



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO**

**CORRELACION ENTRE EL DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO E
INMUNOFENOTÍPICO DE PACIENTES CON LEUCEMIA
MIELOIDE AGUDA ATENDIDOS EN EL HOSPITAL JUÁREZ DE
MÉXICO**

PRESENTA:

DRA. CAROLINA LILIBETH MOREIRA PONCE

**TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER TITULO DE
ESPECIALIDAD EN
HEMATOLOGIA**

**DR. FAUSTINO LEYTO CRUZ
ASESOR DE TESIS**

**DR. JORGE CRUZ RICO TITULAR DE
CURSO DE HEMATOLOGIA**

Número de Registro de Tesis

HJM 0512/18-R

Ciudad de México, Julio 2019





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

HOJA DE FIRMAS

TITULAR DE ENSEÑANZA

Dr. Jaime Mellado Abrego

JEFE DE POSGRADO

Dr. Víctor M. Flores Méndez

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE HEMATOLOGIA

Dr. Jorge Cruz Rico

ASESOR 1 Dr. Faustino Leyto Cruz

DEDICATORIA

A mis padres, Luis y Mirna. Mi hermano Luis Eduardo.

Por ser el pilar fundamental en mi vida y el sustento incondicional en mi formación académica.

A mi familia y mejores amigos,

Por su total apoyo y palabras de aliento que me ayudaron a ser perseverante y cumplir mis ideales.

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor, Dr. Faustino Leyto Cruz, por su valiosa tutoría en la realización de esta tesis y por ser una guía no solo en lo referente a la carrera sino también en la vida.

Dr. Jorge Cruz Rico, Dra. Mónica Tejeda, por ser verdaderos maestros, por su paciencia, entrega y dedicación en todas las enseñanzas impartidas.

Un especial agradecimiento al M. en C. Billy Verdejo Hernández, la Dra. Carmen Palacios, QBP Daisy Román y QFB Amparo Martínez Sida quienes contribuyeron de forma importante en mi formación y el desarrollo de este trabajo.

CONTENIDO

INTRODUCCION.....	1
PREGUNTA DE INVESTIGACION.....	21
JUSTIFICACIÓN.....	21
HIPOTESIS.....	21
OBJETIVOS.....	22
METODOLOGÍA.....	22
RESULTADOS.....	24
DISCUSIÓN.....	37
CONCLUSIONES.....	38
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
ANEXOS.....	43

I. INTRODUCCION

1. DEFINICIÓN

La Leucemia Mieloide Aguda (LMA) es una neoplasia maligna hematopoyética rápidamente progresiva, caracterizada por proliferación de células mieloides que presentan defectos en la maduración y se acompaña de citopenias multilineaje, que contribuyen a la morbi-mortalidad de esta enfermedad. **(3)**

2. HISTORIA

La primera descripción de la leucemia se realizó hasta después del año 1800, ya que para ello fue necesario el uso del microscopio, los primeros en describir la morfología de las células sanguíneas fueron Anton Van Leewenhoek y Jan Swammerdam quienes de forma independiente describieron los eritrocitos en 1674, Jean-Baptiste de Senac como a Joseph Lieutaud fueron los primeros en describir los corpúsculos blancos o globuli albicantes ahora conocidos como leucocitos, William Hewson fue quien describió los vasos linfáticos, dándole el nombre de leucocitos a estos corpúsculos blancos.**(7)**

La primera publicación de esta enfermedad se realizó en marzo de 1827 en la *Académie Royale de Médecine* en Paris, por el médico francés, Alfred Armand Louis Marie Velpeau, quien describió un paciente de 63 años, el cual falleció a pocos días de haber ingresado a al hospital, con un cuadro clínico caracterizado por fiebre, debilidad y crecimiento del hígado y bazo, a su muerte Velpeau realizó la autopsia encontrando crecimiento esplénico y la sangre muy espesa con una consistencia la cual describió “semejante a una papilla”, y bajo el microscopio, observó que esta presentaba numerosos “corpúsculos de pus”. Los hallazgos anatómicos e histológicos fueron publicados en marzo de 1827. (7,8)

La siguiente publicación se realizó en 1844, por el doctor Alfred François Donné, en su libro *Cours de Microscopie*, quien describió una mujer de 44 años de edad que presentaba el bazo ocupando toda la cavidad abdominal y al analizar la sangre y

encontró cambios los cuales describió como “sobresalientes y notables, con más de la mitad de las células como glóbulos mucosos, y esto debía ser explicado”.(18)

John Hughes Bennett. Publico en la revista Escocesa *Edinburgh Medical and Surgical Journal* y unos años después utilizo el término de “leucocitemia”, por las características microscópicas de la sangre; seis semanas después el patólogo Rudolf Virchow propuso el termino de sangre blanca (Leukämie), describiendo la inversión en la relación entre los corpúsculos rojos y blancos, inicialmente pensó que era pus, años después describió que los cambios encontrados no eran dados por una transformación supurativa, documentando una conexión con esplenomegalia y adenopatías, proponiendo la primera clasificación de la enfermedad, como la esplénica (splenemia) y la linfática (lymphemia). Aunque los primeros en describir pacientes con leucemia fueron Velpeau y Donné, fueron Bennett y Virchow los que documentaron como una enfermedad propia de las células sanguíneas de los elementos entonces llamados “corpúsculos sin color”; sin embargo, ninguno de los dos pudo explicar el mecanismo o el origen de esta nueva enfermedad. (7,19,20)

El doctor Arthur Conan Doyle, trabajaba como médico en Birmingham, Inglaterra, publicó un caso en la revista *Lancet*, donde describió un paciente con leucemia pensando que era secundaria al paludismo.

El patólogo Gabriel Andral, considerado el fundador científico de la hematología, consideró que la leucemia era una alteración propia de la sangre, y a partir de entonces poco a poco la leucemia fue aceptada en el terreno médico, nuevos casos comenzaron a ser publicados y diversos estudios aparecieron en la bibliografía mundial. (7) En 1858 Virchow reconoció que los tumores presentaban alto grado de proliferación, pero no pudo registrar exactamente las causas de este rápido crecimiento anormal. Sugirió que la inflamación o el microambiente donde la célula crecía podrían ser la causa de los tumores. (21)

En el año 1869 patólogo Ernst C. Neumann relacionó la leucemia con la enfermedad de la médula ósea. Ludwig F. Von Helmholtz y Virchow, demostró que la hematopoyesis se llevaba a cabo en la médula ósea mediante microscopia. Fue

él quien postuló que las células de la sangre se originaban de una precursora común a la que denominó célula madre (Stammzelle) Asimismo, Neumann indicó que, además de las leucemias linfática y esplénica propuestas existía la leucemia mieloide (22).

Paul Ehrlich, y Karl Weigert en 1877 desarrollaron diversos métodos de tinción celular. Paul Ehrlich, recibió el Premio Nobel en Medicina en 1908 junto con Iliá Ilich Méchnikov. Cuando aún Ehrlich era estudiante de medicina, y ayudado por su primo Karl Weigert que dominaba el arte de la coloración celular, desarrolló diversos métodos para teñir células, y pudo demostrar las características nucleares y citoplásmicas de las células de la sangre, describió numerosos gránulos citoplásmicos en algunas de las células. Ehrlich utilizó los términos de células acidófilas, los basófilos y los neutrófilos e indicó que las leucemias se originaban de células granulares y de células sin gránulos. En 1900, Otto Nägeli describió el mieloblasto, el monoblasto y el linfoblasto e indicó que, en casos de leucemias agudas, estas células eran las que predominaban en el corte histológico. (7)

Mas adelante se establecieron otros métodos diagnósticos; el primer informe en el uso de citometría se utilizó para medir los espectros de muchas partículas, y la medición de los espectros de partículas individuales (Fuller y Sweedler, 1996 (Wade et al., 1979); Gauci et al, 1996; Dubelaar et al., 1999). Los enfoques alternativos incluyeron el uso de un escaneo monocromómetro para hacer mediciones sucesivas en diferentes longitudes de onda, lo que permitió la medición de espectros población promedio con resolución relativamente alta (Steen y Stokke, 1986; Asbury et al, 1996), y un enfoque interferométrico que permitió mediciones celulares pero con una resolución relativamente de bajo espectro (Buican, 1990; Marrone et al, 1991). (25)

En 1958, un descubrimiento en pacientes con leucemia mieloide crónica dió el inicio de la citogenética del cáncer. Peter C. Nowelly David A. Hungerford del departamento de patología de la escuela de Medicina de la Universidad Pensilvania,

en Filadelfia, descubrieron un diminuto cromosoma acrocéntrico derivado del cromosoma 22 en cultivos de células de pacientes con leucemia mieloide crónica, hoy se le conoce como “cromosoma Filadelfia”.(25)

En 1972 Janet (Davidson) Rowley, especialista en inmunología de la Universidad de Chicago, utilizando la técnica combinada de Giemsa y bandeado con quinacrina, que permitió la identificación de cromosomas individuales, encontró que una parte del brazo largo del cromosoma 22 se translocaba a la parte distal del cromosoma 9 [t (9:22). La Dra. Rowley también describió la translocación t (15; 17). Y fue desde entonces que estableció como parte de diagnóstico pruebas genéticas y moleculares que además implicarían parte importante en el pronóstico del paciente y su tratamiento.

En los últimos años, las mejoras en la óptica, detectores y sistemas de datos han permitido el desarrollo de citómetros de flujo que habitualmente pueden hacer mediciones de alta resolución rápidas y sensibles de las células y otras partículas; La citometría de flujo (CMF) ha sido ampliamente utilizada en el laboratorio clínico y básico para fines de diagnóstico y de investigación. Mack Fulwyler desarrolló por primera vez el tipo actual de citómetros de flujo en 1965. La citometría de flujo proporciona un análisis rápido y simultáneo de múltiples características de las células individuales y actualmente se considera el método de mayor especificidad al momento del diagnóstico de los diferentes linajes celulares. (26)

3. INCIDENCIA

La incidencia de las leucemias agudas ha ido aumentando durante los últimos años, la agencia internacional para la investigación del Cáncer de la Organización Mundial de la Salud ha elaborado el GLOBOCAN 2018; acorde con este registro en México reporta una incidencia de leucemia aguda de 6406 casos de los cuales en hombres es de 5.6/100 000 habitantes y para las mujeres de 4.5/100 000 habitantes, encontrando una incidencia mayor en hombres y se registraron 4470 muertes. (40)

En México, el Registro Epidemiológico de Neoplasias Malignas informa que por cada 100 000 habitantes de la población general se tiene una incidencia anual de

leucemias agudas de 2; de leucemia linfocítica aguda de 1.3 y de leucemia mieloide aguda de 0.7. (27), encontrando grandes limitantes para su registro, ya sea por falta de reporte de casos en zonas rurales o unidades de tercer nivel, la incorrecta clasificación acorde con el CIE-10 o las limitaciones del seguimiento por cambios a otras instituciones. México no cuenta con información confiable de esta enfermedad, la incidencia, la prevalencia y la mortalidad son datos que no se pueden considerar exactos, aunque se han realizado diferentes esfuerzos locales o regionales para obtener información epidemiológica. En una publicación reciente acerca de las características de las leucemias agudas desde la perspectiva de México, se analizaron 1018 pacientes adultos que fueron atendidos en seis diferentes centros entre 2009 y 2014. En ese estudio se registraron cantidades semejantes de casos de leucemia linfoblástica aguda y leucemia mieloide aguda (51 y 49%, respectivamente), equitativas entre sexos, respecto a la leucemia mieloide aguda la edad de aparición fue notoriamente menor a lo reportado en la bibliografía internacional con 43 años, las variedades más frecuentes fueron leucemia mieloide aguda M3 con 35.5% y M2 con 20%. En el Hospital Juárez de México se realizó una revisión de 269 casos de leucemias agudas, reportado en el 2018 en pacientes mayores de 18 años atendidos entre 2012 y 2016, de ellos 256 fueron evaluables (154 con leucemia linfoblástica aguda y 102 con leucemia mieloide aguda). (29)

La leucemia mieloide aguda tiene una incidencia de 2-3 nuevos casos por 100.000 habitantes al año, en los países occidentales, con un incremento progresivo con la edad, hasta alcanzar un pico de 12.6 por 100.000 habitantes/año en pacientes mayores de 65 años. Se estima que en Europa el 0.6% de todas las formas de cáncer corresponden a LMA, lo que equivale a unos 18.000 casos nuevos de LMA cada año, suponiendo para una población como la española, entre 900 y 1000 nuevos casos anuales, aproximadamente. Esta enfermedad comprende el 80% de las leucemias agudas en adultos y el 15-20% de las pediátricas, siendo la neoplasia más frecuente en neonatos. Dentro de la totalidad de los procesos neoplásicos, la LMA es la causante del 1.2% de la mortalidad global por cáncer. (29)

4. ETIOLOGÍA

La etiología no es conocida, aunque en un bajo porcentaje de casos, en menos del 10%, se pueden reconocer algunos factores que participan en la patogenia del proceso, que incluyen factores genéticos, ambientales e infecciosos.

Los factores genéticos tienen importancia indiscutida. Los gemelos univitelinos de pacientes con leucemia aguda tienen una alta posibilidad de desarrollar también la enfermedad. Las enfermedades congénitas asociadas a fragilidad cromosómica como Anemia de Fanconi, Síndrome de Down, Síndrome Klinefelter así como aquellas que comprometen la inmunidad como el Síndrome Ataxia-telangectasia, agamaglobulinemia, Síndrome de Wiskott-Aldrich, se asocian a un mayor riesgo de desarrollar leucemia aguda. (30)

Entre los factores ambientales relacionados se han descrito múltiples causas con un mayor riesgo de desarrollar una leucemia aguda. Entre ellos las radiaciones ionizantes constituyen un factor leucemogénico bien conocido. Así la frecuencia de la enfermedad es mayor entre las víctimas de los bombardeos de Hiroshima y Nagasaki. La exposición crónica a bencenos, a drogas alquilantes, procarbazona, antraciclinas en el contexto de tratamientos de neoplasias anteriores, también constituyen factores de riesgo. La infección por algunos virus (HTLV1, VEB, HIV) se asocian a un mayor riesgo. Así mismo, existen varias patologías hematopoyéticas clonales crónicas, que tienen un alto riesgo de evolucionar hacia leucemia aguda, como los síndromes mieloproliferativos crónicos y los síndromes mielodisplásicos, con lo que podemos concluir que se requieran múltiples alteraciones genéticas de la célula hematopoyética que como evento final determinan el desarrollo de una leucemia aguda. (30)

Además, se conocen vías de señalización relacionadas con el desarrollo de leucemia mieloide entre lo que se describen dos tipos principales de eventos genéticos que son cruciales para la transformación leucémica. Un primer evento necesario propuesto es el desorden de crecimiento celular y la regulación positiva de los genes de supervivencia celular. El más común de estos eventos de activación se observó en el RTK Flt3, en N-Ras y K-Ras, en Kit, y esporádicamente en otros

RTK. Las alteraciones en los factores de transcripción mieloides que gobiernan la diferenciación hematopoyética proporcionan el segundo evento necesario para la leucemogénesis. Proteínas de fusión del factor de transcripción tales como AML-ETO, PML-RARalfa o PLZF-RARalfa bloquean la diferenciación de las células mieloides al reprimir los genes diana. En otros casos, los factores de transcripción en sí están mutados. De acuerdo a estas vías de señalización es lo que ha permitido actualmente establecer terapias blanco que proporcionan un mejor pronóstico de la enfermedad. (30)

5. DIAGNOSTICO Y CLASIFICACION

Actualmente la leucemia se diagnostica en base a la morfología, el examen citoquímico de los blastos, así como su inmunofenotipo; la citogenética y la genética molecular adicionalmente contribuyen en la confirmación diagnóstica y el pronóstico. Dado que en general la leucemia es considerada un defecto de diferenciación celular, la citometría de flujo / inmunofenotipo identifica marcadores de superficie de las células o clusters de diferenciación (CD), expresados en diferentes etapas de desarrollo celular, mediante la aplicación de anticuerpos monoclonales contribuyendo al diagnóstico y clasificación.

La LMA presenta ciertos antígenos en las células malignas y ausente en las células normales, lo cual es crítico para la iniciación de la enfermedad o su propagación, lo que los convierte también en objetivo ideal en la inmunoterapia.

Durante los últimos 20 años, el inmunofenotipo por citometría de flujo se ha convertido en una herramienta esencial de laboratorio en el diagnóstico y clasificación de las neoplasias hematológicas. (10)

a. MORFOLOGÍA

Se deben contar al menos 200 leucocitos en frotis de sangre y 500 células nucleadas en frotis de médula. Se requiere un recuento de médula ósea de $\geq 20\%$

de blastos, con excepción de la LMA con t (15; 17), t (8; 21), inv (16) o t (16; 16), donde el hallazgo de estas alteraciones cromosómicas son suficientes para establecer el diagnóstico. Los mieloblastos, monoblastos y megacarioblastos se incluyen en el recuento de células blásticas. En LMA con diferenciación monocítica o mielomonocítica, los monoblastos y promonocitos, pero no los monocitos anormales, se cuentan como equivalentes de blastos. (32)

El estudio de morfología se ha determinado con una sensibilidad de 89.2% en comparación con la citometría de flujo la cual se reporta del 100% al momento del diagnóstico, debido al margen de error que puede existir en el observador sobre todo en los casos de leucemias bifenotípicas. Sin embargo, es importante conocer las características celulares debido a que se considera hasta el momento el método de rutina para el diagnóstico. (32)

El estudio morfológico permite realizar determinación de características, además de conocer la dirección de la diferenciación a lo largo de una o más líneas, el grado de maduración de las células. Así M1, M2 y M3 muestran una diferenciación granulosa predominante. M4 muestra una maduración granulosa y monocítica. M5 una diferenciación de predominio monocítica. M6 una diferenciación de predominio eritroblástico.

A continuación, se enumeran las características morfológicas que permiten clasificar a las LMA de acuerdo con la FAB en 8 tipos diferentes. (ver TABLA 1).

M0, Leucemia mieloide aguda indiferenciada, Los blastos no se desarrollan, son agranulares, citoplasma con basofilia variable, remanentes presentan morfología similar a un linfoblasto. (42)

M1, Leucemia Mieloblástica sin maduración. Las células de la médula ósea muestran alguna evidencia de granulación. Los blastos tienen uno o más nucleolos; 3% son peroxidasa positivas, solo algunas células blásticas contienen granos azurófilos, cuerpos de Auer o los dos. Y debido a que no es una célula completamente diferenciada se debe hacer diagnóstico diferencial con LLA (leucemia linfoblástica aguda) L2. (42)

M2, Leucemia Mieloblástica con maduración. Se distingue de la M1 por la presencia de granulaciones, citoplasma más o menos variable, con granulaciones azurófilas, pueden tener corpúsculos de Auer. Los mieloblastos tienen núcleo irregular lobulado reniforme, en ciertos casos pueden ser confundidos por monocitos, sin embargo, los mieloblastos tienen el núcleo pequeño, su citoplasma es menos abundante, no posee el aspecto azul-grisáceo característico del monocito.(42)

M3 Leucemia Promielocítica Hipergranular. La gran mayoría de las células son promielocitos anormales con gruesas granulaciones. El citoplasma, lleno de granulaciones, en la médula de estas Leucemias aparecen haces de corpúsculos de Auer, sus núcleos varían mucho de tamaño y forma, a menudo son irregulares arriñonados o bilaterales.(42)

M4, Leucemia Mielomonocítica. Tanto la diferenciación monocítica como granulocítica está presente en diversas proporciones en la médula ósea y en la sangre periférica, la proporción de promielocitos y monocitos supera el 20 % de las células nucleadas de la médula ósea. Estas células monocíticas tienen actividad histoquímica de esterasas inespecíficas.(42)

M5, Leucemia Monocítica, Se caracteriza por tener en médula ósea y algunas veces en sangre periférica, grandes blastos los cuales tienen una cromatina muy fina y de uno o tres nucleolos bien visibles, con citoplasma grande muestran a menudo uno o más pseudópodos, es basófilo y puede contener, raramente, gránulos azurófilos. 80% son monoblastos. El diagnóstico puede confirmarse con la reacción de las esterasas. (42)

M6 Eritroleucemia. En la médula ósea el precursor eritroide morfológicamente es anormal. Las células están presentes en todos los estadios de maduración. La cromatina nuclear es muy parecida a la de las células eritroides megaloblásticas, pueden tener 2 ó 3 núcleos en cada célula. La reacción del PAS es positiva. Los

elementos eritroides constituyen el 50 % de las células nucleadas de la médula ósea y son principalmente proeritroblastos.(42)

M7, Leucemia megacarioblástica, blastos polimorfos, medianos a grandes, núcleo/citoplasma aumentado, pero menos que otras LMA, 1-3 nucleolos, cromatina fina, citoplasma agranular apariencia de burbujas citoplasmáticas, 30% son megacarioblastos en médula ósea.(42)

De acuerdo con estas características existe en ocasiones en que las formas más inmaduras M0 y M2 pueden crear confusión al momento del diagnóstico con blastos de tipo linfoide, sin embargo de forma inicial con el uso de tinciones de PAS y peroxidasa se podía establecer el origen celular; actualmente además, con el de citometría de flujo permite establecer el origen celular y la etapa de maduración para poder clasificarlas de acuerdo a sus antígenos de superficie celular y tener un diagnóstico específico.

b. CITOMETRIA DE FLUJO

La citometría de flujo (CMF) ha sido ampliamente utilizada en el laboratorio clínico y básico para fines de diagnóstico y de investigación, ya que Mack Fulwyler desarrolló por primera vez el tipo actual de citómetros de flujo en 1965. La citometría de flujo proporciona un análisis rápido y simultáneo de múltiples características de las células individuales.

Dentro de un citómetro de flujo, hay cuatro componentes principales: fluídica (generando un fluido de revestimiento que consiste en células individuales), la óptica de excitación (que consiste en múltiples láseres), la óptica de recogida (que transmiten las longitudes de onda emitidas al tubo fotomultiplicador / matrices de detectores en múltiples ángulos) y el analizador (transformar señales eléctricas en señales digitales y la visualización de los datos cuantitativos y cualitativos).

La citometría de flujo en el diagnóstico de las leucemias tiene una sensibilidad de 100% y 97.5% de especificidad y por lo tanto se considera una prueba específica para el diagnóstico. (25)

El diagnóstico inmunológico por CMF de las LA (leucemia aguda) es primordial para confirmar el diagnóstico morfológico, definir el estado de maduración celular leucémico y clasificar a la LMA, en distintos subtipos inmunológicos.(39)

En una búsqueda se encontraron escasos estudios que comparan la morfología contra inmunofenotipo, en un estudio cubano de 150 pacientes acerca de la correlación entre estudio morfológico y de inmunofenotipo se reportó una correspondencia entre la morfología de los blastos y el diagnóstico inmunológico por CMF de 81,3 % (122 pacientes) de LA. Lo cual demuestra que las técnicas morfológicas convencionales no permiten definir el linaje celular leucémico en todos los casos, y solo puede precisarse diagnóstico por la CMF. (39)

CLASIFICACIÓN INMUNOLÓGICA POR CITOMETRIA DE FLUJO

De acuerdo con la clasificación de la OMS, los criterios de asignación de linaje incluyen MPO-positivo o diferenciación monocítica con al menos dos de los siguientes marcadores de superficie determinados por inmunofenotipo entre los cuales tenemos: esterasa no específica, CD11c, CD14, CD64 y lisozima.

Comúnmente se expresan marcadores CD en los diferentes linajes, como los CD13, CD33 y MPO que son marcadores de linaje mielóide. Cada marcador tiene su función específica para diferenciar los linajes. Los marcadores CD13 y CD33 se expresan en una etapa muy inicial de la diferenciación, incluso antes de la expresión de cualquier signo morfológico de la diferenciación mielóide. El linaje monocítico se sugiere por la expresión de CD4, CD13, CD33 brillante y CD64. En algunos estudios la expresión de CD56 se correlaciona con pronóstico adverso, y suele ser positiva en el 60-80% de los casos con t(8;21). Si cualquiera de estos marcadores expresa su presencia en otro linaje en lugar de la propia, son considerados como marcadores aberrantes. (TABLA 3) (26)

TABLA 3 EXPRESION DE MARCADORES CELULARES Y CIOPLASMATICOS PARA DIAGNOSTICO LMA

TIPO	MARCADOR
-------------	-----------------

PRECURSORES	CD34, CD117, CD33, CD13, HLA-DR
MARCADORES GRANULOCITICOS	CD65, MPO citoplasmática
MARCADORES MONOCITICOS	CD 14, CD36, CD64
MARCADORES MEGACARIOCITICOS	CD41 (glicoproteína IIb/IIIa) CD61 (glicoproteína IIIa)
MARCADORES ERITROIDES	CD235a (Glicoforina A) CD36
DIAGNOSTICO LMAP Linaje mieloide Linaje T Linaje B	MPO o diferenciación monocítica con al menos dos de los siguiente: CD11c, CD14, CD64, lisozima. CD3 (alto) citoplasmático o de superficie CD19 (alto) con al menos uno de los siguientes: CD79a citoplasmático, cCD22 o CD10 o CD19 (débil) con al menos dos de los siguientes: CD79a, cCD22 o CD10

CD33, un receptor transmembrana que pertenece al ácido siálico de unión similar a una inmunoglobulina, de la familia SIGLEC de lectinas, se expresa en más de 90% de LMA. Mientras que su nivel de expresión es poco probable que sea independiente de pronóstico, su baja expresión tiende a estar asociada con cariotipos adverso y el factor de unión central LMA y alta expresión se asocia con las mutaciones en FLT3-ITD. Su función en la posición normal del sistema inmuno-hematopoyético es poco conocida, CD33 se expresa en la serie mieloide de las células progenitoras, incluyendo neutrófilos, monocitos y macrófagos residentes de tejido. CD33 ha sido blanco clínicamente utilizando anticuerpos (25)

CD123 se expresa en prácticamente todos los pacientes con LMA, su expresión es mayor en LMA con mutación *FLT3* o mutación *NPM1*. Sin embargo, esta alta expresión no se ha descrito en LMA con t (8,21).

Dado el papel de IL-3 de señalización en el desarrollo hematopoyético, no es sorprendente que CD123 también está presente en las células hematopoyéticas progenitoras, así como poblaciones más maduras. CD123 se ha identificado clínicamente utilizando anticuerpos, por lo que en la actualidad tiene un papel importante en el diagnóstico por inmunofenotipo ya que permite utilizar terapias específicas dirigidas a ese marcador de superficie celular. (25)

CLEC12A, también conocido como molécula lectina tipo C-1 (cLL1), se expresa en blastos de LMA así como en células madre de la leucemia. Sin embargo, también se encuentra en algunos progenitores mieloide, monocitos y células dendríticas donde juega un doble papel en la amortiguación las respuestas a las células muertas y en la presentación de antígenos.

CD44v6, una isoforma de corte y empalme de CD44, está presente en aproximadamente el 65% de las muestras de LMA en diferentes niveles y también se encuentra en monocitos y queratinocitos normales. (35)

La proteína del receptor-accesorio IL1 (IL1RAP) se expresa en la mayoría de las muestras de LMA y particularmente en aquellos con cariotipos adversos, y su alta expresión se asocia con un pobre pronóstico. (35)

La técnica utilizada actualmente es EuroFlow, un consorcio científico de Empresas y Grupos de investigación cuyo objetivo es el desarrollo y la estandarización de los análisis altamente sensibles, precisos y rápidos de citometría de flujo, cuyos fines no solo son el diagnóstico, sino también la clasificación pronóstica de enfermedades hematológicas entre ellas la leucemia aguda. Durante años el uso de los paneles para las leucemias se han basado en opiniones de expertos no validadas, el euroflow presenta paneles de anticuerpos monoclonales de 8 colores pre estandarizados, los cuales se construyeron en 2-7 rondas utilizando nuevas herramientas de software para el análisis de datos, se combinan dos grupos de marcadores en cada tubo con 8 a 12 anticuerpos. Dentro de los tubos utilizados para determinación e inmunofenotipo los primeros marcadores son la cadena principal los que nos permiten identificar poblaciones de células distintas en una

muestra, el otro grupo de marcadores son para la caracterización de las poblaciones de células específicas. Cada combinación de anticuerpos propuesta fue probada contra las bases de datos de referencia de las células normales y malignas de sujetos sanos y entidades de la enfermedad basados en la OMS, respectivamente. Los estudios Euroflow resultaron en paneles de anticuerpos de 8 colores validados y flexibles para la identificación multidimensional y caracterización de las células normales y aberrantes, adecuado de manera óptima para la detección y clasificación hematológica inmunofenotípica (35). (FIGURA 1)

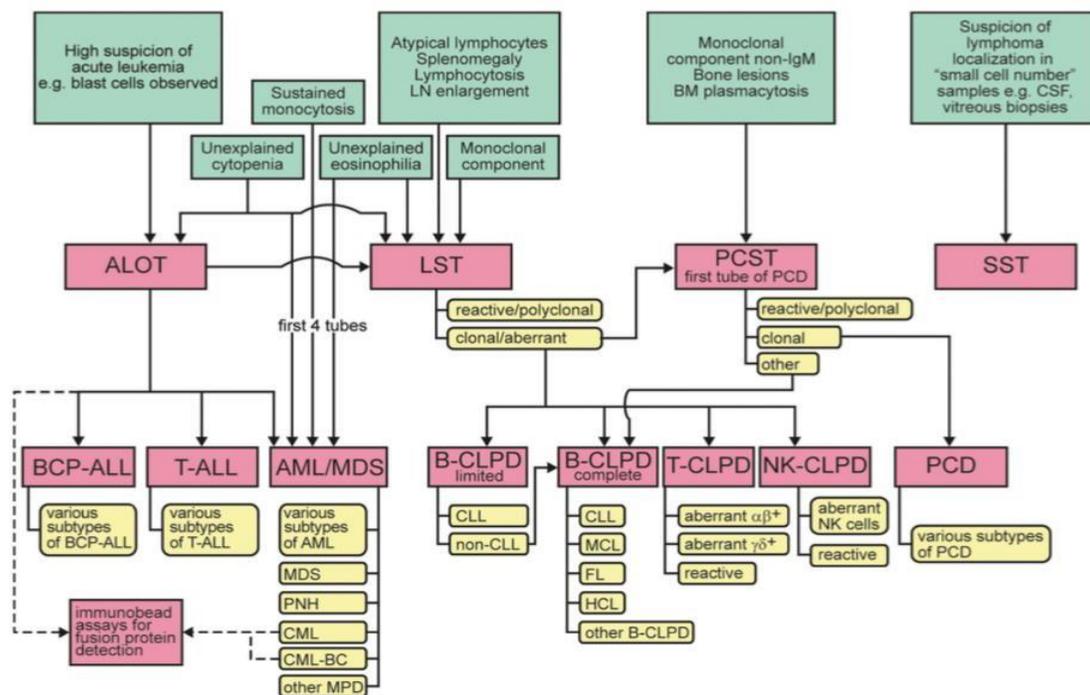


FIGURA 1: PANELES DE ANTICUERPOS EN EUROFLOW PARA LA INMUNOFENOTIPIFICACIÓN POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN LEUCOCITOS NORMALES, REACTIVOS Y MALIGNOS

TUBO DE ORIENTACION DE LEUCEMIA AGUDA (ALOT)

Primer paso que incluye un solo tubo de 8 colores, se diseñó para la evaluación inicial de la naturaleza de las poblaciones inmaduras de células hematopoyéticas en muestras de leucemia aguda, reconoce dos categorías principales de leucemias agudas: neoplasias precursoras linfoides, que se

subdividen en leucemia / linfoma linfoblástico agudo precursor de células B y T (BCP-ALL y T-ALL, respectivamente), y leucemia mieloide aguda (LMA) y neoplasias precursoras relacionadas. Para los tubos de detección y orientación EuroFlow tubo de detección de precursores linfoides (LST), tubo de células pequeñas, (SST) y la discrasia de las células plasmáticas (PCD).

CD45, Los marcadores CD34 y CD19 del ALOT sirven como marcadores de la red troncal cuando se combina la información relacionada con el ALOT con el panel BCP-ALL, CyCD3, CD45 y SmCD3 los marcadores sirven como marcadores de la red troncal cuando la información relacionada con ALOT se combina con el panel T-ALL. CD45 y CD34 también se utilizan como parte del conjunto de marcadores de la red troncal en el panel de AML / MDS.

A partir del resultado de ALOT de acuerdo con el linaje, cada combinación de marcadores se diseña para responder a una o varias preguntas clínicas relevantes, para la identificación, enumeración y caracterización de las poblaciones celulares relevantes en una muestra. Como la población de células diana puede no ser conocida de antemano o puede haber sido definida previamente, se requiere una estrategia diferente en cada situación. Posterior al ALOT, se selecciona un paso rápido basado en un número limitado de anticuerpos realizado en un solo tubo dirigido a la identificación diferencial de todos los subconjuntos de células relevantes en la muestra para que la técnica resulte más eficiente y se obtenga el diagnóstico específico.(43)

a. CITOGÉNÉTICA Y CITOGÉNÉTICA MOLECULAR

El análisis citogenético convencional es obligatorio en la evaluación de la sospecha de LMA. Ocho translocaciones e inversiones equilibradas, y sus variantes, se incluyen en la categoría de la OMS "LMA con anomalías genéticas recurrentes". Nueve reordenamientos equilibrados y múltiples anomalías desequilibradas son suficientes para establecer el diagnóstico de la OMS de "LMA con cambios relacionados con la mielodisplasia" cuando hay presentes un 20% de sangre o de médula ósea (36).

Las anomalías genéticas son factores pronósticos de gran alcance. Los estudios de citogenética convencional, consisten en determinación de RUNX1, ASXL1, NPM1, FLT3, y CEBPA que actualmente se están utilizando en la práctica habitual.

Las variantes patogénicas en RUNX1 ocurren con características desfavorables, tales como la edad avanzada, antecedente trastorno mieloide, y su presencia representa mal pronóstico de la LMA.

Variantes patogénicas en ASXL1 son más comunes en pacientes mayores y se asocia con menor supervivencia.

El gen FLT3, codifica para un receptor tirosin-cinasa se expresa en la superficie en LMA, progenitores mieloide normales, células dendríticas, y el cerebro. La activación constitutiva de FLT3 es impulsada por variantes patogénicas en dominios intracelulares y por lo tanto sólo los dominios con homología a FLT3, en la actualidad permiten acceder a terapias basadas en anticuerpos (33).

Variantes patogénicas en TP53 y el cariotipo complejo (3 anomalías genéticas) confiere mal pronóstico al paciente.

La detección de marcadores aberrantes es de extrema importancia en la decisión de un régimen de tratamiento específico y por lo tanto mejorar el resultado final de los pacientes (34).

6. CLASIFICACION

De acuerdo con la Clasificación de la OMS, los mieloblastos deben comprender el 20% de células en la médula ósea para establecer un diagnóstico de la LMA.

Las nuevas recomendaciones de la OMS actualizaron y modificaron los criterios de diagnóstico utilizados de la FAB(TABLA1)

Tabla 1 CLASIFICACIÓN GRUPO FRANCO-AMÉRICO-BRITÁNICO

MORFOLOGIA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA	
M0	Leucemia mieloblástica aguda sin diferenciación localizada
M1	Leucemia mieloblástica aguda sin maduración
M2	Leucemia mieloblástica aguda con maduración
M3	Leucemia promielocítica aguda con translocación t(15;17)
M4	Leucemia mielomonocítica aguda (LMMA)
M4eo	Leucemia mielomonocítica aguda con eosinofilia en médula ósea
M5	Leucemia monocítica aguda (LMOa)
M5a	LMOa sin diferenciación (monoblástica)
M5b	LMOa con diferenciación (monocítica)
M6	Eritroleucemia aguda; precursora de glóbulos rojos
M7	Leucemia megacariocítica aguda

De acuerdo con la actualización de la clasificación de la OMS 2016 se hicieron cambios a las categorías de enfermedades existentes tomando en consideración alteraciones génicas y las dividieron en 4 principales (TABLA 2) (31):

- 1) LMA con anomalías genéticas recurrentes
- 2) LMA con cambios relacionados a mielodisplasia
- 3) Las neoplasias mieloides relacionadas a tratamiento
- 4) LMA, no especificada.

TABLA 2. Clasificación de la OMS 2016 de LMA.

<p>LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA</p> <p>LMA con anomalías genéticas recidivantes</p> <p>LMA con t(8;21)(q22;q22), RUNX1-RUNX1T1(CBFA/ETO)</p> <p>LMA con inv(16)(p13;q22) o t(16;16)(p13;q22), CBFB-MYH11 Leucemia promielocítica aguda con t(15;17)(q22;q11-12), PML-RARA LMA con t(9;11)(p22;q23), MLLT3-MLL</p> <p>LMA con t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214</p> <p>LMA con inv(3)(q21;q26.2) o t(3;3)(q21;q26.2), RPN1-EVI1</p> <p>LMA (megacarioblástico) con t(1;22)(p13;q13), RBM15-MKL1</p> <p>LMA con NPM1 mutado</p> <p>LMA con CEBPA mutado</p>
<p>LMA con características relacionadas con la mielodisplasia Neoplasia mieloide relacionado con la displasia</p> <p>LMA no especificada de otra manera:</p>
<p>LMA con diferenciación mínima LMA sin maduración</p> <p>LMA con maduración</p>
<p>Leucemia aguda mielomonocítica Leucemia monoblástica y monocítica aguda</p> <p>Leucemia eritroide aguda</p> <p>Leucemia megacarioblástica aguda Leucemia basofílica aguda</p> <p>Panmielosis aguda con mielofibrosis</p>
<p>Sarcoma mieloide</p> <p>Proliferaciones mieloides relacionadas con el síndrome de Down Mielopoyesis anormal transitoria</p> <p>Leucemia mieloide relacionada con el síndrome de Down</p>
<p>Neoplasia celular dendrítico plasmacitoide blástico</p>

7. TRATAMIENTO

La quimioterapia convencional durante décadas y columna vertebral de tratamiento de la LMA ha sido una combinación de citarabina y antraciclinas. En la LMA en adultos, el uso de daunorrubicina de dosis altas (DNR) se asocia con resultados superiores en comparación con la dosis estándar de DNR.

Además la determinación de antígenos de superficie es importantes para establecer el diagnóstico, pronóstico y tratamiento debido a que existen nuevas terapias blanco. (7)

Terapias novedosas:

Los agentes más relevantes incluyen nuevos agentes quimioterapéuticos (clofarabina, vosaroxin, y CPX-351 [liposomal de citarabina, daunorubicina]), inhibidores de tirosina cinasa (FLT3 inhibidores, MEK inhibidores), inhibidores de proteasoma (por ejemplo bortezomib), agentes epigenéticos incluyendo agentes hipolipemiantes (azacitidina, decitabina), e inhibidores de las desacetilasas de histonas (panobinostat) (31).

INMUNOTERAPIA

En la LMA, la terapia de células T humanas redirigidas con receptor de antígeno quimérico (CAR-T), pueden tener como blanco a CD33, CD123 y anti-Lewis-Y.

Gemtuzumabozogamicina (GO) es un anticuerpo monoclonal que reconoce a CD33, y representa al primer agente de inmunoterapia que se ha probado para el tratamiento de la LMA. Varios ensayos clínicos han confirmado su efecto antileucémico en la LMA del adulto, con un sobrevida global de alrededor del 30%, GO fue aprobado para el tratamiento de la LMA con CD33 positivo durante la primera recaída en pacientes > 60 años de edad que no fueron considerados para la quimioterapia citotóxica. Se ha demostrado en un meta análisis realizado por el Instituto Nacional de Cáncer que la combinación de quimioterapia en leucemia promielocítica con ATRA, arsénico y GO son más efectivos para mantener remisión en comparación con el régimen de ATRA+ idarubicina, son un riesgo de recaída de 4%. (13)

CD33, se expresa en células malignas en la gran mayoría de los pacientes con LMA, podría usarse como blanco, también se podrían usar otros biomarcadores que sean reconocibles por un cierto anticuerpo. Los anticuerpos "dirigidos al cáncer" que se encuentran actualmente en ensayos clínicos de Fase I/II incluyen anticuerpos

CD98, anticuerpo tipo receptor de inmunoglobulina (KIR) de células asesinas, anticuerpo de proteína 1 de la muerte celular programado (PD1), diferenciación de timocitos humanos específicos del estadio II anticuerpo antígeno (JL1), anticuerpo de la proteína 4 asociada a linfocitos T citotóxicos (CTLA4) y anticuerpo CXCR4. (13)

Ehninger et al, estudiaron la distribución de CD33 y CD123 en una cohorte de 319 pacientes con LMA. Los resultados mostraron que el 87.8% de los pacientes con LMA expresaron CD33, mientras que el 77.9% expresaron CD123 y el 9.4% expresaron CD123 sin la expresión de CD33. Por lo tanto, casi todos pacientes con LMA (potencialmente 97.2%) podrían tratarse con anticuerpos antiCD33 o anti-CD123. Por lo tanto, el desarrollo de la terapia celular se ha centrado en estos dos marcadores de superficie. (31)

CD123 como objetivo molecular, se ha convertido en una entidad más específica para los blastos de LMA y las células madre leucémicas. Las células T humanas redirigidas a CD123 (CAR-T123) muestran una actividad reductora de proliferación significativa en modelos de ratones con LMA. Flotetuzumab es un antiCD123 / CD3 dual de afinidad re-orientación molécula (DART) que tiene como efectos adversos la inducción del síndrome de liberación de citocinas (CRS) y citopenias transitorias en la dosis más alta ensayada en no humano primates. (37)

II. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Qué nivel de correlación existe entre los hallazgos de morfología y de inmunofenotipo al diagnóstico en los pacientes con leucemia mieloide aguda de novo en Hospital Juárez de México?

III. JUSTIFICACION

Los avances en el conocimiento de patobiología de la LMA han sucedido vertiginosamente en la última década; conocimiento que nos obliga a un correcto y más certero diagnóstico, basado en las nuevas técnicas disponibles, sin embargo en países como México donde la disponibilidad de estos recursos es aún limitada, la morfología sigue siendo esencial y ocasionalmente el único método diagnóstico disponible, por lo que es importante averiguar la correlación existente entre estos dos métodos que son los más socorridos actualmente para el diagnóstico inicial de la LMA .

Dado el alto grado de subjetividad dependiente del observador en el estudio morfológico y que las células blásticas pueden tener características morfológicas similares que pueden ser fácilmente diferenciados por inmunotipificación de acuerdo con la expresión de los diferentes CD, ambos estudios se vuelven necesariamente complementarios.

Es por eso que se considera importante analizar la correlación existente entre los estudios diagnósticos morfológicos e inmunofenotípicos de pacientes con Leucemia Mieloide Aguda en el Departamento de Hematología del Hospital Juárez de México.

IV. HIPÓTESIS

Existe correlación entre el estudio morfológico y el inmunofenotipo en los pacientes con leucemia mieloide aguda de novo del HJM

V. OBJETIVOS

1. Objetivo General

- Determinar la correlación entre el análisis morfológico de medula ósea y el inmunofenotipo en pacientes con Leucemia Mieloide Aguda de novo, atendidos en el Servicio de Hematología del HJM, entre Enero 2012-Diciembre 2017.

2. Objetivo Específicos

- Obtener clasificación morfológica en Aspirado de Medula Ósea en pacientes con Leucemia Mieloide Aguda ingresados en el Hospital Juárez de México.
- Especificar diagnóstico por inmunofenotipo en pacientes con Leucemia Mieloide Aguda ingresados en el hospital Juárez de México.
- Comparar resultados de inmunofenotipo con respecto a morfología.

VI. METODOLOGÍA

1. Diseño de investigación

De acuerdo con el propósito del diseño metodológico el estudio es descriptivo, transversal, observacional y retrospectivo.

2. Definición de la población

El protocolo se realizó de acuerdo con lo dispuesto en la ley general de salud, en materia de investigación en el diagnóstico de leucemia mieloide. El estudio se apegó a los principios de la asamblea médica mundial para la investigación en seres humanos establecidos en la declaración de Helsinki; esta investigación se categorizará sin riesgo. El proyecto fue aprobado por el comité de ética, investigación y bioseguridad del Hospital Juárez de México

3. Criterios de Inclusión:

- Pacientes diagnosticados con Leucemia Mieloide Aguda de novo.
- Pacientes mayores a 18 años.
- Que cuenten con los datos completos en el expediente clínico.

4. Criterio de exclusión:

- Pacientes que presenten superposición con otra enfermedad neoplásica.
- Pacientes con leucemia mieloide secundaria

5. Variables

5.1. Definición de variables

	Tipo	Unidad de medida	Definición conceptual	Definición operacional
LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA	Cualitativa dicotómica nominal	Ausencia Presencia	La leucemia mieloide aguda es una neoplasia hematopoyética con más de 20% de blastos de aspecto mieloide	>20% blastos <20% blastos
ESTUDIO MORFOLÓGICO EN MÉDULA ÓSEA	Cualitativa politómica nominal	Ausencia Presencia	Subtipos determinados por la clasificación Francesa-Americana-Britania (FAB) de acuerdo al tipo y grado de diferenciación celular .	M0: Sin maduración M1: sin diferenciación M2 con diferenciación M3 promielocítica M4 mielomonocítica M5: monocítica M6: eritrolecemia M7: megacariocítica
INMUNOFENOTIPO EN MÉDULA ÓSEA	Cualitativa politómica nominal	Ausencia Presencia	Expresión de 20% grupos de diferenciación de la célula tumoral por citometría de flujo para determinar variantes monocitos CD15 Granulocitaria CD71, glicoforina A y CD36 a la eritroide CD41 y CD42 a la plaquetaria	M0- M2: CD11c, CD13, CD33, CD 117 CD64 M3: CD13, CD33, CD 117, MPO M4-M5: CD14 monocitos CD15 Granulocitaria M6: CD71, glicoforina A y CD36 a la eritroide M7: CD41 y CD42 a la plaquetaria

6. Técnica y procedimiento:

Recolección de información: Se utilizarán los expedientes clínicos de cada uno de los pacientes, obtenidos de archivo clínico. Así mismo se obtendrán resultados de bitácoras del área de hematología del Hospital Juárez de México.

7. Análisis de datos:

El análisis de datos recolectados se realizó con el software SPSS STATISTICS 25 para procesamiento y análisis de información. Además de las variables establecidas, se evaluaron variables epidemiológicas, edad, sexo, porcentaje de blastos al diagnóstico. EL análisis inferencial se realizó con el programa mencionado y la concordancia inter- observador se realizó mediante el coeficiente de Kappa

8. Consideraciones éticas

El protocolo se realizó de acuerdo con lo dispuesto en la ley general de salud, en materia de investigación en el diagnóstico de leucemia mieloide. El estudio se apegó a los principios de la asamblea médica mundial para la investigación en seres humanos establecidos en la declaración de Helsinki; esta investigación se categorizará sin riesgo. El proyecto fue aprobado por el comité de ética, investigación y bioseguridad del Hospital Juárez de México

VII. RESULTADOS

El estudio incluyó 173 pacientes que se registraron entre 2012 y 2017 con diagnóstico reciente de LMA, se excluyeron 60 pacientes, de los cuales 15 casos correspondían a leucemia mieloide secundaria, 33 casos no tenían expediente completo y 12 pacientes eran de edad pediátrica por lo que no cumplían con criterios de selección para el estudio. Por lo tanto, se analizaron 113 pacientes por inmunofenotipo y morfología, en los cuales se determinaron además variables de edad y sexo.

En la tabla 1, se describe el total de pacientes incluidos inicialmente, el diagnóstico inicial, género y edad.

Tabla 1. Total de pacientes y variables del estudio

Estadísticos					
		DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO	DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB	SEXO MAS FRECIENTE	BLASTOS AL DIAGNOSTICO
N°	Válido	113	113	113	113
	Perdidos	60	60	60	60

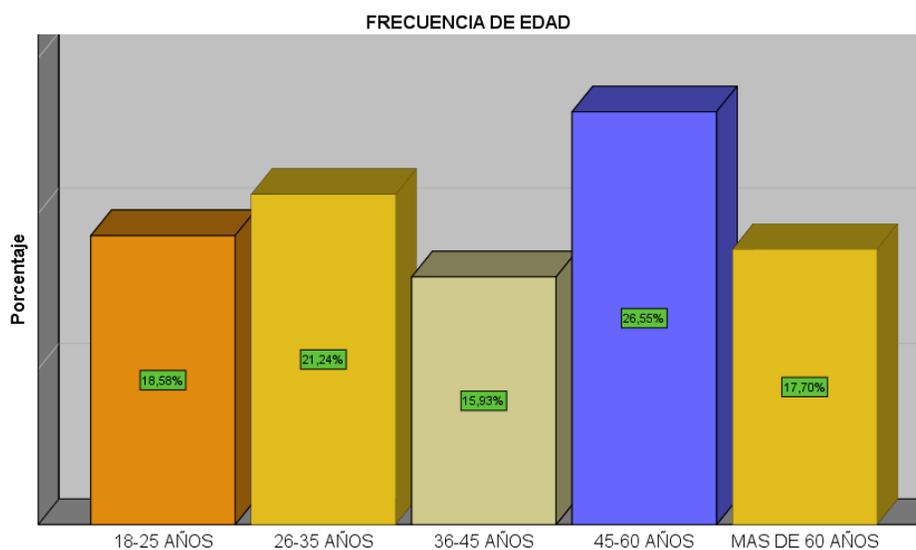
El grupo de edad de mayor incidencia en el momento del diagnóstico en la población en estudio se encontró entre 45 – 60 años con una frecuencia de 30 pacientes (26.5%), seguidos de en frecuencia por el grupo de 26 a 35 años (21.2%), el de 18 a 25 años (18.6%), mayores de 60 años (17.7%) y en menor frecuencia la edad entre 36-45 años (15.9%).

Se muestran las frecuencias y porcentajes de acuerdo con la edad en la Tabla 2, Gráfico 1.

TABLA 2. FRECUENCIA DE EDAD

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	18-25 AÑOS	21	18,6	18,6	18,6
	26-35 AÑOS	24	21,2	21,2	39,8
	36-45 AÑOS	18	15,9	15,9	55,8
	45-60 AÑOS	30	26,5	26,5	82,3
	MAS DE 60 AÑOS	20	17,7	17,7	100,0
	Total	113	100,0	100,0	

GRAFICO 1. FRECUENCIA DE EDAD



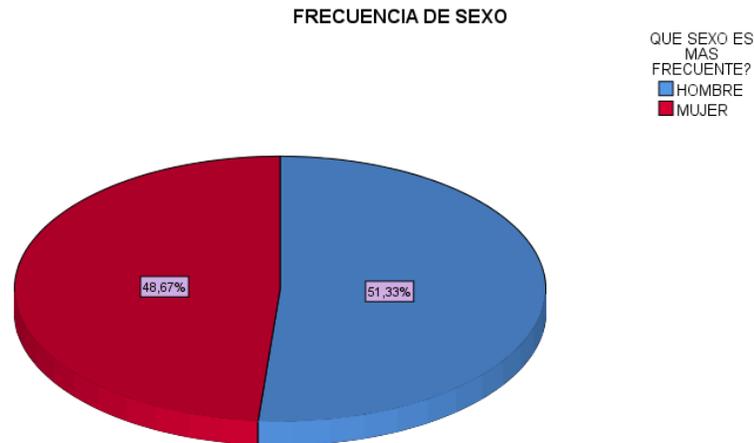
En cuanto al género en la población de estudio el 51.3% (n = 58) fueron hombres, y 48.7%(n = 55) lo cual evidencia una diferencia poco significativa con respecto al sexo.

Se muestran las frecuencias y porcentajes de sexo en la Tabla 3 gráfico 2.

TABLA 3. FRECUENCIA DE GENERO

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	HOMBRE	58	51,3	51,3	51,3
	MUJER	55	48,7	48,7	100,0
	Total	113	100,0	100,0	

GRAFICA 2. FRECUENCIA DE GENERO



Sobre la base de la morfología, de estos 113 casos, 111(98.2%) se clasificaron como LMA, 1(0.9%) fue clasificado como bilineal y 1 (0.9%) como LLA vs M0. Al realizar citometría de flujo 102 pacientes correspondieron a LMA (90.3%) y los restantes de los pacientes analizados, 10 correspondían a LLA (8.8%) y 1 (0.9%) a bilineal.

De los pacientes con LMA analizados las variedades más encontradas de leucemia mieloide aguda fueron la LMA M2 en 46 pacientes (40.7%), 25 (22.1%) LMA M3, que representan los casos más frecuentes de leucemias mieloides agudas en la población de estudio. Lo cual tiene relación con los resultados obtenidos por inmunofenotipo en los cuales 42 pacientes (37.2%) son LMA M2, 25 pacientes (22.1%) M3. Con presencia de más del 70% de blastos al diagnóstico en 41 pacientes(36.3%).

El análisis de morfología e inmunofenotipo se describe en la tabla 4 y 5.

El porcentaje de blastos al diagnóstico en la Tabla 6.

TABLA 4. DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	M0	4	3,5	3,5	3,5
	M1	14	12,4	12,4	15,9
	M2	46	40,7	40,7	56,6
	M3	25	22,1	22,1	78,8
	M4	14	12,4	12,4	91,2
	M5	5	4,4	4,4	95,6
	M6	2	1,8	1,8	97,3
	M7	1	,9	,9	98,2
	LLA	1	,9	,9	99,1
	BILINEAL	1	,9	,9	100,0
	Total	113	100,0	100,0	

TABLA 5. DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	M0	6	5,3	5,3	5,3
	M1	12	10,6	10,6	15,9
	M2	42	37,2	37,2	53,1
	M3	25	22,1	22,1	75,2
	M4	10	8,8	8,8	84,1
	M5	5	4,4	4,4	88,5
	M6	2	1,8	1,8	90,3
	LLA	10	8,8	8,8	99,1
	BILINEAL	1	,9	,9	100,0
	Total	113	100,0	100,0	

TABLA 6. PORCENTAJE DE BLASTOS AL DIAGNOSTICO

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	20-40 % BLASTOS	16	14,2	14,2	14,2
	41-70 % BLASTOS	31	27,4	27,4	41,6
	71-90% BLASTOS	41	36,3	36,3	77,9
	MAYOR A 90% BLASTOS	25	22,1	22,1	100,0
	Total	113	100,0	100,0	

De acuerdo con los resultados del estudio morfológico la edad de mayor incidencia se encontró entre los 45-60 años con 30 pacientes (26.5%), correspondiendo 16 a LMA M2, (53.3%) correspondieron a la variedad M2, sin diferencia significativa de acuerdo al sexo (51.3% hombres vs 48.7 % mujeres), similares resultados se encontraron en el estudio de inmunofenotipo con 30 pacientes (26.5%), 14 de ellos, LMA M2 (46.7%) correspondiendo 54.8% hombres vs 45.2% mujeres.El resto de los subtipos morfológicos e inmunológicos se presentan en las tablas.(TABLA 7 y 8)

En el análisis comparativo de los casos de acuerdo al método diagnóstico morfológico y por inmunofenotipo se encontró que de los casos de M0 diagnosticados por morfología (4 pacientes), al realizar el estudio de inmunofenotipo se confirmaron 2 de ellos, los otros 4 casos confirmados como LMA M0, habían sido diagnosticados como LMA M1, LMA M2, LLA y leucemia bifenotípica, con un total de 6 casos, con un índice de concordancia de 0.017, (*leve de acuerdo al índice Kappa 0.01-0.20*). Con respecto a M1, 14 pacientes fueron diagnosticados por estudio morfológico mientras que en el estudio de inmunofenotipo se confirmaron 12, sin embargo se encontró que de los 14 pacientes diagnosticados como LMA M1 por morfología, 7 fueron confirmados por inmunofenotipo, 5 de ellos correspondieron a LLA, 1 a LMA M0 y 1 a LMA M2; por otro lado 5 casos diagnosticados como LMA (4 M2 y 1 M4) correspondieron por inmunofenotipo a LMA M1, con una índice kappa de concordancia 0.061(*leve*)

Con morfología LMA M2 se diagnosticaron 46 pacientes, 42 de ellos se confirmaron por inmunofenotipo y los demás correspondieron a M0, M1, M4, LLA y Bilineal, que corresponde a 0.37 de índice kappa (*aceptable concordancia*). De los 14 casos diagnosticados como LMA M4 por morfología, por inmunofenotipo se confirmaron 5, y los demás entre M1 y LLA, por otro lado 5 casos que fueron diagnosticados como LMA (3 M2, 1 M3, 1 M5) por inmunofenotipo correspondieron a M4, con índice Kappa de 0.079 (*leve concordancia*).

La concordancia total entre ambos métodos diagnósticos fue de 0.67 de acuerdo con índice Kappa, que representa una *concordancia considerable* en relación con los métodos diagnósticos utilizados para el estudio. El análisis de estas variables se representa en las tablas 7, 8 y 9.

Tabla cruzada 7. FRECUENCIA DE EDAD Y DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB

			DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB										Total
			M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	LLA	BILINEAL	
FRECUENCIA DE EDAD	18-25 AÑOS	Recuento	1	5	9	2	3	1	0	0	0	0	21
		% dentro de FRECUENCIA DE EDAD	4,8%	23,8%	42,9%	9,5%	14,3%	4,8%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
		% dentro de DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB	25,0%	35,7%	19,6%	8,0%	21,4%	20,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	18,6%
	26-35 AÑOS	Recuento	2	3	7	9	1	2	0	0	0	0	24
		% dentro de FRECUENCIA DE EDAD	8,3%	12,5%	29,2%	37,5%	4,2%	8,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
		% dentro de DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB	50,0%	21,4%	15,2%	36,0%	7,1%	40,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	21,2%
	36-45 AÑOS	Recuento	0	2	8	4	1	1	2	0	0	0	18
		% dentro de FRECUENCIA DE EDAD	0,0%	11,1%	44,4%	22,2%	5,6%	5,6%	11,1%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
		% dentro de DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB	0,0%	14,3%	17,4%	16,0%	7,1%	20,0%	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	15,9%
	45-60 AÑOS	Recuento	0	1	16	8	3	1	0	1	0	0	30
		% dentro de FRECUENCIA DE EDAD	0,0%	3,3%	53,3%	26,7%	10,0%	3,3%	0,0%	3,3%	0,0%	0,0%	100,0%
		% dentro de DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB	0,0%	7,1%	34,8%	32,0%	21,4%	20,0%	0,0%	100,0%	0,0%	0,0%	26,5%
	MAS DE 60 AÑOS	Recuento	1	3	6	2	6	0	0	0	1	1	20
		% dentro de FRECUENCIA DE EDAD	5,0%	15,0%	30,0%	10,0%	30,0%	0,0%	0,0%	0,0%	5,0%	5,0%	100,0%
		% dentro de CUAL ES EL DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB?	25,0%	21,4%	13,0%	8,0%	42,9%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%	100,0%	17,7%
Total	Recuento	4	14	46	25	14	5	2	1	1	1	113	
	% dentro de FRECUENCIA DE EDAD	3,5%	12,4%	40,7%	22,1%	12,4%	4,4%	1,8%	0,9%	0,9%	0,9%	100,0%	
	% dentro de CUAL ES EL DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB?	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabla cruzada7.1. FRECUENCIA DE GENERO Y DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB

			DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB										
			M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	LLA	BILINEAL	Total
FRECUENCIA DE GENERO	HOMBRE	Recuento	2	5	29	13	5	1	1	0	1	1	58
		% dentro de FRECUENCIA DE GENERO	3,4%	8,6%	50,0%	22,4%	8,6%	1,7%	1,7%	0,0%	1,7%	1,7%	100,0%
		% dentro de DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB	50,0%	35,7%	63,0%	52,0%	35,7%	20,0%	50,0%	0,0%	100,0%	100,0%	51,3%
	MUJER	Recuento	2	9	17	12	9	4	1	1	0	0	55
		% dentro de FRECUENCIA DE GENERO	3,6%	16,4%	30,9%	21,8%	16,4%	7,3%	1,8%	1,8%	0,0%	0,0%	100,0%
		% dentro de DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB	50,0%	64,3%	37,0%	48,0%	64,3%	80,0%	50,0%	100,0%	0,0%	0,0%	48,7%
Total	Recuento		4	14	46	25	14	5	2	1	1	1	113
	% dentro de FRECUENCIA DE GENERO		3,5%	12,4%	40,7%	22,1%	12,4%	4,4%	1,8%	0,9%	0,9%	0,9%	100,0%
	% dentro de DIAGNOSTICO MORFOLOGICO POR FAB		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla cruzada 8 FRECUENCIA DE EDAD Y DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO

		DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO										Total
		M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	LLA	BILINEAL		
FRECUENCIA DE EDAD	18-25 AÑOS	Recuento	1	2	11	2	2	0	0	3	0	21
		% dentro de FRECUENCIA EDAD	4,8%	9,5%	52,4%	9,5%	9,5%	0,0%	0,0%	14,3%	0,0%	100,0%
		% dentro de DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO	16,7%	16,7%	26,2%	8,0%	20,0%	0,0%	0,0%	30,0%	0,0%	18,6%
	26-35 AÑOS	Recuento	0	2	6	8	1	2	0	5	0	24
		% dentro de FRECUENCIA EDAD	0,0%	8,3%	25,0%	33,3%	4,2%	8,3%	0,0%	20,8%	0,0%	100,0%
		% dentro de DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO	0,0%	16,7%	14,3%	32,0%	10,0%	40,0%	0,0%	50,0%	0,0%	21,2%
	36-45 AÑOS	Recuento	0	4	5	5	1	1	2	0	0	18
		% dentro de FRECUENCIA EDAD	0,0%	22,2%	27,8%	27,8%	5,6%	5,6%	11,1%	0,0%	0,0%	100,0%
		% dentro de DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO	0,0%	33,3%	11,9%	20,0%	10,0%	20,0%	100,0%	0,0%	0,0%	15,9%
	45-60 AÑOS	Recuento	1	2	14	8	3	1	0	1	0	30
		% dentro de FRECUENCIA EDAD	3,3%	6,7%	46,7%	26,7%	10,0%	3,3%	0,0%	3,3%	0,0%	100,0%
		% dentro de DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO	16,7%	16,7%	33,3%	32,0%	30,0%	20,0%	0,0%	10,0%	0,0%	26,5%
	MAS DE 60 AÑOS	Recuento	4	2	6	2	3	1	0	1	1	20
		% dentro de FRECUENCIA EDAD	20,0%	10,0%	30,0%	10,0%	15,0%	5,0%	0,0%	5,0%	5,0%	100,0%
		% dentro de DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO	66,7%	16,7%	14,3%	8,0%	30,0%	20,0%	0,0%	10,0%	100,0%	17,7%
Total	Recuento	6	12	42	25	10	5	2	10	1	113	
	% dentro de FRECUENCIA EDAD	5,3%	10,6%	37,2%	22,1%	8,8%	4,4%	1,8%	8,8%	0,9%	100,0%	
	% dentro de DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabla cruzada 8.1 FRECUENCIA DE GENERO Y DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO

			DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO									Total
			M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	LLA	BILINEAL	
FRECUENCIA DE GENERO	HOMBRE	Recuento	4	7	23	15	3	2	1	3	0	58
		% dentro de FRECUENCIA DE GENERO	6,9%	12,1%	39,7%	25,9%	5,2%	3,4%	1,7%	5,2%	0,0%	100,0%
		% dentro de DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO	66,7%	58,3%	54,8%	60,0%	30,0%	40,0%	50,0%	30,0%	0,0%	51,3%
	MUJER	Recuento	2	5	19	10	7	3	1	7	1	55
		% dentro de FRECUENCIA DE GENERO	3,6%	9,1%	34,5%	18,2%	12,7%	5,5%	1,8%	12,7%	1,8%	100,0%
		% dentro de DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO	33,3%	41,7%	45,2%	40,0%	70,0%	60,0%	50,0%	70,0%	100,0%	48,7%
Total	Recuento	6	12	42	25	10	5	2	10	1	113	
	% dentro de FRECUENCIA DE GENERO	5,3%	10,6%	37,2%	22,1%	8,8%	4,4%	1,8%	8,8%	0,9%	100,0%	
	% dentro de DIAGNOSTICO POR INMUNOFENOTIPO	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

TABLA 9. DIFERENCIAS EN DIAGNOSTICO MORFOLOGICO Y DE INMUNOFENOTIPO

MORFOLOGIA		INMUNOFENOTIPO							
M0	4	2 M0	2 LLA 4 M0						
	1 M1 1 M2 1 BILINEAL 1 LLA								
M1	14	7 M1	5 LLA	1 M2	1 M0				
	4 M2 1 M4	5 M1							
M2	46	32 M2	4 M1	3 M4	2 M3	2 LLA	1 M5	1 M0	1BILINNEAL
	7 M4 1 M1 1M3 1 M7	10 M2							
M3	25	23 M3	1 M2	1M4					
	2 M2	2 M3							
M4	14	5 M4	7M2	1M1	1LLA				
	3 M2 1 M3 1 M5	5 M4							
M5	5	4 M5	1 M4						
	1 M2	1 M5							
M6	2	2 M6							
M7	1	1M2							
BILINEAL	1	1 M0							

VIII. DISCUSION

Nuestro estudio realizado desde 2012 al 2017, en 113 pacientes con LMA muestra algunos datos que evidencian ciertas diferencias con respecto a literatura reportada.

La distribución por sexo es similar a lo que muestran otros investigadores, del total de la población en estudio, 48.7% fueron mujeres y el 51.3% hombres, similar a lo reportado en GLOBOCAN, 2018 (40)

En lo que respecta a la edad al momento del diagnóstico la mediana de edad encontrada fue de 43 años, el grupo de edad más frecuente entre 45-60 años, con 26.5%, seguido por el grupo de edades comprendidas entre 26 y 35 años con 21.2%, llamando poderosamente la atención que el menor porcentaje de casos totales de LMA correspondió a la edad mayor de 60 años con solo el 17.7%, mientras que 83% de los casos se presentó en menores de 60 años, lo cual difiere con lo reportado en un reciente estudio de National Comprehensive Cancer Network, NCCN, Marzo 2019, en donde la mediana de edad es después de los 60 años.(45).

En cuanto a la incidencia de los tipos de leucemia mieloide se encontró una mayor frecuencia de M2 tanto en diagnóstico morfológico como inmunofenotipo al igual que lo encontrado en la literatura internacional, (44), sin embargo en un estudio realizado en México en 2014 que involucró a 6 instituciones diferentes reportó como mas frecuentes las variantes LMA M3 y M4. (46)

Finalmente, de acuerdo con el índice de Kappa para valorar la concordancia entre los métodos diagnósticos utilizados en este estudio se pudo obtener de forma global una concordancia “*considerable*” (0.67) en cuanto a la correlación de diagnóstico morfológico y de inmunofenotipo, encontrando el 68% de concordancia entre ambos métodos para el diagnóstico de LMA, lo cual difiere con lo reportado en un estudio cubano, que documenta una alta correlación entre ambos métodos diagnósticos (2) sin embargo este estudio fue realizado en pacientes con diagnóstico de LLA, no se encontraron estudios que analizaran esta correlación diagnóstica en pacientes con diagnóstico de LMA.

En 32% de los casos no coinciden la morfología con los resultados obtenidos por citometría, la mayoría se encontró entre las formas más indiferenciadas de

LMA; M0, M1 y en los casos M4 vs M2; mostrando que la CMF es el método ideal para refinar el diagnóstico final de las leucemias sobre todo en las variedades descritas con mayor controversia diagnóstica por morfología. (2)

IX. CONCLUSIONES

El diagnóstico en LMA que de forma inicial sucedía únicamente basado en los hallazgos morfológicos para su clasificación definido por la FAB, y que era el método más utilizado en nuestro medio para definir el diagnóstico e inicio de terapia, ha tenido una evolución considerable en los últimos años, las técnicas de inmunofenotipo nos han permitido un mayor refinamiento y certeza en el diagnóstica de estas neoplasias, la inclusión de estudios citogenéticos y moleculares en la actualidad han modificado la forma de clasificar a la LMA , lo cual ha contribuido no solo a mejorar el diagnóstico sino también a definir el pronóstico y en un futuro que no se espera sea lejano, incluso el tratamiento diferenciado para una misma variedad morfológica de LMA la cual exprese marcadores moleculares que puedan ser usados como blancos terapéuticos y que modifiquen su respuesta a una terapia definida, actualmente el inmunofenotipo es un método fundamental para confirmar el diagnóstico morfológico, definir el estado de maduración celular y clasificar a las LMA en distintos subtipos inmunológicos de acuerdo a sus marcadores de superficie celular.

Existe una correlación considerable entre los métodos diagnósticos morfológico y de inmunofenotipo, con este estudio se puede demostrar que aunque la morfología continua siendo una método indispensable, el estudio de inmunofenotipo es fundamental sobre todo para identificar aquellos subtipos de difícil diagnóstico morfológico; este método sumado a las técnicas actuales, son las que nos permitirán establecer un diagnóstico certero que impacte así mismo en el pronóstico y por supuesto incluso en la definición del tratamiento de la Leucemia Mieloide Aguda.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Nolan JP, Condello DS. Spectral flow cytometry. *Curr Protoc Cytom.* 2013 Jan; Chapter 1: Unit 1.27. doi: 10.1002/0471142956.cy0127s63.
2. Suárez VM. Et al. Correlation between morphology and flow cytometry in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* vol.32 no.4, oct.-dic. 2016
3. Wohlfahrt AB et al. The importance of immunophenotyping by flow cytometry in distinction between hematogones and B lymphoblasts. *J Bras Patol Med Lab*, v. 51, n. 1, p. 7-12, February 2015. 10.5935/1676-2444.20150002
4. Kresno S. B. et al. Immunophenotyping in leukemia and its diagnostic significance. *Med J Indones* 2004; 13: 195-202
5. Francesco Mannelli. Immunophenotyping of Acute Leukemias – From Biology to Clinical Application. DOI: 10.5772/59733
6. Estey EH. Acute myeloid leukemia: 2013 update on risk-stratification and management. *Am J Hematol.* 2013 Apr; 88(4):318-27. doi: 10.1002/ajh.23404.
7. Kampen KR. The discovery and early understanding of Leukemia. *Leuk Res* 2012; 36:6-13
8. Dunnn PM. Dr Alfred Velpeau (1795–1867) of Tours: the umbilical cord and birth asphyxia *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2005; 90:184-186.
9. Cooper SL, Brown PA. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Clin North Am.* 2015; 62(1):61–73.
10. Beaumont M, et al. Therapy-related acute promyelocytic leukemia, *J Clin Oncol.* 2003 Jun 1; 21(11):2123-37.
11. Ruiz-Arguelles A, et al. Report on the second Latin American consensus conference for flow cytometric immunophenotyping of hematological malignancies. *Cytometry B Clin Cytom.* 2006; 70:39-44
12. Infante MS. et al. Molecular alterations in acute myeloid leukemia and their clinical and therapeutical implications. Thomson Reuters, *Journal Citation Reports*, 2017. DOI: 10.1016/j.medcli.2018.05.002
13. Perl AE. The role of targeted therapy in the management of patients with AML. *Blood Adv.* 2017 Nov 14; 1(24):2281-2294. doi: 10.1182/bloodadvances.2017009829
14. Heiko Konig et al. Signal transduction in Acute Myeloid Leukemia – Implications for Novel Therapeutic Concepts. *Current Cancer Drug Targets* Volume 15 , Issue 9 , 2015. DOI :10.2174/1568009615666150817104916

15. Maeda T. et al. Role of polyamines derived from arginine in differentiation and proliferation of human blood cells. *BiolPharm Bull.* 2006 Feb; 29(2):234-9
16. aharonRonson, ArierllaTvito, jacobRowe, Treatment of Relapsed/Refractory Acute
17. Lymphoblastic Leukemia in Adults, *Curr Oncol Rep* (2016) 18:39 DOI 10.1007/s11912-016-0519-8
18. Candelaria M, Luna-Ochoa E, Labardino-Méndez J, Herrera-Aguilar A, Gutiérrez-Hernández O, Serrano- Olvera A. Virus y neoplasmas hematológicos. *Cancero- logía* 2009;(4):217-225 36
19. Diamantis A, Magirokinis E, Androutsos G. Alfred Françoise Donné (1801-78): a pioneer of microscopy, microbiology and gvhaematology. *J MedBiog* 2009; 17:81-87.
20. Seufert W, Seufert WD. The recognition of leukemia as a systemic disease. *J HistMedAlliedSci* 1982; 37:34-50.
21. Geary CG. The history of chronic myeloid leukemia. *Br J Hematol* 2000; 110:2-11.
22. Mukherjee S. The emperor of all maladies. A biography of cancer. Scribner. New York 2010.
23. Steensma DP. The chronic myeloproliferative disorders: An historical perspective. *CurrHemaolRep* 2003; 2:221-230.
24. Li JJ. Cancer Drugs: from nitrogen mustard to Geevecen: Laughing gas, Viagra and liptor. The human stories behind the drugs we use. Oxford University press 2006:3-42.
25. Farber S, et al. Temporary remission in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteyl-glutamic acid (aminopterin). *N Eng J Med* 1948; 238:787-793.
26. Janghee Woo et al. Recent advancements of flow cytometry: new applications in hematology and oncology. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 14 1, 67–81 2014. 10.1586/14737159.2014.86215
27. Xueyan Chen et al. Acute Myeloid Leukemia Immunophenotyping by Flow Cytometric Analysis. *Clin LabMed* - (2017) -- <http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2017.07.003>
28. Candelaria M, et al. Virus y neoplasmas hematológicos. *Cancero- logía* 2009;(4):217-225
29. González-Salas WM, et al. Frecuencia de leucemias agudas en un hospital de referencia, *RevMedInst Mex Seguro Soc* 2012; 50 (2): 167-171

30. Beaumont M, et al. Therapy-related acute promyelocytic leukemia, *J Clin Oncol*. 2003 Jun 1;21(11):2123-37.
31. Martin Belson, et al. Risk Factors for Acute Leukemia in Children: A Review, *Environ Health Perspect*. 2007 Jan; 115(1): 138–145.
32. Hartmut Döhner et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017 Jan 26; 129(4): 424–447. doi:10.1182/blood-2016-08-733196
33. Duncavag E. J. et al. The utility of next-generation sequencing in diagnosis and monitoring of acute myeloid leukemia and myelodysplastic. *John Wiley & Sons Ltd, Int. Jnl. Lab. Hem.* 2015, 37 (Suppl. 1), 115–121
34. Ofrat Beyar. Novel approaches to acute myeloid leukemia immunotherapy. 2018, American Association for Cancer Research. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3016
35. Hawley, Teresa S. Flow Cytometry Protocols. *Methods in Molecular Biology*, vol. 699. Springer Science. DOI 10.1007 / 978-1-61737-950-5_1
36. Van Dongen J JM , et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes, *Leukemia* (2012) 26, 1908–1975; doi:10.1038/leu.2012.120
37. Hussaini OM, et al. Genetic Landscape of Acute Myeloid Leukemia Interrogated by Nextgeneration Sequencing: A Large Cancer Center Experience. *Cancer Genomics Proteomics*. 2018 Mar-Apr; 15 2: 121–126. doi:10.21873/cgp.20070
38. Meng-Ge Y. Acute Myeloid Leukemia: Advancements in Diagnosis and Treatment. *Chin Med J* 2017;130:211- 8. DOI: 10.4103/0366- 6999.19800
39. Vianed Marsán Suárez, et al, Correlation between morphology and flow cytometry in Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) *Revista Cubana de Hematología, Inmunol y Hemoter*. 2016
40. Bray F, et al, Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 68(6):394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492> PMID:30207593
41. Sushma Belurkar, Correlation of morphologic and cytochemical diagnosis with flow cytometric analysis in acute leukemia, *71 Journal of Cancer Research and Therapeutics* - January-March 2013
42. M. Mateo, et al, *But. Soc. Cat, Pediat.*, 39:333, 1979. Clasificaciones morfológicas de las leucemias agudas

43. J J M van Dongen et al, EuroFlow antibody panels for standardized *n*-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes, Leukemia. 2012 Sep
44. Kulsoom B, et al, Clinical presentation of acute myeloid leukaemia - A decade-long institutional follow-up. J Pak Med Assoc.2017
45. National Comprehensive Cancer Network, NCCN, Evidence Bloks, Versión 3.19
46. Leyto-Cruz F, Leucemiamieloide aguda. Rev Hematol Mex. 2018 ene

XI. ANEXOS

COEFICIENTE KAPPA

**Tabla 3. Valoración del coeficiente kappa
(Landis y Koch, 1977)⁴**

Coeficiente kappa	Fuerza de la concordancia
0,00	Pobre (<i>Poor</i>)
0,01 - 0,20	Leve (<i>Slight</i>)
0,21 - 0,40	Aceptable (<i>Fair</i>)
0,41 - 0,60	Moderada (<i>Moderate</i>)
0,61 - 0,80	Considerable (<i>Substantial</i>)
0,81 - 1,00	Casi perfecta (<i>Almost perfect</i>)