



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Tesis

**Identificación de las alteraciones cromosómicas
en pacientes con leucemia mieloide aguda por
citogenética convencional y molecular**

Que para obtener el título de
Química Farmacéutica Bióloga

Presenta

Daniela Guadalupe López Aguilar

Asesora

Dra. en C. Mónica Sierra Martínez

Co-Asesora

Q.F.B. Rosalba Bonilla Sánchez

Cuautitlán Izcalli, Estado De México, 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.



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

Identificación de las alteraciones cromosómicas en pacientes con leucemia mieloide aguda por citogenética convencional y molecular.

Que presenta la pasante: Daniela Guadalupe López Aguilar
Con número de cuenta: 405091410 para obtener el Título de la carrera: Química Farmacéutico Biológica.

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 25 de Julio de 2018.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo	
VOCAL	Q.F.B. Rosalba Bonilla Sánchez	
SECRETARIO	M. en C. Maritere Domínguez Rojas	
1er. SUPLENTE	Q.F.B. María Llasbeth Hernández Calderón	
2do. SUPLENTE	L.B.D. Rosa María de los Angeles López Cabrera	

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

LMCF/cga*

Dedicatoria

A mi madre, quien es mi Ángel, mi inspiración, mi fuerza y mi razón.

A mi padre, quien siempre me ha apoyado incondicionalmente, me ha impulsado a continuar y sobretodo a concluir, en esto y en todas las áreas de mi vida, incluyendo cada una de sus etapas.

A mi compañero de vida, quien ha sido mi gran pilar de apoyo en esta difícil etapa.

A mi bebé, que su llegada me ha impulsado con fuerza a concluir lo que ya había comenzado.

A mis suegros, que su apoyo ha sido clave para lograr la conclusión de este trabajo.

Agradecimientos

A la UNAM, que me brindó la oportunidad de realizar mi sueño de prepararme en la mejor institución del país.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo I, que me brindó la mejor formación académica que pude haber recibido.

A la sección de Genética de la FESC, que despertaron mi pasión por la citogenética, que fue imprescindible para la conclusión de mi carrera.

A mi co-asesora la Q.F.B. Rosalba Bonilla de la FESC, que me apoyó incondicionalmente en cada paso hasta el final.

A mi asesora la Dra. en C. Mónica Sierra del Hospital Juárez de México, que me brindó su confianza y paciencia en todo momento y siempre me impulsó a seguir adelante hasta concluir.

Al equipo de trabajo y compañeros tesisistas del Laboratorio de Genética y Diagnóstico Molecular del Hospital Juárez de México, que me apoyaron en mi aprendizaje.

A todo el personal del Hospital Juárez de México, que directa o indirectamente fueron partícipes en la realización de este trabajo.

A mis padres, quienes han sido mi inspiración y mi motor para seguir adelante, seguir preparándome y seguir superándome.

A mi compañero de vida, que siempre me apoyó incondicionalmente y nunca dejó de creer en mí, sobretodo en mis momentos más sombríos.

A toda mi familia y amigos, que me brindaron todo su apoyo y siempre me regalaron palabras de aliento para seguir adelante.

A todos los que de alguna manera me apoyaron para la realización y conclusión de este trabajo de titulación.



**Identificación de las alteraciones cromosómicas
en pacientes con leucemia mieloide aguda por
citogenética convencional y molecular**

Este trabajo se realizó:

En el Laboratorio de Genética y Diagnóstico Molecular
del Hospital Juárez de México bajo la dirección
de la Dra. en C. Mónica Sierra Martínez.

Índice general

Índice general.....	I
Índice de figuras.....	IV
Índice de tablas.....	VI
Índice de abreviaturas.....	VII
Resumen.....	VIII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	2
3. MARCO TEÓRICO.....	3
3.1. Leucemia Mieloide Aguda.....	3
3.1.1. Definición.....	3
3.1.2. Etiología.....	5
3.1.3. Epidemiología.....	11
3.1.4. Clasificación.....	15
3.1.4.1. Clasificación FAB.....	16
3.1.4.2. Clasificación de la OMS.....	20
3.1.5. Sintomatología clínica.....	23
3.1.6. Métodos de detección y diagnóstico.....	24
3.1.7. Tratamiento.....	25
3.1.8. Pronóstico.....	27
3.2. Citogenética convencional y molecular.....	29
3.2.1. Cromosomas, morfología y nomenclatura.....	30
3.2.1.1. Alteraciones cromosómicas.....	32
3.2.1.2. Mecanismos que producen anomalías cromosómicas.....	34
3.2.2. Cariotipo.....	35
3.2.2.1. Bandas GTG.....	38
3.2.2.2. Ventajas del cariotipo.....	38
3.2.2.3. Limitantes del cariotipo.....	39
3.2.3. Hibridación in situ Fluorescente.....	39

3.2.3.1.	Fundamento.....	39
3.2.3.2.	Tipos de sondas utilizadas en la FISH convencional.....	41
3.2.3.3.	Ventajas de la FISH.....	42
3.2.3.4.	Limitantes de la FISH.....	42
3.2.3.5.	Aplicaciones FISH en hematología.....	43
3.2.4.	Otros métodos.....	43
3.3.	Hallazgos citogenéticos en LMA.....	44
4.	JUSTIFICACIÓN.....	48
5.	OBJETIVOS.....	49
5.1.	GENERAL.....	49
5.2.	PARTICULARES.....	49
6.	HIPÓTESIS.....	50
7.	METODOLOGÍA.....	51
7.1.	Población de estudio.....	51
7.1.1.	Criterios de inclusión.....	51
7.1.2.	Criterios de exclusión.....	51
7.2.	Material y Métodos.....	51
7.2.1.	Equipo de laboratorio.....	51
7.2.2.	Material de laboratorio.....	52
7.2.3.	Material Biológico.....	53
7.2.4.	Reactivos.....	53
7.3.	Citogenética convencional.....	54
7.3.1.	Siembra.....	54
7.3.2.	Cosecha.....	54
7.3.3.	Goteo.....	54
7.3.4.	Bandeo GTG.....	55
7.3.5.	Montaje.....	55
7.3.6.	Análisis.....	55
7.3.7.	Diagrama.....	55
7.4.	Citogenética molecular.....	58
7.4.1.	Sondas.....	58
7.4.1.1.	Para translocación AML1/ETO.....	58
7.4.1.2.	Para translocación CBF β /MYH11.....	59
7.4.1.3.	Para translocación PML/RAR α	60

7.4.2. Previo a la Hibridación.....	61
7.4.3. Hibridación.....	61
7.4.4. Post-hibridación.....	61
7.4.5. Análisis.....	62
7.4.5.1. Criterios de Análisis.....	62
7.4.5.2. Patrones de señales de hibridación.....	63
7.4.6. Diagrama.....	65
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	68
8.1. Características clínicas.....	68
8.2. Citogenética convencional.....	71
8.2.1. Alteraciones cromosómicas estructurales.....	74
8.2.1.1. del(3)(q21q26).....	74
8.2.1.2. der(4)del(4)inv(4)(p15.2q21).....	77
8.2.1.3. del(7)(q11.2q22).....	80
8.2.1.4. del(7)(q22q32).....	80
8.2.1.5. inv(7)(p21q21).....	84
8.2.1.6. t(8;21)(q22;q22).....	87
8.2.1.7. t(15;17)(q24;q21).....	89
8.2.1.8. der(21;21)(q10;q10).....	91
8.2.2. Alteraciones cromosómicas numéricas.....	93
8.2.2.1. Endoreduplicación (end 46,XX).....	93
8.2.2.2. Hiperhaploidía (24-34).....	94
8.2.2.3. Hipodiploidía (35-45).....	97
8.3. FISH.....	100
8.4. Correlación entre citogenética convencional y molecular.....	106
9. CONCLUSIONES.....	109
10. PERSPECTIVAS.....	110
Anexo I: Nomenclatura citogenética más común, ISCN 2013.....	111
Anexo II: Carta de Consentimiento de Estudios Genéticos.....	112
REFERENCIAS.....	115

Índice de figuras

3.1	Médula ósea.....	4
3.2	Estadios de la hematopoyesis normal.....	5
3.3	Estadios de la hematopoyesis alterada.....	6
3.4	Incidencia del cáncer en México.....	13
3.5	Mortalidad del cáncer en México.....	13
3.6	Prevalencia del cáncer en México.....	13
3.7	Histograma comparativo de incidencia vs mortalidad del cáncer.....	14
3.8	Incidencia de leucemias en pediátricos de la CDMX (2006-2007).....	15
3.9	Morfología de los cromosomas humanos.....	31
3.10	Alteraciones cromosómicas.....	34
3.11	Ideograma humano en resolución de 400 bandas.....	37
3.12	Estudio de la citogenética en las diferentes fases del ciclo celular.....	40
7.1	Metodología del cariotipo.....	56
7.2	Metodología del cariotipo (continuación).....	57
7.3	Sonda de doble fusión para translocación AML1/ETO.....	58
7.4	Sonda de doble fusión para translocación CBF β /MYH11.....	59
7.5	Sonda de doble fusión para translocación PML/RAR α	60
7.6	Patrón normal y negativo de locus en células en interfase.....	64
7.7	Patrones positivos normales de derivados fusionados en interfase.....	64
7.8	Patrones positivos atípicos de derivados fusionados en interfase.....	65
7.9	Metodología de la FISH.....	66
7.10	Metodología de la FISH (continuación).....	67
8.1	Cromosoma 3 alterado en dos cariotipos parciales.....	74
8.2	Ideograma del cromosoma 3 mostrando la del(3)(q21q26).....	75
8.3	Cromosoma 4 alterado en un cariotipo parcial.....	77
8.4	Ideograma del chr 4 mostrando el der(4)del(4)inv(4)(p15.2q21).....	78
8.5	Ideograma del cromosoma 4 mostrando la del(4)(q12q12).....	79
8.6	Cromosoma 7 alterado en dos cariotipos parciales.....	81

8.7	Ideograma del cromosoma 7 mostrando la del(7)(q11.2q22).....	82
8.8	Cromosoma 7 alterado en tres cariotipos parciales.....	83
8.9	Ideograma del cromosoma 7 mostrando la del(7)(q22q32).....	83
8.10	Cromosoma 7 alterado en dos cariotipos parciales.....	84
8.11	Ideograma del cromosoma 7 mostrando la inv(7)(p21q21).....	85
8.12	Ideograma comparativo del cromosoma 7 normal vs inv(7)(p21q21)....	86
8.13	Cromosomas 8 y 21 alterados en un cariotipo parcial.....	87
8.14	Ideograma del chr 8 mostrando la región en t(8;21)(q22;q22).....	88
8.15	Ideograma del chr 21 mostrando la región en t(8;21)(q22;q22).....	88
8.16	Cromosomas 15 y 17 alterados en el cariotipo parcial.....	89
8.17	Ideograma del chr 15 mostrando la región en t(15;17)(q24;q21).....	90
8.18	Ideograma del chr 17 mostrando la región en t(15;17)(q24;q21).....	90
8.19	Cromosoma 21 normal y derivativo en dos cariotipos parciales.....	91
8.20	Ideograma del chr 21 mostrando la región del der(21;21)(q10;q10).....	92
8.21	Ideograma mostrando la translocación robertsoniana.....	92
8.22	Células en metafase con endorreduplicación (end 46,XX).....	93
	Cariotipo con hiperhaploidía, de subgrupo cercano a la haploidía	
8.23	(24,X).....	95
	Cariotipo con hiperhaploidía, de subgrupo bajo de hipodiploidía	
8.24	(32,XX).....	96
8.25	Células en metafase con hiperhaploidía (24,X).....	97
8.26	Cariotipo con hipodiploidía (36,X).....	98
8.27	Cariotipo con hipodiploidía (38,XX).....	99
8.28	Representación gráfica de resultados para los loci AML/ETO.....	101
8.29	Resultados positivos de FISH para la t(15;17)(q24.1;q21).....	102
8.30	Representación gráfica de resultados para los loci PML/RAR α	103
8.31	Representación gráfica de resultados para derivados PML/RAR α	104
8.32	Representación de las pérdidas de loci CBF β /MYH11.....	105

Índice de tablas

3.1.	Clasificación general de los agentes carcinógenos.....	8
3.2.	Clasificación de carcinógenos en leucemias según evidencia..	9
3.3.	Epidemiología del cáncer en México según el Globocan.....	12
3.4.	Clasificación FAB y características de LMA.....	17
	Clasificación FAB y características de LMA (continuación)...	18
3.5.	Morfología de los subtipos LMA según clasificación FAB....	19
3.6.	Citoquímica de los subtipos LMA según clasificación FAB...	19
3.7.	Marcadores inmunológicos LMA según clasificación FAB....	20
3.8.	Clasificación de LMA según la OMS.....	21
3.9.	Categorías de pronóstico según la citogenética de la LMA....	28
3.10.	Mecanismos que producen alteraciones cromosómicas.....	35
3.11.	Clasificación cromosómica por posición centromérica.....	36
3.12.	Clínica de anomalías citogenéticas frecuentes en LMA.....	47
8.1.	Características clínicas y de laboratorio de los pacientes.....	69
8.2.	Compilación de resultados diagnóstico de los pacientes.....	71
8.3.	Alteraciones cromosómicas encontradas en los pacientes.....	73
8.4.	Análisis de t(8;21)(q21.3;q22.12) para genes AML1/ETO.....	100
8.5.	Pérdidas o ganancias de loci para los genes AML1/ETO.....	101
8.6.	Análisis de t(15;17)(q24.1;q21) para genes PML/RAR α	102
8.7.	Pérdidas o ganancias de loci para los genes PML/RAR α	103
8.8.	Pérdidas o ganancias de derivados para genes PML/RAR α ...	104
8.9.	Análisis de inv(16)/t(16;16)(p13;q22) para CBF β /MYH11....	104
8.10.	Pérdidas o ganancias de loci para los genes CBF β /MYH11...	105
8.11.	Resultados obtenidos de cariotipo <i>vs</i> FISH.....	106
8.12.	Compilación de todos los resultados obtenidos de cada caso...	107
Anexo I.	Nomenclatura citogenética más común, ISCN 2013.....	111

Índice de abreviaturas

FAB	Franco-Americano-Británico
FISH	Hibridación <i>In Situ</i> Fluorescente
GTG	Bandas G obtenidas con Tripsina y Giemsa
HGC	Hibridación Genómica Comparativa
HJM	Hospital Juárez de México
IARC	Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer
ISCN	Sistema Internacional de Nomenclatura para Citogenética Humana
LDH	Lactato Deshidrogenasa
LLA	Leucemia Linfoblástica Aguda
LLC	Leucemia Linfoblástica Crónica
LLM	Leucemia de Linaje Mixto
LMA	Leucemia Mieloide Aguda, Leucemia Mieloblástica Aguda, Leucemia Mielógena Aguda, Leucemia Granulocítica Aguda, Leucemia No Linfocítica Aguda
LMC	Leucemia Mieloide Crónica
LPA	Leucemia Promielocítica Aguda
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
RC	Remisión Completa
RT-PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa de Transcripción inversa anidada
SMD	Síndrome Mielodisplásico
SMP	Síndrome Mieloproliferativo
WBC	Recuento de Glóbulos Blancos

Resumen

La Citogenética ha identificado alteraciones cromosómicas específicas y no aleatorias en la Leucemia Mieloide Aguda (*LMA*) favoreciendo su diagnóstico, pronóstico, tratamiento y seguimiento. Entre las asociadas a un pronóstico favorable, están la inv(16), t(16;16), t(8;21) y t(15;17). De pronóstico intermedio están los cariotipos normales, trisomías 8, t(9;11) y otras. Y para pronóstico reservado están los cariotipos complejos, -5, 5q-, -7, 7q-; alteración en 11q23, inv(3), t(3;3), t(6;9) y t(9;22). El objetivo de este trabajo fue identificar las alteraciones cromosómicas en pacientes con diagnóstico de *LMA* mediante técnicas de citogenética convencional (cariotipo) y molecular (FISH) para lograr un diagnóstico más certero. Para ello, se recolectaron muestras del aspirado de médula ósea de 17 pacientes del Hospital Juárez de México, se sometieron a cultivo celular para multiplicar el número de linfocitos y se arrestó el material cromosómico en metafase que posteriormente se bandeó por *GTG* para el estudio del cariotipo. Para la FISH, se estudiaron núcleos interfásicos que fueron desnaturalizados y tratados con sondas específicas que hibridaron ciertas regiones cromosómicas para estudiar la inv(16) ó t(16;16), t(15;17) y t(8;21); se analizaron 200 núcleos por caso y se reportó según los criterios de análisis y al *Sistema Internacional de Nomenclatura para Citogenética Humana* (ISCN), 2016. Del cariotipo se obtuvieron alteraciones estructurales como del(3), del(7), del(4)inv(4), inv(7), t(8;21), t(15;17) y der(21;21); y también alteraciones numéricas, como endorreduplicación, hiperhaploidía, e hipodiploidía. De la FISH, se obtuvo positividad para la t(15;17) y se recolectaron datos en pérdidas y ganancias de loci y/o derivados para algunos genes. En conclusión, el cariotipo es una herramienta muy útil y compleja al mismo tiempo, debido a la dificultad que presentan algunas muestras para tratarse y evaluarse; así como la FISH resulta una herramienta complementaria por su alta sensibilidad; ambas ayudan a una mayor recolección de información y así tener un panorama más amplio de la enfermedad oncohematológica.

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

Se le denomina leucemia al cáncer que se desarrolla en las células que forman la sangre en la médula ósea; crecen sin control y pueden extenderse a otras áreas del cuerpo (Sociedad Americana contra el Cáncer, 2018). En condiciones normales madurarían hacia los diferentes tipos de células sanguíneas. De acuerdo a la *Organización Mundial de la Salud* (OMS)[1](#), la leucemia en México tiene una incidencia del 4.3% y una mortalidad del 5.4%, según el estudio realizado en el 2012, que incluye 28 tipos de cánceres, en una población de ambos sexos (Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer, 2012). En particular, la *Leucemia Mieloide Aguda* (LMA), es un cáncer que se origina en las células precursoras de glóbulos blancos (excepto linfocitos), en la médula ósea. Puede progresar rápidamente y llegar a ser mortal. Además en ocasiones se propagan a otras partes del cuerpo, como sistema nervioso central (cerebro, piel y las encías) (Institutos Nacionales de la Salud, 2017). La clasificación de la LMA se realiza por dos sistemas: la *Franco-Americano-Británico* (FAB) que admite 8 subtipos (M0-M7); y la clasificación de la OMS, que incluye 5 subtipos (Bugá, Glück y Arion, 2014). Es de vital importancia la identificación del tipo de leucemia ya que vislumbrará el pronóstico y el tratamiento. Por lo cual, por norma de la OMS, el diagnóstico debe incluir: los datos clínicos (historia clínica, edad) y las características biológico-hematológicas (morfología, citoquímica, inmunofenotipos, citogenética y biología molecular) (Flandrin, 2002). Por otro lado, como métodos de diagnóstico, pronóstico y seguimiento de LMA, se encuentran las pruebas estándar de citogenética (cariotipo), y además las técnicas complementarias moleculares, como la *Hibridación In Situ Fluorescente* (FISH), la *Reacción en Cadena de la Polimerasa* (PCR) tanto cualitativa (punto final) como cuantitativa (tiempo real), y la *Hibridación Genómica Comparativa* (HGC) (Del Castillo, Uranga y Zafra, 2012).

Capítulo 2

ANTECEDENTES

- Coleman, Theil, Tubbs y Cook (2011), en Cleveland, realizaron un estudio a 433 pacientes con diagnóstico de *LMA* / Síndrome Mielodisplásico (*SMD*), mediante citogenética convencional y *FISH*, y encontraron deleciones y monosomías (-5/5q-, -7/7q-, 20q-), trisomías (+5, +8), translocaciones [t(1;21)(p13;p11.2)], ganancia de marcadores (mar+), entre otros.
- Mir-Mazloui, Appaji, Madhumathi y Prasannakumari (2013), en la India, realizaron un estudio a 50 pacientes pediátricos con diagnóstico de *LMA*, mediante citogenética convencional y *FISH*, reportaron alteraciones cromosómicas con pronóstico favorable para 51.6% de los casos con t(8;21)(q22;q22), 16.1% con t(15;17)(q22;q21), y 12.9% con rearrreglos en el cromosoma 16. Con menor frecuencia y con pronóstico reservado, encontraron alteraciones como t(9;11)(p22;q13), t(1;22)(p13;q13), inv(3)(q21q26), add 4(q35) y cromosomas en anillo.
- Buga, Glück y Arion (2014), en Rumania, publicaron un artículo de revisión donde involucraron aspectos citoquímicos y morfológicos, los inmunofenotipos, y la caracterización citogenética y molecular para el diagnóstico y con ello dar una terapia al paciente de acuerdo al grupo de riesgo. En dicha revisión se mencionan las alteraciones cromosómicas de acuerdo a la clasificación de la *OMS* (o también conocida por clasificación *WHO*), de donde se partió para el estudio con *FISH* de dichas alteraciones cromosómicas en nuestra propia población de estudio.

Capítulo 3

MARCO TEÓRICO

3.1 Leucemia Mieloide Aguda

3.1.1 Definición

La *LMA* ↓ es también conocida como leucemia mielógena aguda, leucemia mieloblástica aguda, leucemia granulocítica aguda y leucemia no linfocítica aguda (NIH, 2017).

Es un trastorno neoplásico hematopoyético clonal que se deriva de la proliferación invasiva de células blásticas anormales en sangre y médula ósea (ver figura 3.1 ↓), a partir de la mutación genética de una célula hematopoyética multipotencial o de una célula progenitora más diferenciada de estirpe mieloide, afectando directamente la producción de todas las líneas celulares, provocando anemia, trombocitopenia y cifras de leucocitos bajas, normales o altas, dependiendo del número de células leucémicas en la sangre (Litchman, Kaushansky, Kipps, Prchal, Levi, 2014).

Esta leucemia debe ser diferenciada de otros trastornos, como la leucemia linfoblástica aguda (*LLA*), el síndrome mielodisplásico (*SMD*) ↓, ó la *LMA* en presencia de *SMD*, debido a que las estrategias terapéuticas y el pronóstico varían considerablemente entre ellas (Turgeon, 2011).

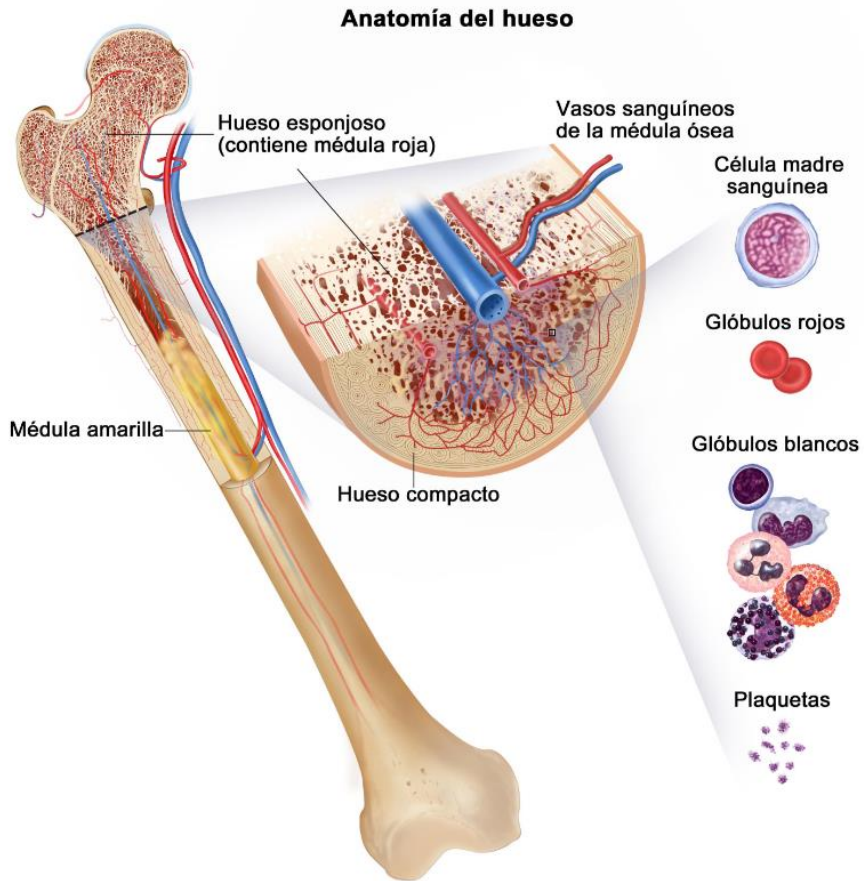


Figura 3.1 Médula ósea (Terese Winslow LLC, 2018). Lugar donde se lleva a cabo la hematopoyesis, ya que contiene las células madre que darán origen a los leucocitos, eritrocitos y plaquetas. Se encuentra en el interior de los huesos largos, vértebras, costillas, esternón, huesos del cráneo, cintura escapular y pelvis.

3.1.2 Etiología

La *LMA* resulta de una serie de mutaciones somáticas en una célula hematopoyética multipotencial, o en algunos casos, en una célula progenitora más diferenciada de linaje restringido de estirpe mieloide (ver figura [3.2](#) y [3.3](#)) (Litchman et al., 2014).

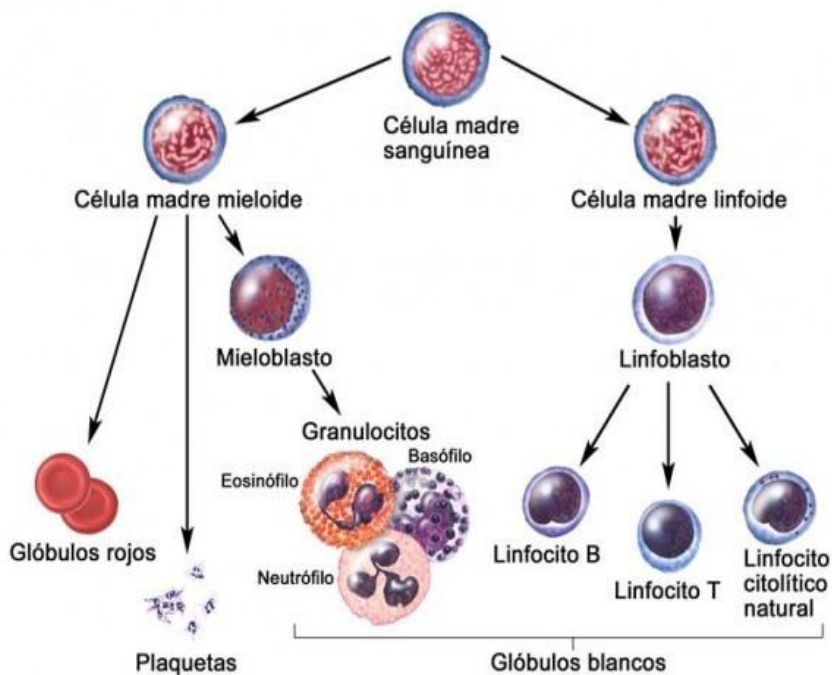


Figura 3.2 Estadios de la hematopoyesis normal (Terese Winslow LLC, 2018)

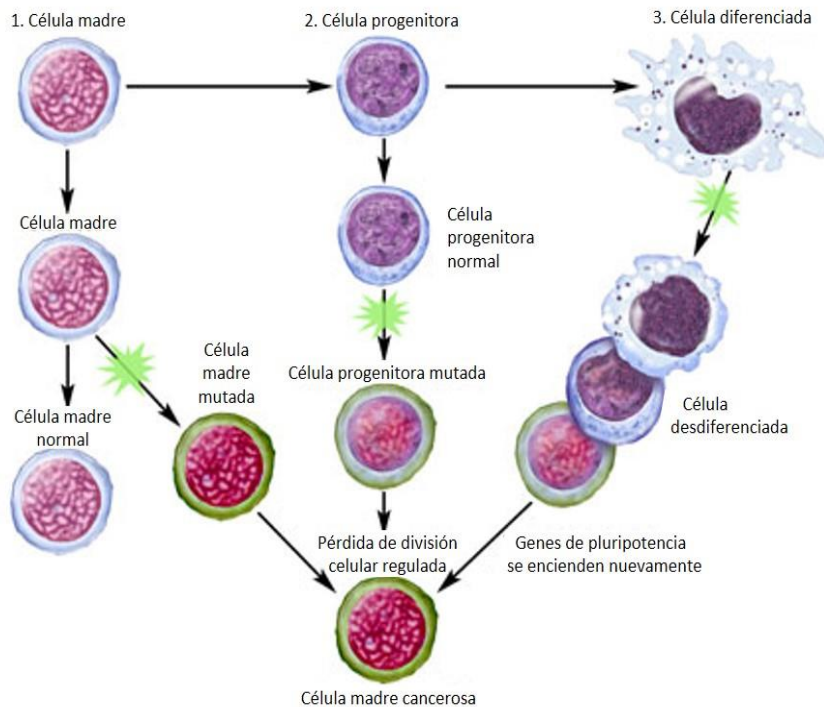


Figura 3.3 Estadios de la hematopoyesis alterada (Terese Winslow LLC, 2018)

La *LMA* requiere cuando menos dos tipos de mutaciones: una mutación oncogénica primaria, como la que afecta los genes de la subunidad del factor que se une al núcleo (CBF- β o RUNX1), y una mutación de activación en una cinasa de tirosina hematopoyética, como la cinasa 3 de tirosina parecida a *FMS* (FLT3). En la *LMA*, las mutaciones resultan en rutas de señalización desreguladas que alteran la diferenciación y la maduración, así como la regulación de la proliferación y de la supervivencia celular en diversas combinaciones (Litchman et al., 2014).

La mayoría son de *novo*, y se asocian a cambios citogenéticos adquiridos como translocaciones, deleciones, inversiones, etc. Estos cambios conducen a mutaciones de protooncogenes y a la formación de oncogenes. Con frecuencia, estos últimos codifican a factores de transcripción mutantes que resultan en trastornos de las vías de señalización celular que causan la transformación maligna. También pueden derivarse del progreso de otros trastornos mieloproliferativos y mielodisplásicos, por ejemplo: policitemia vera, trombocitemia esencial, citopenias clonales, leucemia mieloide crónica, *SMD*, etc. La mayoría de los casos no tiene ninguna causa conocida o definitiva. Sin embargo, se han encontrado factores genéticos predisponentes que favorecen su aparición, como: anemia de Fanconi, ataxia telangiectasia, hermanos univitelinos, síndrome de Down, síndrome plaquetario familiar (Litchman et al., 2014).

Como factores externos, ambientales o causales, la exposición a ciertos carcinógenos, entre los más conocidos para leucemia, son la radiación, (sobre todo las del tipo nuclear), el benceno y las sustancias alquilantes (Gargani, 2012).

Cabe señalar que la *Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer* (IARC[↓]) dio a conocer un listado de carcinógenos, donde son clasificados en cinco grupos de acuerdo a la solidez de la evidencia científica y en asociación con diferentes tipos de cáncer (ver tabla [3.1[↓]](#)) (Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer, 2017).

De acuerdo con las monografías de la *IARC*, un agente es definido como *carcinógeno* si produce un incremento en la incidencia de neoplasias malignas, ya sea reduciendo su tiempo de latencia o incrementando su gravedad o su capacidad de multiplicación (Espinosa et al., 2006).

Tabla 3.1 Clasificación general de los agentes carcinógenos (IARC, 2017)

GRUPO	TIPO	DEFINICIÓN	EJEMPLOS	NÚM DE AGENTES
1	Carcinógeno para los humanos	Evidencia suficiente en humanos. Relación causal establecida.	Tabaco, exposición a la radiación solar, bebidas alcohólicas, carnes procesadas.	120
2A	Probablemente carcinógeno para los humanos	Evidencia limitada en humanos. Evidencia suficiente en animales.	Emisiones por fritura en alta temperatura, esteroides, exposición ocupacional de peluquería, carne roja.	81
2B	Posiblemente carcinógeno para los humanos	Evidencia limitada en humanos. Evidencia insuficiente en animales.	Café, gasolina y emisiones de motor de gasolina, gases de soldadura, verduras encurtidas.	294
3	Carcinogenicidad no clasificable	Evidencia insuficiente en humanos y en animales.	Té, campos magnéticos estáticos, iluminación fluorescente, polietileno.	505
4	Probablemente no carcinógeno para los humanos	Evidencia no sugiere carcinogenicidad en humanos/animales.	Caprolactama, usado en la fabricación de fibras sintéticas.	1

En la tabla [3.2](#) se muestra el fragmento del listado de carcinógenos en relación al cáncer de interés, clasificados por evidencia suficiente ó limitada en humanos, en este caso se muestra únicamente la sección de las leucemias y/o linfomas.

Cabe mencionar que, no debe confundirse la finalidad de la clasificación, ya que la *IARC* no define el "riesgo" o probabilidad de daño a los seres humanos. Sólo considera la fuerza de la evidencia científica para establecer una posible o probable asociación con el cáncer. Es importante destacar que el riesgo no puede estar presente en los niveles diarios de exposición del agente que se evalúa. Así mismo, la peligrosidad de cada sustancia es única para cada agente, independientemente del grupo donde se encuentre clasificada la sustancia (Espinosa et al., 2006).

Tabla 3.2 Clasificación de carcinógenos en leucemias según evidencia (fragmento) (IARC, 2017)

CARCINÓGENOS PARA LEUCEMIAS Y/O LINFOMAS	
CON SUFICIENTE EVIDENCIA EN HUMANOS	CON EVIDENCIA LIMITADA EN HUMANOS
Azatioprina	Biscloroetil nitrosourea (BCNU)
Benceno	Cloranfenicol
Busulfán	DDT
1,3-Butadieno	Diazínón
Clorambutil	Diclorometano (cloruro de metileno)
Ciclofosfamida	Óxido de etileno
Ciclosporina	Etopósido
Virus de Epstein Barr	Glifosato
Etopósido con cisplatino y bleomicina	Virus de la hepatitis B
Productos de fisión, p.ej. estroncio-90	Campos magnéticos, de frecuencia extremadamente baja (leucemia infantil)
Formaldehído	Malatión
<i>Helicobacter pylori</i>	Mitoxantrona
Virus de la Hepatitis C	Mostaza nitrogenada
Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1	Pintura (leucemia infantil por exposición materna)
Virus linfotrópico de células T humano tipo 1	Refinación del petróleo, las exposiciones ocupacionales
Herpesvirus Sarcoma de Kaposi	Bifenilos policlorados
Lindano	Policlorofenoles o sus sales de sodio (exposiciones combinadas)
Melfalán	Radioyodos, incluyendo Yodo 131
MOPP (mezcla de mostaza de nitrógeno-vincristina-procarbazona-prednisona)	Radón-222 y sus productos de desintegración
Pentaclorofenol	Estireno
Fósforo-32	Tenipósido
Industria de la producción de caucho	Tricloroetileno
Semustina (metil-ccnu)	2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo- <i>para</i> -dioxina
Tiotepa	Consumo de tabaco (leucemia infantil en los hijos de los fumadores)
Torio-232 y sus productos de desintegración	Malaria (causada por la infección por <i>Plasmodium falciparum</i> en las zonas holoendémicas)
Consumo de tabaco	
Treosulfano	
Radiación X, radiación gamma	

Por otro lado, desde el advenimiento del estudio del cáncer, se han identificado factores que participan e influyen de forma positiva o negativa en la enfermedad oncológica; como lo son; edad, sexo, nivel socio-económico, raza, situación geográfica; además de aquellos factores que inciden indirectamente en la desnutrición del individuo (Rivera, 2002). A continuación se mencionan los diferentes factores:

- **Genéticos.** Las mutaciones pueden afectar genes que codifican los componentes de los mecanismos del control del ciclo celular (puntos de control), los cuales determinan el orden de los eventos en dicho ciclo, así como la fidelidad e integridad de los sistemas de replicación y reparación del DNA. Una alta frecuencia de rearrreglos génicos aberrantes puede condicionar una alta predisposición al desarrollo de cáncer. Por ejemplo, mutaciones en el gen p53, que participa en el control del ciclo celular, mejor conocido como un gen supresor de tumores (Rivera, 2002).
- **Ambientales.** La salud está ampliamente relacionada con las condiciones ambientales. Todos los cambios que pueda haber en el ambiente afectan directamente o indirectamente a la salud humana, de manera positiva o negativa. Los efectos que puede tener el ambiente en la salud depende del papel que la población tenga como moderador o agente en el ambiente. Además las características físicas de una zona son determinantes para que los contaminantes se concentren, se transformen o se dispersen en la atmósfera, alterando con dichos contaminantes la calidad del aire (Rivera, 2002).
- **Biológicos y Químicos.** De manera general, los contaminantes se clasifican en dos tipos: biológicos y químicos. Entre los factores biológicos se encuentran las bacterias, virus y algas. Referente a los agentes químicos, se dividen en orgánicos e inorgánicos; para los primeros, se encuentran los detergentes, solventes y plaguicidas. Los inorgánicos más frecuentes son los metales pesados. En ambos casos, esta gama de contaminantes termina por contaminar el agua y/o el suelo a través de la alta producción de desechos, emisiones

industriales, municipales y agrícolas, además de la deposición de metales, etc (Rivera, 2002).

- **Mecánicos y Físicos.** Por ejemplo la exposición a radiografías, maquinaria, rayo láser, ultrasonidos, radiaciones ionizantes, etc (Rivera, 2002).

3.1.3 Epidemiología

En México la información existente es poca y de difícil acceso para poder determinar de manera más precisa su verdadero impacto en la salud (Rizo, González, Sánchez y Murguía, 2015). Sin embargo, es posible vislumbrar la problemática gracias a estadísticos como el Globocan y a algunos estudios epidemiológicos que se han realizado en el país.

De acuerdo a la *OMS*, según el estudio del Globocan en 2012 (IARC, 2012), la leucemia en México ocupa el octavo lugar en incidencia¹ y mortalidad², con 56 y 37 casos respectivamente por millón de habitantes, como se observa en la tabla [3.3↓](#) y en las figuras [3.4↓](#), [3.5↓](#) y [3.7↓](#). Con cifras cercanas para la leucemia en general, se han reportado incidencias que van en diferentes estudios de 55.4, 57.6 y 58.4 casos por millón (Mejía et al., 2005) (Fajardo et al., 2007) (Pérez et al., 2011). Respecto a la prevalencia³ de 5 años, como se muestra en la tabla [3.3↑](#) y en la figura [3.6↓](#), se aprecia una cifra de 73 (IARC, 2012) casos por millón de habitantes de acuerdo al estudio del Globocan.

¹ Número de casos nuevos de enfermedad durante un periodo de tiempo en una cierta población [Portal del gobierno, 2018].

² Número de defunciones por causa de una enfermedad en un determinado periodo de tiempo en relación a la población total de una entidad geográfica [Portal del gobierno, 2018].

³ Número de casos existentes en una población que padece la enfermedad durante un periodo de tiempo determinado, sin distinguir si son casos nuevos o antiguos [Portal del gobierno, 2018].

Tabla 3.3 Epidemiología del cáncer en México según el Globocan (IARC, 2012)

Cancer	Incidencia			Mortalidad			Prevalencia por 5 años		
	Número	(%)	ASR (W)	Número	(%)	ASR (W)	Número	(%)	Prop.
Labio, cavidad oral	2791	1.9	2.5	767	1.0	0.7	6896	1.9	8.3
Nasofaringe	144	0.1	0.1	67	0.1	0.1	378	0.1	0.4
Faringe	508	0.3	0.5	328	0.4	0.3	1137	0.3	1.4
Esofaringe	1143	0.8	1.0	1055	1.3	0.9	1187	0.3	1.4
Estómago	7680	5.2	6.8	6281	8.0	5.5	12791	3.6	15.4
Colorrectal	8651	5.8	7.8	4694	6.0	4.1	21694	6.1	26.0
Hígado	6387	4.3	5.7	6068	7.7	5.3	4975	1.4	6.0
Vesícula biliar	1981	1.3	1.8	1861	2.4	1.7	2512	0.7	3.0
Páncreas	4274	2.9	3.8	4133	5.3	3.7	3048	0.9	3.7
Laringe	2479	1.7	2.3	891	1.1	0.8	6990	2.0	8.4
Pulmón	8439	5.7	7.5	7608	9.7	6.7	8099	2.3	9.7
Melanoma de piel	2031	1.4	1.8	612	0.8	0.5	5755	1.6	6.9
Sarcoma de Kaposi	88	0.1	0.1	31	0.0	0.0	221	0.1	0.3
Mama	20444	13.8	35.4	5680	7.2	9.7	75529	21.1	176.7
Cervicouterino	13960	9.4	23.3	4769	6.1	8.1	47000	13.1	110.0
Endometrio	2733	1.8	4.8	550	0.7	1.0	9847	2.7	23.0
Ovario	3277	2.2	5.6	2105	2.7	3.6	9048	2.5	21.2
Próstata	14016	9.5	27.3	6367	8.1	11.3	41088	11.5	101.3
Testículos	1742	1.2	2.8	443	0.6	0.7	5060	1.4	12.5
Riñón	3851	2.6	3.5	2115	2.7	1.9	10047	2.8	12.1
Vejiga	3245	2.2	2.9	1166	1.5	1.0	9330	2.6	11.2
Cerebro, sistema nervioso	4446	3.0	3.9	2237	2.8	2.0	6527	1.8	7.8
Tiroides	3036	2.1	2.6	702	0.9	0.6	11930	3.3	14.3
Linfoma de Hodgkin	1543	1.0	1.3	598	0.8	0.5	4250	1.2	5.1
Linfoma No-Hodgkin	4632	3.1	4.1	2558	3.2	2.3	8700	2.4	10.4
Mieloma Múltiple	1380	0.9	1.3	1029	1.3	0.9	2418	0.7	2.9
Leucemia	6325	4.3	5.6	4264	5.4	3.7	6100	1.7	7.3
Todos los cánceres excepto cáncer de piel no melanoma	147985	100.0	131.5	78719	100.0	68.9	358363	100.0	430.2

Datos de incidencia y mortalidad para todas las edades. Prevalencia por 5 años sólo para población adulta.
ASR(W) y proporciones por cada 100,000 habitantes por año.

Más concretamente para la *LMA* en México, se ha reportado que la incidencia entre los años de 1996 y 2000, se encontraba entre 9.8 y 10.6 por millón de habitantes (Mejía et al., 2005) (Fajardo et al., 2007), y posteriormente para 2006 y 2007 la incidencia encontrada fue de 6.8 por millón de habitantes (Pérez et al., 2011); valor similar a las cifras reportadas de Canadá, EEUU e Inglaterra (6.3, 6.0, 6.3 respectivamente (Parkin et al., 1998). Cabe señalar que la mayor incidencia reportada es la de Nueva Zelanda, Shangai y Japón con una frecuencia menor en EEUU y Europa (Rivera, 2002).

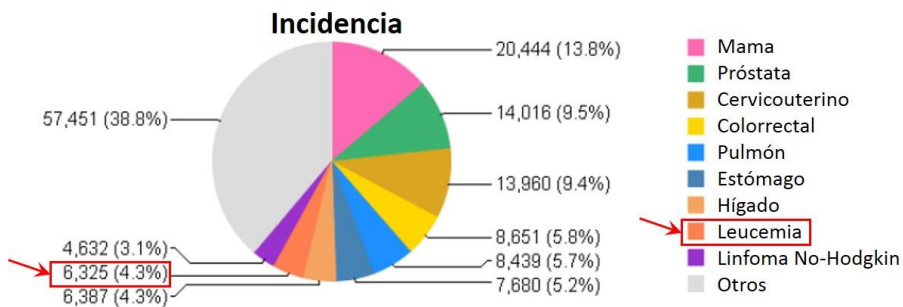


Figura 3.4 Incidencia del cáncer en México (IARC, 2012)

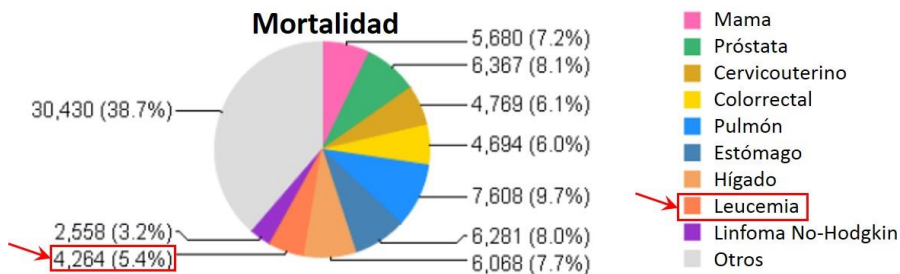


Figura 3.5 Mortalidad del cáncer en México (IARC, 2012)

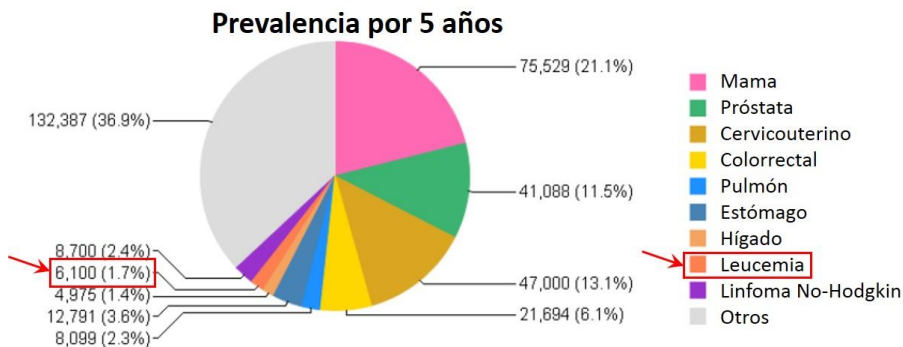


Figura 3.6 Prevalencia del cáncer en México (IARC, 2012)

Además se ha encontrado relativamente una mayor incidencia en grandes ciudades del país, como la Ciudad de México, Guadalajara, Monterrey y Puebla, lo cual probablemente está relacionado al diagnóstico que pudiera ser más preciso en estos sitios (Rivera, 2002).

Por otro lado se ha propuesto que la *LMA M3* es el subtipo más frecuente en la población mexicana, tanto en niños, como en adultos (Fajardo et al., 2007). Sin embargo en un estudio similar se encontró que el subtipo predominante fue la *LMA M2* seguida de la *LMA M4* (Pérez et al., 2011).

MÉXICO
Tasas estimadas de incidencia y mortalidad estandarizadas por edad en una población de ambos sexos

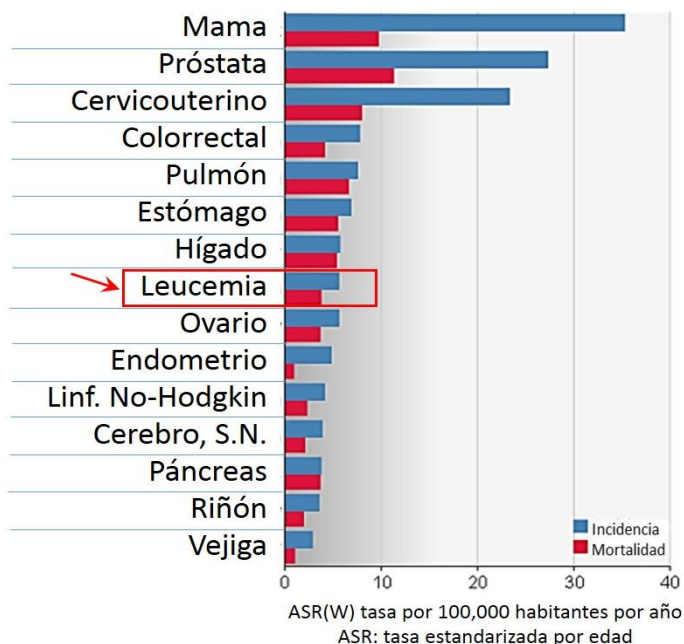


Figura 3.7 Histograma comparativo de incidencia vs mortalidad del cáncer en México (IARC, 2012)

En la figura 3.8 se observan los diferentes índices de incidencia para diversos tipos de leucemia en pacientes pediátricos que van de 0 a 14 años. Correspondiente para la *LMA*, se observan dos picos importantes, el primero en la edad de 1 año y el segundo de 10 a 11 años (Pérez et al., 2011).

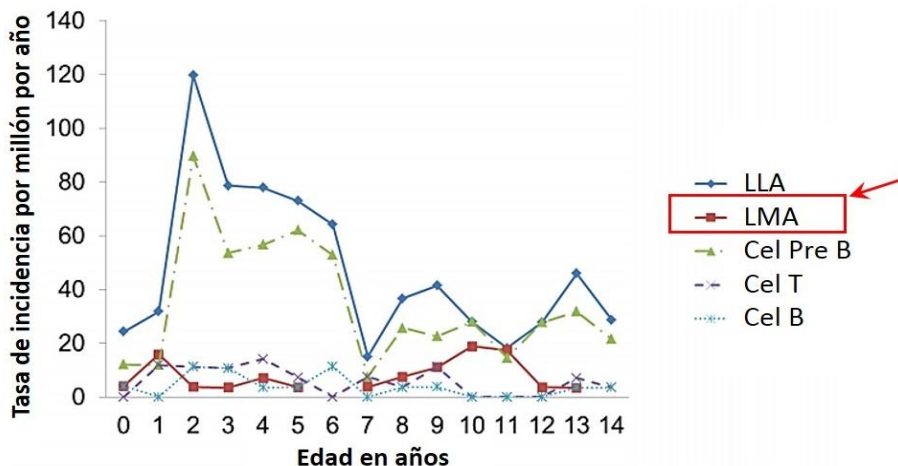


Figura 3.8 Incidencia de leucemias en pediátricos de la CDMX (2006-2007) (Pérez et al., 2011)

3.1.4 Clasificación

A través de los años, la clasificación de la leucemia ha sido principalmente descriptiva, que estaba abierta a la crítica regular, a la revisión y reevaluación. Durante los últimos 20 años, se han estado utilizando las características morfológicas para tratar de definir a la leucemia.

Existen dos clasificaciones diferentes y complementarias entre sí. La primera de ellas, fue creada en 1976 (y posteriormente actualizada) por el grupo Franco-Americano-Británico (*FAB*), se basa en la descripción

morfológica y citoquímica de las células neoplásicas comparándolas con los precursores hematopoyéticos normales (Duque et al., 2006) (Gargani, 2012).

La segunda, publicada en el 2002 (y actualizada posteriormente en el 2008) por la *OMS*, utiliza la citometría de flujo, la citogenética, la inmunohistoquímica, el análisis de la historia clínica, la influencia de terapias citotóxicas y la comorbilidad con otros desórdenes hematológicos, lo cual permite obtener una mayor eficacia clínica y terapéutica (Duque et al., 2006).

3.1.4.1 Clasificación FAB

Basada en la morfología celular con tinción de Wright (Turgeon, 2011) ó de May-Grunwald-Giemsa (MGG) (Buga et al., 2014) en sangre periférica ó médula ósea y la citoquímica de blastos de médula ósea.

En el sistema *FAB*↓, más de 30% de blastos en médula ósea son suficientes para el diagnóstico de leucemia aguda en cualquiera de sus categorías (Turgeon, 2011).

Este sistema subdivide a la *LMA* en once subtipos que van desde la M0 a M7 (ver tabla [3.5↓](#)), basándose en el tipo de célula leucémica, así como la madurez de ésta.

A continuación se mencionan sus características principales en la tabla [3.4↓](#), así como información complementaria en lo que respecta a su morfología en la tabla [3.5↓](#), a su citoquímica en la tabla [3.6↓](#) y a sus marcadores inmunológicos de superficie en la tabla [3.7↓](#).

Tabla 3.4 Clasificación FAB y características de LMA (Neame et al., 1986) (Palomo, Pereira y Palma, 2009) (Turgeon, 2011) (Buga et al., 2014)

SUBTIPO	VARIANTE	CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES
M0	LMA indiferenciada ó con mínima diferenciación mielóide	La población blástica está formada por grandes mieloblastos, agranulares que a veces pueden confundirse con los LLA-L2. El diagnóstico no puede establecerse ciertamente en microscopía óptica, pero sí con microscopía electrónica, basado en la presencia de granulaciones citoplasmáticas. Además de otras pruebas que expresen algunos antígenos pertenecientes a la línea mielóide en las células blásticas, así como expresar la ausencia de antígenos específicos de la línea linfóide.
M1	LMA sin maduración	El 80-90% de la población blástica son células no eritroides, se compone de mieloblastos grandes con granulaciones azurofílicas raras. Los cuerpos de auer (gránulos primarios con forma de aguja) están presentes en el 50% de los casos. El diagnóstico es positivo si más del 3-5% de las células reaccionan positivamente a MPO (mieloperoxidasa) o sudán negro. El estudio morfológico por sí solo no puede diferenciar este subtipo de LMA de LLA.
M2	LMA con maduración	El 30-80% de las células no eritroides son mieloblastos muy bien diferenciados, caracterizados por un rico citoplasma y un gran número de granulaciones azurofílicas. Los cuerpos de auer están presentes en el 65% de los casos. Es un grupo heterogéneo, que comprende todas aquellas LMA con 10% o más de elementos de diferenciación mielóide y menos de 20% de componente monocítico. La reacción de MPO es intensamente positiva, al igual que la de sudán negro. Un 18% de las LMA M2 poseen la t(8;21)
M3	Leucemia promielocítica aguda	Constituye el 10-15% de las LMA. La población mielóide está dominada por la presencia de promielocitos patológicos, células grandes con núcleo redondeado, citoplasma abundante, hipergranulares y azurofílicas, con cuerpos de auer aglomerados, a veces enmascarando el núcleo. La reacción de MPO es muy intensa. En la clasificación de la OMS, esta variedad pasa a constituir una LMA con alteración citogenética específica con t(15;17).
M3v	Leucemia promielocítica aguda variante microgranular	Muestra células con núcleos bilobulados, multilobulados o de núcleo reniforme (negativo para NSE) y relativa escasez de promielocitos hipergranulares o de células primitivas con múltiples cuerpos de auer.

(Nota: continuación de la Tabla 3.4)

SUBTIPO	VARIANTE	CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES
M4	Leucemia mielomonocítica aguda	Los precursores de las líneas granulocítica y monocítica están presentes en la médula en proporciones variables, cada línea representa más del 20%, pero no más del 80% de las células nucleadas. Los mieloblastos contienen cuerpos de auer. Los monoblastos son más grandes que los mieloblastos, tienen un núcleo redondeado, nucleolos obvios, abundante citoplasma que contiene granulaciones azurófilas y cromatina que está delicadamente dispersa. Hay un alto número de monocitos y promonocitos en la sangre periférica. La reacción de MPO y esterasas completa el diagnóstico de certidumbre. Las alteraciones citogenéticas corresponden a trisomía 4, inv(3), del (5), t(6;9) que fusiona el gen CAN con el gen DEK.
M4eo	Leucemia mielomonocítica aguda variante eosinófila	Tiene los mismos criterios que M4, pero además, están presentes eozinófilos anormales con eozinófilos y gránulos basófilos displásicos. Es descrita por la OMS como LMA con alteración citogenética específica del cromosoma 16(16q;22) siendo más frecuente la inv(16) seguida de la t(16;16) y del(16). Corresponde al 5% de las LMA y a un 20% de las LMA M4.
M5a	Leucemia monocítica aguda (> 80% monoblastos)	Al menos un 80% de las células no eritroides corresponden a blastos de origen monocítico. En la clasificación FAB se distinguen dos variedades: (a) variedad M5a: poco diferenciada o monocítica, donde el 80% de las células corresponde a blastos monocíticos, peroxidasa (-), esterasa (+) inhibición por fluoruro (+). En caso de observarse imágenes de eritofagocitosis, puede encontrarse la translocación t(8;16).
M5b	Leucemia monocítica aguda (< 80% monoblastos)	(b) Variedad M5b: es la forma diferenciada, predomina los monocitos y promonocitos, con su característica forma de núcleo arrifonado y citoplasma grisáceo.
M6	Eritroleucemia Aguda (Leucemia de Guglielmo)	Corresponde a un 4% de las LMA. Los precursores de eritrocitos (eritroblastos) representan más del 50% de las células nucleadas en médula ósea, con modificaciones megaloblásticas y anomalías nucleares como las de la mielodisplasia. Más del 20% de las células nucleadas son mieloblastos. Los cuerpos de auer se presentan en 2/3 de los casos. Desde el punto de vista citoquímico, los eritroblastos son positivos para la reacción PAS y esterasa. Es posible reconocer dos variedades: (a) M6a con maduración, que no posee hiato de maduración eritroide y (b) M6b sin maduración que posee más de un 25% de proeritroblastos y eritroblastos basófilos. Las alteraciones citogenéticas suelen ser complejas afectando a los cromosomas 1, 5, 7, 8 y 21.
M7	Leucemia mieloides megacarioblástica (ó megacariocítica)	Esta variedad representa el 8% de las LMA. Consiste en numerosos megacarioblastos en diferentes estadios de diferenciación: - formas más pequeñas indiferenciadas, núcleo con cromatina densa, nucleolos apenas visibles, citoplasma reducido. - formas más grandes diferenciadas, con delicada cromatina granular, abundante citoplasma con granulaciones azurófilas. El diagnóstico se especifica por los exámenes citoquímicos, inmunofenotípicos (la presencia de marcadores específicos) y ultraestructurales (la presencia de plaquetas positivas para peroxidasa). Es el fenotipo frecuente en la LMA del síndrome de Down.

Tabla 3.5 Morfología de los subtipos de LMA según clasificación FAB (Turgeon, 2011)

MORFOLOGÍA	CLASIFICACIÓN	NÚCLEO	NUCLEOLO	CROMATINA	CITOPLASMA
	M0 Mieloblástica (minimamente diferenciada)	Redondo a ovalado	Único a múltiple, distinguible	Fina a gruesa	Escaso, no granulado
	M1 Mieloblástica (sin maduración)	Redondo a ovalado	Único a múltiple, distinguible	Fina	Escaso, variablemente granulado
	M2 Mieloblástica (con maduración)	Redondo a ovalado	Único a múltiple, distinguible	Fina	Granulos azurofilicos moderados con o sin bastones de Auer
	M3 Mielocítica	Redondeado a mellado a lobulado	Único a múltiple, (gránulos posiblemente oscuros)	Fina	Granulos azurofilicos prominentes y/ó múltiples bastones de Auer
	M4 Mielomonoblástica (bifásica M1 y M5)	Redondo a mellado, plegado	Único a múltiple, distinguible	Fina	Moderado, azul a gris, puede ser granulado
	M5 Monoblástica	Redondo a mellado, plegado	Único a múltiple, distinguible	Variable, laxa a viscosa	Escaso a moderado, gris azulado, gránulos lavanda
	M6 Eritroblástica	Único a _ multinucleado, multilobulado	Único a múltiple, distinguible	Abierto "megaloblastoide"	Abundante, rojo a azul
	M7 Megacarioblástica	Redondo a ovalado	Único a múltiple, distinguible	Ligeramente a moderadamente reticulado	Escaso a moderado, gris azulado, con vesículas

Tabla 3.6 Citoquímica de los subtipos de LMA según clasificación FAB (Buga et al., 2014)

	M0	AML, APL (M1-M3)	AMML (M4)	AMoL (M5)	AEL (M6)	AMKL (M7)	ALL
Reacciones que son inhibidas por fluoruros							
Mieloperoxidasa	-	+	+	-	-	-	-
Esterasas inespecíficas							
Cloroacetato	-	+	+	±	-	-	-
Alfa-naftil-acetato	-	-	+ ^a	+ ^a	-	± ^a	-
Negro Sudán B	-	+	+	-	-	-	-
PAS	-	-	±	±	+	-	+

Tabla 3.7 Marcadores inmunológicos de LMA según clasificación FAB (Buga et al., 2014)

SUBTIPO FAB	MARCADORES INMUNOLÓGICOS DE SUPERFICIE										
	HLA-DR	CD11b	CD13	CD14	CD15	CD33	CD34	Glicoforina	CD41	CD42	CD61
M0			+			+	+				
M1/M2	+				+	+	+				
M3/M3V		+	+		+	+	+				
M4/M5	+	+	+	+	+	+	+				
M6	+		+			+	+	+			
M7	+		+			+	+		+	+	+

3.1.4.2 Clasificación de la OMS

Esta clasificación fue publicada en el año 2002, y actualizada en el 2008. Ha sido la más completa y compleja; difiere significativamente de la clasificación *FAB* por los siguientes puntos (Buga et al., 2014) (Gargani, 2012):

- Reduce el porcentaje de blastos medulares que diferencia el *SMD* de la *LMA*, del 30% al 20%, es decir, se requiere un mínimo de 20% de blastos en médula ósea para el diagnóstico de leucemia aguda.
- La inclusión de criterios citogenéticos y/o alteraciones moleculares identificadas recientemente. Los reordenamientos cromosómicos tienen valor pronóstico, por ejemplo: la t(15;17), t(8;21) y la inversión de 16, tienen mejor pronóstico que la monosomía 7.
- La inclusión de casos precedidos por síndromes mieloproliferativos y/o mielodisplásicos crónicos.
- La inclusión de displasia de multilinaje con o sin precedentes medulares.
- La inclusión de casos secundarios a terapia citotóxica.
- La introducción de los nuevos subtipos morfológicos.

En la tabla [3.8](#) se muestra la clasificación de la *LMA* según la *OMS*. Sus principales características son las siguientes:

Tabla 3.8 Clasificación de LMA según la OMS (Flandrin, 2002) (Palomo et al., 2009) (Turgeon, 2011) (Buga et al., 2014) (Keohane, Smith y Walenga, 2016)

I. LMA con alteraciones citogenéticas recurrentes
• LMA con t(8;21)
• LMA con inv(16) o t(16;16)
• LPA con t(15;17)
• LMA con t(11;17)
• LMA con alteraciones en el 11(q23)
• LMA con t(9;11)
• LMA con t(6;9)
• LMA con t(1;22)
• LMA con t(8;16)
II. LMA con displasia multilineal
• De <i>novi</i> pero con displasia en mínimo 50% de las células, de al menos dos líneas celulares
• Secundarias a SMD o SMP
III. LMA secundaria
• Tipo alquilante/radiación
• Inhibidores de topoisomerasa II
IV. LMA no categorizadas
• LMA, mínimamente diferenciada
• LMA sin maduración
• LMA con maduración
• LMA mielomonocítica
• LMA monocítica
• Leucemia aguda eritroide
• Leucemia aguda megacarioblástica
• Leucemia aguda basofílica
• Panmielosis aguda con mielofibrosis
• Sarcoma mieloide
V. LMA con linaje ambiguo
• Leucemia aguda indiferenciada
• LMA bilinear
• LMA bifenotípica

En el primer grupo se encuentran los pacientes identificados con alteraciones citogenéticas o genético-moleculares específicas. El 30% de las *LMA* corresponden a esta categoría. Poseen un buen pronóstico, ya que en conjunto obtienen cerca de un 80% de supervivencia libre de enfermedad (SLE) (Palomo et al., 2009).

En el segundo grupo, se encuentran los pacientes con displasia multilineal en el análisis citológico. Esta afección ocurre mayormente en adultos y raramente en niños. Los pacientes de esta categoría poseen recuentos bajos de por lo menos dos líneas celulares, además de que dichas células se observan morfológicamente anormales bajo el microscopio. La *LMA* puede derivarse de un *SMD* o de un Síndrome Mieloproliferativo (*SMP*↓), sin embargo, también pueden ser de *novo*, y en dicho caso, el diagnóstico se complica. Cabe señalar que la *OMS* exige evaluar la displasia de acuerdo a los criterios estándar (displasia presente en >50% de cada línea celular). El pronóstico de esta variedad no es nada favorable, además de la escasa respuesta a los tratamientos (Palomo et al., 2009).

En el tercer grupo, se incluyen dos categorías. La primera, los casos de larga exposición a agentes tóxicos, como el tabaquismo o químicos ocupacionales (p.ej. benceno, petroquímicos, etc.). Y la segunda, corresponde a los pacientes que recibieron una administración prolongada de quimioterapia (agentes alquilantes, inhibidores de la topoisomerasa II) y/o radioterapia como tratamiento de otra neoplasia mayor que requería terapia citotóxica. Esta *LMA* ocurre después de un periodo de latencia de algunos años. El pronóstico generalmente no es favorable (Flandrin, 2002).

En el cuarto grupo, se encuentran todas las *LMA* que no encajan en las categorías anteriores. Es similar a la clasificación *FAB*, sin embargo, no incluye la Leucemia Promielocítica Aguda (*LPA*) y además se añaden otras categorías como la leucemia aguda basofílica, la panmielosis aguda con mielofibrosis y el sarcoma mieloide (Palomo et al., 2009).

En el quinto grupo, se encuentran los casos de leucemias en los cuales no hay clara evidencia de diferenciación de una sola línea celular (leucemia aguda indiferenciada). También se incluyen las leucemias agudas mixtas que demuestran la multiplicidad de antígenos donde no es posible determinar un linaje específico, es decir presentan marcadores mieloides y linfoides (quiméricas) (Litchman et al., 2014) (Keohane et al., 2016).

3.1.5 Sintomatología clínica

Los pacientes muestran un cuadro agudo con (Gargani, 2012) (Litchman et al., 2014):

- Anemia, palidez, malestar general, fatiga, debilidad, palpitaciones, disnea por esfuerzo.
- Sudoraciones y fiebre (en algunas ocasiones).
- Anorexia y pérdida de peso.
- Infecciones piógenas menores (tórax, boca, piel).
- Trombocitopenia, equimosis, petequias, epistaxis, hemorragias gingivales, hemorragias conjuntivales y hemorragias prolongadas posteriores a cortaduras menores.
- Infiltración cutánea (encías M4/M5).
- Leucostasis. Los síntomas leucostáticos se producen cuando un exceso de leucocitos aumenta la viscosidad de la sangre. Esto provoca oclusiones en el corazón, los pulmones y el encéfalo. Los síntomas son una reducción de la conciencia, hemorragias retinianas e infiltrados pulmonares.
- Niveles séricos elevados de ácido úrico y lactato deshidrogenasa (*LDH*). Posiblemente en leucemias agudas, el organismo tratando de restablecer su homeostasis, cause alguna clase de destrucción o lisis masiva de todas las células sanguíneas, ocasionando una relación directa con:
 - Niveles séricos elevados de ácido úrico. Componente nitrogenado producto del catabolismo de purinas (bases

nitrogenadas que forman el DNA), que se encuentran en células nucleadas como en leucocitos (Pagana K. y Pagana T., 2015).

- Niveles séricos elevados de *LDH*↓. Enzima intracelular de muchos tejidos corporales; la *LDH* total está compuesta por cinco fracciones separadas (isoenzimas); una de ellas, la DL1 se encuentra predominante en el corazón, corteza renal, cerebro y *eritrocitos* (Rivera, 2002). Debido a la lisis de eritrocitos, la *LDH* se libera a torrente sanguíneo (Pagana K. y Pagana T., 2015).
- Anemia, relacionado con bajo número de eritrocitos (Pagana K. y Pagana T., 2015).
- Trombocitopenia, bajo nivel de plaquetas en torrente sanguíneo.

3.1.6 Métodos de detección y diagnóstico

El trabajo de diagnóstico incluye lo siguiente (Buga et al., 2014):

- Anamnesis (historia previa, edad, datos clínicos)
- Examinación clínica + índices antropométricos
- Hemoleucograma + fórmula leucocitaria en frotis de sangre periférica
- Examen de la médula ósea (citología, citoquímica, inmunofenotipificación, citogenética, análisis molecular)
- Punción lumbar, si el paciente se muestra asintomático
- Perfil bioquímico (glucosa, urea, nitrógeno uréico, creatinina, ácido úrico, colesterol total, colesterol de alta densidad, colesterol de baja densidad, índice aterogénico, triglicéridos, proteínas totales, albúmina, globulina, relación albúmina-globulina, bilirrubina total, bilirrubina directa e indirecta, transaminasa glutámicooxaloacética, transaminasa glutámipirúvica, gamaglutamiltranspeptidasa, fosfatasa alcalina, amilasa, hierro, lactato deshidrogenasa, calcio)

- aPPT (tiempo de tromboplastina parcial activado), PT (tiempo de protrombina), fibrinógeno (\pm monómeros de fibrina, PDF [productos de degradación de la fibrina])
- Radiografía de tórax
- Evaluación cardíaca (ECG, ultrasonido), antes del tratamiento de antraciclina
- Estado infeccioso (VZV [virus varicela zóster], CMV [citomegalovirus], HSV [virus herpes simple], HBV [virus de hepatitis B], HCV [virus de hepatitis C])
- Grupo sanguíneo, factor Rh
- Tipificación HLA (antígeno leucocitario humano), en pacientes que son posibles candidatos al trasplante hematopoyético de células madre

3.1.7 Tratamiento

La *LMA* al ser una enfermedad altamente progresiva, el paciente de no ser tratado, puede morir en cuestión de días o semanas (Palomo et al., 2009). Primeramente se debe informar al paciente y familiares de la situación de salud crítica, así como establecer las metas del tratamiento personalizado (Hoffbrand, Catovsky y Tuddenham, 2005).

Posteriormente de no existir contraindicaciones particulares, se instaurará el tratamiento lo antes posible, a menudo como un ensayo clínico, pero siempre por especialistas (Gargani, 2012).

La selección de la terapia ideal en la actualidad debe depender de varios aspectos: factores pronósticos clínicos, biológicos y económico-sociales, además de protocolos óptimos de tratamiento, de tal manera que se les pueda ofrecer las mejores y máximas opciones de curación (Rivera, 2002).

La estrategia clínica inicial consiste en aplicar quimioterapia para mejorar la función de la médula al inducir *remisión completa* (RC). La definición conceptual de *RC* está basada en la premisa de que menos

del 5% de células blásticas deben estar presentes en médula ósea y durante al menos 28 días mantener un recuento de neutrófilos periféricos de $1.5 \times 10^9/L$, un conteo plaquetario de $> 100 \times 10^9/L$ y la ausencia de enfermedad extramedular (Hoffbrand et al., 2005).

La quimioterapia consiste en 3 fases: inducción (hasta conseguir la remisión), consolidación o intensificación y mantenimiento.

El protocolo clásico de inducción a la remisión incluye una antraciclina (daunorrubicina [DNR]) + arabinósido de citosina (Ara-C), por 3 y 7 días respectivamente, constituyendo así el “esquema 3+7” (Palomo et al., 2009). Generalmente incluye las primeras 4-6 semanas después del diagnóstico (Rivera, 2002).

En la fase de consolidación se administra quimioterapia a pacientes con RC post-inducción con dosis semejantes o reducidas respecto a la primera fase, ó puede ser de intensificación cuando se utilizan altas dosis de Ara-C (Palomo et al., 2009). Comúnmente la duración de este periodo comprende desde la semana 5 a la semana 28 (Rivera, 2002).

La fase de mantenimiento consiste en la aplicación de ciclos de quimioterapia durante los 2-3 años posteriores de remisión ó hasta completar los 30 meses desde el diagnóstico; sin embargo se ha observado que no es útil para LMA a diferencia de la LLA↓ (Palomo et al., 2009) (Rivera, 2002).

Y si el paciente continua en RC al final de la fase de consolidación, en casos muy particulares, la opción es el trasplante de células madre autólogo o alogénico, o también conocido como trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) (Gargani, 2012). El trasplante alogénico principalmente se ha dado a través de donadores compatibles no relacionados. Respecto al trasplante autólogo, se han realizado esfuerzos con poco éxito con médula ósea autóloga y células madre periféricas (Rivera, 2002).

3.1.8 Pronóstico

Existen diversas características que influyen en el pronóstico de la terapia, como la edad del paciente: a mayor edad, disminuye tanto la probabilidad de remisión como la duración de la respuesta (Litchman et al., 2014).

También influyen otros aspectos del paciente como: el historial clínico y la sintomatología en curso, el subtipo de *LMA*, si es secundaria o de *novo*, la cuenta inicial de leucocitos, los datos del cariotipo, la presencia de infecciones, entre otros (Fey, Greil y Jost, 2005).

Se han asociado algunas características clínicas a un pronóstico adverso, como un recuento de glóbulos blancos $>30,000/\mu\text{l}$, leucemia extramedular, edad avanzada, estado de bajo rendimiento, *LMA* secundaria a un desorden mielodisplásico o mieloproliferativo, *LMA* relacionada con terapia (quimioterapia o radiación) (Lin y Smith, 2011). Respecto a la cuenta leucocitaria, una cifra $>30 \times 10^9/L$ o de células blásticas $>15 \times 10^9/L$ disminuye la probabilidad y duración de la remisión (Litchman et al., 2014).

Por otra parte, en la *LMA* posterior a terapia citotóxica previa por otra enfermedad, citopenia clonal o leucemia oligoblástica (síndromes mielodisplásicos) la tasa de remisión es significativamente menor y la remisión, más breve, en promedio, respecto de la *LMA* de *novo* (Litchman et al., 2014).

Sin embargo, el marcador pronóstico más importante en la actualidad se considera que es la citogenética, ya que puede predecir la respuesta de la inducción a la remisión, la recaída y la supervivencia. Es por ello que se ha categorizado el riesgo de acuerdo a la citogenética del paciente (ver tabla [3.9↓](#)), en favorable, intermedio, reservado (desfavorable ó adverso) y desconocido (Espirito et al., 2017).

Las anomalías citogenéticas como inv(16), t(16;16), del(16q), t(8;21) o t(15;17) apuntan a un mejor pronóstico, mientras que con -5, del(5q), -7, del(7q), t(9;22), alteraciones en 11q23 y otras, el pronóstico es más negativo. Con cariotipo normal, +6, +8 y otros, la perspectiva es intermedia (Litchman et al., 2014) (ver tabla [3.9](#)↓).

Tabla 3.9 Categorías de pronóstico según la citogenética de la LMA (Giles et al., 2002) (Lin y Smith, 2011) (Medinger, Lengerke y Passweg, 2016)

	Cariotipo
Favorable	
	t(8;21)(q22;q22)
	inv(16)(p13q22) ó t(16;16)(p13;q22)
	t(15;17)(q21;q11)
	Variantes:
	t(11;17)(q23;q11)
	t(5;17)(q32;q11)
	t(11;17)(q13;q11)
Intermedio I	
	+8
	cariotipo normal
Intermedio II	
	-Y, +6
	t(9;11)(p22;q23)
	Otros cariotipos no categorizados como favorables o reservados
Reservado	
	Abn 11q23
	Variantes:
	t(4;11)(q21;q23)
	t(11;19)(q23;p13.1)
	t(11;19)(q23;p13.3)
	inv(3)(q21q26) ó t(3;3)(q21;q26)
	t(6;9)(p23;q34)
	-5 / del(5q)
	-7 / del(7q)
	Otros: 20q, 21q, del(9q), t(9;22), abn 17p, cariotipos complejos (≥3 clonas)

3.2 Citogenética convencional y molecular

El genoma humano consiste en 3×10^9 pares de bases (pb) de DNA distribuido en los 23 pares de cromosomas dentro del núcleo de todas nuestras células. Se estima que existen aproximadamente 30,000 genes en nuestro genoma. Los cromosomas humanos tienen entre 50,000,000 a 300,000,000pb (NIH, 2011). El límite de resolución al microscopio impide el reconocimiento de regiones genómicas más pequeñas que 2 a 3 millones de pb, es decir, extensiones de cromosoma suficientes para acomodar de 50 a 100 genes. En contraste, las pruebas moleculares génicas son procedimientos capaces de discernir diferencias tan pequeñas como de 10 a 50pb en fragmentos de genes clonados individuales. La fuerza de la citogenética no reside en la caracterización de la estructura de los genes, pero es muy útil en la localización de rearrreglos mayores, que después pueden ser caracterizados a nivel génico por métodos de análisis del DNA (Turgeon, 2011).

Los avances metodológicos han hecho posible que un número significativo de tumores sea analizado exitosamente por citogenética convencional con diferentes técnicas de bandeado, así como citogenética molecular con *FISH* y *HGC* (Rivera, 2002). Hoy en día, las herramientas en citogenética molecular permiten detectar alteraciones cromosómicas de tamaño menor a 3 megabases (Mb) o rearrreglos muy complejos, imposibles de detectar con citogenética convencional, esto ha permitido la identificación de anomalías cromosómicas imperceptibles al ojo humano (Paz y López, 2014).

Así mismo, gracias a los avances en biología molecular, fue factible identificar genes relacionados con las distintas neoplasias hematológicas. Existen varias técnicas disponibles para la localización de los mismos en los cromosomas. El descubrimiento de los genes al día de hoy, permite realizar tratamientos más específicos y focalizados en cada paciente (Benasayag y Gallino, 2010).

La citogenética clínica contribuye al entendimiento de problemas genéticos adquiridos o de *novo*, gracias a su método clásico de cribado de baja potencia (cariotipo), pero suficiente para detectar trozos aislados o desaparecidos de un cromosoma (Turgeon, 2011).

3.2.1 Cromosomas, morfología y nomenclatura

Los cromosomas están formados por dos cromátides unidas en el centrómero (constricción primaria), regiones terminales o telómeros y en ocasiones pueden presentar satélites, separados del cromosoma por una constricción secundaria. El centrómero divide al cromosoma en dos brazos: corto (p) y largo (q) (Paz y López, 2014).

En la figura [3.9↓](#) se puede observar tanto la morfología como los diferentes tipos de cromosomas que se pueden encontrar en el ser humano.

De acuerdo a su posición, los cromosomas se clasifican en (Paz y López, 2014):

a) Metacéntrico: Cuando sus brazos son equidistantes con respecto al centrómero y por lo tanto sus cromátides son de la misma longitud.

b) Submetacéntrico: Cuando la localización del centrómero tiende hacia uno de los extremos, por lo que los brazos de las cromátides son desiguales.

c) Acrocéntrico: Cuando el centrómero se localiza en la región subterminal formando brazos muy pequeños, generalmente con satélites.

d) Telocéntrico: Cuando el centrómero se ubica en la región terminal del cromosoma, no existen brazos p, este tipo de cromosoma no está presente en el humano.

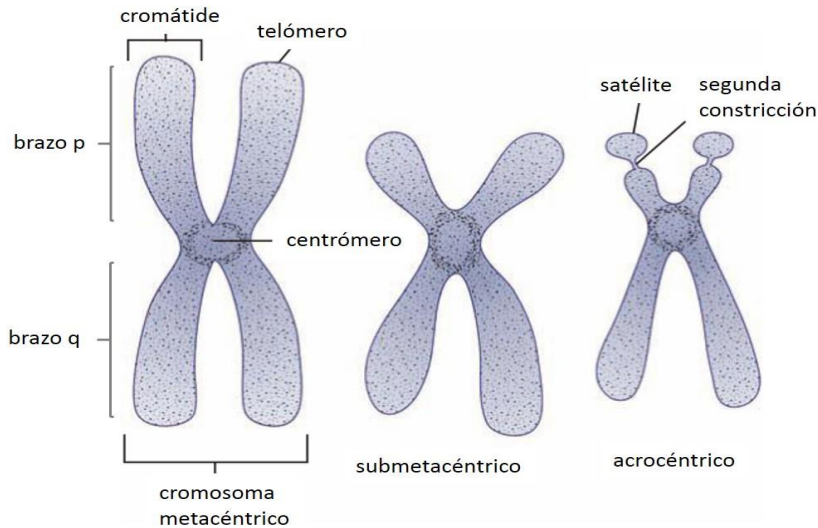


Figura 3.9 Morfología de los cromosomas humanos (Keohane et al., 2016)

Se utiliza el *Sistema Internacional de Nomenclatura para Citogenética Humana* (ISCN); que se originó luego de una serie de consensos mundiales (Denver 1960, Londres 1963, Chicago 1966, París 1971, París 1975, Estocolmo 1977, París 1980, Memphis 1994, Vancouver 2004, Vancouver 2008, Seattle 2012) (Shaffer, McGowan y Schmid, 2013) para uniformar el sistema de identificación de cromosomas humanos. Permite interpretar y comunicar las distintas alteraciones cromosómicas causantes de enfermedad.

Los conocimientos de las bases citogenéticas y de su nomenclatura permitirán comprender mejor los mecanismos de leucemogénesis, localizar nuevos genes y mejorar los tratamientos (Benasayag y Gallino, 2010). Se actualiza y amplía debido a las nuevas técnicas que se van incorporando, siendo la última publicación en 2016.

En el Anexo I se muestra la nomenclatura citogenética más común utilizada en la descripción de los cromosomas y sus anomalías, de acuerdo al ISCN 2013 (Shaffer et al., 2013)

3.2.1.1 Alteraciones cromosómicas

I. NUMÉRICAS.

Son aquellas alteraciones producidas por fallas en la etapa del ciclo celular como en metafase y anafase (no disyunción o rezago anafásico), así como en los puntos de control G1-S y G2-M (Paz y López, 2014). Se subdividen en (Benasayag y Gallino, 2010):

- i. ANEUPLOIDÍAS => pérdida o ganancia de un solo cromosoma
- ii. POLIPLOIDÍAS => pérdida o ganancia de un set haploide

II. ESTRUCTURALES.

Son rearrreglos en uno o mas cromosomas en particular sin alterar el número modal (Benasayag y Gallino, 2010). Entre ellas están (Lisker, Zentella y Grether, 2013) (Paz y López, 2014):

- i. ESTABLES

A. Intracromosómicas:

- a) **Delección:** Pérdida de material genético de un cromosoma.
 - 1.- *Intersticial:* Cuando ocurre en la parte media del brazo del cromosoma.
 - 2.- *Terminal:* Cuando se da en la parte final del brazo del cromosoma.
- b) **Duplicación:** Ganancia de material genético, existiendo dos copias del segmento de un cromosoma.
- c) **Inversión:** Segmento de material genético producido por dos rompimientos en el cromosoma y la unión del mismo pero con diferente orden y secuencia en los genes.
 - 1.- *Paracéntrica:* Cuando no involucra al centrómero; ocurre en un solo brazo del cromosoma.
 - 2.- *Pericéntrica:* Cuando involucra al centrómero y por ende los dos brazos del cromosoma.

- d) **Isocromosoma:** Es un cromosoma anormal que tiene duplicado el material genético de uno de los dos brazos, ya sea el corto o el largo.

B. Intercromosómicas:

- a) **Inserción:** Segmento de material cromosómico movido e insertado en un cromosoma, irrumpiendo la armonía de un cromosoma normal.
- b) **Translocación:** Intercambio de material genético entre dos cromosomas, que resulta de dos rompimientos y un rearrreglo anormal.
 - 1.- *Recíproca:* El material genético distal a los rompimientos cromosómicos es intercambiado entre dos cromosomas.
 - 2.- *Robertsoniana:* Se originan por rompimiento en o cerca del centrómero de dos cromosomas acrocéntricos, ocasiona un nuevo cromosoma que puede tener uno o dos centrómeros, reduciendo el número modal cromosómico.

ii. INESTABLES

A. Intracromosómicas:

- a) **Anillo:** Causados por la delección de los segmentos terminales de ambos brazos y la consecuente fusión de los extremos pegajosos.

B. Intercromosómicas:

- a) **Dicéntricos:** Causados por la doble delección de los telómeros de dos cromosomas y la subsecuente fusión de los segmentos pegajosos formando un cromosoma con dos centrómeros funcionales

A continuación, en la figura [3.10](#) se muestran algunos ejemplos de alteraciones cromosómicas estructurales:

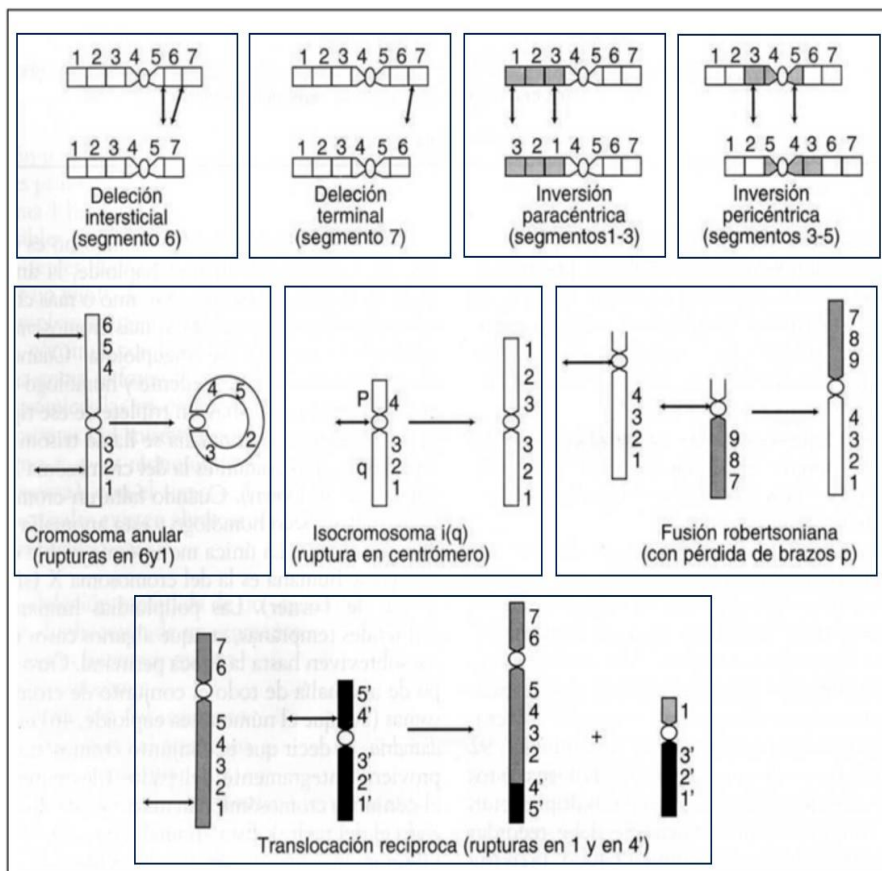


Figura 3.10 Alteraciones cromosómicas (Benasayag y Gallino, 2010)

3.2.1.2 Mecanismos que producen anomalías cromosómicas

A grosso modo, los mecanismos que producen anomalías cromosómicas se mencionan a continuación en la tabla [3.10](#)

Tabla 3.10 Mecanismos que producen alteraciones cromosómicas (Paz y López, 2014)

Factor	Efecto
No disyunción meiótica	Aneuploidía (tri o monosomía)
No disyunción mitótica	Mosaicismos o aneuploidías
Anafase larga en meiosis	Monosomía
Anafase larga en mitosis	Mosaicismo
Doble fertilización	Triploidía-tetraploidía
Retención del 2do cuerpo polar	Triploidía-tetraploidía
Fusión de cigotos gemelos	Gemelos unidos-quimeras
Rotura y reorganización cromosómica	Anomalías estructurales
Segregación anómala de translocaciones	Mono o trisomías parciales
Crossing over en meiosis de heterocigotos	Cromosomas acéntricos, dicéntricos

3.2.2 Cariotipo

El término *cariograma* debe aplicarse al arreglo sistematizado del preparado cromosómico ya sea por dibujo, imagen digitalizada o por fotografía, con la extensión en el sentido de que los cromosomas de una sola célula pueden tipificar los cromosomas de un individuo o incluso una especie (Shaffer et al., 2013).

El término *cariotipo*, debe ser utilizado para describir la organización sistemática de la constitución cromosómica de una célula, individuo, tejido, línea celular o especie, como normal o anormal, constitucional o adquirido (Shaffer et al., 2013).

La morfología cromosómica está basada en sus tamaños relativos y de sus brazos, así como la posición del centrómero; donde la tinción diferencial provee más información de la identidad individual de los cromosomas (Turgeon, 2011) (Paz y López, 2014).

Para la construcción de un cariotipo se numeran los autosomas del 1 al 22 en orden decreciente de acuerdo a la longitud del cromosoma

(excepto el cromosoma 21, el cual es más corto que el cromosoma 22). Los cromosomas sexuales son referidos como X y Y.

Posteriormente pueden ser clasificados fácilmente en 7 grupos de acuerdo al tamaño del cromosoma y la posición de su centrómero. Esta clasificación es muy útil cuando no existe la presencia de bandas y la tinción es completa del cromosoma.

En la tabla [3.11](#) se observan las características morfológicas de los cromosomas implicados según el grupo. Los cariotipos normales de hombre y mujer son designados como 46,XY y 46,XX, respectivamente (Shaffer et al., 2013).

Tabla 3.11 Clasificación cromosómica por posición centromérica (Shaffer et al., 2013)

Grupo	Cromosomas implicados	Morfología cromosómica
A	1,2,3	Metacéntricos y submetacéntricos largos
B	4,5	Submetacéntricos largos
C	6,7,8,9,10,11,12,X	Metacéntricos y submetacéntricos medianos
D	13,14,15	Acrocéntricos medianos con satélites
E	16,17,18	Metacéntricos y submetacéntricos relativamente pequeños
F	19,20	Metacéntricos pequeños
G	21,22,Y	Acrocéntricos pequeños con satélites. Cromosoma Y no presenta satélites

El término *ideograma*, debe reservarse a la representación esquemática de un cariotipo (Shaffer et al., 2013), es decir, la morfología cromosómica que se usa como diagnóstico genético en humanos, también para la comparación de los cariotipos de diferentes especies y variedades. El ideograma está basado en las medidas de los cromosomas en varias células (Paz y López, 2014).

A continuación se muestra en la figura [3.11](#) el ideograma humano, además de los brazos cortos (p) y largos (q), la posición del centrómero y los grupos a los que pertenece cada cromosoma.

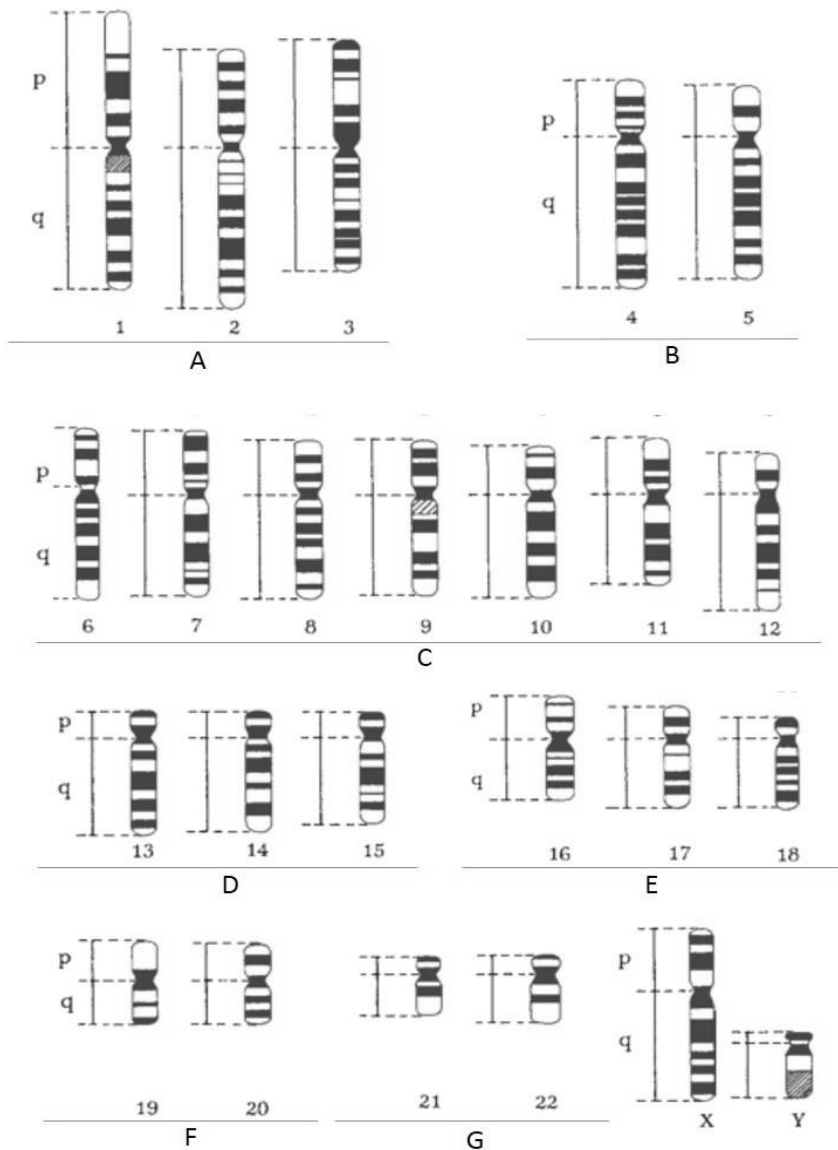


Figura 3.11 Ideograma humano en resolución de 400 bandas (Turgeon, 2011)

El estudio de los cariotipos individuales y los patrones de bandeo cromosómico es importante para los hematólogos y genetistas. Información complementaria en desórdenes hematológicos, como en el caso de las leucemias, puede ayudar a establecer el diagnóstico que puede proveer información del pronóstico en algunos casos (Turgeon, 2011).

3.2.2.1 Bandas GTG

Es la técnica sistemática más utilizada para el estudio de la morfología cromosómica, de la cual existen una gran cantidad de variantes del protocolo original reportado en 1971. El bandeo *GTG*↓ (bandas G utilizando Tripsina y teñidas con Giemsa) pone en evidencia estas bandas, es decir, los patrones diferenciales de las bandas claras (eucromatina) y las bandas oscuras (heterocromatina) como parte del empaquetamiento del DNA. La eucromatina son aquellas regiones ricas en G≡C y son activas génicamente, están los orígenes de replicación, la cromatina es más laxa y se replica primero en la fase síntesis (fase S) del ciclo celular. Por otro lado, la heterocromatina son regiones ricas en A=T, es inactiva génicamente, no están los orígenes de replicación, la cromatina es más compacta y es de replicación tardía en fase de síntesis del DNA (Del Castillo et al., 2012). Lo más común es que se observen de 400-500 bandas (Lisker et al., 2013).

3.2.2.2 Ventajas del cariotipo

- Es la técnica de laboratorio de citogenética más utilizada hasta ahora y por ende es la de rutina.
- No requiere colorantes fluorescentes, por lo tanto, es útil el microscopio óptico.
- Posee mucha similitud con el patrón oficial: Bando-Q
- El colorante utilizado (Giemsa), es de tinción permanente.
- Es una técnica amigable con el ambiente.
- Técnica de bajo costo comparado con el bandeo Q.

3.2.2.3 Limitantes del cariotipo

- Se requieren células vivas en división para obtener metafases analizables. Ver figura [3.12↓](#)
- El análisis cromosómico es complejo y consumidor de tiempo
- La resolución de las técnicas de bandeado aún con cromosomas en prometafase es de 5 a 10Mb, por lo que la identificación de muchos rearrreglos complejos, de los cromosomas marcadores, o de las alteraciones muy pequeñas, quedan fuera de la resolución de la citogenética convencional (Del Castillo et al., 2012).

3.2.3 Hibridación *in situ* Fluorescente

Para resolver las limitantes de la citogenética convencional surgió la citogenética molecular, que combina técnicas de biología molecular y citogenética; las técnicas de hibridación *in situ* fluorescente o *FISH* (siglas en inglés *Fluorescence In Situ Hybridization*), por su sencillez y sensibilidad han sido las más utilizadas desde su implementación en la década de los 80's y ha sido una excelente herramienta complementaria a la citogenética convencional. Con la *FISH*↓, se pueden identificar alteraciones cromosómicas como translocaciones, microdeleciones, microduplicaciones, cromosomas marcadores, cromosomas derivados, aneuploidias, rearrreglos génicos, amplificaciones en tumores y otras anomalías con la gran ventaja de incrementar la resolución por debajo de los 5Mb (Del Castillo et al., 2012).

3.2.3.1 Fundamento

Se basa en el marcaje en colores de segmentos conocidos de DNA 100 a 300pb, ya sea de forma directa con nucleótidos unidos a fluorocromos o de forma indirecta por incorporación de nucleótidos unidos a grupos como biotina o digoxigenina, los cuales detectan mediante anticuerpos acoplados a un fluorocromo que emite un color específico.

A estos segmentos de DNA marcados, se les llama *sondas*. La sonda se desnaturaliza junto con el DNA de la muestra en estudio, y luego se les permite hibridar entre sí, de manera que las sondas detectan los sitios complementarios en el genoma blanco como manchas o regiones con fluorescencia de color (Del Castillo et al., 2012).

Se considera como hibridación positiva a la presencia de una señal fluorescente. Por estas características, el método de *FISH* complementa los resultados obtenidos por citogenética convencional ofreciendo además, las ventajas de poder analizar cientos de células, tanto en metafase como núcleos en interfase, lo que de ser necesario, puede ahorrarse el cultivo celular (Rivera, 2002).

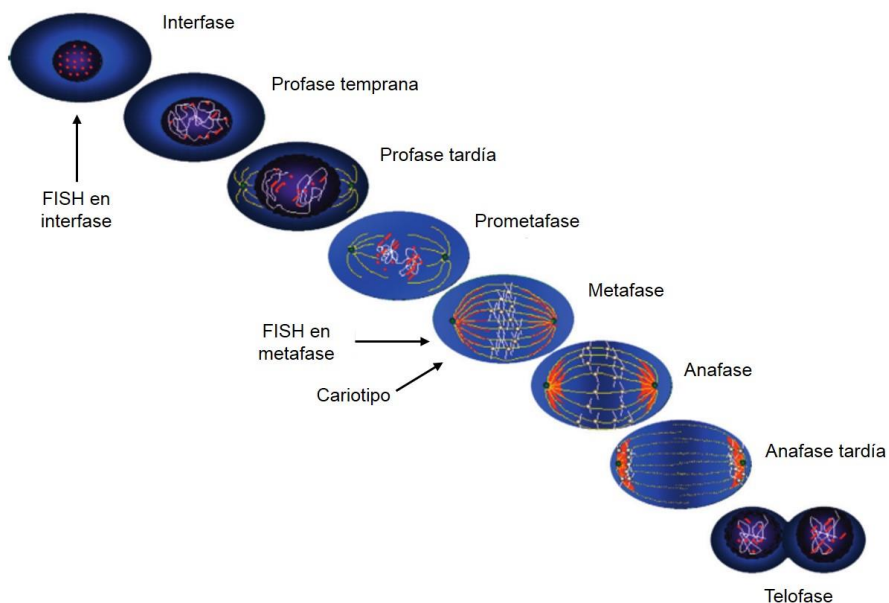


Figura 3.12 Estudio de la citogenética en las diferentes fases del ciclo celular (Hoffman et al., 2013)

3.2.3.2 Tipos de sondas utilizadas en la FISH convencional

Se distinguen varios tipos de sondas en función de las estructuras que son capaces de detectar en interfase o metafase (Hernando, 2005) (Del Castillo et al., 2012):

1. **Sondas de secuencia específica de locus.** También conocidas como sondas de locus específico, LSI (del inglés *locus specific identifier*). Estas hibridan con una secuencia única de DNA, es decir, identifican una región única del genoma.
2. **Sondas centroméricas.** Conocidas como sondas CEP (del inglés *chromosome enumeration probe*). Estas detectan el centrómero de todos los cromosomas a la vez (pancentroméricas), ó el centrómero de un cromosoma específico; y también las que detectan de forma simultánea el centrómero de más de un cromosoma.
3. **Sondas teloméricas.** Identifican regiones repetitivas de los telómeros.
4. **Sondas subteloméricas.** Identifican regiones de los subtelómeros, tanto de brazos cortos como de los brazos largos de los diferentes cromosomas, contienen secuencias únicas que son específicas de cada cromosoma.
5. **Sondas de pintado cromosómico.** Conocidas como sondas WCP (del inglés *whole chromosome painting*). La versión simple consiste en marcar por completo el par de cromosomas homólogos de un color específico. Y la versión múltiple consiste en pintar de forma simultánea todos los cromosomas pero en metafases independientes.

3.2.3.3 Ventajas de la FISH

- Alta sensibilidad y especificidad.
- Rapidez.
- Permite estudiar anomalías en metafase, interfase, y en cualquier fase del ciclo celular. Ver figura [3.12↑](#)
- Aplicable a biopsia embebidos en parafina, muestras congeladas, o muestras con pocas células.
- Análisis de un gran número de células, provenientes de cualquier tejido somático o germinal.
- Aplicable a células fetales o individuos nacidos.
- Aplicable a células de cadáver recién recolectadas y productos de autopsia.
- Aplicable para prácticamente cualquier muestra que mantenga cierta integridad de las moléculas de DNA (Del Castillo et al., 2012) (Hernando, 2005).

3.2.3.4 Limitantes de la FISH

- La *FISH* no está aprobado por la FDA (Agencia gubernamental de control de alimentos y medicamentos de los EEUU, por sus siglas en inglés, *The U.S. Food and Drug Administration*), por lo que no puede utilizarse para dar diagnóstico, únicamente es útil para investigación. En caso de apoyo al diagnóstico, el laboratorio deberá validar los resultados con otra técnica con validez oficial por la FDA (Keohane et al., 2016).
- Para seleccionar la sonda a emplear, es necesario saber *a priori* el sitio diana del genoma.
- Restringido a la disponibilidad de las sondas comerciales.
- Sólo estudia una o pocas alteraciones en un experimento (Hernando, 2005).

3.2.3.5 Aplicaciones de la FISH en hematología

- Identificación de anormalidades numéricas y estructurales.
- Caracterización de cromosomas marcadores.
- Detección de enfermedad residual mínima.
- Quimerismo de células después de trasplante de médula ósea.
- Identificación de regiones de delección o amplificación (Palomo et al., 2009).

3.2.4 Otros métodos

Recientemente han aparecido nuevas tecnologías que resuelven las carencias de las sondas “convencionales” y aportan una mayor información que permite una completa caracterización del cariotipo. Dichas metodologías comprenden entre otras, la técnica de Hibridación Genómica Comparativa (*HGC*, del inglés *Comparative Genome Hybridization*) y más recientemente los microchips de DNA. Son herramientas muy útiles para su aplicación en diagnóstico citogenético. Sin embargo, hay que tener en cuenta el elevado costo que supone realizar estos análisis, la complejidad de la interpretación de los resultados, las dificultades en la estandarización, el control de calidad y la necesidad de personal especializado para el uso de unas técnicas, que en la mayoría de los casos, no sustituyen a los estudios citogenéticos clásicos sino que los amplían y complementan (Hernando, 2005).

En la *HGC* ↓, se identifican áreas de ganancia y pérdida de secuencias de DNA de 10 a 20Mb. Como su nombre lo indica, se compara DNA normal con DNA proveniente de tejido tumoral, los cuales son utilizados como sondas para hibridar con cromosomas en metafase de un individuo normal; en su análisis se valoran las intensidades de fluorescencia que representan la amplificación o delección del material genético tumoral (Rivera, 2002).

Una de sus ventajas, es que permite detectar cambios numéricos de secuencias de DNA en una muestra con índice proliferativo bajo, ya que para la realización de esta técnica no es necesaria la obtención de metafases (Paz y López, 2014).

Con la implementación de los microarreglos ha surgido una técnica conocida como *el cariotipo molecular*, consiste básicamente en analizar pequeñas pérdidas o ganancias de los cromosomas, mediante la amplificación por *PCR* de pequeñas regiones del DNA muestra que se sabe que están relacionados con síndromes genéticos bien definidos y se marcan con un fluorocromo verde. Después se efectúa una competencia con DNA normal marcado en rojo y se somete a una hibridación por competencia con segmentos de DNA normales no marcados. La placa de microarreglos se procesa en un analizador de imágenes y los resultados se extrapolan a un ideograma, donde aparecen los pequeños segmentos de DNA estudiados en las regiones cromosómicas correspondientes o locus. Con los microarreglos, se estudian en una sola prueba más de 150 síndromes cromosómicos conocidos (Lisker et al., 2013).

3.3 Hallazgos citogenéticos en LMA

El cáncer incluyendo leucemias y linfomas, es causado por alteraciones en los genes supresores de tumores, oncogenes y/o genes de microRNA (Turgeon, 2011). Muchas de las alteraciones citogenéticas son características de una enfermedad en particular o de un subtipo de enfermedad. Por ello, alteraciones cromosómicas específicas, especialmente en oncohematología, proveen información vital al establecer biomarcadores que facilitan el diagnóstico, pronóstico, tratamiento y seguimiento de los pacientes (Benasayag y Gallino, 2010). Las aberraciones estructurales encontradas en la *LMA* más frecuentes son las siguientes:

- La t(8;21) presente en los pacientes con *LMA M2*, involucra a los genes ETO y AML1 ubicados en los cromosomas 8 y 21 respectivamente (Rivera, 2002). Su proteína de fusión reduce la reparación del DNA que al combinarse con una disminución en la expresión del gen de supresión tumoral P53, provoca un incremento del riesgo a nuevos eventos leucemogénicos. Algunos investigadores han demostrado que el AML1-ETO actúa como un represor constitutivo por reclutamiento del complejo desacetilasa de histonas y esto interfiere directamente con otros reguladores transcripcionales de la hematopoyesis. En general, esta proteína tiene múltiples efectos en la regulación de la proliferación, la diferenciación y la viabilidad de las células leucémicas (Garrote, Amor, Díaz, Suárez y Pacheco, 2014).
- La inv(16) y t(16;16) se presentan en *LMA M4eo*, cuyos puntos de ruptura se localizan en el cromosoma 16, en los genes CBF β y MYH11. Los modelos de ratón indican que el gen de fusión CBF β -MYH11, inhibe la diferenciación de las células hematopoyéticas; aunque su expresión no es suficiente para la leucemogénesis, por lo que una combinación de CBF β -MYH11 y mutaciones adicionales pueden conducir específicamente al desarrollo de la leucemia mieloide (Rivera, 2002).
- Existe un subtipo que tiene de las mayores incidencias en la población latina, la Leucemia Promielocítica Aguda ó M3, en los cuales se observa la t(15;17), los genes que se alteran en este rearrreglo son el PML y RAR α (receptor de ácido retinoico), ubicados en el cromosoma 15 y 17 respectivamente, dicha fusión inhibe la diferenciación y maduración normal de los promielocitos, por lo que los pacientes portadores de esta alteración responden bien a altas dosis de ácido holo-trans-retinoico (ATRA) (Rivera, 2002).
- Existen variantes de esta última, pero que sólo involucra al gen RAR α , como la t(5;17) y la t(11;17); los portadores de la variante

t(11;17) no responden al tratamiento convencional, para estos casos se administra *Tricostatina A*, que es un agente que favorece la respuesta celular al ATRA (Rivera, 2002).

- Las alteraciones que involucran a la banda 11q23 son frecuentes en *LMA M5*, que presenta la t(9;11) en casi la mitad de los casos. También es común encontrar alteraciones en 11q23 en las leucemias secundarias a tratamiento, principalmente cuando se utilizaron agentes inhibidores de la DNA-topoisomerasa II; en estos casos, además de alteraciones como la t(4;11), la t(6;11) ó la t(9;11), también se encuentran translocaciones que no son comunes en la leucemia *de novo* e involucran a las bandas 16p13.3, 22q11 y 6q21 (Rivera, 2002).
- Uno de los subtipos poco frecuentes de las *LMA* es la M7, que involucra anomalías en el cromosoma 21 y la t(1;22) (Rivera, 2002).
- En cuanto a alteraciones numéricas presentes en la *LMA*, ninguna se ha relacionado con un subtipo en específico, sin embargo las más comunes son la trisomía del cromosoma 8; las monosomías de los cromosoma 5 y 7, ya sean totales o parciales y con puntos de ruptura en el brazo largo (*q*) de dichos cromosomas, estas alteraciones también se presentan con frecuencia en los SMD (Rivera, 2002).

A continuación en la tabla [3.12↓](#) se muestra un compilado de las alteraciones cromosómicas presentes en la *LMA*, así como los genes involucrados y algunas de sus características más generales.

Tabla 3.12 Clínica de anomalías citogenéticas frecuentes en LMA (Litchman et al., 2014)

ALTERACIÓN	GENES AFECTADOS	CORRELACIÓN CLÍNICA
Pérdida o ganancia de cromosoma		
Deleciones en parte o en todo el cromosoma 5 o 7	No definida con certeza	Frecuente en pacientes con LMA de novo y en pacientes con antecedentes de exposición a sustancias químicas, fármacos o radiación y/o enfermedad hematológica previa.
Trisomía 8	No definida	Anomalia muy frecuente en la leucemia mieloblástica aguda. Pronóstico ominoso, con frecuencia como cambio secundario.
Translocación		
t(8;21)(q22;q22)	RUNX1(AML1)-RUNX1T1(ETO)	Presente en ~8% de los pacientes <50 años de edad y en 3% >50 años con LMA. Aproximadamente 75% de los casos muestra anomalías citogenéticas adicionales, como pérdida de Y o X en mujeres. Mutaciones cooperativas secundarias de KRAS, NRAS y KIT son frecuentes. Presente en ~40% del fenotipo mielomonocítico. Mayor frecuencia de sarcomas mieloides.
t(15;17)(q31;q22)	PML-RAR α	Representa ~6% de los casos de LMA. La traslocación que afecta al cromosoma 17, t(15;17), t(11;17) o t(5;17) está presente en la mayoría de los casos de leucemia promielocítica.
t(9;11)(p22;q23)	MLL (especialmente MLLT3)	Presente en ~7% de los casos de LMA. Se asocia con leucemia monocítica. Translocaciones 11q23 en 60% de los lactantes con LMA, conlleva pronóstico ominoso. Rearreglos del gen MLL. Varios patrones de traslocación para 11q23. MLL1, MLL4 y MLL10 pueden resultar en el fenotipo LMA.
t(9;22)(q34;q22)	BCR-ABL	Presente en ~2% de los pacientes con LMA.
t(1,22)(p13;q13)	RBMS-MKL1	<1% de los casos de LMA. Mezcla de mieloblastos, megacarioblastos, micromegacariocitos con ampollas citoplasmáticas, megacariocitos dismórficos. Fibrosis con reticulina frecuente.
Inversión		
inv(16)(p13.1;q22) ó t(16;16)(p13.1;q22)	CBF β -MYH11	Presente en ~8% de los pacientes <50 años de edad y en ~3% >50 años con LMA; a menudo con fenotipo mielomonocítico agudo; asociado con aumento de eosinófilos de la médula ósea; predisposición a linfadenopatía cervical, mejor respuesta a la terapia. Predisposición al sarcoma mioide.
inv(3)(q21;q26.2)	RPN1-EV1	~1% de los casos de LMA. Aproximadamente 85% de los casos con cifras plaquetarias normales o aumentadas. La médula ósea presenta aumento de megacariocitos dismórficos hipolobulados. La hepatoesplenomegalia es más frecuente de lo usual en la LMA.

Capítulo 4

JUSTIFICACIÓN

La citogenética ha adquirido un valor indiscutible en el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de la leucemia. También porque cada vez aumenta el número de personas con diagnóstico oncológico e incidiendo en edades más tempranas de lo previsto.

Con las técnicas citogenéticas se han podido identificar las alteraciones cromosómicas específicas y no aleatorias en las leucemias. Existen alteraciones cromosómicas que se encuentran asociadas con el pronóstico del paciente, el cual predice si alcanza la remisión, la respuesta al tratamiento y la posible supervivencia.

Entre las alteraciones que se encuentran asociadas a un pronóstico favorable están: inv(16); t(16;16); t(8;21); t(15;17). Para pronóstico intermedio se encuentran: los cariotipos normales; trisomías 8; t(9;11); y otros no definidos. Y por último para pronóstico reservado, están: los cariotipos complejos; deleciones -5, 5q-, -7, 7q-; 11q23; inv(3); t(3;3); t(6;9); t(9;22) (Lin y Smith, 2011).

Por ello la importancia de este estudio y la identificación de estas alteraciones, para vislumbrar el posible pronóstico evolutivo de la enfermedad en el paciente.

Capítulo 5

OBJETIVOS

5.1 GENERAL

Identificar las alteraciones cromosómicas en pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide aguda mediante citogenética convencional y molecular para lograr un diagnóstico más certero.

5.2 PARTICULARES

1. Identificar las alteraciones cromosómicas en pacientes con *LMA* por citogenética convencional mediante el análisis de su cariotipo.
2. Buscar alteraciones cromosómicas que no fueron identificadas por citogenética convencional, mediante la hibridación *in situ* fluorescente (*FISH*), de acuerdo al subtipo de leucemia.
3. Correlacionar los resultados obtenidos por citogenética convencional e hibridación *in situ* fluorescente.
4. Relacionar los resultados de ambas metodologías con los datos clínicos del paciente (*WBC*, *LDH*, blastos).

Capítulo 6

HIPÓTESIS

Si se evalúa una población de pacientes con *LMA* durante cierto periodo de tiempo, probablemente se encontrarán las alteraciones citogenéticas correspondientes a los subtipos con mayor frecuencia en México, las cuales son la $t(8;21)$, $t(15;17)$ y la $t(16;16)$ ó $inv(16)$, correspondientes a la *LMA* M2, M3 y M4 respectivamente.

Capítulo 7

METODOLOGÍA

7.1 Población de estudio

Se incluyeron para este estudio, 17 pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide aguda que acudieron al servicio de hematología del Hospital Juárez de México y se les realizó un aspirado de médula ósea.

7.1.1 Criterios de inclusión

- Pacientes con diagnóstico de *novo*
- Sin tratamiento previo
- Jóvenes mayores de 14 años y adultos de mediana y tercera edad
- Sexo indistinto

7.1.2 Criterios de exclusión

- Pacientes con diagnóstico de *LLA*, *LLC*↓, *LMC*↓, *LLM*
- Pacientes con antecedentes de *SMD* ó *LMA*
- Pacientes con previo tratamiento oncológico
- Ausencia de material biológico del paciente para el estudio

7.2 Material y Métodos

7.2.1 Equipo de laboratorio

- Agitador tipo vortex

- Baño maría con control de temperatura a 72°C
- Campana de flujo laminar
- Centrífuga clínica
- Congelador (-20°C)
- Estufa de cultivo (max. 150°C)
- Incubadora con CO_2 a 37°C
- Microscopio de fluorescencia con filtro de triple banda (DAPI/FITC/Texas Red)
- Microscopio óptico
- Microscopios con objetivo de inmersión en aceite
- pHmetro
- Placa caliente con control de temperatura a 75°C
- Refrigerador (0 a 4°C)

7.2.2 Material de laboratorio

- Cámara húmeda y estéril para portaobjetos
- Cronómetro
- Cubreobjetos cuadrados (22x22mm) y rectangulares (24x50mm)
- Filtros de jeringa de 0.45micras
- Gasas estériles
- Gradillas para tubos tipo falcon
- Gradillas portalaminillas (resistentes al calor)
- Micropipetas de volumen variable ($1\mu l - 200\mu l$)
- Pegamento temporal para laminillas
- Pinzas Adson sin dientes
- Pipetas pasteur desechables ó de vidrio esterilizable (con perilla de goma)
- Portaobjetos
- Puntas estériles para micropipeta
- Termómetro de varilla de vidrio
- Termómetro en laminilla para placa caliente
- Tubos cónicos de 15ml (tipo falcon)
- Vasos copplin con tapa

7.2.3 Material Biológico

- Aspirado de Médula Ósea. Muestras otorgadas al laboratorio de Genética y Diagnóstico Molecular por el servicio de Hematología del Hospital Juárez de México.

7.2.4 Reactivos

- 0.4xSSC (pH 7)
- 20xSSC (solución madre)
- 2xSSC (pH 7)
- 2xSSC 0.05% Tween 20 (pH 7)
- Aceite de inmersión para objetivo de microscopio
- Ácido clorhídrico (para reajustar pH de soluciones)
- Agua destilada e inyectable
- Antibiótico Penicilina
- Buffer de fosfatos pH 7
- Buffer Gurr (Buffer de fosfatos a pH 6.8)
- Buffers de calibración para pHmetro
- Colchicina [0.1mg/ml]
- Colorante Giemsa y colorante Wright
- DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol) [Aquarius, Cytocell Ltd.]
- Etanol a diferentes concentraciones (al 70%, 85%, 96% y 100%)
- Hidróxido de Sodio saturado (para reajustar pH de soluciones)
- Jabón neutro quirúrgico
- Medio RPMI-1640
- Resina Entellan® (medio de montaje para laminillas)
- Solución Carnoy: alcohol metílico-ácido acético glacial (3:1)
- Solución hipotónica de cloruro de potasio [0.075M]
- Sonda FISH [Aquarius, Cytocell Ltd.]
- Suero Fetal Bovino
- Tripsina
- Tween 20
- Xilol (opcional)

7.3 Citogenética convencional

7.3.1 Siembra

En un ambiente estéril, se sembraron aproximadamente 0,5ml del aspirado de médula ósea en un medio de cultivo de RPMI-1640 (previamente suplementado con 10% de Suero Fetal Bovino y 1% de antibiótico), luego se incubó hasta que gran parte del cultivo se encontrara en metafase por 72 horas a 37°C, en un ambiente de 5% de CO₂. A estas muestras no se les estimuló con agentes inductores de la mitosis (por ejemplo, fitohemaglutinina), para evitar la proliferación de células normales (Rivera, 2002). Ver figura [7.1↓](#).

7.3.2 Cosecha

Se adicionó colchicina [0.1mg/ml] para impedir la polimerización del huso acromático, deteniendo el ciclo celular en profase-metafase. Después las células se sometieron a un shock hipotónico con cloruro de potasio [0.075M] para hincharlas y dispersar los cromosomas mitóticos. A continuación las células se fijaron en una solución fría de carnoy que contiene alcohol metílico-ácido acético glacial (3:1), lavando repetidamente con esta solución hasta que el botón fuera blanco. Como volumen final debía quedar aproxe 0.5ml para la posterior preparación de las laminillas (Del Castillo et al., 2012). Ver figura [7.1↓](#).

7.3.3 Goteo

El pellet celular resultante de la cosecha, se goteó sobre los portaobjetos. Las laminillas debían estar lo más limpias posible, lavadas con jabón neutro quirúrgico, desengrasadas y mantenidas previamente en alcohol al 96%. Una vez listas las laminillas, se realizó el goteo y se extendió la muestra sacudiendo la laminilla con un movimiento firme. Cada laminilla debía estar perfectamente identificada y rotulada.

Después se dejaron reposar por 3min sobre una platina a 30°C que tenía un papel absorbente saturado de agua. Posteriormente se dejaron madurar en una estufa de cultivo por 24hr a 50°C ó por 1hr a 150°C. Las laminillas destinadas al *FISH*, se almacenaron a -20°C para su posterior uso (Del Castillo et al., 2012). Ver figura [7.1↓](#).

7.3.4 Bandoe GTG

Las laminillas se tiñeron con el método de bandoe *GTG* de rutina. Consistió en madurar las laminillas con el uso de temperatura (37°C), se realizó una digestión previa con la enzima proteolítica tripsina y se tiñeron con colorante Wright y Giemsa. Ver figura [7.1↓](#).

7.3.5 Montaje

Por último, se les añadió de 2 a 3 gotas de la resina Entellan® a las laminillas y un cubreobjetos rectangular limpio y desengrasado. Se presionó con delicadeza para esparcir lentamente la resina y se retiró cualquier burbuja de aire. Se dejaron secar por mínimo 3hr. Posteriormente, podían limpiarse los excedentes de resina con Xilol en un lugar abierto y ventilado o en una campana de extracción de vapores. Se finalizó la limpieza con etanol absoluto. Ver figura [7.1↓](#).

7.3.6 Análisis

Se analizaron 20 células metafásicas por caso en el microscopio óptico marca Zeiss, e interpretaron con el software IKAROS (MetaSystem Zeiss) y se reportaron los resultados según los estándares del *ISCN* [2016](#) (McGowan, Simons y Schmid, 2016). Ver figura [7.2↓](#).

7.3.7 Diagrama

En las figuras [7.1↓](#) y [7.2↓](#) se describe el proceso de elaboración del cariotipo.

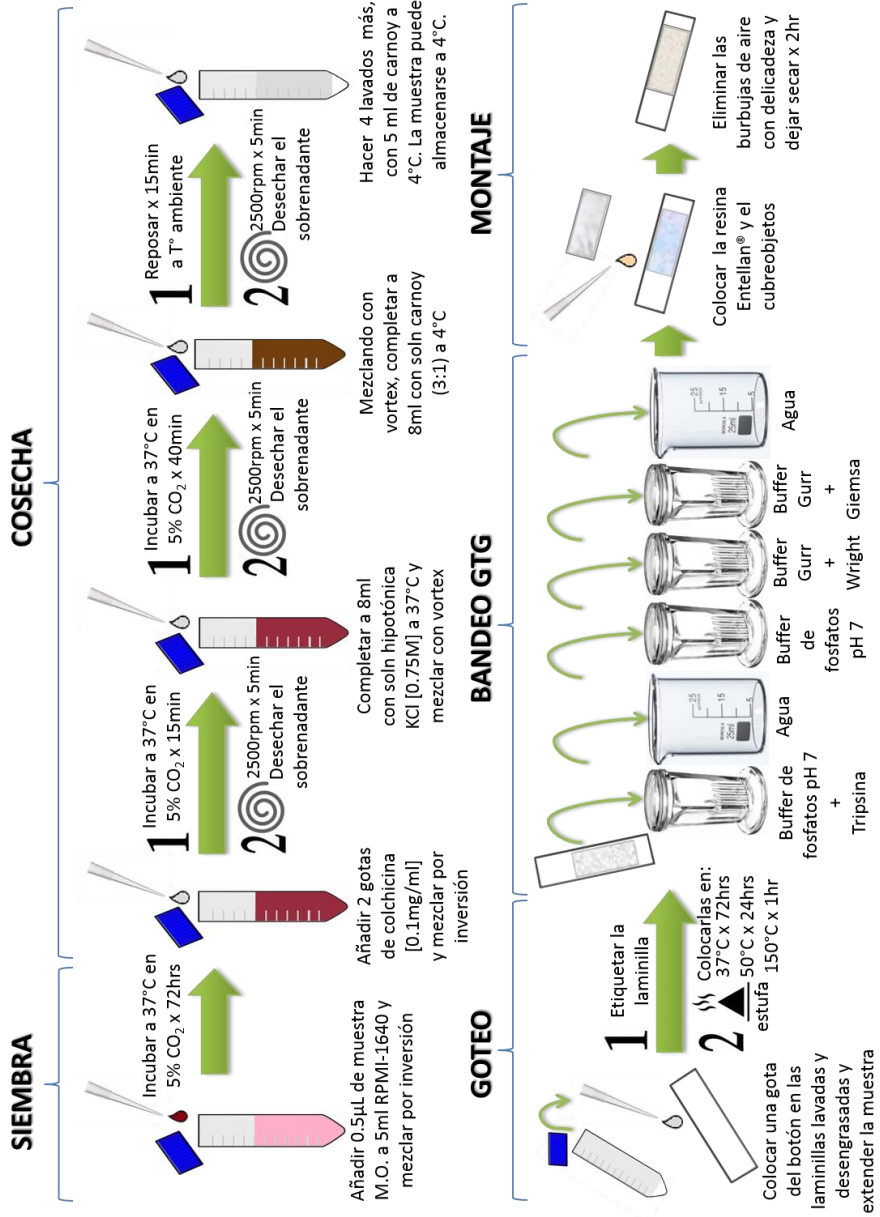
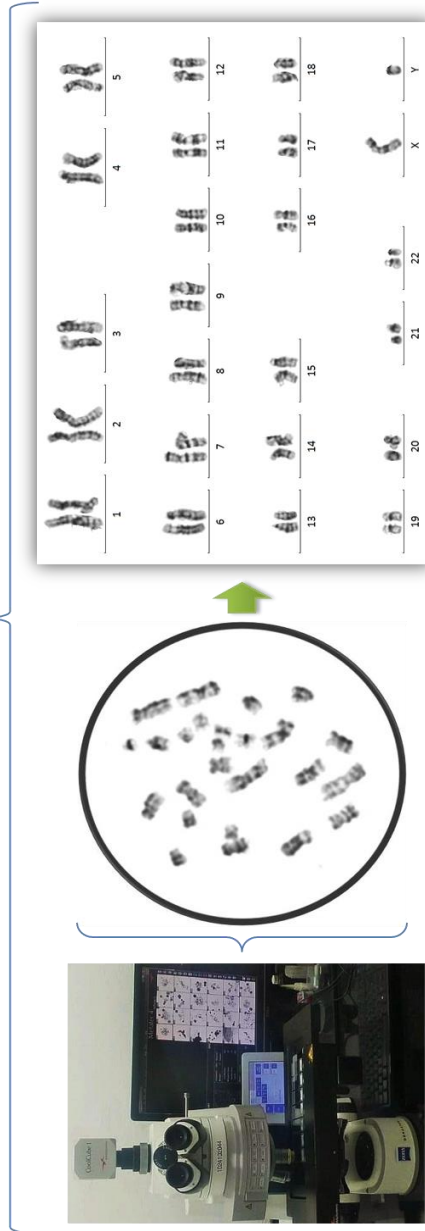


Figura 7.1 Metodología del cariotipo

ANÁLISIS



Analizar en el microscopio óptico marca Zeiss e interpretar con el software Ikaros (MetaSystem Zeiss). Reportar de acuerdo con el ISCN, 2016.

Figura 7.2 Metodología del cariotipo (continuación)

7.4 Citogenética molecular

7.4.1 Sondas

Las sondas de locus específico utilizadas en este trabajo, se manejaron como indica el protocolo del fabricante. Además se siguieron las indicaciones de protección contra la luz, al ser los reactivos fotosensibles.

7.4.1.1 Sonda doble fusión para translocación AML1/ETO

La combinación de sondas AML1, marcadas en rojo, se compone de una sonda de 148Kb centromérica al gen AML1 (RUNX1), que incluye al gen CLIC6, y una sonda de 167Kb que cubre el extremo telomérico del gen AML1 (RUNX1) y se extiende más allá del marcador D21S1921. La combinación de sondas ETO, marcada en verde, se compone de dos sondas, de 149Kb y 148Kb, una a cada lado del gen ETO (RUNX1T1). Catálogo: LPH026 (Cytocell Aquarius, 2018a). Ver figura [7.3](#).

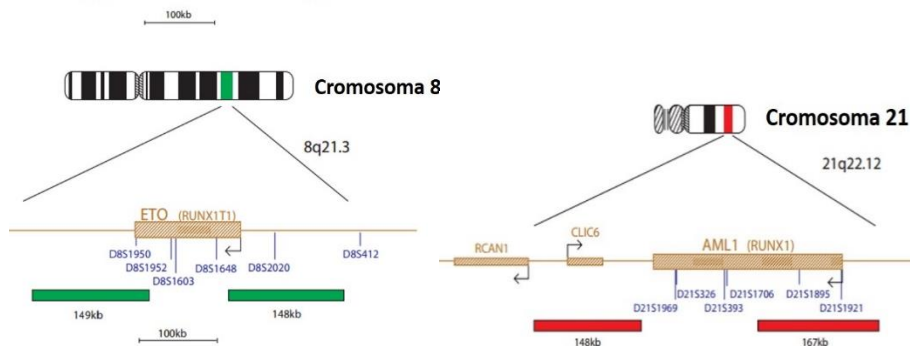


Figura 7.3 Sonda de doble fusión para translocación AML1/ETO (Cytocell Aquarius, 2018a)

7.4.1.2 Sonda doble fusión para translocación CBFβ/MYH11

La sonda CBFβ, marcada en rojo, cubre una región de 606Kb dentro del gen 16q22.1 e incluye el marcador CBFβ. La sonda MYH11, marcada en verde, cubre una región de 610Kb dentro de 16p13.11 e incluye el marcador MYH11. Catálogo: LPH022 (Cytocell Aquarius, 2018b). Ver figura [7.4](#).

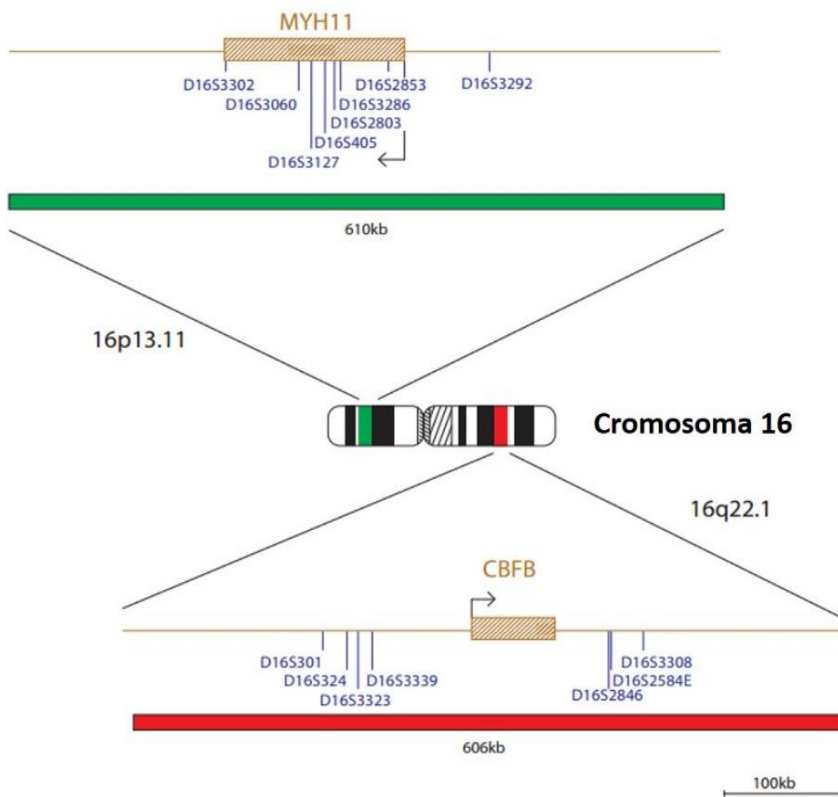


Figura 7.4 Sonda doble fusión para translocación CBFβ/MYH11 (Cytocell Aquarius, 2018b)

7.4.1.3 Sonda doble fusión para translocación PML/RAR α

La combinación de sondas PML, marcada en rojo, se compone de una sonda de 151Kb centromérica al gen PML y una sonda de 174Kb telomérica al gen PML. La combinación de sondas RAR α , marcada en verde, se compone de una sonda de 167Kb centromérica al gen RAR α , que incluye el gen CASC3, y una sonda de 164Kb, que incluye el extremo telomérico del gen RAR α así como los genes TOP2A e IGFBP4. Catálogo: LPH023 (Cytocell Aquarius, 2018c). Ver figura [7.5](#).

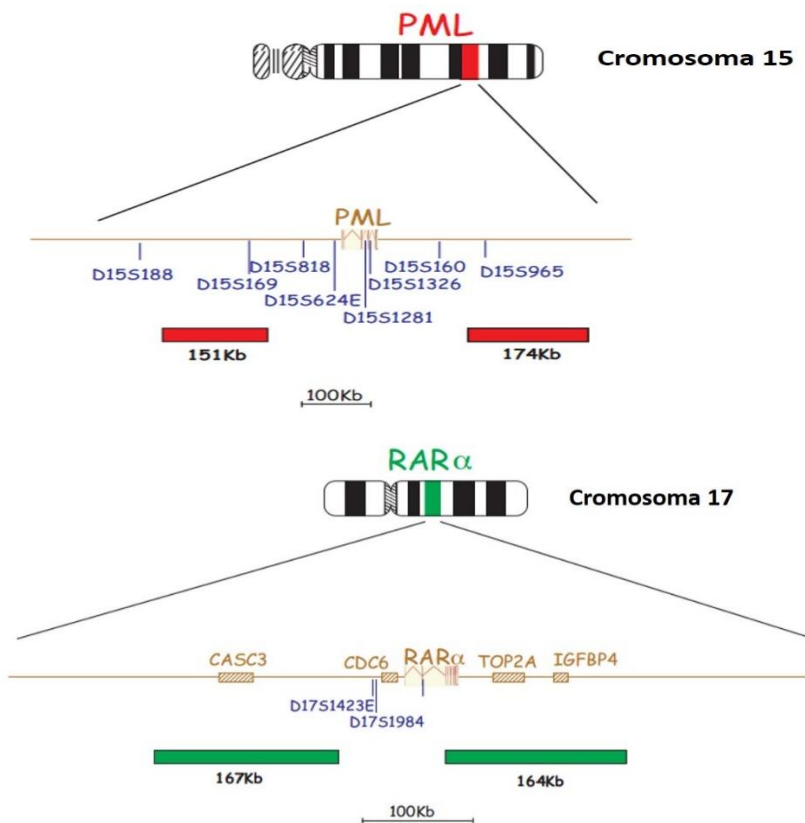


Figura 7.5 Sonda de doble fusión para translocación PML/RAR α (Cytocell Aquarius, 2018c)

7.4.2 Previo a la Hibridación

Debieron prepararse todas las soluciones con anticipación, ya que era indispensable que contaran con las concentraciones adecuadas y además presentarían un pH de 7 para el correcto funcionamiento de la técnica.

Cabe señalar que estas soluciones poseían un tiempo de vida de 6 meses, por lo que al término del experimento se desecharon de acuerdo al manejo adecuado de residuos químicos.

Las laminillas debieron prepararse para la desnaturalización, para ello se hidrataron en una solución salina doble de citratos (2xSSC) y se maduraron con el uso de temperatura por 30min a 37°C, para luego deshidratarlas en un tren de etanol a diferentes concentraciones.

Las laminillas se trataron con sondas específicas para que hibridaran ciertas regiones de cromosomas, para ello se añadió la sonda a la muestra y se protegió con un cubreobjeto y pegamento para que evitar que se seque la preparación.

Para la desnaturalización del DNA, las laminillas se colocaron sobre una placa caliente a 75°C±1 por 2 minutos, cuidando el manejo de tiempos y temperaturas lo más preciso posible. Ver figura [7.9↓](#)

7.4.3 Hibridación

Las laminillas se recibieron de la desnaturalización en una cámara húmeda, atemperada y estéril, con protección contra la luz (era fotosensible) y se dejaron incubar toda la noche a 37°C±1, para que hibridara el DNA. Ver figura [7.9↓](#).

7.4.4 Post-hibridación

Después se hicieron los lavados correspondientes para quitar los excesos de sonda y se procedió con la adición de un colorante de contraste inespecífico [0.125µg/ml DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol) (Cytocell)] que mas adelante ayudaría a visualizar los núcleos. Se selló

la preparación para su protección con un cubreobjeto cuadrado limpio y desengrasado y con pegamento. La estabilidad de la preparación duraba un mes, siempre y cuando se almacenara en oscuridad y refrigeración. Ver figura [7.10↓](#).

7.4.5 Análisis

Se observaron las señales de 200 núcleos por caso y por sonda, en un microscopio de fluorescencia marca Zeiss, con un filtro de triple banda DAPI/FITC/Texas Red y además equipado con el software ISIS (MetaSystem Zeiss), que permitió ver los tres fluoróforos simultáneamente. Ver figura [7.10↓](#).

Además se utilizó un control por cada tres pacientes. El valor basal se obtuvo de los controles, que se calculó con el promedio de las células alteradas + 3 veces la desviación estándar.

7.4.5.1 Criterios de Análisis

Los criterios de análisis para la lectura de la *FISH* son de gran importancia, ya que de ellos depende la veracidad de los resultados obtenidos; los cuales son los siguientes:

1. Asegurar un 98% de eficiencia en la hibridación en el campo de lectura.
2. Las células seleccionadas para el análisis deben presentar el núcleo bien definido y redondo, además, deben estar bien separadas de otras células.
3. Las señales deben estar dentro del núcleo, bien definidas y redondas, con una misma intensidad. Además, para considerar que son dos señales, debe existir una distancia suficiente entre ambas donde se pudiera apreciar otra señal.

7.4.5.2 Patrones de señales de hibridación

En una célula normal el patrón de las señales de hibridación de dichas sondas deben aparecer como dos puntos verdes y dos rojos separados, uno para cada homólogo (esto da lugar a una estructura de 2R y 2V).

En el caso de los pacientes con translocación positiva, deben existir dos señales de fusión amarillas además de las señales roja y verde de los cromosomas normales (2A, 1R, 1V).

Para la recopilación de los datos obtenidos, las señales deben cumplir con los criterios de análisis y además deben ser claramente diferenciadas entre un locus o su derivativo.

Esto significa que no sólo la presencia o ausencia de señales serán evaluadas, además debe analizarse el tamaño de dichas señales ya que en función de este puede distinguirse entre uno y otro.

De tal forma que un locus se refiere al lugar específico del cromosoma donde está localizado un gen u otra secuencia de DNA, así como su dirección genética; el plural de locus se conoce como "loci" (NIH, 2016).

En la técnica de *FISH*, el tamaño de la señal del locus se ve más grande que la señal emitida por su derivativo, ya que generalmente abarca el gen completo, o por lo menos gran parte de él, tamaño siempre en función del diseño de la sonda aplicada. En estos casos, los locus en estudio se encuentran de color verde y/o rojo, cada uno correspondiente a un gen específico dependiendo de la sonda aplicada, como se observa en la figura [7.6](#).

Por otro lado, un derivativo en la técnica de *FISH*, se refiere a una señal producida por la fusión de dos genes o parte de ellos. La señal de un derivativo fusionado se observa de tamaño variable, puede ser grande o

de menor tamaño, dependerá del tamaño del fragmento de cada gen fusionado.

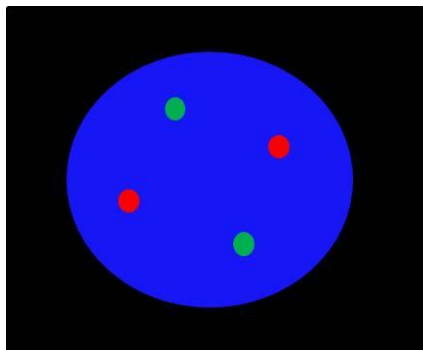


Figura 7.6 Patrón normal y negativo de locus en células en interfase

En estos casos, independientemente de la sonda aplicada, los derivados fusionados se observan de color amarillo (ver figura [7.7↓ inciso a](#)) ó también puede encontrarse adherida la fluorescencia verde y roja (ver figura [7.7↓ inciso b](#)). Cabe señalar que debe descartarse que ambas señales estén colocalizadas, es decir que estén empalmadas y no fusionadas.

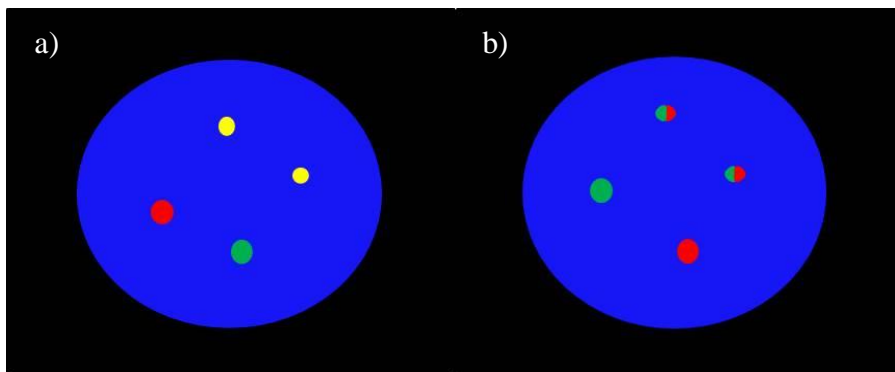


Figura 7.7 Patrones positivos normales de derivados fusionados en interfase

Sin embargo, existen variantes en el derivativo que puede observarse; en ocasiones el derivativo fusionado por alguna razón pierde su fusión y además pierde el otro fragmento de gen con el que se había fusionado, resultando en una señal pequeña sin fusión, pudiendo confundirse con la señal del locus, pero es fácilmente distinguible por el tamaño de la misma; así como se ejemplifica en la figura [7.8](#), cabe señalar que pueden encontrarse diversas variables en el estudio de dichas señales.

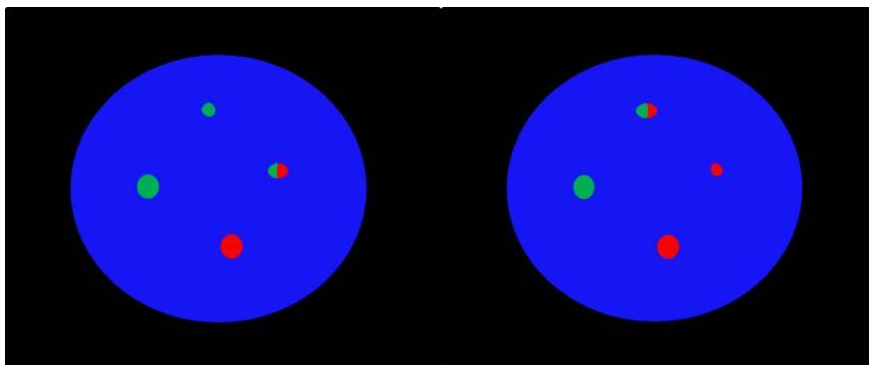


Figura 7.8 Patrones positivos atípicos de derivados fusionados en interfase. Ambos casos muestran la pérdida de una de las partes de la fusión.

7.4.6 Diagrama

En las figuras [7.9](#) y [7.10](#) se describe el proceso de elaboración de la *FISH*.

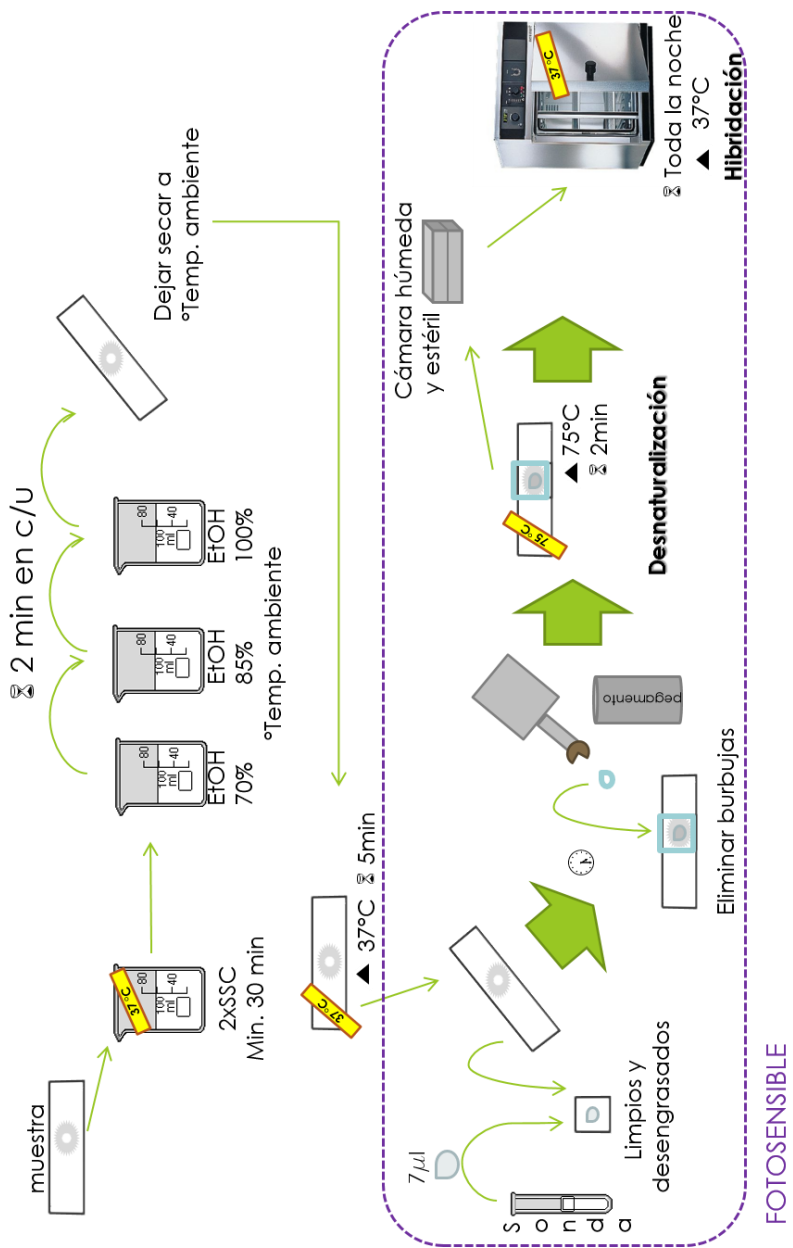


Figura 7.9 Metodología de la FISH

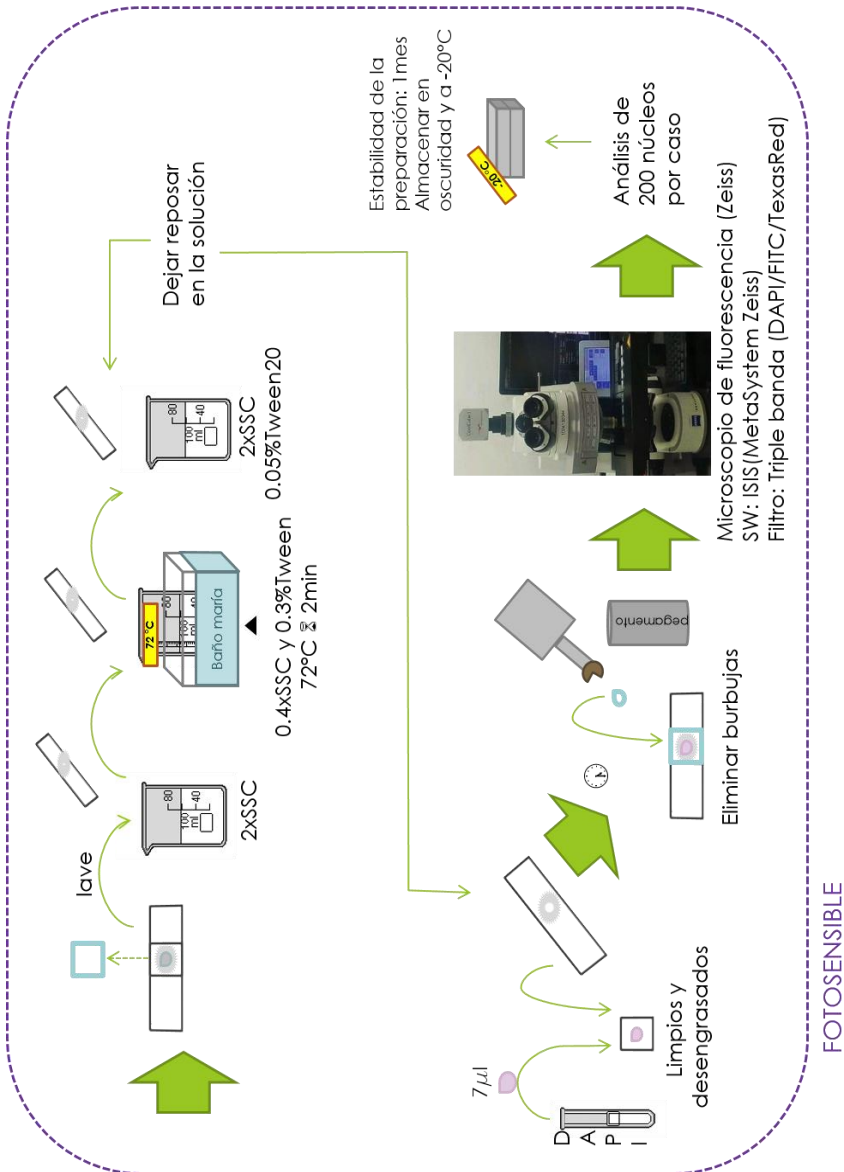


Figura 7.10 Metodología de la FISH (continuación)

Capítulo 8

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Características clínicas

Para este trabajo se incluyeron 17 pacientes con *LMA*, cuyas muestras fueron referidas al laboratorio de Genética y Diagnóstico Molecular del Hospital Juárez de México (*HJM*). Con características clínicas y de laboratorio que se muestran a continuación en la tabla [8.1](#)↓.

De los 17 pacientes, se observó una mayor predominancia en el género masculino con 58.8% (10 hombres), contra 41.2% del femenino (7 mujeres).

Respecto a la edad de los pacientes, los rangos fueron de 14 a 79 años, con una media total de 34.8 años, 31 años para el género masculino y 40 años para el femenino. Cabe señalar que por políticas del *HJM*↓, cualquier paciente con edad ≥ 16 años 11 meses es considerado como adulto (INAI, 2017). Dicho lo anterior, se encontraron trece adultos (19-79 años) y cuatro niños (14-16 años). Se observó una mayor frecuencia en adultos, como lo característico en esta leucemia cuya frecuencia es principalmente en adultos mayores de 50 años (Sierra, Chávez y García, 2011) y además, la incidencia continúa en aumento en personas mayores a los 65 años (Duque et al., 2006).

Respecto a los valores *WBC*↓, el rango como la media se encuentran fuera de los valores de referencia. Un conteo por debajo de $4 \times 10^3 / \mu\text{l}$ ocurre en insuficiencia de la médula ósea por diversas causas. En contraste, un conteo aumentado indica generalmente infección, inflamación, necrosis de tejidos, o neoplasia leucémica (Pagana K. y Pagana T., 2015).

Tabla 8.1 Características clínicas y de laboratorio de los pacientes en estudio (Pagana K. y Pagana T., 2015)

Parámetro	N	Parámetro	N
Número total de pacientes	17	LDH	[U/L]
		Rango	134 - 978
Sexo (F/M)	7/10	Media	504.8
		Valores de referencia*	100 - 190
Edad	Años		
Niños	1 (0-14a)	Clasificación FAB	
Adultos	16 (15-79a)	M0	6%
Rango	14-79a	M1	12%
Media	34.8a	M2	41%
		M3	24%
WBC^o	[x10³/ul]	M4	18%
Rango	1.60 – 103	M5/M6/M7	0%
Media	27.8		
Valores de referencia*	5 – 10		
		Respuesta al tratamiento	
Plaquetas	[x10³/ul]	Remisión completa	12%
Rango	19 – 78	Remisión parcial	6%
Media	50.8	Defunción ^{oo}	35%
Valores de referencia*	150 – 400	S/D [▲]	47%

* Datos recopilados del libro: *Laboratorio clínico, indicaciones e interpretación de resultados*. Pagana, K., Pagana T.

^o WBC. Leucograma (recuento leucocitario sanguíneo)

^{oo} Durante el tratamiento

[▲] S/D. Sin datos

Comúnmente cuando los síntomas clínicos son sospechosos, se recurre a pruebas de laboratorio habituales y en caso de valores alterados, el *WBC* es uno de los principales indicativos de una probable leucemia.

Referente al conteo plaquetario se observa que el rango de $19 - 78 \times 10^3 / \mu l$ y la media de $50.8 \times 10^3 / \mu l$, están pronunciadamente disminuidos a los valores de referencia que es de $150 - 400 \times 10^3 / \mu l$. Esto ocurre porque en procesos leucémicos se reemplaza la médula por un tejido neoplásico o fibrótico; disminuye la función de los megacariocitos y los números de éstos, por lo que no se producen plaquetas y desciende el recuento (Pagana K. y Pagana T., 2015). Esta

es una de las principales causas del porqué la mayoría de los pacientes fallecen, ya que al tener un bajo conteo plaquetario, se vuelven incontrolables las hemorragias.

Respecto a la *LDH*, el límite superior (978U/L) y la media (504.8U/L) sobrepasan dichos valores normales, indicando procesos inflamatorios, traumatismos, estados neoplásicos, entre otros (Pagana K. y Pagana T., 2015).

En cuanto a los subtipos de *LMA* en estudio, se observó sobresaliente la M2, con siete casos (correspondiente al 41%); seguida de la M3 con cuatro casos (24%); después la M4 con tres casos (18%); posteriormente la M1 con dos casos (12%); y por último, la M0 con un caso (6%), no se observaron casos de subtipos M5, M6 y M7. Dichos resultados corroboran lo encontrado en la literatura y además conjugan lo propuesto en ambos estudios, que sugieren los subtipos más frecuentes de la población mexicana. Confirmando que la M2 es el subtipo más frecuente (Pérez et al., 2011), seguida la M3 (Fajardo et al., 2007) y después la M4 (Pérez et al., 2011).

Los subtipos M5, M6 y M7 no registraron casos, seguramente por ser poco frecuentes, (sobretudo el M7), y además es baja la muestra de población en estudio. La M5 y M7 se encuentran generalmente en lactantes, los cuales no suelen sobrevivir a la afección o al tratamiento.

En relación a la respuesta al tratamiento del primer mes, de los 17 pacientes sólo el 12% (dos casos) alcanzaron la remisión completa, el 6% (un caso) logró remisión parcial y aún continuaba en tratamiento al momento de la recopilación de datos. En contraste, 35% de los pacientes (6 casos), lamentablemente fallecieron durante el tratamiento.

El resto de los casos, el 47% (8 casos) se desconoce el estado de los mismos, en muchas ocasiones por abandono del tratamiento por diversos motivos; sólo se sabe que dos de ellos fueron trasladados a otro hospital, pero en calidad de “muy delicado”, lo cual no les confiere buen pronóstico.

8.2 Citogenética convencional

Con respecto a los criterios de la *OMS*, como requisito para poder clasificar cualquier leucemia, se muestran a continuación los resultados que presentó cada paciente en la tabla [8.2](#). Dichos resultados fueron recopilados en los laboratorios de Hematología, Inmunología, Genética y Biología Molecular del *HJM*.

Tabla 8.2 Compilación de resultados diagnóstico de los pacientes en estudio

No. Caso	Edad/ Sexo	Diagnóstico inicial	Hematológico	Inmuno-fenotipo	Cariotipo
1	66/M	SMD	LMA M2 a SMD	M0	46,XY,del(7)(q11.2q22)[5]/46,XY[9]
2	14/M	LMA M2	LMA M2	M1	der(4)del(4)inv(4)(p15.2q21)[2]/46,XY[3]
3	15/M	Síndrome Infiltrativo	LMA M0-M1	M1	Sin metafases
4	53/M	LM	LMA M2	M2	46,XY,del(3)(q21q26),inv(7)(p21q21)[3]/46,XY,+21,der(21;21)(q10;q10)[2]/46,XY[7]
5	32/F	LMA M4	LMA M4eo	M2	46,XX,t(8;21)(q22;q22)[3]/-24-32,X,+2,+3,+4,+5,+6,+9,+10,+11,+13,+14,+16,+18,+19,+21,cp[4]/~36-38,X,-13,-14,-15,-16,-17,-18,-19,cp[3]/end 46,XX[5]
6	54/M	SMD	-	M2	46,XY,del(7)(q22q32)[4]/46,XY[2]
7	47/F	PB* LMA M2	LMA M2	M2	46,XX[2] no concluyente
8	79/F	LM	LMA M2	M2	46,XX[7] no concluyente
9	20/F	LMA M2	LMA M2	M2	No concluyente
10	23/F	Pancitopenia	LMA M4	M2	46,XX[20]
11	58/F	LMA	LMA M3	M3	46,XX,t(15;17)(q24;q21)[14]
12	22/F	LMA M3	LMA M3	M3	46,XX,t(15;17)(q24;q21)[3]/46,XX[4]
13	19/M	LMA M3	LMA M3	M3	46,XY,t(15;17)(q24;q21)[9]
14	25/M	LMA M3	LMA M3	M3	No concluyente
15	16/M	LMA	LMA M4eo	M4	Sin metafases
16	16/M	LMA M3-M4	LMA M2	M4	46, XY[9] no concluyente
17	33/M	LLA vs LMA	Médula ósea con disgranulopoyesis, PB* SMD vs médula ósea reactiva	M4	No concluyente

*PB. Probable

Como se observa en la citogenética de los pacientes, sólo un caso (1/17) se reportó como normal. En otros tres casos (3/17), también se pensaría que son normales, sin embargo no cumplen con el *ISCN* que solicita mínimo 20 metafases normales para reportar un resultado como normal, por lo que se reportan como no concluyentes.

En dos casos (2/17) no se obtuvieron metafases, seguramente debido al alto conteo leucocitario, ya que se consumen rápidamente los nutrientes añadidos al medio, limitando la proliferación celular y por ende no se encontraron metafases posteriormente.

Así mismo, en otros tres casos (3/17), las metafases obtenidas no fueron suficientes para obtener un diagnóstico, unos por exceso de células en el medio y otros por la escases de estas en el mismo, por tanto no fueron concluyentes.

En el resto de los casos (8/17), se encontraron diversas anormalidades citogenéticas, que a continuación en la tabla [8.3](#) se agrupan por tipo de alteración cromosómica. Cabe señalar que para reportar un resultado, se necesita el cariotipo de mínimo dos metafases con las mismas anomalías cromosómicas para alteraciones estructurales y tres metafases para alteraciones numéricas.

A groso modo, las alteraciones más frecuentes en este estudio fueron las estructurales con cinco translocaciones, una inversión con delección, tres delecciones y una inversión, seguido de tres alteraciones numéricas.

Las translocaciones más comunes fueron las t(15;17) correspondientes a las Leucemias Promielocíticas Agudas o bien M3; posterior de las M2, entre las que se encuentra la t(8;21). Ambas translocaciones están catalogadas con pronóstico favorable para el paciente.

Referente a las delecciones encontradas, la mitad de los casos corresponde a delecciones en el cromosoma 7, comúnmente hallada en casos de *SMD* y *LMA*. Además de otro caso con alteraciones en el mismo brazo largo del cromosoma 7, pero en este caso es una inversión en uno de los puntos de rompimiento en común. En general, alteraciones en el cromosoma 7 les confiere un mal pronóstico a los pacientes.

Respecto a las alteraciones numéricas encontradas, se observó una superior a la haploidía (n=23) y otra inferior cercana a la diploidía (n=46) (Lisker et al., 2013). Además de una endorreduplicación, que sucede cuando la célula duplica su material genético y después no se divide la célula.

Por último, los casos con más de tres clonas son cariotipos complejos y están categorizados con mal pronóstico. De tal forma que al paciente que le corresponden todas las alteraciones numéricas, le confiere un pronóstico desfavorable.

Tabla 8.3 Alteraciones cromosómicas encontradas en los pacientes en estudio

Alteraciones cromosómicas estructurales y numéricas	Subtipo LMA	No. Caso
⊕ ESTRUCTURALES		
Deleciones		
del(3)(q21q26)	M2	4
del(7)(q11.2q22)	M0	1
del(7)(q22q32)	M2	6
Deleciones e inversiones		
der(4)del(4)inv(4)(p15.2q21)	M1	2
Inversiones		
inv(7)(p21q21)	M2	4
Translocaciones		
t(8;21)(q22;q22)	M2	5
t(15;17)(q24;q21)	M3	11,12,13
der(21;21)(q10;q10)	M2	4
⊕ NUMÉRICAS		
Endorreduplicación		
end 46,XX	M2	5
Hiperhaploidía (24-34)		
~24-32,X,+2,+3,+4,+5,+6,+9,+10,+11,+13,+14,+16,+18,+19,+21,cp	M2	5
Hipodiploidía (35-45)		
~36-38,X,-13,-14,-15,-16,-17,-18,-19,cp	M2	5

A continuación se aborda puntualmente cada alteración de acuerdo al número de cromosoma y basado en el *ISCN* 2016 (Shaffer et al., 2013) (McGowan et al., 2016).

8.2.1 Alteraciones cromosómicas estructurales

8.2.1.1 del(3)(q21q26)

del(3)(pter→q21::q26→qter)

Se encontró una deleción intersticial en el brazo largo del cromosoma 3 entre la región q21 a q26, donde se encuentran los genes riboforina I (RPN1), ubicado en la banda 3q21.3 y codifica una glucoproteína transmembranal localizada en el retículo endoplásmico rugoso (Smo, 2015); y el gen del sitio 1 de integración viral ecotrópica (EVI1), ubicado en la banda 3q26.2, que codifica una proteína nuclear de dedos de zinc que es un regulador transcripcional implicado en la proliferación, diferenciación y apoptosis celular (Smo, 2015).

Se muestra el cariotipo parcial en la figura [8.1↓](#) y el ideograma en la figura [8.2↓](#).

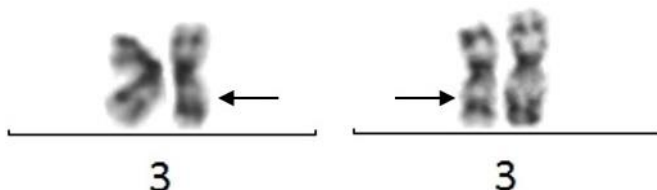


Figura 8.1 Cromosoma 3 alterado en dos cariotipos parciales

Se han reportado todo tipo de rearrreglos cromosómicos balanceados y no balanceados para el cromosoma 3, principalmente para el brazo largo, como translocaciones (entre los más comunes con los cromosomas 1, 3, 7, 8, 12 y 21), inversiones, deleciones, ganancias, trisomías, entre otras (Liu et al., 2015).

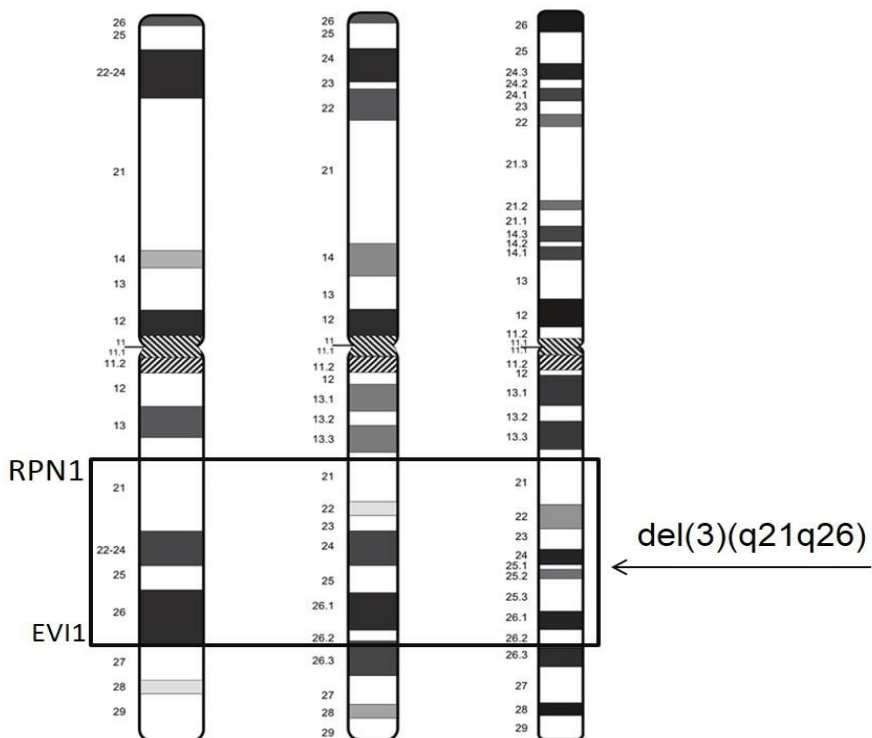


Figura 8.2 Ideograma del cromosoma 3 (en resoluciones de izquierda a derecha de 300, 400 y 550 bandas) mostrando el punto de rompimiento de la $\text{del}(3)(\text{q}21\text{q}26)$ (Tomado y modificado de Shaffer et al., 2013).

Con anterioridad se creía que las anomalías cromosómicas de la región 3q21 a 3q26 se presentaba sólo en desórdenes hematológicos de línea mieloide (Secker, Mehta y Bain, 1995), sin embargo, hoy en día se sabe que no solo se encuentran en *LMA*, *SMD* y *LMC*, sino también se han reportado en *LLA*, Mieloma Múltiple (MM) y *LLC* (Liu et al., 2015).

La clasificación de la *OMS* de 2008, catalogó la $\text{inv}(3)(\text{q}21\text{q}26) / \text{t}(3;3)(\text{q}21;\text{q}26)$ como la anomalía más frecuente detectada en pacientes

con *LMA*, *LMC*, y *SMD* por lo que se categorizó en "*LMA* con anomalías genéticas recurrentes" (Vardiman et al., 2009).

Reordenamientos cromosómicos en dicha región, a menudo conducen a la sobreexpresión del gen *MECOM* ó *EV11* (Ecotropic Viral Integration Site-1, Sitio 1 de Integración Viral Ecotrópica), el cual está localizado en la región del cromosoma 3q26. Dicha sobreexpresión del gen se ha asociado a un pronóstico adverso para la respuesta terapéutica y la supervivencia (Bobadilla et al., 2007).

En leucemogénesis, el papel exacto del gen *EV11* es desconocido, sin embargo, se reconoce que posee un papel potencial para el desarrollo y el progreso de desórdenes mieloides, debido a que su expresión inapropiada en células hematopoyéticas que sobreestimula la proliferación celular, perjudica la diferenciación celular e induce la transformación celular (Bobadilla et al., 2007).

Respecto a la del(3), tiene la más baja incidencia entre las alteraciones cromosómicas previamente mencionadas, además de acuerdo a la literatura, las pérdidas genómicas pueden tener un impacto más adverso en el pronóstico del paciente que las ganancias genómicas, al conducir a defectos funcionales de algunos genes críticos (Liu et al., 2015).

Así mismo se han registrado inv(3) crípticas por análisis de *FISH* en pacientes con alteraciones en el cromosoma 3 como del(3)(q21) y add(3)(q21) y registraron altos niveles de transcripción de *MECOM*, por lo que se sugiere que en casos de anomalías de 3q, que implican diferentes regiones de 3q26 pueden ocultar reordenamientos de *MECOM* (Baldazzi et al., 2016).

Se ha registrado sobreexpresión del proto-oncogen en *LMA* sin la participación de rearrreglos en 3q26 (por análisis de bandas por cromosoma) y se ha asociado a subgrupos citogenéticos de *LMA* como cariotipo normal, monosomía (-7), deleciones (7q-), rearrreglos en 11q23, además de *LLM*↓ (Leucemias de Linaje Mixto) (Haferlach et al., 2012) (Gröschel et al., 2013) (Baldazzi et al., 2016) (Hinai y Valk, 2016).

En el caso de este paciente (caso 4), además de ser portador de la del(3) también posee otras alteraciones (que se abordan más adelante) como inv(7) y t(21;21) y que lo asocia con un pronóstico completamente desfavorable.

8.2.1.2 der(4)del(4)inv(4)(p15.2q21)

der(4)del(4)inv(4)(pter→p15.2::q21→p15.2::q21→qter)

En este caso se encontraron dos alteraciones estructurales en el mismo cromosoma 4, generando un cromosoma derivativo producto de una deleción intersticial y una inversión pericéntrica entre las regiones del brazo corto 4p15.2 y del brazo largo 4q21. Cabe señalar que en dichas regiones se encuentran reportados varios genes, sin embargo los que se han implicado en procesos leucémicos son el CD38 y el AFF1, ubicados respectivamente en las regiones 4p15.3 y 4q21.3.

La CD38 humana es una proteína transmembranal tipo II que se expresa en la superficie de diversas células de linajes tanto hematopoyéticos como no hematopoyéticos; actúa como enzima extracelular multifuncional implicada en la transducción de señales, la adhesión celular y señalización de calcio (Deaglio y Vaisitti, 2012). Por otro lado el gen AFF1, genera una proteína nuclear cuya función es activadora de la transcripción (Marschalek, 2003).

Como se observa en el cariotipo parcial de la figura [8.3↓](#), el cromosoma 4 de menor tamaño denota la deleción. Así mismo en la figura [8.4↓](#) se muestra el ideograma y la región involucrada.



Figura 8.3 Cromosoma 4 alterado en un cariotipo parcial

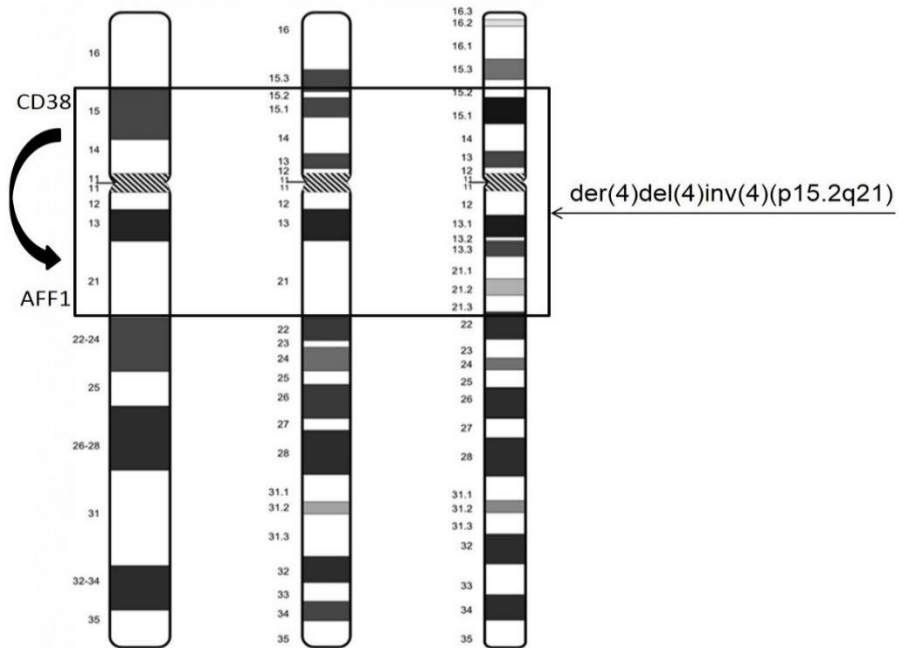


Figura 8.4 Ideograma del cromosoma 4 (en resoluciones de izquierda a derecha de 300, 400 y 550 bandas) mostrando el punto de rompimiento del $\text{der}(4)\text{del}(4)\text{inv}(4)(\text{p}15.2\text{q}21)$ (Tomado y modificado de Shaffer et al., 2013).

A pesar de que no se encontraron reportadas en la literatura ambas anomalías juntas (deleción con inversión), si se encontró que existe una deleción intersticial (dentro de la región en cuestión) en 4q12 que genera la fusión de los genes *FIP1L1-PDGFR*A y está relacionado con trastornos hematológicos asociados a eosinofilia (Barraco et al., 2014). La fusión de genes *FIP1L1-PDGFR*A es causada por una deleción cromosómica cercana al centrómero del brazo largo del cromosoma 4, $\text{del}(4)(\text{q}12\text{q}12)$. Es tan pequeña (800kbp) que es indetectable por cariotipo, como se observa en el ideograma de la figura 8.5 por lo que el diagnóstico debe determinarse por *RT-PCR* o *FISH* (Barraco et al., 2014).

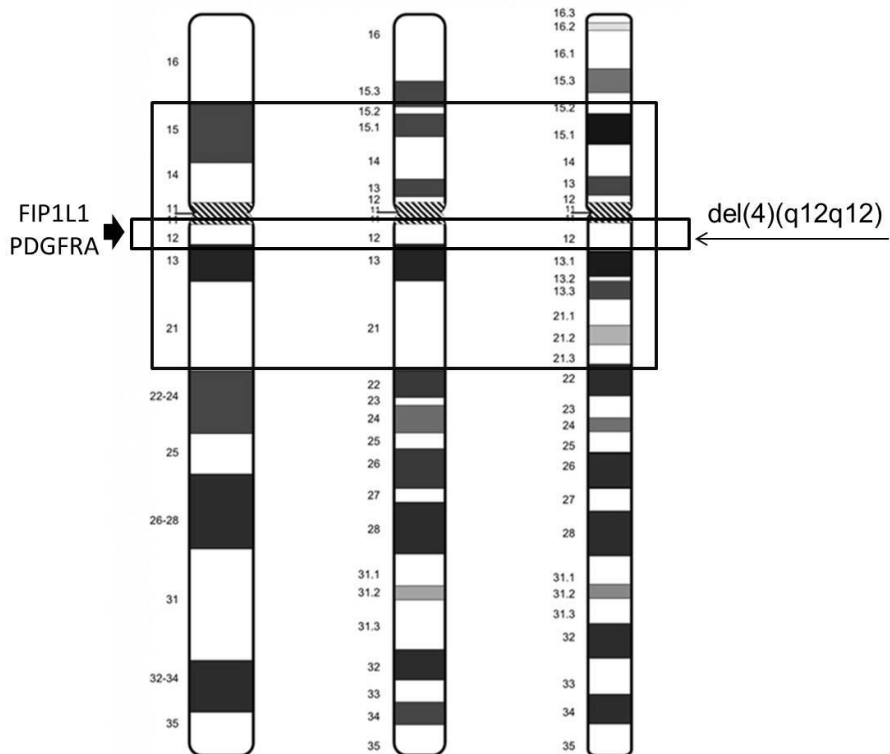


Figura 8.5 Ideograma del cromosoma 4 (en resoluciones de izquierda a derecha de 300, 400 y 550 bandas) mostrando el punto de rompimiento de la del(4)(q12q12) (Tomado y modificado de Shaffer et al., 2013).

La oncoproteína de fusión resultante es una tirosin-quinasa quimérica constitutivamente activa, que da como resultado la desregulación de la hematopoyesis de manera similar que la BCR-ABL en la LMC, ya que promueve la proliferación y la supervivencia de los precursores mieloides a través de las vías de señalización de STAT5, que pueden inhibirse eficazmente mediante inhibidores de tirosin-quinasa específicos tales como el Imatinib (Metzgeroth et al., 2007).

8.2.1.3 del(7)(q11.2q22)

del(7)(pter→q11.2::q22→qter)

8.2.1.4 del(7)(q22q32)

del(7)(pter→q22::q32→qter)

En dos casos se encontraron deleciones en el cromosoma 7 con diferentes puntos de rompimiento, sin embargo se abordan a la par debido a que el fundamento es el mismo.

De acuerdo a la literatura (Desangles, 1999), las deleciones en el cromosoma 7 son comunes en *SMD* y en *LMA*, ya sean de *novo* o secundarias a exposiciones de agentes químicos mutagénicos, a tratamientos de quimioterapia con agentes alquilantes, o al tratamiento inmunosupresor para la anemia aplásica severa. Ya sea como monosomía o como deleciones en el cromosoma del brazo largo [-7/del(7q)], son eventos secundarios que contribuyen a la leucogénesis.

La proporción de adultos con un trastorno mielóide con [-7/del(7q)] crece dramáticamente después de 60 años. En ambos casos el pronóstico es desfavorable ya que dichas alteraciones están caracterizadas con susceptibilidad infecciosa, agravamiento rápido y resistencia al tratamiento. Es también clasificada como un criterio de mal pronóstico por el *International Prognostic Scoring System* (Sistema Internacional de Puntuación Pronóstica); la tasa de recaída es sumamente alta y la tasa de supervivencia es baja. Después de un trasplante alogénico de médula ósea, la -7/del(7q) es predictivo de un resultado desfavorable.

La deleción (7q) es siempre intersticial; con zonas de corte desde 7q11 a 7q36, y dos puntos de rompimiento comunes en q22 y en q32-34 (Desangles, 1999).

En el caso de la del(7)(q11.2q22), la deleción ocurre entre las regiones q11.2 y q22, como se observa en la figura [8.6](#) el cariotipo parcial de dos células con dicha alteración.

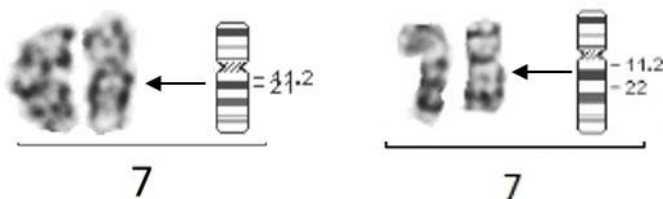


Figura 8.6 Cromosoma 7 alterado en dos cariotipos parciales

Los puntos de rompimiento involucran entre otros genes, el HspB1 y ACHE, ambos relacionados con leucemias de acuerdo con la literatura y ubicados respectivamente en las regiones 7q11.23 y 7q22.1, como se indica en la figura [8.7](#) el ideograma del cromosoma 7 en diferentes resoluciones y los puntos de rompimiento mencionados.

La expresión del gen HspB1 forma parte del grupo de proteínas de choque térmico (Hsps) que juegan un papel importante en el desarrollo de cáncer y en la modulación de la respuesta del tumor a la terapia citotóxica. Es también conocido como Hsp27; Hsp28; Hsp25; actúa como chaperona molecular, participa en la transducción de señales, regulación del desarrollo y diferenciación celular, inhibición de apoptosis, y además en la oncogénesis y resistencia a la quimioterapia (Laskowska, Kuczyńska y Matuszewska, 2010) (Sedlackova, Spacek, Holler, Imryskova y Hromadnikova, 2011). La sobreexpresión de Hsp27 aumenta la tumorigenicidad y protege las células malignas contra la muerte celular apoptótica (Sedlackova et al., 2011).

El HspB1 pertenece a la familia de ubiquitinas de las pequeñas proteínas de choque térmico (sHsps), caracterizadas por baja masa molecular (12-30kDa), las cuales se unen a proteínas desnaturalizadas y facilitan su replegamiento por chaperonas moleculares dependientes de ATP de la familia Hsp70 (Laskowska et al., 2010). Estudios recientes han demostrado que los pacientes con *LMA* de *novo*, con

citogenética desfavorable e intermedia, con frecuencia eran positivos a la membrana Hsp70 (Sedlackova et al., 2011).

Referente al gen ACHE, es también conocido como acetilcolinesterasa y puede ser un regulador de la hematopoyesis, afectando las decisiones del destino celular en el proceso de las células progenitoras GEMM. La eliminación del locus ACHE en 7q22 se asocia con *SMD* y *LMA* (Soreq y Greenberg, 2012).

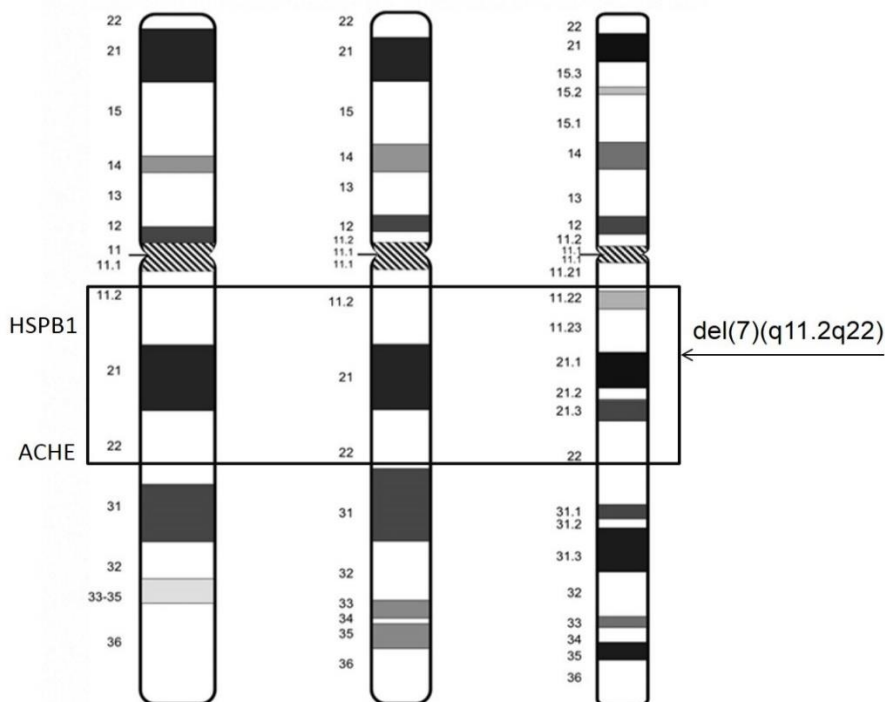


Figura 8.7 Ideograma del cromosoma 7 (en resoluciones de izquierda a derecha de 300, 400 y 550 bandas) mostrando el punto de rompimiento de la del(7)(q11.2q22) (Tomado y modificado de Shaffer et al., 2013).

Por otro lado, para la del(7)(q22q32), los puntos de rompimiento ocurren también en q22, afectando probablemente al gen ACHE y en q32 no se tiene certeza de cual(es) son los genes afectados, ya que

aunque existe una gran variedad de genes y oncogenes en específicamente esta región, hasta ahora ninguno está relacionado directamente con leucemias. En la figura [8.8](#) se observa el cariotipo parcial de tres células con la alteración. Además en la figura [8.9](#) se encuentra el ideograma con el punto de rompimiento entre la región 7q22 y 7q32.

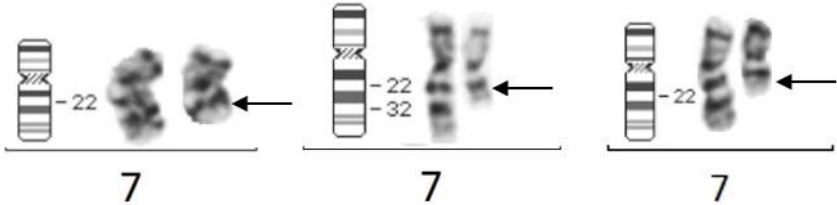


Figura 8.8 Cromosoma 7 alterado en tres cariotipos parciales

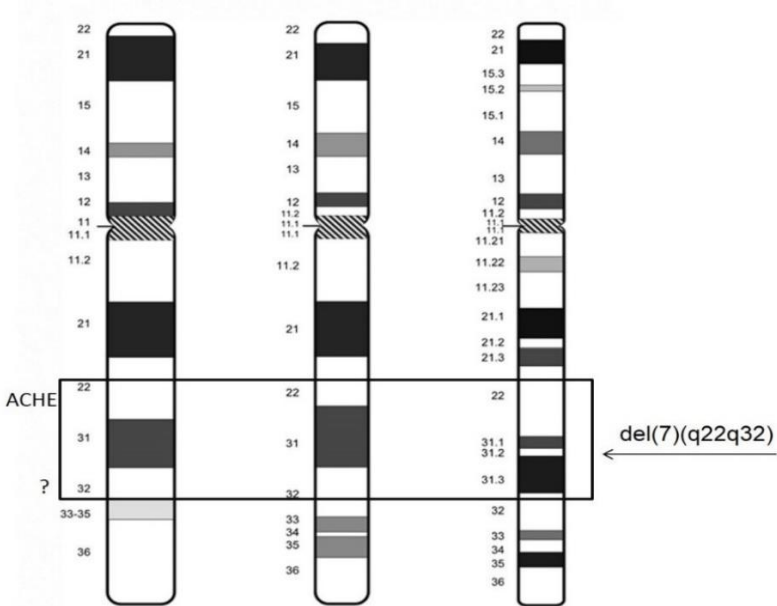


Figura 8.9 Ideograma del cromosoma 7 (en resoluciones de izquierda a derecha de 300, 400 y 550 bandas) mostrando el punto de rompimiento de la del(7)(q22q32) (Tomado y modificado de Shaffer et al., 2013).

8.2.1.5 $inv(7)(p21q21)$

$inv(7)(pter \rightarrow p21::q21 \rightarrow p21::q21 \rightarrow qter)$

En este caso la alteración encontrada fue una inversión pericéntrica, que involucra ambos brazos del centrómero, el corto en p21 y el largo en q21, como se observa en el cariotipo parcial de la figura [8.10↓](#) y en el ideograma de la figura [8.11↓](#). Para apreciar de mejor manera el cromosoma resultante de dicha inversión, en la figura [8.12↓](#) se observa el ideograma comparativo del cromosoma normal y el cromosoma con la inversión, facilitando la visualización de la alteración.

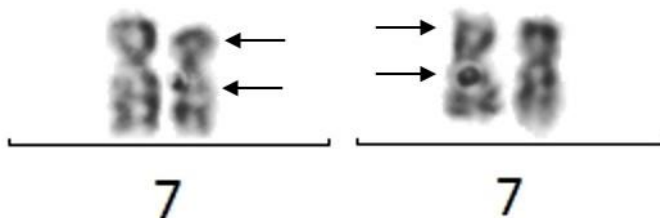


Figura 8.10 Cromosoma 7 alterado en dos cariotipos parciales

Dichas regiones no se encuentran reportadas juntas en la base del Atlas de Genética y Citogenética en Oncología y Hematología, sin embargo, existen translocaciones en regiones cercanas a las encontradas experimentalmente, esto es $t(7;7)(p15;q21)$ para *LLA* y linfoma linfoblástico; y $t(7;7)(p21;q11)$ para *LMA*. Y como se observa en la figura [8.12↓](#) la región encontrada experimentalmente p21q21 es la conjunción de ambas translocaciones reportadas en la literatura, señalando la cercanía de lo encontrado con lo reportado, además de la importancia del análisis minucioso de las bandas en el cariotipo.

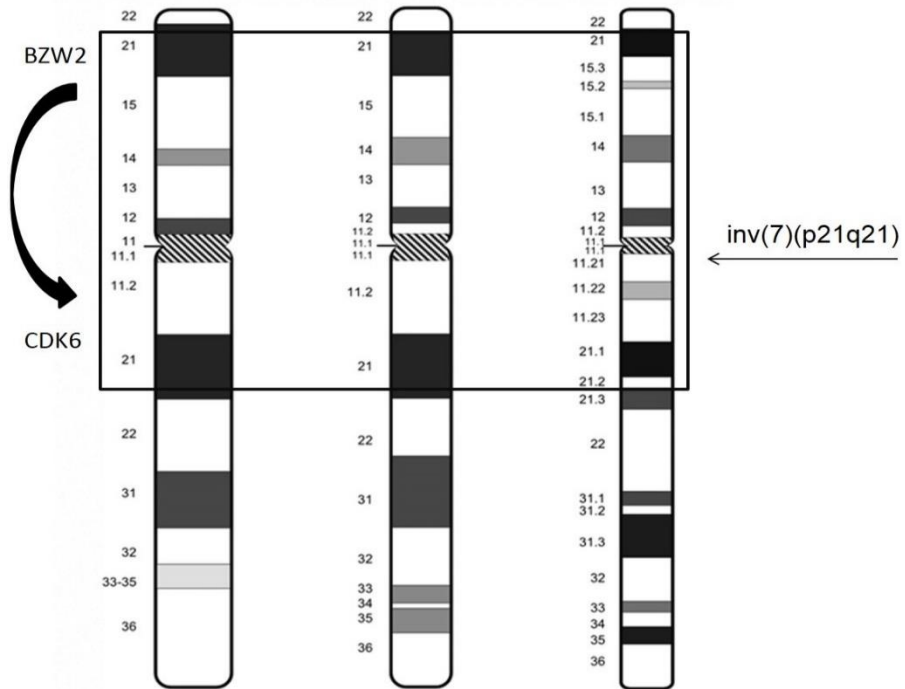


Figura 8.11 Ideograma del cromosoma 7 (en resoluciones de izquierda a derecha de 300, 400 y 550 bandas) mostrando el punto de rompimiento de la $inv(7)(p21q21)$ (Tomado y modificado de Shaffer et al., 2013).

Referente a los genes que podrían verse afectados son BZW2 para 7p21.1 y CDK6 para 7q21.2. Entre las funciones para BZW2 es de enlace proteico y de unión de cadherina (proteína de membrana de tipo I implicada en la adhesión celular), participa en procesos de diferenciación celular y el desarrollo del sistema nervioso (NCBI, 2018a). Para CDK6, es una quinasa, subunidad catalítica del complejo proteína quinasa, importante para la progresión de la fase G1 del ciclo celular y la transición G1/S; la expresión alterada de este gen se ha observado en múltiples cánceres humanos (NCBI, 2018b).

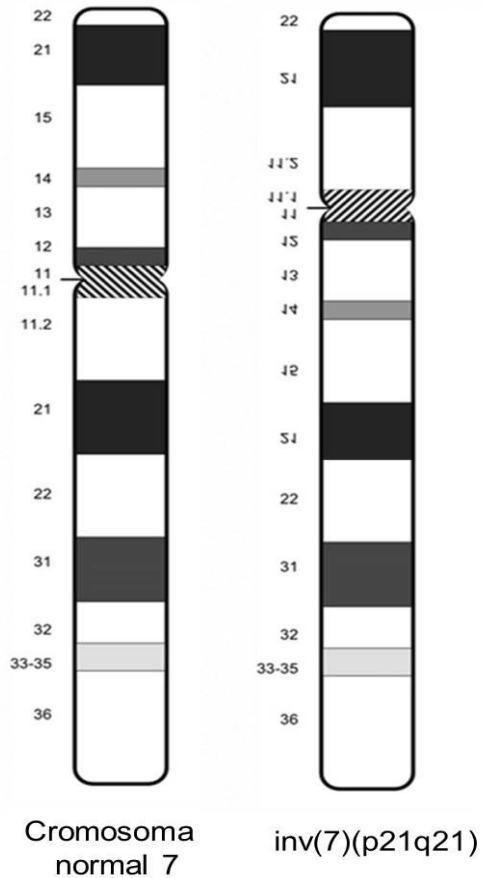


Figura 8.12 Ideograma comparativo del cromosoma 7 normal vs $inv(7)(p21q21)$ en resolución de 300 bandas (Tomado y modificado de Shaffer et al., 2013).

El pronóstico en este caso es reservado ó desfavorable ya que las inversiones pueden conllevar deleciones puntuales indetectables en el cariotipo y al parecer, cualquier alteración (por mínima que sea) en el cromosoma 7 puede ser fatal.

8.2.1.6 t(8;21)(q22;q22)

t(8;21)(8pter→8q22::21q22→21qter;21pter→21q22::8q22→8qter)

En este caso la alteración encontrada es una translocación entre los cromosomas 8 y 21, ambos en la región q22 de los brazos largos, como se observa en la figura [8.13↓](#) donde se muestra la translocación en el cariotipo parcial y en las figuras [8.14↓](#) y [8.15↓](#) se muestran los ideogramas de los cromosomas involucrados.

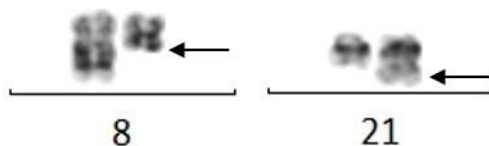


Figura 8.13 Cromosomas 8 y 21 alterados en un cariotipo parcial

Los puntos de rompimiento ocurren en la afectación de los genes RUNX1T1 y RUNX1 que se encuentran en las regiones respectivamente 8q21.3 y 21q22.12. Entre las funciones que se destacan del gen RUNX1, participa en diversos procesos hematopoyéticos, como por ejemplo en la proliferación y diferenciación de células madre hematopoyéticas, también en la diferenciación de varias líneas celulares, como megacariocitos, queratinocitos, células mieloide, células T reguladoras, condrocitos, granulocitos, entre otros (NCBI, 2018e). Referente al gen RUNX1T1 participa en la generación de metabolitos precursores y energía, además participa en la transcripción de la plantilla del DNA, entre otras funciones (NCBI, 2018f).

Dicha anomalía se encuentra en el grupo de anomalías genéticas recurrentes para *LMA*, generalmente se presenta en *LMA* subtipo M2, y en menor frecuencia en M1 y M4. En el caso de este paciente, el subtipo es M4. El pronóstico para esta anomalía es favorable, sin embargo debido a que el paciente cuenta con 4 clonas distintas se concluye que el pronóstico para este paciente es reservado.

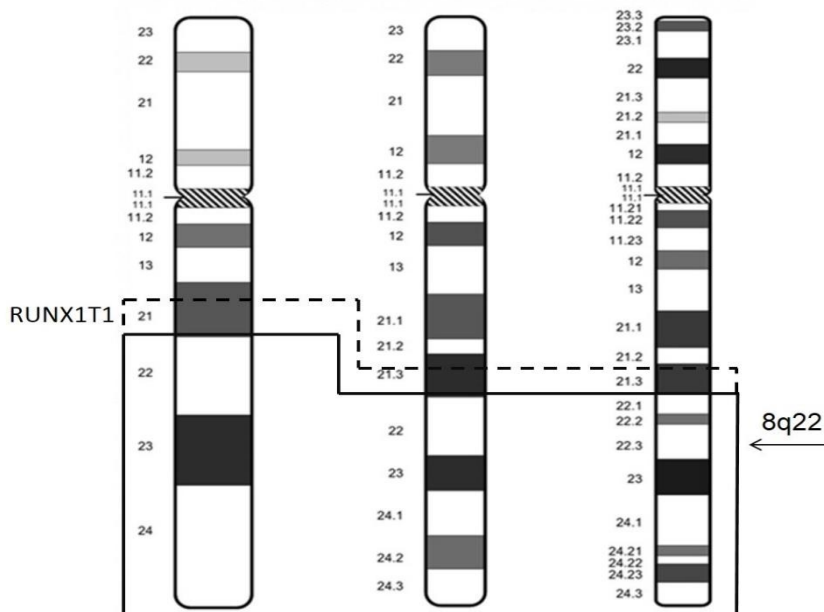


Figura 8.14 Ideograma del cromosoma 8 (en resoluciones de izquierda a derecha de 300, 400 y 550 bandas) mostrando el punto de rompimiento de la región involucrada en la t(8;21)(q22;q22) (Tomado y modificado de Shaffer et al., 2013).

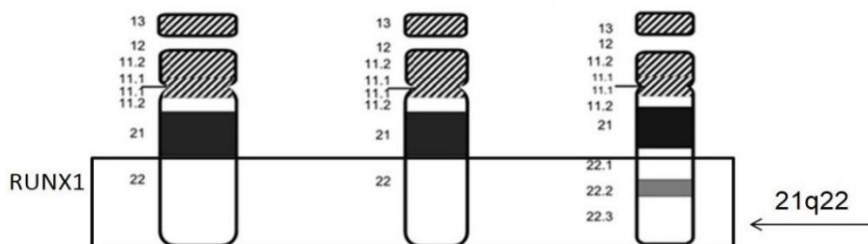


Figura 8.15 Ideograma del cromosoma 21 (en resoluciones de izquierda a derecha de 300, 400 y 550 bandas) mostrando el punto de rompimiento de la región involucrada en la t(8;21)(q22;q22) (Tomado y modificado de Shaffer et al., 2013).

8.2.1.7 t(15;17)(q24;q21)

t(15;17)(15pter→15q24::17q21→17qter;17pter→17q21::15q24→15qter)

En este caso la alteración encontrada es una translocación entre los brazos largos del cromosoma 15 y 17, con puntos de rompimiento en 15q24.1 y en 17q21.2, afectando respectivamente los genes PML y RAR α , como se observa en el cariotipo parcial de la figura [8.16](#) y en los ideogramas de las figuras [8.17](#) y [8.18](#).

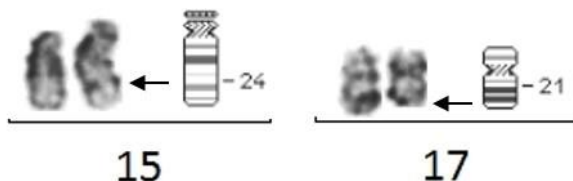


Figura 8.16 Cromosomas 15 y 17 alterados en el cariotipo parcial

Dicha translocación está asociada con la *LPA* o también conocida como *LMA* M3. Es la del pronóstico más favorable de todos los subtipos de *LMA*, ya que hasta el momento, es el único cáncer que puede tratarse con terapia de diferenciación, que consiste en el uso de ATRA (ácido transretinoico) en combinación con quimioterapia, alcanzando la remisión completa en más de 90% de los casos (Huret y Chomienne, 1998).

Respecto a la afectación de los principales procesos en los que participan los genes afectados, para PML son diferenciación de células mieloides, detención del ciclo celular, apoptosis y senescencia celular, regulación negativa del crecimiento celular, entre otros (NCBI, 2018c). Para RAR α son la eliminación de células apoptóticas, respuesta celular al ácido retinoico, regulación negativa del proceso apoptótico, regulación negativa de la proliferación celular, entre otros (NCBI, 2018d).

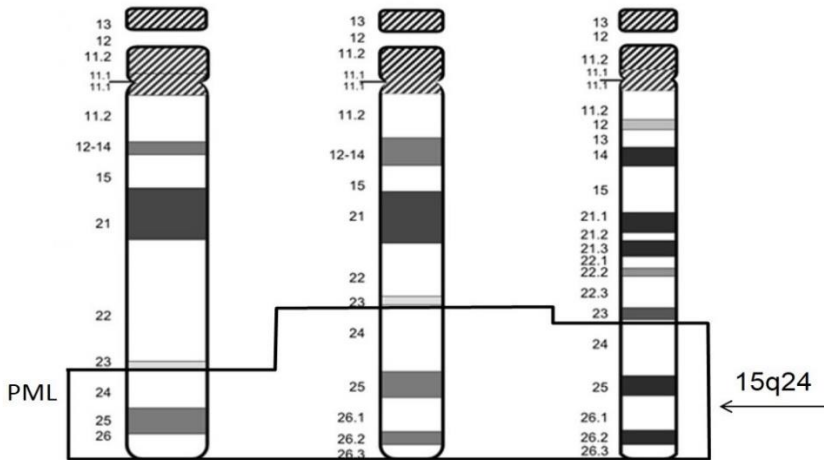


Figura 8.17 Ideograma del cromosoma 15 (en resoluciones de izquierda a derecha de 300, 400 y 550 bandas) mostrando el punto de rompimiento de la región involucrada en la $t(15;17)(q24;q21)$ (Tomado y modificado de Shaffer et al., 2013).

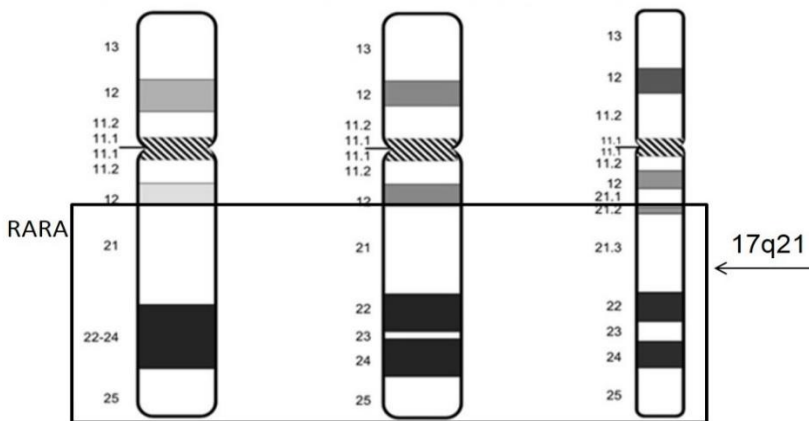


Figura 8.18 Ideograma del cromosoma 17 (en resoluciones de izquierda a derecha de 300, 400 y 550 bandas) mostrando el punto de rompimiento de la región involucrada en la $t(15;17)(q24;q21)$ (Tomado y modificado de Shaffer et al., 2013).

8.2.1.8 **der(21;21)(q10;q10)**

rob(21;21)(q10;q10)

En este caso se encontró un cromosoma derivativo constituido por los brazos largos del cromosoma 21 estructurado como una translocación robertsoniana, también puede reportarse como un isocromosoma $i(21)(q10)$.

Como se observa en el cariotipo parcial de la figura [8.19](#) existen dos copias del brazo largo del cromosoma 21 en el cromosoma derivativo, además de un cromosoma 21 normal, derivándose en una trisomía de los brazos largos del cromosoma 21 en este paciente. Así mismo en la figura [8.20](#) se muestra el ideograma y el punto de rompimiento en dicha alteración. Para facilitar la visualización del cromosoma resultante de la translocación robertsoniana, en la figura [8.21](#) se muestra el ideograma del cromosoma $der(21;21)(q10;q10)$.

Respecto a los genes implicados en la trisomía 21 asociada a la leucemia son desconocidos; sin embargo, al parecer la región 21q22 es crucial debido a la amplia cantidad de genes que existen en dicha región, además de la funcionalidad intrínseca en cada uno de ellos (Viguié, 2001).

La trisomía 21 es la segunda trisomía adquirida más frecuente, después de la +8 en adultos con *LMA / SMD*. Rara vez se observa como única anomalía; la asociación más frecuente es con -5/5q- y -7/7q-, seguida de +8 y reordenamientos estructurales $t(8;21)$, $t(15;17)$ e $inv(16)$ (Viguié, 2001).

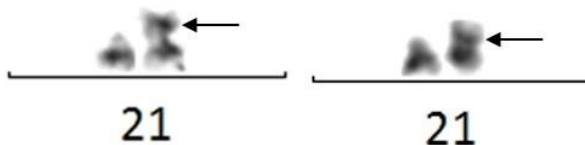


Figura 8.19 Cromosoma 21 normal y derivativo en dos cariotipos parciales

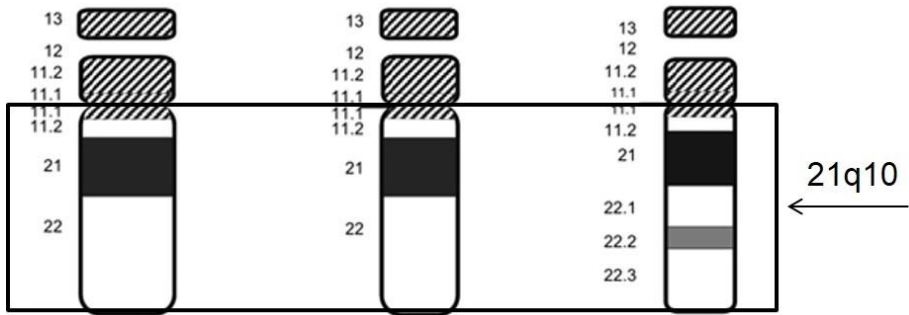
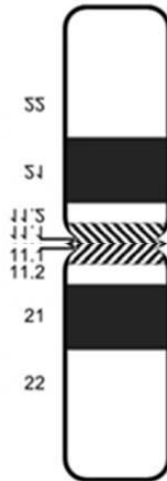


Figura 8.20 Ideograma del cromosoma 21 (en resoluciones de izquierda a derecha de 300, 400 y 550 bandas) mostrando el punto de rompimiento de la región involucrada en el der(21;21)(q10;q10) (Tomado y modificado de Shaffer et al., 2013).



der(21;21)(q10;q10)

Figura 8.21 Ideograma (en resolución de 300 bandas) mostrando la translocación robertsoniana (Tomado y modificado de Shaffer et al., 2013).

Alternativamente a +21 y en el mismo contexto clínico, se puede observar múltiples copias de un cromosoma 21 reordenado estructuralmente como $i(21q)$, $psu\ dic(21q)$ o $r(21)$. En algunos de estos $der(21)$, un segmento del cromosoma 21 puede amplificarse en tándem como región de tinción homogénea (HSR) (Viguié, 2001).

Aún como única anomalía tiene un pronóstico desfavorable (Viguié, 2001), en este caso, además se asocia con otras alteraciones cromosómicas como $del(3)$ e $inv(7)$ lo cual vislumbra aún peor el panorama del pronóstico en este paciente.

8.2.2 Alteraciones cromosómicas numéricas

8.2.2.1 Endorreduplicación (end 46,XX)

Todas las alteraciones numéricas fueron encontradas en sólo un paciente (caso 5), dentro de las cuales se reportó endorreduplicación o también conocida como endorreplicación (end 46,XX), la cual es una alteración que presenta los cromosomas duplicados en metafase, así como se observa en la figura [8.22](#) inciso a y b.

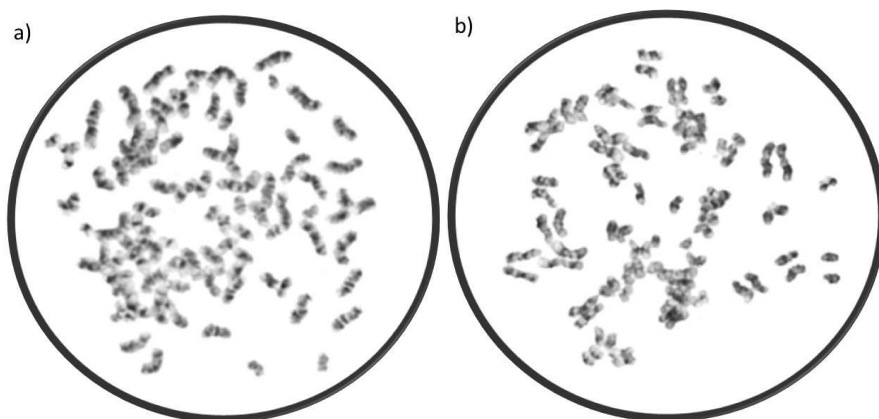


Figura 8.22 Células en metafase con endorreduplicación (end 46,XX) con 92 cromosomas (es decir $4n$, en donde $n=23$)

La endorreduplicación ocurre cuando una célula diploide sale del ciclo celular mitótico en fase G2, suprimiendo los requisitos necesarios para entrar en mitosis y entrando en un estado poliploide o endo-G1, sometiéndose así, a múltiples fases S sin entrar en mitosis, ni citocinesis; alternando fases G y S. El resultado es una célula gigante con un único núcleo, agrandado y poliploide (Zielke, Edgar y DePamphilis, 2013) (Gomes et al., 2017).

La poliploidía y endorreduplicación de cromosomas ocurren más a menudo en pacientes con cáncer diseminado y varían con la extensión de la enfermedad (Vijay et al., 2012).

La tetraploidía (4n) es aún más rara que la triploidía, se origina por el fenómeno de endorreduplicación, cuando después de la mitosis no se completa la división citoplásmica, quedando la célula con el doble del material genético. Esta explicación es apoyada por el hecho de que los cariotipos tetraploides son 92,XXXX ó 92,XXYY (Del Castillo et al., 2012).

8.2.2.2 Hiperhaploidía (24-34)

~24-32,X,+2,+3,+4,+5,+6,+9,+10,+11,+13,+14,+16,+18,+19,+21,cp

La hiperhaploidía es una rara anomalía numérica definida por un rango de 24-34 cromosomas y se ha identificado en muchos tipos de tumores diferentes (Sawyer et al., 2016). Posee una frecuencia bastante baja, constituyendo aproximadamente 0.2-0.3% de todas las neoplasias humanas caracterizadas citogenéticamente pero que ascienden a casi 1% en *LLA* (Mandahl, Johansson, Mertens y Mitelman, 2012). Los tumores hiperhaploides pueden contener de 1 a 11 cromosomas disómicos, por lo tanto, sus cariotipos típicamente presentan uno o varios cromosomas presentes en dos copias (Mandahl et al., 2012). La hiperhaploidía se identifica y reconoce de manera más consistente como una categoría de aberraciones numéricas en la *LLA* infantil (Sawyer et al., 2016). En la *LLA* infantil los clones hiperhaploides se presentan en dos subgrupos, un subgrupo cercano a la haploidía ó casi haploidía con

un rango de 24-29 cromosomas, (como se observa en el cariotipo de la figura [8.23↓](#) y en la célula en metafase de la figura [8.25↓](#)); y un subgrupo bajo de hipodiploidía con un rango de 30-39 cromosomas, (como se observa en el cariotipo de la figura [8.24↓](#)); en ambos casos se asocian con un mal pronóstico (Sawyer et al., 2016) (Sawyer y Morgan, 2017).

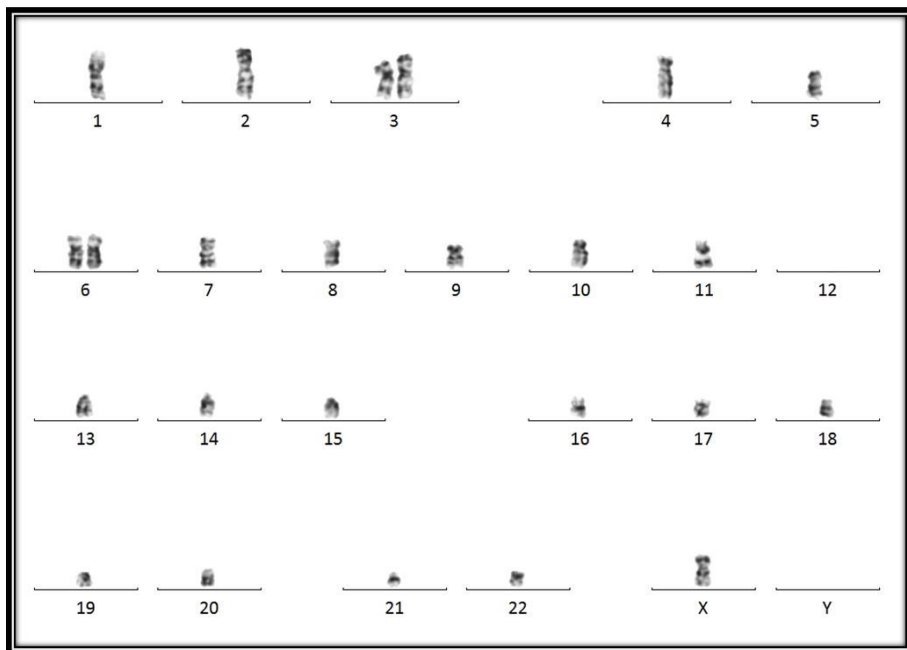


Figura 8.23 Cariotipo con hiperhaploidía, de subgrupo cercano a la haploidía (24,X,+3,+6,-12)

A ciencia cierta no se sabe exactamente cuál es el origen de estas aneuploidías, sin embargo existen algunas teorías, entre ellas se cree que pueden originarse a través de la pérdida sucesiva de cromosomas o por un evento único somático erróneo similar a la meiosis (Mandahl et al., 2012). También es posible que el conjunto de cromosomas alineados en la placa mitótica de alguna manera experimenten un patrón de segregación diferente debido a anomalías en el huso y/o defectos del centrosoma. Potencialmente, esto puede deberse al mismo tipo de

defecto mitótico que resulta en la pérdida catastrófica de un conjunto haploide de cromosomas en la *LLA* hiperhaploide (Sawyer y Morgan, 2017).

Las consecuencias biológicas de la hiperhaploidía, con una copia de la mayoría de los cromosomas y dos copias de un número variable de otros cromosomas, son desconocidas. Estos son grandes cambios que afectan a miles de genes y la pérdida de heterocigosidad (LOH) es masiva. Los datos disponibles indican que los cromosomas disómicos muestran principalmente la retención de heterocigosidad y, por lo tanto, representan los cromosomas maternos y paternos y no un duplicado de ninguno. De manera que se puede esperar que los cambios dramáticos del genoma afecten las interacciones genéticas y proteicas, así como la señalización dentro de la célula (Mandahl et al., 2012).

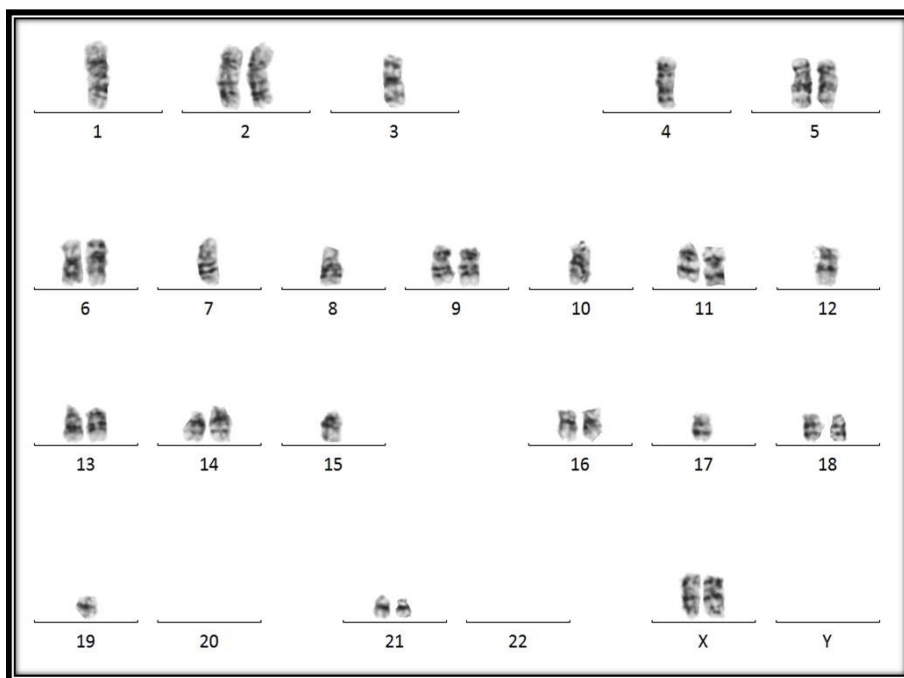


Figura 8.24 Cariotipo con hiperhaploidía, de subgrupo bajo de hipodiploidía (32,XX,+2,+5,+6,+9,+11,+13,+14,+16,+18,-20,+21,-22)



Figura 8.25 Células en metafase con hiperhaploidía (24,X)

8.2.2.3 Hipodiploidía (35-45)

~36-38,X,-13,-14,-15,-16,-17,-18,-19,cp

Se llama hipodiploidía al cariotipo de 35-45 cromosomas (Goud et al., 2015). Se caracteriza por aneuploidías y mutaciones, con pocas microdeleciones y reordenamientos estructurales (Safavi et al., 2015). Es un hallazgo raro que ocurre aproximadamente igual entre niños y adultos con *LLA* en un 5-6% (Goud et al., 2015), de los cuales la mayoría (80%) tienen células leucémicas con 45 cromosomas, mientras que las células leucémicas con menos de 45 cromosomas se observan con mayor rareza (Heerema et al., 1999) (Raimondi et al., 2003) (Harrison et al., 2004). La hipodiploidía se divide en tres subgrupos con base al número modal cromosómico: casi haploidía o cercano a la haploidía (25-30 cromosomas), hipodiploidía baja (31-39 cromosomas) e hipodiploidía alta (40-44 cromosomas) (Safavi et al., 2015).

La hipodiploidía se ha asociado con un mal pronóstico. Sin embargo, a los pacientes con 45 cromosomas les va mejor que aquellos con hipodiploidía de menos de 45 cromosomas, y los pacientes con casi haploidía (menos de 30 cromosomas) tienen la peor respuesta al tratamiento (Charrin et al., 2004). Por lo tanto, es de vital importancia garantizar que los pacientes con <40 cromosomas se identifiquen con precisión y se clasifiquen en el apropiado grupo de alto riesgo para el tratamiento (Harrison et al., 2004).

Los pacientes hipodiploides tienen un resultado inferior cuando se tratan con protocolos que son efectivos para otras ploidías de *LLA*, esto sugiere que se debe considerar la terapia alternativa para este subtipo de pacientes; además son candidatos razonables para el trasplante de células madre hematopoyéticas alogénicas (Raimondi et al., 2003).

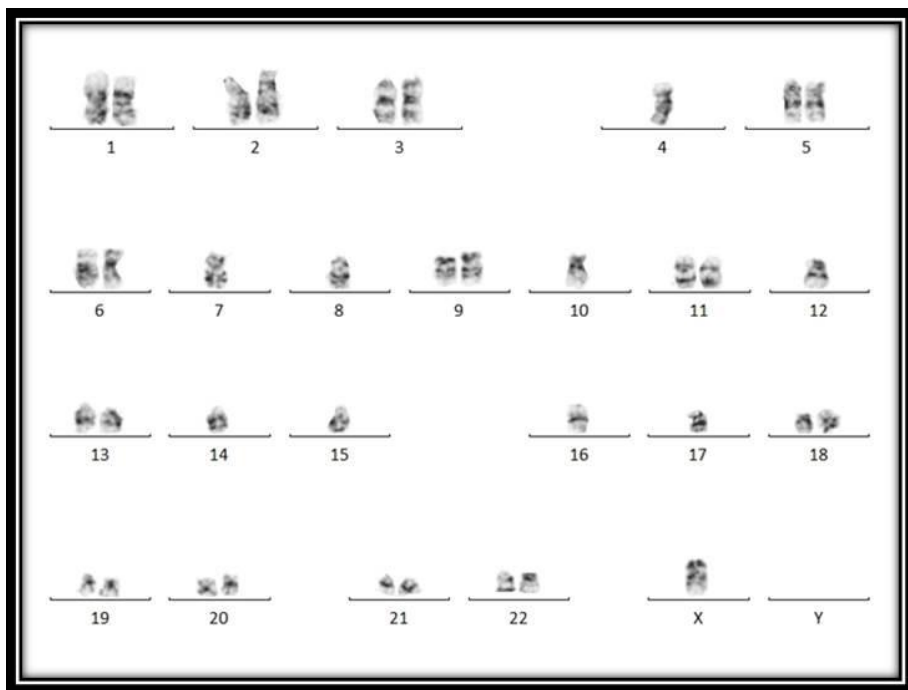


Figura 8.26 Cariotipo con hipodiploidía (36,X,-4,-7,-8,-10,-12,-14,-15,-16,-17)

En el caso de este paciente, el número modal indica hipodiploidía baja, y según la literatura, la hipodiploidía baja se caracteriza por pérdidas recurrentes de los cromosomas 2, 3, 4, 7, 12, 13, 15, 16 y 17 (Charrin et al., 2004).

Como se puede observar en la figura [8.26↑](#), los cromosomas faltantes fueron X, 4, 7, 8, 10, 12, 14, 15, 16, 17 coincidiendo con la literatura el 4, 7, 12, 15, 16 y 17. Así mismo en la figura [8.27↓](#) los cromosomas faltantes fueron 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y los coincidentes con la literatura fueron solamente 13, 15, 16 y 17, por lo tanto, se observa que a pesar de que hay similitudes con lo reportado, la verdad es que cada paciente es diferente y cada uno posee sus particularidades tanto citogenéticas como clínicas.

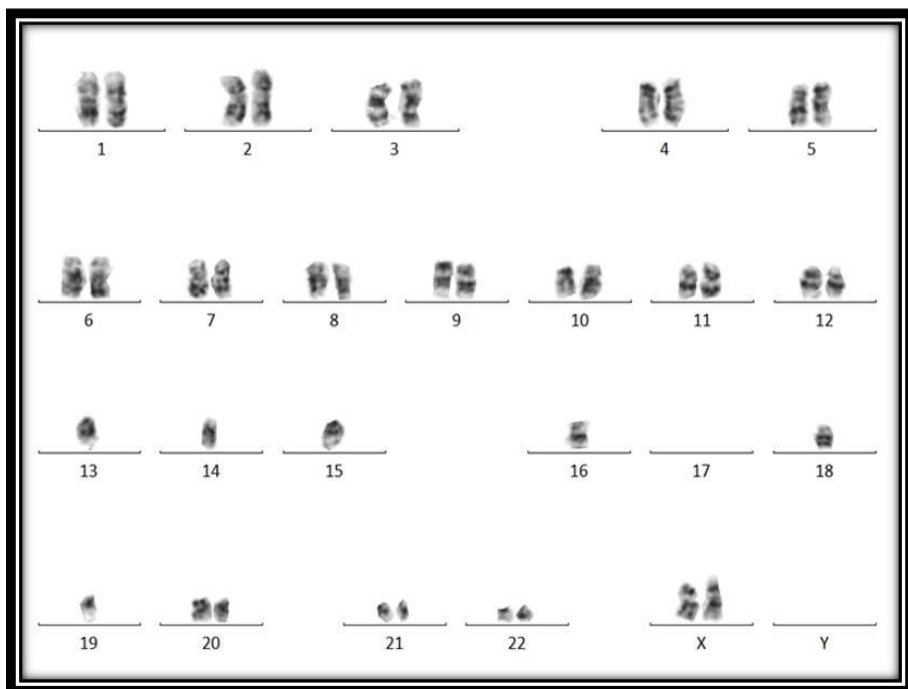


Figura 8.27 Cariotipo con hipodiploidía (38,XX,-13,-14,-15,-16,-17,-18,-19)

8.3 FISH

Para la técnica de *FISH* se utilizaron tres sondas de doble fusión de la línea Aquarius, Cytocell Ltd, (Cambridge, UK), para evaluar las translocaciones $t(8;21)(q21.3;q22.12)$, $t(15;17)(q24.1;q21)$ y $t(16;16)(p13;q22)$ o $inv(16)$.

En la hibridación, la técnica permite máximo 3 muestras por cada control, por lo que se requirieron en total 6 controles para todas las muestras estudiadas. Para eliminar el ruido generado por la técnica se calcula el valor basal (VB) a partir de los resultados arrojados por el control, el cual se obtiene a partir de la suma del promedio de células alteradas + 3 veces la desviación estándar, dicho cálculo debe realizarse para cada control, por lo que cada VB obtenido se observa en cada una de las tablas correspondientes.

Las muestras de los pacientes con diagnóstico de *LMA M2*, se evaluaron con la sonda de los genes *AML1/ETO* para detectar la $t(8;21)(q21.3;q22.12)$ (ver tabla [8.4](#))

Tabla 8.4 Análisis de la $t(8;21)(q21.3;q22.12)$ para los genes *AML1/ETO*

CASO	TOTAL	NORMAL 2R,2V		ALTERADAS 2A, 1V, 1R	
	n	n	%	n	%
4	214	170	79.4	12	5.61
5	0	0	0	0	0
6	205	176	85.9	10	4.88
7	224	148	66.1	5	2.23
8	210	88	41.9	2	0.95
9	195	161	82.6	4	2.05
10	160	125	78.1	2	1.25

V.B. = 5.67

De acuerdo con el valor basal de la tabla [8.4↑](#), los resultados fueron negativos para la $t(8;21)(q21.3;q22.12)$ en todos los casos, es decir el 4, 6, 7, 8, 9 y 10 (ver figura [8.28↓ inciso a](#)). Sin embargo al realizar el análisis de señales (ver tabla [8.5↓](#)) observamos pérdidas y ganancias de los loci AML/ETO lo que corresponde a monosomías y trisomías para los genes correspondientes.

Tabla 8.5 Pérdidas o ganancias de loci para los genes AML1/ETO

CASO	Loci											
	AML, ETO				AML1				ETO			
	-	%	+	%	-	%	+	%	-	%	+	%
4		0.0		0.0	15	7.0	7	3.3	10	4.7		0.0
5		0.0		0.0		0.0		0.0		0.0		0.0
6		0.0		0.0	7	3.4	3	1.5	9	4.4		0.0
7		0.0		0.0	14	6.3	13	5.8	41	18.3	3	1.3
8		0.0		0.0	21	10.0	3	1.4	96	45.7		0.0
9	1	0.5		0.0	16	8.2		0.0	13	6.7		0.0
10		0.0		0.0	27	16.9		0.0	6	3.8		0.0

V.B. = 5.67

Los casos positivos para pérdida del locus del gen AML1 fueron el caso 4, 7, 8, 9, y 10 (ver figura [8.28↓ inciso b](#)); para ganancia del mismo gen sólo el caso 7 (ver figura [8.28↓ inciso c](#)). Respecto al gen ETO, sólo hubo pérdida del locus en los casos 7, 8 y 9 (ver figura [8.28↓ inciso d](#)).

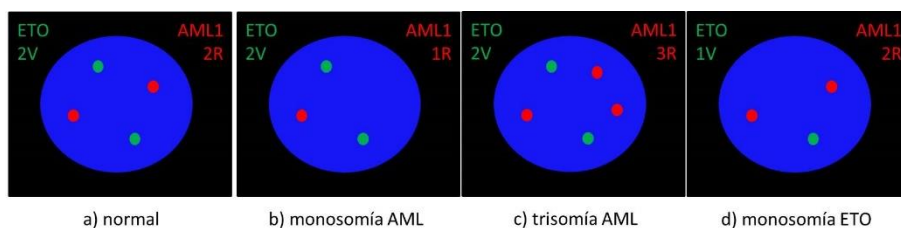


Figura 8.28 Representación gráfica de resultados para los loci AML/ETO

Sólo en el caso 5 no se obtuvo resultado, debido a que la muestra no hibridó correctamente, a pesar de que se aplicó la técnica por duplicado;

se le atribuye a la baja calidad de la misma, ya que las células contaban con bastante citoplasma, el cual, no permite la incorporación de las sondas, por ende no ocurre la hibridación.

Por otro lado, las muestras de los pacientes *LMA M3* se evaluaron para detectar la $t(15;17)(q24.1;q21)$ para los genes *PML/RAR α* (ver tabla [8.6](#)). De acuerdo con el valor basal, todos los casos fueron positivos mostrando la translocación de los genes *PML/RAR α* .

Tabla 8.6 Análisis de la $t(15;17)(q24.1;q21)$ para los genes *PML/RAR α*

CASO	TOTAL	NORMAL 2R,2V		ALTERADAS 2A, 1V, 1R	
	n	n	%	n	%
11	210	10	4.8	143	66.51
12	233	11	4.7	152	70.70
13	18	1	5.6	13	6.05
14	83	1	1.2	80	37.21

V.B. = 4.25

En la figura [8.29](#) se observan los resultados positivos para la $t(15;17)(q24.1;q21)$ en los casos 11, 12, 13 y 14. Todos los casos muestran el patrón de señales 1R, 1V, y 2F (fusiones).

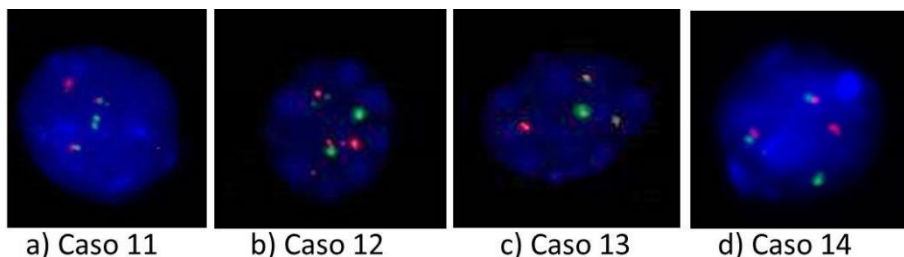


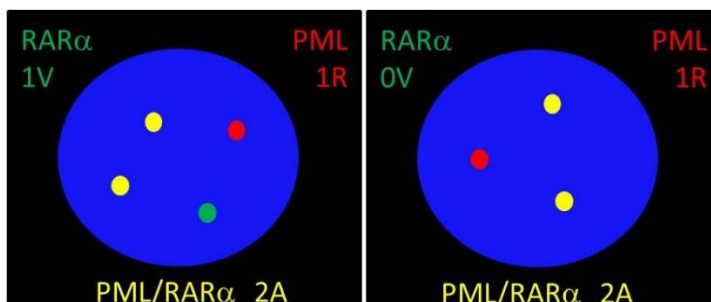
Figura 8.29 Resultados positivos de FISH para la $t(15;17)(q24.1;q21)$ [sonda Aquarius, Cytocell Ltd]

Respecto a las pérdidas o ganancias de loci en estas muestras, únicamente el caso 12 presentó pérdidas de loci RAR α (ver tabla [8.7](#) y figura [8.30](#)↓).

Tabla 8.7 Pérdidas o ganancias de loci para los genes PML/RAR α

CASO	Loci											
	PML,RAR α				PML				RAR α			
	-	%	+	%	-	%	+	%	-	%	+	%
11		0.0		0.0	9	4.19	6	2.8	7	3.3		0.0
12		0.0		0.0	2	0.9	3	1.4	22	10.2		0.0
13		0.0		0.0		0.0		0.0		0.0		0.0
14		0.0		0.0		0.0	1	0.5		0.0		0.0

V.B. = 4.25



a) patrón normal positivo
translocación PML/RAR α

b) patrón atípico positivo,
monosomía RAR α

Figura 8.30 Representación gráfica de resultados para los loci PML/RAR α

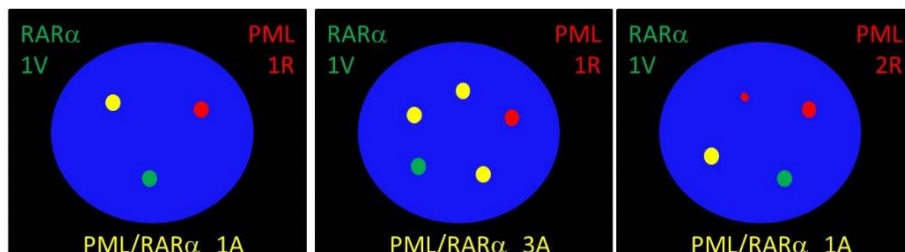
Sin embargo los casos 11 y 12 presentaron pérdidas y ganancias del derivativo fusionado PML/RAR α (ver tabla [8.8](#)↓, figura [8.31](#)↓ inciso a y b); además el caso 11 también presentó pérdidas del derivativo RAR α (ver tabla [8.8](#)↓, figura [8.31](#)↓ inciso c).

Referente a las muestras de los pacientes LMA M4, se evaluaron para detectar la inv(16) ó t(16;16)(p13;q22) para los genes CBF β /MYH11, y de acuerdo al número basal, los casos 15, 16 y 17 presentaron resultado negativo, como se observa en la tabla [8.9](#)↓.

Tabla 8.8 Pérdidas o ganancias de los derivados para los genes PML/RAR α

CASO	Derivativo											
	PML/RAR α				PML				RAR α			
	-	%	+	%	-	%	+	%	-	%	+	%
11	10	4.7	17	7.9	3	1.4		0.0	5	2.3		0.0
12	11	5.1	15	7.0	5	2.3		0.0	11	5.1	1	0.5
13	1	0.5	2	0.9	1	0.5		0.0		0.0		0.0
14		0.0	1	0.5		0.0		0.0		0.0		0.0

V.B. = 4.25



a) pérdida del derivativo fusionado PML/RAR α

b) ganancia del derivativo fusionado PML/RAR α

c) pérdida del derivativo RAR α

Figura 8.31 Representación gráfica de resultados para los derivados PML/RAR α

Tabla 8.9 Análisis de inv(16) ó t(16;16)(p13;q22) para genes CBF β /MYH11

CASO	TOTAL	NORMAL 2R,2V		ALTERADAS 2A, 1V, 1R	
	n	n	%	n	%
15	100	11	11.0	5	5.00
16	200	134	67.0	0	0.00
17	223	171	76.7	0	0.00

V.B. = 6.7

Respecto a las pérdidas o ganancias de los loci CBFβ/MYH11 (ver tabla [8.10](#)), se encontró que el caso 15 presentó pérdidas simultáneas de los loci CBFβ y MYH11 en un número considerable de células (ver figura [8.32](#) inciso a); además, en otras presentó pérdidas únicamente del locus MYH11 (ver figura [8.32](#) inciso b). Por otro lado, en el caso 16 y 17, se encontraron pérdidas de loci (no simultáneas) tanto de CBFβ (ver figura [8.32](#) inciso c), como de MYH11 (ver figura [8.32](#) inciso b).

Tabla 8.10 Pérdidas o ganancias de loci para los genes CBFβ/MYH11

CASO	loci											
	MYH11, CBFβ				CBFβ				MYH11			
	-	%	+	%	-	%	+	%	-	%	+	%
15	42	42.0		0.0	5	5.0		0.0	32	32.0		0.0
16	2	1.0		0.0	32	16.0	1	0.5	30	15.0	1	0.5
17		0.0		0.0	27	12.1	3	1.3	20	9.0	2	0.9

V.B. = 6.7

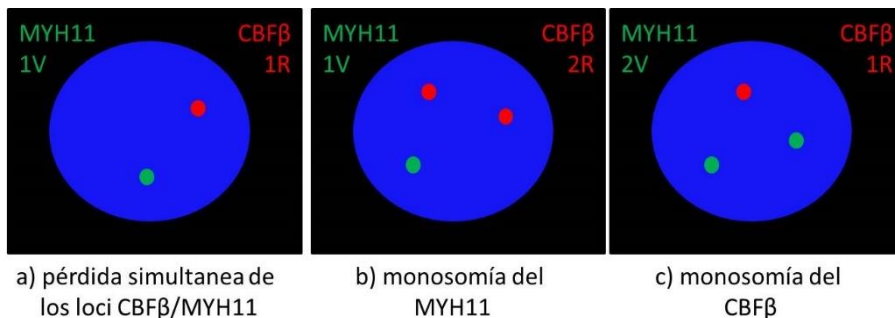


Figura 8.32 Representación de las pérdidas de loci CBFβ/MYH11

Por último, en los casos 1, 2 y 3 no se obtuvieron resultados de *FISH* debido a que no se contaba en el laboratorio con la sonda correspondiente de acuerdo al inmunofenotipo de M0 y M1.

8.4 Correlación entre citogenética convencional y molecular

En la tabla [8.11](#) se conjugan los resultados obtenidos de ambas técnicas empleadas (cariotipo y *FISH*), siendo complemento entre si para el diagnóstico de los pacientes. Como se puede observar, los casos 11, 12 y 13 son los únicos que coinciden en el resultado de cariotipo y de *FISH*. Sin embargo en el caso 14, obtener el resultado de *FISH* fue bastante útil ya que se pudo establecer un diagnóstico citogenético aunque el cariotipo no haya sido concluyente. El pronóstico para estos cuatro casos es favorable.

Por último en la tabla [8.12](#) se compilan todos los resultados obtenidos de cada paciente, sin embargo al no tener completos todos los datos requeridos no se pudo establecer una correlación concluyente.

Tabla 8.11 Resultados obtenidos de cariotipo vs FISH

Caso	Cariotipo	FISH	Sonda aplicada
1	46,XY,del(7)(q11.2q22)[5]/46,XY[9]	no aplica	no aplica
2	46,XY,der(4)del(4)inv(4)(p15.2q21)[2]/46,XY[3]	no aplica	no aplica
3	Sin metafases	no aplica	no aplica
4	46,XY,del(3)(q21q26),inv(7)(p21q21)[3]/46,XY,+21,der(21;21)(q10;q10)[2]/46,XY[7]	negativo	t(8;21)(q21.3;q22.12)
5	46,XX,t(8;21)(q22;q22)[3]/~24-32,X,+2,+3,+4,+5,+6,+9,+10,+11,+13,+14,+16,+18,+19,+21,cp[4]/~36-38,X,-13,-14,-15,-16,-17,-18,-19,cp[3]/end 46,XX[5]	sin resultado	t(8;21)(q21.3;q22.12)
6	46,XY,del(7)(q22q32)[4]/46,XY[2]	negativo	t(8;21)(q21.3;q22.12)
7	46,XX[2] no concluyente	negativo	t(8;21)(q21.3;q22.12)
8	46,XX[7] no concluyente	negativo	t(8;21)(q21.3;q22.12)
9	No concluyente	negativo	t(8;21)(q21.3;q22.12)
10	46,XX[20]	negativo	t(8;21)(q21.3;q22.12)
11	46,XX,t(15;17)(q24;q21)[14]	positivo	t(15;17)(q24.1;q21)
12	46,XX,t(15;17)(q24;q21)[3]/46,XX[4]	positivo	t(15;17)(q24.1;q21)
13	46,XY,t(15;17)(q24;q21)[9]	positivo	t(15;17)(q24.1;q21)
14	No concluyente	positivo	t(15;17)(q24.1;q21)
15	Sin metafases	negativo	t(16;16)(p13;q22)/inv(16)
16	46,XY[9] no concluyente	negativo	t(16;16)(p13;q22)/inv(16)
17	No concluyente	negativo	t(16;16)(p13;q22)/inv(16)

Tabla 8.12 Compilación de todos los resultados obtenidos de cada caso

Número de Caso	Diagnóstico inicial	Diagnóstico Hematológico	Blastos en M.O.	Edad / Sexo	Inmunofenotipo	Resultado del FISH
CASO 1	SMD	LMA M2 a SMD	3%	66/M	M0	N/A
CASO 2	LMA M2	LMA M2	100%	14/M	M1	N/A
CASO 3	Síndrome Infiltrativo	LMA M0-M1	96%	15/M	M1	N/A
CASO 4	LM	LMA M2	97%	53/M	M2	Negativo
CASO 5	LMA-M4	LMA M4 eosinofílica	65%	32/F	M2	no salió
CASO 6	SMD			54/M	M2	Negativo
CASO 7	Probable LMAM2	LMA M2	32%	47/F	M2	Negativo
CASO 8	LM	LMA M2	44%	79/F	M2	Negativo
CASO 9	LMA M2	LMA M2	90%	20/F	M2	Negativo
CASO 10	Panцитopenia	LMA M4	30%	23/F	M2	Negativo
CASO 11	LMA	LMA M3	92%	58/F	M3	Positiva
CASO 12	LMA M3	LMA M3	1%	22/F	M3	Positiva
CASO 13	LMA M3	LMA M3	0% ; (76% promielocitos)	19/M	M3	Positiva
CASO 14	L PRO-M	LMA M3	74%	25/M	M3	Positiva
CASO 15	LMA	LMA M4 eosinofílica	66%	16/M	M4	Negativo
CASO 16	LMA M3-M4	LMA M2	99%	16/M	M4	Negativo
CASO 17	LLA vs LMA	Médula ósea con disgranulopoyesis, probable SMD vs M.O. reactiva	4%	33/M	M4	Negativo

(Nota: continuación de la Tabla 8.12)

Número de Caso	Pronóstico	Cariotipo	WBC (x10 ³ /ul)	Plaquetas (x10 ³ /ul)	LDH (U/L)	Estado actual
CASO 1	Reservado	46,XY,del(7)(q11.2q22)[5] / 46,XY[9]	1.68	65.00	188.00	Vive, aún en tratamiento, último ingreso para transferencia de address plaquetaria.
CASO 2		46,XY,der(4)del(4)inv(4)(p15.2q21)[2] / 46,XY[3]				
CASO 3		sin metafases	11.34	63.00	398.00	Vive, está en vigilancia.
CASO 4	Reservado	46,XY,del(3)(q21q26),inv(7)(p21q21)[3] / 46,XY,+21,der(21)(q10,q10)[2] / 46,XY[7]	75.00	sin datos	253.00	defunción (06/02/15)
CASO 5	Reservado	46,XX,t(8;21)(q22;q22)[3] / -24,-32,X,+2,+3,+4,+5,+6,+9,+10,+11,+13,+14,+16,+18,+19,+21,cp[4] / -36,-38,X,-13,-14,-15,-16,-17,-18,-19,cp[3] / end 46,XX[5]	8.51	sin datos	381.00	defunción (17/08/15)
CASO 6	Reservado	46,XY,del(7)(q22q32)[4] / 46,XY[2]	1.67		134.00	
CASO 7	Intermedio	46,XX[2] no concluyente	3.69		491.00	
CASO 8	Intermedio	46,XX[7] no concluyente	2.41	sin datos	sin datos	defunción (17/11/15)
CASO 9		no concluyente	1.60			
CASO 10	Intermedio	46,XX[20]	2.33	sin datos	sin datos	defunción (28/12/15)
CASO 11	Favorable	46,XX,t(15;17)(q24;q21)[1*4]	38.16	29.00	420.00	Traslado a IMSS, en calidad muy delicado, con pronóstico reservado a evolución.
CASO 12	Favorable	46,XX,t(15;17)(q24;q21)[3] / 46,XX[4]	40.90		400.00	
CASO 13	Favorable	46,XY,t(15;17)(q24;q21)[9]	55.35	19.00	791.00	Estable, egreso para continuar de forma externa, fiebre y neutropenia remitida.
CASO 14		no concluyente	58.24	sin datos	768.00	defunción (15/08/15)
CASO 15		sin metafases	103.00	sin datos	856.00	defunción (10/05/15)
CASO 16	Intermedio	46,XY[9] no concluyente				
CASO 17		no concluyente	13.05	78.00	978.00	se desconoce, trasladado a IMSS

Capítulo 9

CONCLUSIONES

1. La citogenética convencional permitió solo en algunos casos obtener metafases de calidad aceptable para realizar el análisis citogenético, lo que puede representar una desventaja de este estudio, ya que estos pacientes tienden a tener índices mitóticos muy bajos, aunado a que los pacientes llegan en etapas terminales de la enfermedad, resultando en cariotipos complejos y de difícil lectura.
2. La FISH demostró ser una técnica más sensible y permitió identificar sólo la $t(15;17)$ en el 100% de los casos con diagnóstico de LMA M3, pero además permitió evaluar los loci de los genes evaluados y observar alteraciones adicionales que permiten un panorama más amplio de la enfermedad.
3. La LMA, es un grupo de leucemias muy heterogéneas y la frecuencia de alteraciones específicas para cada subtipo son bajas, por ello cuando se realizó la correlación de ambas técnicas solo en el caso de la $t(15;17)$ fue positivo.
4. Desafortunadamente debido a que no en todos los casos se obtuvo el resultado citogenético, no se pudo relacionar los datos de WBC, LDH y blastos en médula ósea.
5. Por último, se concluye que la hipótesis planteada fue parcialmente comprobada, debido a que efectivamente se encontró una cierta predominancia citogenética de los casos M3 [$t(15;17)$], pocos casos <sólo uno> de la M2 [$t(8;21)$] y ausencia total de anomalías citogenéticas de los M4.

Capítulo 10

PERSPECTIVAS

1. Se propone buscar la estandarización específica del tratamiento de las muestras de médula ósea con LMA, mejorando las técnicas de siembra y cosecha para lograr mayor calidad de metafases que permitan establecer un diagnóstico certero.
2. Se propone la inclusión del cariotipo de alta resolución para los casos de pacientes con muestras difíciles de trabajar, como aquellas con bajo índice mitótico.
3. En los casos con sospecha de LMA M3, se sugiere la complementación con técnicas de biología molecular en simultáneo, es decir, la aplicación del cariotipo junto con la detección directa con PCR ó FISH para acortar los tiempos de diagnóstico y con ello aumentar la supervivencia del paciente.
4. Se sugiere la aplicación de HGC sólo en los casos de difícil diagnóstico con sospecha de ganancias ó pérdidas cromosómicas difícilmente detectables para el ojo humano, así como en la presencia de marcadores cromosómicos de dudosa procedencia.

Anexo I

NOMENCLATURA CITOGENÉTICA MÁS COMÚN SEGÚN EL ISCN 2013

abn	anormalidad
add	material adicional de origen desconocido
aproximado (~)	denota intervalos y límites del segmento de un cromosoma o de un número de cromosomas
cen	centrómero
chr	cromosoma
coma (,)	separa números de cromosomas, cromosomas sexuales y anomalías cromosómicas
corchetes ([])	denota el número de células con un mismo resultado en el cariotipo
cp	cariotipo compuesto
del	deleción
der	cromosoma derivativo
diagonal (/)	separa clonas o sondas contiguas
diagonal doble (//)	separa clonas químicas
dos puntos (:)	rompimiento
dos puntos doble (::)	rompimiento y reunión
dup	duplicación
end	endorreduplicación
flecha (→)	desde - hasta
fra	sitio frágil
h	heterocromatina constitutiva
i	isocromosoma
ins	inserción
inv	inversión
ish	hibridación <i>in situ</i>
mar	cromosoma marcador
mas (+)	ganancia
mat	origen materno
menos (-)	pérdida
mos	mosaico
p	brazo corto del cromosoma
paréntesis ()	denota alteraciones estructurales y rompimientos del cromosoma; denota el número cromosómico, el cromosoma X y Y en resultados normales y anormales
pat	origen paterno
Ph	cromosoma Filadelfia
ps	satélites en brazo corto del cromosoma
pter	extremo terminal del brazo corto del cromosoma
punto decimal (.)	denota sub-bandas
punto y coma (;)	separa cromosomas alterados y sus respectivos rompimientos estructurales que involucran más de un cromosoma
q	brazo largo del cromosoma
qs	satélites en brazo largo del cromosoma
qter	extremo terminal del brazo largo del cromosoma
r	cromosoma en anillo
rec	cromosoma recombinante
rob	translocación robertsoniana
s	satélite
t	translocación
upd	disomía uniparental
var	variante o región variable

Anexo II

Hospital Juárez de México
Laboratorio de Genética y Diagnóstico Molecular

CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN DE ESTUDIOS GENÉTICOS

México, Ciudad de México a _____

Av. Instituto Politécnico Nacional 5160 Col. Magdalena de las Salinas CP 07760
Delegación Gustavo A Madero. Ciudad de México. Tel 57477560 ext. 7330.

He sido informado por el Dr. (a) _____ de el análisis genético/s a partir de una muestra de sangre o tejido para detectar la presencia, ausencia o variantes de uno o varios segmentos de material genético.

El procedimiento que se le propone es

.....

Que consiste en:

.....

.....

La finalidad de el análisis que se le propone, así como aquellos que se le pudieran hacer en un futuro es, sobre todo, detectar posibles alteraciones en la información genética (mutaciones), y proceder a la correcta caracterización / diagnóstico de la enfermedad que padece y la optimización del manejo clínico de su enfermedad.

Debe saber, en cualquier caso, que se le informará verbalmente y por escrito de los resultados de los mismos.

La muestra destinada al análisis genético, será procesada en el Laboratorio de Genética y Diagnóstico Molecular del Hospital Juárez de México, almacenándose en el mismo Laboratorio durante el tiempo necesario para realizar todo el proceso de análisis descrito y a continuación serán destruidas, salvo que se estime la conveniencia de otros usos para lo que se solicita su autorización.

Si autorizo

No autorizo

Sus datos de identificación personal serán codificados y únicamente el personal del Laboratorio tendrá acceso a los mismos

Beneficios esperados

Los resultados del análisis genético se evaluarán teniendo en cuenta los antecedentes clínicos personales y familiares, los resultados de la exploración física, las pruebas complementarias y la interpretación clínica del personal facultativo. En todo momento será debidamente informado de las repercusiones que el análisis genético vaya a tener sobre el manejo clínico de su enfermedad. Si se demuestra que usted es portador de una variación génica que puede ser heredada, y por tanto transmitida a la descendencia, se le ofrecerá la posibilidad de consejo genético.

La decisión de no realizarse el estudio genético es totalmente voluntaria, pudiendo negarse e incluso pudiendo revocar su consentimiento en cualquier momento, sin tener que dar ninguna explicación y sin que ello tenga ninguna repercusión en la atención médica que recibe en el Centro.

Esto no tendrá ninguna repercusión en la asistencia médica que reciba o pueda recibir usted o sus familiares en el Hospital. Para revocar este consentimiento deberá dirigirse al mismo facultativo con el que firmó el presente consentimiento.

Protección de datos personales y confidencialidad

Los datos resultantes de los análisis se almacenarán en el archivo del Laboratorio de Genética y Diagnóstico Molecular.

Los profesionales sanitarios del centro tendrán acceso a los datos que consten en su historia clínica en tanto sea pertinente para la asistencia que le presten. El personal que acceda a los datos genéticos en el ejercicio de sus funciones, quedará sujeto al deber de secreto de forma permanente. Ha de saber que la información sobre sus datos personales y de salud serán incorporados y tratados en una base de datos informatizada cumpliendo con las garantías que establece la Ley de Protección de Datos de Carácter Personal.

Para solicitar la cancelación deberá hacerlo por escrito y dirigirse a la dirección médica del centro que trató su enfermedad. En caso de que usted no solicitara dicha cancelación, los datos se mantendrán indefinidamente.

Declaro que he sido debidamente informado y que entiendo los riesgos y beneficios de las pruebas diagnósticas recomendadas por el médico tratante.

Me han informado que esta información es confidencial y únicamente yo recibiré el resultado, siendo de mi entera libertad el compartirlo o no.

Independientemente del resultado, esto no compromete mi atención en el Hospital Juárez de México.

Después de realizar el estudio para el cual di mi autorización y en caso de quedar muestra, Autorizo al Laboratorio de Genética y Diagnóstico Molecular hacer uso de la misma para otros estudios siempre y cuando se respete mis datos y en caso de

Declaración del paciente

Que el/la Dr./Dra....., me ha explicado que puedo ser portador o estar afectado de un trastorno de origen genético cuyo diagnóstico puede ser confirmado mediante el análisis de ADN o ARN obtenido a partir de una muestra biológica.

Declaración del Tutor o Tercero Autorizado

Que el/la Dr./Dra....., me ha explicado que puede ser portador o estar afectado de un trastorno de origen genético cuyo diagnóstico puede ser confirmado mediante el análisis de ADN o ARN obtenido a partir de una muestra biológica.

Declaración del profesional de salud:

He informado debidamente

Dr/a.....
México, Ciudad de México, a.....de.....de 20.....

REFERENCIAS

- [1] ACS Sociedad Americana contra el Cáncer. (2018). Acerca de la leucemia mieloide aguda: ¿Que es la leucemia mieloide aguda? EE.UU: *American Cancer Society, Inc.* Recuperado de <https://www.cancer.org/es/cancer/leucemia-mieloide-aguda/acerca/que-es-leucemia-mieloide-aguda.html>.
- [2] Baldazzi, C., Luatti, S., Zuffa, E., Papayannidis, C., Ottaviani, E., Marzocchi, G., ... Testoni, N. (2016). Complex chromosomal rearrangements leading to MECOM overexpression are recurrent in myeloid malignancies with various 3q abnormalities. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 55, 375-388. doi: 10.1002/gcc.22341
- [3] Barraco, D., Carobolante, F., Candoni, A., Simeone, E., Piccaluga, P., Tabanelli, V., y Fanin, R. (2014). Complete and long-lasting cytologic and molecular remission of FIP1L1-PDGFR α -positive acute eosinophil myeloid leukaemia, treated with low-dose imatinib monotherapy. *European Journal of Haematology*, 92, 541-545. doi: 10.1111/ejh.12272

- [4] Benasayag, S., y Gallino, M. (2010). Bases citogenéticas para la práctica hematológica: De lo supuesto a lo expuesto en nomenclatura citogenética. *Hematología*, 14(2), 58-68.
- [5] Bobadilla, D., Enriquez, E., Alvarez, G., Gaytan, P., Smith, D., y Slovak, M. (2007). An interphase fluorescence in situ hybridisation assay for the detection of 3q26.2/EVI1 rearrangements in myeloid malignancies. *British Journal of Haematology*, 136, 806-813. doi: 10.1111/j.1365-2141.2007.06505.x
- [6] Buga, V., Glück, A., y Arion, C. (2014). Actual biological diagnosis of acute myeloblastic leukemia in children. *Journal of Medicine and Life*, 7(2), 291-295.
- [7] Charrin, C., Thomas, X., Ffrench, M., Le, Q., Andrieux, J., Mozziconacci, M., ... Dastugue, N. (2004). A report from the LALA-94 and LALA-SA groups on hypodiploidy with 30 to 39 chromosomes and near-triploidy: 2 possible expressions of a sole entity conferring poor prognosis in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood*, 104(8), 2444-2451. doi: 10.1182/blood-2003-04-1299

- [8] Coleman, J., Theil, K., Tubbs, R., y Cook, J. (2011). Diagnostic yield of bone marrow and peripheral blood FISH panel testing in clinically suspected myelodysplastic syndromes and/or acute myeloid leukemia: A prospective analysis of 433 cases. *American Journal of Clinical Pathology*, 135(6), 915-920. doi: 10.1309/AJCPW10YBRMWSWYE
- [9] Cytocell Aquarius. (2018a). AML1/ETO Translocation, Dual Fusion Probe: Instructions for use (LPH 026-S/LPH 026/LPH 026-20). Cambridge, UK: *Cytocell Ltd.* Recuperado de https://www.cytocell.com/assets/000/001/317/LPH026_v007.0_0_original.pdf?1521819088
- [10] Cytocell Aquarius. (2018b). CBFb/MYH11 Translocation, Dual Fusion Probe: Instructions for use (LPH 022-S/LPH 022/LPH 022-20). Cambridge, UK: *Cytocell Ltd.* Recuperado de https://www.cytocell.com/assets/000/001/313/LPH022_v007.0_0_original.pdf?1521819082
- [11] Cytocell Aquarius. (2018c). PML/RARa Translocation, Dual Fusion Probe: Instructions for use (LPH 023-S/LPH 023/LPH 023-20). Cambridge, UK: *Cytocell Ltd.* Recuperado de https://www.cytocell.com/assets/000/001/314/LPH023_v008.0_0_original.pdf?1521819084

- [12] Deaglio, S., y Vaisitti, T. (2012). Gene Section. Review: CD38 molecule. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, 16(7), 446-452. doi: 10.4267/2042/47412
- [13] Del Castillo, V., Uranga, R., y Zafra, G. (2012). *Genética Clínica*. México, D.F.: El Manual Moderno, S.A. de C.V.
- [14] Desangles, F. (1999). Leukaemia Section. Mini Review: -7/del(7q) in adults. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, 3(3), 139-140. doi: 10.4267/2042/37535
- [15] Duque, L., Restrepo, C., Zapata, A., Duque, J., Donado, J., y Mejía, G. (2006). Características morfológicas, citogenéticas e inmunofenotípicas de los pacientes con leucemia mieloide aguda: Medellín, Colombia. *CIMEL Ciencia e Investigación Médica Estudiantil Latinoamericana*, 11(2), 72-77. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=71711207>
- [16] Espinosa, M., Rojas, M., Bernal, M., Araque, A., Vélez, M., y López, J. (2006). *Manual de agentes carcinógenos: de los grupos 1 y 2A de la IARC, de interés ocupacional para Colombia*. Bogotá, Colombia: Instituto Nacional de Cancerología. Recuperado de <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INCA/Manual-agentes-carcinogenos-2006.pdf>

- [17] Espirito, A., Chacim, S., Ferreira, I., Leite, L., Moreira, C., Pereira, D., ... Medeiros, R. (2017). Southwestern oncology group pretreatment risk criteria as predictive or prognostic factors in acute myeloid leukemia. *Molecular and Clinical Oncology*, 6, 384-388. doi: 10.3892/mco.2017.1134
- [18] Fajardo, A., Juárez, S., González, G., Palma, V., Carreón, R., Ortega, M., y Mejía, J. (2007). Incidence of cancer in children residing in ten jurisdictions of the Mexican Republic: Importance of the Cancer registry (a population-based study). *BioMed Central Cancer*, 7(68), 1-15. doi: 10.1186/1471-2407-7-68
- [19] Fey, M., Greil, R., y Jost, L. (2005). ESMO Minimum Clinical Recommendations for the diagnosis, treatment and follow-up of acute myeloblastic leukemia (AML) in adult patients. *Annals of Oncology*, 16(Supplement1), 48-49. doi:10.1093/annonc/mdi802
- [20] Flandrin, G. (2002). Leukaemia Section. Review: Classification of acute myeloid leukemias. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, 6(3), 212-216. doi: 10.4267/2042/37875

- [21] Gargani, Y. (2012). *Lo esencial en hematología e inmunología*. Cuarta edición. Barcelona, España: Elsevier Ltd.
- [22] Garrote, H., Amor, A., Díaz, C., Suárez, Y., y Gómez, M. (2014). Gen de fusión AML1-ETO: particularidades en la leucemia mieloide aguda. *Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 30(2), 98-107.
- [23] Giles, F., Keating, A., Goldstone, A., Avivi, I., Willman, C., y Kantarjian, H. (2002). Acute myeloid leukemia. *Hematology*, 73-110.
- [24] Gomes, C., Centuori, S., Harman, M., Putnam, C., Wolgemuth, C., y Martinez, J. (2017). The induction of endoreduplication and polyploidy by elevated expression of 14-3-3 γ . *Genes and Cancer*, 8(11-12), 771-783.
- [25] Gröschel, S., Schlenk, R., Engelmann, J., Rockova, V., Teleanu, V., Kühn, M., ... Delwel, R. (2013). Deregulated expression of EVI1 defines a poor prognostic subset of MLL-rearranged Acute Myeloid Leukemias: a study of the German-Austrian Acute Myeloid Leukemia study group and the Dutch-Belgian-Swiss HOVON/SAKK cooperative group. *Journal of Clinical Oncology*, 31(1), 95-103. doi: 10.1200/JCO.2011.41.5505

- [26] Haferlach, C., Bacher, U., Grossmann, V., Schindela, S., Zenger, M., Kohlmann, A., ... Schnittger, S. (2012). Three novel cytogenetically cryptic EVI1 rearrangements associated with increased EVI1 expression and poor prognosis identified in 27 acute myeloid leukemia cases. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 51(12), 1079-1085. doi: 10.1002/gcc.21992
- [27] Harrison, C., Moorman, A., Broadfield, Z., Cheung, K., Harris, R., Jalali, G., ... Martineau, M. (2004). Three distinct subgroups of hypodiploidy in acute lymphoblastic leukaemia. *British Journal of Haematology*, 125, 552-559. doi: 10.1111/j.1365-2141.2004.04948.x
- [28] Heerema, N., Nachman, J., Sather, H., Sensel, M., Lee, M., Hutchinson, R., ... Uckun, F. (1999). Hypodiploidy with less than 45 chromosomes confers adverse risk in childhood acute lymphoblastic leukemia: A report from the children's cancer group. *Blood*, 94(12), 4036-4045.
- [29] Hernando, C. (2005). *Caracterización de anomalías cromosómicas en diagnóstico prenatal y postnatal mediante técnicas de citogenética molecular* (tesis doctoral). Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona, España.

- [30] Hinai, A., y Valk, P. (2016). Review: Aberrant EVI1 expression in acute myeloid leukaemia. *British Journal of Haematology*, 172, 870-878. doi: 10.1111/bjh.13898
- [31] Hoffbrand, V., Catovsky, D., y Tuddenham, E. (2005). *Postgraduate Haematology*. Fifth edition. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- [32] Hoffman, R., Benz, E., Silberstein, L., Heslop, H., Weitz, J., y Anastasi, J. (2013). *Hematology: Basic principles and practice*. Sixth edition. Canada: Elsevier Inc.
- [33] Huret, J., y Chomienne, C. (1998). Leukemia Section. Mini Review: t(15;17)(q22;q21). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, 2(3), 101-103. doi: 10.4267/2042/37443
- [34] IARC Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer. (2012). Globocan 2012. Population Fact Sheets: Mexico. Lyon, France: *Section of Cancer Surveillance IARC*. Recuperado de http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx?country=484.
- [35] IARC Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer. (2017). Agents classified by the IARC Monographs: List of

classifications by cancer sites with sufficient or limited evidence in humans, Volumes 1 to 118. Lyon, France: *IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans*. Recuperado de <https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/>

[36] INAI Instituto Nacional de Transparencia, Acceso a la Información y Protección de Datos Personales. (2017). Información del Hospital Juárez de México. Sección VII: Servicios. México, Distrito Federal: *Portal de Obligaciones de Transparencia, Instituto Nacional de Transparencia, Acceso a la Información y Protección de Datos Personales*. Recuperado de http://www.portaltransparencia.gob.mx/pot/servicio/consultarServicio.do?method=edit&idServicio=602&_idDependencia=12190&viaLocation=true

[37] Keohane, E., Smith, L., y Walenga, J. (2016). *Rodak's Hematology: Clinical Principles and Applications*. Fifth Edition. Canada: Elsevier Inc.

[38] Laskowska, E., Kuczyńska, D., y Matuszewska, E. (2010). Gene Section. Review: HSPB1 (Heat-Shock 27 kDa Protein 1). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, 14(2), 130-136. doi: 10.4267/2042/44685

- [39] Lin, T., y Smith, D. (2011). Prognostically important molecular markers in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *American Journal of the Medical Sciences*, 341(5), 404-408. doi: 10.1097/MAJ.0b013e318201109d
- [40] Lisker, R., Zentella, A., y Grether, P. (2013). *Introducción a la genética humana*. Tercera edición. México, D.F.: El Manual Moderno, S.A de C.V.
- [41] Litchman, M., Kaushansky, K., Kipps, T., Prchal, J., y Levi, M. (2014). *Williams: Manual de Hematología*. Octava edición. México, D.F.: McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. de C.V.
- [42] Liu, D., Zhang, Y., Chen, S., Pan, J., He, X., Liang, J., y Chen, Z. (2015). Retrospective evaluation for the clinical and laboratory data from 300 patients of various hematological malignancies with chromosome 3 abnormalities. *Cancer Genetics*, 208(6), 333-340. doi: 10.1016/j.cancergen. 2015.03.013
- [43] Goud, T., Al-Salmani, K., Al-Harasi, S., Al-Musalhi, M., Wasifuddin, S., y Rajab, A. (2015). Importance of FISH combined with morphology, immunophenotype and cytogenetic analysis of childhood/adult acute lymphoblastic leukemia in

Omani patients. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(16), 7343-7350. doi: 10.7314/APJCP.2015.16.16.7343

- [44] Mandahl, N., Johansson, B., Mertens, F., y Mitelman, F. (2012). Disease-associated patterns of disomic chromosomes in hyperhaploid neoplasms. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 51(6), 536-544. doi: 10.1002/gcc.21947
- [45] Marschalek, R. (2003). Gene Section. Mini Review: AFF1 (AF4/FMR2 family, member 1). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, 7(1), 20-21. doi: 10.4267/2042/37926
- [46] McGowan, J., Simons, A., y Schmid, M. (2016). *ISCN 2016: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature*. Basel, Switzerland: Karger Medical and Scientific, Vol. 149, No 1-2.
- [47] Medinger, M., Lengerke, C., y Passweg, J. (2016). Novel prognostic and therapeutic mutations in acute myeloid leukemia. *Cancer Genomics and Proteomics*, 13, 317-330.
- [48] Mejía, J., Bonilla, M., Lorenzana, R., Juárez, S., de Reyes, G., Pérez, M., ... Fajardo, A. (2005). Incidence of leukemias in children from El Salvador and Mexico City between 1996 and

2000: Population-based data. *BioMed Central Cancer*, 5(33), 1-9. doi: 10.1186/1471-2407-5-33

- [49] Metzgeroth, G., Walz, C., Score, J., Siebert, R., Schnittger, S., Haferlach, C., ... Reiter, A. (2007). Recurrent finding of the FIP1L1-PDGFR α fusion gene in eosinophilia-associated acute myeloid leukemia and lymphoblastic T-cell lymphoma. *Leukemia*, 21, 1183-1188. doi: 10.1038/sj.leu.2404662
- [50] Mir-Mazloumi, S., Appaji, L., Madhumathi, D., y Prasannakumari. (2013). G-banding and fluorescence in situ hybridization in childhood acute myeloid leukemia from South India. *Archives of Iranian Medicine*, 16(8), 459-462.
- [51] NCBI Centro Nacional de Información Biotecnológica. (2018a). BZW2 basic leucine zipper and W2 domains 2 [Homo sapiens (human)]. Gene ID: 28969. Bethesda, USA: *Genes & Expression, National Center for Biotechnology Information*. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/28969>
- [52] NCBI Centro Nacional de Información Biotecnológica. (2018b). CDK6 cyclin dependent kinase 6 [Homo sapiens (human)]. Gene ID: 1021. Bethesda, USA: *Genes & Expression, National*

Center for Biotechnology Information. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1021>

[53] NCBI Centro Nacional de Información Biotecnológica. (2018c). PML promyelocytic leukemia [Homo sapiens (human)]. Gene ID: 5371. Bethesda, USA: *Genes & Expression, National Center for Biotechnology Information*. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5371>

[54] NCBI Centro Nacional de Información Biotecnológica. (2018d). RARA retinoic acid receptor alpha [Homo sapiens (human)]. Gene ID: 5914. Bethesda, USA: *Genes & Expression, National Center for Biotechnology Information*. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5914>

[55] NCBI Centro Nacional de Información Biotecnológica. (2018e). RUNX1 runt related transcription factor 1 [Homo sapiens (human)]. Gene ID: 861. Bethesda, USA: *Genes & Expression, National Center for Biotechnology Information*. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/861>

[56] NCBI Centro Nacional de Información Biotecnológica. (2018f). RUNX1T1 RUNX1 translocation partner 1 [Homo sapiens (human)]. Gene ID: 862. Bethesda, USA: *Genes & Expression,*

National Center for Biotechnology Information. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/862>

[57] NIH Institutos Nacionales de la Salud. (2011). Lanzamiento de las noticias de NIH. Terminación del Proyecto Genoma Humano: Preguntas más frecuentes. EE.UU: *Institutos Nacionales de la Salud, Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano*. Recuperado de <https://www.genome.gov/11510905/preguntas-maacutes-frecuentes/>

[58] NIH Institutos Nacionales de la Salud. (2016). Glosario Hablado de Términos Genéticos. EE.UU: *Institutos Nacionales de la Salud, Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano*. Recuperado de <https://www.genome.gov/glossarys/index.cfm?id=116>

[59] NIH Institutos Nacionales de la Salud. (2017). Tratamiento de la leucemia mieloide aguda en adultos (PDQ®)-Versión para pacientes. EE.UU: *Institutos Nacionales de la Salud, Instituto Nacional del Cáncer*. Recuperado de <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/leucemia/paciente/tratamiento-lma-adultos-pdq>

- [60] Neame, P., Soamboonsrup, P., Browman, G., Meyer, R., Benger, A., Wilson, E., ... McBride, J. (1986). Classifying acute leukemia by immunophenotyping: a combined FAB-immunologic classification of AML. *Blood*, 68(6), 1355-1362. Recuperado de <http://www.bloodjournal.org/content/68/6/1355.full.html>
- [61] Pagana, K., y Pagana, T. (2015). *Laboratorio clínico: Indicaciones e interpretación de resultados*. México, D.F.: El Manual Moderno, S.A de C.V.
- [62] Palomo, I., Pereira, J., y Palma, J. (2009). *Hematología: Fisiopatología y Diagnóstico*. Talca, Chile: Universidad de Talca. Recuperado de <http://editorial.otalca.cl/docs/ebook/hematologia.pdf>
- [63] Parkin, D., Kramárová, E., Draper, G., Masuyer, E., Michaelis, J., Neglia, J., ... Stiller, C. (1998). *International Incidence of Childhood Cancer. International Association of Cancer Registries. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization*. Lyon, France: IARC Scientific Publications, Vol. II, No 144.

- [64] Paz, C., y López, A. (2014). *Genética Molecular y Citogenética Humana: Fundamentos, aplicaciones e investigaciones en el Ecuador*. Quito, Ecuador: Yachay EP.
- [65] Pérez, M., Fajardo, A., Bernáldez, R., Martínez, A., Medina, A., Espinosa, L., ... Mejia, J. (2011). Childhood acute leukemias are frequent in Mexico City: descriptive epidemiology. *BMC cancer*, 11, 355. doi: 10.1186/1471-2407-11-355
- [66] Portal de Gobierno (2018). Glosario de Epidemiología 2018, área de Salud Pública. México: *Portal* (www.gob.mx). Recuperado de <http://epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/glosario.html>
- [67] Raimondi, S., Zhou, Y., Mathew, S., Shurtleff, S., Sandlund, J., Rivera, G., ... Pui, C. (2003). Reassessment of the prognostic significance of hypodiploidy in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*, 98(12), 2715-2722. doi: 10.1002/cncr.11841
- [68] Rivera, R. (2002). *Oncología Pediátrica: Conceptos básicos y clínicos*. México, D.F.: Intersistemas S.A de C.V.
- [69] Rizo, P., González, A., Sánchez, F., Murguía, P. (2015). Tendencia de la mortalidad por cáncer en México: 1990-2012. *Evidencia médica e Investigación en salud*, 8(1), 5-15.

- [70] Safavi, S., Olsson, L., Biloglav, A., Veerla, S., Blendberg, M., Tayebwa, J., ... Paulsson, K. (2015). Genetic and epigenetic characterization of hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Oncotarget*, 6(40), 42793-42802.
- [71] Sawyer, J., y Morgan, G. (2017). Hyperhaploid karyotypes in multiple myeloma. *Oncotarget*, 8(45), 78259-78260.
- [72] Sawyer, J., Tian, E., Shaughnessy, J., Epstein, J., Swanson, C., Stangeby, C., ... Morgan, G. (2016). Hyperhaploidy is a novel high-risk cytogenetic subgroup in Multiple Myeloma. *Leukemia*, 31(3), 1-33. doi: 10.1038/leu.2016.253
- [73] Secker, L., Mehta, A., y Bain, B. (1995). Abnormalities of 3q21 and 3q26 in myeloid malignancy: a United Kingdom Cancer Cytogenetic Group study. *British Journal of Haematology*, 91, 490-501.
- [74] Sedlackova, L., Spacek, M., Holler, E., Imryskova, Z., y Hromadnikova, I. (2011). Heat-shock protein expression in leukemia. *Tumor Biology*, 32, 33-44. doi: 10.1007/s13277-010-0088-7

- [75] Shaffer, L., McGowan, J., y Schmid, M. (2013). *ISCN 2013: An international System for Human Cytogenetic Nomenclature*. Basel, Switzerland: Karger Medical and Scientific.
- [76] Sierra, M., Chávez, S., y García, E. (2011). Hallazgos citogenéticos de pacientes con leucemia mieloide aguda de novo. *Revista del Hospital Juárez de México*, 78(4), 203-207.
- [77] Smo, T. (2015). Leukaemia Section. Short Communication: inv(3)(q21q26) RPN1/MECOM. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, 19(9), 590-593. doi: 10.4267/2042/62326
- [78] Soreq, H., y Greenberg, D. (2012). Gene Section. Short Communication: ACHE (acetylcholinesterase). *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, 16(10), 710-713. doi: 10.4267/2042/48145
- [79] Terese Winslow LLC. (2018). Medical and Scientific Illustration. Virginia, U.S.: *Terese Winslow LLC, U.S. Govt*. Recuperado de <http://www.teresewinslow.com>
- [80] Turgeon, M. (2011). *Clinical Hematology: Theory and Procedures*. Quinta Edición. USA: Lippincott Williams and Wilkins.

- [81] Vardiman, J., Thiele, J., Arber, D., Brunning, R., Borowitz, M., Porwit, A., ... Bloomfield, C. (2009). The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*, *114*(5), 937-951. doi: 10.1182/blood-2009-03-209262
- [82] Viguié, F. (2001). Leukaemia Section. Mini Review: +21 or trisomy 21. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, *5*(4), 274-275. doi: 10.4267/2042/37795
- [83] Vijay, S., Sarojam, S., Raveendran, S., Syamala, V., Leelakumari, S., Narayanan, G., y Hariharan, S. (2012). Recurrent isochromosome 21 and multiple abnormalities in a patient suspected of having acute myeloid leukemia with eosinophilic differentiation —a rare case from South India. *Chinese Journal of Cancer*, *31*(1), 45-50. doi: 10.5732/cjc.011.10201
- [84] Zielke, N., Edgar, B., y DePamphilis, M. (2013). Endoreplication. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *5*, 1-15. doi: 10.1101/cshperspect.a012948