



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

ESPECIALIZACIÓN EN BIOQUÍMICA CLÍNICA

**“FRECUENCIA DE FENOTIPOS ABERRANTES EN PACIENTES CON
LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA QUE ACUDEN AL DEPARTAMENTO DE
HEMATOLOGÍA ESPECIAL DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES SIGLO XXI
Y SU RELACIÓN CON MUTACIONES Y ALTERACIONES CROMOSÓMICAS
DOCUMENTADAS”**

QUE PARA OBTENER EL:

GRADO DE ESPECIALISTA

EN:

BIOQUÍMICA CLÍNICA

PRESENTA:

QFB. JUAN DANIEL LÓPEZ SÁNCHEZ



TUTOR DE TESINA:

M. EN C. LAURA JOSEFINA RABELO CARRASCO

Ciudad Universitaria, CDMX, 2023



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.

Ciudad de México, 01 diciembre 2022

Dra. Marta A. Menjivar Iraheta

Coordinadora del Posgrado en Bioquímica Clínica

Profesor Titular "C" de TC definitivo

Facultad de Química UNAM

PRESENTE

Por medio de la presente informo que he revisado la tesina titulada **"FRECUENCIA DE FENOTIPOS ABERRANTES EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA QUE ACUDEN AL DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGÍA ESPECIAL DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES SIGLO XXI Y SU RELACIÓN CON MUTACIONES Y ALTERACIONES CROMOSÓMICAS DOCUMENTADAS"**, desarrollada por el alumno **Juan Daniel López Sánchez** para obtener el grado de Especialista en Bioquímica Clínica, con lo cual doy mi aprobación para ser presentada ante el Comité pertinente.

Agradezco de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

Atentamente



M. en C. Laura Josefina Rabelo Carrasco
Jefatura del departamento de Hematología Especial
Hospital de Especialidades CMNS XXI

DEDICATORIAS:

A mi familia por todo el apoyo incondicional que siempre han demostrado a cada uno de sus integrantes.

AGRADECIMIENTOS:

A mi directora de tesina la M. en C. Laura Josefina Rabelo Carrasco por permitirme trabajar a su lado nuevamente, por compartir su tiempo y sus conocimientos. Al igual que por sus paciencia y empeño en el desarrollo de este trabajo. Así como al resto del equipo de Hematología Especial.

Finalmente, agradezco a la Dra. Marta Menjívar, a la Dra. Barbara Peña y a la Dra. Guadalupe Ortiz por la oportunidad de ingresar al posgrado y de orientarme hacia poder completar este curso satisfactoriamente, lamento que haya sido tan poco tiempo. Al resto de profesores por compartir su experiencia y conocimientos.

RESUMEN

La leucemia mieloide aguda (LMA) comprende un grupo heterogéneo de neoplasias hematológicas donde la presencia de modificaciones genéticas o epigenéticas afectan la regulación del ciclo celular, produciendo un crecimiento y división celular acelerada acompañado de una inhibición de la apoptosis y mecanismo de muerte celular programada. Dentro de esta patología se han descrito aberraciones fenotípicas en la expresión de antígenos, que son detectadas por análisis inmunofenotípico de sangre periférica (SP) o médula ósea (MO) mediante citometría de flujo (CF).

En este proyecto, se determinó la frecuencia de dichas aberraciones en pacientes con diagnóstico de LMA que acudieron al Hospital de Especialidades CMNSXXI comprendidos entre 2017-2022, siendo las más frecuentes la infidelidad de línea (coexpresión CD7, CD19 y CD56), alteración en la expresión antigénica (sobrexpresión de CD123) y asincronía en la maduración (CD11/CD16) en pacientes mexicanos con leucemias de novo (LMA_n) y secundarias (LMA_{sec}), las cuales con base en la bibliografía, se relacionan con alteraciones citogenéticas (t8;21, del5, t9;22, inv6, etc.) y moleculares (TP53, RUNX1, JAK2, FLT3, etc.), por lo que el uso de pruebas de biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o la secuenciación de nueva generación (NGS), así como, técnicas citogenéticas como el cariotipo convencional o de alta resolución y la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) permiten un diagnóstico preciso lo que ayuda a determinar la severidad y pronóstico de la enfermedad, así como, el manejo personalizado del paciente mediante un tratamiento dirigido hacia dichos marcadores y el seguimiento mediante la detección de enfermedad mínima residual (EMR).

ABREVIATURAS

ADN= Ácido desoxirribonucleíco

ARN= Ácido desoxirribonucleico

CD= Grupo de diferenciación

CF= Citometría de flujo

CFM= Citometría de flujo multiparamétrica

EMR= Enfermedad mínima residual

FAB= Grupo franco-americano-británico

FISH= Hibridación fluorescente *in vitro*

LMA= Leucemia mieloide aguda

LMAn= Leucemia mieloide aguda *de novo*

LMAssec= Leucemia mieloide aguda secundaria

NGS= Secuenciación de nueva generación

MO= Médula ósea

OMS= Organización mundial de la salud

PCR= Reacción en cadena de la polimerasa

SP= Sangre periférica

ÍNDICE

1.- Antecedentes	1
1.1.- Hematopoyesis	1
1.2.- Leucemia	5
1.3.- Leucemia mieloide aguda	7
1.4.- Aberraciones fenotípicas en LMA	16
1.5.- Alteraciones citogenéticas y moleculares	17
2.- Pregunta de investigación	22
3.- Hipótesis	22
4.- Objetivo general	22
4.1.- Objetivos específicos	22
5.- Metodología	23
6.- Análisis estadístico	28
7.- Resultados	30
8.- Análisis de resultados	31
9.- Conclusión	35
10.- Referencias	37

1.- ANTECEDENTES

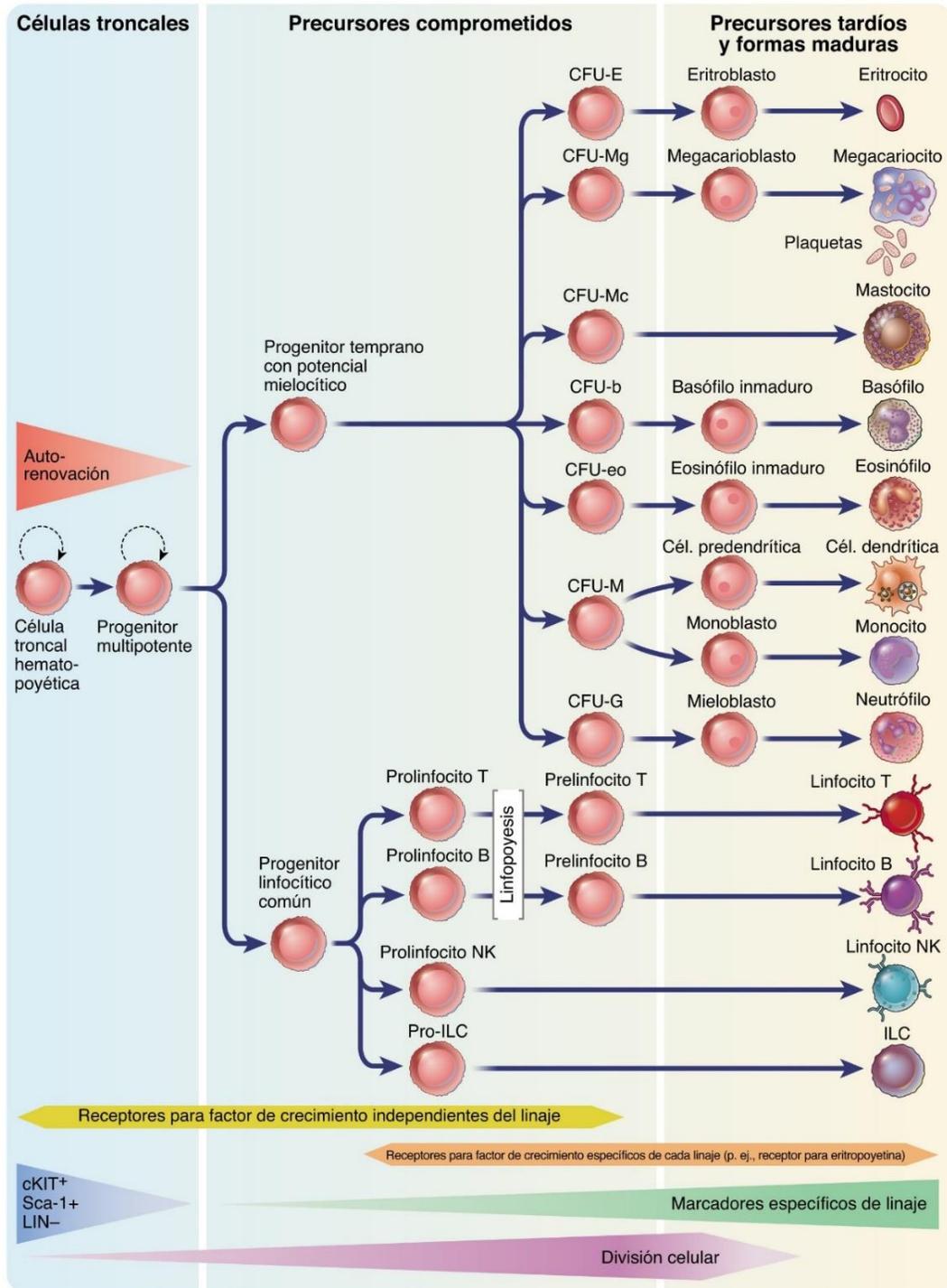
1.1- HEMATOPOYESIS:

La sangre es un tejido líquido que contiene una serie de células especializadas esenciales para la supervivencia, las cuales son: los eritrocitos, encargados del transporte de oxígeno a los tejidos; las plaquetas, que intervienen en la coagulación y en la integridad tisular; y los leucocitos, que cumplen funciones de defensa del huésped, éstos últimos incluyen varios tipos celulares con funciones específicas: los granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos), linfocitos y monocitos. La formación de estas células se lleva a cabo mediante un proceso llamado hematopoyesis (figura 1) (Sans, 2001), siendo el mecanismo fisiológico responsable de la formación continuada de los distintos tipos de elementos formes sanguíneos, manteniéndolos dentro de los límites de la normalidad en la circulación, es decir, es un proceso delicadamente regulado por la interacción entre factores de crecimiento y otros agentes quimiotácticos (figura 3) que mantienen la homeostasis del organismo (Rodak, 2004, p.62).

La hematopoyesis se lleva a cabo en diferentes sitios del organismo dependiendo de la etapa del desarrollo en la que se encuentre un individuo, iniciando en el saco vitelino durante el desarrollo fetal, este proceso ocurre de manera extraembrionaria alrededor de la segunda semana de gestación (fase mesoblástica). Durante el segundo trimestre, la hematopoyesis continuará en el hígado y bazo (fase hepática y esplénica), y

Figura 1.

Diagrama general de la hematopoyesis.

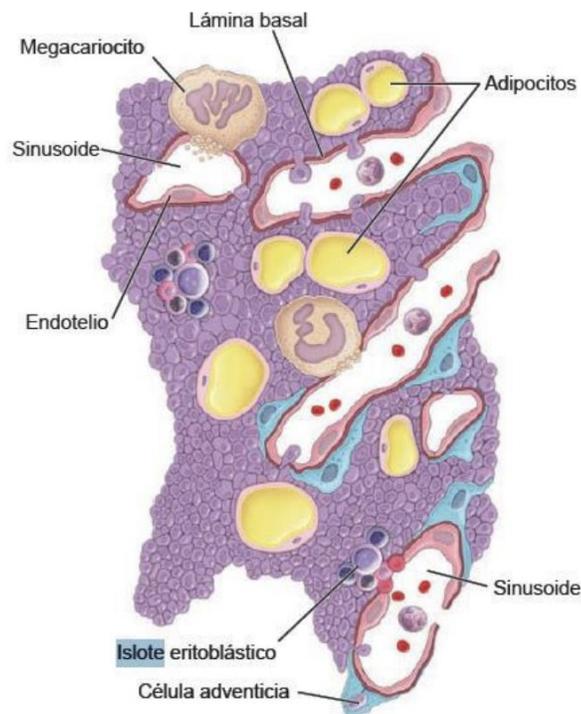


Nota. Imagen tomada de Elsevier connect, 2019.

alrededor de la onceava semana de gestación, la producción de sangre se dará en la médula ósea (MO) que es un tejido blando y graso contenido dentro de los huesos trabeculares que junto al estroma medular forma el microambiente medular, tienen la capacidad de anidar, permitir el crecimiento y diferenciación de las células madre hematopoyéticas (HSC o CTH) por el resto de la vida (Villalba y Mora, 2017). Este microambiente medular engloba un conjunto de citocinas, hormonas y diversos tipos celulares (células endoteliales, linfocitos T, macrófagos, células reticulares y adipocitos), que brindan soporte físico y fisiológico para la formación de sangre (Rodak, 2014, p.65).

Figura 2.

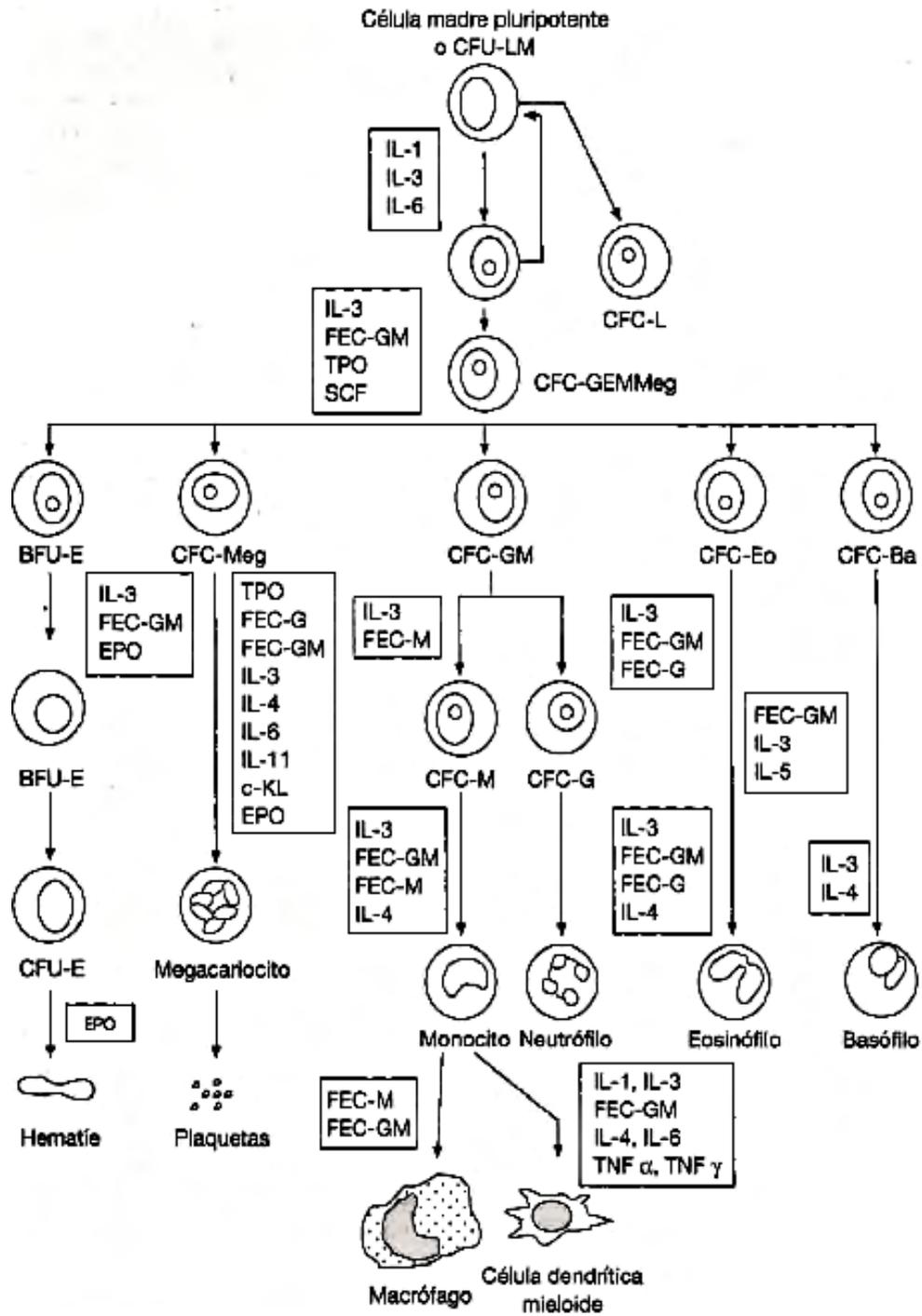
Microambiente medular.



Nota. Imagen tomada de Introduction to bone marrow and hematopoiesis (ankara.edu.tr).

Figura 3.

Factores de crecimiento involucrados en la hematopoyesis.



Nota. Imagen tomada de Magrini, 2019.

En el adulto, la hematopoyesis se desarrolla en huesos planos, principalmente en esternón, vertebras, huesos ilíacos y costillas. Cuando la médula ósea se daña o cuando se produce una demanda excesiva de producción de células sanguíneas nuevas, el hígado y el bazo se convierten en zonas de hematopoyesis extramedular. (Elsevier, 2019), sin embargo, cuando este equilibrio en el microambiente medular se rompe, da origen a una variedad de condiciones como anemia, SMD que en algunos casos conllevan al desarrollo de leucemias (Montes, 2019).

1.2 LEUCEMIA

La leucemia es un cáncer del tejido hematopoyético que se caracteriza por el aumento permanente, anormal y desordenado de leucocitos, lo que da lugar a una invasión de la médula ósea, lo que impide el desarrollo normal de las células progenitoras, y consecuentemente una deficiencia de glóbulos rojos, plaquetas y glóbulos blancos funcionales. Esto provoca que el organismo quede expuesto a un gran número de enfermedades sin posibilidad de que el organismo pueda luchar contra ellas por la carencia de defensas (Döhner et al., 2015).

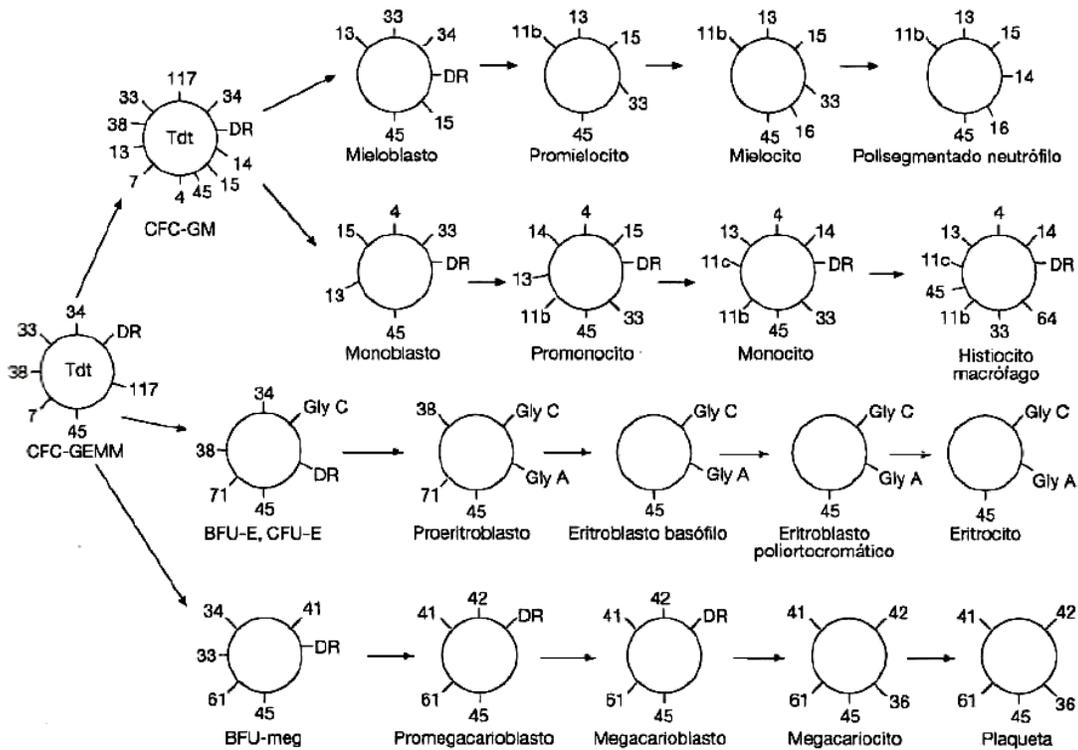
La leucemia es consecuencia de cambios genéticos y epigenéticos (mutaciones puntuales, rearrreglos de genes, deleciones, amplificaciones y arreglos en cambios epigenéticos que influyen en la expresión del gen) en las células hematopoyéticas precursoras que crea una clona de células anormales que son capaces de proliferar,

pero no se pueden diferenciar en células hematopoyéticas maduras ni sufrir una muerte celular programada (Labardini, 2016 y Sang, 2020).

Debido a la heterogeneidad de la leucemia y para una mejor comprensión de la misma, es posible clasificarla según el tipo de célula clonada, velocidad de aparición y estado de maduración celular que predomine, obteniendo así 4 tipos, siendo la leucemia aguda linfoblástica, leucemia aguda mieloblástica (más frecuente), leucemia mieloide crónica y leucemia linfocítica crónica (American Cancer Society, 2016).

Figura 4.

Distribución de antígenos de superficie durante la hematopoyesis.



Nota. Imagen tomada de Magrini, 2019.

A lo largo del estudio de las leucemias y con la integración de resultados obtenidos mediante estudios en citoquímica, inmunofenotipos, citogenética, biología molecular y la clínica de los pacientes, ha sido posible mejorar el manejo de estos, ya que estas herramientas permiten un diagnóstico más preciso y en muchos casos oportuno, lo que es importante para el pronóstico de la enfermedad, así como el diseño de un esquema de tratamiento adecuado para cada tipo de leucemia (Hou y Tiene, 2020).

En este trabajo se abordará exclusivamente a las LMA, las cuales aparecen a cualquier edad, siendo el tipo de leucemia aguda más frecuente entre los adultos; este tipo de leucemia se asocia generalmente con la radiación como agente causal y se considera la segunda enfermedad maligna secundaria a quimioterapia anticancerosa (Döhner et al., 2015 y Hou y Tiene, 2020).

1.3 LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

La LMA comprende un grupo heterogéneo de neoplasias de células hematopoyéticas de linaje mieloide (eritrocitos, megacariocitos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, mastocitos, monocitos, células dendríticas) que surgen de la expansión clonal de sus precursores en la médula ósea, interfiriendo con la diferenciación celular, lo que conlleva un síndrome de falla medular. Debido al fallo medular los pacientes cursan con anemia, neutropenia y trombocitopenia (Rodak, 2014).

Los eventos oncogénicos claves para el desarrollo de LMA son a menudo clasificados de acuerdo con el modelo de los 2 *hits* propuesto por Gilliland en el 2001, el cual supone que para el desarrollo de una LMA se deben asociar al menos 2 tipos de mutaciones: a) las mutaciones de clase I, que activan vías que confieren ventajas proliferativas o de supervivencia, y b) las mutaciones de clase II, que afectan los procesos de diferenciación celular y apoptosis, sin embargo, recientemente, con los estudios de secuenciación masiva, se ha identificado otro grupo de mutaciones que no caen dentro de estas categorías, por lo que se encuentran sin clasificar, pero principalmente incluyen genes implicados en modificaciones epigenéticas (Sang, 2020).

Se pueden distinguir 8 categorías funcionales de genes mutados (figura 5) que dan origen a este tipo de leucemia al afectar de manera importante el ciclo celular de las células hematopoyéticas en la médula ósea, las cuales son:

- Factores de transcripción: RARA (receptor alfa de ácido retinoico), CBF (factor de unión al núcleo), CEBPA (CCAAT/proteína alfa de unión al potenciador), MYC.
- Reguladores epigenéticos: KMT2A (histona-lisina N-metiltransferasa, también conocida como MLL, leucemia de linaje mixto), TET 2 (translocación de diez-once).
- Supresores de tumores: TP53 (proteína tumoral p53), WT1 (gen supresor de tumores de Wilms).
- Reparación de ADN: TP53.

- Señalización: NRAS (neuroblastoma-RAS), FLT3 (tirosina cinasa 3 relacionada con FMS).
- Metabolismo celular: IDH (isocitrato deshidrogenasa).
- Conjunto de nucleoproteína: NPM1 (nucleofosmina-1).
- Translocaciones cromosómicas por yuxtaposición de una unidad de transcripción intacta de un cromosoma a un elemento potenciador de un gen en otro cromosoma, por ejemplo, en t(14;18), el gen BCL-2 se transloca en el locus de la cadena pesada de inmunoglobulina (IgH), lo que conduce a la expresión inapropiada de un producto génico normal de BCL-2, o Formación de proteínas de fusión quiméricas donde las translocaciones cromosómicas pueden alterar dos genes diferentes dentro de sus secuencias de codificación, lo que lleva a la creación de una proteína quimérica: la t(8;21), que resulta de la formación de gen de fusión RUNX1, o la t(15;17), que lleva al gen de fusión PML/RAR alfa (Sang, 2020).

Se debe tener en consideración que la LMA es una enfermedad multifactorial, que adicionalmente implica la activación de oncogenes como MLL, MYC, ABL, BCL-2, RAS, etc., o la formación de genes quiméricos como BCR/ABL, PML/RAR alfa o AML1/ETO. Es importante prestar atención a la exposición a derivados del benceno y a radiaciones ionizantes, así como a agentes que dañan al ADN como los alquilantes, es importante el conocimiento de un tratamiento previo para otros tipos de cáncer que pueden provocar el desarrollo de LMA, algunas infecciones por retrovirus como HTLV-1 y 2, finalmente, aquellos padecimientos en los que hay inestabilidad cromosómica

como el Síndrome de Fanconi y el Síndrome de Down (tabla 1) (Sang, 2020 y World Health Organization, 2016).

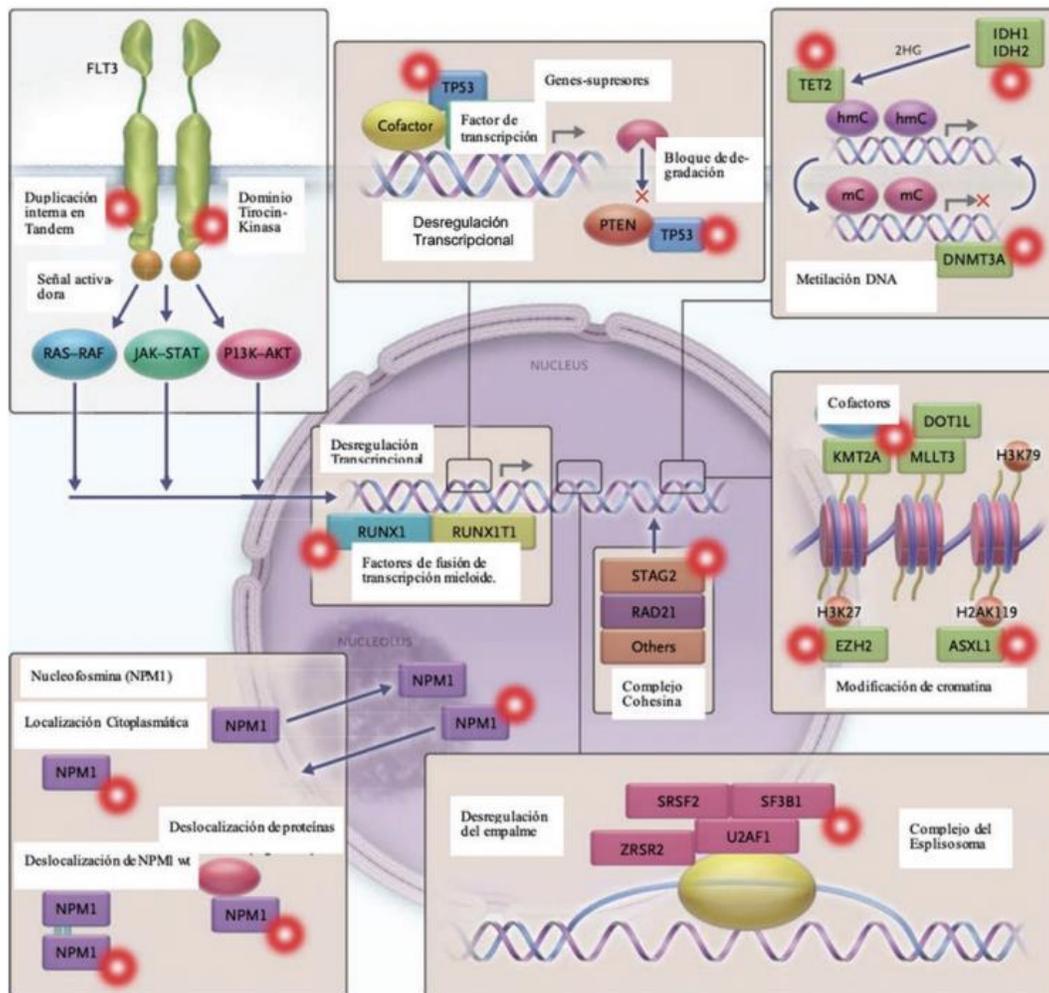
Identificar el inicio de una LMA resulta sumamente complicado debido a que cada persona tiene un umbral sintomático diferente y por lo tanto su tiempo de búsqueda de atención médica también lo es. Es posible que se den manifestaciones clínicas muy sutiles que hayan pasado desapercibidas en estudios meses o años atrás. Entre los criterios mundialmente aceptados para la investigación de un caso de LMA se requiere una cuenta de blastos en sangre periférica o médula ósea de al menos el 20% para considerarse como leucemia aguda, a excepción de la LMA con $t(15;17)$, $t(8;21)$, $inv(16)$ o $t(16;16)$, donde la presencia de estas alteraciones confirma el diagnóstico, además de la integración de la historia clínica del paciente (Infante, Pérez y Hernández, 2018).

Actualmente, una de las clasificaciones más utilizada por su practicidad para LMA es la propuesta por el grupo cooperativo franco-americano-británico (FAB)(tabla 3), especialmente en el momento en el que se detectan los elementos blásticos en sangre periférica del paciente, por lo tanto está basada en la morfología celular, y la clasificación más reciente de la OMS (WHO) del 2016 (tabla 4) que es de gran utilidad para el manejo clínico de los pacientes, ya que considera a las alteraciones genéticas y citogenéticas que pueden presentarse, esto al reunir un grupo de expertos en diferentes áreas como son patólogos, hematólogos, oncólogos y genetistas que integran características clínicas, morfológicas, inmunofenotípicas, citogenéticas y

moleculares para así actualizar estas clasificaciones (World Health Organization, 2016, Haferlach y Schmidts, 2019 y Labardini, 2016). La clasificación morfológica FAB forma parte de la clasificación establecida por la OMS como LMA sin otra especificación (LMA-NOS), que incluye aquellos casos que no cumplen con los criterios de inclusión en otros grupos (Merino, Boldú y Ermens, 2018 y World Health Organization, 2016).

Figura 5.

Categorías funcionales de mutaciones relacionadas con LMA.



Nota. Imagen tomada de Sang, 2020.

Gracias a los avances en biología molecular en especial con el uso de la NGS, se han mejorado tanto los criterios diagnósticos como los pronósticos de cada una de las entidades que se pueden presentar de LMA, también se han podido incluir otras entidades su clasificación gracias a estas técnicas, del mismo modo, en el campo de la citometría de flujo, el desarrollo y la mejora continua de paneles de anticuerpos dirigidos contra marcadores antigénicos específicos de cada tipo celular y estadio de maduración (figura 4) ha permitido establecer un diagnóstico preciso y con una mayor rapidez, por lo tanto la citometría de flujo multiparamétrica (CFM) es un método que se puede aplicar en más del 90 % de los casos y en comparación con la PCR a un menor costo y con menos precauciones al momento de realizar la técnica; adicionalmente, con una alta reproducibilidad y alta sensibilidad (Triana y Marsán, 2020).

Tabla 1.

Categorías de mutaciones relacionadas con LMA.

Categoría	Genes	Rol en la leucemogénesis en LMA
Genes mieloides de transcripción	Fusiones de factores de transcripción, así como t (8;21) (q22;22); RUNX1-RUNX1T1, inv (16)(p13.1q22) o t (16;16)(p13.1q22); CBFβ-MYH11	Desregulación transcripcional y diferenciación hematopoyética dañada.
Nucleofosmina (NMP1)	NPM1	Localización aberrante citoplasmática de NPM1 y sus proteínas de interacción.
Genes supresores	TP53, WT1, PHF6	Desregulación transcripcional y degradación por los reguladores negativos (oncogenes MDM2 y PTEN).
Genes de señalización	FLT3, KIT, PTPN11, RAS	Ventaja proliferativa sobre las vías de señalización RAS-RAF, JAK-STAT y PI3k-AKT

Metilación del ADN	DNMT3A, TET2, IDH1, IDH2	Desregulación de la metilación DNA y la producción de oncometabolitos.
Modificadores de cromatina	ASXL1, EZH2, KMT2A	Desregulación e la modificación de cromatina y la fusión dañada de metiltransferasas.
Complejo de cohesinas	STAG1, STAG2, RAD21, SMC1A, SMC3	Deterioro de la segregación cromosómica precisa y regulación transcripcional.
Factores de empalme	SRSF2, SF3B1, U2AF1, ZRSR2	Procesamiento de ARN desregulado y patrones de empalme aberrantes.

Nota. Tabla tomada de Sang, 2020.

Tabla 2.

Clasificación OMS 2016 de neoplasias hematológicas mieloides.

Neoplasias mieloides agudas OMS 2016	
LMA con anomalías genéticas recurrentes	Neoplasias mieloides relacionadas con tratamiento
LMA con t (8;21)(q22;q22.1)	LMA sin otra especificación LMA con mínima diferenciación
LMA con inv (16)(p13.1q22) o t (16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11	LMA sin maduración
LPA con PML-RARA	LMA con maduración
LMA con t (9;11)(p21.3;q23.3); KMT2A-MLLT3	LMMA
LMA t (6;9)(p23;q34.1); DEK-NUP214	LA monoblástica y monocítica
LMA con inv (3)(q21.3q26.2) o t (3;3)(q21.3;q26.2); GATA2, MECOM	Leucemia eritroide pura
LMA (megacarioblástica) con t (1;22)(p13.3;q13.1); RBM15-MKL1	Leucemia megacarioblástica aguda

LMA con BCR-ABL	Leucemia basofílica aguda
LMA con mutaciones genéticas	Panmielosis aguda con mielofibrosis
LMA con NPM1 mutado	Sarcoma mieloide
LMA con mutación bialélica de CEBPA	Proliferaciones mieloides asociadas con Síndrome de Down
LMA con RUNX1 mutado	Mielopoyesis anormal transitoria asociada con Síndrome de Down
LMA relacionada con cambios mielodisplásicos	LMA asociada a Síndrome de Down

Nota. Tabla tomada de World Health Organization, 2016

Tabla 3.

Clasificación de LMA según la FAB.

Clasificación de LMA según la FAB
M0: Leucemia mieloide aguda sin diferenciación
M1: Leucemia mieloide aguda con diferenciación mínima
M2: Leucemia mieloide aguda con diferenciación
M3: Leucemia promielocítica aguda hipergranular o típica
M3v: Leucemia promielocítica aguda hipogranular o variante
M4: Leucemia mielomonocítica aguda
M4v: Leucemia mielomonocítica aguda con eosinofilia
M5: Leucemia monocítica aguda
M6: Eritroleucemia
M7: Leucemia megacariocítica aguda

Nota. Tabla tomada de World Health Organization, 2016

Como se mencionó anteriormente, en la actualidad la CFM es considerada la prueba diagnóstica obligatoria en la caracterización de células neoplásicas en un gran número de malignidades hematológicas. La CFM es el método diagnóstico de elección para la caracterización inmunofenotípica de los blastos leucémicos y permite detectar alteraciones en la expresión de antígenos capaces de diferenciar células hematopoyéticas normales de células neoplásicas, siendo esto de gran utilidad para el monitoreo de EMR. Adicionalmente, los resultados obtenidos mediante CF, permiten una orientación sobre que pruebas moleculares y/o citogenéticas deben solicitarse con el propósito de llevar un correcto seguimiento de estos pacientes (Yu y Zheng, 2017). La caracterización de aberraciones fenotípicas utilizando CFM es un factor clave para el pronóstico y el manejo terapéutico de los pacientes con LMA, del mismo modo es orientativo para la solicitud de pruebas de biología molecular y/o citogenéticas para la clarificación de los genes afectados de manera precisa o si existen alteraciones cromosómicas conocidas, así como aquellas que se puedan integrar a las clasificaciones ya existentes que se encuentran en constante actualización (Merino, Boldú y Ermens, 2018).

Actualmente la incidencia de las LMA a nivel mundial reporta entre cinco y ocho casos nuevos por cada millón en menores de 15 años, mientras que la tasa anual en Ciudad de México es de 8.18 casos por millón, siendo la leucemia aguda promielocítica (LMA M3) la LMA más frecuente, con una incidencia de 25.3% y con un predominio del género masculino de 57.1% (Laura et. al., 2021).

1.4 ABERRACIONES FENOTÍPICAS EN LMA:

Básicamente, las aberraciones fenotípicas son aquellas situaciones en las que marcadores antigénicos distintos al linaje original de las células neoplásicas o leucémicas se presentan o cuando se altera la secuencia de expresión de estos marcadores. Estas aberraciones son producto de defectos genéticos o cromosómicos, ya sean heredados o adquiridos (World Health Organization, 2016).

En general, estos inmunofenotipos aberrantes pueden ser:

- Infidelidad de linaje o coexpresión de antígenos asociados a otro linaje: Es un fenómeno donde existe una expresión anormal de antígenos que no pertenecen a la línea celular de interés, generalmente se relacionan con pronósticos desfavorables (Shahni et al. 2018, y Abdulateef 2014).
- Ausencia de expresión de antígenos específicos de linaje: Hace referencia a la pérdida de antígenos correspondientes a estadios de maduración específicos (Chen, 2017).
- Alteración de la expresión de antígeno: Las células leucémicas pueden presentar una expresión aberrante, ya sea por sobreexpresión, menor expresión o expresión parcial de cierto antígeno por célula (Chen, 2017).
- Asincronismo madurativo: Una expresión sin sincronía de antígenos que pertenecen a estadios inmaduros son coexpresados con antígenos presentes en estadios más maduros (Khakhlari et al., 2017).

- Fenotipo ectópico: Presencia de células con fenotipo no presente en ese tipo de muestra en condiciones normales (Hrusák y Porwit, 2020).
- Características anormales de tamaño y complejidad interna de la población celular (Hrusák y Porwit, 2020).

En la tabla 1 no se incluyen aquellas leucemias agudas de linaje ambiguo y sus subtipos, sin embargo, son de gran importancia debido a que existen casos donde hay más de 1 línea celular, las cuales pueden presentar patrones inmunofenotípicos independientes que se pueden interpretar como una aberración fenotípica en 1 sola línea (Escors et al., 2016 y Cuellar et al., 2020).

Con base en numerosos estudios, se ha estimado que en cerca del 75% de los casos de LMA se presenta al menos un tipo de fenotipo aberrante al diagnóstico (Soriano et al., 2014), en estudios procedentes de otros países se ha reportado que la asincronía en la maduración y la infidelidad de línea es la aberración fenotípica más frecuentes en LMA (57 % y 51.8% respectivamente) (Jaddaoui, 2022).

1.5 ALTERACIONES CITOGENÉTICAS Y MOLECULARES

Aunque los estudios morfológicos, citoquímicos, inmunológicos, citogenéticos y moleculares aportan información para el diagnóstico de la LMA, en los últimos años los biomarcadores con base molecular proporcionan una mejor definición del diagnóstico, tienen mayor relevancia para el pronóstico y son importantes en la

evaluación de la respuesta terapéutica (Papaemmanuil E., et al., 2016 y Estey E.H., 2018).

Infidelidad de línea.

El antígeno CD7 es una glicoproteína integrada en la membrana con un peso molecular de 40 kDa. Se expresa en una etapa temprana de ontogenia de linaje T, durante la formación protimocítica extratímica. La expresión de CD7 persiste durante la diferenciación de linfocitos T, lo que define al CD7 como marcador pan-T. Su expresión está relacionada con la activación de linfocitos T, tiene un dominio citoplasmático que se une a la fosfoinositol 3 kinasa (Janeway, 2002).

Un estudio de hibridación en células somáticas permitió saber que el gen de este marcador se encuentra en el cromosoma 7. La expresión aberrante de CD7 que se asocia a linfocitos T en pacientes con LMA es la aberración más frecuente en LMA. La presencia de esta aberración afecta al pronóstico clínico, el tiempo de remisión y la supervivencia (Hassan, 2022). Esta expresión se relaciona con mutaciones en los genes RAS y RUNX, con t(8;22) provocando una desregulación transcripcional y de la diferenciación hematopoyética (Lv, 2021). El resultado final de la proteína quimérica generada provoca supresión de algunos genes promotores, localización fuera del microambiente nuclear normal y, por tanto, la imposibilidad para su unión con otros factores hematopoyéticos y reducción de su movilidad, lo que afecta la diferenciación mieloide y predispone a nuevos eventos leucemogénicos (Garrote, 2018).

Respecto al antígeno CD19 se sabe que es una glicoproteína de membrana que se encuentra en los linfocitos B y tiene la función de amplificar la fuerza y duración de las señales del receptor de antígenos de células B (BCR). Su expresión aberrante en LMA se relaciona con t(8;21)(q22;q22), sin embargo existen casos donde esta translocación no se presenta pero hay coexpresión de CD19. Se considera que está relacionada con un pronóstico favorable de la enfermedad (Shahni et al. 2018).

El CD56 es una isoforma de la molécula de adhesión celular neural (N-CAM). El antígeno CD56 se expresa moderadamente en una subpoblación de linfocitos granulares grandes de sangre periférica y en todas las células con actividad citolítica natural (NK). También se expresa en subgrupos de linfocitos T. Su expresión aberrante en LMA se puede relacionar con el reordenamiento 11q23/ KMT2A (lisina metiltransferasa 2A). El gen KMT2A comparte un alto grado de homología con el gen trithorax de la drosófila y codifica una histona metiltransferasa que actúa como regulador epigenético de la transcripción. Esta alteración implica un pronóstico desfavorable (Shahni et al. 2018).

En pacientes con LMA t (8;21) se reconoce un pronóstico favorable, sin embargo, algunos pacientes decaen rápidamente dentro los primeros meses a partir del diagnóstico a pesar de la quimioterapia, estos pacientes con resultados adversos llegan a presentar diferentes indicadores que reflejan el pronóstico de su padecimiento, como son aberraciones citogenéticas adicionales, leucocitosis, expresión de CD19 y CD56 con manifestaciones extramedulares (Ortolani, 2016).

Alteración en la expresión antigénica.

Una de las diferencias entre los progenitores normales y los blastos leucémicos es su sensibilidad a los factores de crecimiento hematopoyéticos. Se sabe que la subunidad alfa del receptor de IL-3 (CD123) se sobre expresa en blastos leucémicos mientras que en células CD34+CD38- se mantiene en niveles normales, esto debido a una mutación en el gen FLT3 que provoca su sobreexpresión en los blastos. La interleucina 3 es una citoquina producida por linfocitos T CD4+, que tiene, entre otras funciones, la capacidad de promover la proliferación de células hematopoyéticas como colonias eritroides, mieloides, megacariocíticas y linfoides, del mismo modo estimula la proliferación de mastocitos y su liberación de histamina (Al-Mawali et al., 2016).

Gracias a los ensayos clínicos con anticuerpos monoclonales con propósito terapéutico, donde estos anticuerpos anti-CD123 conjugados son dirigidos hacia las células que sobreexpresan este marcador. El talacotuzumab es un anticuerpo monoclonal que activa a células NK y por lo tanto promueve la lisis celular (Bras et al., 2019 y Buckley, 2015).

Asincronía en la maduración

Se han reportado diferentes tipos de asincronía que involucran la presencia de antígenos de etapas inmaduras como CD117+/CD34+ y marcadores de etapas maduras como CD11c, CD15, CD65, etc. Para esta aberración están asociadas

alteraciones cromosómicas que involucran genes como que regulan la maduración y diferenciación celular como t(8;21) y t(15;17), implicando un pronóstico favorable cuando solo hay una alteración en una sola línea celular, el pronóstico se vuelve más desfavorable conforme se afectan más líneas celulares (Papaemmanuil E., et al., 2016).

Características anormales

Cambios en el tamaño y en la granularidad o complejidad de los blastos leucémicos pueden ser controlados por genes como ATRIX, JAK2, CBF, CEBPA, etc., que están implicados en diferenciación y maduración celular (Al-Mawali et al., 2016).

Pérdida de marcadores

La pérdida de CD34 se relaciona con mutaciones en el gen NPM1 (Pianigiano, 2022). Diferentes estudios in vitro y algunos escasos estudios clínicos han demostrado asociación entre la expresión de CD34 y resistencia a la apoptosis y múltiples medicamentos de quimioterapia, por lo que se hace muy importante la exploración clínica de esta variable como factor pronóstico en pacientes con LMA (Cardenas y Yhonny 2016).

2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:

¿Cuáles son las frecuencias de las aberraciones fenotípicas en pacientes con leucemia mieloide aguda y las mutaciones o alteraciones cromosómicas relacionadas con estas?

3. HIPÓTESIS:

Actualmente se definen diferentes tipos de aberraciones fenotípicas dentro de la LMA, las cuales se relacionan con el origen, evolución y pronóstico de estas, del mismo modo existe evidencia documentada de que estas aberraciones son producto de cambios a nivel molecular como son mutaciones en genes específicos o alteraciones cromosómicas que están involucradas en el control del ciclo celular de células hematopoyéticas y del microambiente medular.

4. OBJETIVO GENERAL:

Determinar la frecuencia de fenotipos aberrantes en pacientes con diagnóstico de LMA que acuden al departamento de Hematología Especial del Hospital de Especialidades Siglo XXI, la diferencia entre aquellas LMA de novo y secundarias, así como relacionar con la evidencia de mutaciones o alteraciones cromosómicas reportadas en la literatura.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Comparar frecuencias obtenidas de LMA_n y LMA_{sec} y conocer si hay diferencia significativa entre ellas.
- Relacionar las mutaciones o alteraciones citogenéticas reportadas en la literatura con las aberraciones fenotípicas encontradas en este estudio.

5. METODOLOGIA:

El tipo de estudio fue **Retrospectivo, Observacional y Longitudinal**, donde los datos incluyeron la información de un periodo de 5 años, a partir del año 2017 hasta noviembre del 2022, y de **Revisión bibliográfica** con ayuda de buscadores científicos como PubMed, Science Direct, Web of Science, Scopus y Scielos, buscando mutaciones o aberraciones cromosómicas relacionadas con LMA debido a que no se cuenta con resultados de biología molecular o citogenética para realizar una comparación directa.

Criterios de inclusión:

- Pacientes que obtuvieran un diagnóstico de LMA sin distinguir entre los diferentes tipos según la clasificación FAB.
- Sexo y edad indistintos.

- Pacientes con alguna enfermedad concomitante, siempre que cuenten con un inmunofenotipo al diagnóstico.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con algún otro tipo de leucemia.
- Resultados de años anteriores al 2017 debido a que no se contaba con la estandarización por parte del grupo Euroflow

Criterios de eliminación:

- Resultados incompletos, en especial aquellos que no reportan marcadores de línea específicos.

Cálculo del tamaño de muestra:

Se utilizó la fórmula para una población finita de observaciones:

$$n = \frac{NZ^2pq}{d^2(N-1)+Z^2pq} \quad ; \quad n = \frac{(327)(1.96)^2(0.75)(0.25)}{(0.05)^2(326)+(1.96)^2(0.75)(0.25)} = \mathbf{153.74}$$

El cálculo se realizó con el dato de 75% de prevalencia de aberraciones en LMA.

Tabla 4.

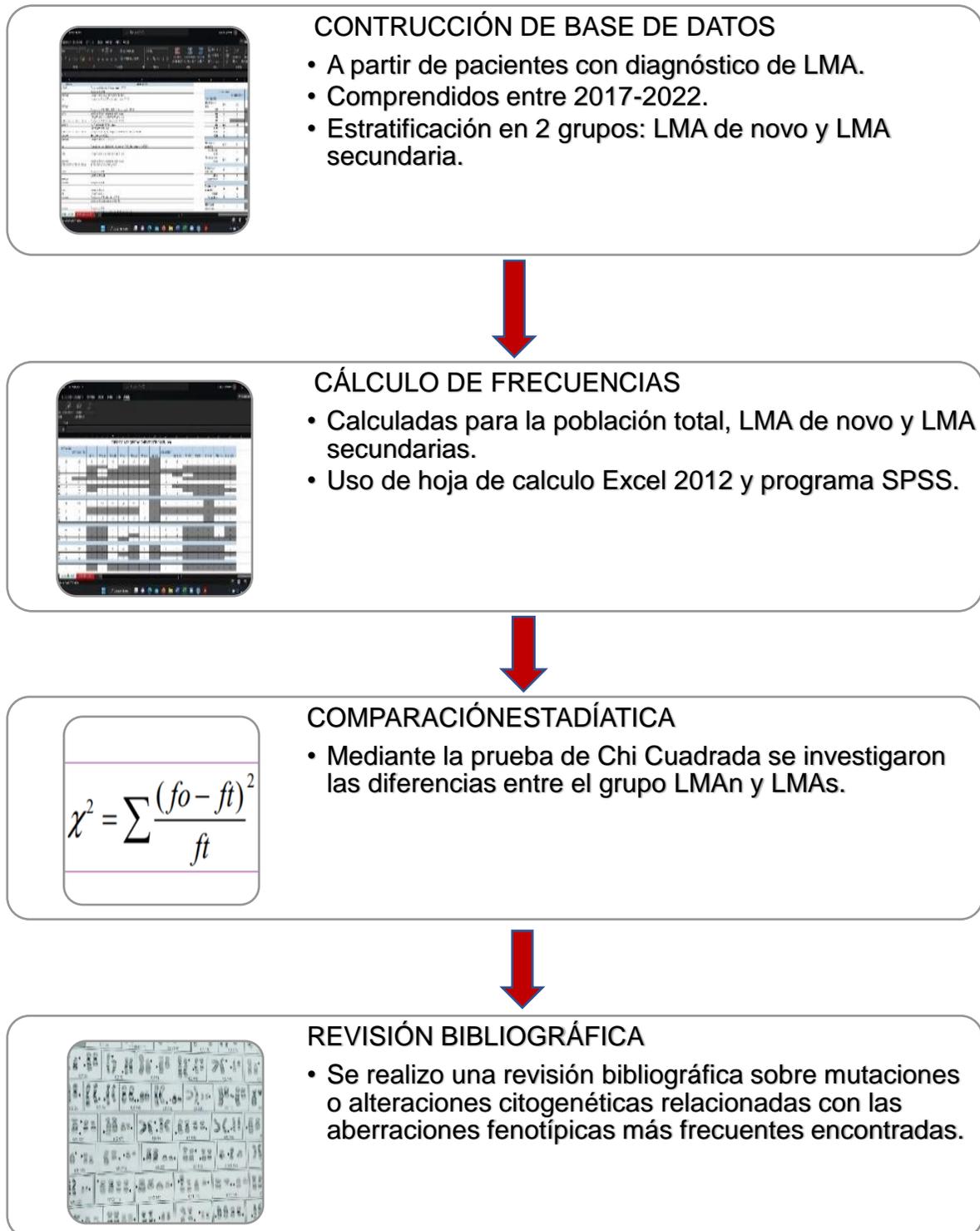
Tabla de operalización de variables.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	UNIDAD DE MEDIDA
FRECUENCIA DE ABERRACIONES FENOTÍPICAS	Número de componentes dentro de un intervalo con cierta distribución	Porcentaje de pacientes que presentan cierta aberración fenotípica con respecto al total de pacientes diagnosticados con LMA.	CUANTITATIVA CONTINUA	PORCENTAJE
TIPO DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA	Basado en el inmunofenotipo existe una clasificación desarrollada por el grupo FAB que consta de 7 tipos de LMA	Tipo de LMA diagnosticada con base en el inmunofenotipo resultante.	CUALITATIVA NOMINAL	M0: Sin diferenciación M1: Sin maduración M2: Con maduración M3: Promielocítica M4: Mielomonocítica M5a o M5b: Monoblástica M6: Eritroleucemia M7: Megacarioblástica Relacionada con SMD
TIPO DE ABERRACIÓN FENOTÍPICA	Las anormalidades fenotípicas incluyen la expresión de antígenos de un linaje diferente, la ausencia o sobreexpresión de un antígeno comúnmente expresado, la coexpresión de antígenos presentes en diferentes estadios de maduración y la presencia de fenotipos nunca presentes en médula ósea	Dependiendo de los marcadores antigénicos presentes en el inmunofenotipo, se determina si es una coexpresión, sobreexpresión o si hay asincronía en la maduración celular.	CUALITATIVA NOMINAL	INFIDELIDAD DE LÍNEA ASINCRONÍA DE MADURACIÓN PERDIDA DE EXPRESIÓN SOBREEXPRESIÓN
TIPO DE ALTERACIÓN GENÉTICA	Las LMA son causadas por defectos genéticos que impiden que el ciclo celular se desarrolle de manera normal y equilibrada dentro de la médula ósea, estos defectos pueden	Alteración genética o cromosómica que potencialmente está relacionada con el inmunofenotipo resultante en estos pacientes y que	CUALITATIVA NOMINAL	MUTACIÓN DELECIÓN TRANSLOCACIÓN

EDAD	<p>ser a nivel de mutaciones o defectos cromosómicos.</p> <p>Tiempo transcurrido desde el nacimiento del individuo.</p>	<p>se relaciona con aberraciones fenotípicas. Años cumplidos desde la fecha de nacimiento hasta la fecha del diagnóstico.</p>	<p>CUANTITATIVA DISCRETA</p>	<p>INVERSIÓN</p> <p>AÑOS</p>
SEXO	<p>Características del individuo que lo permite catalogar como hombre o mujer.</p>	<p>Dato proporcionado durante la solicitud de estudio y diagnóstico.</p>	<p>CUALITATIVA NOMINAL</p>	<p>FEMENINO</p> <p>MASCULINO</p>

Figura 6.

Diagrama del flujo de trabajo.



Se reunió una base de datos de pacientes con diagnóstico de LMA que cuentan con inmunofenotipo realizado en el laboratorio de Hematología Especial mediante citometría de flujo del Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Una vez que la base de datos ha sido completada, se aplicó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov dado que el tamaño de la población de estudio es mayor a 50 datos, demostrando que los datos que componen este estudio siguen una distribución no paramétrica ($p=0.02$).

Los resultados recopilados fueron estratificados en aquellos casos de LMA de novo y aquellos casos de LMA secundaria. En el grupo de LMA sec. se incluyeron resultados de pacientes que presentaron una neoplasia primaria distinta a leucemia, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide crónica, aquellos con un diagnóstico previo de síndrome mielodisplásico o que ya se han sometido a algún tratamiento oncológico que en algunos casos provoca mutaciones o alteraciones cromosómicas secundarias que promueven el desarrollo de un segundo cáncer. Con estos datos se realizó el cálculo la frecuencia y frecuencia relativa de las aberraciones fenotípicas como infidelidad de línea, asincronía de maduración, pérdida de expresión, sobreexpresión de marcadores y alteración en la expresión de marcadores, que se pueden presentar en la población de trabajo, así como por cada grupo LN y LS.

Para la presentación de resultados se construyeron polígonos de frecuencia de la población total, pacientes con LMA de novo y pacientes con LMA secundaria, posteriormente se utilizó la herramienta estadística Chi cuadrada como método de comparación de frecuencias que no siguen una distribución normal o paramétrica entre los grupos LMA novo y LMA sec usando el programa IBM SPSS Statistic 29.0.0.0.

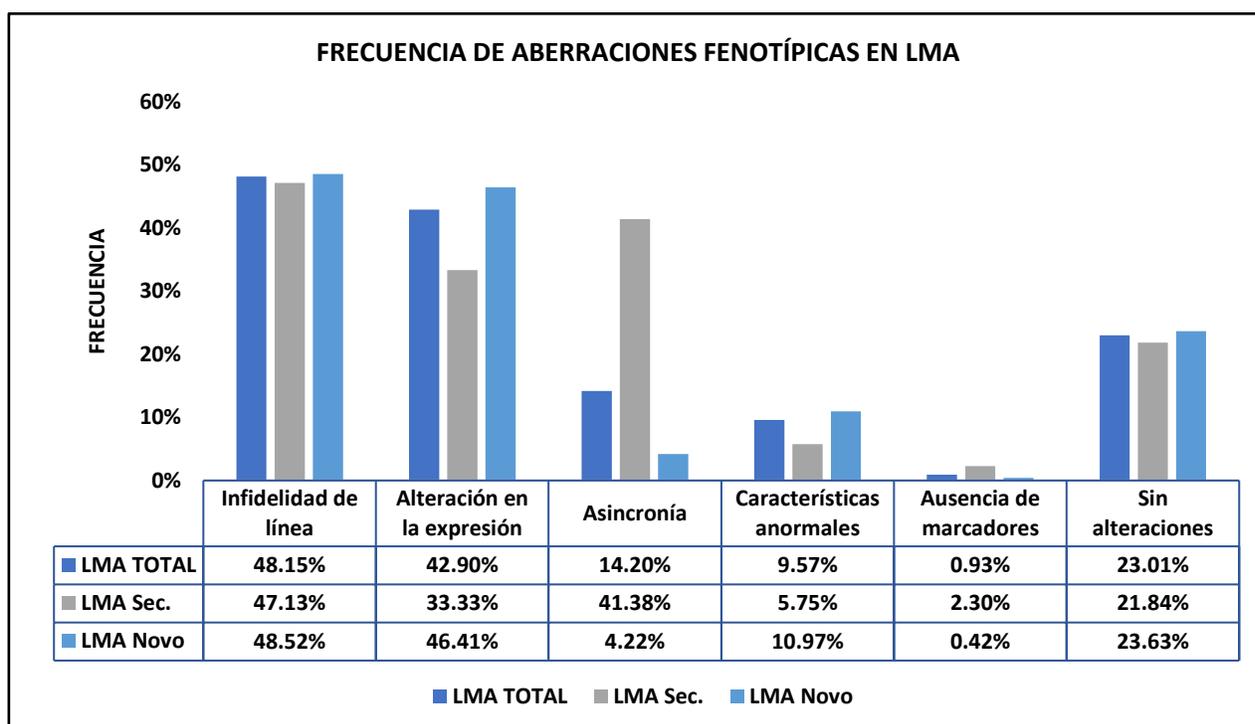
Respecto a la búsqueda de mutaciones o alteraciones cromosómicas, al ser solamente una parte de revisión bibliográfica no se realizó alguna comparación estadística.

7. RESULTADOS

Se reunieron 324 resultados de pacientes con diagnóstico de LMA con una edad promedio de 54 años (2-95 años), donde 163 fueron mujeres con una edad media de 54 años (16-95 años) y 161 fueron hombres con una edad media de 56 años (2-92 años), obteniendo las siguientes frecuencias de aberraciones fenotípicas:

Figura 7.

Frecuencias de aberraciones fenotípicas para la población total y los grupos LMA novo y LMA sec.



Nota: Cálculos realizados con programa IBM SPSS Statistic 29.0.0.0.

Con base en las frecuencias de las aberraciones fenotípicas obtenidas se hizo una búsqueda bibliográfica en buscadores académicos de aquellas mutaciones o

alteraciones cromosómicas relacionadas con las distintas aberraciones fenotípicas, obteniendo la siguiente información:

Tabla 7.

Alteraciones genéticas y cromosómicas relacionadas a aberraciones fenotípicas.

ABERRACIÓN FENOTÍPICA	MUTACIÓN	ALTERACIÓN CITOGENÉTICA
Infidelidad de línea (Co CD7, 19, 5 6)	CEBPA, NPM-1, MLL, CBL (Janeway, 2002)	t(8;21) (q22; q22), del5, -5, t(5q) (Janeway, 2002)
Alteración de la expresión (CD123brillante)	FLT3, DNMT3A, TET2, IDH1, IDH2, DDX41 (Al-Mawali et al., 2016)	-
Asincronía en maduración	RUNX1, NRAS, FLT3, CEBPA, BCR-ABL, UTX, EZH2, CBL, PTEN, GNAS (Papaemmanuil E., et al., 2016)	+21, t(8;21) (q22; q22), t(9;22) (Papaemmanuil E., et al., 2016)
Características anormales (Tamaño y complejidad)	ETV6, RUNX1, NRAS, JAK2 (Al-Mawali et al., 2016)	+21 (Janeway, 2002)
Pérdida de marcadores (-CD34)	Mutaciones en el brazo largo del cromosoma 1 (Pianigiano, 2022)	+1/+1q (Al-Mawali et al., 2016).
LMA sin alteraciones	TET2, GNAS, ASXL1, DNMT3A, NMP1, TP53, KRAS, KMT2A, CBF (Janeway, 2002)	-7, +8, 5q-, t(8;21) (q22; q22), t(9;22), t(9;11), inv(6), t(8;14), t(11;14) (Janeway, 2002)

Nota: Revisión bibliográfica.

8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Inicialmente se observó que la proporción de hombres y mujeres en este trabajo fue de 1:1 con una edad promedio de 54-56 años, sin embargo, el cálculo de las frecuencias de las aberraciones fenotípicas solamente se realizó para los grupos LMA

y LMAsec sin tomar en cuenta edad y género. Adicionalmente, para conocer si existe o no diferencia significativa entre la frecuencia de las diferentes aberraciones fenotípicas en LMA_n y LMAsec se utilizó la prueba estadística Chi cuadrada, fijando que hubo diferencia significativa con un valor de $p < 0.05$.

Las aberraciones fenotípicas con mayor frecuencia en ambos grupos fueron la infidelidad de línea, en donde el grupo LMA_n la presentó con mayor frecuencia, sin embargo, no hubo diferencia significativa entre grupos ($\chi^2 = 0.0497$, $p = 0.772$), donde la coexpresión de CD7 (Linfocito T), CD19 (Linfocito B) y CD56 (Natural Killer) fueron los marcadores más frecuentes, los cuales están relacionados con un pronóstico desfavorable (Lee, 2019, Raza, 2022 y Sousa et al., 2020), en esta aberración se encuentran implicadas alteraciones genéticas que participan en el proceso de diferenciación celular como aquellas en NPM1, MLL y CBL, y alteraciones cromosómicas como t(8;21) (q22; q22), del5, -5, t(5q) (Porwit-MacDonald, 2020); la alteración en la expresión de marcadores donde predominó la sobreexpresión de CD123 (subunidad del receptor de IL-3) en la que se observa diferencia significativa de la frecuencia entre grupos ($\chi^2 = 4.4448$, $p = 0.041$) siendo más frecuente en LMA_n y que también se asocia a un pronóstico desfavorable siendo importante su oportuna detección por CFM o buscando mutaciones en el gen FLT3; finalmente la asincronía en maduración en 1 o más líneas celulares en la que también se encontró diferencia significativa entre grupos ($\chi^2 = 7.2137$, $p = 0.001$), siendo la aberración fenotípica predominante en LMA_s, esta aberración indica un pronóstico intermedio si solo hay

una línea celular afectada, sin embargo, el pronóstico se vuelve desfavorable cuando hay más de 2 líneas afectadas debido a la acumulación de mutaciones y defectos que se desarrollan en el SMD o por el tratamiento para distintos tipos de cáncer hematológicos y no hematológicos, debido a esta heterogeneidad de causas, la cantidad de genes implicados es muy grande (Al-Mawali et al, 2016).

Las aberraciones con menor frecuencia fueron la presencia de características anormales, que implican el tamaño celular y su complejidad, donde la hipogranularidad fue la aberración más frecuente, aunque se presentó con mayor frecuencia en LMA no se observó una diferencia significativa entre ambos grupos ($\chi^2=2.0066$, $p=0.201$); en este caso intervienen mutaciones en ETV6, RUNX1, NRAS, JAK2, así como algunas alteraciones estructurales en el cromosoma 21 en casos raros; y la pérdida de marcadores donde la ausencia de CD34 fue la más frecuente en LMAs sin haber diferencia significativa entre grupos ($\chi^2=0.0318$, $p=0.459$), cualquier alteración en el brazo largo del cromosoma 1 implicara la pérdida o la alteración de la expresión de esta molécula de adhesión indispensable para la hematopoyesis medular, ambos tipos de aberraciones se relacionan con pronósticos intermedios (Lee, 2019 y Marsán et al., 2015).

Finalmente, no hubo diferencia significativa en la frecuencia de aquellos pacientes con LMA sin aberraciones fenotípicas en cada grupo ($\chi^2=0.1147$, $p=0.735$), para este grupo, las mutaciones que comparten las LMA comprenden entre otras a TET2, GNAS,

ASXL1, DNMT3A, NMP1, TP53, KRAS, KMT2A, CBF, etc., y -7, +8, 5q-, t(8;21) (q22; q22), t(9;22), t(9;11), inv(6), t(8;14), t(11;14), etc., como alteraciones cromosómicas más comunes en esta enfermedad (Lindsley et al., 2016 y Pinheiro et al., 2020).

Es importante recordar que, así como es posible encontrar más de una aberración fenotípica al mismo tiempo dentro de la población blástica en una LMA, cuando se habla de factores genéticos y citogenéticos, pueden coexistir múltiples alteraciones moleculares al mismo tiempo y que son las causantes de estas aberraciones. La combinación de mutaciones y alteraciones cromosómicas sirven como método de clasificación en grupos de riesgo dentro de las LMA (Llimpe, 2021 y Newell, 2021).

El avance tecnológico ha permitido el desarrollo de pruebas cada vez más sensibles y rápidas, por lo que se puede hacer uso de qPCR o PCR anidada en formato multiplex con kits que incluyen *primers* dirigidos hacia las mutaciones y defectos cromosómicos más comunes, si se requiere una búsqueda mayor o abarcar una mayor cantidad de genes se recurre a los microarreglos que contienen las sondas para detectar estas secuencias de interés en un soporte sólido, y finalmente, en los casos donde no se conoce con certeza la mutación de interés pero se conoce su ubicación en el genoma, se recurre a la secuenciación ya sea capilar o de nueva generación que utiliza la PCR en puente, conociéndose también como secuenciación por síntesis, la cual como su nombre lo indica va a leer la secuencia de los pares de bases dentro del ácido nucleico que se trabaja. Por otra parte, mediante CFM espectral es posible la detección de proteínas y de ácidos nucleicos mediante su tinción con anticuerpos monoclonales

dado que esta metodología supera en sensibilidad y especificidad a la CFM convencional.

Es importante el conocimiento de aberraciones fenotípicas y su relación con mutaciones en genes encargados de regular el ciclo celular, alteraciones cromosómicas que provocan la pérdida de regiones completas de genes o la formación de genes de fusión, así como conocer que existen diferentes formas en que estas alteraciones se hacen presentes como el *splicing* de ARN, proliferación celular, muerte programada y factores epigenéticos.

9. CONCLUSIONES

Se calcularon las frecuencias de las aberraciones fenotípicas presentes en los pacientes con LMA que acuden al Hospital de Especializadas CMNS XXI, donde se encontró que las aberraciones fenotípicas se presentan con la misma frecuencia tanto en LMA_n y LMA_s, con excepción de la asincronía en maduración que es más frecuente en LMA_s debido a la acumulación de mutaciones durante el avance de SMD o de otro tipo de cáncer a LMA, siendo de gran utilidad para evaluar el pronóstico y el tratamiento de estos pacientes.

En cuanto a las alteraciones genéticas relacionadas con las aberraciones encontradas, tienen un valor pronóstico intermedio y pobre, teniendo en cuenta que entre mayor número de aberraciones se presenten, la cantidad de alteraciones genéticas también

lo hace, por lo que el manejo de cada paciente será distinto, por lo tanto, el hacer uso de diferentes herramientas diagnósticas se vuelve una necesidad al momento de detectar un caso de LMA.

Las pruebas moleculares resultan mucho menos invasivas que una extracción de médula ósea, resaltando que la solicitud de este tipo de muestras es parte del seguimiento al paciente y por lo tanto implica tomas de muestra periódicas, sometiendo al paciente a niveles altos de estrés.

10. REFERENCIAS

- 1.- Sans-Sabrafen, J., Besses Raebel, C., Vices Corrons, J. (2001). Hematología Clínica. (4.^a ed). Madrid, España.
- 2.- Rodak Bernadette, F. (2004). Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicos. (2.^a ed). Buenos Aires. Panamericana.
- 3.- Villalva A, Mora P. (2017). Hematopoyesis. Fortoul van der Goes D.I.(Ed.), Histología y biología celular, (3 ed.). McGraw Hill.
- 4.- Elsevier connect. (2019). Hematopoyesis: Claves de la generación de toda las células sanguíneas.
- 5.- Montes Ramos, P. (2019). Estudio de factores genéticos, inmunológicos y del microambiente medula en la progresión del síndrome mielodisplásico [Tesis de doctorado, Universidad de Granada]. Departamento de bioquímica, biología molecular e inmunología.
- 6.- Döhner, H., Weisdorf, D.J., Bloomfield, C.D. (2015). Acute myeloid leukemia. The New England Journal of Medicine. 373. 1136-52.
- 7.- Labardini-Méndez, J. R. (2016). Leucemia aguda mieloblástica. De la biología molecular al tratamiento. Gaceta Médica de México. 137(1). 31-36.
- 8.- Sang Mee, H. (2020). Classification of acute myeloid leukemia. Blood. 55(1). 1-4.
- 9.- American Cancer Society: Cancer Facts and Statistics (2016). <https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics.html>.

- 10- Hou, H. A., Tien, H. F. (2020). Genomic landscape in acute myeloid leukemia and its implications in risk classification and targeted therapies. *Journal of Biomedical Science*. 27. 81.
- 11.- Infante, M. S., Píris, M. A., Hernández, J. A. (2018). Molecular alterations in acute myeloid leukemia and their clinical and therapeutical implications. *Medicina Clínica*. 151(9). 362-367.
- 12.- Merino, A., Boldú, L., Ermens, A. (2018). Acute myeloid leukemia: How to combine multiple tools. *International Journal of Laboratory Hematology*. 40(1). 109-119.
- 13.- Haferlach, T, Schmidts, I. (2020). The power and potential of integrated diagnostics in acute myeloid leukaemia. *British Journal of Haematology*. 188(1). 36-48.
- 14.- Triana Marrero, Y., Marsán Suárez, V., & Duarte Pérez, Y. (2020). Diagnóstico por citometría de flujo de paciente con leucemia linfocítica crónica. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 36(4).
- 15.- Yu, M. G., Zheng, H. Y. (2017). Acute Myeloid Leukemia: Advancements in Diagnosis and Treatment. *Chinese Medical Journal*. 130(5). 211-218.
- 16.- Shahni, A., Saud, M., Siddiqui, S., Mukry, S. (2018). Expression of aberrant antigens in hematological malignancies: A single center experience. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 34(2):457-462.
- 17.- Abdulateef, N., Ismail, M. (2014). Clinical significance of co-expression of aberrant antigens in acute leukemia. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 15. 221-227.
- 18.- Chen X, Cherian S. Acute Myeloid Leukemia Immunophenotyping by Flow Cytometric Analysis. *Clin Lab Med*. 2017;37(4):753–769.

- 19.- Khakhlari N, Gogoi B, Barua A, et al. A Study of Aberrant Phenotypes in Acute Leukemia by Flowcytometry. *Int J Med Res Prof.* 2016;2(4):50–53.
- 20.- Scors, D. (2017). Myeloid-Derived Suppressor Cells and Cancer. *Cancer Immunology Research.* 5(1). 3-8.
- 21.-Cuellar, M. E. (2020). Inmunofenotipos aberrantes en la leucemia linfoblástica aguda. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México.* 77(6), 287-292.
- 22.- Papaemmanui, E., Gerstung, M., Bullinger, L., Gaidzik, V. (2016). *New England Journal of Medicine.* 374(23). 2209-2221.
- 23.- Estey, E. H. (2018). Acute myeloid leukemia: 2019 update on risk-stratification and management. *American Journal of Hematology.* 93. 1267-1291.
- 24.- Hanneway, J. et al. (2002). T cell signal transduction and the role of CD7 in costimulation. *Immunology Research.* 24(1). 34-52.
- 25.- Lv K, Cai C, Chen J, Xu M, Wan L, Zhou M, Du Y, Ma X, Wu X, Tang X, Qiu H, Wu D, Han Y, Liu Y. Prognostic value of lymphoid marker CD7 expression in acute myeloid leukemia patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation in first morphological complete remission. *Int J Hematol.* 2021 Oct; 114(4):464-471. doi: 10.1007/s12185-021-03182-y. Epub 2021 Jun 26. PMID: 34176091.
- 26.- Garrote Santana, Heidys, Amor Vigil, Ana María, Díaz Alonso, Carmen Alina, Fernández Martínez, Lesbia, Ruiz Moleón, Vera, Machín García, Sergio, & Bencomo Hernández, Antonio. (2018). Caracterización del gen de fusión RUNX1-RUNX1T1 en pacientes cubanos con leucemia mieloide aguda, 2000-2016. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia,* 34(3), 1-16.

- 27.- Ortolani, C. (2011). Flow cytometry of Hematological Malignancies. Estados Unidos. Wiley-BlackWell.
- 28.- Al-Mawali, A., Gillis, D., & Ian, L. (2016). Immunoprofiling of leukemic stem cells CD34+/CD38-/CD123+ delineate FLT3/ITD-positive clones. *Journal of Hematology and Oncology*. 9. 61.
- 29.- Bras, A., Hass, V., Stigt, A., Beverlo, B. (2019). CD123 Expression levels in 846 Acute leukemia patients based on standardized immunophenotyping. *Clinical Cytometry*. 96B. 134-142.
- 30.- Buckley, S. A., Walter, R. (2015). Update on antigen-specific immunotherapy of acute myeloid leukemia. *Current Hematologic Malignancy Reports*. 10. 65-75.
- 31.- Pianigiani, G., Rocchio, F., Peruzzi, S. et al. The absent/low expression of CD34 in NPM1-mutated AML is not related to cytoplasmic dislocation of NPM1 mutant protein. *Leukemia* 36, 1931–1934 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01593-2>.
- 32.- Arber, D. A., Orazi, A., Hasserjain, R., Thiele, J., Vardiman, J. W. (2016). The 2016 revision to de World Health Organization classification of myeloid neoplasm and acute leukemia. *Blood*. 127(20). 2391-2405.
- 33.- Lee SH, George TI. The International Journal of Laboratory Hematology: 2007 to 2019. *Int J Lab Hematol*. 2019 May;41 Suppl 1:4-5. doi: 10.1111/ijlh.13002. PMID: 31069970.
- 34.- Raza, H., Mavra, F., Tayyab, N. (2022). The frequency of aberrant CD7 antigen expression in Acute Myeloid Leukaemia patients. *Cureus*. 14(2). 1-6.

- 35.-Hrusák, O., Porwit-MacDonald, A. (2020). Antigen expression patterns reflecting genotype of acute leukemias. *Leukemia*. 16. 1233-1258.
- 36.- Marsán Suárez, V., del Valle Pérez, L., Díaz Domínguez, G., & Macías Abraham, C. (2015). Metodología y aplicaciones de la citometría de flujo para el inmunofenotipaje de las leucemias agudas. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 31(3).
- 37.- Lindsley, R. C., Mar, B. G., Mazzola, E., Grauman, P. V., Shareef, S., Allen, S. L., Pigneux, A., Wetzler, M., Stuart, R. K., Erba, H. P., Damon, L. E., Powell, B. L., Lindeman, N., Steensma, D. P., Wadleigh, M., DeAngelo, D. J., Neuberg, D., Stone, R. M., & Ebert, B. L. (2015). Acute myeloid leukemia ontogeny is defined by distinct somatic mutations. *Blood*, 125(9), 1367–1376. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-11-610543>.
- 38.- Pinheiro, L. H. S., Trindade, L. D., Costa, F. O., Silva, N. L., Sandes, A. F., Nunes, M. A. P., Correa, C. B., Almeida, C. A. C., da Cruz, G. S., de Lyra Junior, D. P., & Schimieguel, D. M. (2020). Aberrant Phenotypes in Acute Myeloid Leukemia and Its Relationship with Prognosis and Survival: A Systematic Review and Meta-Analysis. *International journal of hematology-oncology and stem cell research*, 14(4), 274–288. <https://doi.org/10.18502/ijhoscr.v14i4.4484>
- 39.- Llimpe Y. (2021). Cytogenetic risk groups for childhood acute myeloid leukemia based on survival analysis in a cancer referral hospital from Perú. Grupos de riesgo citogenético de leucemia mieloide aguda pediátrica a partir del análisis de supervivencia en un hospital de referencia para cáncer en Perú. *Biomedica: revista del Instituto Nacional de Salud*, 41(2), 302–313. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5747>.

40.- Newell, L. F., Cook, R. J. (2021). Advances in acute myeloid leukemia. *BMJ Clinical Research*. 375. 2026.