromatina fina o ligeramente grumosa L1 representa 70% de los pacientes. El tipo L1 es la leucemia aguda que es común en la infancia, con un 74% de estos casos ocurren en niños de 15 años de edad o menos.

LLA-L2: Se observan células grandes heterogéneas, con núcleo de forma irregular, es común observarlos con hendiduras, uno o más grandes nucléolos son visibles. El citoplasma abundante con basofilia periférica también se pueden observar blastos “en espejo” o “periformes”. L2 representa el 27% de todos los pacientes. Los blastos de la L2 pueden ser confundidos con los blastos de la leucemia mieloide aguda. Aproximadamente el 66% de estos casos de LLA se presenta en adultos jóvenes. (Gammall, 2011)

ALL-L3: Tipo de linfoma de Burkitt: Las células son grandes y homogéneas con cromatina fina, forma nuclear es redonda u ovalada. Uno a tres nucléolos prominentes y en ocasiones se pueden observar hasta 5 nucléolos, Citoplasma es abundante con basofilia marcada con presencia de vacuolas abundantes y prominentes, presencia de diversos grados de actividad de los macrófagos. (Gammall, 2011) (Manascero, 2003)

2.2 Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS)

A finales de 1990, varios grupos de expertos que trabajan bajo la égida de la Organización Mundial de la Salud (OMS) elaboraron propuestas de consenso para la clasificación de los trastornos neoplásicos de los tejidos hematopoyéticos y linfoides. Estos fueron publicados por primera vez, a grandes rasgos, en 1999 (primera edición) y definitivamente en 2001 (segunda edición) donde se disminuyó el porcentaje de blastocitos leucémicos en la médula ósea para el diagnóstico de LMA de 30 a 20%; se aclaró adicionalmente que los pacientes con anomalías citogenéticas recidivantes no necesitaban cumplir los requisitos mínimos de blastocitos para considerar que padecían de LMA. La clasificación de la OMS fue revisada y actualizada en 2008 (tercera edición), se realizó una revisión en 2016 (cuarta edición). Esta clasificación incorpora diversos elementos a la biología de la leucemia mieloide aguda, como información genética, morfológica, citometría de flujo y características clínicas, definiendo seis grupos principales (tabla, 3). (Leyto,2018).

Tabla 3 Clasificación de la leucemia mieloide aguda (LMA) según la OMS 2016

(Leyto,2018)

LMA con ciertas anomalías genéticas	Leucemia mielomonocítica aguda (M4)
LMA con una translocación entre los cromosomas 8 y 21	Leucemia monocítica/monoblástica aguda (M5)
LMA con una translocación o inversión en el cromosoma 16 APL (M3) con PML-RARA	Leucemia eritroide pura (M6)
LMA con una translocación entre los cromosomas 9 y 11	Leucemia megacarioblástica aguda (M7)
LMA con una translocación entre los cromosomas 6 y 9	Leucemia basófila aguda
LMA con una translocación o inversión en el cromosoma 3	Panmielosis aguda con fibrosis
LMA (megacarioblástica) con una translocación entre los cromosomas 1 y 22	Sarcoma mieloide
Entidad provisional: LMA con BCR-ABL1	Proliferaciones mieloides relacionadas con el síndrome de Down
LMA con NPM1 mutado	Mielopoyesis anormal transitoria
LMA con mutaciones bialélicas de CEBPα	Leucemia mieloide asociada con síndrome de Down
Entidad provisional: LMA con RUNX1 mutado	
LMA con cambios relacionados con mielodisplasia	
LMA relacionada con administración previa de quimioterapia o radiación	
LMA no especificada de otra manera	
LMA con maduración mínima (M1)	
LMA sin maduración (M2)	
LMA con maduración (M2)	

LMA con anomalías genéticas recidivantes.

En este grupo de LMA tienen lugar determinadas anomalías citogenéticas que corresponden a translocaciones reciprocas, tales como t (8;21), inv (16) o t (16;16), t(15;17), t(9;11), t(6;9), t(3;3) o inv(3) y t(1;22). Estas anomalías citogenéticas son responsables de la formación de genes de fusión (FLT3, NPM1, CEBPA), que codifican la síntesis de proteínas quiméricas. Las translocaciones mencionadas se ponen de manifiesto mediante la reacción en cadena de la transcriptasa-polimerasa, con mayor sensibilidad que la citogenética convencional.

LMA con t (8;21) (q22; q22), RUNX1-RUNX1T1(CBFA/ETO)

Constituye alrededor del 5% de las LMA. La t (8;21) (q22; q22), junto al gen de fusión *RUNX1-RUNX1T1*, se observa en un 10% de las LMA con maduración (categoría M2 según la clasificación FAB). Es más frecuente en pacientes jóvenes. Los blastos expresan antígenos mieloides y, de forma característica en esta entidad, coexpresan CD19. También son CD34 positivos. > 70% tienen anormalidades genéticas adicionales, por ejemplo, (- X,Y)

LMA con inv (16) (p13; q22) o t (16;16) (p13; q22), CBFβ-MYH11

La LAM con inv (16) (p13q22) o t (16;16) (p13q11) y gen de fusión *CBFβ/MYH11* constituye alrededor de un 5–8% de las LAM. Aunque puede presentarse a cualquier edad, predomina en pacientes jóvenes. Los blastos muestran diferenciación granulocítica y monocítica con morfología característica de la leucemia mielomonocítica (M4 según la clasificación FAB) (Merino,2010)

Leucemia promielocítica aguda con t (15; 17) (q22; q11-12), PML-RARA.

En la LAM con t (15; 17) (q22; q12) y gen de fusión *PML-RAR* existe un predominio de promielocitos atípicos que, morfológicamente, corresponden a la variedad LAM3 descrita por el grupo FAB.

LMA con t (9; 11) (p22; q23), MLLT3-MLL. La LAM con t (9; 11) (p22; q23) y gen de fusión *MLLT3-MLL* se asocia a la presencia de blastos monocíticos (M4 o M5 según la clasificación FAB). Es más frecuente en niños (9–12% de las LAM en edad pediátrica y 2% de las LAM en adultos). Suele acompañarse de infiltración gingival o cutánea (sarcomas) y es común las anomalías en el cariotipo como +8.

LMA con t (6; 9) (p23; q34); DEK-NUP214. Parte de DEK, que codifica la proteína nuclear, se fusiona con parte de nucleoproteína que codifica NUP214, que es parte del

complejo de poro nuclear, la proteína de fusión actúa como un factor de transcripción aberrante y altera el transporte nuclear. La presencia de FLT3-ITD es muy común, (69% de los casos pediátricos y 78% de los casos de adultos). La LAM con t(6;9) (p23;q34) y gen de fusión DEK-NUP214 es poco frecuente (1–2%). A menudo se acompaña de basofilia (44–62% de los casos) y suele presentar las características morfológicas y citoquímica de las variedades FAB M2 o M4. A menudo se asocia a pancitopenia y displasia, especialmente en la serie eritroide y granulocítica. En un tercio de los casos es posible la observación de bastones de Auer en los elementos blásticos. El inmunofenotipo de los blastos es mielóide con positividad para MPO, CD13, CD33, CD38 y HLA-DR. También pueden ser positivos para CD34, CD117 y CD15. (Lagunas,2016)

LMA con inv (3) (q21; q26.2) o t (3;3) (q21; q26.2), RPN1-EVI1.

Es poco frecuente, ya que constituye el 1–2% de las LAM, puede tratarse de una LAM de novo, o derivar de un síndrome mielodisplásico previo (SMD). Los blastos muestran una morfología característica de cualquiera de los subtipos FAB, excepto la M3, y más frecuentemente de M2, M4 o M7. Los pacientes suelen presentar anemia, y las plaquetas presentan cifras normales o elevadas. La observación de la SP, junto a la presencia de blastos, suele mostrar neutrófilos desgranulados y con pseudo-Pelger, plaquetas gigantes e hipogranuladas y algún núcleo de megacariocito circulante. En médula ósea existe un aumento de los megacariocitos de núcleos mono o bilobulados. Puede observarse displasia multilínea. Se asocia a monosomía 7 o del (5q). Muestra características agresivas y corta supervivencia.

LMA (megacarioblástica) con t (1; 22) (p13; q13), RBM15-MKL.

Es poco frecuente (<1% de las LAM). En general se asocia a una LA megacarioblástica en niños (sin Síndrome de Down), que en la mayoría de los casos tienen una edad inferior a un año. Se asocia a marcada hepatomegalia y esplenomegalia. Los pacientes muestran anemia, trombocitopenia y moderado aumento del recuento de leucocitos en sangre periférica. Los megacarioblastos son de tamaño moderado (12–18 mm), elevada relación N/C, perfil nuclear redondeado o ligeramente irregular de cromatina laxa, reticulada con 1–3 nucléolos. El citoplasma es basófilo, a menudo agranular con característicos pseudópodos. Los blastos expresan CD41 y CD61. Los marcadores mieloides CD13 y CD33 pueden ser positivos, y son, y son CD34 negativos. Responden a la quimioterapia intensiva. (Lagunas,2016)

Leucemias agudas mieloides con mutaciones genéticas:

LMA con FLT3 mutado

Ocurre en un 20–40% de las LAM. Se asocian a un mal pronóstico.

El FLT3 es un receptor de tirosin cinasa, normalmente es expresado por las células progenitoras hematopoyéticas y esa expresión se pierde conforme estas células se diferencian. Este receptor tiene un papel importante en la supervivencia, diferenciación y proliferación. Su ligando, el ligando FLT3 (FL), produce expansión sinérgica de las células progenitoras hematopoyéticas cuando se combina con otros factores de crecimiento *in vitro*. El FLT3 se encuentra mutado hasta en un tercio de los pacientes con leucemia mieloblástica aguda, ya sea por duplicaciones en tándem internas o por mutaciones puntuales que casi siempre afectan el módulo cinasa (KD). Ambos tipos de mutación activan, constitutivamente, al FLT3, con la consecuente inducción del crecimiento celular e inhibición de la apoptosis a través de la activación de una cascada de proteínas. Las mutaciones por duplicación en tándem interna son de 3-400 pares de bases, las mutaciones puntuales involucran con más frecuencia el ácido aspártico 835 del módulo cinasa (KD). Diversos estudios sugieren que las mutaciones FLT3/ITD se asocian con peor pronóstico debido a mayor tasa de recaídas y a supervivencia global reducida. Debido a esto se han desarrollado moléculas que inhiben la tirosin variables. Los pacientes con leucemia mieloblástica aguda sin mutaciones del FLT3 al diagnóstico pueden adquirirlas en el curso de la enfermedad, que generalmente se detectan al momento de la recaída. Cuando las mutaciones de FLT3 se combinan con otras alteraciones genéticas, ocurre la transformación completa a leucemia mieloblástica aguda. La respuesta en los pacientes que reciben inhibidores de FLT3 generalmente se limita a la desaparición de las células leucémicas sólo en la sangre periférica, mientras que las respuestas mayores en la médula ósea son infrecuentes. En la mayoría de los pacientes la respuesta es de corta duración, con reaparición de blastos en la sangre periférica en semanas a meses. El FLT3 se sobre expresa en el ARN de las proteínas en mayor parte de los linfocitos B y en la leucemia mieloblástica aguda, También se sobreexpresa en un subgrupo (LGC). (Cuervo,2012)

Está demostrado que las células leucémicas de la LLA T y de la leucemia mieloblástica aguda con frecuencia coexpresan el ligando de FLT3 (FL), ajustando así asas de activación constitutiva del FLT3.¹² *In vitro* el ligando de FLT3 estimula la proliferación de muchas líneas celulares derivadas de leucemia, al igual que muestras de leucemia mieloblástica

aguda. Las mutaciones FLT3/ITD ocurren con menos frecuencia en la leucemia linfoblástica aguda (1%) y generalmente lo hacen en casos de leucemia bifenotípica. Las mutaciones que activan el FLT3 ocurren con más frecuencia en pacientes con leucemia linfoblástica aguda que tienen hiperdiploidia y rearrreglos de leucemia de línea mixta (MLL), hasta en 5 a 22%.

(Sanchez,2015)

LMA con NPM1 mutado

Esta es una categoría provisional. Mutación NPM1 es uno de los cambios genéticos más comunes recurrentes en LMA. Las mutaciones implican generalmente el exón 12 de NPM1. Su incidencia aumenta con la edad (2-8% LMA pediátrica y 27-35% de la LMA en adultos). El ochenta y el noventa por ciento de las leucemias monocíticas agudas muestran mutaciones NPM1, pero también se observa en otros tipos de LMA incluyendo Eritroleucemia. Por lo general, se asocia con un cariotipo normal (45 a 64% de la LMA con un cariotipo normal tienen una mutación NPM1). (Estcourt, 2013) El pronóstico es bueno siempre y cuando no exista una mutación FLT3 asociada. Un 40% se asocian a dicha mutación, y tienen peor pronóstico. Es más frecuente en edades avanzadas y predomina en mujeres. Los pacientes pueden mostrar infiltración extramedular en encías, ganglios o piel. Suelen mostrar anemia, y cifras de leucocitos y plaquetas más elevadas que en la mayoría de LAM. Existe una intensa asociación entre la mutación NPM1 y los subtipos morfológicos mielomonocíticos o monocíticos de LAM (M4, M5). El 80–90% de las LAM monocíticas presentan la mutación NPM1. La mutación también se ha descrito asociada a M1, M2 y M6 (Merino, 2010)

LMA con CEBPA mutado

Leucemia aguda mieloide con mutación del gen CEBPA. Frecuencia: 6–15% de las LAM. Suele asociarse a valores elevados de hemoglobina, y a recuentos bajos de plaquetas. El cariotipo suele ser normal. Frecuente en el subtipo FAB M4. (Merino,2010)

LMA con características relacionadas con la mielodisplasia

En la LMA con displasia se observa: a) Un 20% o más de blastos en sangre periférica o en médula ósea y b) Signos displásicos en más de un 50% de los elementos de al menos 2 líneas celulares. Es frecuente el hallazgo de una pancitopenia severa. Puede presentarse como evolución de un síndrome mielodisplásico previo, o bien de novo. Los blastos generalmente son CD34 positivos, expresan antígenos mieloides (CD13 y CD33) y pueden expresar antígenos aberrantes (CD56 y/o CD7). (Merino, 2010)

Neoplasia mieloide relacionado con la displasia

LMA no especificada de otra manera:

Esta categoría incluye todos los casos residuales y se subdivide sobre la base de la morfología, En los que se incluyen , la mayoría de subtipos de LMA descritos por el grupo FAB y basados, fundamentalmente, en las características morfológicas de los elementos blásticos: LAM mínimamente diferenciada (LAM0), LAM sin maduración (LAM1), LAM con maduración (LAM2), LAM mielomonocítica (LAM4), LAM monoblástica (LAM5a) o monocítica (LAM5b), LA eritroide (LAM6), LA megacarioblástica (LAM7), LA basofílica, panmielosis aguda con mielofibrosis y sarcoma mieloide. (Merino, 2010)

Leucemia aguda con diferenciación mínima

Blastos sin evidencia de diferenciación mieloide por microscopía de luz o citoquímica. Diferenciación mieloide demostrado por inmunofenotipo.

Leucemia aguda sin maduración

≥ 90% de las células de la médula ósea no eritroides son blastos. La evidencia de la diferenciación mieloide es a través de la presencia de bastones de Auer o citoquímica positivo.

Leucemia aguda con maduración

≥ 10% de células de la médula ósea están madurando a células del linaje de los neutrófilos

Leucemia aguda mielomonocítica

LMA aguda diferenciación es tanto granulocítica como monocítica y ≥20% de las células de la médula ósea son monocíticas

Leucemia monoblástica y monocítica aguda

≥ 80% de células leucémicas son monocíticas

Leucemia eritroide aguda

≥ 50% precursores eritroides + ≥20% blastos no eritroides = eritroleucemia ≥80% precursores eritroides inmaduros = leucemia eritroide pura

Leucemia megacarioblástica aguda

≥ 50% de los blastos son megacarioblastos

Leucemia basofílica aguda

La incidencia de la (LA) basofílica es inferior al 1% de las LAM. Además de la infiltración medular, puede observarse afectación cutánea, hepatoesplenomegalia, lesiones líticas óseas y síntomas relacionados con un aumento de las cifras sanguíneas de histamina. Los blastos

son de mediano tamaño, elevada relación N/C y muestran un núcleo de perfil redondeado, ovalado bilobulado de cromatina laxa y 1-3 nucléolos. El citoplasma es moderadamente basófilo y contiene un número variable de gránulos gruesos. Mediante microscopía electrónica de transmisión se observa que los gránulos gruesos contienen partículas electrónicas características de los precursores de los basófilos o de las células cebadas. Este tipo de gránulos muestran positividad metacromática con azul de toluidina y también a las fosfatasas ácidas. Algunos blastos presentan positividad a ácido peryódico Shif (PAS). Son negativos para la MPO y para las esterasas inespecíficas. Los blastos expresan marcadores mieloides (CD13 y CD33), CD34 y HLA-DR. (Gonzalez,2012)

Panmielosis aguda con mielofibrosis

La denominada panmielosis aguda con mielofibrosis es una proliferación mieloide que se acompaña de una intensa fibrosis de la médula ósea, con marcada pancitopenia y evolución rápidamente progresiva. Es una forma muy poco frecuente de LAM. Clínicamente suele presentarse con astenia intensa, fiebre y dolores óseos a los que se asocia una marcada pancitopenia, y la evolución es rápidamente progresiva. Cambios displásicos en las células mieloides son frecuentes y no se observan dacriocitos. Es muy difícil la obtención de material valorable mediante el aspirado medular, por lo que para el diagnóstico es imprescindible la biopsia de médula ósea, junto a la realización de estudios inmunohistológicos. La biopsia es hipercelular y muestra una fibrosis difusa del estroma y un aumento de la proliferación de los precursores eritroides, granulocíticos y megacarioblasticos (panmielosis). Junto a ello, suelen observarse focos de células blásticas y megacariocitos displásicos. Los blastos expresan al menos uno o varios antígenos mieloides (CD13, CD33 y CD117), y son CD34 positivos. El diagnóstico diferencial debe realizarse con otras LMA asociadas a fibrosis, como por ejemplo la leucemia aguda megacarioblástica, y con la mielofibrosis idiopática. Se asocia a muy mal pronóstico debido a su mala respuesta al tratamiento. La supervivencia suele ser de solo unos meses. (Estcourt,2013, Merino, 2010)

Sarcoma Mieloide

El sarcoma mieloide (SM), también llamado leucemia mieloide aguda extramedular, tumor extramedular mieloide, sarcoma granulocítico o cloroma, es una neoplasia poco frecuente de células mieloides inmaduras. Compromete con mayor frecuencia piel, tejidos blandos, hueso,

periostio y ganglios linfáticos. Puede ser la primera manifestación de la leucemia mieloide aguda (LMA), presentarse simultáneamente o constituir una forma de recaída. (Lombardi, 2013)

Proliferaciones mieloides relacionadas con el síndrome de Down

Mielopoyesis anormal transitoria

Conocido también como trastorno mieloproliferativo transitorio o leucemia transitoria es una enfermedad debida a una mielopoyesis anormal, que se observa en el 10 % de los recién nacidos con síndrome de Down y en neonatos fenotípicamente normales con mosaicismo tipo trisomía 21 en las células blásticas. El TMT-SD se trata de una proliferación clonal de células blásticas mieloides. Clínicamente se caracteriza por leucocitosis elevada, presencia de precursores mieloides y elementos blásticos en sangre periférica y médula ósea, grados variables de anemia y trombocitopenia y hepatoesplenomegalia. La patogenia de este proceso guarda relación con mutaciones somáticas adquiridas del gen *GATA-1* del cromosoma X, el cual codifica un factor de transcripción integral necesario para el normal desarrollo de las series eritroide y megacariocítica¹, el diagnóstico diferencial con la leucemia congénita se realiza únicamente en función de la evolución clínica, pues la leucemia congénita tiene carácter persistente además de una elevada morbimortalidad, El TMT-SD suele resolverse de manera espontánea y definitiva en unos meses. Sin embargo, la tercera parte de los pacientes desarrollan leucemia megacarioblástica aguda o M7 en los cuatro primeros años de vida. (Lopez,2008)

Leucemia mieloide relacionada con el síndrome de Down

Los pacientes con síndrome de Down presentan un riesgo entre 10–100 veces superior a presentar una LAM, antes de los 4 años el riesgo es 150 veces superior. Un 10% de los recién nacidos con síndrome de Down muestran una mielopoyesis anormal indistinguible de una LAM megacarioblástica y que suele remitir espontáneamente, pero en un 13–30% de los casos progresa a una verdadera LAM en 1 a 3 años. La LAM asociada al síndrome de Down en el 50% de los casos es del subtipo FAB M7, y generalmente se diagnóstica antes de que el paciente cumpla los 3 años. El estudio genético revela que en la LAM megacarioblástica del síndrome de Down, junto a la trisomía 21, se observa la mutación adquirida en GATA1. El pronóstico es más favorable que la LAM en niños sin síndrome de Down, debido a que presenta una mejor respuesta a la quimioterapia. (Gonzales, 2012)

Neoplasia celular dendrítico plasmocitoide blástico

Se caracteriza por la proliferación maligna y agresiva de los precursores de las células dendríticas plasmocitoides, que se asocia con frecuencia a infiltración cutánea, de médula ósea y a diseminación leucémica. Su presentación es poco frecuente y aunque puede ocurrir a cualquier edad, la mayoría de los pacientes suelen tener entre 61–67 años. Las células proliferantes tienen un tamaño mediano, con un núcleo de perfil irregular y cromatina laxa e inmadura con 1 o varios nucléolos visibles. El citoplasma es basófilo y granular. Los blastos son negativos para la mieloperoxidasa y esterasas inespecíficas. Expresan CD4, CD43, CD56 y CD123. Dos tercios de los pacientes muestran un cariotipo anormal. El curso clínico es agresivo con 12–14 meses de supervivencia. (Merino,2010)

Entidad provisional: LMA con BCR-ABL 1

Se agrega esta nueva categoría, aunque la distinción diagnóstica entre la LMA de novo con BCR-ABL1, y la transformación blástica de la LMC puede ser difícil sin la información clínica adecuada, se considera de importancia clínica y esto justifica una categoría de enfermedad provisional.

LMA con mutaciones bialélicas de CEBP α

El pronóstico a mejorado asociado con la LMA con CEBP α mutado se asocia con mutaciones bialélicas, ha dado un cambio en la definición de la enfermedad.

Entidad provisional con: RUNX1 mutado

Se agregó esta categoría provisional para los casos LMA de novo con esta mutación que no están asociados a anomalías citogenéticas relacionadas con SMD, representa un grupo biológicamente distinto con un pronóstico posiblemente peor que otros tipos de LMA.

(Arber,2016)

LMA relacionada con la administración previa de quimioterapia o radiación

Las neoplasias mieloides relacionadas con el tratamiento (t-MNs) siguen siendo una categoría distinta en la clasificación para los pacientes que desarrollan neoplasias mieloides después de la terapia citotóxica. Los t-MN pueden subdividirse aún más como SDM o LMA relacionado, pero la anomalía citogenética asociada, que es importante para determinar la terapia y el pronóstico, debe identificarse en el diagnóstico final. (Arber,2016)

2.3 Clasificación del Grupo Europeo para la Caracterización Inmunológica de las leucemias (EGIL)

El Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de las Leucemias (EGIL) propuso que la leucemia aguda debe clasificarse en base al inmunofenotipo solamente, esta clasificación sugiere criterios estandarizados para diferenciar una leucemia mieloide aguda (LMA), de linaje T, de linaje B, o bifenotípica. También sugiere criterios para distinguir la leucemia bifenotípica de LMA con expresión aberrante de los antígenos linfoides, y LLA con la expresión aberrante de antígenos mieloides. Sin embargo, una clasificación puramente inmunológica tiene la desventaja de que las entidades discretas pueden caer en una de dos categorías; por ejemplo, algunos casos de LMA de FAB M2 subtipo asociados con t (8; 21) (q22; q22) se clasificarían como "LMA de linaje mielomonocítica", mientras que otros serían clasificados como "LMA con la expresión de antígenos linfoides," además, los casos raros de leucemia aguda se han descrito que fueron claramente mieloide cuando fueron evaluados por citología y citoquímica, pero que no expresan ninguno de los antígenos mieloides comúnmente investigados. (Gamall, 2011)

Clasificación de la leucemia linfocítica aguda

Leucemia linfoblástica precursores-B (HLA-DR +, TDT +, CD19 +, y / o CD79a +, y / o CD22 +, y / o CD34 +). Este tipo de LLA representa alrededor del 75% de los casos de adultos y se subdivide en los siguientes grupos:

- a) LLA PRO-B**, expresa HLA-DR, TDT, y CD19. CD10-, inmunoglobulina citoplasmática negativa; representa aproximadamente el 10% de leucemia en adultos.
- b) LLA común**, se caracteriza por la presencia de CD10, inmunoglobulina citoplasmática negativa; comprende más del 50% de los casos de adultos de la leucemia.
- c) LLA pre-B**, se caracteriza por la expresión de inmunoglobulina citoplasmática y CD10; este subtipo de leucemia se identifica en casi el 10% de los casos de adultos.
- d) LLA B-maduros**, se encuentra en aproximadamente el 4% de los pacientes adultos con leucemia. Las células blásticas expresan antígenos de superficie de células B maduras, incluyendo la inmunoglobulina de superficie membranal (SmIg +) y son típicamente TDT y CD34 negativo y tienen Morfología L3. Esta categoría se superpone con el linfoma de Burkitt, que es incluida en los neoplasmas de células B maduras. (Gamall, 2011)

Leucemia linfoblástica precursoras-t Son TDT +, presentan también en citoplasma CD3 + y CD34 +. Este tipo de leucemia representa alrededor del 25% de los casos de adultos y se subdivide en:

- a) **LLA Pro T** CD2, CD7 +, CD4, CD8 observa en alrededor del 7% de LLA en adultos.
- b) **LLA pre T** CD2 +, CD7 +, CD4, CD8.
- c) **LLA-T cortical o LLA tímica (LLA-thy)** es CD1a + y representa el 17% de LLA en los adultos CD7 +, CD2 +, CD5 +, CD4 +, CD8 +
- d) **LLA-T maduras** son de superficie CD3 +, + CD2, CD7 +, CD4 u 8, y TDT / CD34 / CD1a- y representan aproximadamente el 1% de LLA en los adultos.

El consenso considera un umbral mínimo de 20% para definir una reacción positiva de células blásticas a un anticuerpo monoclonal dado. Aproximadamente el 75% de los casos de LLA en adultos son células de linaje B, los marcadores considerados de linaje B son CD19, CD20, CD22, CD24 y CD79a. Los primeros marcadores de linaje B son CD19, CD22 (membrana y el citoplasma) y CD79a. Una reacción positiva de dos de estos tres marcadores, sin más marcadores de diferenciación, identifica pro-B. La presencia del antígeno CD10 define el subgrupo LLA “común”. Los casos con la identificación adicional de Inmunoglobulina citoplasmática IgM constituyen el grupo pre-B, mientras que la presencia de la superficie de inmunoglobulina cadenas ligeras define LLA-B Madura.

LLA-T-cell constituye aproximadamente el 25% de todos los casos de adultos de LLA, los marcadores de células T son; CD1a, CD2, CD3 (membrana y citoplasma), CD4, CD5, CD7 y CD8, los antígenos CD2, CD5 y CD7 son los marcadores de células T más inmaduras, pero ninguno de ellos es absolutamente linaje específico, por lo que el diagnóstico inequívoco de LLA-T se basa en la demostración de superficie / CD3 citoplásmico, las LLA de linaje B o T puede expresar, además, antígenos mieloides o CD34 (antígeno que expresan la mayoría de las células madre hematopoyéticas) Este último tiene poca relevancia de diagnóstico, pero puede ser importante en el pronóstico. El sistema de puntuación propuesto por el a EGIL abordado la caracterización de la leucemia aguda como linaje B o T o LMA mediante la inclusión de los marcadores más específicos para los linajes de tipo mieloides o linfoides entre las primeras etapas de la diferenciación celular, además de algunos marcadores no específicos, pero con células madre. El sistema introduce una terminología modificada

específico para cada paso 'maduración' dentro del linaje B o de células T y fue confirmada como adecuada tanto para el diagnóstico y la subclasificación de LLA. (Gamal,2011)

Leucemias Agudas Bifenotípicas

Las leucemias bifenotípicas son aquellas en que existe una sola población blástica, la cual coexpresa simultáneamente marcadores antigénicos mieloides y linfoides. Es conocida también como Leucemia de Línea Mixta Aguda (LIMA), representándose como: LLA-My+, LMA-Ly+. Su clasificación se basa en criterios cariotípicos, citoquímicos, inmunofenotípicos y moleculares. Se han establecido varias hipótesis que tratan de explicar su etiopatogenia: 1. Disregulación genética de población tumoral. 2. Expansión leucémica de poblaciones minoritarias con fenotipos mixtos. 3. Proliferación de precursores hematopoyéticos con capacidad de expresar fenotipos mixtos. (Vargas, 1995)

Los sistemas de puntuación propuesto por el EGIL permitieron una mejor definición de la leucemia aguda bifenotípica (BAL), distinguiendo claramente de LA clásica con expresión aberrante de uno o dos marcadores de otro linaje. Sin embargo, cada vez más evidencia sugiere que este sistema tiene limitaciones, como ha reconocido la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2008. Aunque ha mejorado sustancialmente en relación con el EGIL, la nueva clasificación de la OMS todavía no es óptima para guiar el manejo clínico de los pacientes con BAL, sin embargo, la clasificación EGIL refina aún más este sistema de puntuación mediante la atribución de un punto por la expresión de CD117, después de mostrar la estrecha relación de este marcador con el compromiso en el linaje mieloides. Para identificar una leucemia aguda bifenotípica (BAL), es necesario tener en cuenta la coexpresión aberrante de marcadores generalmente asociados a diferentes linajes, con una puntuación superior a 2 en más de un linaje. (Gammal,2011) (Tabla 4)

Tabla 4. Puntuación para leucemia bifenotípica aguda según el EGIL. (Gamall,2011)			
	Linaje B	Linaje T	Linaje mieloides
2 puntos	CD79, IgM, CD22	CD3 y Anti-TCR	MPO, Lisozima
1 punto	CD19, CD10, CD20	CD2, CD5, CD8, CD10	CD13, CD33, CD65
0.5 punto	TdT, CD24,	TdT, CD17, CD10	CD14, CD15,CD64, CD117

Leucemia aguda bifenotípica se define cuando las puntuaciones son > 2 para el linaje mieloide y > 1 para el linaje linfoide, el pronóstico de los pacientes con leucemia aguda bifenotípica es pobre en comparación con pronósticos de novo en leucemia mieloide aguda o leucemia linfoblástica aguda. Pacientes con leucemia bifenotípica aguda han mostrado una incidencia mucho mayor de la expresión del antígeno CD34, cariotipo complejo anormal, infiltración extramedular, la recaída, y resistencia a la terapia después de recidiva. (Gamal,2011)

3.- INCIDENCIA EN LEUCEMIAS AGUDAS

3.1 Incidencia en adultos

A nivel mundial, las leucemias en el 2002 se ubicaron en el 10º lugar tanto en hombres como en mujeres, y los linfomas no Hodgkin en 9º y 11º lugar en hombres y mujeres respectivamente, representando el 2.8% de todas los casos nuevos registrados en este año, al analizar la incidencia a nivel mundial por grupo de edad, se observa que, tanto en hombres como en mujeres, las leucemias y el linfoma no Hodgkin fueron las enfermedades hematooncológicas que se presentan con mayor frecuencia en la población. En el grupo de los menores de 14 años, independientemente al género, las leucemias ocuparon el primer lugar, dentro de este grupo de enfermedades; en el caso de las mujeres, dicha posición se mantuvo hasta el grupo de 15 a 44 años y posteriormente se ubicaron por debajo del linfoma no Hodgkin. El comportamiento fue similar en la población masculina, aunque cabe aclarar que la inversión de la frecuencia se observó a partir de los 15 años. La tendencia observada de acuerdo con el grupo de edad fue ascendente, alcanzando las tasas más altas en la población de 65 años y más. (Tirado, 2007)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2000 declaró que de 56 millones de muertes en el mundo 6.2 millones (12%) se debieron a neoplasias malignas. Se estima que, hasta el año 2020 estas cifras aumenten a 75%, sobre todo en países en vías de desarrollo como América del Sur, África, Caribe y Asia Sudoriental. La OMS y la Unión Internacional Contra el Cáncer (UICC) exhortaron a los gobiernos, instituciones y organismos internacionales a diseñar estrategias para revertir las tendencias epidemiológicas del cáncer y a trabajar para ofrecer una mejor calidad de vida a los enfermos con cáncer. Actualmente está documentado que las leucemias agudas se incrementaron en todas las regiones del mundo y la tasa de mortalidad por cáncer se duplica en los países en vías de desarrollo y en los últimos años están experimentando el denominado fenómeno de la “transición epidemiológica”; donde el cáncer ocupa las primeras causas de muerte después de las enfermedades infectocontagiosas y cardiovasculares. La leucemia se encuentra entre los diez tipos de cánceres más frecuentes en el mundo y en los niños ocupa el primer lugar dentro de las neoplasias malignas. (Amaru, 2008).

La LLA en el adulto constituye, aproximadamente, el 15-20% de las LA. La leucemia mieloide aguda (LMA) tiene una incidencia que aumenta exponencialmente con la edad, de menos de 1 caso por 100.000 habitantes y año para personas menores de 30 años, a 14 por 100.000 a los 75 años (Torres,2008) Es la leucemia aguda más frecuente en neonatos y representa solo un pequeño porcentaje (15%) de los casos que se observan durante la infancia y la adolescencia y 35% de todos los casos nuevos de leucemia de cualquier tipo. La tasa de mortalidad que se atribuye a la LMA varía desde 0.5 por 100 000 niños menores de 10 años hasta 20 por 100 000 en nonagenarios, con un promedio de 3.4 por 100 000. Esta leucemia representa 80% de los casos de leucemia aguda en los adultos y 15 a 20% de las que se diagnostican en niños. En otros casos se presenta como complicación en un individuo que sufre mielodisplasia, la mediana de la edad al diagnóstico es de 68 años. (Jaime, 2012)

Sin embargo la LMA es la leucemia más común que afecta a las personas adultas con una media de edad de 64 años y la mayoría de pacientes se sitúan en la franja de los 60 – 75 años, la LMA es el tipo más común de leucemia diagnosticada durante la infancia, aproximadamente el 15 al 20 por ciento de los casos de leucemia aguda infantil y el 80 por ciento de los casos de leucemia aguda en adultos son casos de LMA, el riesgo de presentar LMA aumenta 10 veces más desde los 30 a los 34 años (alrededor de 1 caso por cada 100,000 personas) a los 65 a 69 años (alrededor de 10 casos por cada 100,000 personas). Para las personas mayores de 70, la tasa de incidencia continúa aumentando, con un pico entre los 80 y 84 años (Leucemia Lymphoma Society,2011). La edad promedio de un paciente con LMA es de aproximadamente 66 años y es ligeramente más común entre los hombres que entre las mujeres, e l riesgo de padecer LMA en el transcurso de la vida para el hombre promedio es de alrededor de 1 en 227; para la mujer promedio, el riesgo es de alrededor de 1 en 278. (American Cancer Society, 2013) Los datos exactos de la incidencia de leucemias agudas y de los demás tipos de cáncer son importantes no sólo para identificar los niveles de la enfermedad en las distintas poblaciones, para priorizar la actividad de los servicios de salud y vigilar el éxito de las iniciativas de control del cáncer, sino también para comprender los patrones de incidencia de la enfermedad y con base en ella poder ofrecer una perspectiva en la causa de la enfermedad. (Rodríguez, 2010) Aunque ningún grupo de edad es inmune al desarrollo de LMA, la mayoría de los pacientes con esta enfermedad son ancianos, se señala un mayor número de enfermos a partir de la sexta década de la vida, debido probablemente al deterioro del sistema

inmune, sobre todo de la inmunidad celular, en particular la disminución de la actividad de las células citotóxicas naturales (NK), las cuales tienen una importante función en la defensa del huésped contra el cáncer, lo que se ha relacionado con la mayor incidencia de neoplasias en edades geriátricas. (Milanés, 2002) También se pueden presentar casos de LLA en el adulto que en general comparte muchas características con la LLA de la infancia en la mayor parte de los aspectos; Los 50 años son la edad de inicio de la LLA del adulto, aunque se puede observar a todas las edades; 33% tiene más de 60 años al momento del diagnóstico, con otro valor máximo de incidencia a los 80 años. Su presentación es casi siempre subaguda, con algunas semanas de evolución y con infiltración difusa de órganos linfoides. El frotis de la sangre periférica suele ser suficiente para establecer el diagnóstico, el cual se confirma con los métodos adicionales ya descritos para la variante de la infancia. (Jaime, 2012)

3.2. Incidencia en niños

Las enfermedades neoplásicas en la población pediátrica son muy raras: en los países industrializados sólo 0.5 % de todas las neoplasias ocurren en niños menores de 15 años, aunque paradójicamente, se encuentran entre las primeras causas de muerte en la población pediátrica en el mundo. Entre la población estadounidense de 1 a 19 años de edad, es la segunda causa de muerte, sólo superada por los accidentes, en México, el cáncer en niños pasó del decimotercer lugar como causa de muerte en 1971, al segundo lugar entre la población de 1 a 14 años a partir del año 2000, las leucemias agudas son los cánceres más frecuentes en la infancia, en informes recientes se describe que para las instituciones de salud el costo de la atención de cada niño con cáncer representa alrededor de 620 mil dólares anuales. Además, la tasa de mortalidad por cáncer en los países subdesarrollados es el doble que, en los países desarrollados, En una nación con pocos recursos para la atención médica y que no puede garantizar una sobrevivencia elevada en enfermedades como el cáncer, se considera una prioridad instrumentar medidas preventivas específicas que puedan disminuir los casos de esta. (Mejía, 2005) Aunque el cáncer en los niños es una enfermedad rara que sólo representa entre 0,5 y 3 % de todas las neoplasias malignas en el mundo, constituye un importante problema de salud pública, por la alta probabilidad de muerte a edades tempranas y por el impacto social en los niños, sus padres y sus familias. En general, las leucemias son la principal causa de cáncer pediátrico, seguidas de los tumores malignos del sistema nervioso central y los linfomas, y corresponden al 30 % de las neoplasias malignas que se

presentan en menores de 15 años; de estas, aproximadamente, el 75 % son leucemia linfocítica aguda y del 15 al 20 % son leucemia mielocítica aguda. En los países desarrollados, la mortalidad por leucemia infantil ha disminuido de manera importante en los últimos 30 años, mientras que la incidencia ha permanecido sin cambios, sin embargo, en los países en desarrollo, la incidencia se mantiene, pero las tasas de mortalidad por leucemia pediátrica continúan siendo altas. (Milena, 2012)

La incidencia de LLA no es homogénea a lo largo de la vida, presenta un pico temprano a los 4 o 5 años (tasa de incidencia de 4 a 5 por 100.000 personas y año), una disminución de la incidencia en jóvenes adultos, y un ligero aumento después de los 50 años (tasa de incidencia de hasta un 2 por 100.000 personas y año). La tasa de curación es menor en adultos que en niños, con una supervivencia libre de enfermedad a largo plazo de aproximadamente un 80% en niños y de solo un 35- 45% en adultos. De manera específica, la LAL-T corresponde a un 15% de las leucemias agudas infantiles y a un 25% de las del adulto. La curva de incidencia presenta un único pico situado entre la frontera niño/adulto, y la supervivencia no difiere de la LLA de precursores B, este subtipo T se caracteriza por presentar una mayor heterogeneidad y complejidad genética, haciéndolo atractivo para la investigación, a pesar de tratarse del subtipo de LLA poco frecuente. (Genesca, 2013)

La leucemia linfoblástica aguda es la enfermedad más importante en la hematología pediátrica, dado que es la neoplasia más común en niños menores de 15 años, grupo en el que constituye el 30% de todos los cánceres; es una causa considerable de muerte tanto en países industrializados como en aquellos en vías de desarrollo. Hasta 60% de los casos suele ocurrir en personas menores de 20 años, con una mayor incidencia entre los dos y cinco años en los países desarrollados; la LLA representa 76% de las leucemias en menores de 15 años. El padecimiento afecta de modo predominante al género masculino. La variedad linfoblástica predomina en varones. En Estados Unidos, la incidencia de LLA en menores de 15 años es de 3.3 por cada 100 000 habitantes; se incluyen formas agudas y crónicas. En el mundo se diagnostican alrededor de 240 000 casos nuevos de leucemia aguda de la infancia cada año, de los cuales 75% se registra en países en desarrollo. La leucemia infantil es una enfermedad universal, crónica, no transmisible, de etiología multifactorial, siendo poco frecuente en niños y hasta 4 veces más en adultos, de muy alto impacto social y cultural. Según el GLOBOCAN (*estimates of the incidence of, mortality and prevalence from major types of*

cancer, at national level, for 184 countries of the world) se destaca que a nivel mundial hay un estimativo de que las leucemias infantiles corresponden a cerca de 30% de las neoplasias malignas que se presentan en dicho grupo, y de éstas más de 75% son linfoides agudas. El progreso sustancial para todos los principales tipos de cáncer infantil refleja las mejoras en el tratamiento y altos niveles de participación en los ensayos clínicos, casi la mitad de las muertes por cáncer infantil en Colombia fueron provocadas por leucemias, en contraste con los informes sobre Estados Unidos, Europa y México, donde estas neoplasias dan cuenta de entre 32% y 35% de las muertes por cáncer en menores de 15 años. Se ha estimado que, en países de menor desarrollo, las muertes vinculadas al tratamiento de las leucemias linfoides agudas oscilan entre 10% y 15%, y al de las leucemias mieloides agudas rondan el 30%, que en los países desarrollados son de 3% y 7% respectivamente. (Piñeros,2011)

En pediatría la edad más frecuente de presentación es el grupo de 3 a 5 años. Aproximadamente 2,400 niños y adolescentes menores de 20 años son diagnosticados con LLA cada año en Estados Unidos. Esta incidencia ha aumentado gradualmente en los últimos 25 años. Algunas alteraciones genéticas están relacionadas con la aparición de LLA, como son la neurofibromatosis, el síndrome de Shwachman, el síndrome de Bloom, la ataxia telangiectasia y, especialmente, el síndrome de Down. Este último síndrome presenta un mayor riesgo acumulativo de desarrollar LLA, con 2.1% al llegar a los cinco años de edad y de 2.7% a los 30 años, en América Latina se ha reportado que la incidencia de LLA es mayor a la descrita en otras partes del mundo, con tasas de hasta 120 pacientes por millón por año. Es probable que los pacientes con LLA en América Latina sean portadores de variaciones genéticas que predisponen al desarrollo de esta neoplasia. (Dorantes, 2012).

En cuanto leucemia mieloblastica aguda (LMA) representa 15% de las leucemias agudas en la infancia y adolescencia, y la LMA promielocítica (M3), es la de mayor incidencia. Y en general, a menor edad, mejor pronóstico. Se han identificado en la LMA de niños y adultos la presencia de una población celular denominada “célula autorrenovable iniciadora de la leucemia” que representa 1 a 200 células por millón de mononucleares de la médula ósea de pacientes con LMA. La cantidad de estas células no se correlaciona con la edad, el género o la clasificación franco-americana-británica (FAB). La trisomía 21 o síndrome de Down es la causa hereditaria más frecuentemente asociada a la leucemia aguda en la infancia; se

incrementa 14 veces el riesgo de padecerla, sobre todo la LMA megacarioblástica o M7. Una proporción de 10% de los niños con esta trisomía puede desarrollar el llamado trastorno mieloproliferativo transitorio de la infancia o preleucemia, que casi siempre se resuelve; hasta 30% de estos niños desarrolla una LMA-M7. Otras lesiones genéticas que se han relacionado con LMA de la infancia son los síndromes de Klinefelter (XXY) y Turner (X0). De las mutaciones, la del gen del factor de transcripción hematopoyética GATA-1 es la más frecuente. (Jaime, 2012)

4.-PRUEBAS BÁSICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIAS AGUDAS

4.1 Generalidades de la biometría hemática y valores de referencia.

La biometría hemática (BH), es uno de los auxiliares diagnósticos de laboratorio más usados actualmente, de ella se obtienen algunos datos de los tres elementos formes de la sangre, en este estudio de laboratorio se analiza las cantidades y características de estos tres tipos de elementos que normalmente se encuentran en la sangre, que en orden decreciente de tamaño son: 1) leucocitos (glóbulos blancos, serie blanca, fórmula blanca), 2) eritrocitos (glóbulos rojos, serie roja, fórmula roja) y 3) plaquetas (trombocitos). A estos componentes se les llama elementos figurados porque tienen una forma definida comparados con la parte líquida de la sangre que es el plasma. Sin embargo, no hay que olvidar que este estudio es un auxiliar diagnóstico y que los datos que revele deben de integrarse con la historia clínica del paciente, la exploración física, el resultado de otros estudios de laboratorio, de gabinete y muchas veces será necesario realizar estudios complementarios (García, 2012).

La BH es una herramienta indispensable para la valoración diagnóstica hematológica de un paciente (ambulatorio u hospitalizado) ya que valora los componentes celulares de la sangre y puede proporcionar hasta 25 diferentes parámetros, por lo que se ha convertido en un estudio muy útil para el diagnóstico, los valores de los diferentes parámetros de la BH son muy variables; por ejemplo, la concentración de hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y el conteo de eritrocitos, aumentan con la edad (de los 5 a los 17 años), por otro lado, la concentración de leucocitos se incrementa posterior al nacimiento, pero tiende a estabilizarse después del primer año de vida (tabla 5), los cambios patológicos en las concentraciones de células sanguíneas específicas con frecuencia pueden constituir el primer signo de enfermedad. Por esta razón, es importante contar con valores de referencia del hemograma completo para los diversos grupos poblacionales, para la valoración adecuada del estado de salud de cada individuo. La altitud es uno de los factores que afectan más notablemente a los valores de la BH, debido a las diferencias en la concentración de oxígeno y la presión atmosférica, por lo que se debe de contar con valores de referencia de la BH completa para poblaciones que viven en regiones geográficas a gran altitud. Los valores normales de los elementos formes de la sangre pueden tener cambios fisiológicos debidos a la edad, al sexo y a la ubicación geográfica, aunque estrictamente no puede hablarse de “normalidad”, sino de valores que

reflejan a la mayoría de una población, por lo que el término “valores normales” ha sido sustituido por el de “valores de referencia” (VR) , por lo anterior, todo laboratorio clínico debe de definir sus respectivos VR de acuerdo con las características de la población a la que atiende, acorde también con el instrumento y con la tecnología utilizada, (García, 2012)

Tabla 5. Valores hematológicos de referencia en la edad pediátrica (Torrente ,2010)

Edad	Hb g/dl	Eritrocitos x10¹²/l	VCM fl	Leucocitos x10⁹/l	Neutrófilos x10⁹/l	Linfocitos x10⁹/l	Eosinofilia x10⁹/l
RN	19.9-23.7	3.7-6.5	100-125	10-26	2.7-14.4	2.0-7.3	0-0.85
2 S	13.4-19.8	3.9-5.9	88-110	6-21	1.5-5.4	2.8-9.1	0-0.85
2 M	9.4-13.0	3.1-4.3	84-88	5-15	0.7-4.8	3.3-10.3	0.05-0.90
6 M	10-13.0	3.8-4.9	73-84	6-17	1.0-6.0	3.3-11.5	0.10-1.10
1 A	10.1-13.0	3.9-5.1	70-82	6-16	1.0-8.0	3.4-10.5	0.05-0.90
2-6 A	11.0-13.8	3.9-5.0	72-87	6-17	1.5-8.5	1.8-8.4	0.05-1.10
6-12 A	11.1-14.7	3.9-5.2	76-90	4.5-14.5	1.5-8.0	1.5-5.0	0.05-1
*Niñas	12.1-15.1	4.1-5.1	77-94	4.5-13	1.5-6.0	1.5-4.5	0.05-0.80
*Niños	12.1-16.6	4.2-5.6	77-92	4.5-13	1.5-6.0	1.5-4.5	0.05-0.80

RN= Recién nacido, S=Semanas, M=Meses, A= Años y * Niños (a) de 12 a 18 años

4.2 Datos de alarma de la biometría hemática en niños

La etapa inicial de una leucemia aguda , presenta signos y síntomas inespecíficos, como son cansancio, fatiga, fiebre persistente inexplicable, dolores óseos o articulares, equimosis, anemia leve y procesos infecciosos de evolución tórpida que pueden similar algunos otros padecimientos no malignos como infecciones bacterianas o virales, anemias nutricionales y purpura trombocitopenia idiopática, sin embargo la evidencia clínica predomina como la piedra angular de la sospecha diagnóstica de las leucemias y de cualquier padecimiento por lo que se requiere complementar el diagnóstico con el apoyo del laboratorio clínico. La biometría hemática completa es el primer paso esencial en el algoritmo del diagnóstico diferencial, pueden obtenerse resultados normales cuando se está iniciando una leucemia aguda, es por ello que se requiere una observación minuciosa del frotis de sangre periférica por personal profesional que tenga la preparación en la identificación de células anormales y sobre todo leucémicas. Las alteraciones del laboratorio que obligan a una revisión especial incluyen: 1) Anemia (cualquier grado), 2) Leucopenia o leucocitosis (predominio de una

línea celular), 3) Trombocitopenia, 4) Combinaciones: bicitopenia o pancitopenia (Hurtado, 2012) (valores de referencia tabla 6).

Aunque el diagnóstico definitivo de leucemia se realizará mediante el aspirado o biopsia de médula ósea, las alteraciones en el hemograma pueden ponernos sobre la pista de una muy probable leucemia e incluso mostrar blastos en sangre periférica, aunque este último no es un hallazgo constante. Anemia: un 80% de los casos de LLA, un 50% de las LMA se presentan con valores de hemoglobina < 10 g/dl, aunque se han descrito valores tan bajos como 2,5-3 g/dl en algunos casos. La anemia es normocítica, normocrómica e hiporregenerativa, pues se asocia una cifra de reticulocitos baja y en el frotis de sangre periférica puede existir la presencia de dacriocitos (células en lágrima) y de formas eritrocitarias nucleadas, ambas traduciendo invasión medular. Trombocitopenia: en una 80% de las LLA y LMA el recuento de plaquetas en el hemograma es $< 100.000/\mu\text{l}$, sin embargo, habitualmente no existe riesgo de hemorragia hasta que las plaquetas descienden por debajo de $20.000/\mu\text{l}$, el volumen plaquetario suele ser normal, pero existe leucocitosis: aproximadamente el 50% de los niños con LLA tienen más de 10.000 leucocitos/ μl al diagnóstico, y un 10% tendrán más de $50.000/\mu\text{l}$. En la LMA estas cifras son aún mayores, puesto que una cuarta parte de los pacientes, sobre todo en las formas mielomonocítica y monocítica, muestran más de 100.000 leucocitos/ μl . Aun así, como se ha comentado, la cifra de los neutrófilos totales suele estar disminuida y su función alterada, la hipereosinofilia es un hallazgo relativamente común en la fórmula leucocitaria descrito tanto en LLA como en la LMA. En resumen, ante una alteración en el hemograma la sospecha de leucemia aumenta si: Se aprecian blastos o células atípicas en el frotis de sangre periférica, están afectadas dos o más series del hemograma y a la vez se asocian adenopatías o hepatomegalia o esplenomegalia en ausencia de causas infecciosas que expliquen los hallazgos previos.

(García,2015)

**Tabla 6. Valores de referencia de la biometría hemática en adultos.
(UNAM. Facultad de Medicina Departamento de Biología Celular y Tisular, 2011)**

Parámetro	Varón	Ambos sexos	Mujer
Hemoglobina (Hb)	13-17 g/dL		12-15 g/dL
Hematocrito	42-52 %		36-46 %
Concentración eritrocitaria	4.5-5.8(x 10 ⁶) μ L		4.0-5.0 (x 10 ⁶) μ L
VCM		80-100 μ 3 (fl)	
HCM		27-33 pg	
CHCM		33.4-35.5 g/dl	
RDW		12-14 %	
Concentración leucocitaria		4400-11300 / μ l	
Concentración plaquetaria		1.5-4.0 (x 10 ⁵)/ μ l	
Neutrófilos		40-85%	
Linfocitos		18-45 %	
Monocitos		3-10 %	
Eosinófilos		1-4 %	
Basófilos		0.3-4 %	
Neutrófilos		1.80-7.70 (10 ³ / μ l)	
Linfocitos		1.00-4.80 (10 ³ / μ l)	
Monocitos		0.00-0.80 (10 ³ / μ l)	
Eosinófilos		0.02-0.45 (10 ³ / μ l)	
Basófilos		0.02-0.10 (10 ⁶ / μ l)	

VCM= Volumen corpuscular medio; HCM= Hemoglobina corpuscular media;

CHCM= Concentración de HCM; RDW= Distribución media eritrocitaria

NOTA: Estos valores pueden variar dependiendo del instrumento con el que se hagan las mediciones, por lo que cada laboratorio maneja sus valores de referencia.

4.3 Datos de alarma de la biometría hemática en adultos

La característica distintiva de la leucemia aguda es la combinación de pancitopenia con blastos circulantes, sin embargo, es posible que hasta en 10% de los casos no existan en el frotis de sangre periférica. Durante el diagnóstico, quizá lo más frecuente sea encontrar anemia normocítica y normocrómica de intensidad variable, puede existir cierto grado de macrocitosis, en particular en aquellos casos que evolucionan a partir de síndromes mielodisplásicos (leucemia secundaria). Es posible encontrar eritrocitos nucleados y leucocitos en diferentes etapas de diferenciación, cuadro conocido como “reacción leucoeritroblástica”, en algunos casos la cifra de plaquetas suele disminuir drásticamente (trombocitopenia grave), o incluso puede ocurrir trombocitosis ligera y cuando esta se presenta se vincula con anomalías del cromosoma 3. La cuenta de glóbulos blancos es variable, desde leucopenia grave (menor de $1 \times 10^9/L$) a cifras muy elevadas (mayores de $100 \times 10^9/L$). (Hurtado, 2012)

El hallazgo sugerente de LA es la presencia de blastos en el frotis de sangre periférica, los cuales pueden constituir más de 90% de todos los leucocitos, según el subtipo celular leucémico, es posible encontrar alteraciones como eosinofilia (frecuente en la LMA-M4), monocitosis (LMA -M5), neutropenia, linfocitopenia, basofilia, entre otras; en ocasiones, cuando se trata de LA secundaria, es posible encontrar anomalía de pseudo-Pelger-Huet y no es raro encontrar pancitopenia intensa (anemia, leucopenia y trombocitopenia). Para el diagnóstico de leucemia es imprescindible el hallazgo de formas blásticas leucémicas y su caracterización morfológica, en sangre periférica es posible distinguir blastos, (de aproximadamente 12-30 micras en promedio), aunque pueden encontrarse formas mayores en variedades monoblásticas y algunas megacarioblásticas; poseen núcleo circular, ovalado o irregular y destaca la presencia de uno o más nucléolos, con un citoplasma que en general es escaso también es posible identificar algunos gránulos azurófilos, es especial en las variedades mieloblástica y los cuerpos de Auer son característicos de las variedades mieloides y llegan a agruparse en “empalizada” en las variedades promielocítica. Antes se requería más de 30% de blastos en la médula ósea para establecer el diagnóstico de LA; ahora se acepta como criterio diagnóstico 20% de población blásticas y se debe distinguir el linaje leucémico y establecer si es mielóide (LMA) o linfóide (LLA). (Granados, 2010)

4.4 Aspirado de médula ósea

La médula ósea (MO) comprende entre 3.5 y 6% del peso corporal; es un órgano linfoide, proporciona un medio para la maduración celular y la interacción inmunológica; en él se lleva a cabo la hematopoyesis, mediante este proceso se producen los elementos formes de la sangre, durante el primer año de la vida la hematopoyesis tiene lugar en la MO de huesos axiales y radiales del esqueleto, y a partir de la mitad de la adolescencia los huesos planos centrales se convierten en los principales sitios. Por lo que es importante señalar que uno de los factores que modifican este proceso es la edad; los recién nacidos pueden tener una celularidad entre el 80 y 100% en la MO, mientras que los adultos de más de 70 años, la celularidad normal puede ser de menos del 50%. Las células progenitoras pluripotenciales, además de dar origen a los eritrocitos, granulocitos, megacariocitos y plaquetas, también generan linfocitos (linfopoyesis), células cebadas y macrófagos. (León, 2013)

El Aspirado de médula ósea y biopsia se utilizan para diagnosticar, confirmar o dar seguimiento a enfermedades hematológicas, así como una herramienta de diagnóstico en los trastornos no hematológicos y neoplasias malignas, sin embargo no hay reglas fijas e inamovibles que determinen cual es el paciente que requiera un examen de médula ósea ya que cada caso se debe evaluar a la luz de toda la información clínica y de laboratorio para determinar si este procedimiento invasivo clínico es necesario, por ejemplo, el examen de médula ósea no se precisa en los casos cuya etiología es evidente por los índices eritrocitarios y otras pruebas de laboratorio , como niveles bajos de hierro y ferritina en suero, en el caso de la anemia ferropénica, y niveles bajo de vitamina B₁₂ y folato en el de la anemia megaloblástica, por otro lado, cuando hay anomalías de varias líneas celulares en sangre periférica, por lo general se necesita un examen de médula ósea, también la presencia de blastos circulantes es indicación para el estudio, excepto en los lactantes y recién nacidos que presentan una infección, puesto que, las infecciones bacterianas producen una liberación de neutrófilos desde la médula ósea y el endotelio vascular de forma directamente proporcional a la gravedad de la infección o inflamación y puede presentarse una reacción leucemoide; se llama así a la presencia de una cifra de leucocitos de más de 50.000/ μ l, junto con formas jóvenes (mielocitos, metamielocitos y cayados) en sangre periférica (Tormo,2001) .

El examen de MO es necesario en casi todos los pacientes pancitopénicos, excepto en quienes reciben tratamiento mielo supresor y la única contradicción importante para el examen de la

médula ósea es la ausencia de criterios para realizarlo, por lo que solo debe realizarse cuando sea esencial para el diagnóstico o el manejo del paciente y la interpretación final debe ser en el contexto de los hallazgos clínicos y de diagnóstico preliminares. (Rodak 2004) (Guías prácticas,2010)

El sitio para el aspirado y la biopsia de médula ósea, depende en parte de la edad del paciente, en los adultos, la cresta ilíaca posterosuperior es el sitio de preferencia para el aspirado (imagen 1) y para la biopsia, aunque puede hacerse también en la cresta ilíaca anterosuperior, de las costillas o de las vértebras y también puede obtenerse un buen aspirado de médula ósea del esternón a la altura del segundo espacio intercostal, pero la obtención de muestras de biopsia de esta estructura no se recomienda debido a la proximidad con el corazón y los grandes vasos. (Rodak, 2004)

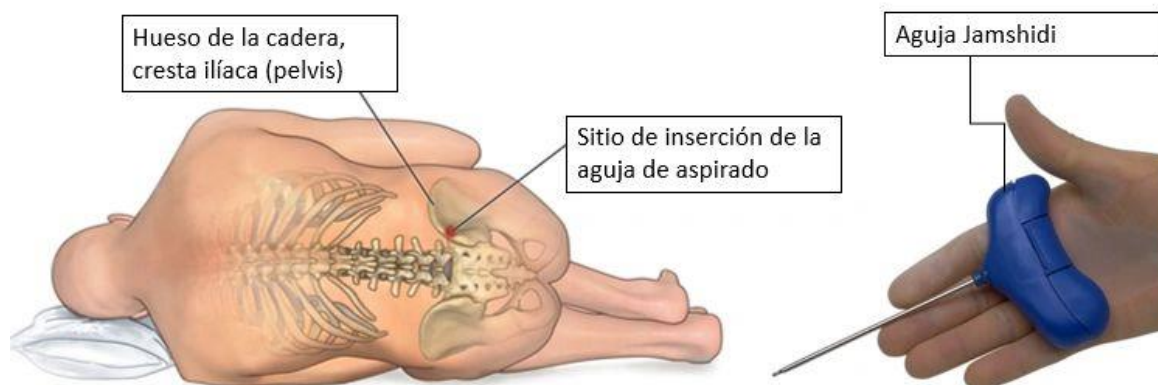


Imagen 1. Sitio de punción para aspirado o biopsia de médula ósea. Recuperada del sitio: <https://dnmhematologia.com/el-blog/f/aspirado-y-biopsia-de-m%C3%A9dula-%C3%B3sea>

En los niños la región de la cresta iliaca anteroposterior es el sitio de elección, sin embargo, en algunos niños con obesidad no se puede apreciar este sitio. (Lewis, 2007). En niños prematuros y en algunos < 18 meses el hueso ilíaco no se ha osificado completamente y el aspirado en la tibia anterior es una alternativa, pero se debe extremar la precaución en este sitio por su vulnerabilidad a las fracturas y a la laceración de los vasos sanguíneos principales adyacentes, la punción en el esternón está contraindicada en niños, así como la biopsia, porque el hueso es delgado y las cavidades medulares pequeñas. (Belendez, 2007) (Lewis, 2007).

En los últimos años se ha incluido, especialmente en niños, la sedación/analgesia como parte del procedimiento tanto para el aspirado de médula como para la biopsia, al tratarse de

técnicas dolorosas, aunque no hay criterios unificados y la elección de los fármacos debe estar en relación con la duración y el dolor de la prueba y el profesional encargado, familiarizado con ellos con la adecuada monitorización para evitar riesgos. (Belendez, 2007)

Indicaciones para el aspirado o biopsia de médula ósea

1. La investigación de una anemia inexplicable, índices de glóbulos rojos anormales.
2. Investigación de la morfología anormal de frotis de sangre periférica sugestiva de la patología de la médula ósea.
3. El diagnóstico, estadificación y seguimiento de los trastornos hematológicos. malignos (por ejemplo, leucemias agudas y crónicas, síndromes mielodisplásicos, trastornos mieloproliferativos crónicos, linfomas, mieloma de células plasmáticas, entre otros.
4. Investigación de las metástasis sospechosas de médula ósea.
5. Lesiones óseas focales inexplicables en imágenes radiológicas.
6. Organomegalia inexplicable o presencia de lesiones de masa inaccesibles para la biopsia.
7. Cultivo microbiológico para las investigaciones de fiebre de origen desconocido o infecciones específicas.
8. Evaluación de las reservas de hierro.
9. La investigación de los trastornos de almacenamiento de lípidos / glucógeno.

4.5 Biopsia de médula ósea y mielograma

La biopsia de médula ósea (BMO) se ha convertido en una herramienta útil e indispensable en el diagnóstico de enfermedades hematológicas, de neoplasias primarias o metastásicas y estadificación de las mismas, de infecciones, y de enfermedades metabólicas y quizás la única forma de realizar un diagnóstico correcto. Se puede obtener por trepanación, su principal valor consiste en su capacidad de aportar información sobre la estructura de fragmentos de médula relativamente grandes pues la desventaja del aspirado de médula ósea en comparación con la biopsia radica en que la disposición de las células en la médula y la relación entre ellas queda distorsionada por el proceso de aspiración y, en las médulas fibróticas, se puede aspirar sangre en lugar de médula. No obstante, cuando se realiza aspirado de médula ósea (AMO), las células individuales están bien conservadas. (Lewis, 2007).

Para optimizar la valoración de la BMO, es necesario conocer los datos clínicos y de laboratorio, incluyendo los resultados de la sangre periférica y AMO, así como las posibilidades diagnósticas del médico tratante. Se debe contar con un procedimiento técnico adecuado para obtener y procesar la BMO, este procedimiento está indicado al igual que el aspirado, en todas las enfermedades que puedan afectar la MO, ya sea en forma primaria o secundaria y especialmente cuando el aspirado es “Dry tap” (punción seca). La indicación hematológica más frecuente corresponde a la disminución de elementos formes de la sangre periférica de origen desconocido, las citopenias, ya sea en forma aislada o de las tres series (pancitopenia). Las especialidades médicas que con mayor frecuencia solicitan la BMO corresponden a hematología, oncología, infectología y medicina interna. (Leon,2010)

En condiciones normales el tejido hematopoyético en los espacios medulares tiene una distribución y topografía especiales: los grupos de células eritropoyéticas, los megacariocitos y las formas maduras de la serie granulocítica, se localizan en sinusoides del centro del espacio medular, mientras que los precursores mieloides tempranos se localizan con relación a la superficie endosteal de las trabéculas óseas y en la vecindad de las arteriolas, por lo tanto, las variaciones espaciales de las diferentes series son importantes en la interpretación. La celularidad en la MO corresponde a la proporción entre las células hemopoyéticas y el tejido adiposo, que varía según la edad del paciente, es casi del 100% en recién nacidos y disminuye aproximadamente 10% conforme avanza cada década de la vida (tabla 7) y en los recién

nacidos a término hay predominio de los precursores mieloides, que ocupan dos terceras partes de la celularidad, y disminuyen a un tercio al mes de edad, los linfocitos en recién nacidos ocupan un 15%, y aumentan hasta 50% al mes de edad, lo que se prolonga hasta los 18 meses. Otro aspecto importante es la relación mieloides: eritroides (M:E) que se refiere a la proporción relativa entre el componente granulocítico y el eritroide, en la primera semana de vida hasta el 70% de las células corresponde a la serie eritroide, principalmente proeritroblastos y eritroblastos basófilos, por lo que la relación M:E en esta etapa de la vida está invertida, y es de 1:2. Posteriormente el componente granulocítico aumenta y la relación y la relación se estabiliza entre 2.5:1 y 4:1 en adultos. (León,2010)

Tabla 7. Celularidad de la médula ósea en relación a la edad. (León, 2010)

EDAD	Promedio de Celularidad %	Intervalo de Variacion. (%)
Recién nacido	100	80-100
1-3 meses	80	80-100
Niños > 1 año	80	60-90
10 años	80	60-90
20 años	65	50-90
30 años	60	30-85
40 años	55	30-80
50-60 años	50	20-80
70 años	40	20-65
80 años	30	15-45

Obtención de la muestra

Las biopsias por trepanación de la médula ósea tienen un valor incalculable para el diagnóstico de los trastornos en que no se obtiene muestra al aspirar la médula ósea (p. ej. mielofibrosis, infiltraciones, etc.) o cuando la arquitectura distorsionada de la médula es una característica diagnóstica importante. Igual que los aspirados medulares, éstas se pueden realizar a la cabecera de la cama del enfermo o en departamentos ambulatorios el sitio de punción más habitual es la espina ilíaca posterior, aunque también se puede utilizar la espina ilíaca anterior sin embargo se considera que en la primera se pueden obtener muestras de mayor longitud y extensión y que la aspiración es menos incómoda para el paciente, la muestra conseguida por trepanación se obtiene insertando la aguja de biopsia en el hueso y

utilizando un movimiento de rotación hacia delante y hacia atrás para extraer una porción de tejido. Los principales problemas de este método son el aplastamiento de la muestra, con la distorsión correspondiente de la arquitectura, y la dificultad para desprender el núcleo de hueso del interior del espacio medular. Las agujas de biopsia por trepanación, tanto si son reutilizables como desechables, están específicamente diseñadas para solventar estos problemas, por ejemplo, la aguja Jamshidi (imagen 2) tiene un extremo afilado para reducir el artefacto por aplastamiento y el trépano Islam (imagen 3) dispone de un dispositivo para sujetar la muestra, si se necesitaran agujas más amplias, se pueden utilizar agujas de trepanación con calibres de 4-5 mm. (Lewis,2007). En esternón debe usarse una aguja con tope de seguridad y en niños el calibre medio de la aguja de aspirado es de 16-17 G y de 11 G para la biopsia, y hay agujas menores para lactantes y neonatos o de mayor grosor para los niños más grandes. (Belendez,2007)

La BMO, es en general, un procedimiento inocuo y sólo se producen sucesos adversos graves en menos del 0,05% de los procedimientos, la complicación más habitual es el sangrado, que puede ocasionar una morbilidad significativa, como el síndrome compartimental glúteo y muy raramente la muerte. El sangrado está relacionado más a menudo con una alteración de la función plaquetaria que con una trombocitopenia o con un defecto en los factores de coagulación. (Lewis,2007)



Imagen 2: Trocar de tipo Jamshidi y sus componentes. De izquierda a derecha: pinza de captura, camisa enmangada de borde distal cortante, trocar, fiador-medidor.

(Hernandez,2017)

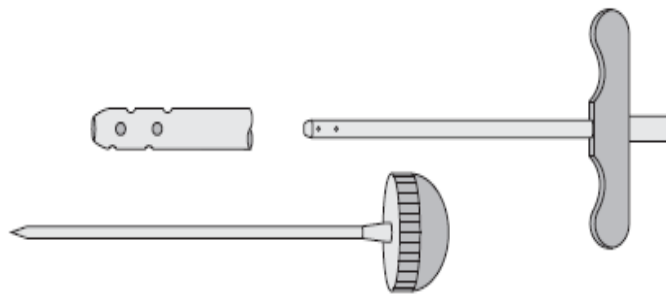


Imagen 3. Aguja Islam de aspiración de médula ósea. El mango con forma de cúpula y la barra en T están diseñados para proporcionar estabilidad y control durante la operación.

(Lewis,2007)

Técnica de extracción de biopsia de médula ósea

- Se procederá a la desinfección de la zona de la piel que se va a puncionar con una gasa empapada en povidona yodada o clorhexidina, aplicada a la altura de ambas espinas iliacas posterosuperiores.
- Aplicar con aguja y jeringa un anestésico local en el punto de la piel donde se vaya a puncionar, desde el periostio hasta la piel. Dejar actuar el fármaco al menos 5 minutos antes de proseguir.
- Con ayuda de un bisturí realizar una pequeña incisión de 2-3 mm (no mayor porque no se dan puntos de sutura al finalizar) en la piel, justo en el punto de aplicación de la anestesia.
- Una vez encontrado el sitio apropiado, como punto de entrada en el hueso, se penetra no más de medio centímetro con la punta del trocar, mediante movimientos de muñeca a izquierda y derecha, ejerciendo una presión “controlada”
- Cuando el trocar queda fijo en el hueso se retirará el fiador y se seguirá penetrando lentamente unos 1,5-2,0 cm más. La experiencia, el sentido común y las condiciones del paciente (edad, obesidad, grado de tolerancia, etc.) ayudarán a establecer cuánto se debe penetrar, aunque algunos dispositivos de biopsia incluyen un fiador-guía milimetrado que puede resultar orientativo con esta finalidad.
- Una vez profundizado lo suficiente, se introduce el capturador de la muestra hasta el tope se dan varias vueltas de 360° al mango del trocar alrededor del eje de la aguja y se retira todo el dispositivo en bloque con movimientos a izquierda y derecha, en dirección hacia fuera.
- Justo al extraer el trocar, se aplicará presión con una gasa sobre el punto de punción para coartar pronto el posible sangrado.
- Finalmente, se extrae la muestra del dispositivo capturador y se deposita en una porta, se realizan improntas del cilindro óseo, y se introduce la muestra ósea en un tubo que contenga una solución fijadora para su procesamiento. (Hernandez,2017)

Manejo de la muestra

El procesamiento técnico óptimo de las biopsias óseas es un requisito imprescindible pues la mayor parte de los errores o dificultades de interpretación de las biopsias se deben a problemas de este tipo. Para ello es necesario llevar a cabo un procesamiento óptimo y rápido después de su obtención. (Acevedo,2005)

Hay que fijar la muestra en suero salino convencional al 10%, tamponado hasta un pH 7,0, durante 12-48 h antes de descalcificarlo, deshidratarlo e incluirlo en parafina con los procedimientos histológicos habituales. El encogimiento celular y la distorsión por el proceso de descalcificación pueden alterar los detalles de las células. Estas desventajas pueden solventarse con la inclusión en metilmetacrilato. Hay que teñir de forma rutinaria los cortes de médula ósea con hematoxilina y eosina (H&E) y con un método de impregnación argéntica para la reticulina. Los cortes pueden teñirse también con colorantes de Romanowsky, como el May-Grünwald Giemsa, y con la reacción de Perls para el hierro. La tinción con H&E es excelente para demostrar la celularidad y el patrón de la médula y para revelar los cambios patológicos, como fibrosis, o la presencia de granulomas o de células carcinomatosas, sin embargo cuando se obtiene una biopsia por trepanación, se pueden hacer improntas de la misma, antes de transferir la muestra al fijador, en un porta objetos, haciendo rodar la muestra obtenida de un lado a u otro, fijándolo y tiñéndolo a continuación, así se puede examinar inmediatamente las células que se desprenden de la muestra en el portaobjetos y proporcionar un diagnóstico varios días antes de que se haya procesado la muestra de la biopsia por trepanación. En la bibliografía se indican algunos valores para el contenido celular de la médula ósea normal, pero con fines prácticos, se puede valorar el grado de celularidad medular dentro de amplios límites como aumentado, normal o reducido mediante la inspección de una extensión teñida que contenga grumos de médula. (Lewis,2007, Rodriguez,2005)

Como guía general, si las células hematopoyéticas ocupan menos del 25% del grumo, éste se considera hipocelular, (imagen 4) mientras que si ocupan más del 75-80%, se considera hipercelular (imagen 5) y se deben tener en cuenta las variaciones fisiológicas en el contenido celular ya que la celularidad de la médula se ve afectada por la edad. Los individuos menores de 10 años tienen una celularidad de 80 % esta cifra baja a un 50 % alrededor de los 30 años

y se mantiene relativamente estable hasta los 70 años en que baja a un 30 %. y en todos los casos se considera una celularidad normal (Imagen 6) de acuerdo a la edad. (Franco,2002)

En general resulta adecuado un diferencial sobre 200-500 células, utilizando las categorías celulares eritroide, mieloide, linfoide y plasmática, siempre que se utilice un esquema sistemático para examinar la morfología, tanto de éstas como de las demás células ya que en algunos trastornos, como la leucemia mieloide crónica y los síndromes mielodisplásicos, los recuentos diferenciales detallados son importantes porque los resultados pueden indicar el pronóstico y condicionar el tratamiento y en ocasiones puede ser importante el recuento específico de un solo tipo celular (p. ej. los blastos en la leucemia aguda para valorar la respuesta a la quimioterapia), pues se deben comparar las extensiones de seguimiento de la médula ósea con las extensiones anteriores para valorar el curso de la enfermedad o el efecto del tratamiento. (Lewis,2007)

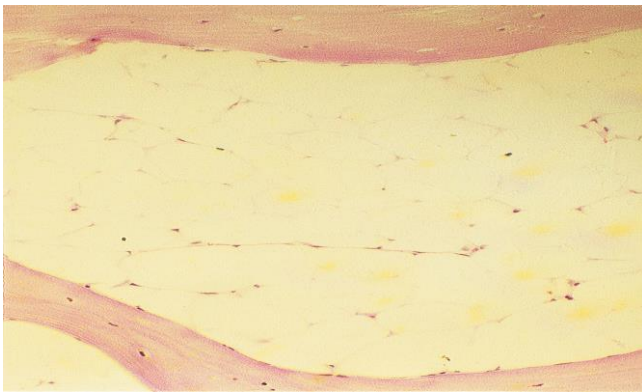


Imagen 4. Microfotografía de médula ósea hipocelular.

(Lewis,2007).

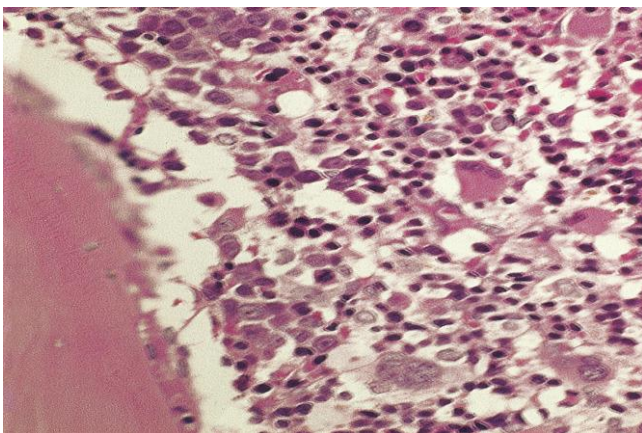


Imagen 5. Microfotografía de médula ósea hiper celular.

(Lewis,2007).

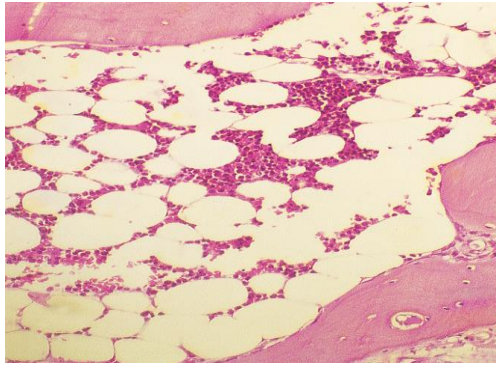


Imagen 6. Microfotografía de médula ósea normo celular.

(Lewis,2007).

La incidencia de los diversos tipos celulares se expresa habitualmente como porcentaje por lo que los valores normales (tabla 8) de los diferenciales celulares en la médula ósea pueden tomarse únicamente como una indicación aproximada y tomar en cuenta que la composición celular de la médula ósea difiere entre lactantes, niños y adultos jóvenes sanos. La variación es notable en el primer año y sobre todo en el primer mes dado que el porcentaje de eritroblastos se reduce desde el nacimiento y a las 2-3 semanas constituyen solamente alrededor del 10% de las células nucleadas, las células mieloides (precursoras de los granulocitos) aumentan durante las 2 primeras semanas de vida, tras las cuales se produce una reducción aguda hacia, aproximadamente, la tercera semana; sin embargo, al final del primer mes cerca del 60% de las células son mieloides. Los linfocitos constituyen hasta el 40% de las células nucleadas en la médula ósea de los lactantes; el valor medio a los 2 años es aproximadamente del 20%, disminuyendo hasta cerca del 15% durante el resto de la infancia y el porcentaje de células plasmáticas es particularmente bajo desde la lactancia hasta la edad de 5 años. La hiperplasia que se produce en el embarazo afecta tanto a la eritropoyesis como a la granulopoyesis; esta última, no obstante, se ve afectada en menor medida, aunque con un cierto incremento en la proporción relativa de células inmaduras. La hiperplasia es máxima en el tercer trimestre; el regreso a la normalidad comienza en el puerperio, pero no termina hasta al menos 6 semanas tras el parto. (Lewis,2007)

Tabla 8: Mielograma	
Células en la médula ósea de adultos. (Shinton,2006)	
TIPO CELULAR	% del número
Mieloblastos	0.3-5.0
Promielocitos	1.0-8.0
Mielocitos	5.0-19
Metamielocitos	4.0-15
Neutrófilos en banda	12-34
Neutrófilos segmentados	7.0-30
Eosinófilos	0.5-4.0
Basófilos	0.0-0.7
Linfocitos	3.0-17
Monocitos	0.0-6.0
Células plasmáticas	0.0-2.0
Proeritroblastos	1.0-8.0
Eritroblastos basófilos	0.0-4
Eritroblastos policromatófilos	4.0-8.0
Eritroblastos ortocromáticos	1.0-5.0
Megacariocitos	1-38 per 1-p field
Relación mieloide/ eritroide (M: E)	2:1-30:1

4.6 Otros hallazgos en laboratorio

Existe alteración leve de las pruebas hepáticas si se da infiltración de dicho órgano, así como la elevación de la LDH, común en la mayoría de casos, puede deberse a la existencia de infiltración hepática, a la hematopoyesis inefectiva y a la lisis de las células tumorales. (García, 2012). Es posible encontrar hiperuricemia, cuando existe coagulación intravascular diseminada, se encuentra reducida la concentración de fibrinógeno, prolongado el tiempo de protrombina y presencia de productos de degradación de la fibrina o dímeros “d” de fibrina. En pacientes con leucemia linfoblástica aguda (en especial de células T), puede observarse una masa mediastinica en la radiografía de tórax. El cuerpo de Auer, una inclusión eosinofílica con forma de aguja en el citoplasma, es patognomónico de la leucemia mieloblástica aguda y su presencia confirma el diagnóstico. (McPhee, 2012)

4.7 Citomorfología de los subtipos de LMA

El estudio morfológico de la sangre se inició en el siglo XIX gracias al interés y a la inquietud que se originaron después de las observaciones de este líquido a través del microscopio en los siglos precedentes. A partir de los descubrimientos de Pasteur y Koch en el campo de la bacteriología, se puso en evidencia que la enfermedad podía ser explicada a través de la identificación de un agente causal específico. Es entonces, en la segunda mitad del siglo XIX, que se explora incansablemente a través del microscopio sobre tejidos, líquidos biológicos, heridas supurantes, cultivos de microorganismos y modelos animales de experimentación, todo lo que pueda ser descubierto y descrito, en una búsqueda del agente causal de la enfermedad y surgen especialidades nuevas, y entre ellas, por supuesto, la observación de la sangre. En la primera mitad del siglo XX la morfología ocupó un lugar destacado en la medicina y aparecieron numerosos capítulos sobre enfermedades de la sangre en libros de patología, durante este siglo, la morfología se convirtió en una herramienta valiosa para el diagnóstico de numerosas enfermedades y aparecieron tratados y clasificaciones de familias celulares. Se ha dicho que la morfología de las células sanguíneas ha pasado de moda y que ha sido sustituida por las técnicas modernas de identificación celular, por marcadores citoquímicos primero y por marcadores antigénicos y genéticos después. Nada más alejado de la realidad, la citomorfología hemática es una de las herramientas fundamentales, de la que se originaron numerosas especialidades, ha sido una de las bases de la medicina moderna y no ha perdido actualidad su observación directa por el microscopio siendo tan común y elemental y al mismo tiempo tan valiosa como observar diariamente otras partes de nuestra estructura anatómica exterior. (Izaguirre, 2003).

El examen de una extensión sanguínea fijada y teñida constituye una parte esencial de la investigación hematológica y nunca se insistirá demasiado en que, para obtener la máxima información del examen, las muestras deben estar bien extendidas y bien tenidas, y deben explorarse de manera sistemática observando en primer lugar macroscópicamente la extensión teñida para continuar con el examen microscópico, empezando con la baja resolución y terminando con la alta pues no tiene ninguna utilidad depositar una gota de aceite de inmersión aleatoriamente sobre la extensión y examinarla utilizando el objetivo de alta resolución $\times 100$. Los hematíes normales y los patológicos están sujetos a una distorsión

considerable al realizar el frotis, es obligatorio examinar las extensiones de forma cuidadosa para encontrar una zona donde los hematíes estén menos distorsionados, y se debe analizar una gran parte de la extensión para poder detectar las escasas células anómalas que pueda haber, como los ocasionales precursores de los granulocitos o los hematíes nucleados.

(Bain,2008)

Los blastos son células inmaduras de la médula ósea que provienen de las células madre hematopoyéticas son morfológicamente indistinguibles de estas y conservan su actividad pluripotente, por lo que tienen la capacidad de dividirse en las estirpes linfoide y mieloide y en la médula ósea normal su porcentaje es igual o menor al 3 %. Normalmente, en sangre periférica se encuentran solamente células maduras, aunque en determinadas circunstancias fisiológicas y patológicas se pueden observar algunas células inmaduras, como eritroblastos en las anemias hemolíticas severas, o mielocitos o metamielocitos en las infecciones bacterianas graves, sin embargo en presencia de un proceso leucémico, se pueden observar blastos en sangre periférica ya sea de origen mieloide o linfoide. La clasificación FAB considera tres tipos de blastos: tipo I: sin granulación; tipo II: con menos de 20 gránulos, y tipo III: con más de 20 gránulos. Los mieloblastos son células de 15-25 μm con relación núcleo/citoplasma elevada, el núcleo es de cromatina laxa con uno o más nucléolos que con frecuencia son grandes, el citoplasma suele ser hialino o basófilo y pueden presentar formaciones con aspecto de palillo que corresponden a anomalías en la distribución de la granulación; se denominan bastones de Auer, son propios leucemias mieloblásticas y se observan en el 33% de las mismas.(Benet,2001) Los linfoblasto de la leucemia linfoblástica aguda tienen un tamaño variable, desde células ligeramente mayores que los linfocitos a células de 15-17 mm de diámetro. Los núcleos tienen, en general, una cromatina difusa, pero puede haber cierta condensación de la cromatina en los blastos más pequeños, el citoplasma puede mostrar una basofilia débil o intensa. (Bain,2008)

Leucemia aguda mieloide mínimamente diferenciada (LMA-M0)

La LMA mínimamente diferenciada o LMA-0 tiene una gran dificultad diagnóstica desde el punto de vista morfológico, dado que los blastos presentan rasgos morfológicos linfoides y mieloides, constituye únicamente el 5% de las LMA en el adulto y tiene un mal pronóstico. Los blastos son de citoplasma abundante sin granulación y núcleo de cromatina laxa con 1-2 nucléolos (Imagen 7 y 8). El aspecto puede confundirse con la linfoblástica tipo L2.

Leucemia mieloide aguda sin maduración (LMA-M1)

Representa del 10%-15% de las leucemias mieloides. Los blastos son de núcleo redondo con 1-2 nucléolos, el citoplasma sin granulación o con fina granulación incipiente apenas perceptible en microscopía óptica, un 3%-10% presentan bastones de Auer, el porcentaje de células no blásticas con estadios madurativos posteriores es muy bajo (Imagen 9 Y 10).

Leucemia aguda mieloblástica aguda con maduración M2 (LMA-M2)

Constituye alrededor del 30% de todos los casos de LAM y muestra células en estadios madurativos posteriores al mieloblasto (promielocitos, mielocitos y neutrófilos) en un porcentaje superior al 10%. El tamaño de los blastos en la LMA-2 es de pequeño a mediano, con una elevada relación N/C y un perfil nuclear redondeado, que a veces adopta una posición cuadrangular respecto al citoplasma. El núcleo muestra una cromatina laxa e inmadura, con uno o varios nucléolos visibles. El citoplasma es basófilo y puede contener un esbozo de granulación primaria azurófila, u ocasionalmente algún bastón de Auer (Imagen 11).

(Merino, 2010)

LMA-M2 con t (8; 21) (q22; q22)

Es típica la presencia de neutrófilos con citoplasma rosa salmón de borde basófilo y cierta displasia. Los blastos son de aspecto heterogéneo con irregularidad nuclear con citoplasma abundante con gránulos azurófilos en ocasiones gruesos (tipo-Chediak), puede haber bastones de Auer. Un tercio de los casos presentan eosinofilia (Benet,2001) también pueden observarse blastos de tamaño pequeño junto a otros de mayor tamaño, núcleo de perfil más irregular y citoplasma moderadamente amplio, que puede contener una granulación muy marcada. (Imagen 12) (Merino,2010)

LMA-M2 oligoblástica con t (8;21)

La MO presenta un número escaso de blastos con displasia evidente. Estos casos están en el límite de anemia refractaria con exceso de blastos y evolucionan rápidamente a leucemia aguda (Imagen 13).

LMA-M2 sin t (8; 21)

Los segmentados neutrófilos presentan un citoplasma hialino sin granulación y existe diseritropoyesis. Es frecuente la expresión CD2 + y CD7. (Benet,2001)

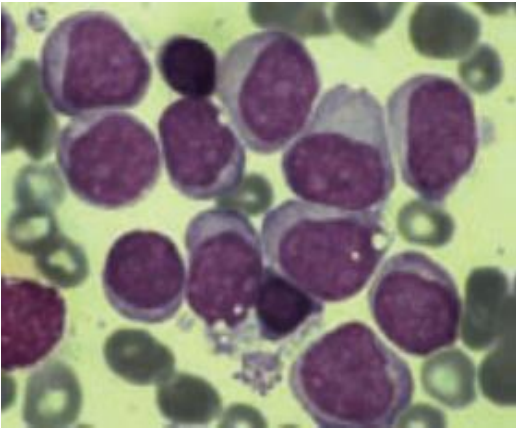


Imagen 7. LAM-M0, blastos de tamaño medio con citoplasma amplio, núcleo redondeado con nucleólos grandes y evidentes (MGG). (Benet,2001)

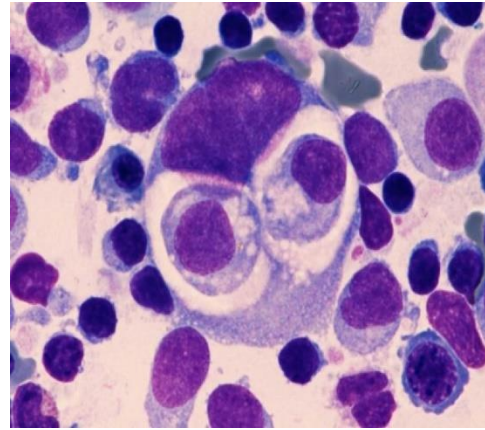


Imagen 8. LMA-M0 blastos fagocitosis caníbal, en la que una célula incluye en su citoplasma otra de su misma estirpe. Hallazgo excepcional en la LMA.

Recuperado de. <http://atlas.gechem.org/es/>

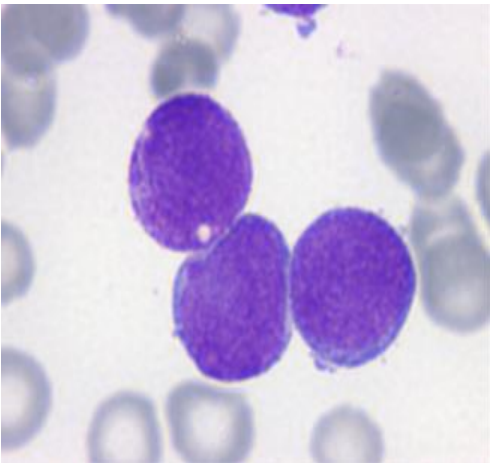


Imagen 9. LMA-M1 (sin maduración) blastos en sangre periférica: el citoplasma puede contener una fina granulación, algún bastón de Auer (Merino,2010)

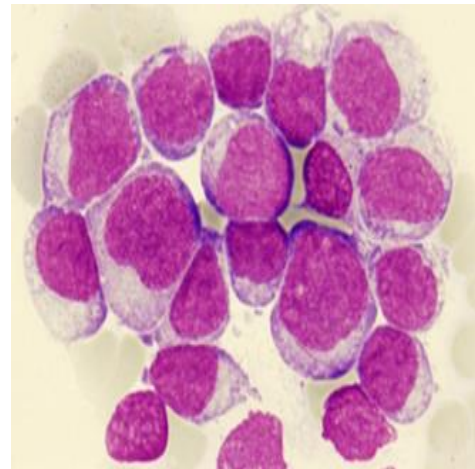


Imagen 10. LMA-M1 blastos en MO sin posteriores estadios madurativos. presentan cromatina fina con uno más nucleólos visibles, citoplasma discretamente basófilo, agranular y en DOS. Recuperado de. (<http://gechem.org>)

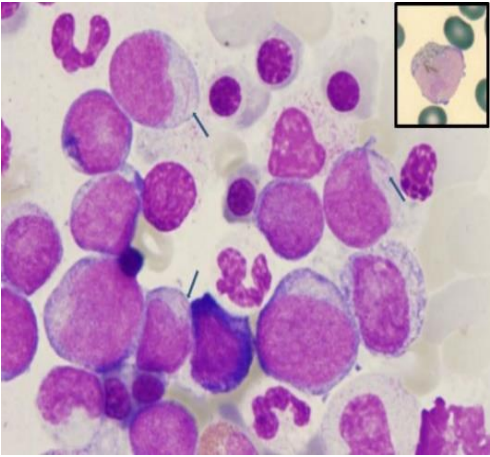


Imagen 11. LMA-M2 blastos, tres de ellos con bastones de Auer, y escasos elementos semimaduros y maduros de la granulopoyesis. Se observan dos neutrófilos degranulados. En el cuadrante superior derecho se observan dos bastones de Auer MPO positivos. (<http://gechem.org>)

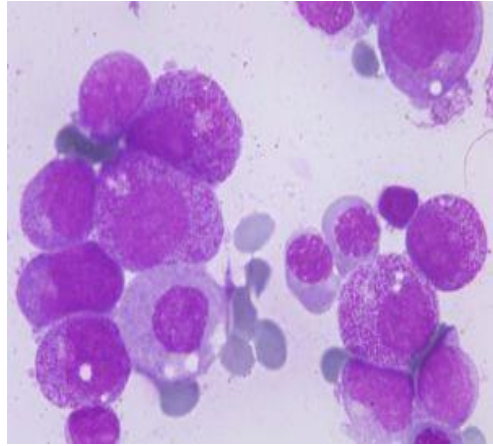


Imagen 12. LMA-M2 blastos granulados y agranulados, elementos semimaduros de la granulopoyesis con un mielocito desgranulado (<http://gechem.org>)

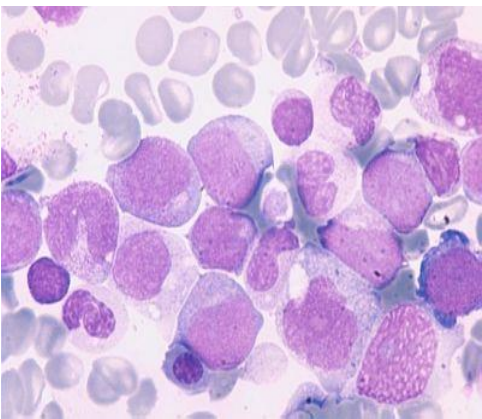


Imagen 13. Blastos granulados junto con elementos semimaduros y maduros de la granulopoyesis, alguno con rasgos dismórficos. (<http://gechem.org>)

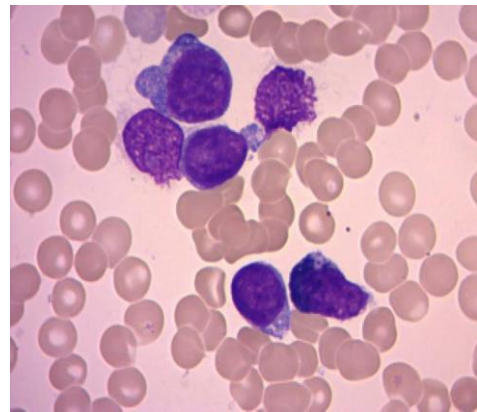


Imagen 14. Se observan blastos agranulares y uno con granulación basófila. (<http://gechem.org>)

LAM-M2 con basofilia

Presenta blastos con basófila que necesita (Imagen 14).

LAM-M2 transicionales

Son aquellas que morfológicamente son difíciles de diferenciar de la M3 en especial la variante. Se diferencian por características inmunofenotípicas y citogenéticas. (Benet, 2001)

Leucemia promielocítica (LMA-M3)

Forma típica o hipergranular

Representa el 5%-10% de las leucemias mieloblásticas y se caracteriza por la presencia de menos de un 30% de células inmaduras y una población mayoritaria de promielocitos atípicos, es la más frecuente, suele presentar leucopenia y fenómenos hemorrágicos en relación con una coagulación intravascular diseminada que se desencadena por el material tromboplastínico de la granulación promielocítica, los blastos son hipergranulares de aspecto azurófilo y con frecuencia la granulación oculta el núcleo que suele ser redondeado o arriñonado, en mayor o menor proporción existen células con formaciones cristalinas dispuestas en haces que se conocen como astillas, se tiñen como los bastones de Auer. En ocasiones puede precisar el diagnóstico diferencial con una agranulocitosis en fase de recuperación con aumento de promielocitos, que en esta ocasión presentan una morfología normal, suelen acompañarse de una cifra baja de leucocitos en sangre periférica lo que dificulta su diagnóstico, las células que proliferan muestran una morfología muy característica y se denominan promielocitos atípicos (hipergranulares). Los promielocitos atípicos presentan una granulación intensamente azurofila muy abundante el núcleo suele ser de aspecto monocitoide (reniforme) y con un perfil bilobulado en (hachazo) con la presencia de una hendidura amplia o bien de perfil irregular (imagen 15 y 16) el citoplasma es poco basófilo debido al elevado contenido de granulación azurófila. Algunos de los promielocitos atípicos contienen además inclusiones citoplasmáticas cristalinas alargadas o astillas, específicas de este tipo de leucemia, que suelen disponerse en cúmulos y que difieren de los bastones de Auer por la detección de una subestructura tubular cuando se estudian mediante microscopía electrónica de transmisión. (Merino,2010)

Forma variante o microgranular

Suele presentar leucocitosis y aparece en el 15%-20% de las M3, con peor pronóstico, los promielocitos presentan una granulación muy escasa que se ha denominado polvillo granular y es típica la forma del núcleo arriñonada con aspecto en hachazo (imagen 17). Menos frecuentes son las variantes con gránulos basófilos o con gránulos eosinófilos y la variante hiperbasófila. (imagen 18) (Bennet, 2001)

Leucemia aguda mielomonocítica (LMA-M4)

Tiene un componente granulocítico y otro monocítico, en proporciones variables y con diversos grados de maduración los blastos monocíticos son de gran tamaño, moderada relación N/C y basófilaa variable, el núcleo puede ser redondeado, arriñonado o de forma irregular, los nucléolos acostumbran a ser prominentes presenta un componente de blastos granulocíticos, > 30% para la FAB (> 20% para la OMS) y $\geq 20\%$ de serie monocitaria atípica (imagen 19). En sangre periférica suele ser más evidente el componente monocitario que en la médula ósea, puede existir un componente eosinófilo o basófilo que las define como M4Eo o M4Baso. M4 con eosinofilia. (imagen 20) Es una variedad bien definida, relacionada con anomalías cromosómicas a nivel del cromosoma 16 y con presencia de eosinofilia en médula ósea, representa el 12% de las M4 y el 4% de las leucemias mieloblásticas, su importancia radica en que tiene un pronóstico favorable. Los eosinófilos medulares son atípicos con granulación preeosinófila y eosinofilia a la vez en todos los estadios madurativos. (Bennet,2001, Merino,2011)

Leucemia aguda monocítica (LMA-M5)

Constituye alrededor de un 15% del total de LMA. Las células leucémicas son de estirpe monocítica (monoblastos y promonocitos), incluye 2 subtipos: 1. LAM5a o leucemia aguda monoblástica, en la que predominan los monoblastos. 2. LMA5b o leucemia aguda monocítica, en la que junto a los monoblastos se observa una elevada proporción de promonocitos y monocitos. (Bennet,2001, Merino,2011)

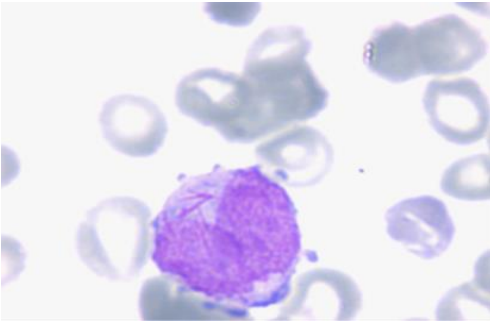


Imagen 15. LMA-M3 Promielocito atípico del tamaño mediano, núcleo de perfil irregular con una incisura amplia (signo del hachazo) de cromatina laxa e inclusiones citoplasmáticas alargadas o astilla (Merino,2010)

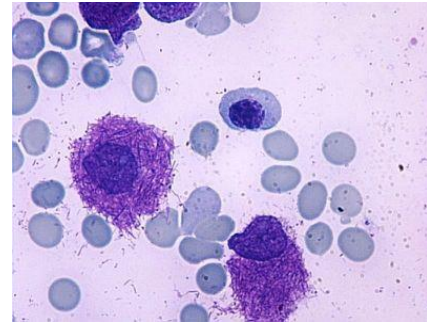


Imagen 16. LMA-M3 forma hipergranular típica: promielocitos con granulación abundante. (astillas) (<http://gechem.org>)

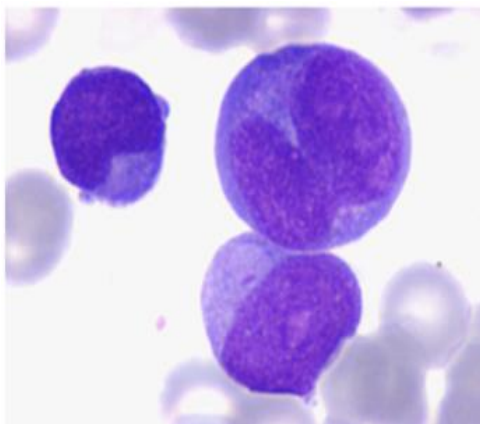


Imagen 17. LMA-M3 variante blastos mayoritariamente de tamaño grande núcleo de perfil bilobulado en una. (Merino, 2010)

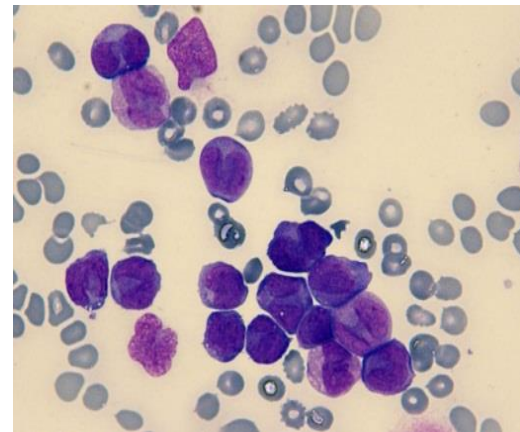


Imagen 18. Leucemia promielocítica, hiperleucocitaria, Se observan blastos con escasa granulación con núcleo de apariencia monocitoide y algunos con imagen en hachazo. (<http://gechem.org>)

LMA-5a

Constituye alrededor de un 5–8% de las LAM, los elementos blásticos son de gran tamaño, con un núcleo de perfil redondeado de cromatina laxa e inmadura (1–3 nucléolos), y un citoplasma moderadamente amplio e intensamente basófilo y en el citoplasma es posible observar algún bastón de Auer y/o prolongaciones o mamelones (Imagen,21)

LAM5b

Representa del 3–6% de las LAM los promonocitos presentan un núcleo de perfil redondeado o arriñonado, y un citoplasma menos basófilo (imagen 22), con mayor contenido de granulación que los monoblastos y con la presencia de alguna vacuola.

Variedad M5 con eritrofagocitosis

Es muy poco frecuente, 0,4% de las leucemias mieloblásticas; se asocia a t (8; 16) y es de mal pronóstico. En el 75% de los casos existen fenómenos de eritrofagocitosis o hemofagocitosis. (Benet,2001)

Variedad M5c

La variedad LAM-M_{5c} no aceptada por la FAB, es reconocida por diversos autores como una forma de LMA-M₅ más diferenciada, siendo la célula predominante el histiocito, con la presencia también de monoblastos, promonocitos y monocitos. Dentro del grupo de las leucemias agudas monocíticas (LMA-M₅) se ha descrito la relación existente entre el grado de madurez y diferenciación de la proliferación blásticas y la forma de presentación clínica y evolutiva de las mismas. Las variantes más inmaduras, (M_{5a} y M_{5b} de la clasificación FAB) suelen cursar con cifras elevadas de leucocitos en sangre periférica, e infiltración de los tejidos (hígado, bazo, encías y piel), de forma moderada, a diferencia de las formas más diferenciadas y evolucionadas hacia la morfología histiocítica, en las que hay mayor afectación de órganos extramedulares y tendencia a cifras leucocitarias dentro del rango de la normalidad. (Benet,2001)

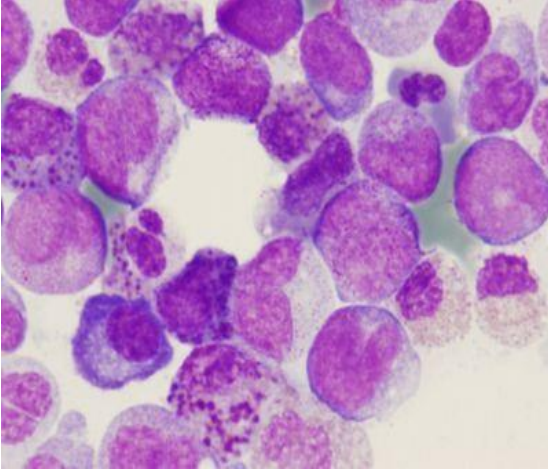


Imagen 19. Blastos que se acompañan de eosinófilos con granulación eosinofilia, alguno con núcleo monocitoide (<http://gechem.org>)

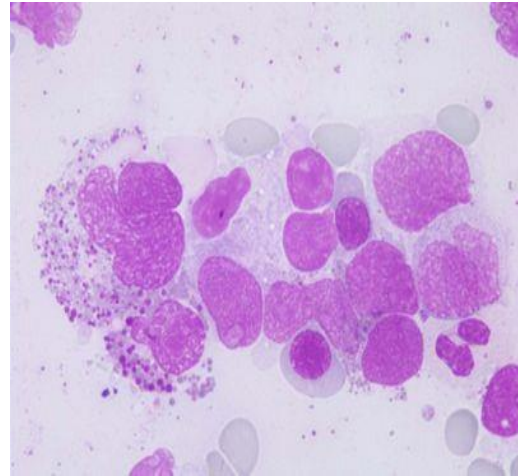


Imagen 20 Blastos mieloides y monocitoides junto con eosinófilos atípicos con granulación pre-eosinofila (<http://gechem.org>)

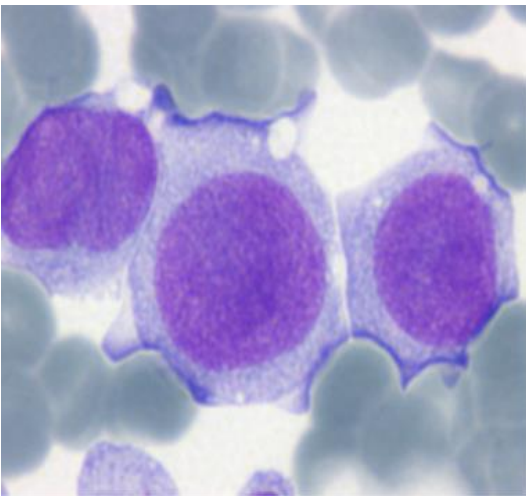


Imagen 21. LM-M5a Blastos monocíticos de tamaño grande, relación entre núcleo y citoplasma moderado, perfil nuclear redondo y núcleo de cromatina laxa e inmadura. El citoplasma es moderadamente amplio e intensamente basófilo y con mamelones. (Merino,2010)

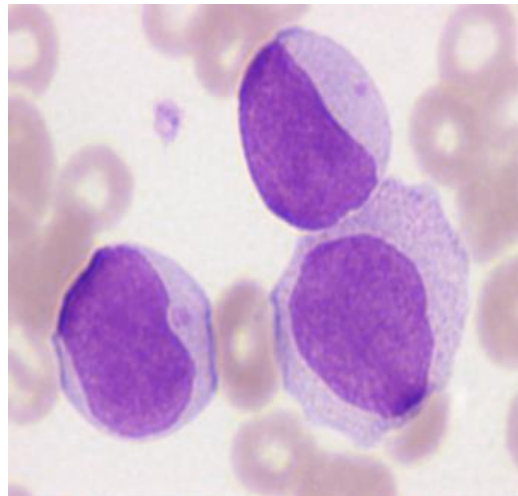


Imagen 22. LMA-M5b Blastos monocítico. Obsérvese la menor basofilia citoplasmática respecto a la LAM5a y un perfil nuclear ligeramente indentado. (Merino,2010)

Estas variantes muestran células neoplásicas de mayor tamaño, con abundantes citoplasmas, núcleos en ocasiones de contorno irregular, con nucléolos y frecuente fenómeno de hemofagocitosis e incluso de canibalismo, hecho que no suele ocurrir en las variantes con morfología inmadura. (imagen 23 y 24). Todas estas características, hicieron que en algunos artículos se considerara, a estas formas de leucemias monocíticas agudas, como la misma entidad que la histiocitosis maligna. Se propuso entonces, por diferentes autores, en la pasada década, la denominación de LMA-M_{5c} a estas variantes de leucemia monocítica aguda con diferenciación histiocítica, (Martínez, 2003)

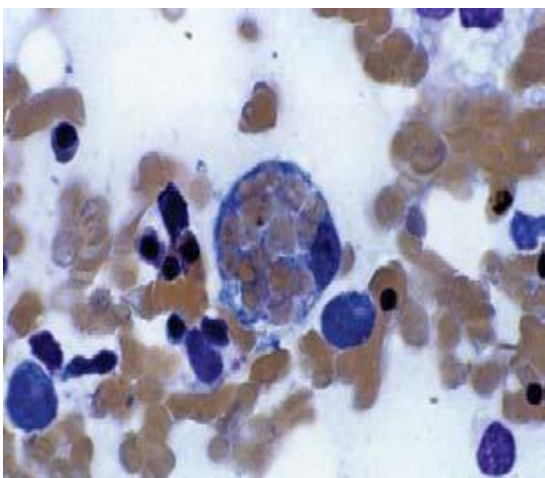


Imagen 23. Evidencia de hemofagocitosis en Mo (Bourlon, 2005)

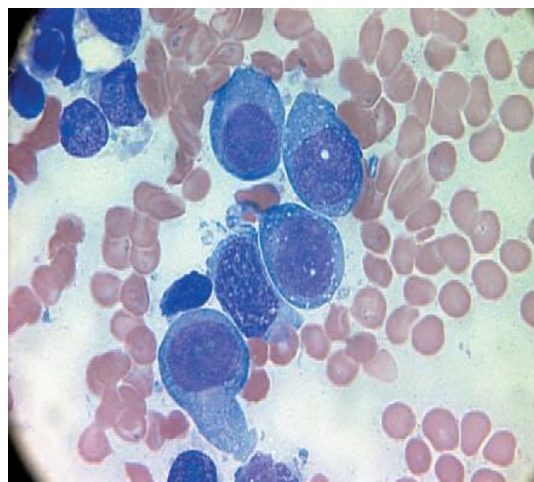


Imagen 24. LMA-M_{5c} Blastos en médula ósea (May Grünwald-Giemsa, aumento original, $\times 1.000$). (Martínez, 2005)

Leucemias agudas eritroides (LAM6)

LMA-M6a

Ha sido definida por la clasificación FAB como una proliferación de elementos eritroides displásicos, junto a una proliferación de elementos blásticos de origen mieloide. Se ha categorizado en dos subtipos: 1. La eritroleucemia (LMA-6a), con una proliferación blásticas mixta mieloide y eritroide (imagen 25 y 26). 2. La LAM6 variante o leucemia eritroide pura (LMA-M6b) según la clasificación de la OMS.8

La eritroleucemia o LMA-M6a muestra una proliferación leucémica mixta de las series granulocítica y eritroblástica, constituye únicamente un 5–6% del total de casos de LAM, y puede ser secundaria a un síndrome mielodisplásico previo y para su diagnóstico se requiere que, en médula ósea, los precursores eritroides sean de un 50% o más de la totalidad celular y los mieloblastos un 30% de la celularidad no eritroide (20% según la clasificación de la OMS). En la Eritroleucemia la morfología eritrocitaria de sangre periférica está muy alterada, con presencia de esquistocitos) hematíes pinzados o en forma de seta, hematíes espiculados del tipo equinocitos y acantocitos y en médula ósea se observa maduración en serie eritrocitaria, con más de un 50% de formas maduras o semimaduras con displasia marcada

LMA-M6b

LMA-M6b variante (leucemia eritroide pura según la clasificación de la OMS) más de un 80% de la celularidad de médula ósea está constituida por elementos eritroides, siendo el componente mielóide inferior al 3%, esta entidad se asocia a alteraciones importantes de la morfología eritrocitaria en SP, tales como macrocitosis, punteado basófilo, cuerpos de Howell-Joll y o anillos de Cabot y en médula ósea se observan más de un 25% de proeritroblastos y eritroblastos basófilos (imagen 27 y 28).

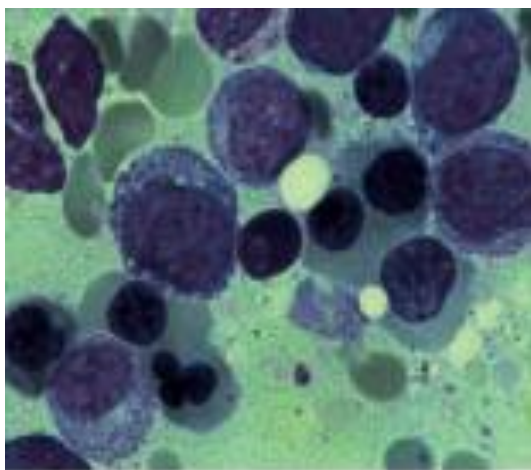


Imagen 25. LMA-M6 con maduración: blastos mieloides y componente eritrocitario con maduración y displasia Marcada (Benet, 2001)

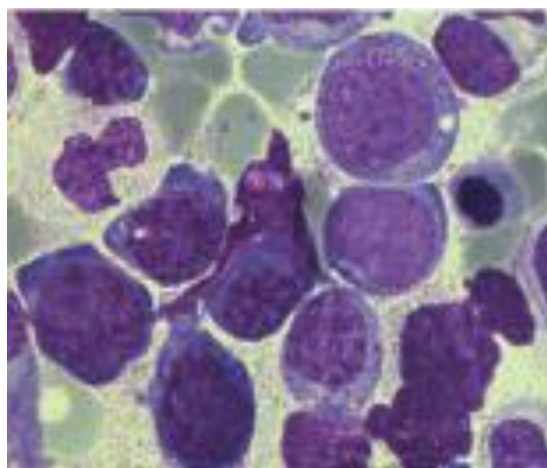


Imagen 26. LMA-M6 sin maduración: blastos mieloides con proeritroblastos y eritroblastos basófilos en el centro y a la izquierda de la imagen (MGG). (Benet, 2001)

Leucemia aguda megacarioblástica LMA-M7

Representa un 3–5% de las LMA, los blastos muestran un aspecto morfológico muy inmaduro, y son muy polimórficos, con núcleo excéntrico, de cromatina laxa y reticulada y con 1–3 nucléolos prominentes, el citoplasma es basófilo, agranular y muestra un aspecto muy similar a las plaquetas circulantes con presencia de mamelones o pseudópodo (imágenes 29 y 30). Se observan micromegacariocitos y fragmentos megacarioblásticos en SP, así como una gran dismorfia plaquetaria (plaquetas gigantes y algunas con marcada desgranulación), también pueden presentar vacuolización o aspecto pseudo linfoide o pseudomonocitoide.

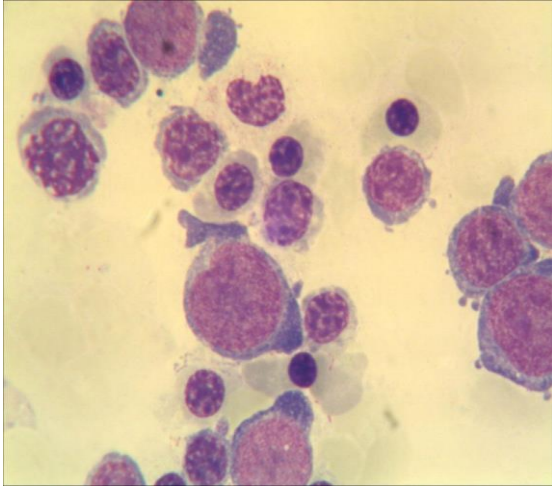


Imagen 27. Proeritroblastos, eritroblastos basófilos y estadios evolutivos posteriores. Aspirado de médula ósea. (<http://gechem.org>)

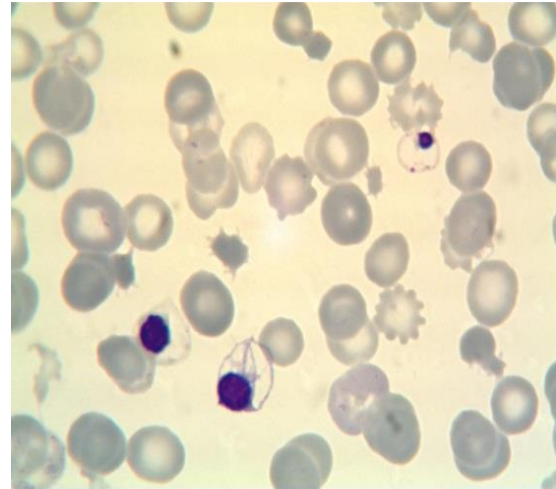


Imagen 28. Relacionada con la imagen 27 en sangre periférica se observa una dismorfia eritrocitaria y presencia de células rojas nucleadas. (<http://gechem.org>)

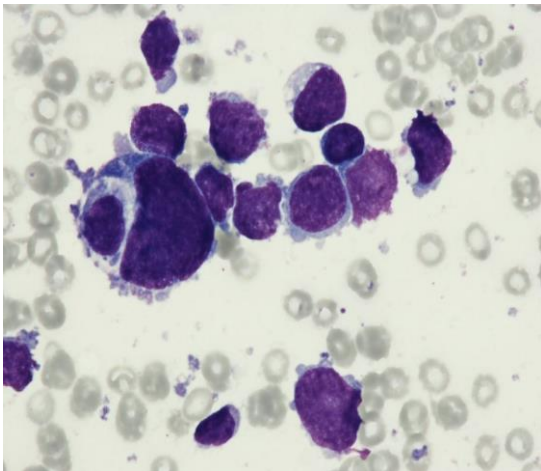


Imagen 29. LMA-M7. Obsérvese que el citoplasma es basófilo, agranular, y muestra un aspecto muy similar a las plaquetas circulantes con presencia de mamelones o pseudópodos. (Merino, 2010)

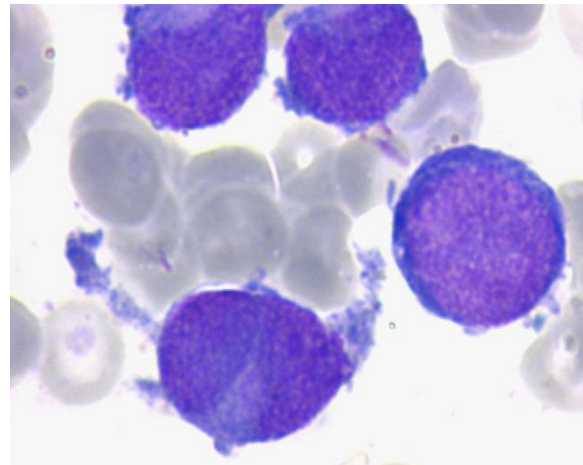


Imagen 30. Blastos de talla grande y mediana, frecuentes mamelones citoplasmáticos y en ocasiones presencia en el citoplasma de otras células blásticas. (<http://gechem.org>)

4.8 Citomorfología de los subtipos de LLA.

Según la clasificación FAB se distinguen tres subclases (tabla 9). LLA-L1: Representa el 75 % de las leucemias linfoblásticas (LLA), el linfoblasto es de tamaño pequeño, la relación núcleo citoplasma es alta suelen ser precursores de linfocitos B es el tipo más frecuente en niños (imagen 31). LLA-L2: Representa el 20 % de las LLA, el linfoblasto es de tamaño grande la relación núcleo citoplasma es baja, suelen ser precursores de los linfocitos T es más frecuente en adultos (imagen 32). LLA-L3: Representa el 5% de las LLA, el linfoblasto es entre pequeño y mediano, con núcleo redondeado cromatina densa y citoplasma hiperbasófilo con vacuolas lipídicas (imagen33 y 34). (García, 2008)

Tabla 9. Clasificación citomorfología de leucemias agudas linfoblásticas (LAL) de acuerdo al Grupo Cooperativo Franco Americano Británico (FAB) (Coronel,2005)

Características celulares	L1	L2	L3
Tamaño celular	Pequeño	Grande, heterogéneo	Grande, homogéneo
Cromatina nuclear	Homogénea	Variable homogénea	Finamente homogénea
Forma nuclear	Regular	Irregular con indentación	Regular redondo u oval
Nucléolos	Invisibles o pequeños	visibles, grandes, uno o mas	Prominentes, uno o mas
Cantidad de citoplasma	Escaso	Variable, moderada	Moderada
Basofilia del citoplasma	Claro, poco intenso	Variable, intenso en algunos	Muy intenso

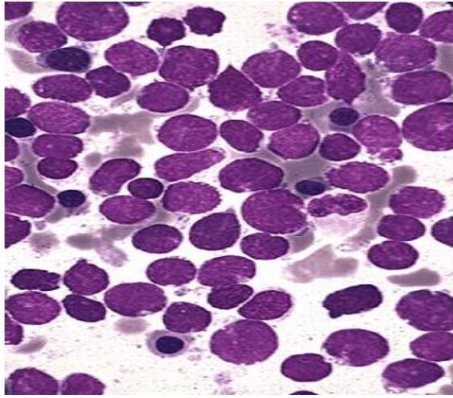


Imagen 31. LLA-L1, Linfocitos pequeños, escaso citoplasma, núcleo regular, nucleolos pequeños en algunos ausentes. (Pratti, 2019).

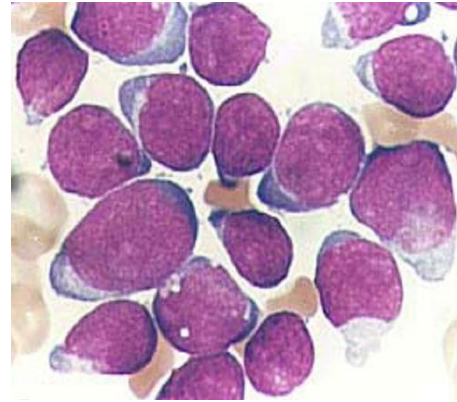
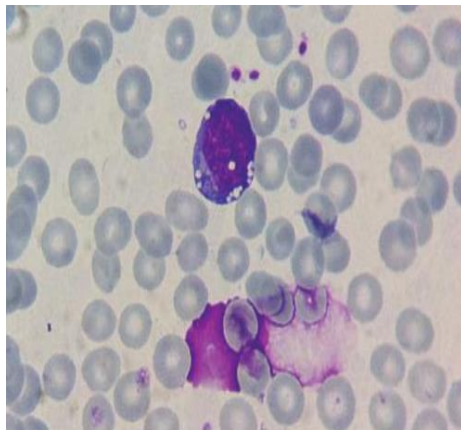


Imagen 32. LLA-L2, Linfocitos grandes, núcleo irregular, citoplasma abundante. (Pratti, 2019)



5.-

Imagen 33: LLA-L3 linfocitos vacuolizados. (García, 2015)

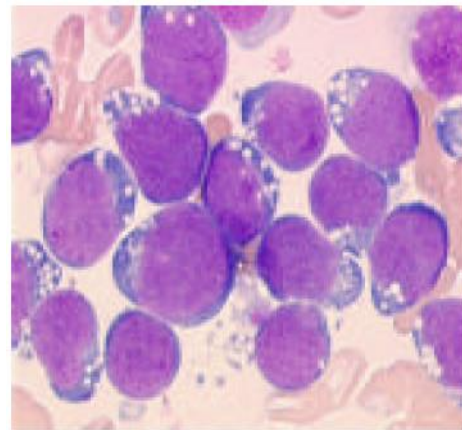


Imagen 34. LLA-L3 leucemia aguda linfoblástica clasificación L3 (Coronel, 2005)

PRUEBAS ESPECIALES PARA EL DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIAS AGUDAS

5.1 Análisis Citoquímico

En 1976 un grupo de citólogos franceses, americanos y británicos (grupo FAB), propuso una clasificación puramente morfológica y se basa en características citológicas, esta clasificación puede resultar en algunos casos difícil para la identificación del linaje de los blastos presentes, sin embargo la caracterización citoquímica (tabla 10) constituye juntamente con la inmunotipificación un pilar fundamental para el diagnóstico preciso de las leucemias, evidenciando no solo características específicas de linaje, sino además permite caracterizar otras enzimas o productos formados que determinan diferencias dentro de las mismas estirpes, siendo esta información importante para la categorización de estos procesos (Chacón,1998)(Romero,2002). En el panel actual de estudios citoquímicos de la clasificación FAB se incluye: mieloperoxidasa, sudán negro, B. Cloracetato esterasa y esterasa inespecífica (mediante el empleo de α -naftil acetato o butirato como sustrato) (Arroyo,1982)

Tabla 10. Clasificación de la FAB de las leucemias agudas, caracterización citoquímica (Arroyo, 1982)

	PAS	MPO o SBB	NASDAE	NASDA+ NaF	NASDCAF	LISOZI MA
L₁	+++/-	-	+/-	+/-	-	-
L₂	+++/-	-	+/-	-	-	-
L₃	+++/-	-	+/-	-	-	-
M₁	+/-	+	+	+	+++/+	-
M₂	+	+++	++	++	++	+
M₃	+	+++	++	++	+++	+
M₄	+++	++	+++	++/+	+**	++
M₅	+++	+/-	+++	+/-	-	+++
M₆	++/0*		+++/0*		+**	

Caracterización citoquímica + = 3% de células positivas, ++ = 25 % de células positivas, +++ = 50 % de células positivas *En eritroblastos, ** En mieloblastos, los encuadrados indican resultado característico.

Citoquímicas

5.1.1 Mieloperoxidasa

La mieloperoxidasa esta activa en todos los estadios de desarrollo de los neutrófilos con la posible excepción de los mieloblastos muy tempranos , donde la enzima puede no haberse sintetizado todavía en cantidad suficiente para medirse por las técnicas convencionales , puede indicarse que las células muestran positividad (imagen 35) para mieloperoxidasa (MPO) suelen ser de origen neutrófilo o monocítico (los neutrófilos exhiben la reacción más intensa ; los monocitos se colorean con menor intensidad). (Arroyo,1982)

Fundamento

Los gránulos primarios de los granulocitos neutrófilos contienen la enzima mieloperoxidasa, que cataliza la oxidación mediante el H_2O_2 de iones haluro, con la formación resultante de haluros oxidados esto crea una coloración negra a marron-rojiza en el sitio de la actividad. La MPO esta presente en los gránulos primarios de las células mieloides, desde el estadio del promielocito y durante todas las etapas de maduración, los mieloblastos leucemicos suelen ser positivos, en muchos casos las leucemias mieloides agudas sin maduración LMA-M1, con maduración LMA- M2 y LMA-M3 se observo que más del 80 % de los blastos presentaba actividad MPO, los bastones de Auer que se encuentran en los blastos y en los promielocitos son fuertemente positivos para MPO, es por ello que los que no son visibles con la tinción de Wright-Gimesa, pueden serlo con la MPO. Los monocitos son negativos a la MPO o positivos debiles difusos mientras que los linfoblastos y las células linfoides son negativas a MPO; en los paciente con LLA , menos del 3 % de los blastos son positivos- peroxidasa, sin embargo es importante que la relación exclusiva en los blastos pueda utilizarse como factor determinante para diferenciación entre leucemias agudas, esto se explica a la MPO y otras tinciones citoquímicas, es normal que los granulocitos en maduración sean MPO positivos, pero su valor diagnóstico es escaso o nulo. (Rodak,2004)



Imagen 35. Tinción con mieloperoxidasa positiva en células mieloides tempranas. Notese el baston de auer en la flecha, médula ósea 1000

5.1.2 Negro Sudan B (SBB)

Fundamento

El SBB tiñe lípidos como esteroides grasos neutros y fosfolípidos y depende de la solubilidad de la coloración en las partículas lipídicas, esos lípidos se encuentran en los gránulos primarios y secundarios de los neutrófilos, así como en los gránulos lisosómicos de los monocitos (imagen 36) (Rodak,2004)

Interpretación

Los granulocitos (los neutrófilos) son positivos a SBB desde el estadio del mieloblasto hasta las series maduras, la coloración es más intensa a medida que la célula es más madura, como resultado del aumento en el número de los gránulos primarios y secundarios, por otro lado las células monocíticas pueden ser negativas o débilmente positivas, y muestran actividad difusa y las células linfoides suelen ser negativas, en la LLA menos del 3 % de los blastos son positivos las reacciones de esteroides se utilizan para diferenciar las células mieloides de las de origen monocítico, para ello se emplean diferentes sustratos, como naftol AS-D cloroacetato (específico), el α -naftil acetato o el α -naftil butirato (inespecífico)(Chacon,1998)

5.1.3 Esterasas

Son enzimas hidrolíticas capaces de degradar al sustrato naftol AS-D o alfa Naftol de sus esteroides, acoplándose luego estos a colorantes diazoicos. En el campo de la patología hematológica cuatro sustratos para estas enzimas han demostrado ser útiles: el naftol-ASD-cloroacetato (**NASDCAE**) que es específico para serie granulocítica y el naftol-ASD-acetato (**NASDAE**), el α naftil acetato (**α -NAE**) y el α naftil-butirato (**α -NBE**) que determinan esteroides inespecíficas.

Fundamento

Las esterasas hidrolizan un ester, se libera un componente naftol y se combina con una sal de diazonio (por lo general pararosanilina hexasotizada, fucsina nueva hexasotizada o azul rápido) lo que produce un componente de color brillante en el sitio de actividad enzimática.

Interpretación

Las esterasas pueden utilizarse para diferenciar entre las leucemias agudas mieloides (M1, M2 Y M3) y las que contienen en su mayoría células de origen monocítico (M5) Cuando se utiliza AS-D cloroacetato como sustrato, la reacción es positiva en las células mieloides y negativa con actividad débil en las monocíticas, la esterasa de cloroacetato está presente en los gránulos primarios de los neutrófilos, los mieloblastos leucémicos suelen ser positivos al igual que los bastones de Auer, la reacción de la α -naftil acetato esterasa produce una fuerte positividad en los monocitos, que puede inhibirse con el agregado de fluoruro de sodio. Las células linfoides y mieloides por lo general son negativas, la LMA-M4 presenta actividad positiva para la AS-D Cloroacetato y para la α -naftil butirato o la α -naftil acetato porque en este tipo de leucemia hay células mieloides y monocíticas. (Rodak,2004)

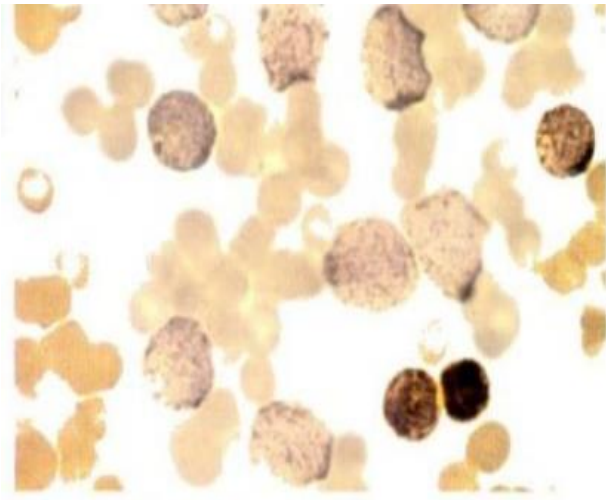


Imagen 36. Citoquímica Negro Sudan B. nótese la positividad aumenta cuanto más madura son las células mieloides. Médula ósea, x 1000.) Rodak 2004

Naftol-ASD-Cloroacetato esterasa (NASDCAE)

Con este sustrato son positivas las células de estirpe granulocítico, manifestando su actividad en los gránulos azurófilos y en los bastones de Auer y la intensidad de la reacción enzimática es mayor conforme avanza el estadio madurativo celular, la reacción es negativa para los linfocitos y monocitos y sus precursores, generalmente esto también es válido para la serie eritrocítica y la megacariocítica. En algunas LMA (M₁) que presentan blasto muy indiferenciados la NASDCAE puede ser negativa y la MPO Y SBB positivos; o sea que la positividad no siempre es paralela como lo es entre las otras dos técnicas ya mencionadas, su empleo a nivel tisular es de gran valor para diferenciar tejido granulocítico, tal como sucede como las masas tumorales del cloroma y en los procesos de granulopoyesis extramedular.

Naftol-ASD-Acetato esterasa (NASDAE)

Con este sustrato se obtiene una marcada positividad con la línea monocítica y menos intensa en la granulocítica, sin embargo, esta esterasa inespecífica puede presentar positividad de distinto grado con todas las células hemáticas, esta reacción es útil cuando se utiliza con fluoruro sódico pues con este se inhibe la actividad previamente positiva de los monocitos, mientras que permanece inalterable en las células granulocíticas, y en el resto de las células hemáticas. Si emplean las tinciones enzimáticas NASDCAE y NASDA en asociación se puede obtener información de utilidad para identificar el componente monocitoide. (Arroyo,1982)

α -naftil-acetato esterasa α -NAE

Muchos autores coinciden que este sustrato es más específico que las NASDAE, para identificar serie monocítica, considerándolo el más específico para el diagnóstico de la LMA-M0, ya que con la α -NAE la reacción es intensa en la serie monocítica y es negativa o no se puede valorar en mieloblasto y linfoblastos. Por otra parte, en la eritroleucemia y en la anemia megaloblástica pueden verse gruesos gránulos de α -NAE en los eritroblastos anormales, pero utilizando este sustrato a Ph de 5.8 y con una incubación prolongada, se obtiene una granulación unipolar de α -NAE en el citoplasma de los linfocitos, posiblemente de células T. Se considera a la α -naftil acetato esterasa acida (ANAE) como una técnica de gran aplicación en el estudio de los linfocitos, la actividad de esta enzima es semejante a la fosfatasa acida la cual siempre se ha considerado un buen marcador de linfocitos T, algunos autores, no obstante, han señalado que la reproducibilidad de la ANAE es menor en este sentido. En los

monocitos se obtiene reacción positiva a la ANAE que es sensible al fluoruro sódico, siendo los linfoblastos de LLA-T resistentes a esta acción inhibitoria.

α -naftil-butirato esterasa. (α -NBE)

A este sustrato se le ha señalado como muy sensible para el estudio de la serie monocítica este procedimiento se ha empleado a la par de las fosfatasa acida, en el diagnóstico de la tricoleucemia (Arroyo, 1982)

5.1.4 Muramidasa o lisozima

Esta enzima de naturaleza hidrolítica se encuentra en las granulaciones azurófilas de monocitos y granulocitos. En el suero se detecta después de a desgranulación o destrucción celular. La determinación de la muramidasa se puede hacer por métodos turbidimetricos

5.1.5 Fosfatasa acida

Es una enzima hidrolítica que actúa desdoblado esteres de fosfato en medio acido a pH 5.0 se encuentra en mayor o menor proporción en casi todas las células sanguíneas en lo que respecta a los granulocitos se encuentra principalmente en los gránulos neutrófilos primarios y puede estar ausente, o la reacción puede ser menos intensa en los gránulos secundarios y terciarios. La detección citoquímica de la FA en el diagnóstico hematológico queda prácticamente restringida al estudio de los síndromes linfoproliferativos agudos o crónicos. El 90% de las leucemias agudas linfoblásticas (LAL) de estirpe T y el 5% de las no T presentan una reacción positiva de localización centrosómica, siendo negativa en el resto de las LAL. De igual modo, los síndromes linfoproliferativos crónicos de línea T suelen cursar con intensa positividad para esta enzima.

Fundamento

La mayoría de los métodos de visualización citoquímica de la actividad FA se basan en la generación de colorantes diazoicos. En ellos, las células a estudio son sometidas a incubación con un sustrato, de forma que el producto de la reacción pueda interaccionar con una sal diazoica (reacción de copulación), provocando la aparición de un precipitado coloreado.

(Santana.2001)

La fosfatasa de los granulocitos en medio alcalino desdobra el alfa-naftil fosfato ácido de sodio en dos iones: naftilo (ión inespecífico) y fosfato (ión específico). El grupo naftilo liberado se copula con un colorante diazoico, formando un compuesto diazotado que precipita en el sitio de acción de la enzima. (Arroyo,1982)

5.1.6 Ácido peryódico Shiff

Fundamento

Hay muchos tipos diferentes de células que contienen glucógeno, el ácido peryodico oxida al glucógeno, mucoproteínas y otros carbohidratos de alto peso molecular a aldehídos. Estos reaccionan con el reactivo incoloro de Shiff y tiñen de un color rojo rosado brillante, la intensidad de la tinción depende del número de grupos aldehídos liberados por el ácido peryódico y el patrón de tinción de PAS puede ser fino y difuso, granular y en forma de empedrado o una mezcla de ambos.

Interpretación

Los granulocitos son positivos PAS; la intensidad de la tinción aumenta a medida que la célula madura, los megacariocitos presentan una coloración fina y difusa, mientras que las plaquetas adquieren un color rojo rosado intenso, los precursores del eritrocito normal no se tiñen. En la LLA las células presentan un patrón de coloración variado, los linfoblastos de LLA pueden presentarse un patrón de actividad empedrado, un patrón fino y difuso, o una combinación de ambos patrones, los linfoblastos de la LLA también pueden ser negativos para PAS sobre todo para el subtipo L3 (Burkitt) sin embargo en el subtipo de la M6 de la LMA pueden hallarse eritroblastos positivos PAS (Imagen,38), la positividad puede ser empedrado y granular, sobre todo en los eritroblastos tempranos, o difusamente positiva, con mayor frecuencia en los eritroblastos más evolucionados, los precursores eritroides de la médula ósea normal no muestran actividad de PAS.

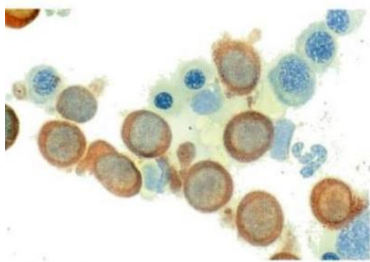


Imagen 37. α -naftil butirato esterasa positiva en células de origen monocítico nótese los precursores mieloides y eritroides negativos. Médula ósea 1000. Rodak 2004

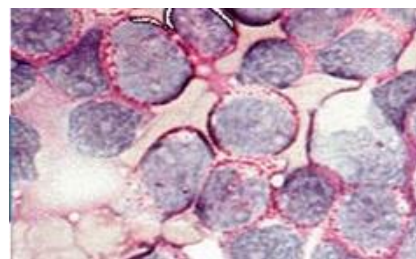


Imagen 38. Reacción con ácido peryódico Shiff con patrón granular grueso alrededor del núcleo.

5.2 Inmunofenotipo

5.2.1 Fundamento y conceptos generales de citometría de flujo

A principios del decenio de 1980 la investigación de antígenos en la superficie de las células malignas en pacientes con leucemias y linfomas empezó a cobrar importancia. El empleo de la microscopía de fluorescencia y la inmunohistoquímica primero, y de la citometría de flujo después, permitió definir la presencia de ciertos epítopes en la membrana celular de las células neoplásicas para determinar su linaje, ya que se demostraba en un número creciente de publicaciones que éste modificaba sustancialmente el comportamiento clínico, pronóstico y respuesta a tratamientos de cada caso y el creciente número de anticuerpos monoclonales disponibles con capacidad de reconocer antígenos de la membrana de las células hematopoyéticas, el rápido desarrollo y optimización de múltiples fluorocromos, y el refinamiento simultáneo de la citometría de flujo multiparamétrica, determinaron una muy rápida expansión de este tipo de estudios en múltiples laboratorios, en diversos países del planeta pero, por su misma rapidez, este crecimiento fue, si no caótico, sí definitivamente descontrolado, pues todo lo relacionado con la técnica dependía en el mejor de los casos de la “escuela” en que hubiese recibido adiestramiento cada profesional, y esta situación se complicaba aún más por las modificaciones o adecuaciones que cada institución realizaba a los protocolos aprendidos, y en el caso particular de América latina también dependía del presupuesto, en consecuencia, la información sobre el fenotipo inmunológico de las hemopatías malignas comenzó a enrarecerse y, lejos de ser útil, era fuente de confusión y controversia, porque los criterios de clasificación carecían por completo de uniformidad pues resultaba incomprensible el porqué, en cierta institución, el comportamiento clínico o la respuesta a cierto tratamiento de las leucemias agudas de un determinado linaje, era completamente diferente al informado por otros, y la explicación fue que los pacientes de la primera institución no eran comparables con los de la segunda, dado que los criterios para definir ese “linaje” eran muy distintos (Ruiz,2010).

En mayo del 2005 se llevó a cabo en la Ciudad de Querétaro, México, la segunda conferencia de consenso latinoamericano para la inmunofenotipificación de padecimientos hematológicos malignos cuyo objetivo fue el de actualizar las recomendaciones emanadas de la primera conferencia de consenso, se estableció también la utilidad clínica del inmunofenotipo para la clasificación, pronóstico y seguimiento de los pacientes con leucemia

aguda (LA), y para el diagnóstico, clasificación, pronóstico y seguimiento de los pacientes con padecimientos linfoproliferativos crónicos, (PLPC) así como las recomendaciones para la preparación de la muestra y los paneles de anticuerpos para la inmunotipificación (Piedras,2005).

Fundamento

La citometría de flujo representa un método rápido, objetivo y cuantitativo de análisis de células, núcleos, cromosomas, mitocondrias u otras partículas en suspensión, el principio en el que se basa esta tecnología es simple: hacer pasar células u otras partículas en suspensión alineadas y de una en una por delante de un haz luminoso, lo cual genera cierta información; Forward scatter (FSC), dispersión frontal que nos indica el volumen de la célula, Side scatter (SSC) dispersión lateral, que nos ofrece información (imagen 39) sobre la complejidad celular como, por ejemplo, sobre el núcleo y los orgánulos y Side fluorescence (SFL) fluorescencia lateral, nos indica la cantidad de ADN y ARN presente en la célula mediante la emisión de luz por los fluorocromos presentes en la célula o partícula al ser excitados por el rayo luminoso, las señales luminosas detectadas se transforman en impulsos eléctricos que se amplifican y se convierten en señales digitales que son procesadas por una computadora donde se obtiene un gráfico que se denomina diagrama de dispersión (Imagen 40) el cual se obtiene mediante la agrupación de células con características similares.

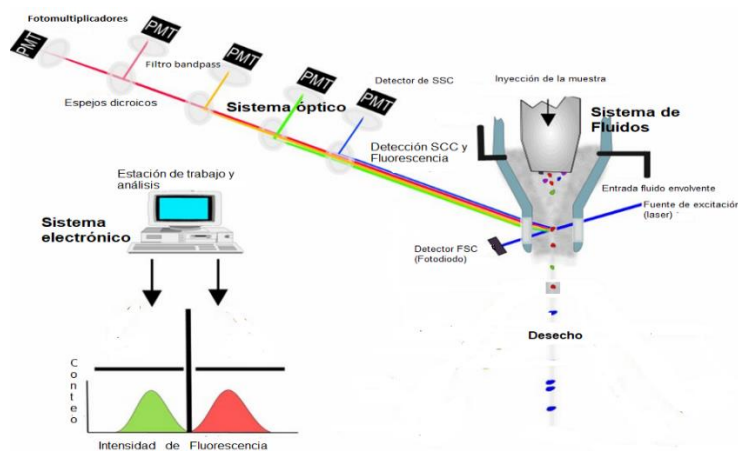


Imagen 39. Partes de un citómetro de flujo. Recuperado de <https://labnalcit.blogspot.com/2018/12/fundamentos-de-citometria-de-flujo.html>

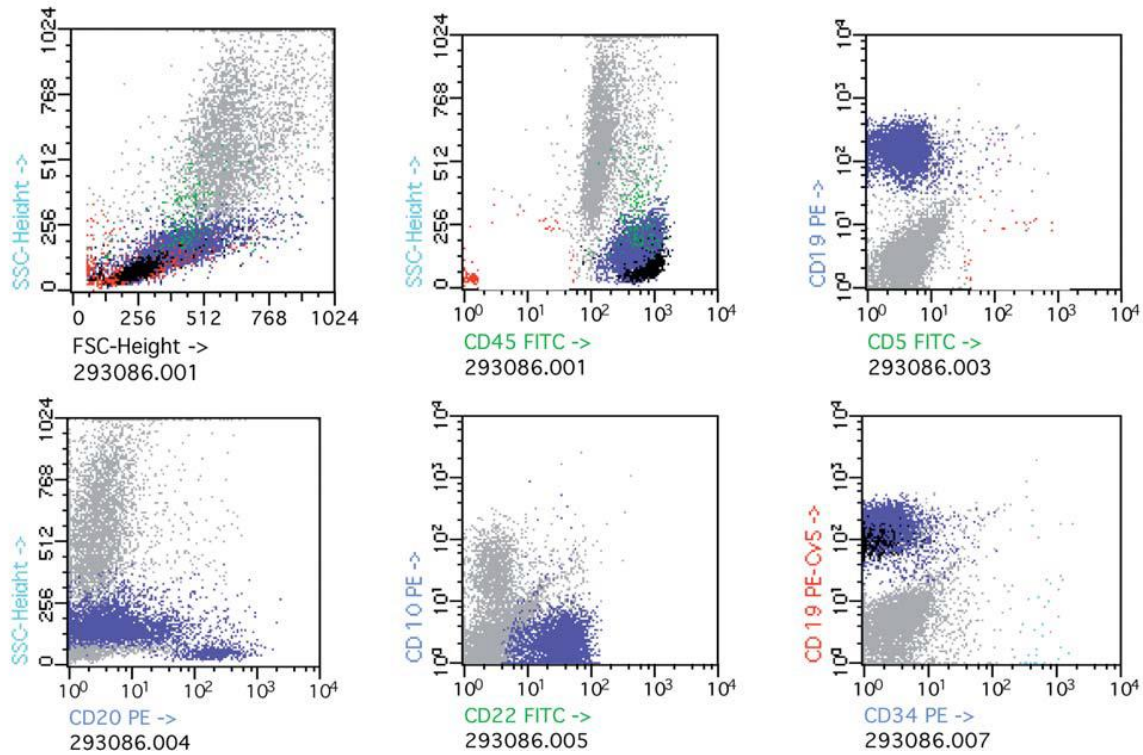


Imagen 40. Ejemplo de un diagrama de dispersión las células patológicas (azul) son: CD45+, CD19+, CD22+, CD20- o débil, CD34-, CD5- y CD10-.(Milla, 2009)

La CF es una técnica que permite un análisis celular multiparamétrico de forma rápida, sensible y específica, permite el análisis de un gran número de células habitualmente entre 10,000 células por muestra y, más de un millón en los estudios de enfermedad mínima residual. La aplicación de la citometría de flujo al análisis celular permite conocer aspectos físicos de la célula como tamaño y complejidad y determinar la presencia o ausencia de determinados antígenos, en los diferentes compartimentos celulares como la superficie celular, citoplasma, mitocondria y núcleo lo que contribuye a aumentar, tanto la especificidad como la sensibilidad de la prueba. (Barrera, 2004)

El inmunofenotipo de las células hematopoyéticas es la detección de los diferentes antígenos que conforman a las diferentes líneas y etapas de maduración de las células, de esta manera permite clasificar a las leucemias agudas en base a su patrón de expresión antigénica y aberración fenotípica. (Rabelo,2009).

En la actualidad, la clasificación de las leucemias agudas involucra criterios de citoquímica, inmunología, citogenética y biología molecular. En particular, el inmunofenotipo representa

una herramienta útil, al permitir la detección de los diferentes antígenos que identifican las diferentes líneas y etapas de maduración de las células hematopoyéticas, de hecho, en las últimas décadas la caracterización inmunofenotípica ha sido incorporada en distintas clasificaciones de leucemias agudas, como la clasificación inmunológica del European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL) y la Clasificación de Tumores de tejidos hematopoyéticos y linfoides de la Organización Mundial de la Salud (OMS). (Pino,2014)

Desde la primera generación de los citómetros de flujo en 1980 ha habido grandes avances, y los actuales combinan una mezcla de tecnologías modernas tales como: mecánica de fluidos, rayos láser, óptica, electrónica analógica y digital , en los citómetros de flujo de hoy en día se pueden evaluar de 4 a 8 parámetros, los que usualmente incluyen mediciones de tamaño y granularidad junto con 4 a 8 colores de fluorescencia; cuando miden 8 parámetros es posible resolver hasta 64 poblaciones distintas de células con valores positivos o negativos para cada parámetro y una las áreas más beneficiadas en CF con el análisis multiparamétrico de las células es precisamente la hemato-oncología médica. (Piedras,2006)

Paneles de anticuerpos monoclonales.

Mediante el inmunofenotipo se pueden clasificar cuatro tipos de leucemias: a) leucemia aguda linfoblástica de estirpe T (LAL-T), b) leucemia aguda linfoblástica de precursores de células B (LAL-B), c) leucemia aguda mieloblástica (LAM) y d) leucemia aguda bifenotípica (LAB). La combinación de los marcadores CD2, CD7 y CD3 citoplásmico se consideró la más apropiada para definir a la LAL-T, requiriendo la co-expresión de CD3 citoplásmico con cuando menos uno de los otros dos antígenos. Para establecer el grado de madurez se recomendó investigar la expresión de CD34, TdT y la intensidad de expresión del CD45. No se consideró de relevancia clínica una sub-clasificación de la LAL-T. Para la clasificación de la LAL-B, además de la combinación de anticuerpos monoclonales propuestos (tabla 11) se decidió, por utilidad terapéutica y clínica, adoptar la sub-clasificación del EGIL (*European Group of Immunophenotyping of Leukemias*) en: Pro-B (B-I), Común (B-II), Pre-B (B-III) y LAL de células B maduras (B-IV) empleando los anticuerpos del panel.

Al igual que para la LAL-B, para la identificación de la LAM se consideró el uso de tres diferentes categorías de anticuerpos esenciales, junto con un cuarto grupo opcional (tabla 11)

(Piedras,2006).

Tabla 11. Panel de anticuerpos para inmunotipificación de leucemia aguda linfoblástica de precursor de células B. (Piedras,2006)			
Linaje *	Madurez	Subclasificación	Opcional **
CD19	HLA-DR	CD10	CD20, CD38
CD79a (citoplasmático)	TdT CD34 CD45	Ig superficie Cadenas μ citoplasmáticas	

*Ambos marcadores CD19 y CD79a deben estar presentes
* La inclusión de CD20 y CD38 se consideró como informativa para la búsqueda de anormalidades genéticas comunes de LLA-B.

Preparación de la muestra.

Se recomendó, para la mayoría de los casos, el empleo de muestra total de sangre o de médula ósea sometida a lisis de eritrocitos y fijación, y la separación celular por gradiente de densidad sólo en aquellas muestras contaminadas con células necróticas estromales o grasas. También se recomendó reducir el número de células teñidas con el objeto de disminuir el volumen de anticuerpo monoclonal utilizado, siempre y cuando la reducción sea validada experimentalmente. (Piedras,2006)

5.2.2 Inmunofenotipo de las LLA:

Hay dos grandes linajes de diferenciación en el sistema linfoide, B y T, las leucemias linfoblásticas provienen de precursores de linfocitos B o T, para su identificación se requiere de anticuerpos monoclonales (AcMo) pero solo unos pocos reaccionan positivamente con los linfoblastos más inmaduros; sin embargo, con la maduración hay más AcMo que se vuelven reactivos. Así para demostrar todos los casos de leucemias de un linaje particular, es importante incluir siempre en la batería de AcMo aquellos que detectaran las células más inmaduras. (tabla 11) Las LLA de linaje B está definida por la expresión de al menos dos antígenos de linfocitos B, CD79a CD19 y/o CD22; la LLA de linaje T se define por la expresión de desoxinucleotidiltransferasa (TdT) y CD3. La LLA de linaje B y T puede ser posteriormente subclasificada según la diferenciación celular o su maduración (tabla 12), aunque esta clasificación no es esencial para el diagnóstico, es importante debido a correlación entre ciertos subtipos de linaje B y las características moleculares, citogenéticas y clínicas. En los pacientes con leucemia aguda linfoblástica (LLA), los estudios inmunofenotípicos definen subgrupos de riesgo; pronóstico específico, por lo que hoy por hoy son obligados en el diagnóstico y clasificación de estas entidades, en este sentido, es

posible determinar con gran precisión, tanto en la línea linfóide B como en la línea linfóide T, el grado de diferenciación de la célula neoplásica según la reactividad de las células leucémicas con un panel de anticuerpos. (Zerga,2013)

Leucemias linfoblásticas de línea B

Este grupo de leucemias se define por la expresión de, al menos, dos de los marcadores más tempranos de línea B: CD19, citCD22 o citCD79a. En función de la expresión de diversos marcadores de línea B y otros no específicos de línea, se puede establecer 4 categorías según la mayor o menor diferenciación de la clona proliferante.

Leucemia pro B (EGIL B-I). Corresponde a la proliferación de las células B más inmaduras, el fenotipo es positivo para alguno de los marcadores que definen la línea linfóide B en sus estadios más tempranos: citCD22, CD19, citCD79a y en la mayoría de los casos expresan CD34 y frecuentemente no expresan otros antígenos de diferenciación B y, por definición, no expresan CD10.

Leucemia linfoblástica aguda común (EGIL B-II). Tanto en esta entidad como en la anterior, los blastos suelen ser muy pequeños, con escasa dispersión frontal (FSC) y lateral (SSC) de luz. Algunos casos tienen muy poca expresión de CD45, por lo que en el diagrama SSC/CD45 se disponen en la región de serie eritroide. El fenotipo suele ser positivo para citCD22, citCD79a, CD19 y HLA-DR y, por definición, CD10 positivo y sIg negativo. La mayoría de los casos suelen ser además CD24+, CD34+ y TdT+ y la expresión de CD22 y en mayor medida de CD20 aumenta con el grado de madurez de la clona leucémica

Leucemia pre B (EGIL B-III). Corresponden a un estadio de maduración más tardío que las anteriores. Este grupo se define por la positividad para las cadenas pesadas μ en citoplasma, en presencia o no de reactividad para CD10. Como en las LLA de precursores B, el fenotipo suele ser positivo para citCD22, CD19, CD10 y HLA-DR, y sIg negativo. La práctica totalidad de casos son CD24+. La reactividad para CD20 y TdT es variable, y CD34 suele ser negativo

Leucemias B maduras (EGIL B-IV). Las células de la LLA-B tienen más dispersión frontal y angular de luz que las LLA EGIL-I a III y el fenotipo es, en la mayoría de los casos, positivo para CD19, CD20, CD22 y CD24, y con frecuencia también para CD10+, el diagnóstico diferencial con las otras LLA de línea B se establece basándose en la positividad para sIg, con mayor frecuencia de tipo IgM o, alternativamente, por la expresión citoplasmática de una

cadena ligera, También es de resaltar la existencia de pacientes con inmunofenotipo propio de LLA-B que no tienen morfología L3.^(Torres,2008,Zerga,2013)

Leucemias linfoblásticas de línea T

Las LLA de línea T tienen una importante dispersión frontal (FSC) y baja o intermedia dispersión lateral (SSC) de luz, estas entidades se definen por la expresión citoplasmática o en membrana de CD3; en este sentido, es importante recordar que la reactividad para CD2 y/o CD7 no es suficiente para adscribir un caso como de línea T, aunque CD7 se exprese en la práctica totalidad de las LLA-T. Por otra parte, es de resaltar que una característica de las neoplasias T en general, y de las LLA-T en particular, es la pérdida de antígenos de línea y la expresión aberrante de antígenos de otras líneas, lo que puede dificultar su clasificación, asimismo merece destacarse la baja frecuencia de positividad para los antígenos CD34 y HLA-DR, particularmente en niños. En función de grado de diferenciación tímica se definen con diferente terminología según el origen de los autores en 4 subgrupos:

Leucemias pro T (EGIL T-I) (leucemias linfoblásticas agudas pre T). El fenotipo pro T, suele presentar únicamente positividad para CD3+ y CD7, siendo negativo para CD3 en superficie (sCD3), CD4, CD8 y otros antígenos de línea T

Leucemias pre T (EGIL T-II) (leucemias linfoblásticas agudas T corticales tempranas). Las LLA pre T o de fenotipo cortical temprano son el segundo grupo en incidencia dentro de las LLA-T. Su fenotipo es CD2+, habitualmente sCD3-, y presentan positividad variable para CD5, CD7 y positividad intensa para Td, es de interés recordar que en las LLA de línea T la expresión de CD2 se ha asociado a buen pronóstico.

Leucemias T corticales (EGIL T-III) (leucemias linfoblásticas agudas T corticales tardías). Las LLA-T corticales o de fenotipo cortical tardío son las más frecuentes dentro de las LLA-T. Su fenotipo se define por la positividad para CD1a independientemente de la positividad para otros marcadores incluyendo sCD3, CD2, CD5, e incluso CD7. Algunos casos pueden presentar positividad simultánea para CD4 y CD8 y positividad débil para sCD3 y TdT frecuentemente positiva. ^(Zerga,2013)

Leucemias T maduras (EGIL T-IV) (leucemias linfoblásticas agudas T tímicas-medulares). El fenotipo medular es negativo para CD1a- y presenta positividad para sCD3 y expresión variable para CD2, CD5 y CD7, así como expresión segregada de CD4 o CD8. En algunos casos puede existir positividad débil para TdT.

Tabla 12. Clasificación EGIL de las leucemias agudas linfoblásticas (Torres,2008)

De linaje B		Inmunofenotipo
LLA-pro-B	B-I	CD22+ y/o CD79a+ y/o CD19+, TdT+, CD10-, Igcit-, Igmem-, cd38+
LLA común	B-II	CD22+ y/o CD79a+ y/o CD19, TdT+, CD10+, Igcit-, Igmem-, CD38+
LLA pre B	B-III	CD22+ y/o CD79a+ y/o CD19, TdT+, CD10+/-, Igcit (u)+, Igmem-, cd38+/-
LLA B madura	B-IV	CD22+ y/o CD79a+ y/o CD19+, CD20+, TdT-, CD10-, Igcit-, cadenas ligeras+ de superficie o intracitoplasmáticas, CD38-
De linaje T		
LLA-pro T	T-I	CD3+, CD7
LLA- pre T	T-II	CD3+, CD2+ y/o CD5+ y/o CD8+ y CD71+
*1 LLA T cortical	T-III	CD3+, CD1a+(indiferente la presencia de otros marcadores) CD71-
*2 LLA T madura	T-IV	CD3+ en membrana, CD1a-, CD2+, CD5+, CD4+ y/o CD8+
LLA: Leucemia aguda linfoblástica *1Timocito cortical. *2 Timocito medular		

5.2.3 Inmunofenotipo de LMA.

Las células de la hematopoyesis mieloide a medida que progresan en la diferenciación expresan antígenos en su superficie que reflejan el grado de maduración, de forma que van perdiendo unos y adquiriendo otros, la expresión antigénica de los blastos de una leucemia mieloblástica refleja el grado madurativo en el que se produce la proliferación neoplásica y con frecuencia presenta expresiones aberrantes o diferencias en la intensidad de expresión en comparación con las células normales. El estudio inmunofenotípico no permite una clasificación de las leucemias mieloblásticas a diferencia de lo que ocurre con las linfoblásticas, aunque sí existe una cierta correlación de los marcadores con la clasificación morfológica. Las formas más inmaduras presentan positividad para antígenos que expresan inmadurez como los del sistema HLA-DR, CD34, CD38, CD9, CD117, los marcadores CD33 y CD13 son los más característicos de serie mieloide y entre los dos cubren el 92% de las leucemias mieloblásticas, algunos son propios de serie granulocítica con maduración como el CD15, y CDw65, otros de serie monocitaria como el CD14, CD64, CD68. En la segunda Conferencia de Consenso Latinoamericano para la inmunofenotipificación de padecimientos hematológicos malignos se establecieron las características de los paneles de anticuerpos para la inmunotipificación. Para la identificación de la LAM se consideró el uso de tres diferentes categorías de anticuerpos esenciales, junto con un cuarto grupo opcional (tabla 13) (Piedras,2005).

Tabla 13 Panel de anticuerpos para la inmunotipificación de la leucemia aguda mieloide (Piedras,2005).

*Linaje	Madurez	Sub-clasificación	Opcional
MPO (citoplasmática)	HLA-DR	CD15	CD36
CD13	CD34		CD64
CD33	CD45		
CD17			

***Los blastos deben expresar dos marcadores mieloides**

LMA-M0. Puede presentar débil positividad para esterasas inespecíficas con resistencia al fluoruro sódico (FNa) y el inmunofenotipo expresa positividad en un 50% para anti-MPO y marcadores mieloides (CD33 y/o CD13) y negatividad para linfoides (CD3, CD79a, CD22). Pueden ser positivos para marcadores inmaduros como CD34, HLA-DR y TdT.

LMA-M1. Cifra superior al 3 % de las células blásticas son Mieloperoxidasa positiva la fosfatasa acida y la β -glucoronidasa muestran una positividad difusa la reacción de ácido

peryódico Shif (PAS) es positiva débil difusa en el estudio de inmunofenotipo El fenotipo presenta positividad para marcadores mieloides CD13, CD33, CDw65, CD11b, anti-MPO. Son frecuentes los marcadores de células inmaduras, CD34, HLADR, CD117, TdT. En ocasiones presentan el marcador de línea T CD7, si se asocia con positividad para TdT suele ser un factor de mal pronóstico.

LMA-M2. Los blastos de la son positivos para la MPO y el Negro Sudán B, y expresan los antígenos CD34+, HLA-DR, CD13 y CD15. Pueden expresar otros antígenos, tales como CD117, CD34-(Variedad para eritroglucocitosis) (Benet,2001)

LMA-M3. Citoquímicamente presentan positividad intensa para MPO, Negro Sudán y Cloroacetato esterasa. El fenotipo es típico con HLA-DR-, CD34-, CD13 +, CD33 +, CD9 +, CD68 +, CD14-. En un 25% de casos el HLA DR es positivo, en el 23% hay un CD19 + y en el 28% el CD34 +. El CD34 + si se asocia con el CD2 + suele corresponder a la forma hipogranular. (Benet,2001), (Merino,2010)

LMA-M4. Los blastos mieloides son positivos para la cloroacetatoesterasa y los monocíticos para la naftol-ASD-acetatoesterasa o la α -naftilbutiratoesterasa, los blastos son CD34 positivos y expresan marcadores mieloides (CD13+, CD15+ y CD33+) y monocíticos CD11b+, CD11c+, CD14+, CD64+, y CD4+. Los casos con CD34- y CD33 + intenso presentan mejor pronóstico. CD14 +/- débil suele ser de peor pronóstico, frente a las que la positividad es > 50%.

LMA-M5 Los blastos monocíticos son positivos para las esterases inespecíficas, reacción que se inhibe en presencia de fluoruro sódico, la MPO puede ser negativa o débilmente positiva y positividad difusa para las fosfatasas ácidas. La muramidasa sérica (y urinaria) esta elevada. Los blastos de la LAM5 son HLA-DR positivos y expresan intensamente antígenos monocíticos CD14+, CD68+, CD4+, CD64+. La expresión débil de CD14+/- confiere un pronóstico desfavorable frente a las que la positividad es > 50%. El CD117 suele ser positivo en las formas M5a mientras que en las M5b es negativo.

LMA-M6. Los blastos mieloides son MPO+ y la serie eritrocitaria presenta positividad para PAS y fosfatasa ácida, así como depósitos anormales de hemosiderina. El inmunofenotipo es el propio de serie mieloides CD13, CD33, CD15 y la serie eritroide expresa glicoforina A y C, así como CD71 no específico de línea. (Benet,2001), (Merino,2010)

LMA-M7. Citoquímicamente son PAS positivas en gránulo, a la vez existe positividad para la 5' nucleotidasa, fosfatasa ácida, α -naftilacetatoesterasa fluoruro sensible, con negatividad de alfa-naftilbutiratoesterasa. Para su identificación es necesario que presente positividad en el inmunofenotipo para marcadores megacariocíticos: CD61+ (glicoproteína IIIa), CD41 (glicoproteína IIb/IIIa) y CD42 (glicoproteína Ib). (Benet,2001), (Merino,2010)

Tabla 14. Inmunofenotipo LMA

M0	Anti MPO+ en 50 % de los casos y/o CD13+ o CD33+ Antígenos específicos de serie linfoide negativos CD34, HLA-DR, TdT frecuentemente positivos
M1	Anti MPO+, CD13+, CD33+ CD11b+, CDw65+, 10 % son, TdT y/o CD7 +
M2	CD13+, CD34+ CD33+, CD15+, frecuentes CD19+, CD56+ CD2+ y CD7 +. CD117-, CD34- (variedad para eritrofagocitosis)
M3	HLA-DR- CD13+, CD34- CD33+, CD15+, frecuentes CD15 SIALO +, CD68+, CD9+, CD14+.CD34+ CD14- CD2+. Forma hipogranular proteína P170 disminuida
M4	HLA-DR+ antígenos mieloides CD13+, CD15+, CD33+ y monocíticos, CD11b+ CD11c+, CD14-, CD64+, CD 4 + CD33+, CD13+, CD2+
M5	CD13+, CD33+, CD14+, CD68+, CD4+, HLA-DR+. CD14+/- pronostico desfavorable
M6	Blastos eritroides: glicoforina A y C+, hemoglobina A+, antígenos de grupo sanguíneo A,B,H,Rh, D +, CD71+,CD36+
M7	CD61+, CD41+, CD42+, Factor VIII+, FP4+, CD34-, TdT-, CD7+, marcadores linfoides-

6. DISCUSIÓN

La biometría hemática es una prueba básica y fundamental en el diagnóstico oportuno de las leucemias agudas, pues es el primer estudio en el algoritmo para el diagnóstico diferencial en estas entidades hematológicas, una notable alteración cuantitativa en las 3 líneas celulares, la minuciosa revisión del frotis sanguíneo, la exploración física y la historia clínica del paciente son elementos suficientes para sospechar de una leucemia aguda y continuar con las pruebas confirmatorias de leucemia aguda o para descartar dicho diagnóstico, sin embargo aunque el cuadro hemoperiferico sea muy sugerente, el diagnóstico se establecerá por el estudio de la médula ósea, en el que se cuenta con dos posibles pruebas ; 1) el aspirado de médula ósea (AMO) o 2) la biopsia de médula ósea (BMO), ambos procedimientos son de importancia clínica, su objetivo principal es la confirmación de las enfermedades hematológicas en este caso debe realizarse ante la sospecha de leucemia aguda . La decisión del médico tratante de realizar un aspirado de médula ósea o una biopsia dependerá de la condición clínica de cada paciente siempre tomando en cuenta los resultados de la biometría hemática y la valoración clínica completa. En el AMO se realizarán estudios citológicos; recuento utilizando un esquema sistemático realizarlo pues, los recuentos detallados son importantes porque los resultados pueden indicar el pronóstico y condicionar el tratamiento y en algunas ocasiones valorar la respuesta a la quimioterapia e inclusive es recomendable conservar las extensiones de médula ósea obtenidas como parte de la historia clínica del paciente, para compararlas con las que se obtengan posteriormente y de esta manera poder valorar el curso de la enfermedad o el efecto del tratamiento. (Dacie 2008).

El aspirado de la médula ósea, junto con el conocimiento del contexto clínico, constituyen la mejor oportunidad para llegar a un diagnóstico, sin embargo en algunos casos es difícil establecerlo únicamente con el AMO, porque aunque la médula ósea este ocupada por células leucémicas, estas no pueden ser aspiradas debido a que son adherentes y están inmersas en fibras de reticulina, y se obtiene “ una punción seca “ por lo que se debe efectuar la BMO, con estas muestras pueden hacerse preparaciones para tinción de Wright, Hematoxilina-Eosina. (H.E) y otras tinciones, estas preparaciones pueden observarse mejor brindan la arquitectura de la médula ósea, así como su riqueza celular, pero, la identificación de las células aisladas en tales preparados es menos precisa que en los frotis realizados por aspirado

medular, por lo que con frecuencia es necesario efectuar ambos tipos de exámenes. La biopsia de médula ósea se considera una prueba invasiva, puede ser molesto para el paciente y causar dolor agudo, riesgo de sangrado, formación de hematoma, infección del hueso biopsiado e incluso fractura, principalmente en los niños por lo que la indicación de la BMO debe estar respaldada por todos los antecedentes clínicos de cada paciente. (León,2010), (Romero, 2002), (Muniesa,2013)-

A pesar de los avances en el estudio molecular, el empleo de técnicas citoquímicas sigue siendo el primer paso esencial en la clasificación de las leucemias agudas, mediante estas técnicas se pueden diferenciar entre una leucemia linfoblástica aguda (LLA) y leucemia mieloblástica aguda (LMA). El empleo de estas diferentes tinciones ayuda a la diferenciación morfológica mediante la detección de determinados compuestos en las células estudiadas por lo que es muy importante realizar una adecuada interpretación de las mismas en cada caso, no hay una única prueba citoquímica para una clasificación certera de leucemia aguda (LA) pero, la combinación de ellas puede ayudar a clasificarla, por ejemplo la citoquímica de mieloperoxidasa (MPO) es una enzima lisosómica localizada en los gránulos azurófilos de los blastos de la serie granulocítica y también puede ser demostrada en los gránulos específicos de los eosinófilos y basófilos. El valor principal de la reacción de MPO es la diferenciación entre una leucemia mieloblástica aguda (LMA) de una leucemia linfoblástica aguda (LLA). Prácticamente se puede decir que sólo las células blásticas que muestran positividad a la reacción de MPO pueden ser referidas como mieloblastos, pero si la reacción es negativa no excluye a la leucemia mieloblástica, pues un mieloblasto temprano que resulta MPO negativa por microscopía óptica, puede expresar MPO o antígenos mieloides que son detectados por citometría de flujo. Otra citoquímica que se puede emplear para diferenciar un LLA de una LMA, es Negro Sudan B (SBB), esta citoquímica tiñe lípidos presentes en los gránulos primarios y secundarios de los granulocitos, la coloración es más intensa a medida que la célula es más madura, como resultado del aumento en el número de los gránulos primarios y secundarios por otro lado las células monocíticas pueden ser negativas o débilmente positivas, muestran actividad difusa y las células linfoides suelen ser negativas. Con el fin de identificar los subtipos de las LMA se puede hacer uso de diferentes técnicas citoquímicas para obtener una clasificación más precisa, en la leucemia mieloblástica aguda

sin maduración (LMA-M1) mieloblasto la mieloperoxidasa (MPO) , Sudan Negro B (SSB), Naftol-ASD-Cloroacetato esterasa (NASDCAE), Naftol-ASD-Acetato esterasa, (NASDAE) son débilmente positivas (+) a diferencia de la leucemia mieloblástica aguda con maduración (LMA-M2) que presenta mayor positividad (++) debido a que la intensidad de la reacción enzimática es mayor conforme avanza el estadio madurativo celular y esta variedad muestra células en estadios madurativos posteriores al mieloblasto (promielocitos, mielocitos y neutrófilos) en un porcentaje superior al 10% y en la LMA-M1 suele observarse un monomorfismo celular de blastos mieloides, diferenciando así entre estos dos subtipos de LMA. La leucemia mieloblástica aguda promielocítica clásica (LMA-M3) muestra una característica morfológica típica, los blastos presentan gruesas y abundantes granulaciones, la positividad es muy fuerte (++++) a la peroxidasa, Sudán negro B y NASDCAE. Son negativas las esterases α -naftil-acetato esterasa (α - NAE) y alfa-naftil-butirato esterasa (α -NBE) y en LMA-M3 variante microgranular los promielocitos presentan una granulación muy fina que en la mayoría de las veces no se puede observar por microscopía óptica, pero MPO es intensamente positiva y a veces existe una cierta positividad para esterases inespecíficas que junto con la morfología de núcleo arriñonado puede hacer necesario diferenciarlas de las leucemias monocíticas. En la leucemia mieloblástica aguda mielomonocítica (LMA-M4) puede confundirse con la LMA-M2 pues presenta componentes granulocíticos y monocíticos en proporción variable y con diversos grados de maduración, en este caso la MPO pero es positiva pero en una intensidad variable, utilizando α -NAE se identifica serie monocítica debido a que este sustrato es más específico para esta línea celular y es negativa para mieloblastos y linfoblastos, se puede confirmar al introducirse la reacción con fluoruro sódico, con este se inhibe la actividad previamente positiva de los monocitos, mientras que permanece inalterable en las células granulocíticas, si empleamos las tinciones NASDCAE y α - NAE en asociación podemos obtener información de utilidad para identificar la leucemia mielomonocítica. La leucemia mieloblástica monocítica (LMA-M5) se caracteriza por grandes blastos y en este subtipo la MPO Y SSB puede ser positiva o negativa sin embargo al utilizarse α -NAE la reacción es fuertemente positiva y utilizando fluoruro sódico se inhibe totalmente o se observan escasos gránulos además en esta variedad la reacción con NASDCAE será negativa. En la eritroleucemia (LMA-M6) se presentan precursores eritroides en todos los estadios de maduración muestran fuerte positividad a la

tinción de ácido peryódico Schiff (PAS) que se observa de manera granular en los eritroblastos jóvenes y difusa en estadios más maduros, sin embargo la ausencia de eritroblastos PAS positivos no excluye el diagnóstico de eritroleucemia, estas células también muestran una fuerte positividad a α -NAE y α -NBE en este subtipo las citoquímicas no son suficientes para el diagnóstico puesto que también hay presencia de células de estirpe granulocítico que son positivas a las reacciones citoquímicas que caracterizan a los mieloblastos. La leucemia mieloblástica mínimamente diferenciada (LMO-M0) está constituida por una proliferación de células morfológicamente indiferenciada que tienen la característica de no poseer marcadores citoquímicos, quedando limitada esta herramienta diagnóstica para algunos subtipos de LMA y para las LLA. (Arroyo,1982)

Es por ello que además de los criterios de la FAB, la OMS incluye también el inmunofenotipo, análisis citogenético y molecular, que incorpora los últimos avances de las LA, y se reduce el porcentaje de blastos de un 30 % propuesto por la FAB a un 20 %, para el diagnóstico de LA. Esta clasificación se considera la más completa, sin embargo, no siempre se cuenta con la posibilidad de realizar estudio citogenético y de biología molecular, principalmente en centros de atención médica de primer y segundo nivel, que además de encarecer los servicios de salud, pueden retrasar el tratamiento. No obstante, si a la morfología y pruebas citoquímicas se añade la inmunotipificación se podrán obtener subgrupos más definidos, pues esta técnica se basa en la diferenciación de antígenos linfocitos o mielocitos cluster of designation. (CD) siendo este método particularmente útil en la clasificación de las LLA. (Moraleda,2011). De esta manera la clasificación FAB se refuerza con la aplicación del inmunofenotipo, ya que este resulta fundamental para definir las variantes FAB M0 y M1 o las de estirpe eritroide M6 y megacarioblástica M7, (Moraleda 2011),

Aunque Existe un gran número de antígenos reconocibles mediante anticuerpos monoclonales, (AcMo) en las células hematopoyéticas, por razones prácticas es necesario seleccionar un panel de AcMo bien definidos para el estudio de los casos de leucemias agudas. El Grupo Europeo de Clasificación Inmunológica de Leucemias (EGIL) recomienda estudiarlas en dos pasos. El primero es con el objetivo de caracterizar la línea celular proliferante como B, T o mielocitos; este primer paso incluiría los marcadores más específicos y tempranos de cada una de estas líneas, así como unos pocos marcadores asociados al grado de maduración, pero no específicos de línea; un segundo panel se haría en función de los

resultados del primero con el objeto de precisar el subtipo de la célula neoplásica. Para la primera línea, los marcadores de linfocitos B son CD19, CD 10, y CD22 y CD79a citoplasmáticos. Marcadores de linfocitos T: CD2, CD3 citoplasmático, y/o CD 7. Y los marcadores mieloides son CD23, CD33, CD117 y mieloperoxidasa citoplasmática (anti-MPO), posteriormente se necesita un segundo panel de AcMo para clasificar las LA en los distintos subtipos, según el linaje afectado se emplearán los AcMo para cada uno de ellos.

Para las leucemias que no entran en ninguna clasificación ya se mieloide o linfoide, a las que se le denominan leucemias agudas bifenotípicas o leucemia aguda de linaje mixto, presentan la coexpresión de antígenos mieloides y linfoides en las células blásticas, el grupo EGIL ha establecido un criterio de clasificación por la expresión de una serie de marcadores a los que se ha dado puntuación en función de su especificidad para cada línea. (ver tabla 3) y de esta manera poder clasificarlas como leucemias agudas bifenotípicas (LAB). La citometría de flujo (CMF) es el método de elección para la caracterización inmunofenotípica de las células leucémicas de mayor accesibilidad para estos centros de atención médica. Hoy en día la citometría de flujo (CMF) puede llevarse a cabo en laboratorios de primer y segundo nivel de atención médica, es un elemento necesario que debe realizarse para llegar a un diagnóstico certero y preciso de las leucemias agudas. (Barrera, 2004).

Es importante recordar que el diagnóstico se debe complementar con técnicas de biología y citogenética molecular, sin embargo, las pruebas básicas que se tienen en el primer y segundo nivel de atención médica permiten establecerlo. Se deben emplear las técnicas que se tengan en el nivel de atención médica para comenzar el tratamiento y posteriormente complementar el diagnóstico con técnicas especializadas que brinden información valiosa para el paciente.

(Ramírez, 2012)

7.- CONCLUSIONES

La biometría hemática es una prueba básica de gran utilidad e importancia clínica que contribuye al diagnóstico oportuno de leucemias agudas y que está al alcance del primer y segundo nivel de atención médica. Esta prueba es fundamental en el algoritmo del diagnóstico diferencial de leucemia aguda, pues en base a los resultados dará la pauta para continuar con las pruebas especiales y confirmar el diagnóstico o descartarlo.

Ante la sospecha de leucemia aguda (LA), que se genera a partir de los resultados obtenidos en la biometría hemática, el diagnóstico debe ser confirmado mediante pruebas especiales, y es a través del aspirado y/o biopsia de médula ósea (MO) que se realiza. En el mielograma se requiere la presencia del 20 % de blastos para establecer el diagnóstico de leucemia aguda.

La identificación del subtipo de leucemia aguda en un centro de atención médica de segundo nivel, se puede realizar eficazmente mediante el uso de tinciones citoquímicas, son técnicas que no encarecen los servicios de salud. Estas técnicas evidencian la morfología celular característica de los subtipos de las leucemias agudas mieloblásticas permitiendo de esta manera la clasificación de la mayoría de estas, sin embargo, las citoquímicas están limitadas para las leucemias agudas linfoblásticas, pues permite conocer la estirpe afectada, pero no la subpoblación, haciendo necesario la utilización de la inmunotipificación para estas entidades hematológicas.

Para la inmunotipificación de las leucemias agudas se debe tener en cuenta lo siguiente, en las leucemias agudas linfoblásticas (LLA) deberán estar presentes al menos dos marcadores de células inmaduras, para la LLA de subpoblación T; TDT nuclear, CD3 o CD7 y para LLA de linaje B, CD79a, CD19 y/o CD22, y posteriormente podrán ser subclasificadas según su maduración celular. En el caso de las leucemias agudas mieloblásticas (LMA) se pueden definir inmunológicamente por las expresiones de dos o más marcadores mieloides, CD13, CD33, CD117, pero el más específico es el anti-MPO, seguido, por el CD117, y por norma

ambos serán negativos en las LLA. En caso de la LMA-MO en los cuales los blastos no muestran características morfológicas ni citoquímicas específicas, los marcadores inmunológicos son esenciales para su diferenciación, debe presentar positividad para anti-MPO y marcadores mieloides (CD33 y/o CD13) y negatividad para linfoides (CD3, CD79a, CD22). Por último, en las leucemias de bajo grado de diferenciación, se deben analizar con anticuerpos monoclonales (AcMo) contra las glucoproteínas plaquetarias y AcMo contra las Glicoforina para confirmar o excluir el diagnóstico de leucemia megacarioblástica aguda LMA-M7, o leucemias eritroides LMA-M6.

Se proporcionó información clara de las pruebas básicas que se pueden emplear en el primer nivel de atención médica ante la llegada de un caso sospechoso de leucemia aguda, así como las pruebas que se realizan en el segundo nivel de atención médica para la confirmación de dichas hemopatías, contribuyendo de esta manera a un diagnóstico oportuno para el beneficio del paciente, recordando que son entidades que requieren de tratamiento médico específico de inmediato y que haciendo uso correcto de estas pruebas se puede lograr.

8.-GLOSARIO

Adenomegalia es el término que define al aumento anormal del tamaño de los ganglios linfáticos (GL) y se acompaña de alteración en su consistencia. Es una manifestación clínica inespecífica de una enfermedad regional o generalizada, aguda o crónica, benigna o maligna

Agentes alquilantes Son grupo de fármacos que dañan directamente el ADN (el material genético de cada célula) para evitar que la célula se reproduzca. Estos medicamentos ejercen su acción en todas las fases del ciclo celular y se usan para tratar muchas clases diferentes de cánceres, incluso la leucemia, el linfoma, la enfermedad de Hodgkin, el mieloma múltiple y el sarcoma, al igual que cánceres de pulmón, de seno y de ovarios, entre otros

Artralgia: es un dolor en una o más articulaciones. Puede ser causada por muchos tipos de lesiones o condiciones.

Astenia es un estado de debilidad muscular generalizada con carácter subjetivo que tiene como base impotencia motora funcional. Proviene del griego **a**, partícula privativa, y **stenos** fuerza. El paciente puede referir cansancio, falta de energía, malestar general.

Ataxia Telangiectasia (AT) es un síndrome multisistémico complejo que se hereda de forma autosómica recesiva y está incluida dentro de los síndromes genéticos de inestabilidad cromosómica. Las mutaciones en el gen ATM (ataxia telangiectasia mutado) son la causa de la aparición de la AT

Epigenética: Se refiere a los cambios heredables en el ADN e histonas que no implican alteraciones en la secuencia de nucleótidos y modifican la estructura y condensación de la cromatina, por lo que afectan la expresión génica y el fenotipo.

Diátesis hemorrágica: Las diátesis hemorrágicas son un conjunto de desórdenes que ocurren como resultado de anomalías en el proceso hemostático normal y como consecuencia de una ruptura del equilibrio hemostasia-fibrinólisis, que favorece el sangrado.

Disnea: es una función del esfuerzo realizado para respirar, es el resultado del incremento del trabajo respiratorio y de la disfunción de los músculos respiratorios. Se produce como consecuencia del trabajo mecánico respiratorio necesario para superar la resistencia clásica del pulmón, la resistencia al flujo aéreo de las vías respiratorias y la fricción tisular.

1. Disnea de grandes esfuerzos. Se observa en actos de gran esfuerzo como ascender escaleras, que antes se escalaba con facilidad y sin dificultad.

2. Disnea de medianos esfuerzos. Se presenta en actividades como caminar, subir despacio una escalera.

3. Disnea de pequeños esfuerzos. Se presenta en actividades como cambiar de postura, vestirse, hablar, la digestión, miccionar.

4. Disnea de reposo. a. Disnea de primo esfuerzo. Se presenta con los esfuerzos físicos, pero a medida que se continúan desaparece la disnea.

Esplenomegalia: se define como cualquier aumento del tamaño del bazo

Glioblastoma. Los gliomas son los tumores más frecuentes del SNC, constituyendo entre 50% a 70% de los tumores primarios del SNC. Dentro de los mismos los astrocitomas son los más frecuentes; en un extremo se encuentra el astrocitoma pilocítico (glioma grado 1) y el astrocitoma grado 2, ambos gliomas de bajo grado, y en el otro extremo los gliomas agresivos, astrocitoma anaplásico (glioma grado 3) y el glioblastoma multiforme (GBM) o glioblastoma (glioma grado 4). Este último puede ser un tumor de novo o la evolución de otros gliomas de menor grado, con un comportamiento muy agresivo

Hepatomegalia es el aumento del tamaño del hígado, por sobre los límites estimados como normales para cada grupo de edad.

Impregnación Existen otros procedimientos en la técnica histológica que permiten la observación de células y tejidos en los cuales no se utilizan colorantes naturales y/o artificiales. Estos procedimientos emplean sales de metales pesados, los cuales en contacto con los componentes celulares y tisulares y a través, de sustancias reductoras u oxidantes se depositan en algunas de ellas (precipitación o impregnación). Al conjunto de procedimientos se les conoce como impregnaciones metálicas

Inclusión Los tejidos fijados adquieren cierta consistencia y dureza, pero no la suficiente para que, de ellos, se obtengan secciones delgadas. Estas secciones, del orden de algunas milésimas de milímetro (5 a 10 μm), se conseguirán cuando los tejidos se infiltren con

sustancias denominadas “de inclusión” y adquieran tal dureza que sometidos al filo de una navaja produzcan secciones, cortes o láminas sumamente delgados y transparentes.

Mialgias es cualquier sensación de dolor aguda, convulsiva y tirante en un músculo. El concepto mialgia proviene de las palabras griegas *myos*, que significa músculo y *algos*, que significa dolor. El dolor muscular puede experimentarse de forma extendida (difusa) o en un punto concreto del cuerpo.

Osteosarcoma Los sarcomas son tumores malignos del sistema musculoesquelético y del tejido conectivo así como del sistema nervioso periférico. Los osteosarcomas (SO) son los sarcomas del esqueleto, en todas las edades, más frecuentes, y su característica esencial es que no se ubican en el hueso, sino que se desarrollan a partir de las células progenitoras encargadas de generar el hueso normal.

Ortopnea es la falta de respiración, o problemas respiratorios cuando se está acostado.

Pancitopenia se define como la disminución simultánea de las 3 series hematológicas en sangre periférica.

Panmielopatía: el concepto de panmielopatía incluye todos los procesos en los que se ven afectados de forma simultánea la serie roja los leucocitos polimorfos nucleares y las plaquetas

Anomalía de Pelger Hüet: y consiste en una mutación del gen que codifica el receptor de la lámina B. A partir de esta mutación se producen alteraciones en el núcleo de los leucocitos, fundamentalmente en los neutrófilos, con afectación de la segmentación nuclear y trastornos en la cromatina y se transmite con un carácter autosómico dominante

Coagulación Intravascular Diseminada (CID) es una entidad clínica frecuente que se presenta como fenómeno secundario a diversas enfermedades entre las cuales se destacan las infecciones graves, las neoplasias y las catástrofes obstétricas. Se caracteriza por una activación difusa y simultánea de los sistemas endógenos de la coagulación y la fibrinólisis. El depósito de pequeños trombos en la circulación conduce finalmente a disfunción orgánica múltiple y en algunos casos a la muerte.

Descalcificación de tejido Tiene por objetivo la eliminación de sales cálcicas de los tejidos tras su fijación eludiendo artefactos de tratamiento, así como efectos perniciosos sobre la tinción

Disqueratosis congénita es un infrecuente trastorno hereditario se distingue por hiperpigmentación reticulada de la piel, leucoplaquia oral y distrofia ungueal; la disqueratosis congénita se asocia a menudo con alteraciones hematológicas y expresiones multisistémicas.

Diaforesis: Suduración abundante

SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida) representa las etapas más avanzadas de la infección por el VIH. Se define por la aparición de alguna de más de veinte infecciones oportunistas o cánceres vinculados con el VIH

Síndrome de Down (SD) es la forma de retardo mental más frecuente; es causada por una aberración cromosómica microscópicamente demostrable y se caracteriza por cambios fenotípicos distintivos y bien definidos. Es causado por la presencia de un cromosoma de más completo (trisomía) o de una porción crítica del cromosoma 21.

Síndrome de Fanconi es un defecto generalizado del transporte de aminoácidos, glucosa, fosfato, ácido úrico, sodio, potasio, bicarbonato y proteínas del túbulo proximal. El síndrome de Fanconi idiopático se puede heredar como rasgo autosómico dominante, autosómico recesivo o ligado al cromosoma X.

Síndrome de Li-Fraumeni (LF) se hereda con carácter autosómico dominante con penetrancia incompleta. Es una enfermedad clínica y genéticamente heterogénea. Se caracteriza por la aparición precoz de múltiples tumores en un individuo, y en varios miembros de su familia. Existen dos formas: el síndrome de Li-Fraumeni clásico y Li-Fraumeni Like.

Síndrome de Noonan (SN) es un trastorno genético de herencia autosómica dominante relativamente frecuente. Clásicamente se ha descrito como la asociación de talla baja, dismorfias craneofaciales (fundamentalmente hipertelorismo, inclinación hacia abajo de las hendiduras palpebrales, ptosis palpebral, pabellones auriculares rotados y de implantación

baja, hélix grueso), cardiopatía congénita (característicamente estenosis pulmonar valvular (EP) y miocardiopatía hipertrófica (MCH)), malformaciones torácico y criptorquidia en los varones.

Síndrome de Kostmann o agranulocitosis congénita infantil es un trastorno inmunológico hereditario caracterizado por una disminución severa del valor absoluto de neutrófilos; así como la aparición de infecciones piógenas recurrentes en los primeros años de vida.

Síndrome de Shwachman-Diamond (SSD) es una enfermedad rara, la cual consiste en una combinación de insuficiencia pancreática exocrina, falla de la médula ósea y disostosis metafisiaria. El locus en el que se origina esta enfermedad se ha localizado de manera reciente en el cromosoma 7.

Síndrome de Wiskott-Aldrich (SWA) es una inmunodeficiencia primaria con patrón de transmisión hereditaria ligada al cromosoma X, es causado por mutaciones en el gen que codifica la Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP), un regulador clave de la señalización y la reorganización del cito-esqueleto en las células hematopoyéticas.

9.- REFERENCIAS CONSULTADAS

1. Arber et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127(20):2391-2405.20. Recuperado de <http://www.bloodjournal.org/content/127/20/2391.long?sso-checked=true>
2. Arias J. (2000). *Enfermería medico quirúrgica Madrid*. Tébar.
3. Arribas J.M. (2005). *Hematología clínica: Temas de patología clínica*. Universidad de Oviedo. Textos universitarios ediuno.
4. Amaru, R. (2008). *Epidemiología de las leucemias en Bolivia: Evaluación de 933 casos*. Cuadernos.53(2):9-15. Recuperado. [12-08-2015] <http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/chc/v53n2/v53n2a02.pdf>
5. American society cáncer (2013) *Leucemia mieloide (mielógena) aguda*. Recuperado de <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/002302-pdf.pdf>
6. Bain, J.B. (2008). Morfología de las células normales y patológicas. *Hematologia practica*. (5). 69-98. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/book/9788480862295/dacie-y-lewis-hematologia-practica>.
7. Barrera, R. L (2004) *Citometría de flujo: vínculo entre la investigación básica y la aplicación clínica*. Revista Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.17(1). Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/iner/in-2004/in041g.pdf>
8. Benet, M. (2001). *Leucemias agudas mieloblásticas, clasificación, etiopatogenia, características citológicas, inmunofenotípica y moleculares*. *Medicine*. 8(54). Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304541201705422>
9. Boletín médico del hospital Infantil de México Federico Gómez. 69(3):190-196. Recuperado [03-10-2013]. <http://www.scielo.org.mx/pdf/bmim/v69n3/v69n3a5.pdf>
10. Castañeda H.J.E. (2009). *Leucemia linfoblástica aguda*. *Revista Médica MD*.1(4):8p. Recuperado. [27-05-2014]. <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2009/md094c.pdf>

11. CENETEC. (2010). Diagnóstico y tratamiento de la leucemia mieloide aguda. Recuperado de http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/276_IMSS_10_Leucemia_Mieloide_Aguda/EyR_IMSS_276_10.pdf
12. Cuervo, S.J., Jaime, P. C. (2012). Mutaciones del Módulo FLT3 en la leucemia aguda linfoblástica. *Revista de Hematología*.13(4), 177-184. Recuperado <https://www.medigraphic.com/pdfs/hematologia/re-2012/re124f.pdf>
13. Chabner,B.A.(2009). *HARRISON Manual de oncología. México*. McGraw-Hill interamericana.
14. Dorantes, C. E, Zapata, T.M, y Miranda, L.A. (2012). *Comparación de las características clínicas al diagnóstico de niños con leucemia linfoblástica aguda afiliados al Seguro Popular, con respecto al desenlace*.
15. Estcourt L.J(2013). *WHO Classification of Leukemia*. Brenner's Encyclopedia Genetics, 7(2). p8} doi:10.1016/B978-0-12-374984-0.01641-7
16. Fitzgerald R. (2004). *Ortopedia. Buenos Aires*. 2 (ed.). Médica panamericana.
17. Freund. M (2011). *Hematología: Guía práctica para el diagnóstico microscópico*. 11 (ed) Médica panamericana.
18. Gammall A.H. (2011). *Classification of Acute Leukemia, Acute Leukemia The Scientist's Perspective and Challenge*. Recuperado [03-08-2015] <http://www.intechopen.com/books/acute-leukemia-the-scientist-s-perspective-and-challenge/classification-ofacute-leukemia>
19. García Bernal M. “*Leucemia aguda linfoblástica infantil y síndrome de Down: análisis de los protocolos shop/lal-99 y 05**”. *Revista médica internacional sobre el síndrome de Down*. Noviembre 2010.Fundació Catalana Síndrome de Down. 17 de diciembre 2012. www.fcsd.org.
20. García, E. B. (2015) *Técnicas de análisis hematológico*. Madrid, España. Paraninfo

21. Genesca. E. (2013). *leucemia aguda linfoblástica de precursores t: de la biología a la clínica*. MEDICINA144 (5):223–229. Recuperado [16-08-2015]. DOI: [10.1016/J.MEDCLI.2014.01.029](https://doi.org/10.1016/J.MEDCLI.2014.01.029)
22. González S.W.M., Olarte, C. I, Gutiérrez, R.M, Montaña, F.E.H, Martínez, M.C. y Ramos, P.C.O. (2012). *Frecuencia de leucemias agudas en un hospital de referencia*. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*.50 (2):167-171. Recuperado [03-10-2013] <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2012/im122j.pdf>
23. Grupo español de citología hematológica. (2017). Recuperado de. <http://gechem.org>
24. Hernández R.M. (1994). *Pediatría*. Madrid España. 2 (ed.). Díaz Santos.
25. Hurtado M.R. (2012). *Leucemia para el médico general*. Revista de facultad de medicina de la UNAM.55 (2). Recuperado. [12-01-2013]. <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2012/un122c.pdf>
26. Instituto Nacional de Salud. (2014). *Protocolo de vigilancia en salud pública: Leucemias*. Recuperado de <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Leucemias.pdf>
27. Jaime, P. J.C, Gómez, A.D. (2012). *Hematología la sangre y sus enfermedades*. México: McGraw-Hill Interamericana.
28. Lagunas, R.F. (2016). Leucemia mieloide aguda. Una perspectiva de los mecanismos moleculares del cáncer. *Gaceta Mexicana de Oncología*.15(3). 150-157. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S166592011630030X>
29. Leyto, C, F. (2016). Leucemia Mieloide Aguda. *Revista de Hematología*.19(1). 224-40. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/hematologia/re-2018/re181d.pdf>
30. Leukemia Lymphoma Society. (2011). *Leucemia mieloide aguda*. Recuperado de https://www.lls.org/sites/default/files/file_assets/sp_aml.pdf
31. Leon, B.B. (2010). *La biopsia en el diagnóstico de la enfermedad pediátrica, Biopsia de médula ósea*. *Acta Pediátrica de México*.31(4). Recuperado <http://ojs.actapediátrica.org.mx/index.php/APM/article/download/297/297>

32. Lewis S.M., Dacie., Bates. I. y Bain, J.B(2007). Hematología practica.Elsevier. España recuperado de. <https://www.elsevier.com/books/dacie-y-lewis-hematologia-practica/9788480862295>
33. Lindhe,J. (2009). *Peridontología clínica e implantología odontológica*. Buenos Aires.Medica Panamericana.

34. Lombardi. (2013). *Sarcoma mieloides: presentación cutánea de novo comunicación de un caso y revisión de la literatura*. Archivos. Argentinos de. Dermatología. Recuperado [09-08-2015]63. p 13-16.
<http://www.archivosdermato.org.ar/Uploads/13Lombardi-Sarcoma%20mieloide.pdf>
35. Lopez, M. y Gonzalez, C. (2008). Manifestaciones cutáneas del trastorno mieloproliferativo transitorio asociado a síndrome de Down. *Anales de pediatría*. 68(1). 18-81. Recuperado de <https://www.analesdepediatria.org/es-manifestaciones-cutaneas-del-trastorno-mieloproliferativo-articulo-S1695403308700511>
36. Mckenzie S.B., *Hematología Clínica*. México DF. Editorial Manual Moderno. 2000.
37. Méndez P. (2011) “*Sarcoma granulocítico conjuntival en leucemia mieloblástica aguda MI*”. Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com.pbidi.unam.mx>
38. Manascero, G.A.R (2003). *Hematología herramienta para el diagnóstico: atlas de morfología celular alteraciones y enfermedades relacionadas*. Bogotá. Javeriano.
39. Marín A.A. (2008). Manual de pediatría ambulatoria. Bogotá. Médica panamericana.
40. Mejía, J.M. (2005). *Epidemiología de las leucemias agudas en niños. Parte 1**. Revista Médica del IMSS. 43 (4): 323-333. Recuperado [16-08-2015]
<http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2005/im054g.pdf>
41. Merino, A. (2010). *Clasificación de las leucemias agudas mieloides*. Laboratorio clínico. 3(3) doi: 10.1016/j.labcli.2010.05.002
42. Milanés, R.M.T. (2012). *Aspectos clínicos y epidemiológicos de la leucemia mieloides aguda en el anciano*. Revista cubana de hematología e inmunología. 18(1):25-33. Recuperado [10-08-2015).
http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=6208&id_seccion=660&id_ejemplar=669&id_revista=66
43. Milena, A.V. (2012). *Análisis de la mortalidad por leucemia aguda pediátrica en el Instituto Nacional de Cancerología*. Revista Instituto Nacional Biomédica. 32(3):355-364. Recuperado [16-08-2015).
doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v32i3.691>

44. Mohand,H.(2010).*Patología resumen y preguntas de autoevaluacion.3* (ed.).Panamericana.
45. McPhee S.J. (2012). *Diagnóstico clínico y tratamiento*. México. 50 (ed.) McGraw-Hill interamericana.
46. Muniesa,C.(2013) *¿Está siempre indicada la biopsia de médula ósea en los pacientes con linfoma primario cutáneo de células B de la zona marginal?*. Actas dermosifiliograficas.104(8)667-671. Recuperado de <http://www.elsevier>
47. Ortega Sánchez Manuel. “*Leucemia linfoblástica aguda*”. Enero-febrero 2007. IMBIOMED-L (medicina) revistas médicas. Recuperado de www.imbiomed.com.mx
48. Piedras. (2006) *Citometría de flujo en el diagnóstico y clasificación de padecimientos hematológicos: leucemias agudas, síndromes mieloproliferativos y glicoproteínas plaquetarias*. Revista hematológica, Vol. 7, no 6. Recuperado de http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?id_revista=191&id_ejemplar=517
2
49. Piñeros, M., Gamboa, O., y Suarez A. (2011). Mortalidad por cáncer infantil en Colombia durante 1985 a 2008. Instituto Nacional de Cancerología, Bogota, Colombia. Recuperado de <https://www.scielo.org/article/rpsp/2011.v30n1/15-21/>
50. Pratti, A. (2019) Leucemias Agudas. Recuperado de https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/170577/mod_resource/content/2/LMA%202019.pdf
51. Ramírez, O.M. *Citometría de flujo: qué puede aportar al diagnóstico hematológico en pediatría*. *Anales de Pediatría*. Continuada 2012;10(5):282-5. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/journal/anales-de-pediatria-continuada/vol/10/issue/5>
52. Rabelo. L. (2009). *leucemias mieloblásticas agudas citomorfología e inmunofenotipo en la leucemia mieloide*. *Bioquímica*. 34(1), enero-marzo, <http://www.redalyc.org/pdf/576/57613001026.pdf>

53. Rodak.F.B. (2004). *Hematología: fundamento y aplicaciones clínicas*.2 (ed.) Buenos Aires. Médica panamericana.
54. Rodríguez, L. González, L.O. (2010) *Observaciones sobre la incidencia de leucemias agudas en el Noreste de México*. Revista de hematología. 11(2):78-81. Recuperado [03-10-2013] <http://www.medigraphic.com/pdfs/hematologia/re-2010/re102d.pdf>
55. Rubnitz,J.E(2008). *Acute Myeloid Leukemia*.*Pediatric Clinics*.55.21-51. doi: 10.1016/j.pcl.2007.11.003.
56. Ruiz, A.G. (2009). *Fundamentos de hematología*.4 (ed.). México. Médica panamericana.
57. Sánchez.S. A, Coll M.J,Rosique. C.P. y Moraleda. J.J.M. (2012). *Leucemias agudas*. *Medicine*. 11(21):1268-1279. Recuperado [30-04-2015] <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030454121270450X>
58. Shinton, N. K. (2006). Desk reference for Hematology.
59. Tirado,G.L.L,Mohar, B.A.(2007).*Epidemiología de las neoplasias hematológicas*.*Cancerología*.2.(109-120).Recuperado[30-07-2015] <http://www.incan.org.mx/revistaincan/elementos/documentosPortada/1193426695.pdf>
60. Torres, G.A, García, C.J.M,Serrano, L.(2008). *Leucemias agudas*. *Medicine*.10 (21):1390-1401.Recuperado [07-08-2015] [doi: 10.1016/S0211-3449\(08\)75399-2](http://doi.org/10.1016/S0211-3449(08)75399-2)
61. Tormo, D, M. y Conde, G. B. (2001). Leucemias agudas mieloides. Manifestaciones clínicas, diagnóstico, pronóstico y estrategias terapéuticas. *Medicine*.8(54). 2890-2896. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304541201705434>
62. Vargas, M. (1995) las leucemias bifenotípicas. *Costarica ciencia Médica*. 16(12), 23-31. Recuperado de <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=169618&indexSearch=ID>
63. Zerga, E. M. y Sanchez, V. JC. (2013). Las neoplasias linfoides. Médica panamericana.454 pág

