

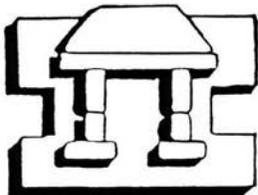


UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA

CORRELACION DEL ESTUDIO CITOGENETICO CON LAS
CARACTERISTICAS HEMATOLOGICAS EN PACIENTES CON
LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

T E S I S P R O F E S I O N A L
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
FLORIBEL AGUILAR MAYA



DIRECTOR DE TESIS: DR. JORGE CRUZ RICO

IZTACALA

LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA EDO. DE MEX.

SEPT. 2007.



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.

*Este trabajo se realizó en el Laboratorio
De Hematología del Hospital Juárez de
México, bajo la dirección del Dr. Jorge
Cruz Rico. Jefe del servicio.*

A mis padres: Faustino Aguilar Martínez y Eusebia Ma. Maya Hilario, por todo su amor, confianza y sabiduría depositada en mí, en todo momento para lograr mi formación profesional.

A mis hermanitos: Paty y Manolito por su comprensión, cariño y apoyo.

A mi sobrinito: Jorge Isaac para que esto le motive a seguir adelante con sus sueños.

Al Dr. Jorge Cruz Rico por su apoyo y confianza depositada en mí, para lograr la realización de esta tesis.

A Sergio Chazaro y Sergio Vaca, por creer en mí, y por brindarme todo su apoyo y confianza, para hacer posible este trabajo. Mil gracias

*Agradezco al Hospital Juárez de México,
y a la gente que me apoyo siempre y en todo
momento para la realización de este trabajo,
al Dr. Cañedo Dorantes por su apoyo y
confianza depositada en mi para la terminación
de este proyecto.*

*A mis sinodales: Martha Salcedo, a la
Biól. Julia Reyes Reali, a la QFB Gloria Paniagua
Y al Dr. Sergio Vaca por su comprensión y sus
valiosos consejos.*

*A todos mis amigos y compañeros de la Carrera
de Biología generación 96, por compartir
muchos momentos tan hermosos en esta
etapa de mi vida, les agradezco infinitamente
por todas las cosas que compartimos juntos,
por esos buenos y malos momentos, a todos los
profes, por su valiosa enseñanza, su amistad y
confianza, y sobre todo por soportarnos tanto.
Los recuerdo siempre y les deseo lo
mejor donde quiera que estén.*

ANTECEDENTES

IZT.

1.		
1,1,		
1,2,	ETIOLOGIA DE LA LMA	2
1,3,	FACTORES FISICOS	2
1,4,	FACTORES GENETICOS	2
2.	FACTORES QUÍMICOS	2
3.	FACTORES VIRALES	3
4.	EPIDEMIOLOGIA	3
4.1.	CLASIFICACION DE LA LMA	3
4.2.	ESTUDIO CITOGENETICO	5
4.3.	ALTERACIONES CROMOSOMICAS EN LA LMA	6
4.3.1.	ALTERACIONES ESTRUCTURALES	6
4.3.2.	ALTERACIONES CITOGENETICA QUE PREDOMINAN EN LA LMA	7
4.3.3.	LA t(8;21) ASOCIADA AL TIPO M2	7
4.3.4.	LA t(15;17) ASOCIADA A LA LPA	8
4.3.5.	LA t(11;17) EN LA LPA	9
4.3.6.	LA inv(16) EN EL TIPO M4	9
4.3.7.	ALTERACIONES EN EL CROMOSOMA 11q23	9
4.3.8.	LA t(8;16) Y LA ERITROFAGOCITOSIS	10
4.4.	LA t(6;9) ASOCIADA A LA BASOFILIA	11
4.5.	REARREGLOS EN 3q	11
	ALTERACIONES NUMERICAS EN LA LMA	13
4.5.1.	OTROS REARREGLOS ESTRUCTURALES QUE SE PRESENTAN EN LA LMA	14
5.	PERDIDA DE LOS CROMOSOMAS SEXUALES	14
7.	LA LMA COMO ENFERMEDAD SECUNDARIA	16
7.1.	INMUNOFENOTIPO EN LA LMA	17
7.2.	ESQUEMA DE TRATAMIENTO EN LA LMA	17
7.3.	INDUCCION A LA REMISION	18
8.	CONSOLIDACIÓN	19
	PROFILAXIS AL SNC	19

<i>CAPITULO III</i>	<i>FACTORES PRONOSTICOS EN LA LMA</i>	20
<i>CAPITULO IV</i>	<i>MATERIA Y METODOS</i>	23
<i>CAPITULO V</i>	<i>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</i> <i>CONCLUSIONES</i>	27
<i>CAPITULO VII</i>	<i>GLOSARIO</i>	37 38
	<i>LITERATURA</i>	44

ABREVIATURAS

<i>ADN</i>	<i>Acido Desoxirribonucleico</i>
<i>ARN</i>	<i>Acido Ribonucleico</i>
<i>FAB</i>	<i>Franco-Americano-Británico</i>
<i>LMA</i>	<i>Leucemia Mielóide Aguda</i>
<i>M0</i>	<i>Leucemia Mieloblástica Indiferenciada</i>
<i>M1</i>	<i>Leucemia Mieloblástica Inmadura</i>
<i>M2</i>	<i>Leucemia Mieloblástica con maduración</i>
<i>M3</i>	<i>Leucemia Promielocítica Aguda</i>
<i>M4</i>	<i>Leucemia Mielo-monocítica Aguda</i>
<i>M5</i>	<i>Leucemia Monocítica Aguda</i>
<i>M6</i>	<i>Eritroleucemia</i>
<i>M7</i>	<i>Megacariocítica</i>
<i>ERM</i>	<i>Enfermedad residual mínima</i>
<i>IR</i>	<i>Inducción a la remisión</i>
<i>RC</i>	<i>Remisión completa</i>
<i>WBC</i>	<i>cuenta total de leucocitos</i>
<i>Hb</i>	<i>Hemoglobina</i>
<i>Plat</i>	<i>Plaquetas</i>
<i>PHA</i>	<i>Fitohemaglutinina</i>
<i>Pfi+</i>	<i>Cromosoma Filadelfia</i>

CAPITULO I.

INTRODUCCION

Las leucemias se caracterizan por la proliferación incontrolada de una clona de células inmaduras derivadas del tejido hematopoyético, que proliferan inicialmente en la médula ósea, se diseminan en la sangre y pueden infiltrar órganos y tejidos. (Perkins, 1990; McKenzie, 1991; Scheinberg, 1994).

Esta enfermedad se divide en agudas y crónicas dependiendo del grado de diferenciación de las células neoplásicas; cuando corresponde a una célula madura se clasifica dentro de las leucemias crónicas y si la célula predominante es un blasto se incluye dentro de las agudas (McKenzie, 1991). De acuerdo con la estirpe involucrada las leucemias agudas se dividen en linfoides y mieloides, las formas reconocidas son: Leucemia Linfóide Aguda (LLA) y Leucemia Mieloide Aguda (LMA), en el primer caso involucra los precursores de los linfocitos, mientras que la línea mielóide incluye los precursores de los monocitos, granulocitos y megacariocitos. (Perkins, 1990; Holmer, 1990). En este trabajo se estudiaron pacientes con LMA.

La LMA se caracteriza por la proliferación incontrolada de las células precursoras de la línea mielóide, en cualquier etapa de diferenciación. El crecimiento incontrolado de las células leucémicas en la médula ósea suprimen rápidamente los precursores normales de la hematopoyésis; debido a ello los pacientes presentan un cuadro clínico muy variado que incluye anemia, hemorragias, infecciones e infiltraciones características de la enfermedad (Scheinberg, 1994).

Las células leucémicas de los pacientes que cursan con LMA presentan alteraciones citogenéticas en el 75% de los casos. El estudio citogenético en este tipo de padecimientos contribuye a establecer el diagnóstico, pronóstico, tratamiento y monitoreo de la enfermedad residual mínima (ERM) por un largo período.

El propósito de esta tesis, es reportar los hallazgos citogenéticos al diagnóstico y correlacionarlos con las características hematológicas de los pacientes que acudieron al servicio de Hematología del Hospital Juárez de México.

De esta manera contribuir al establecimiento de una mejor caracterización de la LMA en nuestro país, porque forman parte de un problema de morbi-mortalidad de origen multifactorial del cual no existe mucha información al respecto.

CAPÍTULO II.

ANTECEDENTES

ETIOLOGIA DE LA LMA

Las causas para desarrollar la LMA aún no son bien conocidas, se piensa que se debe a varios factores: genéticos, físicos, químicos y biológicos que incrementan la susceptibilidad del individuo a desarrollar la enfermedad (Díaz, 1994).

1.1. FACTORES FISICOS

Se cree que las radiaciones ionizantes utilizadas para el tratamiento de los pacientes que cursan con neoplasias hematológicas (Linfoma Hodgkin, Linfoma no Hodgkin, Leucemia Linfocítica Crónica) tumores sólidos o enfermedades no neoplásicas incrementan el riesgo a desarrollar LMA tiempo después de haber recibido la radioterapia. Se desconoce el mecanismo de acción de las radiaciones ionzantes sobre las células hematopoyéticas y la transformación neoplásica, se sabe que pueden ocasionar alteraciones cromosómicas estructurales (deleciones, translocaciones, cromosomas en anillo dicéntricos o fragmentos acéntricos) y marcadores cromosómicos adicionales (Díaz, 1994; Clare, 1994)

1.2. FACTORES GENETICOS

Se registra una mayor incidencia al desarrollo de la LMA en personas con aneuploidías cromosómicas o con hiperfragilidad cromosómica, en el síndrome de Down la probabilidad de sufrir una LMA es 10 a 15 veces mayor que en la población general, los pacientes con síndrome de Bloom tienen un 50% de riesgo a desarrollar la neoplasia. Otros documentados son: la anemia de Fanconi (Rozman, 1994).

1.3. FACTORES QUIMICOS

Existen reportes que refieren al tolueno y benceno como agentes químicos causantes de la leucemia aguda, numerosos estudios en trabajadores expuestos a estas sustancias indican un incremento en el desarrollo de la eritroleucemia principalmente (Rosentstock, 1982; Díaz, 1994; Boyer, 1997).

Se estima que el riesgo de desarrollar cáncer por la exposición al benceno es del 1-3.8% esta proporción puede variar, desde la exposición al benceno hasta el desarrollo de la enfermedad, debido a que el benceno constituye uno de los muchos factores de

predisposición al cáncer, existen muchos otros que al estar asociados incrementan gradualmente el riesgo a desarrollar la neoplasia (Rosentstock, 1982).

Muchos estudios indican que la exposición al benceno puede ocasionar anemia aplásica o síndromes mielodisplásicos, también se reporta desde hace dos décadas que el benceno ocasiona severas pancitopenias que producen anemia, trombocitopenia y disminución en la cuenta de leucocitos (Rosenstock, 1982; Smith, 1998).

Desafortunadamente cada día aumenta el número de trabajadores que son expuestos al benceno por su uso en la síntesis de numerosos compuestos de la Industria (Smith, 1998).

1.4. FACTORES VIRALES

De los virus de ARN, solo los retrovirus están asociados como posibles agentes causales de la leucemia, los retrovirus se diferencian de otros virus animales porque son los únicos cuyo genoma asume ambas formas químicas posibles del ARN y ADN. Los genes de los retrovirus se incorporan al genoma del huésped. La síntesis de ADN es dirigida por ARN y realizada por la enzima transcriptasa reversa. Sobrevienen unidos el material genético de la célula huésped y pueden ser transmitidos de una generación a otra y de esta manera se conservan evolutivamente (Díaz, 1994; Marshall, y col. 1995).

Una prueba contundente es la que proviene del papel leucemogénico del HTLV-I (Virus de la leucemia de células T/Linfoma) (McKenzie, 1991).

2. EPIDEMIOLOGÍA

En México las leucemias agudas se encuentran dentro de las primeras cinco causas de mortalidad dentro de las neoplasias malignas. La incidencia al desarrollo de la leucemia aguda es de 6 por cada 100 000 habitantes por año. La LMA se presenta preferentemente en personas de edad adulta, casi en el 80% de los casos, el riesgo de presentar esta enfermedad aumenta después de los 50 años (Heim, 1987; Perkins, 1990; De la Fuente, 1994).

3. CLASIFICACION DE LA LMA

La clasificación más ampliamente utilizada para las leucemias agudas es la que estableció el grupo Franco-Americano-Británico (FAB), el desarrollo de esta clasificación (1976) fue estimulada por la necesidad de un esquema que unificara los criterios morfológicos y sirviera para correlacionarlos con el pronóstico de la enfermedad (Ruíz-Argüelles, 1996).

De esta manera el grupo FAB establece 8 tipos para la LMA (M_0 a M_7) que va de la menos diferenciada a la más diferenciada (Ruiz-Argüelles, 1996).

Los criterios morfológicos considerados para la clasificación de la LMA son: condensación de la cromatina, presencia de nucleolos, proporción núcleo-citoplasma, tamaño de la célula (que va de 12-20 micras de diámetro), y la presencia de los bastoncillos de Auer, los cuales solo están presentes en los mieloides (Ruiz-Argüelles, 1996). El estudio morfológico se complementa con pruebas a diferentes tinciones citoquímicas, descritas en la Tabla 1.

Tabla 1. REACTIVIDAD CON TINCIONES ESPECIALES DE LOS DIFERENTES TIPOS DE LA LMA.

TIPO	Peroxidasa	Estereasa	Ac. Peryódico
M_0	-	-	-
M_1	+/-	+/-	-
M_2	+++	+/-	+
M_3	+++	+	+
M_4	++	+++	++/+
M_5	+/-	+++	++/+
M_6	-	-	++
M_7	-	+/-	+

Tomado de Scheinberg, 1994.

Las características más sobresalientes de cada uno de los tipos de la LMA se describen a continuación:

Leucemia mieloblastica indiferenciada (M_0). Corresponde a un tipo de leucemia sin diferenciación, los blastos son de tamaño pequeño o mediano, sin granulación citoplasmática y pocos de ellos son vacuolados (Ruiz-Argüelles, 1996).

Leucemia mieloblástica inmadura (M_1). En este tipo los blastos que se presentan son mielocitos que contienen gránulos azurófilos y cuerpos de Auer, este tipo se presenta en el 3% de los casos aproximadamente (Ruiz-Argüelles, 1996).

Leucemia mieloblástica con maduración (M_2), en este tipo los blastos que se presentan, son mielocitos, con cierto grado de maduración, que contienen abundante granulación azurófila, numerosos cuerpos de Auer, en forma de bastoncillos alargados. La incidencia es cercana al 20% (Ruiz-Argüelles, 1996; Boyer, 1997).

Leucemia promielocítica aguda (LPA M_3), en este tipo se caracteriza por presentar más del 50% de blastos, correspondientes a promielocitos inmaduros, con gránulos azurófilos y abundantes cuerpos de Auer. Dentro de este tipo se presentan dos variantes: la variante

hipergranular, donde los promielocitos inmaduros, tienen gránulos alargados, y la variante microgranular, aquí los núcleos son plegados, reniformes o bilobulados. Este tipo se reporta con una frecuencia del 20% aproximadamente (Bitter y col. 1987).

Leucemia mielo-monocítica aguda (M_4) en este tipo, se presentan promielocitos y monocitos inmaduros, como mínimo en un 20% de cada línea. Cuando se presenta una gran cantidad, de eosinófilos inmaduros se refiere al tipo M_{4EO} , que aparece en el 25-30% de los casos aproximadamente (Clare, 1996; Boyer, 1997).

Leucemia monocítica, se divide en: indiferenciada (M_{5a}) y diferenciada, (M_{5b}). En el primer caso, se presentan monocitos inmaduros en un 80%, los cuales tienen moderada cantidad de citoplasma; los núcleos presentan cromatina gruesa, en el segundo, existen monocitos maduros en un 20%, los cuales se caracterizan por tener abundante citoplasma, numerosos gránulos azurófilos, la cromatina se encuentra dispersa. Su incidencia es cercana al 10% de los casos (Heim, 1987; Boyer, 1997).

Eritroleucemia (M_6), la cual se caracteriza por presentar eritroblastos en un 50%, son generalmente grandes con cambios diseritropoyéticos, este tipo, se reporta en muy baja frecuencia; alrededor del 6% (Ruíz-Argüelles, 1996).

Megacariocítica (M_7) Este tipo presenta megacariocitos inmaduros, se identifica mediante la reactividad de las plaquetas a la peroxidasa, la frecuencia con la que se reporta, es del 1-3% aproximadamente (Pérez, 1995; Boyer, 1997).

4. ESTUDIO CITOGENÉTICO

A principios de siglo, Boveri postuló su teoría sobre el origen cromosómico del cáncer, en donde explicaba que las alteraciones citogenéticas son causadas por la proliferación maligna de las células. Posteriormente con los avances en la citogenética fue posible demostrar alteraciones cromosómicas, la primer alteración que se demostró fue el cromosoma Filadelfia (Ph^+) en la Leucemia Granulocítica Crónica (LGC) (Díaz, 1994).

Mediante la introducción de las técnicas de bandeo ha sido posible demostrar alteraciones citogenéticas de manera específica que se asocian con el desarrollo de los diferentes tipos de la leucemia.

El estudio citogenético constituye una parte importante en la evaluación de las enfermedades hematológicas, porque proporciona información sobre el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad. Por medio de éste, se puede conocer el número de líneas celulares anormales (Clare, 1994; Díaz, 1994; Arana-Trejo, y col, 1997; Grimwade, y col. 1998)

Este tipo de estudio apoya la elección del mejor esquema de tratamiento. Al término de la quimioterapia, es muy importante el análisis citogenético para determinar la enfermedad residual mínima (ERM) debido a que el tratamiento no logra erradicar completamente las células anormales, las que permanecen, vuelven a proliferar, ocasionando en el paciente una o varias recaídas (Ruíz-Argüelles, 1996; Arksteijn, 1996).

En el trasplante de médula ósea, el estudio citogenético es una alternativa para el control de la enfermedad. Estos pacientes deben someterse a un análisis citogenético para determinar si la médula está siendo repoblada por las células normales, en caso contrario, prever una posible recaída (Clare, 1994; Ruiz-Argüelles, 1996; Grimwade, y col. 1998).

4.1. ALTERACIONES CROMOSOMICAS EN LA LMA

En la LMA, la identificación de alteraciones citogenéticas es muy importante porque permite una correlación con el curso clínico de la enfermedad y la respuesta al tratamiento. Se reporta que los pacientes con cariotipo normal presentan un porcentaje elevado de remisión completa, comparados con los que presentan metafases anormales. Los pacientes que presentan una clona normal y otra anormal presentan un pronóstico intermedio (Arana-Trejo, y col. 1997).

Los estudios citogenéticos demuestran que las alteraciones citogenéticas se observan en el 75% de pacientes que cursan con LMA, estas alteraciones se presentan en las células leucémicas; se reconoce que en el 55% de los casos con LMA, los rearrreglos cromosómicos encontrados aparecen como alteración de tipo primario, es decir que dan lugar a la enfermedad, mientras que las alteraciones de tipo secundario aparecen durante la evolución de la enfermedad. En el 45% de los pacientes las alteraciones primarias se acompañan de uno o más cambios secundarios (Díaz, 1994; Arana-Trejo, y col. 1997).

Las alteraciones citogenéticas, aparecen durante el inicio de la enfermedad, se presentan de dos tipos: estructurales o numéricas.

4.2. ALTERACIONES ESTRUCTURALES

Las alteraciones estructurales son los cambios que se producen en la forma del cromosoma, en ellos, ocurren puntos de rompimiento, en los que participan uno o más cromosomas, formando nuevos arreglos, en ellos puede o no haber pérdida de material cromosómico (Heim, 1987; Díaz, 1994).

Se ha determinado que existen genes en los puntos de rompimiento que se ven afectados en su estructura y función, dando lugar al desarrollo de la leucemogénesis, como es el caso de

la fusión de los genes de la Leucemia Promielocítica (*PML*) localizado en el cromosoma 15 y el gen receptor del ácido retinoico (*RAR α*) en el cromosoma 17, al ocurrir la alteración recíproca se forma la fusión: *RAR α /PML*, donde se genera una proteína quimérica que impide la maduración de los promielocitos en la leucemia promielocítica aguda (*LPA*) (Collins, 1998; Grimwade, y col. 1998).

4.3. ALTERACIONES CITOGENÉTICAS QUE PREDOMINAN EN LA LMA.

4.3.1. La *t(8;21)* asociada al tipo *M₂*.

La *t(8;21)(q22;q22)* se reporta preferentemente para el tipo *M₂* en el 40% de los casos, pocos pacientes se diagnostican como *M₁* y *M₄*, esta alteración se presenta con mayor frecuencia en los pacientes menores de 35 años de edad, la cual se observa preferentemente en niños y en pacientes del sexo masculino (Hagemeyer, y col. 1998)

En los pacientes menores de 35 años la presencia de la *t(8;21)* es de buen pronóstico, los pacientes que responden bien al tratamiento alcanzan la remisión completa hasta en el 90% y obtienen una supervivencia prolongada libre de enfermedad, sin embargo en adultos mayores de 60 años, que presentan la *t(8;21)* frecuentemente recaen y tienen una supervivencia de 2 a 5 años (figura 1).

Los genes involucrados en la *t(8;21)* son el *AML1* localizado en 21q22 y *ETO* en 8q22, el gen *AML1* puede rearrreglarse con diversos genes que participan en la diferenciación de las células hematopoyéticas.

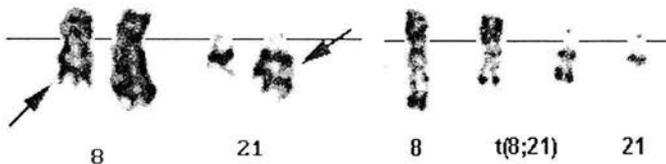


FIGURA 1. *t(8;21)*

4.3.2. La $t(15;17)$ asociada a la LPA

La $t(15;17)$ se encuentra específicamente en la LPA, la cual se observa en el 70-80% de los casos, se considera de buen pronóstico, los pacientes con LPA responden al tratamiento con un derivado de la vitamina A (ácido-holo-trans retinoico) (ATRA) la cual induce la remisión completa en el 80% de los casos. (figura 3) (Collins, 1998; Grimwade, y col. 1998).

Los puntos de rompimiento se encuentran mapeados, en el cromosoma 15 q22 se localiza el gen de la leucemia promielocítica (PML) y en el cromosoma 17q11-21 se localiza el gen receptor del ácido-holo-trans-retinoico (RAR α) (figura 2) (Lafage-Pochitaloff, y col. 1995).

La $t(15;17)$ es una translocación de tipo balanceada que permite la formación de dos genes quiméricos: PML/RAR α y RAR α /PML (Grignani, y col. 1994; Lavua, 1994)

Últimamente se ha reportado que algunos pacientes que cursan con LPA, obtienen un cariotipo normal, debido a que solo se encuentran dividiendo las células normales o por que; en esos pacientes se presente una delección submicroscópica del gen RAR α al gen PML; la cual no puede ser observada por la técnica de citogenética estándar, sin embargo con la ayuda de técnicas moleculares ha sido posible determinar la fusión del gen PML/RAR α en el 100% de los casos (Lafage-Pochitaloff, y col. 1995)

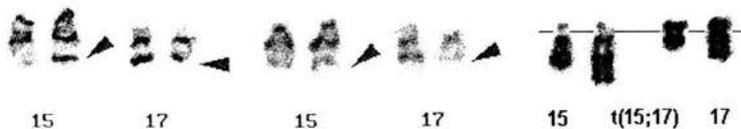


FIGURA 2. $t(15,17)$

4.3.3. La $t(11;17)$ en la $LP\mathcal{A}$

La $t(11;17)$ es una variante de la $t(15;17)$ la cual se presenta en el tipo $M3$ en casos muy raros, el punto de rompimiento en el cromosoma 17 se encuentra afectando el gen $RAR\alpha$ y en el cromosoma 11 se localiza el gen de los dedos de zinc $PLZF$ el cual tiene una función semejante al gen PML (Grignani, y col. 1994; Clare, 1994; Collins, 1998).

4.3.4. La $inv(16)$ en el tipo $M4$

IZT.

Las alteraciones en cromosoma 16, se presentan en el tipo M_4 la $inv16(p13q22)$, y en menor frecuencia la $t(16;16)$ y $16(q-)$ (Figura 3). En muchos pacientes, que tienen estas características, suelen cursar con eosinofilia, los eosinófilos inmaduros llegan a circular en la sangre en gran cantidad (Frenaux y col. 1989; Clare, 1994).

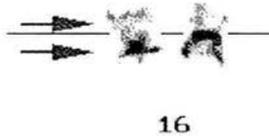


FIGURA 3. $Inv 16$.

4.3.5. Alteraciones en el cromosoma 11q23

Las alteraciones de este cromosoma se presentan del 5-10% de todos los casos con $LM\mathcal{A}$, esta alteración se puede presentar en cualquier tipo de la $LM\mathcal{A}$ se presenta en pacientes con enfermedad *De novo*, e incluso en aquellos que cursan con enfermedades mieloproliferativas (Schnittger, y col. 2000).

Se ha observado que la región 11q23 puede sufrir rearrreglos con diversos cromosomas, los más comunes son: 1, 6, 9, 10, 17, y 19 como se muestra en la figura 4. Los reportes que existen para los diferentes tipos de la $LM\mathcal{A}$ son: para el tipo M_{5a} se reporta la alteración en el 50% de los casos, en el tipo M_4 se observa en el 20%, en el tipo M_1 o M_{5b} en el 10% y en M_2 se reporta en el 5% de los casos. Clínicamente los pacientes que cursan con este tipo de alteración presentan un pronóstico adverso y pueden esperar una supervivencia muy corta. Se ha observado que las alteraciones que ocurren en la región 11q23 se relacionan con el proceso de la leucemogénesis. Últimamente se han empleado técnicas de biología molecular que permiten detectar este tipo de alteración en aproximadamente el 50% los pacientes que

obtienen cariotipo normal, lo cual es de gran utilidad en el manejo de este tipo de pacientes (Schmittger, y col. 2000).

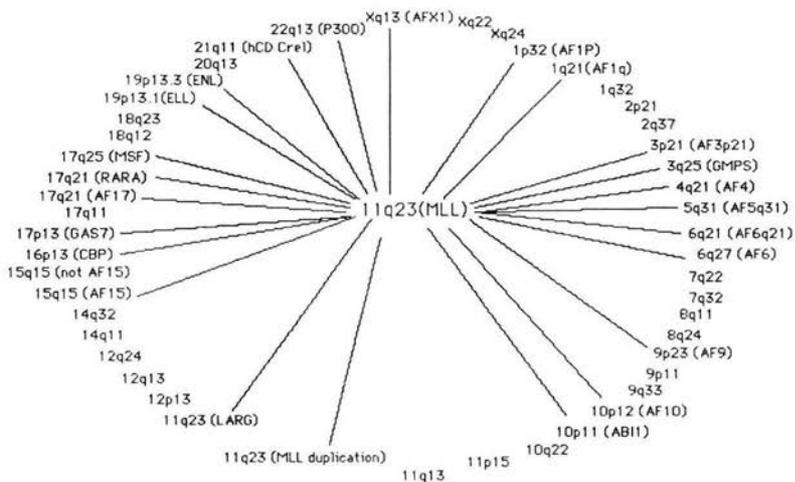


FIGURA 4. alteración 11q23 y sus posibles rearrreglos.

La $t(9;11)$ Esta alteración se presenta en el tipo M_4 o M_5 , en el 25% de los pacientes con M_{5a} , esta alteración se reporta para pacientes de cualquier edad, es considerada de buen pronóstico si se presenta como alteración única (Albain, 1990; Rowley, 1993; Rozman, 1994).

4.3.6. La $t(8;16)$ y la eritrofagocitosis

La $t(8;16)(p11;p13)$ se ha observado en el tipo M_4 y/o M_5 preferentemente, aunque hay reportes que indican que esta alteración se puede encontrar en cualquier otro tipo de la LMA y se asocia con eritrofagocitosis (Coulthard, y col. 1998), se considera de mal pronóstico.

Se ha observado que el punto de rompimiento 8p11 puede sufrir rearrreglos con diversos cromosomas: 2, 3, 6, 11, 14, 17, 19 y 22, también se han reportado la $inv(8)(p11;q13)$ en el tipo M_4 y M_5 (Coulthard, y col. 1998).

4.3.7. La t(6;9) asociada con la basofilia.

La t(6;9) esta alteración se observó en 1983 asociándose a la LMA como una alteración de tipo primario; posteriormente se observó que en 8 de cada 9 pacientes que cursaban con esta alteración presentaban un incremento de basófilos en la médula ósea (figura 5) (Lillington, 1993).

La t(6;9) puede aparecer en cualquier tipo de la LMA aunque se encuentra con mayor frecuencia en el tipo M₂ y con menor frecuencia en el tipo M₄, los pacientes generalmente son de edad joven, cuentan con una edad promedio de 28 años aproximadamente. Se ha observado que los pacientes que presentan esta alteración cursan con una fase mielodisplásica antes de desarrollar una LMA (Heim, 1987; Lillington, 1993)

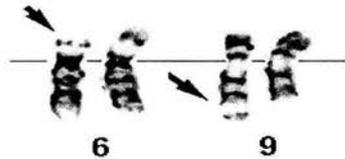


FIGURA 5. t(6;9)

Existen otras alteraciones cromosómicas en la LMA que también han sido asociadas a la basofilia, tal es el caso de las alteraciones que involucran al cromosoma 12(q-) (Díaz, 1994)

4.3.8. Rearreglos en 3q

La t(3;21) ha sido observada en este tipo, se presenta con baja frecuencia, esta alteración puede aparecer preferentemente en pacientes que han recibido radioterapia (figura 6) (Nuciflora, 1995).

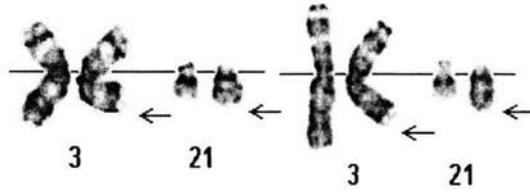


FIGURA 6. $t(3;21)$

Las alteraciones de la región 3q26 que se observan con mayor frecuencia son la $inv\ 3(q21;q26)$ y la $t(3;3)(q21;q26)$ estas alteraciones se pueden encontrar en los diferentes tipos de la LMA; su pronóstico se clasifica como intermedio, esta alteración se ha observado en pacientes que cursan con M_7 . Se cree que en la región 3q26 se localizan diversos genes que participan en la maduración y diferenciación de los megacariocitos (Nuciflora, 1995).

La $inv\ 3(q21;q26)$ se ha observado en pacientes que cursan con SMD. Así como también la $t(1;3)(p26;q21)$ (figura 7), la cual es una variante de las alteraciones antes mencionadas y se observa en pacientes que cursan con SMD (Heim, 1987; Grimwade, 1998).

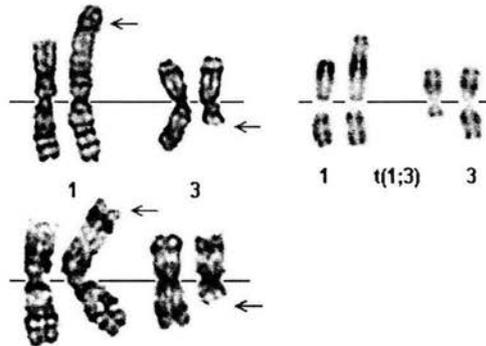


FIGURA 7 $t(1;3)$

4.4 ALTERACIONES NUMÉRICAS EN LA LMA

En la evaluación citogenética la pérdida o ganancia de cromosomas completos es frecuente en la LMA se pueden encontrar como anomalía única al momento del diagnóstico o en estados posteriores de la enfermedad, los mecanismos por los cuales estas alteraciones contribuyen a la evolución de la enfermedad no se encuentran bien determinadas. Las alteraciones numéricas se dividen en:

Aneuploidías, que involucra la ganancia (hiperdiploidía) o pérdida (hipodiploidía) de material cromosómico. Los cromosomas usualmente involucrados en este padecimiento son el: +4, -5, -7, +8, +21, la pérdida o alteraciones en los cromosomas sexuales. Estas alteraciones se presentan aproximadamente en el 54% de los casos (Heim, 1987; Arksteijn, 1996).

Otras alteraciones de tipo numérico son las euploidias, las cuales se refieren a la duplicación del número cromosómico y podemos encontrar células con 69 y 92 cromosomas, estas alteraciones se reportan en menos de 10% de los casos y se han observado preferentemente en las leucemias secundarias (Heim, 1987; Díaz, 1994).

La alteración numérica más frecuentemente observada en la LMA es la trisomía 8, esta alteración es específica de los desórdenes mieloides, se presenta en el 5-6% de todas las alteraciones que se presentan en la LMA. La trisomía 8 no se encuentra asociada específicamente con algún tipo de leucemia, debido a la baja frecuencia con que se reporta esta alteración no se ha establecido su valor pronóstico. Diversos estudios reportan esta alteración preferentemente en pacientes de edad pediátrica, y lo considera de buen pronóstico (Perkins y col. 1997), mientras que en otros estudios en los cuales incluyen pacientes de edad adulta consideran esta alteración con pronóstico intermedio (Schoch, y col. 1997).

Se ha reportado que la exposición a agentes carcinógenos tales como el benceno, incrementan la posibilidad de que se presente la trisomía 8 u ocurra rearrreglos en este cromosoma, el rearrreglo que se reporta con mayor frecuencia es la t(8;21) principalmente (Smith, 1998).

La monosomía del cromosoma 7 se reporta en el 4% de los casos, como alteración única, la cual se observa en pacientes que provienen de una LGC también es posible observar esta alteración en pacientes expuestos a agentes carcinogénicos (Luna-Fineman, y col. 1999). Los pacientes que cursan con esta alteración pueden presentar complicaciones infecciosas y el pronóstico de esta alteración se considera como adverso (Heim, 1987).

La trisomía 21 se presenta en los subtipos M_1 , M_2 y M_7 , esta alteración se presenta preferentemente en pacientes de edad pediátrica (Fineman, y col. 1997)

La trisomía del cromosoma 4 ha sido reportada como un cambio de tipo primario asociándose al subtipo M_1 , M_2 y M_4 principalmente, esta alteración también puede aparecer como un evento secundario. Se ha observado asociada con la $t(8;21)$, hasta la fecha no se ha descrito su valor pronóstico (Heim, 1987)

4.5 OTROS REARREGLOS ESTRUCTURALES QUE SE PRESENTAN EN LA LMA

Se ha observado una gran cantidad de alteraciones en la LMA que no son frecuentes ni específicos. Los casos reportados al respecto no son suficientes para caracterizarlos clínica y biológicamente, por lo tanto no se encuentran bien definidos.

Algunas de estas alteraciones aparecen durante la evolución de la enfermedad y se les conoce como alteraciones secundarias las cuales se reportan en el 45% de los casos (Arana-Trejo, y col. 1997). Las alteraciones secundarias se observan con mayor frecuencia durante la recaída o en la progresión de la enfermedad acompañando al cambio primario. Debido a estos hallazgos se da por supuesto que los cambios secundarios influyen en el desarrollo del proceso patológico, por una parte se observa que permite un acelerado crecimiento de la población de las células leucémicas, lo cual se refleja en la presencia de un cuadro clínico, muy severo.

Los cromosomas que se observan con mayor frecuencia son: 1, 7, 8, 9, 21 X e Y. La presencia de estos cromosomas parece estar relacionada con los cambios primarios y con los diferentes tipos de la LMA.

4.5.1. Pérdida de los cromosomas sexuales

En los pacientes con LMA y la $t(8;21)$, la pérdida del cromosoma Y ocurre en el 61% de los casos, este hallazgo está altamente relacionado con la edad, y se observa frecuentemente en la recaída y desaparece en la remisión (Heim, 1987). La pérdida del cromosoma X ocurre en el 41% de los pacientes del sexo femenino que cursan con la $t(8;21)$ y M_2 ; la pérdida del cromosoma sexual no está relacionada a etapas tempranas de la enfermedad. Debido a ello, el pronóstico no se encuentra bien definido para estos casos, la edad podría influir en el pronóstico de los pacientes, siendo menos favorable en aquellos que cuentan con una edad superior a 60 años (UKCCG, 1992).

Se ha reportado que en el cromosoma Y existe un gen que codifica para una proteína encargada de la maduración de las células mieloides.

Alteraciones en el cromosoma 9(q-)

La del 9(q-) se presenta en el 5-6% de las neoplasias, recientemente se ha observado en la LMA, principalmente en el tipo M₂, como alteración de tipo primario, aunque se ha reportado también como un evento de tipo secundario, la cual se considera con pronóstico intermedio. Los puntos de rompimiento reportados van de q11 hasta q33; se piensa que puedan existir en esta región genes involucrados en la transformación o progresión de la leucemia.

En los pacientes que cursan con esta alteración se observan anomalías en la serie eritroide y megacariocítica (Hoyle, y col. 1987).

La ganancia del cromosoma 8. Cuando la t(8) se encuentra acompañando a las alteraciones consideradas de bajo riesgo: t(15;17), t(8;21) e inv(16) su pronóstico es favorable, sin embargo si esta alteración se asocia con las alteraciones consideradas de mal pronóstico el resultado se mantiene (Schoch, y col. 1997; Grimwade y col. 1998; Langabeer y col. 1998).

El cromosoma Filadelfia (Ph⁺) o t(9;22)(q34;q11) es una alteración que se da como resultado de la fusión de los genes BCR/ABL, esta alteración se presenta en la Leucemia Granulocítica Crónica en el 95% de los casos; se asocia a un buen pronóstico, esta enfermedad se desarrolla en una fase muy prolongada, y evolucionar a una LMA, independientemente del tratamiento (figura 8) (Clare, 1994).

El cromosoma Ph⁺ se asocia a los diferentes tipos de la LMA excepto en la M₁, (Clare, 1994). El cromosoma Ph⁺ se presenta en el 3% de los casos esta alteración se considera de mal pronóstico. En un estudio realizado en México Arana-Trejo y col. (1997) reportaron esta alteración en el 9.2% de los casos, la cual se presentó en pacientes de 35-50 años de edad.

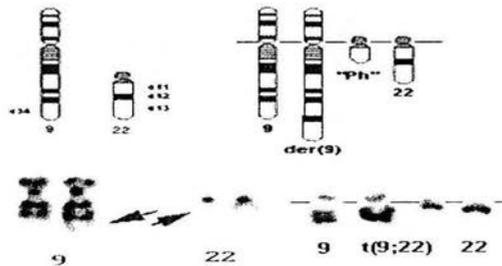


FIGURA 8. t(9;22)

5. LA LMA COMO ENFERMEDAD SECUNDARIA

Los pacientes que reciben radioterapia o quimioterapia debido a que cursan con enfermedades malignas: Síndrome mielodisplásico (SM \mathcal{D}), síndrome mieloproliferativo (SM \mathcal{P}) o LGC, tienen un alto riesgo a desarrollar LMA en un período hasta 5 años, una vez realizado el diagnóstico (Díaz, 1994)

Luna-Fineman (1999) menciona que cerca del 52% los pacientes que cursan con enfermedades malignas, presentan alteraciones citogenéticas, particularmente refieren la monosomía del cromosoma 7 o 7(q-) por lo que se considera como un factor de predisposición al desarrollo de la LMA.

Las alteraciones en los cromosomas 5 o 7: -5/5(q-) y/o -7/7(q-), se presentan frecuentemente en los pacientes con leucemia secundaria y se reporta que puede aparecer con mayor frecuencia en pacientes de edad avanzada (>60 años) debido a que en ellos se observa un incremento en la posibilidad de estar en contacto con compuestos que pueden dar lugar a una LMA principalmente.

En la región 5q23-32 se han encontrado una gran variedad de genes que participan en la maduración de las células mieloides, así también se encuentran genes que participan en la transformación o progresión de la leucemia, aunque estos mecanismos no han sido bien establecidos (Rowley, 1993).

La presencia de estas alteraciones cromosómicas proporcionan información de gran ayuda, porque se ha observado en un gran número de casos, que este tipo de alteraciones indican un pronóstico desfavorable (Grimwade, y col 1998).

Otro tipo de alteraciones observadas en las leucemias secundarias son: hiperdiploidias de 92 cromosomas, Kwong (1995) propone que existe una asociación entre el tamaño del blasto con el elevado número cromosómico, lo cual fue comprobado por el análisis morfológico y citogenético en pacientes con LMA.

6. INMUNOFENOTIPO EN LA LMA.

El análisis del inmunofenotipo tiene como objetivo detectar los marcadores de superficie de los blastos por medio de anticuerpos monoclonales; ciertas combinaciones de anticuerpos pueden definir inmunofenotipos "únicos"; de esta manera podemos distinguir poblaciones celulares anormales de las normales (Ruiz-Argüelles, 1996).

En la LMA el inmunofenotipo es de gran utilidad en el diagnóstico de la LMA debido a que se encuentran varios marcadores que se expresan en diferentes líneas celulares. El marcador CD₁₃ y CD₁₁ se expresan en los precursores de los granulocitomonocitos; el CD₁₅ en la línea granulocítica, el CD₁₄ en la línea monocítica, el CD₄₁/CD₄₂ en la plaquetas, la antiglicoforina A (GLICOFOR) para los eritrocitos, anti HLA-DR y CD₉ en células precursoras. De acuerdo con estos marcadores se han establecido 8 categorías fenotípicas (tabla 2) (Díaz, 1994; Ruiz-Argüelles, 1996)

TABLA 2. CLASIFICACION INMUNOLOGICA PARA LA LMA

FENOTIPO	CD11/13	CD15	CD14	GLICO F	CDW41/42	HLA-DR	CD9	CD33	CD34
INDIFERENCIADO	-	-	-	-	-	+/-	+/-	+	+
MIELOBLASTICO	+	-	-	-	-	+	+	+	+
PROMIELOCITICA	+	-	-	-	-	-	+	+	+
MIELOCITICA	+	+	-	-	-	+	+	+	+
MIELOMONOCITICA	+	+	+	-	-	+	-	+	+
MONOCITICA	+	-	+	-	-	+	+/-	+	+
ERITROIDE	+	-	-	+	-	+	+/-	-	-
MEGACARIOCITICA	+	+/-	+/-	+/-	+	+	+	-	-

Tomado de Díaz, 1994 y Marshall, y col. 1995.

7. ESQUEMA DE TRATAMIENTO EN LA LMA.

Los avances en el tratamiento de la LMA, incluye una intensa quimioterapia capaz de reducir la masa de células leucemicas. Cuando el paciente ya no presenta blastos en médula o sangre se considera que ha alcanzado la remisión completa sin embargo, los pacientes tienen todavía una importante leucemia residual, la cual puede terminar en recaída; en este punto la enfermedad suele responder mucho menos al tratamiento y la supervivencia media es de 3 a 6 meses (Tabla 3).

TABLA 3. ESQUEMAS DE TX UTILIZADOS EN LA LMA.	
ESQUEMA	RC(%)
ARA-C + 6-TIOGUANINA	35-56
ARA-C + VCR + PDN + CFM	35-50
ARA-C + VCR + PDN + DOXORUBICINA	60-80
ARA-C + DNB + 6-TIOGUANINA C3	35-50
ARA-C + DNB + 6-TIOGUANINA	60-85

ARA-C arabinosido de citocina, TG tioguanina, VCR vincristina
 PDN prednisona, CFM ciclofosfamida, DNB daunorubicina
 Tomado de Rozman, 1994.

7.1. INDUCCION A LA REMISION

El tratamiento de los pacientes con LMA se divide dos etapas: tratamiento de inducción y consolidación, la primera fase es el tratamiento de inducción a la remisión (IR), el cual debe ser lo suficientemente agresivo como para erradicar las células leucémicas por debajo del nivel de detección clínica. El régimen de tratamiento estándar que se utiliza en este padecimiento es con citarabina y daunorubicina u otras antraciclinas con igual efecto, el cual permite una remisión en el 60-80% de los casos. La mortalidad durante el período de inducción habitualmente por complicaciones infecciosas es del 20-40% y los casos resistentes a la quimioterapia son del 10% aproximadamente (Rozman, 1994; Han, 1997)

El tratamiento en pacientes con LPA es por medio de ácido-holo-tras-retinoico (ATRA) sólo o en combinación con la quimioterapia. El ATRA ha sido de gran ayuda porque corrige la coagulopatía que se presenta en la mayoría de los casos. Se ha observado que algunos pacientes pueden desarrollar hiperleucocitosis y dificultad respiratoria como un efecto secundario a la administración del fármaco. El conjunto de efectos secundarios ha sido llamado "síndrome del ATRA". Actualmente se realizan varios estudios para administrarlo de una forma más adecuada (Frankel, 1992).

Una vez terminado el ciclo de inducción se debe verificar que el paciente halla alcanzado la remisión completa (RC) los criterios clínicos de remisión incluyen: presentar menos del 5% de blástos en la médula ósea y ausencia de los mismos en sangre periférica, también los niveles hematológicos deben estar dentro de los parámetros normales y que los signos físicos atribuibles a la enfermedad hayan desaparecido (Rozman, 1994; Scheinberg, 1994). Si no se alcanza la remisión completa se administra nuevamente otro ciclo de inducción.

7.2. CONSOLIDACION

Los pacientes con LMA que logran la RC cuentan todavía con una importante leucemia residual, por lo cual es necesario administrar la quimioterapia de consolidación para mantener al paciente en remisión, este esquema es similar al de inducción a la remisión y se da en combinación con Ara- C junto con m-Amsa, mitoxantrona, u otros fármacos, los cuales se administran hasta en 4 ciclos. Con lo cual se alcanza una sobrevida libre de enfermedad en un 45% de los casos (Rozman, 1994)

7.3. PROFILAXIS AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Se ha observado que del 10-20% de los pacientes con cuentas de leucocitos superiores a 50 000 al diagnóstico, presentan infiltración de los blastos al SNC debido a ello se administra el tratamiento de profilaxis al SNC con quimioterapia intratecal con citarabina o mitoxantrona o radiación cráNeal (Rozman, 1994).

Actualmente se estudia la posibilidad de administrar nuevos fármacos antileucémicos que sean más efectivos para aumentar el porcentaje de remisión en los pacientes con LMA, se propone el uso de tioguanina o etoposido en combinación con el régimen de quimioterapia estandarizado. Se reporta que con la combinación de estos fármacos da lugar a un 80-85% de RC en pacientes menores de 60 años, con una sobrevida estimada hasta de 6 años en el 40% de los casos (Han, y col. 1997; Grimwade y col. 1998).

Los factores de crecimiento hematopoyético, son una familia de hormonas que regulan la proliferación diferenciación y maduración de los progenitores hematopoyéticos así como la sobrevida y maduración de las células sanguíneas; debido la importancia de los factores de crecimiento y las diferentes funciones que desempeñan la citocinas se han utilizado como una alternativa terapéutica, se combina con quimioterapia o se administra después del trasplante, obteniendo buenos resultados.

Jansen y colaboradores (1999) utilizaron el factor de crecimiento de la colonia de los granulocitos (G-CSF) en combinación con la quimioterapia, en pacientes con leucemia promielocítica, con la t(11;17) que indica un mal pronóstico observando la maduración de las células in vivo e in vitro, permitiendo una remisión completa.

El trasplante de médula ósea se incluye en el tratamiento de la LMA, se emplea preferentemente en adultos menores a 35 años, los cuales presentan las alteraciones citogenéticas consideradas de buen pronóstico, el trasplante de médula se realiza durante la remisión completa o en los primeros signos de recaída, el trasplante puede ser autólogo, es decir que el donador es compatible o relacionado. Con este tipo de trasplante se evita la enfermedad injerto contra huésped, la cual constituye una de las causas de mortalidad más

importante. El trasplante alogénico puede ser de un donador no compatible completamente, este tipo de trasplante también puede ser de células de cordón umbilical (Ruíz-Argüelles, 1996).

Con este tipo de tratamiento, los pacientes pueden esperar una supervivencia mayor de 3 años hasta en el 70% de los pacientes (Scheinberg, y col. 1994; Kleing, y col. 1994).

8. FACTORES PRONOSTICO EN LA LMA

Los avances en el tratamiento de la LMA han permitido un índice de remisión elevado en los últimos años, el tratamiento que se administra debe ser lo suficientemente agresivo para alcanzar la RC con un ciclo en la mayoría de los casos. Existen diversos factores que permiten predecir la respuesta al tratamiento, los pacientes que se diagnostican tempranamente, que cuentan una edad menor de 60 años y reciben un esquema de tratamiento adecuado pueden alcanzar la RC en un 60-70% de los casos y esperar una supervivencia mayor de 3 años. Los pacientes mayores de 60 años solo alcanzan la remisión de manera parcial es decir que cuentan con un 20% de blastos en médula ósea al termino de la quimioterapia de inducción lo cual se considera de mal pronóstico.

El estudio citogenético constituye una parte importante en la evaluación de la LMA, existen factores que indican un buen pronóstico como la $t(8;21)$, $t(15;17)$ o $inv16$ en los tipos M_2 , M_3 o M_4 respectivamente, que constituyen el grupo con mejor pronóstico. Se ha reportado que las alteraciones que acompañan a los factores mencionados no influyen en el resultado, siempre que el tratamiento administrado sea el más adecuado (Grimwade, y col. 1998).

El grupo con pronóstico intermedio lo constituyen los pacientes con: 1) cariotipo normal, 2) la ganancia del cromosoma 8, 21 o 22, 3) las deleciones en los cromosomas 7 o 9 y 4) las alteraciones en 11q23 también se consideran dentro de este grupo, solo si se presentan en pacientes de edad pediátrica o menores a 35 años, si se presenta la alteración en pacientes mayores a esta edad el pronóstico cambia, debido a que no responden al régimen quimioterapéutico estándar. Las alteraciones de mal pronóstico son la monosomía parcial o total de los cromosomas 5 o 7 que en la mayoría de los casos se reporta en los pacientes mayores de 60 años (Grimwade, y col. 1998; Schmittger, y col. 2000).

Uno de los factores de buen pronóstico, lo constituye la cuenta de leucocitos al diagnóstico, se reporta que una cuenta inferior de $5 \times 10^9/L$ es favorable, sin embargo la cuenta de leucocitos superior a $100 \times 10^9/L$ con la subsecuente infiltración al SNC, asociados o no a la trombocitopenia de $20 \times 10^9/L$ al diagnóstico son de pronóstico desfavorable. Los tratamientos que inducen el desarrollo de la LMA o aquellos pacientes

que hayan cursado con un síndrome mielodisplásico previo a la LMA se consideran de mal pronóstico.

La edad constituye uno de los factores pronóstico más importantes en este padecimiento porque permite predecir la respuesta al tratamiento, se ha reportado que las células leucémicas de los pacientes que cuentan con una edad avanzada, (>60) desarrollan diversos mecanismos que hacen resistencia a la quimioterapia, los cuales no se encuentran bien definidos (Leith, y col 1997; Mauritzson, y col. 2000). En estos casos se observa una sobrevida media de 9 a 12 meses. Los hallazgos citogenéticos más frecuentemente encontrados son la monosomía parcial o total de los cromosomas 5 o 7 (Grimwade y col.1998)

JUSTIFICACION

El estudio citogenético nos proporciona información sobre las alteraciones cromosómicas que presentan los pacientes con LMA. Este tipo de estudio permite conocer la clona principal o el número de líneas celulares anormales con que cursa el paciente con lo cual se puede definir el diagnóstico dentro de los diferentes tipos de la LMA; esta información apoya la elección del esquema de tratamiento más adecuado para el paciente. Así mismo apoya el monitoreo de la enfermedad residual mínima, el pronóstico se establece de acuerdo con los hallazgos citogenéticos y hematológicos al diagnóstico. Los factores de buen pronóstico son $t(15;17)$, $t(8;21)$ e $inv(16)$.

Existen otros factores importantes como la cuenta de leucocitos (WBC), hemoglobina y plaquetas al momento del diagnóstico, que determinan el pronóstico del paciente; existen otros factores que influyen de manera independiente estos son la edad y sexo.

En México existen escasos reportes sobre la distribución de las alteraciones citogenéticas en los pacientes con LMA, y sobre el comportamiento de la enfermedad en los pacientes que cursan con los diferentes tipos de LMA, por lo cual se considera importante la realización de este trabajo.

OBJETIVO GENERAL

Correlacionar el estudio citogenético con los hallazgos hematológicos (WBC, Hb Y Pla) y la respuesta al tratamiento en pacientes con Leucemia Mielóide Aguda que acudieron al servicio de Hematología del Hospital Juárez de México en un periodo establecido.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Reportar los hallazgos citogenéticos en los pacientes con LMA.
2. Correlacionar el estudio citogenético con los factores pronósticos reportados en la literatura

CAPITULO III.

MATERIAL Y METODOS

POBLACIÓN DE ESTUDIO

- *Se estudiaron 24 pacientes con diagnóstico de LMA de novo que acudieron al servicio de Hematología del Hospital Juárez de México de enero de 1998 a junio de 2000.*
- *A los pacientes se les tomó una muestra de médula ósea una vez que se les encontró sospecha de LMA.*

DISEÑO DEL ESTUDIO.

En este trabajo fue de tipo prospectivo y transversal, se estudiaron pacientes con LMA, que acudieron al servicio de hematología de enero de 1998 a junio de 2000, en ellos se analizó el estudio citogenético en 10 a 25 metafases de células de médula ósea al diagnóstico; los hallazgos se reportaron según los criterios del Sistema Internacional de Nomenclatura Cromosómica (ISCN) 1995.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- 1.- Pacientes con diagnóstico de LMA según los criterios de la clasificación FAB.*
- 2.- Pacientes con padecimiento de novo*
- 3.- Pacientes de todas edades*
- 4.- Vírgenes de tratamiento*
- 5.- Ambos sexos*

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- 1.- Pacientes que recibieron tratamiento antileucémico con anterioridad*
- 2.- Pacientes con diagnóstico diferente a LMA*
- 3.- Diagnóstico incierto*
- 4.- material insuficiente para realizar el análisis.*

ESTUDIO CITOGENÉTICO

Las muestras de médula ósea fueron tomadas y procesadas en el servicio de Hematología del Hospital Juárez de México.

Para realizar el estudio citogenético se realizaron los siguientes procedimientos:

MUESTRA

Se obtuvo una muestra aproximadamente de 3 a 5 ml de médula ósea con una jeringa heparinizada en condiciones de esterilidad.

SIEMBRA

A todas las muestras se les realizó la técnica directa (como primer paso), y cuando la muestra fue insuficiente se realizó la técnica indirecta (esquema 1).

Técnica directa: se colocaron 20 gotas de la muestra y 5 ml de medio RPMI-1640 en un tubo para centrifuga de 15 ml en condiciones de esterilidad.

Técnica indirecta: se realizaron cultivos de 24, 48 y 72 hrs. (según el caso), se colocaron de 12 a 16 gotas de la médula ósea y/o sangre periférica, en frascos estériles que contenían: 5 ml de medio RPMI-1640, 1 ml de suero fetal de ternera, y 0.2 ml de antibióticos (penicilina + estreptomina 10 000 U/ml), a un frasco se le adicionó 0.2 ml de fitohemaglutinina (PHA) bajo condiciones de esterilidad, se incubaron a 37°C con el 5% de CO₂.

COSECHA

La cosecha se realizó de la misma manera para ambas técnicas.

A las muestras se les adicionó 0.1 ml de colcemid (1mg/ml), se mezclaron perfectamente y se incubaron por 20 min. a 37°C, posteriormente las muestras se centrifugaron a 1500 rpm por 5 min. a temperatura ambiente.

Se desechó el sobrenadante, se resuspendió la muestra en 6 ml de solución hipotónica (KCL 0.075M) y se incubaron en baño maría durante 10 min; al término de este tiempo se centrifugaron la muestra por 5 min. a 1500 rpm, se desechó el sobrenadante resuspendió

la muestra y se fijó con una solución de Carnoy (metanol-ácido acético 3:1) se lavaron 3 veces la muestra con esta solución.

PREPARACION DE LAMINILLAS

Se gotearon las muestras en laminillas previamente lavadas, las cuales se dejaron deshidratar a 60°C por 24 hrs para realizar la técnica de bandeado.

TÉCNICA DE BANDAS G

Las laminillas se trataron con una solución de buffer de fosfatos pH 7.0 con 0.01 g de tripsina, posteriormente se sumergirán en una solución de buffer de fosfatos pH 7.2 y se teñirán con colorante Giemsa (Verma, 1989).

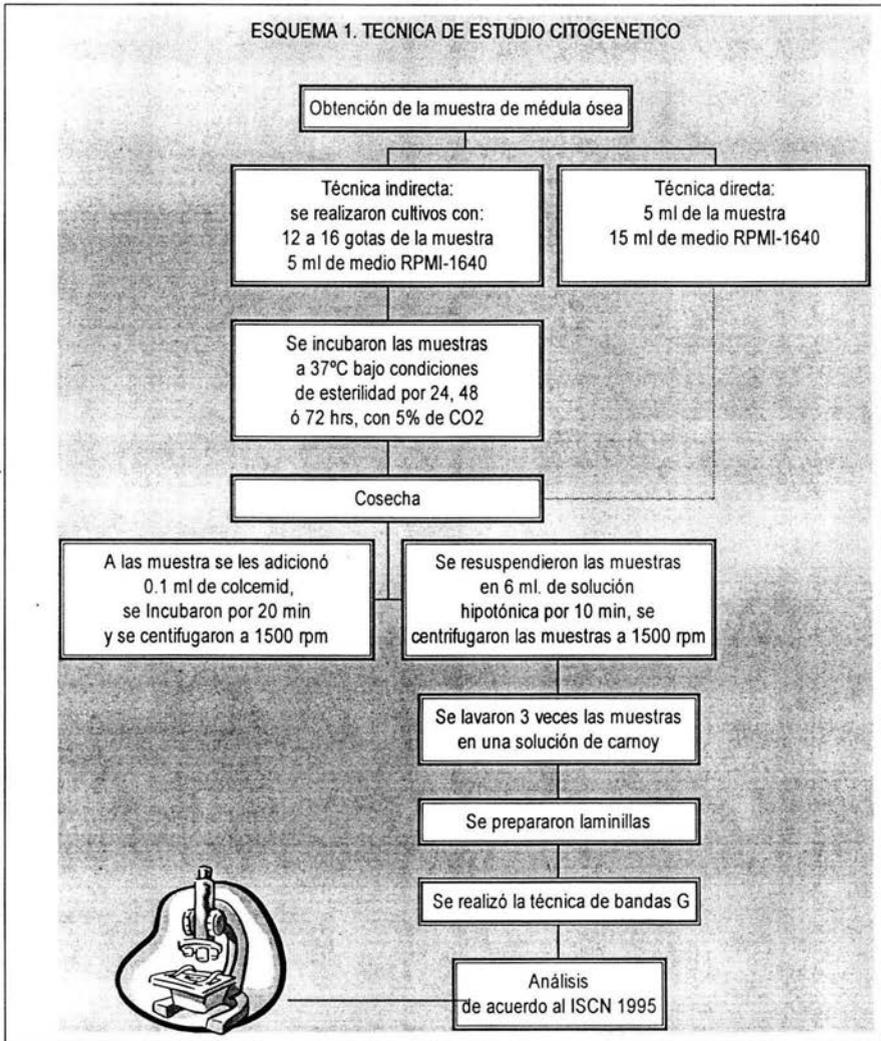
ANÁLISIS

Se analizaron de 10 a 25 metafases por paciente, las alteraciones cromosómicas se reportaran según los criterios del Sistema Internacional de Nomenclatura Cromosómica (ISCN) 1995.

DATOS CLINICOS

Se capturaron los siguientes datos hematológicos al diagnóstico: la cuenta de leucocitos (WBC), plaquetas, hemoglobina, y como datos clínicos: hepatomegalia, adenomegalia y/o esplenomegalia.

ESQUEMA DE LA METODOLOGIA



CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

En el período comprendido de enero de 1998 a junio de 2000 se diagnosticaron 24 casos de LMA, de los cuales el 58% (14) correspondió al sexo femenino y 42% (10) al sexo masculino, en este estudio se incluyeron 4 pacientes de edad pediátrica.

El rango de edad de los pacientes de edad adulta fue de 22 a 85 años ($\bar{x}=49.2$) y para los pacientes de edad pediátrica fue de 15 a 17 años ($\bar{x}=16$).

La clasificación citomorfológica de acuerdo con los criterios de la clasificación FAB fue: para el tipo M_2 se diagnosticaron 5 pacientes (3F/2M), para el tipo M_3 fueron 8 pacientes (5F/3M) para el tipo M_4 fueron 2 pacientes (2F) para el tipo M_5 fueron 4 pacientes (1F/3M), para el tipo M_6 fueron 4 pacientes (3F/1M) y para el tipo M_7 solo un paciente.

Como se observa en la tabla 5, en cuanto a los resultados de los cariotipos se observó que el 33% (8) de los pacientes presentaron cariotipo normal, el 66.7% (16) de los pacientes, presentaron alteraciones cromosómicas de las cuales el 21% (5) fueron alteraciones de tipo estructural, el 16% (4) alteraciones numéricas y el 29% (7) presentaron ambas.

De acuerdo como se observa en la tabla 5 se estudiaron 5 pacientes que correspondieron al tipo M_2 , con un rango de edad de 17 a 61 años ($\bar{x}=36.8$) en los cuales no se presentó la $t(8;21)$ en ningún caso, de acuerdo con Nuciflora, 1995; Era y col, 1995; Andrieu, y col. 1996; Erickson, y col. 1996 esta alteración se presenta en el 40% de la población que cursa con M_2 , y preferentemente en pacientes menores de 35 años, en los cuales se considera de buen pronóstico. En este estudio solo se captaron 5 pacientes con M_2 , por lo que la posibilidad de observar la $t(8;21)$ fue mínima y/o nula.

Aunado a este hallazgo, últimamente se han reportado diversas variantes de la alteración, en los cuales están involucrados los cromosomas 3, 5 y 12 estas variantes no pueden visualizarse por la técnica de citogenética estándar, por lo cual se recomienda el uso de técnicas de biología molecular que permitan caracterizar a los pacientes (Nuciflora, 1995).

En cuanto a las alteraciones observadas en este padecimiento se presentó la $del(11)(q23)$ como alteración primaria, en el caso 2, esta alteración se reporta en el 5% de los casos de M_2 , debido al bajo porcentaje con que se presenta, el pronóstico no se encuentra bien definido, de acuerdo con Arana-Trejo, y col. 1997 y Schnittger, y col. 2000 esta alteración es de mal pronóstico cuando se presenta en pacientes de edad adulta, en este caso se desconoce el dato debido a que el paciente fue enviado a otra institución.

En el caso 3 se observó la $\text{del}(9)(q22)$ de acuerdo con Hoyle, y col. 1987 esta alteración ha sido observada últimamente en el tipo M_2 , en la región $(9)(q11-q33)$ se localizan diversos genes que pueden participar en la progresión de la leucemia.

La pérdida del cromosoma X e $\text{inv}(X)(q21)$ se observó en el caso 4, de acuerdo con Riské, y col. 1994 esta alteración está asociada a etapas tardías de la enfermedad, en este caso se corrobora el hallazgo debido a que el paciente presentó un cuadro clínico muy severo e infiltración al sistema nervioso central.

La $\text{inv}(8)(q13)$ se observó en el caso 5, esta alteración ha sido recientemente reportada como una variante de la $t(8;16)$, de acuerdo con Aguiar, y col. 1997, propone que en la región $8(q13)$ pueda existir un gen involucrado en la hematopoyésis, para este mismo caso se observó la $\text{del}(2)(q24.3)$ de la cual no se encontró información reportada.

En el caso 1 se observó la $\text{del}(6)(q22.1)$ en esta región se han encontrado varios genes, involucrados en la diferenciación de las células hematopoyéticas (Heim, 1987).

El grupo de pacientes con M_3 presentaron un rango de edad de 15 a 60 años ($\bar{x}=34.6$), este tipo se caracteriza por presentar la $t(15;17)$ en el 90-95% de los casos y responden bien a la quimioterapia en combinación con ATRA (Bernard, y col. 1994; Degos, 1994; Willwmze, y col. 1994; Lafage-Pochitaloff, y col. 1995; Collins, 1998; Jansen, y col. 1999) En este grupo de pacientes la $t(15;17)$ se observó solo en el caso 6, el paciente obtuvo la remisión de manera parcial, este hallazgo se atribuye a que la edad del paciente fue de 60 años al diagnóstico, de acuerdo con Leith, y col. 1997, las células leucémicas de los pacientes de edad avanzada presentan mecanismos que hacen resistencia a la quimioterapia y solo pueden esperar una sobrevida de 9 a 12 meses, para el caso 6 el paciente registró una sobrevida de 1 año.

Es de llamar la atención que en resto de los pacientes con M_3 no se observó la $t(15;17)$ estos hallazgos difieren mucho con lo reportado por Arana-Trejo, y col. 1997 quienes informan la presencia de la alteración en el 75% de los pacientes mexicanos, este hallazgo se atribuye a que solo se encuentran dividiendo las células normales, aunque también se ha reportado la presencia de una delección submicroscópica del gen $RAR\alpha$ localizado en el cromosoma 17 al gen PML localizado en el cromosoma 15, así también se reportan diversas variantes de la $t(15;17)$ como son: la $t(11;17)(q23;q21)$, la $t(5;17)(q35;q12-21)$, la $t(11;17)(q13;q21)$ y el $\text{der}(17)$, los cuales no pueden ser observados por la técnica de citogenética estándar, ya sea por la mala calidad cromosómica no es posible obtener material adecuado para el análisis, por lo que se recomienda el uso de diversas técnicas moleculares como la Hibridación in situ con fluorescencia (FISH) o la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) con las cuales ha sido posible identificar la fusión de los genes

PML/RARa en el 100% de los casos (Lafage-Pochitaloff, y col. 1995; Grimwade, y col. 2000).

Por otra parte pueden existir diferencias geográficas en los grupos de pacientes estudiados por ello, la caracterización molecular de los casos que no cuentan con la $t(15;17)$ sería de gran utilidad en este grupo de pacientes porque de esta manera, podemos entender los mecanismos que dan lugar a la enfermedad, además establecer esquemas de tratamiento más adecuados para este tipo de pacientes.

De las alteraciones secundarias que se observaron son: cariotipo tetraploide en los casos 6 y 7, delección del cromosoma 7q33 y anillo del cromosoma 6 en el caso 12, la primera alteración ha sido reportada para el tipo M_3 (Russell, y col. 1989) también es importante mencionar que la $del(7q-)$ se observa en pacientes que cursan con enfermedades mieloproliferativas antes de desarrollar la LMA, sin embargo el paciente se encuentra actualmente estable, por lo que estas alteraciones secundarias no afectaron la respuesta al tratamiento.

En el grupo de pacientes con diagnóstico de M_4 presentaron un rango de edad de 16-85 años en estos pacientes no se observó la $inv(16)$ debido a que se reporta en el 20% de los casos de M_4 , en este caso la población de pacientes con M_4 fue únicamente de 2 pacientes.

Sin embargo se observó la $del(11)(q23)$ en dos casos con diagnóstico de M_4 y M_5 , este tipo de alteración esta reportada para ambos tipos en el 20 y 50% de los casos, respectivamente, esta alteración presenta un pronóstico bueno en pacientes jóvenes (>35 años) y adverso en adultos avanzados, en este estudio el pronóstico para ambos pacientes fue adverso, debido a que los pacientes fallecieron en la inducción a la remisión, de acuerdo con Schnittger, y col. 2000 los pacientes que presentan este tipo de alteración no responden a la quimioterapia estándar por lo que se ha establecido últimamente como un grupo de alto riesgo, debido a que no responden al régimen de quimioterapia estándar, por lo cual se recomienda el uso de técnicas de biología molecular para identificar alteraciones en la región 11q23 que no son visualizadas por la técnica de citogenética estándar.

En el grupo de pacientes que correspondió al tipo M_6 - M_7 con un rango de edad de 35 a 65 años ($X=50$) se observó en los casos 21 y 24 la $t(9;22)$, de acuerdo con Clare, 1994 esta alteración se puede presentar en los diferentes tipos de la LMA, los pacientes que cursan con LGC pueden tener un curso de la enfermedad asintomático, y al no ser tratados adecuadamente pueden evolucionar tras un período de 3 a 5 años a una LMA de fase blástica, en este tipo de pacientes el pronóstico es adverso, desafortunadamente los pacientes abandonaron el tratamiento.

En el caso 20 también se observó cariotipo tetraploide, este hallazgo se observa en menos del 10% de los casos y se reporta en pacientes con leucemia secundaria (Heim, 1987) en el caso 23 se observó la $t(4;5)$ la cual correspondió a un paciente con M_6 , esta alteración no se encuentra reportada para este tipo, sin embargo los cromosomas 4 y 5 están implicados en este padecimiento, de acuerdo con Bitter, y col. 1987; Rowley. 1993 y Díaz, 1994 se han encontrado que a lo largo de estos cromosomas diversos genes que participan en la maduración de la hematopoyésis.

En este estudio no se observaron las alteraciones de buen pronóstico que se reportan principalmente en la literatura para los diferentes tipos de la LMA, debido a que la población de estudio fue muy pequeña y la frecuencia con que se reportan las alteraciones es muy baja. Hoy en día se registra un gran número de alteraciones de novo que participan en la progresión de la enfermedad

De acuerdo con la tabla 4, en cuanto a las características hematológicas observadas en la población de estudio podemos decir que en general todos los pacientes presentaron pancitopenia al diagnóstico, la cuenta de WBC se observó por debajo del parámetro normal ($4.8-10.0 \times 10^9$) sólo en los casos 4, 6, y 8 respectivamente, los cuales presentaron bicitopenia con una leucocitosis de 96.67, 33.6, 52.3 ($10.0 \times 10^9/L$) respectivamente, estos datos indican que puede estar comprometidos diversos órganos, como el hígado, bazo y el más importante, el sistema nervioso central.

El caso 4 con LMA-M2 presentó leucocitosis de $96,67 \times 10^9/L$ y plaquetas de $39 \times 10^9/L$, en el cariotipo se observó la pérdida del cromosoma X e $invX(q21)$, este hallazgo indica que la enfermedad se encuentra en etapas avanzadas y se correlaciona con los datos hematológicos, porque la paciente tuvo infiltración al sistema nervioso central posteriormente el paciente abandonó por motivos económicos.

El caso 3 con LMA-M2 presentó una cuenta de leucocitos de $1,25 \times 10^9/L$ y $45 \times 10^9/L$ de plaquetas al diagnóstico, estos datos se consideran de buen pronóstico, en el estudio citogenético se observó la delección del cromosoma 9(q22), este hallazgo se correlaciona con la clínica, el paciente se encontraba en fase de consolidación, posteriormente abandonó el tratamiento por motivos económicos.

El paciente 1 con LMA-M2 presentó una cuenta de leucocitos de $6,65 \times 10^9/L$ y $46 \times 10^9/L$ de plaquetas al diagnóstico, estos datos se consideran de buen pronóstico, en el estudio citogenético se observó la delección del cromosoma 6(q22) para el cual no existe un pronóstico definido porque se presenta en raras ocasiones y no existe información al respecto, lo que se observó es que el paciente respondió favorablemente al tratamiento, se mantenía en fase de consolidación, posteriormente abandonó.

En cuanto a los pacientes con LMA-M3 se observó en el caso 6 la $t(15;17)$ de buen pronóstico, los datos hematológicos que presentó el paciente fueron $33,6 \times 10^9/L$ de leucocitos y $25 \times 10^9/L$ de plaquetas al diagnóstico; en este caso la correlación fue muy clara, el paciente respondió favorablemente al tratamiento, a pesar de contar con una edad avanzada, el paciente se mantuvo estable por un año.

El caso 12 con LMA-M3 con 16 años al diagnóstico presentó $14 \times 10^9/L$ de leucocitos y $10 \times 10^9/L$ de plaquetas, este paciente presentó cariotipo normal y respondió favorablemente a la quimioterapia, es importante mencionar que la edad constituye un factor pronóstico favorable, los pacientes menores de 35 años tienen una mejor esperanza de vida, lo cual se observó en este grupo de pacientes; al finalizar el estudio, el paciente se encontraba en fase de consolidación y ya contaba con una sobrevida de un año.

El caso 9 con LMA-M3 con una cuenta de $6,7 \times 10^9/L$ de leucocitos y $23 \times 10^9/L$ de plaquetas, también presentó cariotipo normal, esta paciente respondió favorablemente al esquema de IR, posteriormente abandonó en fase de remisión.

Los casos 10 y 11 corresponden a LMA-M3 estas pacientes presentaron cariotipo normal, sus datos hematológicos fueron $7 \times 10^9/L$ y $15,3 \times 10^9/L$ de leucocitos y $54 \times 10^9/L$ y $21 \times 10^9/L$ de plaquetas respectivamente, estas pacientes acudieron en etapas tardías de la enfermedad y fallecieron por procesos hemorrágicos e infecciosos poco después de ingresar a la institución.

En cuanto al tipo LMA-M4 no fue posible captar los datos hematológicos al diagnóstico, el caso 14 falleció sin recibir tratamiento, el cariotipo que presentó fue mosaico de $46,XX/92,XX$, del cual no existe mucha información al respecto.

En cuanto al caso 17, corresponde a un paciente con LMA-M5 de edad avanzada y con una cuenta de leucocitos de $2,05 \times 10^9/L$ y $87 \times 10^9/L$ de plaquetas al diagnóstico, este paciente también presentó mosaico de $92,XY/46,XY$ aquí no hubo respuesta al tratamiento, lo cual permite pensar que la tetraploidía es de mal pronóstico.

Uno de los pacientes con LMA-M6 (caso 21) presentó cromosoma Filadelfia positivo y pérdida del cromosoma 7, este paciente presentó $3,22 \times 10^9/L$ de leucocitos y $20 \times 10^9/L$ de plaquetas al diagnóstico, su respuesta al tratamiento fue favorable, posteriormente abandonó en fase de consolidación por motivos económicos. El caso 24 también presentó cromosoma Ph, y también respondió favorablemente al tratamiento.

En cuanto al resto de los pacientes con LMA-M6, el caso 20 que también presentó tetraploidía falleció poco después de ingresar a la institución.

Como se puede observar en este estudio fue complicado realizar una correlación del estudio citogenético con las características hematológicas, debido a que los pacientes acudieron a la institución en diversas etapas de la enfermedad; incluso hay pacientes que fallecieron poco después de ingresar a la institución, otros tantos abandonaron el tratamiento por motivos económicos. En cuanto a las alteraciones citogenéticas, presentadas en esta población, no existe mucha información al respecto, sólo en la literatura refieren los hallazgos al inicio del padecimiento y las poblaciones que manejan son muy grandes, en algunas ciudades se incluyeron alrededor de 5000 pacientes; así también la frecuencia con que se presentan las alteraciones son bajas, la frecuencia oscila entre un 20 y 30%, en este estudio la población es muy pequeña y las alteraciones observadas son poco frecuentes.

Debido a esta falta de información es necesario continuar con este tipo de estudios para lograr establecer diversos parámetros en el comportamiento de la enfermedad y así tener un control más preciso del padecimiento a futuro.

En otros países se ha observado que los datos hematológicos sí logran ser captados al inicio de la enfermedad, y entonces hay más probabilidades de utilizar estos datos para establecer un pronóstico, además es importante mencionar que se incluyen a los pacientes en diversos protocolos, los cuales son solventados económicamente por alguna (s) institución (es) dedicada (s) a la investigación exclusiva de las neoplasias hematológicas.

Es importante mencionar que en este estudio se incluyeron pacientes de edad pediátrica hasta seniles (17-85) la edad promedio de los pacientes fue de 49 años al diagnóstico, por lo tanto es importante mencionar que esta enfermedad puede observarse desde niños hasta edades muy avanzadas, de acuerdo con Baudard, y col. 1994; Stasi, y col. 1996 y Leith, y col. 1997 los pacientes que cuentan con una edad menor a 35 años tienen un pronóstico favorable, de ellos solo un 60-70% de los casos alcanzan la RC con el régimen quimioterapéutico estándar, este hallazgo se observó en los pacientes menores de 20 años los cuales respondieron favorablemente al tratamiento, mientras que los pacientes con edades muy avanzadas no respondieron por que fueron más susceptibles a desarrollar procesos infecciosos y hemorrágicos.

Como se observa en la tabla 6 el 46% (11) de los pacientes abandonan el tratamiento, de los cuales algunos son enviados a otras unidades hospitalarias y se ha observado que la población de pacientes que acuden al servicio de Hematología cuentan con un nivel socio-económico bajo el cual no le permite completar el esquema de tratamiento, en la mayoría de los casos.

El 29% (7) de los pacientes fallecieron sin completar el primer ciclo de inducción a la remisión, ya sea por que desarrollaron procesos infecciosos o hemorrágicos, y en muy pocos casos por resistencia a la quimioterapia.

Algunos autores como Mayer, y col. 1994, Taylor, y col. 1995, y Bishop, y col. 1996 recomiendan el uso de diferentes fármacos como son el etopósido y tioguanina, en combinación con la quimioterapia estándar. La combinación de estos fármacos ofrecen una eficacia, hasta un 80% en pacientes de edad adulta, en los cuales se ha observado una sobrevida de 6 años en el 40% de los casos.

Debido a la complejidad de este padecimiento, y los avances en el tratamiento de estas enfermedades el estudio citogenético continua siendo de gran importancia para establecer el diagnóstico, sin embargo en este tipo de pacientes no es posible obtener una buena cantidad de metafases para seguir analizando la evolución de la clona principal. Como se observó en los datos clínicos la mayoría de los pacientes presentan una cuenta de leucocitos muy disminuida al diagnóstico lo cual dificultó la obtención de metafases para el análisis y otros pacientes generalmente abandonan el tratamiento.

Actualmente contamos con diversas técnicas de biología molecular que permitirían detectar la clona principal en poco tiempo; con la ayuda de estas técnicas sería de gran utilidad en este tipo de pacientes, principalmente para la LMA-M3 en la cual sólo se observó la t(15;17) en un solo paciente, sin embargo la literatura refiere que casi el 100% de los pacientes con LMA-M3 la presentan. Al realizar un diagnóstico completo permitiría monitorear la evolución de la enfermedad y ofrecer una mejor calidad de vida a los pacientes.

Tabla 4. Características Hematológicas de los pacientes con LMA

CASO	EDAD /SEXO	FAB	WBC ($\times 10^9/L$)	PLAT ($\times 10^9/L$)	HGB g/dL
1	17/F	M2	6,65	46	7,1
2	42/M	M2	4,26	43	9,1
3	61/M	M2	1,25	45	9,2
4	42/F	M2	96,67	39	11,2
5	22/F	M2	1,32	16	5,4
6	60/M	M3	33,6	25	8,7
7	47/F	M3	0,77	13	6,7
8	40/F	M3	52,3	46	3,5
9	15/F	M3	6,78	23	6,8
10	25/F	M3	7	54	7,8
11	34/F	M3	15,3	21	10,3
12	16/M	M3	14	10	4,7
13	40/M	M3			
14	85/F	M4			
15	70/F	M4			
16	16/F	M5			
17	77/M	M5	2,05	87	9,1
18	56/F	M5			
19	30/F	M5	8,24	11	4,9
20	65/M	M6			
21	35/M	M6	3,22	20	6,4
22	41/F	M6	2,86	16	1,04
23	56/M	M6	3,22	12	
24	56/M	M7	4,55	7	5,4

TABLA 5. Resultados del estudio citogenético de los pacientes con LMA

CASO	EDAD/ SEXO	FAB	CARIOTIPO
1	17/F	M2	46,XX,del(6)(pter→q22.1)[5]/46,XX[13].
2	42/M	M2	46,XY,del(11)(pter→q23.2)[14]/88-90,XY[8]/46,XY[2]
3	61/M	M2	46,XY,del(9)(pter→q22)[7]/46,XY[11]
4	42/F	M2	45,X-X,15pstk+[3]/45,X,inv(X)(q21→p21::q21→qter),15pstk+[2]/46,XX,15pstk+[10]
5	22/F	M2	45,XX,inv(8)(q13→pter::q13→qter),del(2)(pter→q24.3),-21[4]/44-45,XX,inv(8)(q13→pter::q13→qter),del(2)(pter→q24.3),-2,-8,+m1+m2[Cp8]/88-92,XX,idemx2,inv(8)(q13→pter::q13→qter)[8]/46,XX[2]
6	60/M	M3	46,XY,t(15;17)(q22;q21)[3]/92;XY[3]/46;XY[6]
7	47/F	M3	92,XX[4]/46,XX[10]
8	40/F	M3	46,XX[12]
9	15/F	M3	46,XX[11].
10	25/F	M3	46,XX[10]
11	34/F	M3	46,XX[15]
12	16/M	M3	46,XY,r(6)(::p24→q26::),del(7)(pter→q22)[2]/46,XY[12]
13	40/M	M3	46,XY[25]
14	85/F	M4	92,XX[5]/46,XX[18]
15	70/F	M4	47,XX,del(11)(pter→q23)+8[2]/47,XX+8[6]/46,XX[3].
16	16/F	M5	46,XX,del(11)(pter→q23)[12]/46,XX[15]
17	77/M	M5	92,XY[27]/46,XY[6]
18	56/F	M5	46,XX[11]
19	30/F	M5	46;XX[10]
20	65/M	M6	92,XY[4]/46,XY[12]
21	35/M	M6	47,XY,t(9;22)(q34;q11)+22[7]/45,XY-7[4]/46,XY[6].
22	41/F	M6	46,XX[21]
23	56/M	M6	46,XY,t(4;5)(p13.2;q34)[8]/92,XY[3]/46;XY[3]
24	56/M	M7	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[17]/46,XY[4].

Tabla 6. Estado actual de los pacientes con LMA

CASO	EDAD/SEXO	FAB	INFILTRACION	RESPUESTA AL TX.	EDO.-ACTUAL
1	17/F	M2	Médula ósea	2do. Ciclo I.R.	abandonó
2	42/M	M2	Médula ósea	s/tx. Traslado IMSS	abandonó
3	61/M	M2	Médula ósea	Consolidación	abandonó
4	42/F	M2	Hepato- esplenomegalia/ Médula ósea		abandonó
5	22/F	M2	Médula ósea		abandonó
6	60/M	M3	Médula ósea	2do. Ciclo I.R.	365 días
7	47/F	M3	Hepatomegalia/ Médula ósea		abandonó
8	40/F	M3	Médula ósea	s/tx. IMSS	abandonó
9	15/F	M3	Médula ósea	R.P	abandonó
10	25/F	M3	Médula ósea	R.P falló el tx.	falleció
11	34/F	M3	Médula ósea		falleció
12	16/M	M3	Médula ósea	Consolidación	365 días
13	40/M	M3	Médula ósea		abandonó
14	85/F	M4	Médula ósea	s/tx.	falleció
15	70/F	M4	Médula ósea		abandonó
16	16/F	M5	Médula ósea		falleció
17	77/M	M5	Médula ósea		falleció
18	56/F	M5	Médula ósea		abandonó
19	30/F	M5	Médula ósea	Consolidación	abandonó
20	65/M	M6	Médula ósea		falleció
21	35/M	M6	Adenomegalia/ Médula ósea	2do. Ciclo I.R.	abandonó
22	41/F	M6	Médula ósea		abandonó
23	56/M	M6	Médula ósea		falleció
24	56/M	M7	Hepatomegalia/ Médula ósea	I.R.	abandonó

Diferentes causas de abandono: 1) traslado a otra institución, 2) no regresan después de recibir la IR, 3) el costo de la terapia es elevado.

Datos obtenidos hasta el 30 de junio de 2000

CAPITULO V

CONCLUSIONES

En la mayoría de los trabajos que se realizan en otros países, se incluye una clasificación morfológica, inmunológica y citogenética de cada paciente, estableciendo el pronóstico de vida; favorable o desfavorable.

En este trabajo solo se llevó a cabo el estudio citogenético y morfológico, debido a que la Institución solo cuenta con el equipo para hacer estas pruebas. El seguimiento de cada paciente no se llevó a cabo debido a que los pacientes acuden a la Institución en etapas muy avanzadas de la enfermedad y fallecen al poco tiempo del diagnóstico; otros no regresan a concluir su tratamiento porque son de un nivel socio-económico muy bajo, y no cuentan con los recursos necesarios para acudir al centro hospitalario con regularidad. Sería necesario que el gobierno o instituciones no gubernamentales estableciera programas de apoyo en este tipo de pacientes.

Los datos obtenidos en este trabajo no se pueden comparar, debido a que no hay estudios de neoplasias en la población mexicana, solo existen datos epidemiológicos del Instituto Nacional de Epidemiología, donde menciona que las leucemias ocupan el cuarto lugar en varones y el quinto en mujeres por cada 100 000 habitantes.

Los trabajos que se reportan en la literatura se han realizado en su mayoría en Europa y Estados Unidos, en los cuales existen diferencias geográficas, socio-económicas y étnicas con respecto a esta población. Lo cual no permitió establecer una correlación que pudiera compararse con lo que se reporta para otras ciudades.

GLOSARIO

Aberración cromosómica. Alteración citogenética de un cromosoma, puede ser de tipo numérico o estructural.

Alteración estructural. Alteración que sufre un cromosoma a lo largo de su estructura, se puede presentar de diversas maneras: delección, translocación, inversión etc.

Alteración numérica. Variaciones en el número de cromosomas presentes en una célula, ya sea como múltiplos del número haploide se le conoce como euploidías, o si es un aumento o pérdida de un cromosoma, se denomina aneuploidía.

Anemia de Fanconi. Entidad autosómica recesiva que se caracteriza por presentar diversas alteraciones en el esqueleto, alterando la médula ósea ocasionando pancitopenia.

Anillo. Cromosoma que se observa a manera de círculo, debido a una pérdida de material en sus extremos y posteriormente una reordenación.

Anticuerpo. Inmunoglobulina esencial para el sistema inmune, producida por el tejido linfóide en respuesta a la exposición a bacterias, virus o a otras sustancias antigénicas.

Anticuerpos monoclonales. Anticuerpos producidos por un hibridoma o por una fuente celular productora de anticuerpos para un antígeno específico.

Antígeno. Sustancia generalmente proteica, que da lugar a la síntesis de un anticuerpo y reacciona específicamente con el mismo.

Bandas. Secuencias de pociones que se observan a lo largo del cromosoma, con diversas técnicas de tinción.

Biología Molecular. Estudio de la biología desde el punto de vista de las interacciones físicas y químicas de las moléculas involucradas en las funciones vitales.

Blasto. Para este trabajo se denomina así a la célula neoplásica, ya sea linfóide o mielóide.

Carcinógenos. Cualquier producto químico capaz de inducir el desarrollo de un cáncer en un tejido vivo.



U.N.A.M. CAMPUS

Cariotipo. Características morfológicas totales del componente cromosómico somático de un individuo o especie, descrito en términos de número, forma, tamaño y disposición dentro del núcleo, a partir de una microfotografía tomada durante el estadio de metafase de la mitosis.

IZT.

Cáncer. Cualquiera del extenso grupo de enfermedades neoplásicas malignas caracterizadas por la presencia de células malignas. Cada cáncer se distingue por su naturaleza, localización o curso clínico de la lesión.

Centrómero. Pequeña región especializada del cromosoma que une las dos cromátidas entre sí y las fija a las fibras del huso durante la mitosis y la meiosis.

Célula multipotencial. Célula madre que se divide para dar nuevas células.

Citogenética. Estudio del aspecto morfológico de los cromosomas y su comportamiento durante la división celular.

Clona. Grupo de células u organismos genéticamente idénticos derivados mediante mitosis de una única célula u organismo común.

*Colchicina. Alcaloide derivado de *Colchicum autumnale* que impide la formación del huso acromático y detiene la división celular en etapa de metafase.*

Cromatina. Sustancia situada en el interior del núcleo celular a partir del cual se originan los cromosomas.

Cromosomas sexuales. Cromosomas encargados de la determinación del sexo, en el varón XY y en la mujer XX.

Cuerpo de Auer. Cuerpos alargados intracelulares compuestos por granulaciones que se observan en determinados tipos de leucemia mieloide.

De novo. Expresión que se utiliza cuando algún padecimiento es de reciente formación

Deleción. Aberración cromosómica en la cual hay pérdida de material cromosómico.

Derivado. Fragmento extra de algún cromosoma.

Dishematopoyético. Alteraciones que se presentan durante la formación de las células de la sangre.

Duplicación. Presencia de genes repetidos en un cromosoma por la adición de un fragmento de un cromosoma homólogo.

Eosinofilia. Aumento del número de eosinófilos en sangre, que se asocia a muchos procesos inflamatorios. Los aumentos importantes se consideran reflejo de una respuesta alérgica.

Esplenomegalia aumento del volumen o hipertrofia del bazo.

Etiología. Parte de la medicina encargada del estudio de las causas que ocasionan las enfermedades.

*Fitohemaglutinina. Sustancia que se extrae del frijol *Phaseolus vulgaris* que estimula la división mitótica.*

Fragmento acéntico. Fragmento cromosómico que carece de centrómero.

Gen. Unidad biológica de material genético y herencia. Se considera que es una secuencia determinada de ácidos nucleicos dentro de una molécula de ADN, que ocupa un locus preciso en un cromosoma y que es capaz de autorreplicarse mediante la codificación de una cadena polipeptídica específica.

Genoma. Juego completo de genes en los cromosomas de cada una de las células de un determinado organismo.

Giemsa. Colorante utilizado para teñir cromosomas.

Granulocitos. Célula que contiene gránulos especialmente los leucocitos que contienen gránulos basófilos o eosinófilos en su protoplasma.

Haploide. Cantidad de material cromosómico de un gameto.

Hepatoesplenomegalia. Aumento en el volumen del hígado y bazo.

Heterocromatina. Cromatina condensada que no participa en el proceso de transcripción.

Hibridación in situ. Técnica de biología molecular que requiere sondas marcadas con fluorocromos para localizar un ADN blanco complementario.

Hiperdiploidía. Número de cromosomas mayor al número diploide.

Hipodiploidía. Número cromosómico menor al número diploide.

In vitro. Que vive fuera del organismo en condiciones controladas.

Inmunofenotipo. Caracterización fenotípica que se obtiene con ayuda de agentes inmunológicos.

Inserción. Cuando se rompe un fragmento de un cromosoma, y este se inserta o se pega en otro cromosoma.

Inversión. Cuando un segmento cromosómico rota 180° quedando la secuencia de genes alterada.

Inversión paracéntrica. Es aquella donde la secuencia invertida no incluye el centrómero.

Inversión pericéntrica. Es aquella en que el segmento invertido incluye al centrómero.

Leucemia. Neoplasia maligna de los órganos hematopoyéticos que se caracteriza por la sustitución difusa de la médula ósea por precursores leucocitarios proliferantes, por un número y unas formas anormales de leucocitos inmaduros en la circulación, y por infiltración de los nódulos linfáticos, bazo, hígado y otras localizaciones.

Leucemia linfoblástica. Se caracteriza por la proliferación anormal de un clon derivado de la línea linfoide.

Leucemia mielóide. Se caracteriza por la proliferación anormal de un clon derivado de la línea mielóide.

Leucemogénesis. Comienzo, desarrollo o progresión de la leucemia.

Leucocito. Célula blanca de la sangre, uno de los elementos formes del sistema sanguíneo circulante. Los agranulocitos son los linfocitos y los monocitos. Los granulocitos son los neutrófilos, basófilos y eosinófilos.

Megacariocito. Célula de la médula ósea extremadamente grande que tiene un núcleo multilobulado.

Metafase. La segunda de las cuatro fases de la división nuclear en la mitosis, y en cada una de las dos fases de la meiosis, durante la que los cromosomas se disponen en el plano ecuatorial del huso para formar la placa ecuatorial, con los centrómeros unidos a las fibras del huso en espera de la separación.

Médula ósea. Tejido especializado compuesto de tejido mielóide y es esencial para la síntesis y maduración de las células sanguíneas de la serie roja.

Mitógeno. Sustancia que estimula la mitosis celular.

Mitosis. División de la célula somática que resulta la formación de dos células hijas.

Monoclonal. Células derivadas de una misma línea celular.

Monosomía. La falta de un cromosoma homólogo o la pérdida parcial de una de ellos.

Mutación. Cambio en la secuencia de bases nitrogenadas en la molécula de ADN.

Neoplásico. Formación de tejido con carácter tumoral.

No disyunción. Incapacidad para separarse de uno o mas pares de cromosomas en la etapa de anafase de la división celular.

Oncogenes. Gen potencialmente inductor de cáncer. En condiciones normales, dichos genes participan en el crecimiento y en la proliferación de las células, pero cuando se alteran de alguna forma por un agente carcinogénico, pueden provocar una transformación maligna de la célula.

"p". letra para designar al brazo corto del cromosoma.

Proliferación. Reproducción o multiplicación de formas similares. Se suele aplicar a células o quistes.

Pronóstico. Juicio hipotético acerca de la evolución de un paciente determinado en base a los hallazgos al diagnóstico.

Pseudodiploide. Células que contienen un número cromosómico aparentemente normal, pero cuenta con alteraciones cromosómicas.

"q". letra que designa el brazo largo de un cromosoma.

Quimioterapia. Tratamiento de infecciones y de otras enfermedades con agentes químicos. Actualmente el término quimioterapia se emplea para referirse al uso de productos químicos para destruir selectivamente las células cancerosas.

Recaída. Reparación de la enfermedad.

Remisión. Disminución de las células malignas.

Signos. Conjunto de características particulares de una enfermedad.

Síntoma. Indicación subjetiva de una enfermedad o de cambio en la enfermedad según percepción del paciente.

Sitio frágil. Region cromosómica en la cual puede haber rompimiento.

Síndrome de Bloom. Es de herencia autosómica recesiva que se caracteriza por: talla baja, alteraciones craneoencefálicas como microcefalia, hipoplasia malar y se presenta durante el primer año de vida.

Solución hipotónica. Solución que se utiliza para provocar un rompimiento de membranas celulares.

Tinción. Técnica que se utiliza para teñir preparaciones citológicas y contrastar diferentes estructuras celulares.

Transformación maligna. Cambios que experimenta una célula normal cuando se convierte en célula cancerosa.

Translocación. Intercambio de material genético entre diferentes cromosomas.

Tripsina. Enzima proteolítica digestiva producida por el páncreas exocrino que cataliza en el intestino delgado la fragmentación de las proteínas de la dieta en peptonas, péptidos y aminoácidos.

CAPITULO VI

LITERATURA

1. Aguiar, R., Chase, A., Coulthard, S., Macdonald, D., Carapeti, M., Reiter, A., Soal, J., Lennard, A., Godman, J., Croos, N. (1997). Abnormalities of chromosome band 8p11 in leukemia: two clinical syndromes can be distinguished on the basis of MOZ involvement. *Blood* 15; 3130-3135.
2. Andrieu, U., Radford-Weiss, I., Trussard, X., Chane, C., Valensi, F., Guesnu, M., Haddad, E., Viguier, F., Dreyfus, F., Varet, B., Flandrin, G., McIntyre, E., (1996). Molecular detection of t(8;21) AML/ETO in AML M1/M2: correlation with cytogenetics, morphology and immunophenotype. *Br J Haematol* 92; 855-865.
3. Arana-Trejo, R., Gómez, E., Rubio-Borja, M., Kassack-Ipiña, J., Cervantes, A., Guerrero-Rivera, S., González-Llaven, J., Gutierrez-Romero, M., Pizzuto-Chávez, J., Kofman-Alfaro, S., (1997). Cytogenetic findings in 303 mexican patients with De novo acute myeloblastic leukemia. *Arch of Med Res.* 28; 209-214.
4. Bernard, J. (1994). History of promyelocytic leukemia. *Leukemia* 8; 1-5.
5. Bishop, J., Matthews, J., Young, G., Szer, J., Gillett, A., Joshua, D., Bradstock, K., Enno, A., Wolf, M., Fox, R., Coberof, R., Herrman, R., Weiden, M., Lowenthal, R., Page, F., Garson, O., Juneja, S. (1996). A randomized study of high-dose cytarabine in induction in acute myeloid leukemia. *Blood* 87; 1710.
6. Bitter, M., Le Beau, M., Rowley, J., Lason, A., Golomb, H., Vardiman, J., (1987). Association between morphology, karyotype, and clinical features in myeloid Leukemia. *18; 211-221.*
7. Boyer K; Acute myeloid leukemia. The internet of journal academic physician assistants 1997; 1(1) internet.
8. Clare, N., y Hansen, K., (1994). Citogenetics in the diagnosis of hematologic malignancies. *Hematology/Oncology clinics of North America.* 8; 785-807.

9. Collins, S., (1998). *Acute promyelocytic leukemia: Relieving repression induces remission. Blood.* 91; 2631-2633.
10. Crooke, M., Prestayko, D., (1981). *Introduction to clinical oncology. Academic Press* pp 3-10.
11. Coulthard, S., Chase, A., Orchard, K., Watmore, A., Vora, A., Goldman, J., and Swirsky, M. (1998). *Two cases of inv(8)(p11;q13) in AML with erythrophagocytosis: a new cytogenetic variant. Br J Haematol* 100; 561-563.
12. De la Fuente, J., Robles, J., Castañeda, J., Solís, R., Tamayo, J., Conyer, R., (1996). *Registro histopatológico de neoplasias en México, 1er ed. Secretaría de Salud.* pp. 67-70.
13. Degos, L. (1994). *Is acute promyelocytic leukemia a curable disease? Treatment strategy for a long-term survival. Leukemia* 8; 5-8.
14. Díaz, M., y Bautista, T. (1994). *Estudio citogenético preliminar en el diagnóstico de las leucemias agudas. Tesis de Licenciatura. ENEPI UNAM.* 139 pp.
15. Diverio, D., Pandolf, P., Rossi, V., Biond, A., Pelicci, G., Lo Coco, F. (1994). *Monitoring of treatment outcome in acute promyelocytic leukemia by RT-PCR. Leukemia* 8; 63-65.
16. Fenaux, P., Preudhomme, C., Lai, I., Morel, P., Beuscart, R. and Bauters, F. (1989). *Cytogenetics and their prognostic value in de novo acute myeloid leukemia: a report on 283 cases. Br J Haematol.* 73; 61-67.
17. Frankel, S., Eardley, A., Lauwers, G. (1992). *The "retinoic acid syndrome" in acute promyelocytic leukemia. Annals of Internal Medicine* 117(4): 292-296.
18. El rafaí, W., Ruutu, R., Vettenranta, K., Elonen, E., Saarinen, U., Volin, L., Knuutila, S. (1997). *Follow-up of residual disease using metaphase-FISH in patients with acute non-lymphoblastic leukemia in remission. Leukemia.* 11; 633-638.
19. Grignani, F., Fagioli, M., Alcalay, M., Longo, L., Pandolfi, P., Donti, E., Biondi, A., Lo Coco, F., Grignani, F., and Pelicci, G. (1994). *Acute promyelocytic leukemia: from genetics to treatment. Blood.* 83; 10-25.

20. Grimwade, D., Walker, H., Oliver, F., Wheatley K., Harrison, C., Harrison, G., Rees, J., Hann, I., Stevens, R., Burnett, A., Golstone, A. (1998). The importance or diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. *Blood*. 92; 2322-2333.
21. Hagemeijer, A., Klein, A., Wijsman, J., Meerten, E., Greef, G., y Sacchi, N., (1998). Development of an interphase fluorescent in situ hybridization (FISH) test to detect t(8;21) in AML patients. *Leukemia*. 12; 96-101.
22. Han, I., Stevens, R., Golstone, A., Rees, J., Wheatley, K, Gray, R., Burnett, A. (1997). Randomized comparison of DAT versus ADE as induction chemotherapy in children and younger adults whith acute myeloid leukemia. results of the medical research councils 10th AML trial(MRC AML 10). *Blood*. 89;2311-2318.
23. Heim, S., y Mitelman, F., (1987). *Cancer cytogenetics: chromosomal and molecular genetic aberrations of tumor cells*, 1ed. New York.
24. Hfiorns, L., Min, T., Swansbury, G., Zelent, ., Dyer, M., and Catovsky. (1994). Interstitial insertion of retinoic acid receptor- α gene in acute promyelocitic leukemia with normal chromosomes 15 and 17. *Blood*. 8; 2946-2951.
25. Holmers, L., (1992). *Chronic leukemias in clinical haematology and fundamentals of hemostasis* eds. Denise M. Harmening, Ph. D., 2da Ed. E. A. Davis Company.
26. Hoyle, C., Sherrington, P., Hayhoe, F. (1987). Cytological features of 9(q-) deletions in AML. *Br J Haematol*. 66; 277-278.
27. ISCN (1995). *An International system for human cytogenetic nomenclature*. Mitelman, F (ed). S. Karger: Basel, 1995.
28. Jansen, J., de Ridder, M., Geertsma, W., Erpelinck, C., van Lom, K., Smit, E., Slater, R., vd Reijden, B., Greef, G., Sonneveld, P., and Löwenberg, B. (1999). Complete Remisión of t(11;17) Positive acute promyelocitic leukemia induced by all-trans retinoic acid and granulocyte colony-stimulating factor. *Blood*. 94; 39-45.
29. Kwong Y. and Wong, K., (1995). Hyperdiploid acute myeloid leukemia. Relationship between blast size and karyotype demonstrated by fluorescence in situ hybridization. *Cancer Genet Cytogenet*. 83.1:1-4.

30. Lafage-Pochitaloff, M., Alcalay, M., Brunel, V., Longo, L., Sainty, D., Simonetti, J., Birg, F., Pelicci, G., (1995). Acute promyelocytic leukemia cases with nonreciprocal PML/RAR α or RAR α /PML fusion genes *Blood*: 5; 1169-1174.
31. Lavau, C., and Dejean, A. (1994). The t(15;17) translocation in acute promyelocytic leukemia. *Leukemia*. 8; 9-15.
32. Leith, C., Kopecky, K., Godwin, J., McConnell, T., Slovak, M., Chen, D., Head, D., Appelbaum, F. and Willman, C. (1997). Acute myeloid leukemia in the elderly: assessment of multidrug resistance (MDR1) and cytogenetics distinguishes biologic subgroups with remarkably distinct responses to standard chemotherapy. A southwest oncology group study. *Blood*. 89; 3323-3329.
33. Luna-Fineman, S., Shannon, K., Atwater, S., Davis, J., Masterson, M., Ortega, J., Sanders, J., Steinhilber, P., Weinberg, V., Lange, B. (1999). Myelodysplastic and myeloproliferative disorders of childhood: a study of 167 patients. *Blood*. 2; 459-466.
34. Marshall, A., Litchman, M., Acute Myelogenous Leukemia: Hematology. Beutler, E., Litchman, M., Collier, B., Kipps, J., (1995) 5th Edition pp. 1668.
35. Mauritzson, N., Johansson, B., Albin, M., Rylander, L., Ahlgren, T., Mikoczy, Z., Strömberg, U., Mitelman, F., Hagmar, L. and Nilsson, P. (2000). Survival time in a population-based consecutive series of adult acute myeloid leukemia – the prognostic impact of karyotype during the time period 1976-1993. *Leukemia* 14;1039-1043.
36. Mayer, R., Davis, R., Schiffter, C., Berg, D., Powell, B., Schulman, P., Omura, G., Moore, J., McIntyre, D., Frei, E. (1994) Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 331; 896.
37. McKenzie, S. (1991) *Hematologia clinica Ed. Manual Moderno* pp 845-860.
38. Nuciflora, G., Rowley, J., (1995) AML1 and the 8;21 and AML1 translocation in acute and chronic myeloid leukemia. *Blood*. 86; 1-14
39. Nylund, S., Ruutu, T., Saarinen, U., and Knuutila, S. (1994). Metaphase fluorescence in situ hybridization (FISH) in the follow-up of 60 patients with haemopoietic malignancies. *Br J Haematol*. 88; 778-783.
40. Perkins, M., (1992) *Introduction to leukemia and the acute leukemias in clinical haematology and fundamentals of hemostasis* eds. Denise M. Harmening, Ph. D. 2nd ed. E. A. Davis Company

41. Pérez, J., (1995) *Hematología*. 3era. Edición. Ed. Disinfimed, C.A.
42. Pedersen-Bjergaard, J., and Philip, P. (1987) Cytogenetic characteristic of therapy-related acute nonlymphocytic leukaemia, preleukaemia and acute myeloproliferative syndrome: correlation with clinical data for 61 consecutive cases. *Br J Haematol*. 66; 199-207.
43. Raimondi, S., Chang, M., Ravindranath, Y., Behm, F., Gresik, M., Steuber, C., Weinstein, H., Carol, A. (1999). chromosomal abnormalities in 478 children with acute myeloid leukemia: clinical characteristics and treatment outcome in a cooperative pediatric oncology group study-POG 8821. *Blood*. 11; 3707-3716.
44. Rowley, J., y Mitelman, F., *Principles of molecular cell biology of cancer. chromosome abnormalities in human cancer and leukemia in cancer: principles and practice of oncology*. DeVita, V., (eds) Hellman, S., Rosenberg, S., Lippincott, J., (1993) 4ª Ed.
45. Rinsky, R., Smith, A., Hornung, R., Filloon, T., Young, R., Okun, A., Landrigan, P. (1987) Benzene and leukemia. *N. Eng. J. Of Med.* 316; 1044-1049.
46. Rozman, C., y Farrera, P., (1992). *Medicina Interna*. 12ª ed. Ed. Doyma, Barcelona, pp 1310-1320.
47. Ruiz-Argüelles y San Miguel (1996). *Actualización en leucemias*. 1era. ed. Panamericana.
48. Saunders, M., Tobal, K., Yin, J. (1994) Detection of t(8;21) by reverse transcriptase chain reaction in patients in remission of acute myeloid leukemia type M2 after chemotherapy or bone marrow transplantation. *Leuk res* 18; 891-895.
49. Scheinberg, D., y Golde, D., *Las Leucemias en principios de medicina interna*, Jean D, Wilson Harrison's (eds) Braunwald, E., Isselbacher, K., Petersdorf, R., Martin, J., Fauci, A., Root, R. (1994) 18ª Ed. Interamericana pp 2030-2045.
50. Schnittger, S., Kinkel, U., Schoch, Heinecke, A., Haase, D., Haferlach, T., Büchner, T., Wörmann, B., Hiddemann, W. And Griesinger, F. (2000) Screening for MLL tandem duplication in 387 unselected patients with AML identify a prognostically unfavorable subset of AML. *Leukemia* 14; 796-804.

51. Schoch, C., Haase, D., Fonatsch, C., Haferlach, T., Löffler, H., Schlegelberger, B., Hossfeld, D., Becher, R., Sauerland, M., Heinecke, A., Wörmann, B., Büchner, T., and Hiddemann, W. (1997) The significance of trisomy 8 in de novo acute myeloid leukaemia: the accompanying chromosome aberrations determine the prognosis. *Br J Haematol.* 99; 605-611.
52. Taylor, P., Reid, M., Stark, A., Brown, N., Hamilton, P., Proctor, S. (1995) De novo acute myeloid leukemia in patients over 55-years old: a population based study of incidence treatment and outcome. *Leukemia* 9; 231.
53. Verma, R., (1989) *Manual of basic techniques Human Chromosomes.* Ed. Pergamon Press. Inc New York.
54. Willemze, S., Suci, F., Mandelli, T., deWitte, M., Cadiou, M., Castoldi, G., Liso, V., Dardenne, M., Solbu, G. and Zittoun, R. for the AORTIC Leukemia Cooperative Group (1994) Treatment of patients with acute promyelocytic leukemia. The EORTC-LCG experience. *Leukemia.* 8; 48-55.