

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

**Reporte y revisión de un posible caso
de Leucemia Aguda de Fenotipo
Mixto**

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de

QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO

Presenta:

Janeth María Maldonado Chan

Hermosillo, Sonora

Agosto de 2013

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del Jurado Calificador designado para revisar la Tesis Profesional de **Janeth María Maldonado Chan**, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el título de Químico Biólogo Clínico.

M. C. Antonio Rascón Careaga

Director Académico

Dra. Rosa Marina Arvayo Ortiz

Secretaria

Dra. Olivia Valenzuela Antelo

Vocal

Dr. Enrique Bolado Martínez

Suplente

AGRADECIMIENTOS

Antes que a nadie quiero agradecerle a Dios, por guiarme hasta donde estoy hoy y darme la fortaleza para vencer los obstáculos que se han presentado en el camino, le agradezco el hacerme quien soy y rodearme de tantas personas maravillosas.

Agradezco también a la Universidad de Sonora, especialmente a la División de Ciencias Biológicas y de la Salud y al Departamento de Ciencias Químico Biológicas. A mis maestros: Griselda Moreno, Lucia Castillon, Moises Navarro, Enrique Bolado, Antonio Rascón, Eduardo Ruiz, Enrique Robles, Adriana Garibay, Olivia Valenzuela, y a todos aquellos que día a día me enseñaron a descubrir el hermoso mundo de las ciencias, enseñándome además a amar mi profesión.

A mi comité de tesis: M.C. Antonio Rascón, Dra. Rosa Arvayo, Dra. Olivia Valenzuela y al Dr. Enrique Bolado por todo el apoyo otorgado para la posible realización del presente trabajo, por su tiempo tan valioso y sus consejos que me hicieron crecer. Gracias en especial a mi director de tesis el M. C. Antonio Rascón por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto tan importante para mí, gracias por su paciencia, por su dedicación y esfuerzo, pero sobre todo, gracias por instruirme no sólo en el ámbito profesional, sino también en el ámbito personal.

Agradezco al Laboratorio Acuña de Hermosillo y de igual manera al Laboratorio de la Clínica Ruiz de Puebla, por todo el apoyo técnico brindado para la realización del proyecto,

Es importante agradecer el apoyo técnico de las Químicas del Laboratorio Acuña: Sonia Souffle y Gaby Zubiato, de quienes aprendí además del trabajo práctico, el trabajo en equipo, indispensable para un laboratorio clínico, gracias por hacerme sentir parte de ustedes y por su amistad que estoy segura perdurará por muchos años. Además quiero agradecer al resto del personal: Esmeralda, Alejandra, Blanca y Marian por todo el apoyo brindado y por su amistad.

A todo el personal médico que estuvo tratando el caso y al mismo paciente.

Agradezco también al Dr. Julián Esparza por su apoyo estos últimos meses que han estado llenos de aprendizaje y mucho trabajo, gracias por la confianza que en mí depositó.

Agradezco a mis padres Liz y Luis porque soy quien soy gracias a ellos. Gracias por tanto apoyo y tanto amor, gracias también por los regañíos y las limitaciones, que me hicieron crecer como persona, gracias por estar ahí para mí cuando fue necesario y por no dejarme vencerme cuando estuve a punto de hacerlo, gracias por sufrir conmigo, reír conmigo y desvelarse conmigo. Es tiempo de que tanto ustedes como yo veamos los frutos de todo lo que hemos sembrado juntos, desde que me llevaban al jardín de niños y me quedaba pegada en la puerta llorando porque quería regresar a casa con ustedes, hasta estos últimos meses de desvelo para todos. Espero hacerlos sentir tan orgullosos de mi como yo me siento orgullosa de ser su hija.

Les agradezco a mis hermanos Ignacio, Carlos y Francisco por ser quiénes son y estar presentes en mi vida, he aprendido de ustedes mucho más de lo que imaginan. Sin ustedes, mi vida no sería la misma.

A mis cuatro abuelos por transmitirme su sabiduría y enseñarme a vivir una vida llena de amor y de paz, son una enorme inspiración para mí. A mis tíos y primos, gracias por ser parte de mi vida.

A mi prima Susana por ser una de las razones por las que elegí la carrera que tanto amo. Y a mi tía Margarita a quien admiro mucho, y sin saberlo fue también parte importante de dicha decisión.

Agradezco también a mis hermanas postizas Anna, Anny e Ytzayanna y a mi ma Anna por adoptarme en su casa y hacerme parte de su familia, gracias por el apoyo y el cariño.

A mis mejores amigas Hezel y Anna por ser más que amigas, hermanas. Gracias por su compañía y su cariño, gracias por las risas y los llantos, por todos los momentos compartidos. Por recordarme diariamente el significado de la amistad.

A mis amigos y compañeros de escuela, en especial a Anna, Dahlia, Xochilt, Ignacio, Javier, Adán y a todos aquellos que compartieron todos estos años conmigo, porque solamente ustedes que fueron parte de la misma batalla saben la felicidad que siento al estar escribiendo los agradecimientos de mi escrito de tesis. Gracias por las desveladas y también por todas aquellas veces que nos reuníamos para tratar de pensar en algo más que en la escuela y terminábamos formulando hipótesis dignas de premios Nobel.

Quiero agregar un agradecimiento especial a Anna Peñuñuri por tu apoyo técnico y moral en la realización de este trabajo, Gracias por ser quien eres y demostrarme día con día que la felicidad depende de nosotros mismos. Eres la hermana que siempre quise, gracias por estar presente en los buenos y los malos momentos.

De igual manera quiero agradecer a Dahlia Nuñez por su apoyo técnico y su amistad, por explicarme lo inexplicable, sabes lo mucho que te admiro, gracias por enseñarme a trabajar con pasión y dedicación.

Se la dedico a Dios y mis padres,
porque sin ellos no hubiera sido posible.

*“Soy de los que piensan que la ciencia
tiene una gran belleza.
Un científico en su laboratorio
no es sólo un técnico:
es también un niño colocado ante
fenómenos naturales
que le impresionan
como un cuento de hadas.”*

Marie Salomea Skłodowska Curie

CONTENIDO

	Página
LISTA DE TABLAS	XII
LISTA DE FIGURAS	XII
LISTA DE ANEXOS	XIV
OBJETIVOS.....	1
Objetivo General	1
Objetivos Específicos.....	1
RESUMEN.....	2
INTRODUCCIÓN.....	4
ANTECEDENTES.....	6
Leucemias Agudas.....	6
Definición.....	6
Epidemiología.....	7
Manifestaciones Clínicas	8
Pronóstico	8
Diagnóstico.....	9
Clasificación MIC	9
Clasificación morfológica	9
Clasificación inmunológica	10
Clasificación citogenética	11
Leucemia Aguda Linfoblástica.....	12
Definición.....	12
Epidemiología.....	12
Manifestaciones Clínicas	13
Pronóstico	13
Diagnóstico.....	14
Morfología.....	14
Inmunofenotipo	14
Leucemia linfoblástica de precursores B	14
Leucemia linfoblástica de precursores T.....	14
Genética	15
Leucemia linfoblástica de precursores B	15

	Página
Leucemia linfoblástica de precursores T.....	15
Leucemia Aguda Mieloblástica.....	16
Definición.....	16
Epidemiología.....	16
Manifestaciones Clínicas.....	16
Pronóstico.....	17
Diagnóstico.....	17
Morfología.....	17
Inmunofenotipo.....	18
Genética.....	18
Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto.....	18
Definición.....	20
Epidemiología.....	20
Manifestaciones Clínicas.....	21
Pronóstico.....	21
Diagnóstico.....	21
Clasificación.....	21
Citogenética.....	24
Entidades de LAFM.....	25
Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto con t(9;22) (q34;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>	25
Definición.....	25
Epidemiología.....	26
Manifestaciones Clínicas.....	26
Pronóstico.....	26
Morfología.....	26
Inmunofenotipo.....	27
Genética.....	27
Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto con t(v;11q23); Re-arreglo <i>MLL</i>	27
Definición.....	27
Epidemiología.....	27
Manifestaciones Clínicas.....	27
Pronóstico.....	28
Morfología.....	28

	Página
Inmunofenotipo.....	28
Genética.....	28
Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto, B/mieloide	
(No Especificada de Otra Manera).....	29
Definición.....	29
Epidemiología.....	29
Manifestaciones Clínicas.....	29
Pronóstico.....	29
Morfología.....	29
Inmunofenotipo.....	29
Genética.....	30
Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto, T/mieloide	
(No Especificada de Otra Manera).....	30
Definición.....	30
Epidemiología.....	30
Manifestaciones Clínicas.....	31
Pronóstico.....	31
Morfología.....	31
Inmunofenotipo.....	31
Genética.....	31
MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
Biometría Hemática.....	32
Muestra.....	32
Cuenta Automatizada.....	32
Cuenta Diferencial.....	32
Material.....	32
Técnica.....	32
Inmunofenotipo.....	33
Muestra.....	33
Preparación de la muestra.....	33
Tinción.....	34
Análisis de las Muestras.....	34
Antígenos analizados a lo largo del caso.....	34

	Página
RT-PCR.....	35
Secuenciación.....	35
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	36
Presentación del Caso	36
Descripción del Paciente	36
Biometría Hemática.....	36
Inmunofenotipo	39
14 de febrero de 2012.....	39
Espécimen	39
Sospecha diagnóstica	39
Antígenos investigados	39
Características de las células neoplásicas	39
Interpretación	39
31 de julio de 2012	40
Enfermedad residual mínima.....	40
Espécimen	40
Sospecha diagnóstica	40
Interpretación del estudio	40
31 de octubre de 2012.....	40
Espécimen	40
Sospecha diagnóstica	40
Antígenos investigados	41
Características de las células neoplásicas	41
Interpretación	41
14 de diciembre de 2012	41
Espécimen	41
Sospecha diagnóstica	41
Antígenos investigados	41
Interpretación	41
16 de enero de 2013.....	42
Espécimen	42
Sospecha diagnóstica	42
Antígenos investigados	42

	Página
Interpretación	42
12 de febrero de 2013	42
Especimen	42
Antígenos investigados	43
Interpretación	43
Citogenética	51
31 de julio de 2012	51
Pruebas de Histocompatibilidad de Antígenos HLA: A, B, C, DR, DQ	52
05 de noviembre de 2012	52
Tipificación HLA.....	52
Discusiones	54
CONCLUSIONES	58
BIBLIOGRAFÍA.....	59
ANEXO	63

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Clasificación morfológica de las leucemias agudas	10
2. Clasificación inmunológica para latinoamérica.....	12
3. Sistema de puntuación para la clasificación EGIL	23
4. Clasificación WHO 2008 para la clasificación de linaje ambiguo	25
5. Biometría hemática, resultados obtenidos para la fórmula roja.....	39
6. Biometría hemática, resultados obtenidos para la fórmula blanca	40
7. Biometría hemática, resultados obtenidos para la serie plaquetaria	41
8. Resultado del primer inmunofenotipo correspondiente a LAL.....	55
9. Resultado del segundo inmunofenotipo correspondiente a enfermedad residual mínima	55
10. Resultado del tercer inmunofenotipo correspondiente a LAM.....	55
11. Resultado del cuarto inmunofenotipo correspondiente a LAM	55
12. Resultado del quinto inmunofenotipo correspondiente a LAFM.....	56
13. Resultado del sexto inmunofenotipo correspondiente a LAFM	56

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Inmunofenotipo positivo para enfermedad residual mínima	46
2. Inmunofenotipo compatible con leucemia aguda mieloblástica.....	47
3. Inmunofenotipo compatible con leucemia. aguda mieloblástica.....	48
3.1. Inmunofenotipo compatible con leucemia. aguda mieloblástica	49
4. Inmunofenotipo compatible con LAFM B/mieloide	50
4.1. Inmunofenotipo compatible con LAFM B/mieloide.....	51
5. Inmunofenotipo compatible con LAFM B/mieloide	52
6. Detección del cromosoma Filadelfia de LAL por RT-PCR.....	53

LISTA DE ANEXOS

	Página
1. Lista de Abreviaturas	63
2. Diagrama de la Hematopoyesis	65
3. Imagen de la última clasificación morfológica del caso correspondiente a Leucemia aguda de Fenotipo Mixto. Muestra de Sangre Periférica.....	66
4. Imagen de la última clasificación morfológica del caso correspondiente a Leucemia aguda de Fenotipo Mixto. Muestra de Sangre Periférica.....	67
5. Reactivos para la tinción de Wright-Giemsa.....	68

OBJETIVOS

Objetivo General:

Determinar si el caso referido corresponde a una leucemia aguda de fenotipo mixto, utilizando las herramientas del laboratorio clínico.

Objetivos Específicos:

- Analizar el diagnóstico por laboratorio del caso índice utilizando la clasificación morfológica, inmunológica y citogenética, refiriendo la evolución de la enfermedad.
- Evaluar si se cuenta con la información suficiente para determinar si se trata de un caso de leucemia de fenotipo mixto según lo estipulado por la clasificación OMS 2008 de neoplasias de tejido hematopoyético y linfoide.

RESUMEN

En México, las leucemias agudas (LA) son la principal causa de muerte asociada con el cáncer. Las cuales alcanzan una letalidad media anual de tres a cinco casos por cada 100,000 habitantes por año y hay una tendencia notable al aumento del padecimiento (Ramírez y col. 2013; Ruiz, 2009).

Las LA se caracterizan por la proliferación descontrolada de células inmaduras que desplazan a la hematopoyesis normal. La falla de los mecanismos de control negativo del crecimiento de la clona mutante casi siempre se debe a cambios en los genes reguladores, lo que conduce a superproducción sin sentido de células incapaces de madurar y funcionar normalmente. Las células malignas individuales maduran con lentitud y de manera incompleta: el tiempo de su ciclo celular a menudo es prolongado y la mayoría sobrevive más que las normales, sin cumplir con su misión ordinaria (González y col., 2012; Ruiz, 2009).

Las leucemias agudas de estirpe ambigua abarcan aquellas leucemias que no muestran evidencia clara de la diferenciación en una sola estirpe. Incluyen leucemias con antígenos no específicos a ninguna estirpe (leucemia aguda indiferenciada [LAI]) y aquellas con blastos que expresan antígenos de más de una estirpe en una cantidad tal que no es posible asignar la leucemia a una cierta estirpe (leucemias agudas de fenotipo mixto [LAFM]) (WHO, 2008).

La LAFM es una enfermedad poco común que ocurre entre el 5 y 10% de las leucemias agudas. Puede aparecer de *novo* o puede ser secundaria a una terapia citotóxica previa. Como en otros tipos de leucemias los pacientes con LAFM usualmente presentan síntomas resultantes de las citopenias. El conteo de blastos para el diagnóstico no difiere de la LAM o la LAL. Una LAFM se puede presentar a cualquier edad, incluyendo a infantes sin embargo es más común en adultos. El pronóstico de LAFM en adultos es peor que el de LAM o LAL y esta mayormente asociado a la expresión de la glicoproteína P (Pgp). Las LAFM pueden ya sea contener distintas poblaciones de blastos, cada una de diferente estirpe; una población con múltiples antígenos de diferentes estirpes en la misma célula; o una combinación (Azma y col., 2006; WHO, 2008).

El diagnóstico de las leucemias de estirpe ambigua se basa en el inmunofenotipo. La citometría de flujo es el método preferido para establecer el diagnóstico, especialmente cuando el diagnóstico de LAFM es dependiente para demostrar la coexpresión de antígenos de diferenciación linfóide y mielóide en la misma célula. Los casos en los cuales el diagnóstico depende de la demostración de dos poblaciones de células leucémicas distintas con un fenotipo diferente pueden también ser establecido por inmunohistoquímica en secciones de tejido o con

tinciones citoquímicas para mieloperoxidasa en frotis acoplado con citometría de flujo para detectar las poblaciones leucémicas linfoides B o T (WHO, 2008).

El caso clínico que se presenta en este trabajo, inicia con un diagnóstico de leucemia aguda linfoblástica tras presentar un cuadro clínico clásico para leucemias agudas. El paciente recibe entonces tratamiento convencional para este padecimiento. Sin embargo, después de unos meses, el diagnóstico cambia a leucemia aguda mieloblástica, este cambio se establece tras realizar inmunofenotipos que revelan blastos con fenotipos compatibles para LAM. Se busca una opción para llevar al paciente a remisión completa y se considera el trasplante de médula ósea, razón por la cual se inicia la búsqueda de un donador relacionado, el cual se encuentra en uno de los hermanos del paciente con quien comparte dos haplotipos, sin embargo el paciente decide no someterse al tratamiento.

Se inicia entonces tratamiento para LAM. En un momento de la enfermedad se logra llegar a remisión celular, lo cual genera esperanzas en el pronóstico del paciente. Sin embargo, el cuadro clínico no mejora y después de volver a realizar los estudios correspondientes el diagnóstico vuelve a cambiar, esta vez se determina que se trata de una leucemia aguda de fenotipo mixto B/mieloide.

Gracias al uso de las técnicas de laboratorio correctas se logra determinar la presencia de una leucemia aguda de fenotipo mixto B/mieloide que cumple con los criterios de clasificación de la OMS del 2008 de neoplasias de tejido hematopoyético y linfoide.

Es de suma importancia el trabajo de laboratorio en conjunto con el médico para llevar a cabo un diagnóstico y seguimiento de las patologías hematológicas, así mismo, el químico clínico debe contar con una capacitación, entrenamiento y experiencia en todas las áreas de laboratorio, desde el área básica, la pruebas llamadas especiales y hasta de alta complejidad, esto, con la finalidad de brindar el mejor servicio posible.

INTRODUCCIÓN

En México, las leucemias agudas (LA) son la principal causa de muerte asociada con el cáncer. Las cuales alcanzan una letalidad media anual de tres a cinco casos por cada 100,000 habitantes por año y hay una tendencia notable al aumento del padecimiento (Ramírez y col. 2013; Ruiz, 2009).

Los conceptos clásicos definen a las LA como expansiones clonales de precursores hematopoyéticos que han sufrido un bloqueo en su diferenciación, reteniendo el fenotipo correspondiente al nivel de diferenciación en el que ésta detención se ha producido. De manera que en el caso de la leucemia aguda mieloblástica (LAM), las células proliferantes son fenotípicamente similares a los precursores mieloides; mientras que en el caso de leucemia aguda linfoblástica (LAL), la población proliferante se asemeja a los progenitores linfoides B o T. Los marcadores antigénicos son importantes para determinar el inmunofenotipo leucémico, y el valor clínico y pronóstico (Vargas, 1995).

En la mayoría de los pacientes con LA, los blastos pueden ser asignados inequívocamente a una estirpe específica, mieloide o linfoide (B o T); sin embargo aproximadamente del 2 al 5% de los pacientes el origen de la estirpe permanece ambiguo, incluso antes de una inmunofenotipificación por citometría de flujo. Esto se explica de la siguiente manera: las células madre pluripotenciales tienen la habilidad de diferenciarse en múltiples líneas celulares, por lo tanto pueden romper la fidelidad del linaje o presentar un cambio de fenotipo. Este proceso lleva a la coexpresión de células leucémicas en antígenos mieloides y linfoides en la misma célula. Históricamente, una variedad de términos han sido usados para describir estos casos, tales como leucemia de fenotipo mixto, leucemia aguda híbrida, leucemia bilineal y leucemia bifenotípica (Relos y Rhea, 2010; Yan y col., 2012).

La edición más reciente de la clasificación OMS 2008 de neoplasias de tejido hematopoyético y linfoide, ha establecido y publicado nuevos criterios para el diagnóstico de leucemias agudas bifenotípicas. También ha adoptado una nueva definición para ésta enfermedad, ahora llamada leucemia aguda de fenotipo mixto (LAFM). El criterio anterior se ha revisado para asegurar que se excluyan los casos “auténticos” de LAL o LAM con expresión antigénica aberrante, LAM con anormalidades cromosómicas recurrentes o leucemia mieloide crónica (LMC) en crisis blástica. Además, las neoplasias mieloides relacionadas a terapia y LAM con características relacionadas a mielodisplasia deben ser clasificadas como tal, incluso cuando tienen inmunofenotipo de LAFM. En resumen, la definición OMS de LAFM está basada

en la expresión de antígenos estrictamente específicos T- linfoides (CD3 citoplasmáticos) y mieloides (mieloperoxidasa -MPO-), que son revelados ya sea por citometría de flujo o citoquímica además debe haber o no una clara evidencia de diferenciación monocítica. Debido a que no hay un solo antígeno específico para células B, el linaje B se asigna, en las LAFM, debido a una fuerte expresión de CD19 junto con otro marcador asociado a células B, en los casos de expresión débil de CD19, deben expresarse también al menos tres marcadores de la estirpe B (WHO, 2008).

La OMS reconoce dos categorías distintas de la patología: LAFM con $t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1$ y LAFM con rearrreglo $t(v;11q23)/MLL$. Los casos anteriores se designan como LAFM NOS (no especificado de otra manera, por sus siglas en ingles) (Matutes y col, 2010).

La leucemia aguda de fenotipo mixto es un desorden raro que corresponde al 5% de las leucemias agudas. Afectan tanto a adultos como niños, incluyendo infantes, sin embargo, parecen ser más frecuentes en adultos. Hay una ligera predominancia en hombres. No se muestra correlación entre los inmunofenotipos y el género o edad. Morfológicamente, las LAFM son heterogéneas y la mayoría de los pacientes presentan ya sea LAL o LAM con o sin características de diferenciación mieloides o monocíticas. Es poco probable que se sospeche de un diagnóstico de LAFM debido a la morfología excepto por un pequeño subconjunto en el cual es evidente una población distinta de blastos con características ya sea linfoides o mieloides. Debido a eso el diagnóstico de LAFM siempre se basa en el inmunofenotipo, en exclusión por citogenética en casos de LAM con anomalías recurrentes y por morfología que pauta la presencia de antecedentes displásico (Matutes y col, 2010; Relos y Rhea, 2010).

No existe tratamiento estándar para la leucemia aguda de fenotipo mixto, por lo tanto no se sabe si los pacientes deben ser tratados con los regímenes para LAM, LAL o una combinación (Relos y Rhea, 2010).

El reconocimiento de casos de LAFM con características de células B y T apoya el modelo propuesto de la hematopoyesis de médula ósea en adultos donde un progenitor linfoides común (B y T) se encuentra presente. De acuerdo a esto los casos con inmunofenotipo B Mieloides (B+My) y T Mieloides (T+My) concordarían con los descubrimientos documentados en hematopoyesis fetal de ratones que sugiere la persistencia de un potencial mieloides en los precursores linfoides tempranos B y T, y la existencia de un progenitor multipotencial con potencial de célula B, célula T y granulocito/macrófago pero sin potencial eritroide/megacarioblasto (Matutes y col, 2010).

ANTECEDENTES

Con el fin de comprender la LAFM, objeto de este estudio, se engloban los elementos más relevantes en la siguiente revisión bibliográfica.

Leucemias Agudas

Las leucemias agudas son neoplasias con un espectro biológico muy amplio en el que se encuentran diversos factores clínicos, biológicos y una gran serie de alteraciones moleculares específicas que repercuten directamente en el pronóstico. La causa precisa se desconoce; sin embargo su origen es constituido por la proliferación clonal, por medio de divisiones sucesivas, a partir de una célula progenitora. La activación de oncogenes (como *MLL*, *MYC*, *ABL*, *BCL-2* y *RAS*), al igual que la formación de genes quiméricos (como *BCR/ABL*, *PML/RAR-α* o *AML1/ETO*), probablemente es multifactorial. Es posible que la exposición a derivados del benceno desempeñe algún papel en la leucemogénesis, así como la exposición a radiaciones ionizantes. Así mismo, algunos virus pueden generar leucemias, entre ellos es posible mencionar a los retrovirus. Por otro lado, los padecimientos en los que hay inestabilidad cromosómica, como el síndrome de Fanconi, pueden culminar en leucemia aguda, y la prevalencia de este tipo de leucemia es mayor en individuos con trisomía del cromosoma 21 (síndrome de Down) que en la población general. Las LA secundarias al uso de sustancias quimioterapéuticas para otras enfermedades son muy agresivas (Ramírez y col. 2013; Ruiz, 2009).

Definición

Las leucemias agudas se caracterizan por la proliferación descontrolada de células inmaduras que desplazan a la hematopoyesis normal. La falla en los mecanismos de control negativo del crecimiento de la clona mutante, casi siempre se debe a cambios en los genes reguladores, lo que conduce a una sobreproducción sin sentido de células malignas. Las células malignas individuales maduran con lentitud y de manera incompleta: el tiempo de su ciclo celular a

menudo es prolongado y en su mayoría sobreviven más que las normales, sin cumplir con su misión ordinaria (González y col., 2012; Ruiz, 2009).

Epidemiología

En el mundo, la incidencia global de las leucemias agudas es de 4 por cada 100,000 habitantes por año; en países desarrollados como Inglaterra y EUA las tasas de incidencia para LAM son de 1.75 por cada 100,000 habitantes por año y 2.5 por cada 100,000 habitantes por año, respectivamente. En EUA la incidencia anual de LAL en menores de 15 años es de 3.3 por cada 100,000 habitantes por año y llama la atención que el grupo de latinos en Los Ángeles (EUA) tiene la mayor tasa de incidencia. Hay un estimado de 274,930 personas viviendo en remisión de leucemia en EUA. Así mismo, existen aproximadamente 31% más hombres que mujeres viviendo con leucemia. (Crespo, 2010; LLS, 2012).

La incidencia de leucemia es mayor entre caucásicos (13.1 por cada 100,000 habitantes por año); la incidencia disminuye entre las poblaciones asiáticas y de las Islas del Pacífico (7.3 por cada 100,000 habitantes por año) y en poblaciones Indoamericanas y nativos de Alaska (7.6 por cada 100,000 habitantes por año) (LLS, 2012).

En México, el Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas (RHNM, 2011), reporta una incidencia anual de las LA en la población general de 2 por cada 100,000 habitantes; para LAL esta cifra es de 1.3 por cada 100,000 habitantes por año, y para LAM es de 0.7 por cada 100,000 habitantes por año (Crespo, 2010; Tirado y Mohar, 2007).

La leucemia aguda es el tipo de cáncer más recurrente en menores de 15 años; en la ciudad de México representan alrededor de 40 % de todas las neoplasias, mientras que en otros países constituyen entre 30 y 34%. De 1980 al 2008 en México se observa una tendencia muy marcada a la alta en la mortalidad con tasas de 26 a 628 muertes por cada 100,000 habitantes por año, representando un incremento en la tasa de mortalidad del 140%. La mortalidad por leucemia muestra un importante problema de salud pública en entidades con las más altas tasas de mortalidad como: Tabasco, Yucatán, Baja California Sur y Veracruz. A nivel nacional la leucemia representa el 5.6% de las muertes por tumores malignos y el 0.7% sobre el total de defunciones (DGE, 2011).

Las diferencias en las tasas de mortalidad entre países desarrollados como EUA e Inglaterra y México podrían explicarse por limitaciones en el registro de casos de leucemia en México, debido a la falta de exactitud implícita en los diagnósticos de algunos certificados de defunción; así como las características socioeconómicas del país. Es posible que en zonas

rurales, alejadas de centros de atención de tercer nivel, no se registren los casos de LA en ancianos o exista dificultad para el diagnóstico diferencial entre LAM y LAL, ya que se requiere estudios especializados de citometría de flujo, citogenética convencional y genética molecular (Crespo, 2010).

De forma general, tanto en México como en los países desarrollados la LAL es el cáncer más frecuente en la infancia y hasta la edad de 14 años, mientras que la leucemia aguda mieloblástica, es más frecuente durante la adultez y en especial en adultos mayores. A pesar de que la LAM es una enfermedad de adultos mayores (mediana de edad 64 años), existen reportes en México con edades de presentación cercanas a 45 años lo que podría dar la impresión de que en nuestro país la edad de presentación es menor; sin embargo, otros autores ya han establecido la hipótesis de un sesgo de referencia debido a que la mayoría de las publicaciones incluyen pacientes menores de 60 años y que posiblemente las personas mayores de 60 años no sean referidas a niveles de atención terciaria (Crespo, 2010; Ramírez, 2013).

Manifestaciones Clínicas

Las leucemias agudas son enfermedades que progresan rápidamente si no son tratadas a tiempo. Cuando las células anormales o leucémicas crecen en médula ósea y en sangre periférica, hay menos lugar para las células blancas sanas, las células rojas y las plaquetas, lo que puede provocar la aparición de los síndromes hemorrágico, anémico o infiltrativo, aisladamente o en combinación. La hemorragia puede deberse a trombocitopenia (por invasión leucémica de médula ósea) o a coagulopatía por consumo, como en casos de leucemia promielocítica. La anemia se debe también a invasión tumoral de médula ósea y habitualmente es más grave en la leucemia aguda linfoblástica. El síndrome infiltrativo supone crecimiento de ganglios, bazo o hígado. Las células leucémicas pueden extenderse fuera de la sangre a otras partes del cuerpo, incluyendo el cerebro, la piel y las encías. (LLS, 2012; Cáceres, 2011; Ruiz, 2009).

Pronóstico

A pesar de los avances en la biología molecular y el descubrimiento de diversas alteraciones citogenéticas aisladas o recurrentes, la edad sigue siendo la principal variable pronóstica individual en pacientes con leucemia aguda linfoblástica y mieloblástica. La cuenta de leucocitos

al diagnóstico es otra variable pronóstica a considerar, en situaciones de hiperleucocitosis (cifras casi siempre mayores de $100 \times 10^3/\text{mL}$) pueden condicionar complicaciones como: leuco-estasis, síndrome de lisis tumoral y coagulación intravascular diseminada. Sólo del 5 a 30% de las leucemias agudas se manifiestan con hiperleucocitosis, situación que puede convertirse en una urgencia hematológica. La insuficiencia respiratoria, la hemorragia intracraneal y las anormalidades metabólicas son los principales factores asociados con la mortalidad (Ramírez, 2013).

Diagnóstico

Para realizar un diagnóstico oportuno se debe clasificar correctamente la leucemia. En base a la experiencia se ha determinado que la clasificación más adecuada para ese fin es la clasificación morfológica, inmunológica y citogenética (MIC).

Clasificación MIC. El aspirado de médula ósea es parte de los estudios diagnósticos que se realizan a pacientes con sospecha de leucemia. La mejor clasificación que puede efectuarse de una LA es la clasificación MIC.

Clasificación morfológica. En 1976, un grupo de investigadores estimulados por la necesidad de un esquema que identificara los criterios morfológicos y sirviera para correlacionarlos con el pronóstico de la enfermedad proponen la llamada clasificación FAB (franco-americana-británica) la cual divide a las leucemias agudas en once tipos, tres de estirpe linfoide y ocho de estirpe mieloide. Esta clasificación morfológica de las leucemias agudas es la única que debe considerarse actualmente (Ruiz, 2009).

Se examina la morfología celular observando los frotis de sangre periférica y médula ósea usando las tinciones de rutina de laboratorio (May-Grünwald-Giemsa o Wright-Giemsa). Se recomienda contar al menos 200 leucocitos en sangre periférica y 500 células nucleadas en médula ósea. Para el diagnóstico de leucemia aguda mieloblástica se requiere contar 20% o más blastos, excepto para aquellas leucemias agudas mieloblásticas con $t(15;17)$, $t(8;21)$, $inv(16)$ o $t(16;16)$ y algunos casos de eritroleucemia. Los mieloblastos, monoblastos y megacarioblastos se incluyen en el conteo de blastos. En LAM con diferenciación monocítica o mielomonocítica, se cuentan monoblastos y promonocitos como blastos, pero no los monocitos atípicos. Los eritroblastos no son contados como blastos excepto en el caso raro de leucemia eritroide (Döhner, 2010).

Cuando se emplea la morfología panóptica convencional como medio único para efectuar la clasificación de las leucemias agudas, se pueden cometer errores diagnósticos, y en consecuencia terapéuticos (Ruiz, 2009).

Tabla1. Clasificación morfológica de las leucemias agudas

Leucemias agudas linfoblásticas	Leucemias agudas mieloblásticas
LA-L1: linfoblástica “típica”	LA-M0: mieloblástica diferenciada mínimamente
	LA-M1: mieloblástica inmadura
LA-L2: linfoblástica “atípica”	LA-M2: mieloblástica madura
	LA-M3: promielocítica hipergranular
	LA-M4: mielomonoblástica
LA-L3: parecida al linfoma de Burkitt	LA-M5: monoblástica pura
	LA-M6: eritroleucemia
	LA-M7: megacrioblástica

LA-L: Leucemia aguda linfoblástica; LA-M: Leucemia aguda mieloblástica (Ruiz, 2009).

Clasificación inmunológica Mediante los métodos inmunológicos es posible reconocer antígenos en la membrana o en el citoplasma de las células, algunos de los cuales son específicos para diferentes poblaciones celulares. Para identificar dichos antígenos se dispone de heteroantisueros contra inmunoglobulinas de superficie o citoplasmáticas y de múltiples anticuerpos monoclonales que identifican antígenos citoplásmicos o membranales. Algunos anticuerpos monoclonales pueden ser específicos para una determinada línea celular e incluso para un estadio concreto de maduración; otros, sin embargo, detectan antígenos más ampliamente distribuidos. La selección apropiada de un grupo de anticuerpos monoclonales y de otros marcadores convencionales permite establecer el origen de la mayoría de las leucemias, siendo de gran ayuda en aquellos casos en que los datos morfológicos y citoquímicos no son concluyentes (Ruiz, 2009).

Para determinar el inmunofenotipo se usa citometría de flujo multiparamétrica (comúnmente al menos 3 a 4 colores). No existe un consenso general sobre el punto de corte para considerar una leucemia aguda como positiva para un marcador. Para la mayoría de los marcadores un criterio comúnmente usado es 20% o más de las células leucémicas expresando

el marcador, mientras que para ciertos marcadores seleccionados ej. CD3 citoplasmático, MPO, TdT, CD34, CD117 (en el caso de la leucemia aguda mieloblástica) se aplica un punto de corte más bajo (10%) (Döhner, 2010).

En la tabla 2 se observa la clasificación inmunológica elaborada por un grupo de hematólogos latinoamericanos, simplificada y adaptada a las limitaciones económicas de los países en desarrollo. Emplea pocos anticuerpos monoclonales y clasifica a las leucemias agudas en sólo tres variedades de repercusión pronóstica y terapéutica bien definidas: leucemia aguda linfoblástica B, leucemia aguda linfoblástica T y leucemia aguda mieloblástica, con dos estadios de maduración para cada variedad (Ruiz, 2009).

Tabla 2. Clasificación inmunológica para latinoamérica

Leucemia	Variantes	Ac. obligados	Ac. opcionales
LAL T	Ninguna	CD7, CD3c, CD2, CD34, CD45, Y I dI	
LAL B	Pro-B B común ProB B	CD79a, CD19, 1g g`'s, cadenas u, ILA-DR, I d I, CD34, Y CD45	CD20 y CD38
Mieloblásticas	LAM 15:17 + LAM 15:17 -	MPOc, CD13, CD117, CD34, CD15, HLA-DR y CD45	CD36 y CD64

Ac= anticuerpo; LAL T= leucemia aguda linfoblástica T; LAL B= leucemia aguda linfoblástica B; LAM= leucemia aguda mieloblástica; CD= Cúmulo de diferenciación (cluster designation); Ig`s= inmunoglobulina de superficie; TdT= transferasa de desoxinucleótidos terminales identificada por anticuerpo monoclonal; MPOc = mieloperoxidasa citoplásmica identificada por anticuerpo monoclonal (Ruiz, 2009).

Clasificación citogenética. Se deben realizar análisis citogenéticos completos de médula ósea al momento de la evaluación inicial para establecer el perfil citogenético y después por intervalos regulares para detectar cualquier evidencia de evolución genética. En algunos casos las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa – transcriptasa reversa (RT-PCR) y/o Hibridación In Situ Fluorescente (FISH) pueden detectar re-arreglos genéticos que están presentes en baja frecuencia o no se observan realizando solamente un cariotipo. Se han encontrado algunas correlaciones entre las anomalías cromosómicas y el tipo de leucemia aguda (WHO, 2008; Ruiz, 2009).

En las LAL, una alteración cromosómica frecuente es el cromosoma Filadelfia: t(9q+;22q-) (q34.1;q11.2), que produce también un gen quimérico llamado *BCR/ABL* que codifica la síntesis de las proteínas p190, característica de leucemia aguda linfoblástica y p210, de leucemia mieloide crónica, ambas con función de tirosina quinasa. El cromosoma Filadelfia aparece en 2% de los enfermos de leucemia aguda linfoblástica infantil e incluso en 25% de los casos adultos; su presencia se ha asociado con pronóstico sombrío (Ruiz, 2009).

De las alteraciones únicas en LAM, pueden señalarse: la alteración cromosómica t(4:11) (q21;q23) de LAM-M4 (mielomonoblástica), la alteración cromosómica t(8;21)(q22.1;q22.3) de LAM-M2 (mieloblástica con maduración), la alteración cromosómica t(15;17) (q22;q11.2) en LAM-M3 (promielocítica) y la alteración cromosómica inv(16) (p13.2q22) en LAM-M4Eo (mielomonoblástica con eosinofilia). La respuesta al tratamiento en LAM es mejor en sujetos quienes no presentan alteraciones cromosómicas (Ruiz, 2009).

Leucemia Aguda Linfoblástica

Definición

La leucemia aguda linfoblástica (LAL) es una neoplasia que se caracteriza por una proliferación celular descontrolada dependiente de precursores linfoides B o T. El principal sitio de infiltración en pacientes con LAL es el sistema nervioso central; éste, junto con las gónadas, se considera dentro de los órganos santuario para células leucémicas. Su tratamiento se basa en bloques secuenciales de quimioterapia y, en caso de contar con un donador HLA-compatible, trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos realizado durante la primera remisión (Ramos y col. 2011).

Epidemiología

La incidencia de la leucemia aguda linfoblástica se ha incrementado a 30.9% en un lapso de 40 años. Es una enfermedad principalmente de niños y adolescentes, sin embargo un segundo pico más pequeño se observa en mayores de 70 años. En relación con la raza, la LAL es más frecuente en población blanca que negra con razón 10:6, y en los EEUU se observa con mayor frecuencia entre los latinos de Los Ángeles. (Redaelli 2005; González y col., 2012).

Manifestaciones Clínicas

Tener en cuenta que se presentan alteraciones en los paraclínicos que son comunes a ambos linajes que incluyen leucocitosis con neutropenia, anemia y trombocitopenia variables, elevaciones de ácido úrico, creatinina, calcio y fosfato, con disminución del nivel de inmunoglobulinas circulantes (Redaelli 2005).

Pronóstico

La tasa de remisiones completas es variable; en general, es superior a 80% pero con supervivencias incluso inferiores a 47% a cinco años. La mortalidad ha sido calculada en 0.5 por cada 100,000 habitantes por año ajustado por edad, con ligero incremento en el género masculino con 0.6 por cada 100,000 habitantes por año (Ravindranath 2003; Redaelli 2005; Ramos y col. 2011).

La leucemia aguda linfoblástica B es generalmente, una leucemia de buen pronóstico. Las características genéticas son importantes pero resultan heterogéneas si se tienen en cuenta otros factores. Es conocido que el cromosoma Filadelfia es de pobre pronóstico; sin embargo, la mayoría de niños entre 1-9 años, Filadelfia positivos, son curados con quimioterapia sola. La t(4;11) es de pobre pronóstico en niños menores de 1 año, no así en mayores de esta edad. Factores predictivos para remisión durable y supervivencia prolongada son edad entre 4 y 10 años, hiperploidias (54-62 cromosomas) con trisomías 4, 10 y/o 17, alteración cromosómica t(12;21)(p13;q22) y conteo normal o bajo de leucocitos al diagnóstico (Brunning 2001, Rubnitz 2003).

En protocolos pediátricos de leucemia aguda linfoblástica T, se trata como enfermedad de alto riesgo, y en adultos el manejo es similar a otros tipos de LAL. Previo al advenimiento de los actuales protocolos terapéuticos el pronóstico fue desfavorable, pero actualmente, es comparable con LAL-B. Se han establecido 4 alteraciones citogenéticas de importancia pronóstica, siendo favorable el gen de fusión *MLL-ENL* y la expresión de *HOX11*, mientras que la activación de *TAL1* y *LYL1* confieren mal pronóstico, así como la expresión de *HOX11L2*. (Brunning 2001, Rubnitz 2003).

Diagnóstico

Morfología. Los linfoblastos en frotis y extendidos varían desde blastos pequeños con escaso citoplasma, cromatina nuclear condensada, y nucléolo mínimo, hasta células más grandes con cantidad moderada de citoplasma azul claro-gris azulado, ocasionalmente vacuolado, cromatina nuclear dispersa, y nucléolos prominentes múltiples variables. Gránulos azurófilos dispersos están presentes en algunos linfoblastos en aproximadamente 10% de los casos. Estos hallazgos se pueden correlacionar con anomalías genéticas $t(9;22)(q34;q11.2)$. En algunos casos, los linfoblastos tienen pseudópodos citoplasmáticos (células en espejo de mano). En biopsias de médula ósea, los linfoblastos son relativamente uniformes en apariencia, con núcleos redondos, ovales o indentados. Los nucléolos variablemente son prominentes, aunque usualmente mínimos o indistintos. La cromatina está finamente dispersa. El número de figuras mitóticas usualmente varía (Brunning 2001).

Inmunofenotipo

Leucemia aguda linfoblástica de precursores B. Los linfoblastos son deoxinucleotidiltransferasa terminal positivos (TdT+), HLA-DR positivos, y casi siempre positivos para CD19, CD79a citoplásmica y CD38. Son positivos para CD10 y CD24 en la mayoría de casos; en casos con alteración cromosómica $t(4;11)(q21;q23)$ son usualmente CD10 negativos y frecuentemente CD24 negativos. Hay expresión variable de CD20 y CD22. CD45 puede estar ausente. La expresión citoplásmica de CD22 es considerada específica de linaje. Los antígenos mieloides CD13 y CD33 pueden ser de expresión aberrante (Brunning 2001).

El grado de diferenciación de los linfoblastos del linaje B tiene correlación clínica y genética. En el estadio más temprano (precursor temprano), los blastos expresan CD19, CD79a y CD22 citoplasmáticos, y TdT nuclear. En el estadio intermedio, los blastos expresan CD10. Estos dos estadios representan la mayoría de casos de leucemia (50-70%). Entre 20-30% de los casos corresponden con el estado de diferenciación más maduro: preB, los blastos expresan cadenas mu citoplásmica (cyt- μ). Es característica la ausencia de inmunoglobulina de superficie, pero su presencia no excluye el diagnóstico de LAL-B, puesto que entre el 2-3% de estas neoplasias presentan esta característica y son CD20+ (Chan 2002, Brunning 2001).

Leucemia aguda linfoblástica de precursores T. Los linfoblastos en LAL-T expresan TdT y niveles variables de CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7 y CD8. De éstos, CD7 y CD3

citoplasmático son más frecuentemente positivos, y sólo CD3 es considerado específico de linaje. CD4 y CD8 son frecuentemente coexpresados en blastos, y CD10 puede ser positivo. Se ha observado expresión en algunos casos de CD79a. Es frecuente encontrar expresión aberrante de antígenos mieloides CD13 y/o CD33, y en raras ocasiones CD117 (c-kit), sin que su presencia excluya el diagnóstico. Los linfoblastos T pueden mostrar re-arreglos del gen del receptor T (TCR), pero esto no es específico de linaje (Brunning 2001).

Estas neoplasias pueden ser estratificadas acordes a los diferentes estados de diferenciación intratímica (CD3 citoplasmático, CD2 y CD7 son tempranamente expresados, seguidos por CD5 y CD1a, seguido por CD3 de membrana). Algunos estudios han correlacionados esos estados de diferenciación con pronóstico, pero no se ha logrado establecer las alteraciones genéticas específicas. Otros marcadores de inmadurez como HLA-DR y CD38 son usualmente expresados (Brunning 2001, Chan 2002).

Genética. Las alteraciones genéticas son marcadores pronósticos importantes, detectándose hasta en el 75% de las leucemias agudas linfoblásticas.

Leucemia aguda linfoblástica de precursores B. Las alteraciones citogenéticas en neoplasias de precursores B se consideran en varios grupos: hipoploidías, hipodiploidías <50, hiperdiploidías >50, translocaciones y pseudodiploidías: LAL- t(9;22)(q34;q11.2); *BCR/ABL*, LAL- (v;11q23); rearreglo *MLL*, LAL- t(12;21)(p13;q22); *TEL/AML1*, LAL- t(1;19)(q23;p13.3); *PBX/E2A*, LAL- hipodiploide, LAL- hiperdiploide >50 (Brunning 2001; Chan 2002; Rubnitz 2003).

Leucemia aguda linfoblástica de precursores T. Hasta en un tercio de las neoplasias se han detectado translocaciones en locus del receptor T delta y alfa en 14q11.2, locus beta en 7q35, y locus gamma en 7p14.15, con una variedad de genes emparentados. Los genes incluyen los factores de transcripción MYC (8q24.1), TAL1 (1p32), RBTN1 (11p15), RBTN2 (11p13) y HOX11 (10q24) y la tirosina quinasa citoplásmica LCK (1p34.3). En la mayoría de casos esas translocaciones conducen a una desregulación de la transcripción de los genes emparentados por yuxtaposición con la región reguladora del locus del receptor de células T. En cerca del 25% de casos de LAL-T el locus TAL1 es desregulado por una delección en su región regulatoria 5' más que por la translocación. La delección 9p, resultante en la pérdida del gen

supresor tumoral CDKN2A (inhibidor de la CDK4), ocurre con más frecuencia en LAL-T (Brunning 2001).

Leucemia Aguda Mieloblástica

Definición

La leucemia aguda mieloblástica (LAM) resulta en un crecimiento exagerado de la progenie mieloide en médula ósea. Clínicamente, se reconoce como un desorden heterogéneo, sin embargo es el resultado de dos perturbaciones en la hematopoyesis: un incremento en función de la proliferación y un descenso en la función de diferenciación. Sigue siendo una de las lesiones malignas hematológicas más difíciles de tratar (Cáceres, 2011).

Epidemiología

La leucemia aguda mieloblástica ya no es vista por los hematólogos-oncólogos modernos como una entidad aislada sino como un grupo heterogéneo de enfermedades con implicaciones muy particulares en cuanto a la epidemiología, biología, tratamiento y pronóstico (Aguayo, 2013).

Sin embargo se consideran los siguientes valores: La LAM representa el 13.9% de los casos nuevos de leucemia en México, con una letalidad de 19%, siendo más frecuente en pacientes masculinos (56.9%). Se reporta como el tipo histológico más frecuente el tipo M4 de la clasificación FAB con el 22.6% de los casos (CeNSIA, 2008).

Manifestaciones Clínicas

Los síntomas y signos clínicos que presentan los pacientes con LAM se deben generalmente a la insuficiencia medular, secundaria en parte a la infiltración de la médula ósea por los blastos y también a un bloqueo de la diferenciación mieloide. Por otro lado, otros síntomas pueden explicarse por la invasión de órganos extramedulares, por la existencia de coagulopatía, de leucostasis o bien por trastornos metabólicos relacionados con la proliferación (Camós, 2007).

Los pacientes con LAM se caracterizan por presentar un cuadro clínico de corta evolución, asociado a síntomas como fiebre, pérdida de peso, petequias, equimosis, púrpura y diaforesis profusa. Puede cursar con visceromegalia, linfadenopatía, compromiso de piel y gingival (Quintero, 2006).

Pronóstico

Los principales factores clínicos que influyen en el tratamiento de la leucemia aguda mieloblástica son la edad, la cifra de leucocitos al diagnóstico y el que se trate de una leucemia aguda *de novo* o secundaria. La edad superior a 50-60 años es un factor independiente de mal pronóstico (Döhner H, 2010). Los pacientes jóvenes tienen más probabilidades de alcanzar la remisión completa que los de edad avanzada, sobre todo porque la mortalidad en inducción y durante el tratamiento post-remisión es menor. Además, la edad avanzada se asocia de forma más frecuente a cariotipos complejos y a mayor resistencia a la quimioterapia (Perea, 2011).

El mal pronóstico de las leucemias agudas mieloblásticas secundarias viene dado en muchos casos por su asociación a complicaciones citogenéticas de mal pronóstico, en particular anomalías de los cromosomas 5 y 7 en pacientes previamente tratados con alquilantes, y deleciones del brazo largo del cromosoma 11 en pacientes tratados con inhibidores de la topoisomerasa II (Perea, 2011).

Los subtipos morfológicos M6 y M7 también se consideran de peor pronóstico probablemente por su asociación más frecuente a complicaciones citogenéticas desfavorables (Perea, 2011).

Diagnóstico

Morfología. Ocasionalmente, puede no observarse blastos en sangre periférica por hallazgo de pancitopenia o bicitopenia (Quintero, 2006).

En la serie granulocítica hay tres tipos de blastos que se diferencian por la cantidad de gránulos:

Tipo I: sin gránulos, son los más indiferenciados; se observan, generalmente, en la LAM mínimamente diferenciada.

Tipo II: con 20 gránulos en el citoplasma.

Tipo III: con más de 20 gránulos en el núcleo y citoplasma.

Por lo general los blastos presentan tamaño grande (10-18 micr), relación núcleo-citoplasma moderadamente baja (1:2), citoplasma azul claro, pueden o no tener bastones de Auer (depende de la leucemia), vacuolas pueden o no estar presentes, membrana nuclear irregular, cromatina laxa, de dos a cuatro nucléolos prominentes (Quintero, 2006).

Inmunofenotipo. Los principales anticuerpos para las leucemias agudas mieloblásticas son: MPO, HLADR, CD34, CD33, CD13, CD15, CD11, CD14, CD41, CD61, glicoforina A (Quintero, 2006).

Genética. Más de la mitad de los pacientes adultos con LAM presentan aberraciones cromosómicas recurrentes, como las translocaciones recíprocas, inversiones, deleciones, trisomías y monosomías. Hoy en día se considera que el cariotipo en el momento del diagnóstico es el factor pronóstico más importante en el paciente con LAM (Grimwade, 1998; Slovak, 2000; Mrozek, 2004).

El grupo de LAM consideradas de buen pronóstico incluye la leucemia aguda promielocítica (LAP) y las leucemias con translocaciones que involucran al *core-binding factor* (CBF). La LAP presenta la translocación t(15;17) (q22;q21), que produce la fusión de los genes PML y RAR α . Las leucemias CBF están constituidas por la LAM con translocación t(8;21) (q22;q22) y la LAM con inv(16)(p13;q22) o más raramente t(16;16)(p13;q22). En estas leucemias se halla involucrada alguna de las dos subunidades, alfa y beta, respectivamente, del CBF, un factor de transcripción fundamental en la regulación de la hematopoyesis normal (Perea, 2011).

El amplio conjunto de leucemias que integran el grupo pronóstico intermedio, con una supervivencia de alrededor del 30-40% con los protocolos terapéuticos actualmente empleados, es heterogéneo (Camós, 2007).

La presencia de un cariotipo complejo, la deleción o monosomía de los cromosomas 5 y/o 7 y las anomalías del cromosoma 3q definen un grupo de LAM de pronóstico desfavorable. Este grupo de leucemias se caracterizan por una pobre respuesta a la quimioterapia y un alto riesgo de recaída, lo que se traduce en una supervivencia inferior al 20% (Grimwade, 1998).

Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto

Los primeros reportes publicados que mencionan la entidad de leucemias agudas bifenotípicas (ahora conocidas como leucemias agudas de fenotipo mixto) datan de los 80s, después de la aparición de los primeros anticuerpos monoclonales y su aplicación en la definición de células leucémicas. En estas primeras publicaciones ya se hacía referencia a la posible existencia de una célula leucémica totipotencial capaz de diferenciarse en célula mieloide y linfoide (Béné, 2009; Matutes y col, 2010).

Se cree que una vez que la célula está destinada a una estirpe dada, su camino debe ser guiado por combinaciones precisas de factores de transcripción de dicha estirpe y de modificaciones epigenéticas de la cromatina. Sin embargo, considerando que la hematopoyesis implica un diálogo continuo entre las células en desarrollo y señales del microambiente que las rodea, la naturaleza unidireccional e irreversible del proceso ha sido cuestionada por un número de investigaciones que muestran la redirección del destino celular a través de varias manipulaciones, demostrando la plasticidad de las células progenitoras primarias (Dorantes, Pelayo 2012).

Vargas publica en 1995 que esta heterogeneidad lineal se explica en primer término como reflejo de la expresión de un gen aberrante; en segundo lugar, por la transformación maligna de células progenitoras pluripotenciales capaces de diferenciarse en serie mieloide o linfoide, o finalmente, a la inmortalización de células progenitoras que coexpresan características de ambas líneas. Además las clasifica como leucemias agudas híbridas, término que se utiliza para denominar aquellas leucemias en que sus blastos expresan características mieloides y linfoides, y las agrupa en dos entidades:

a) Leucemia mixta o bilineal: son aquellos casos de pacientes con leucemia aguda que presentan una población de blastos con características mieloides y otra de blastos con características linfoides.

b) Leucemia aguda bifenotípica o leucemia aguda mixta: comprende las leucemias en que sólo existe una población de blastos, que expresa simultáneamente marcadores antigénicos mieloides y linfoides. Se representan como LAM-Ly+ (leucemia aguda mieloblástica con marcador linfoide), y LAL-My+ (leucemia aguda linfoblástica con marcador mieloide) (Vargas, 1995).

En la edición más reciente de la clasificación de tumores de tejidos hematopoyéticos y linfoides de la OMS de 2008, se revisó el grupo de LA donde los blastos muestran características de más de una línea celular. Se ha determinado que un nombre más certero para las LA bifenotípicas es leucemias agudas de fenotipo mixto (LAFM). Estas están principalmente divididas de acuerdo a las anormalidades citogenéticas principales reportadas en este tipo de pacientes. Conocidas como cromosoma Filadelfia, o traslocaciones de 11q23 y del gen *MLL*. A pesar de estas aberraciones citogenéticas, las LAFM han sido divididas de acuerdo a la mezcla de líneas celulares que desarrollan, por ejemplo en B/mieloide, T/mieloide y tipos raros incluyendo aquellos de triple estirpe celular o coexpresión B/T. Otra novedad es que ya no se hace una distinción entre casos bilineales donde coexisten dos tipos de blastos de

diferente estirpe y células verdaderamente aberrantes que coexpresan marcadores exclusivos normales (Béné, 2009).

Definición

Las leucemias agudas de estirpe ambigua abarcan aquellas leucemias que no muestran evidencia clara de la diferenciación en una sola estirpe. Incluyen leucemias con antígenos no específicos a ninguna estirpe (leucemia aguda indiferenciada LAI) y aquellas con blastos que expresan antígenos de más de una estirpe en una cantidad tal que no es posible asignar la leucemia a una cierta estirpe (leucemias agudas de fenotipo mixto LAFM). Esta última puede ya sea contener distintas poblaciones de blastos, de cada una de las diferentes estirpes, una población con múltiples antígenos de diferentes estirpes en la misma célula, o una combinación (WHO, 2008).

Aunque no se conoce la célula putativa que da origen a las LAFM, es posible que este tipo de leucemias surjan de un progenitor hematopoyético temprano con el potencial de diferenciarse en la estirpe mieloide o en la estirpe linfoide o raramente a una diferenciación de células B y T. Katsura en 2002, propuso un modelo de hematopoyesis con base mieloide, en el cual la célula madre inicialmente genera progenitores comunes mieloides y mielolinfoides. Los progenitores de célula T y célula B, subsecuentemente surgen de progenitores mielolinfoides comunes a través de los estadios mieloide T y mieloide B, respectivamente. Más recientemente, diversos estudios, demostraron que un número substancial de precursores tempranos de células T en el timo tienen potencial mieloide. Estos resultados proporcionaron evidencia que apoya la suposición de que la leucemia aguda de fenotipo mixto surge de una célula progenitora pluripotencial, que después puede diferenciarse ya sea en el linaje mieloide o en el linaje linfoide durante el desarrollo de la leucemia aguda (Katsura, 2002; Xu y col, 2009; Matutes y col, 2010).

Epidemiología

La leucemia aguda de fenotipo mixto es una enfermedad poco común que ocurre entre el 5 y 10% de las leucemias agudas, siendo del 2.4 al 3.7% casos en niños. Pueden aparecer de novo o puede ser secundaria a una terapia citotóxica previa. Una LAFM se puede presentar a cualquier edad, incluyendo a infantes, aunque es más común en adultos. Es difícil establecer números reales de incidencia debido a los problemas para diferenciar este tipo de leucemias, a

la calidad y número de AcMo utilizados y al poco conocimiento que se tiene de las mismas (Vargas, 1995; Gao, 2012; Azma y col., 2006).

Manifestaciones Clínicas

Como en otros tipos de leucemias los pacientes con LAFM usualmente presentan síntomas resultantes de las citopenias (Azma y col., 2006).

Pronóstico

El pronóstico en adultos es peor que el de LAM o LAL y esta mayormente asociado a la expresión de la glicoproteína P (Pgp). Se estima una sobrevida de 18 meses (Azma y col., 2006; Gao 2012).

Diagnóstico

El diagnóstico de las leucemias de estirpe ambigua se basa en el inmunofenotipo. La citometría de flujo es el método preferido para establecer el diagnóstico, especialmente cuando el diagnóstico de LAFM es dependiente para demostrar la coexpresión de antígenos de diferenciación linfóide y mielóide en la misma célula. Los casos en los cuales el diagnóstico depende de la demostración de dos poblaciones leucemias distintas con un fenotipo diferente pueden también ser establecido por inmunohistoquímica en secciones de tejido o con tinciones citoquímicas para mieloperoxidasa en frotis acoplado con citometría de flujo para detectar las poblaciones leucémicas linfoides B o T (WHO, 2008).

Clasificación

Es necesaria una cuantificación de los patrones de expresión de algunos antígenos de superficie y citoplasmáticos al asignar la estirpe para diagnosticar leucemias agudas de fenotipo mixto y para detectar inmunofenotipos aberrantes que permiten la medición de la enfermedad residual mínima. La determinación del conteo de blastos por citometría de flujo no debe usarse para sustituir la evaluación morfológica. Se requiere inmunofenotipo para establecer el diagnóstico de LAM con diferenciación mínima, leucemia aguda megacarioblástica y leucemias agudas de estirpe ambigua (Döhner, 2010).

Antes de la publicación de la clasificación OMS del 2008, el diagnóstico y la clasificación de LAFM se basaba en un sistema de puntuación propuesto por el grupo europeo para la clasificación inmunológica de leucemias (EGIL). La clasificación EGIL asigna sistemáticamente puntos a los principales antígenos que determinan la presencia de las líneas celulares. De acuerdo a la clasificación EGIL original las LAFM se definen cuando la puntuación es más de dos puntos tanto para la estirpe mieloide y T- o B- linfoide (Azma y col, 2006).

Tabla 3. Sistema de puntuación para la clasificación EGIL

Puntos	Estirpe mieloide	Estirpe B-linfoide	Estirpe T-linfoide
2	MPO	CD79a, Cyt IgM, Cyt CD22	CD3, CD3c, TCE $\alpha\beta$, TCR $\gamma\delta$
1	CD13, CD33, CD65	CD19, CD10, CD20	CD2, CD5, CD8, CD10
0.5	CD14, CD15, CD64, CD117	TdT, CD24	TdT, CD7, CD1a

MPO= mieloperoxidasa; TdT= desoxinucleotidil transferasa terminal; TCR= receptor de células T; CD= Designación de grupo (cluster differentiation). Se requieren más de 2 puntos para asignar el linaje (Gao y cols. 2012).

La organización mundial de la salud propone una clasificación que define un subconjunto de leucemias agudas basadas en las características morfológicas y citogenéticas, incorporando información nueva de estudios clínicos y científicos, añadiendo entidades que se han caracterizado recientemente (Dorantes, Pelayo, 2012).

El componente mieloide de una LAFM puede ser reconocido por cualquiera de estas tres maneras:

1. Cuando hay dos o más poblaciones distintas de células leucémicas, una de las cuales cumplirá con el criterio de inmunofenotipo para leucemia aguda mieloblástica (con la excepción de que esta población no complete el 20% de todas las células nucleadas).
2. Cuando hay una sola población de blastos que por sí solos cumplen con el criterio para leucemia aguda linfoblástica B (B-LAL) o leucemia aguda linfoblástica T (T-LAL) y los blastos además expresan mieloperoxidasa con su positividad más frecuentemente

demostrada por citometría de flujo en blastos co-expresando marcadores linfoides. Los antígenos de estirpe mieloide CD13, CD33 y CD117 no son suficientemente específicos para permitir la identificación de una leucemia aguda de fenotipo mixto.

3. Cuando hay una sola población de células que por sí solas pueden cumplir con el criterio de B o T-ALL en las cuales los blastos también muestran una evidencia inequívoca de diferenciación monoblástica: ya sea positividad difusa para esterasa no específica o expresión de más de un marcador monocítico como CD11c, CD14, CD36, CD64 o lisozima. (WHO, 2008).

La primera de estas tres instancias debe ser previamente considerada como leucemia bilineal mientras que las alternativas 2 y 3 representan lo que se puede llamar leucemia bifenotípica. (WHO, 2008).

El componente T en una LAFM se reconoce por la fuerte expresión de CD3 citoplasmático, ya sea en la población entera de blastos o en una subpoblación separada de células leucémicas. Aunque es raro, el CD3 de superficie también indica la estirpe de células T. La expresión de cCD3 es mayormente determinada por citometría de flujo usando fluoróforos relativamente brillantes como la ficoeritrina o la aloficocianina, y debe ser brillante o casi tan brillante como las células T residuales normales presentes en la muestra. La estirpe T puede demostrarse también por la expresión de CD3 en blastos por inmunohistoquímica en biopsia de médula ósea, aunque debe tomarse en cuenta que los anticuerpos polivalentes de células T usados en la inmunohistoquímica también reaccionan con la cadena zeta (ζ) del receptor de células T presente en el citoplasma de las células NK y es por lo tanto no absolutamente específico para células T. (WHO, 2008).

En contraste con lo que se describe con las estirpes mieloides y de células T, ningún marcador es suficientemente específico para indicar la diferenciación de células B con certeza. La diferenciación de células B puede ser reconocida cuando hay una subpoblación distinta de células que por sí mismas cumplen con el criterio para B-ALL. Cuando solamente está presente una población de células, para asignar la estirpe B se requiere ya sea: 1) una fuerte expresión de CD19 además de una fuerte expresión de al menos uno de los siguientes antígenos: CD10, CD79a o cCD22 o 2) una expresión débil de CD19 además de una fuerte expresión de al menos dos de los siguientes: CD10, CD79a y cCD22. Raramente un caso puede ser asignado como de estirpe B incluso si CD19 es negativa. Se debe tener cuidado al momento del análisis debido a la relativamente baja especificidad de CD10 y CD79a. (WHO, 2008).

La clasificación de la OMS puede llevar a una mejor identificación de los casos de LAFM cuando se incorporan los marcadores sugeridos, debido a que requiere menos marcadores, y son más específicos que las clasificaciones propuestas por puntuación (Béné, 2009).

Los casos de LAFM basados en un criterio diagnóstico pueden cambiar con el tiempo o en la recaída a otro (leucemia bilineal), o viceversa. Además, siguiendo la terapia, puede persistir la enfermedad o puede ocurrir una recaída de ya sea ALL o AML puras. Algunos casos así han sido llamados “cambio de estirpe” (WHO, 2008).

Tabla 4. Clasificación OMS 2008 para la clasificación de linaje ambiguo

Estirpe	Antígenos
Mieloide	Mieloperoxidasa ó Diferenciación monocítica (al menos dos de los siguientes: esterasa no específica, CD11c, CD14, CD64, lisozima)
T linfoide	CD3 citoplasmático ó CD3 de superficie
B linfoide	Fuerte expresión de CD19 y fuerte expresión de al menos dos de los siguientes: CD79a, CD22c, CD10 ó Débil expresión de CD19 y fuerte expresión de al menos dos de los siguientes: CD79a, CD22c, CD10

CD= Designación de grupo (cluster designation); c= citoplasmático, a= alfa (WHO, 2008).

Citogenética

Se cree que las LAFM están relacionadas principalmente con alteraciones en los genes *Ph* y *MLL*. En 2009 Xu y col. realizaron un estudio de 21 casos de LAFM en una población china y encontraron que la anormalidad cromosómica más común fue la translocación (9;22) que corresponde al cromosoma Filadelfia, la cual ocurrió en 25% de los pacientes los cuales mostraron co-expresión de líneas B linfoide y mieloide. La supervivencia media de estos 5 pacientes fue de 6.5 meses, lo que es menor tiempo que los pacientes con *Ph* negativo con la

misma coexpresión de linajes celulares (6.5 meses contra 12 mese, $p < 0.05$). Lo que sugiere que el cromosoma Filadelfia puede ser un indicador de pobre pronóstico para pacientes con LAFM (Xu y col, 2009).

El gen de la leucemia de fenotipo mixto en el cromosoma 11q23 es otro blanco frecuente de las translocaciones cromosómicas y re-arreglos en la terapia relacionada a leucemia infantil y adulta. Las translocaciones balanceadas resultan en la fusión del gen *MLL* con un número de diferentes genes asociados, llevándolos a la producción de nuevas proteínas quiméricas. La homología del gen mamífero *MLL* con el Trithorax de la mosca *Drosophila*, junto con los experimentos en modelos de ratón y líneas celulares humanas, sugieren que la proteína MLL funciona en la modificación de la cromatina durante el desarrollo. Sin embargo, esto no parece dirigir el papel de *MLL* en leucemia, debido a que uno de los dominios principales de cromatina modificada (el grupo dominio histona H3 lisina 4 (H3K4) metiltransferasa) es excluido de las proteínas de fusión MLL. Este problema ha sido resuelto recientemente por estudios de diferentes laboratorios que demuestran que las proteínas de fusión MLL interfieren con la elongación al momento de la transcripción para desregular la expresión de los genes blanco. Un número de estudios detallados han cubierto ya estos descubrimientos y su impacto en aprovechamientos terapéuticos potenciales para leucemias con rearrreglo *MLL* (de Boer J y col, 2013).

Entidades de LAFM

La clasificación OMS 2008 de Neoplasias de tejido hematopoyético y linfoide, expone diferentes entidades de LAFM que cumplen con criterios distintivos unas de otras. Estas entidades son expuestas a continuación.

Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto con t (9;22) (q34;q11.2); *BCR-ABL1*

Definición

Este tipo de leucemia cumple con el criterio para LAFM, teniendo además la presencia de la translocación t(9;22) o el rearrreglo *BCR-ABL1* en los blastos. Algunos pacientes con leucemia mieloide crónica pueden desarrollar o incluso presentar una fase de blastos mezclados que

cumpliría con el criterio para LAFM, sin embargo no se debe de dar el diagnóstico de LAFM en pacientes que se sabe que cursan con leucemia mieloide crónica (WHO, 2008).

Epidemiología

A pesar de que se trata de la anormalidad genética más recurrente en LAFM, es considerada como una leucemia rara. Probablemente de menos de 1% de las leucemias agudas. Ocurre tanto en niños como adultos, pero es más común en estos últimos (WHO, 2008).

Manifestaciones Clínicas

Los pacientes presentan manifestaciones clínicas similares a las de otros pacientes con leucemia aguda. A pesar de que no hay suficientes estudios sobre el padecimiento, se cree que presentan cuentas altas de células blancas, similares a los pacientes con LAL con cromosoma Filadelfia (WHO, 2008).

Pronóstico

Este tipo de leucemia tiene un pronóstico pobre, el cual parece ser peor que el de otros pacientes con LAFM. No está claro aún si el pronóstico es peor que el de los pacientes con LAL con cromosoma Filadelfia, o si la terapia al ser distinta puede afectar el pronóstico. No se conocen características de los pacientes con este tipo de leucemia que puedan predecir el pronóstico. Se espera que el Imatinib y otros inhibidores de la proteína tirosina quinasa similares, puedan ser útiles en el tratamiento de este tipo de leucemias; sin embargo, no existen estudios suficientes que evidencien claramente su utilidad (WHO, 2008).

Morfología

Muchos casos muestran poblaciones de blastos dimórficas, una parecida a linfoblastos y otra a mieloblastos, aunque algunos casos no tienen características distintivas. Generalmente no muestran maduración mieloide significativa, por lo que se debe tener precaución al momento del diagnóstico en un caso de leucemia mieloide con maduración que también expresa marcadores linfoides, debido a que este patrón puede observarse en pacientes con leucemia mieloide crónica en fase de blastos (WHO, 2008).

Inmunofenotipo

La gran mayoría de los casos tienen blastos que cumplen con el criterio para la estirpe B y la estirpe mieloide, sin embargo, algunos casos cuentan con blastos T y mieloblastos. También se ha reportado leucemia trifenotípica en raras ocasiones (WHO, 2008).

Genética

Todos los casos cuentan con t(9;22) detectada por cariotipo convencional, o la translocación *BCR-ABL1* detectada por FISH o PCR. Muchos casos tienen anomalías citogenéticas adicionales, y a menudo cuentan con cariotipos complejos (WHO, 2008).

Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto con t(v;11q23); rearreglo *MLL*

Definición

Es una leucemia que cumple los requerimientos para LAFM en la cual los blastos tienen, además, la translocación que involucra al gen *MLL*. Muchos casos con LAL con la translocación *MLL* expresan antígenos asociados a la estirpe mieloide y estos no deben de ser considerados como LAFM al menos que cumplan con el criterio específico (WHO, 2008).

Epidemiología

Es una leucemia rara que es más común en niños que en adultos. Al igual que la LAL o la LAM con re-arreglos *MLL*, esta leucemia es relativamente más común en la infancia (WHO, 2008).

Manifestaciones Clínicas

Los pacientes presentan manifestaciones clínicas similares a otros pacientes con leucemias agudas. Al igual que en otras leucemias con la translocación *MLL*, es común encontrar cuentas altas de células blancas (WHO, 2008).

Pronóstico

Es una leucemia de pronóstico pobre. Los pacientes con leucemia B/mieloide con la translocación *MLL* son normalmente tratados con diferente terapia a la de los pacientes con LAL con la translocación *MLL*, pero no existe evidencia de que esto sea necesario o que ayude de alguna manera (WHO, 2008).

Morfología

Comúnmente estas leucemias muestran poblaciones dimórficas de blastos, con una población claramente similar a monoblastos y otra similar a linfoblastos. Sin embargo, otros casos pueden presentar blastos indiferenciados, los cuales no cuentan con características distintivas. Los casos en los que la población entera de blastos es monoblástica, es más probable que se traten de LAM con la translocación *MLL* (WHO, 2008).

Inmunofenotipo

En la mayoría de los casos, es posible reconocer una población de linfoblastos con un inmunofenotipo precursor B (pro-B) CD19 positivo, CD10 negativo, frecuentemente CD15 positivo. La expresión de otros marcadores de células B como el CD22 y CD79a es comúnmente débil. Adicionalmente, los casos cumplen con el criterio para el linaje mieloide. Es rara la coexpresión de mieloperoxidasa en los blastos linfoides. La translocación *MLL* también puede producir LAL-T, por lo que es teóricamente posible que también pueda producirse leucemias mieloides /T a pesar de que no han sido reportadas (WHO, 2008).

Genética

Todos los casos tienen el rearrreglo del gen *MLL*, comúnmente emparejados con el gen *AF4* en el cromosoma 4, banda q21. También se han reportado las translocaciones t(9;11) y t(11;19). El rearrreglo debe ser detectado ya sea por cariotipo estándar, por FISH o por PCR. Los casos con deleciones del cromosoma 11q23, detectados por cariotipo, no deben considerarse en esta categoría. La translocación *MLL* puede ser la única lesión presente o puede haber otras anomalías citogenéticas o moleculares, sin embargo, no se han descrito lesiones genéticas adicionales, comunes en múltiples casos (WHO, 2008).

Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto, B/mieloide (No Especificada de Otra Manera)

Definición

Esta leucemia cumple los criterios de asignación tanto para la estirpe linfoide B, como para la estirpe mieloide y los blastos carecen de los re-arreglos genéticos *Ph+* y *MLL* (WHO, 2008).

Epidemiología

Es una leucemia rara, probablemente responsable del 1% de todas las leucemias y aproximadamente el 59% de las leucemias aguda de fenotipo mixto. Se observa tanto en niños como en adultos, sin embargo es más común en adultos (WHO, 2008; Gao, 2012).

Manifestaciones Clínicas

No existen manifestaciones clínicas únicas (WHO, 2008).

Pronóstico

Generalmente se considera a la leucemia B/mieloide como de pobre pronóstico. Muchos pacientes que cumplen con el criterio de clasificación para leucemia B/mieloide han cursado con lesiones genéticas desfavorables y se ha sugerido que son esas condiciones las que dictan el pobre pronóstico (WHO, 2008).

Morfología

La mayoría de los casos tienen blastos sin características distintivas, morfológicamente se asemejan a las LAL, o tienen poblaciones dimórficas donde una población se asemeja a linfoblastos y la otra a mieloblastos (WHO, 2008).

Inmunofenotipo

Los blastos cumplen con los criterios de asignación de linaje B-linfoide y al mismo tiempo de linaje mieloide. Los mieloblastos mieloperoxidasa positivos o monoblastos comúnmente

expresan también otros marcadores asociados a la línea mieloide incluyendo CD13, CD33 o CD117. Es rara la expresión de marcadores de etapas más maduras para el linaje de células B como el CD20, sin embargo, se da ésta expresión cuando es identificada una población separada de células del linaje B (WHO,2008).

Se ha observado, además, una fuerte expresión de CD19 en más del 90% de los casos, con una positividad en más del 50% de los blastos. Los blastos son también positivos para CD10, CD22c y/o CD79a (Gao, 2012).

Genética

La mayoría de los casos de leucemia B/mieloide cuentan con anomalías citogenéticas clonales. Se han demostrado muchas lesiones diferentes, sin embargo ninguna tiene la frecuencia necesaria para sugerir especificidad por este grupo de leucemias. Las lesiones que se han observado en más de un caso incluyen del(6p), anomalías 12p11.2, del(5q), anomalías estructurales y anomalías numéricas. Se han observado cariotipos complejos en estos casos, sin embargo, no hay información suficiente en la literatura que sugiera que las leucemias B/mieloide o T/mieloide tengan frecuencias diferentes de diferentes lesiones genéticas (WHO, 2008).

Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto, T/mieloide (No Especificada de Otra Manera)

Definición

Esta leucemia cumple con el criterio de asignación tanto del linaje T y del linaje mieloide, pero los blastos carecen de anomalías genéticas (WHO, 2008).

Epidemiología

Es una leucemia rara, probablemente menos de 1% de todas las leucemias. Se observa tanto en niños como en adultos. Puede ser relativamente más frecuente en niños de lo que es la leucemia aguda B/mieloide (WHO, 2008).

Manifestaciones Clínicas

No existen manifestaciones clínicas únicas (WHO, 2008).

Pronóstico

La leucemia T/mieloide es generalmente considerada de pobre pronóstico. Los pacientes con este padecimiento no han sido tratados uniformemente. Se han probado una combinación de terapias dirigidas a la estirpe mieloide o linfoide. Algunos pacientes pueden responder a una o a la otra (WHO, 2008).

Morfología

La mayoría de los casos cuentan con blastos sin características distintivas, que se asemejan morfológicamente a LAL, o tienen poblaciones dimórficas que asemejan linfoblastos y mieloblastos (WHO, 2008).

Inmunofenotipo

Los blastos cumplen con el criterio para ser asignados tanto en el linaje linfoide T como en el linaje mieloide. Los mieloblastos o monoblastos mieloperoxidasa positivos comúnmente también expresan marcadores asociados a la estirpe mieloide incluyendo CD13, CD33 o CD117. Además del cCD3, el componente de célula T, frecuentemente expresa otros marcadores como CD7, CD5 y CD2, específicos para células T. La expresión de CD3 de superficie puede ocurrir cuando se identifica una población separada de células T (WHO, 2008).

Genética

La mayoría de los casos cuentan con anomalías cromosómicas clonales, sin embargo ninguna de ellas tiene la frecuencia necesaria para sugerir especificidad a este grupo de leucemias. Existen estudios insuficientes en la literatura para sugerir que las leucemias B/mieloides y T/mieloides tienen diferente frecuencia en diferentes lesiones genéticas, una vez que se han contado los re-arreglos de t(9;22) y *MLL* (WHO, 2008).

MATERIALES Y MÉTODOS

Biometría Hemática

Muestra

Sangre Periférica

Este estudio se realizó de manera automatizada con el equipo MINDRAY BC2800, AUTO HEMATOLOGY ANALIZER®. El conteo diferencial se realizó de manera manual y automatizada. Se reporta en base al conteo realizado por el Químico Biólogo Clínico y al arrojado por el equipo; así mismo se deben de reportar las anomalías observadas en serie roja, blanca y plaquetaria.

Cuenta Automatizada.

Se realiza en el contador de células MINDRAY BC2800 (AUTO HEMATOLOGY ANALIZER®).

Cuenta Diferencial.

Material

- Frotis sanguíneo
- Colorante de Wright-Giemsa
- Solución amortiguadora de fosfatos

Técnica

1. Secar los frotis al aire (no más de una hora).
2. Agregar 6 gotas de colorante y dejar durante 1 minuto.
3. Añadir solución amortiguadora 3 gotas y dejar actuar de 3 a 4 minutos, a que aparezca una capa metálica verdosa, aproximadamente 1-5 minutos.
4. Lavar con agua destilada durante 5 a 30 segundos.

5. Dejar secar la preparación, colocada verticalmente sobre un papel absorbente.
6. Después de secar, se limpia el reverso con una torunda o gasa con alcohol.
7. Observar con el microscopio en objetivo 100x.
8. Seleccionar la parte central del frotis y hacer el recuento diferencial de leucocitos, hasta obtener un total de 100.
9. Se reporta el porcentaje de cada tipo de células y las observaciones especiales.

Inmunofenotipo

Este estudio se realizó de manera automatizada con el equipo BECKMAN COULTER® Gallios™.

Muestra:

Sangre periférica ó Médula ósea.

Preparación de la muestra

1. Por cada mililitro de muestra agrega 14mL de solución lisante FCM a temperatura ambiente para lisar los eritrocitos.
2. Incubar por 5 minutos en una placa magnética a temperatura ambiente. No exceder los 5 minutos, los glóbulos blancos empezarán a lisarse pasados los 5 minutos.
3. Centrifugar por 5 minutos a 1000 RPM.
4. Aspirar el sobrenadante cuidadosamente, resuspender el sedimento en aproximadamente 50mL de 1X PBS frío.
5. Tomar una muestra que sea necesaria para el conteo celular y centrifugar por 5 minutos a 1000 RPM.
6. Aspirar el sobrenadante y resuspender el sedimento en 1x PBS para obtener un concentrado celular final de 10 millones de células/mL.
7. Bloquear los receptores Fc al incubar la suspensión celular con 1 mg de Fc y RIIb/CD16-2 (2.4G2): sc-18867 L por cada mililitro de la suspensión celular por 10 minutos. No enjuagar y proceder a la tinción.

Tinción

1. Rotular los tubos y agregar 20 μ L de anticuerpos conjugados con fluorocromos.
2. Añadir 100 μ L de la suspensión celular (equivalente a 1 millón de células) a cada tubo.
3. Agitar e incubar por 15-30 minutos en una cubeta con hielos cubierta.
4. Para lavar el exceso de anticuerpos después de la tinción agregar 1.5-2mL de 1X PBS a cada tubo.
5. Centrifugar en microcentrífuga por 5 minutos a 2000 RPM. Esta velocidad debe incrementarse a 3000 o 4000 RPM para tinción intracelular.
6. Aspirar sobrenadante, con cuidado de no alterarlo.
7. Resuspender el sobrenadante con 500 μ L de paraformaldehído 1%. Los tubos pueden guardarse en la oscuridad por 24 horas máximo para tinción intracelular a 1 semana máximo para tinción de superficie.

Análisis de las muestras

Todos los tubos se analizaron en Citómetro de flujo, Beckman Coulter, GALLIOS™, utilizando el software Instrument SN: AT22192, Gallios.

Antígenos analizados a lo largo del caso.

- **LAL T:** CD2, CD3, CD3c, CD7, CD45, CD34
- **LALB:** CD10, CD19, CD20, CD79a, CD5, IgS cadenas μ .
- **LAM:** CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD41, CD45, CD 117, HLA-DR, MPO
- **LAE:** CD235a

RT-PCR

La muestra de sangre periférica fue enviada (en recipientes y condiciones de temperatura apropiada) para su análisis en los Laboratorios de la Clínica Ruiz de Puebla, Puebla, México.

Secuenciación

La muestra de sangre periférica fue enviada (en recipientes y condiciones de temperatura apropiada) para su análisis en los Laboratorios de la Clínica Ruiz de Puebla, Puebla, México.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Presentación del Caso

Descripción del Paciente

Paciente masculino de 49 años de edad, acude al médico por malestar general con sospecha diagnóstica de leucemia. Se realiza un aspirado de médula ósea y se manda la muestra al laboratorio clínico para realizar los estudios correspondientes que confirmarían o descartarían el diagnóstico de leucemia.

Biometría Hemática

En la tabla 5, se muestran los resultados obtenidos de la biometría hemática para la fórmula roja en diferentes etapas de la enfermedad. Se observa anemia en el transcurso de la enfermedad, además de anisocitosis y hematíes con morfología aberrante.

En cuanto a la fórmula blanca, los resultados se muestran en las tablas 6 y 6.1 donde se observa leucocitosis en algunas etapas del padecimiento. Destaca la morfología aberrante de los blastos observados, lo cual hace difícil su clasificación morfológica.

Por otro lado se presentan los resultados de la serie plaquetaria en la tabla 7 en donde se observa trombocitopenia en el transcurso de la enfermedad.

Tabla 5. Biometría hemática, resultados obtenidos para la fórmula roja

	25/10/12	31/10/12	19/12/12	05/01/13	11/01/13	15/01/13	21/01/13	Valores de referencia
Eritrocitos (M μ l)	4.12 ↓	4.13 ↓	2.45 ↓	2.89 ↓	3.18 ↓	3.13 ↓	2.05 ↓	4.20-5.80
Hemoglobina (g/dL)	13.3	12.7 ↓	8.1 ↓	9.1 ↓	9.7 ↓	9.8 ↓	6.7 ↓	13.0-17.4
Hematocrito(%)	40.6	39.0	23.7 ↓	29.0 ↓	30.7 ↓	30.1 ↓	20.0 ↓	38.0-50.0
V.C.M. (fL)	98.5 ↑	94.4	96.7	100.3 ↑	97.2 ↑	96.2	97.6 ↑	83.3-98.8
C.H.C.M. (g/dL)	32.8	32.6	34.2	31.4 ↓	31.8 ↓	31.9	33.5	32.0-38.0
R.D.W. (%)	19.6 ↑	19.6 ↑	17.6 ↑	25.6 ↑	24.3 ↑	24.1 ↑	22.6 ↑	11.6-14.5
Anisocitosis (+/-)	++	++	+	++++	+++	+++	+++	No debe haber
Normoblastos (PC 100 leu)			6.0 ↑		1.0 ↑	1.0 ↑		0.0-0.0
Observaciones	ov+, da+	-	ov-, ba dif.	ov++, da+	mac++	dia oc, mac++	dia oc	-

↑Valores por arriba de los valores de referencia.

↓Valores por debajo de los valores de referencia.

ov: ovalocitosis; da: dacriocitosis; ba dif: basofilia difusa; mac: macrocitosis; dia oc: dianocitos ocasionales.

Tabla 6. Biometría hemática, resultados obtenidos para la fórmula blanca

	25/10/12	31/10/12	19/12/12	05/01/13	11/01/13	15/01/13	21/01/13	Valores de referencia
Leucocitos	K/μL	23.300	19.900	3.570	18.500	20.700	21.400	4.300 – 9.000
	mm ³	233	0	36	185	207	214	
Basófilos	%	1.0	0.0	1.0	1.0	1.0	1.0	0 – 200
	mm ³	233	199	0	185	207	214	
Eosinófilos	%	1.0	1.0	0.0	1.0	1.0	1.0	30 – 450
	mm ³	0	0	0	0	0	0	
Mielocitos	%	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0 – 0
	mm ³	0	0	36	0	0	0	
Metamielocitos	%	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0 – 100
	mm ³	0	0	1.0	0.0	0.0	0.0	
En banda	mm ³	1.864	1.791	464	2.035	1.242	1.070	
	%	8.0	9.0	13.0	11.0	6.0	5.0	1 – 350
Segmentados	mm ³	12.582	13.532	1.499	3.700	3.933	3.638	
	%	54.0	68.0	42.0	20.0	19.0	17.0	2000 – 8000
Linfocitos	mm ³	6.990	1.990	1.178	10.730	14.697	15.408	1000 – 3400
	%	30.0	10.0	33.0	58.0	71.0	72.0	
Linf. plasmocitoides	mm ³	233	199	0	0	0	0	0 – 100
	%	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
Monocitos	mm ³	932	1.592	357	1.665	4.14	856	150 – 600
	%	4.0	8.0	10.0	9.0	2.0	4.0	
Blastos	mm ³	233	597	0	0	0	0	0 – 0
	%	1.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
Promielocitos	mm ³	0	0	0	0	0	0	0 – 0
	%	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
Observaciones		blastos aparentemente linfoides	blastos aparentemente mieloides	blastos aberrantes	blastos aberrantes	blastos aberrantes	blastos aberrantes	-

↑Valores por arriba de los valores de referencia.

↓Valores por debajo de los valores de referencia.

Tabla 7. Biometría hemática, resultados obtenidos para la serie plaquetaria

	25/10/12		31/10/12		19/12/12		05/01/13		11/01/13		15/01/13		21/01/13		Valores de referencia
Plaquetas (K/ μ L)	96.0	↓	63.0	↓	68.0	↓	38.0	↓	24.0	↓	18.0	↓	17.0	↓	150.0 -360.0
V.M.P.(fL)	11.2		11.3		10.6		10.1		18.0	↑	17.0	↑	11.4		7.0 - 12.4
Observaciones	plq dis +								plq dis ++++		plq dis ++++				-

↑Valores por arriba de los valores de referencia.

↓Valores por debajo de los valores de referencia.

plq dis: plaquetas disminuidas

Inmunofenotipo

14 de febrero de 2012

Espécimen: Médula ósea anticoagulada con EDTA, 8,600 leucocitos/uL, cumple con las condiciones analíticas.

Sospecha diagnóstica: Leucemia aguda.

Antígenos investigados: CD2, CD3, CD3c, CD5, CD7, CD10, CD13, CD14, CD15, CD19, CD20, CD33, CD34, CD41, CD45, CD79a, CD117, CD235a, HLA-DR y MPO.

Características de las células neoplásicas: Tamaño y granularidad de calidad analítica.

Se detectó una población de blastos, con el fenotipo: CD10+, CD19+/-, CD20+/-, CD34-/+ , CD45+/-, CD79a+/- y HLA-DR+/- , que representa aproximadamente el 23% del total de las células.

Interpretación: Leucemia aguda linfoblástica de precursores B.

Estos resultados se pueden agrupar en la tabla 8 según el consenso latinoamericano para la clasificación de leucemias agudas.

31 de julio de 2012

Enfermedad residual mínima

Espécimen: Médula ósea anticoagulada con EDTA, 74,900 leucocitos/uL, cumple con las condiciones analíticas.

Sospecha diagnóstica: Enfermedad residual de LAL-B.

Se detectó una población de linfoblastos B detenidos en su proceso de maduración, con el fenotipo: CD10+, CD19+, CD20+/-, CD34-, CD45+/- y CD58-, que representa aproximadamente el 7% del total de células.

Interpretación del estudio: Positivo para enfermedad residual mínima.

En la figura 1 se observan los histogramas arrojados al momento del análisis.

Los resultados se pueden agrupar en la tabla 9 según el consenso latinoamericano para la clasificación de leucemias agudas.

31 de octubre de 2012

Espécimen: Sangre periférica anticoagulada con EDTA, 22,700 leucocitos/uL , cumple las condiciones analíticas.

Sospecha diagnóstica: Leucemia aguda.

Antígenos investigados: CD2, CD3, CD3c, CD5, CD7, CD10, CD13, CD14, CD15, CD19, CD20, CD33, CD34, CD41, CD45, CD79a, CD117, CD235a, HLA-DR y MPO.

Características de las células neoplásicas: Tamaño y granularidad heterogéneos.

Se detectó una población de blastos con el fenotipo: CD13-, CD15-, CD33+, CD34+, CD45+/-, HLA-DR+/-, y MPO+/-, que representa aproximadamente el 39% del total de células.

Interpretación: Leucemia aguda mieloblástica.

En la figura 2 se observan los histogramas arrojados al momento del análisis.

Los resultados se pueden agrupar en la tabla 10 según el consenso latinoamericano para la clasificación de leucemias agudas.

14 de diciembre de 2012

Espécimen: Médula ósea anticoagulada con EDTA, 12,600 leucocitos/uL, cumple con condiciones de calidad analítica.

Sospecha diagnóstica: no especificada.

Antígenos investigados: CD2, CD3, CD3c, CD5, CD7, CD10, CD13, CD14, CD15, CD19, CD20, CD33, CD34, CD41, CD45, CD79a, CD117, CD235a, HLA-DR y MPO.

Se detectó una población de mieloblastos, con el fenotipo: CD13-, CD15-, CD33+. CD34+, CD45+/-, CD117-, HLA-DR+/- y MPO+, que corresponde aproximadamente al 0.4% del total de células.

Interpretación: Leucemia aguda mieloblástica.

En las figuras 3 y 3.1 se observan los histogramas arrojados al momento del análisis.

Los resultados se pueden agrupar en la tabla 11 según el consenso latinoamericano para la clasificación de leucemias agudas.

16 de enero de 2013

Espécimen: Sangre periférica anticoagulada con EDTA, 21,600 leucocitos/uL, cumple con condiciones de calidad analítica.

Sospecha diagnóstica: No especificada.

Antígenos investigados: CD2, CD3, CD3c, CD5, CD7, CD10, CD13, CD14, CD15, CD19, CD20, CD33, CD34, CD41, CD45, CD79a, CD117, CD235a, HLA-DR, MPO, IgS y cadenas μ citoplasmáticas.

Se detectó una población de blastos con el fenotipo: CD10-, CD13-, CD14-, CD15-, CD19+, CD20-/+, CD33+, CD34+, CD45+/-, CD79a-/+, HLA-DR+/-, MPO+/-, IgS- y cadenas μ citoplasmáticas-, que representa aproximadamente el 52% del total de células.

Interpretación: Leucemia aguda de fenotipo mixto B/mieloide.

En la figura 4 se observan los histogramas arrojados al momento del análisis.

Los resultados se pueden agrupar en la tabla 12 según el consenso latinoamericano para la clasificación de leucemias agudas.

12 de febrero de 2013

Espécimen: Médula ósea anticoagulada con EDTA que cumple con condiciones de calidad analítica.

Antígenos investigados: CD2, CD3, CD3c, CD5, CD7, CD10, CD13, CD14, CD15, CD19, CD20, CD33, CD34, CD41, CD45, CD79a, CD117, CD235a, HLA-DR y MPO.

Se detectó una población de blastos, con el fenotipo: CD10-, CD13-, CD15-, CD19+, CD20-/+, CD33+, CD34+, CD45+/-, CD79a-/+, CD117-, HLA-DR+ y MPO+/- , que representa aproximadamente el 93% del total de células.

Interpretación: Leucemia aguda de fenotipo mixto B/mieloide.

Los resultados se pueden agrupar en la tabla 13 según el consenso latinoamericano para la clasificación de leucemias agudas.

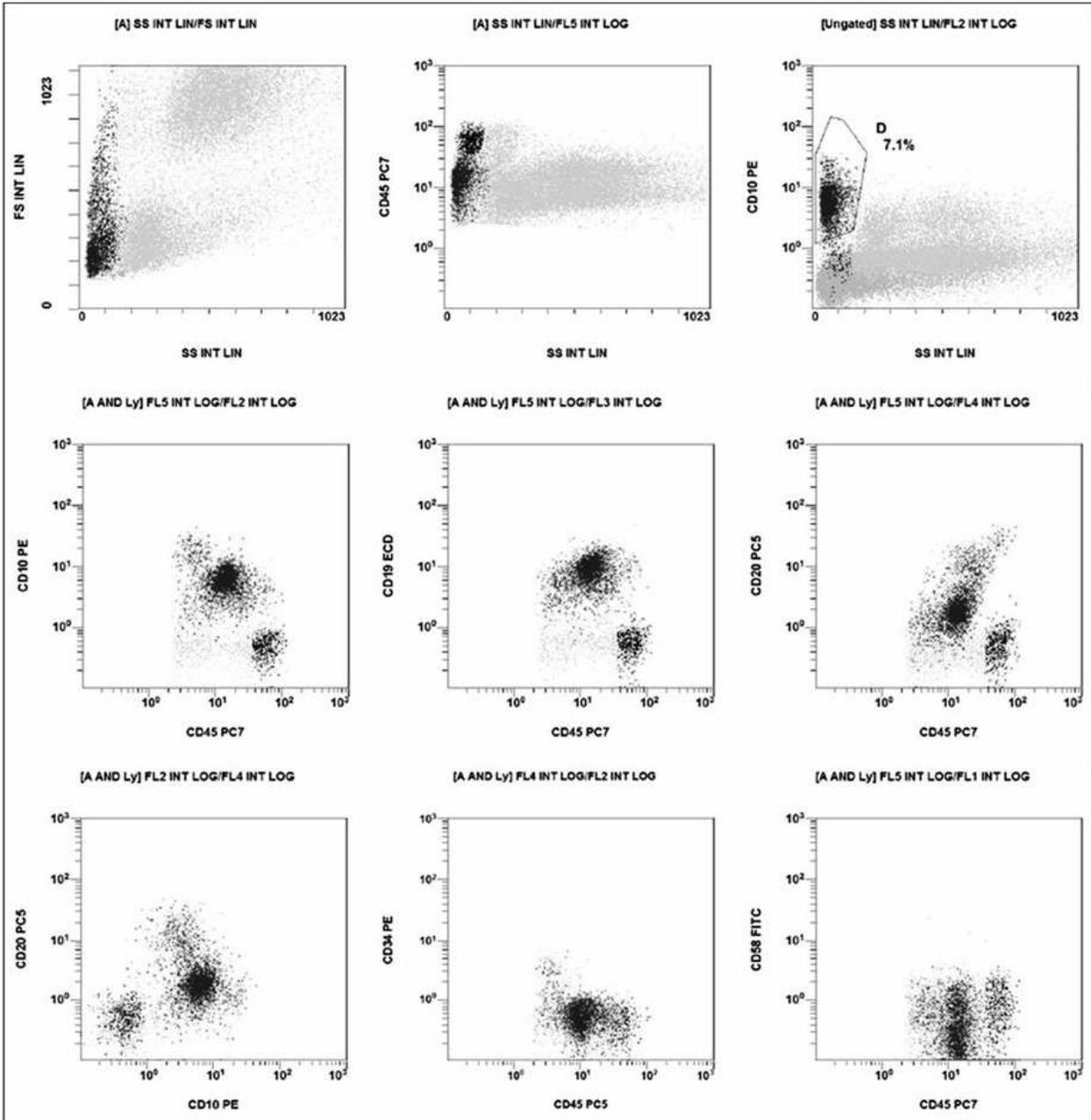


Figura 1: Inmunofenotipo positivo para enfermedad residual mínima.

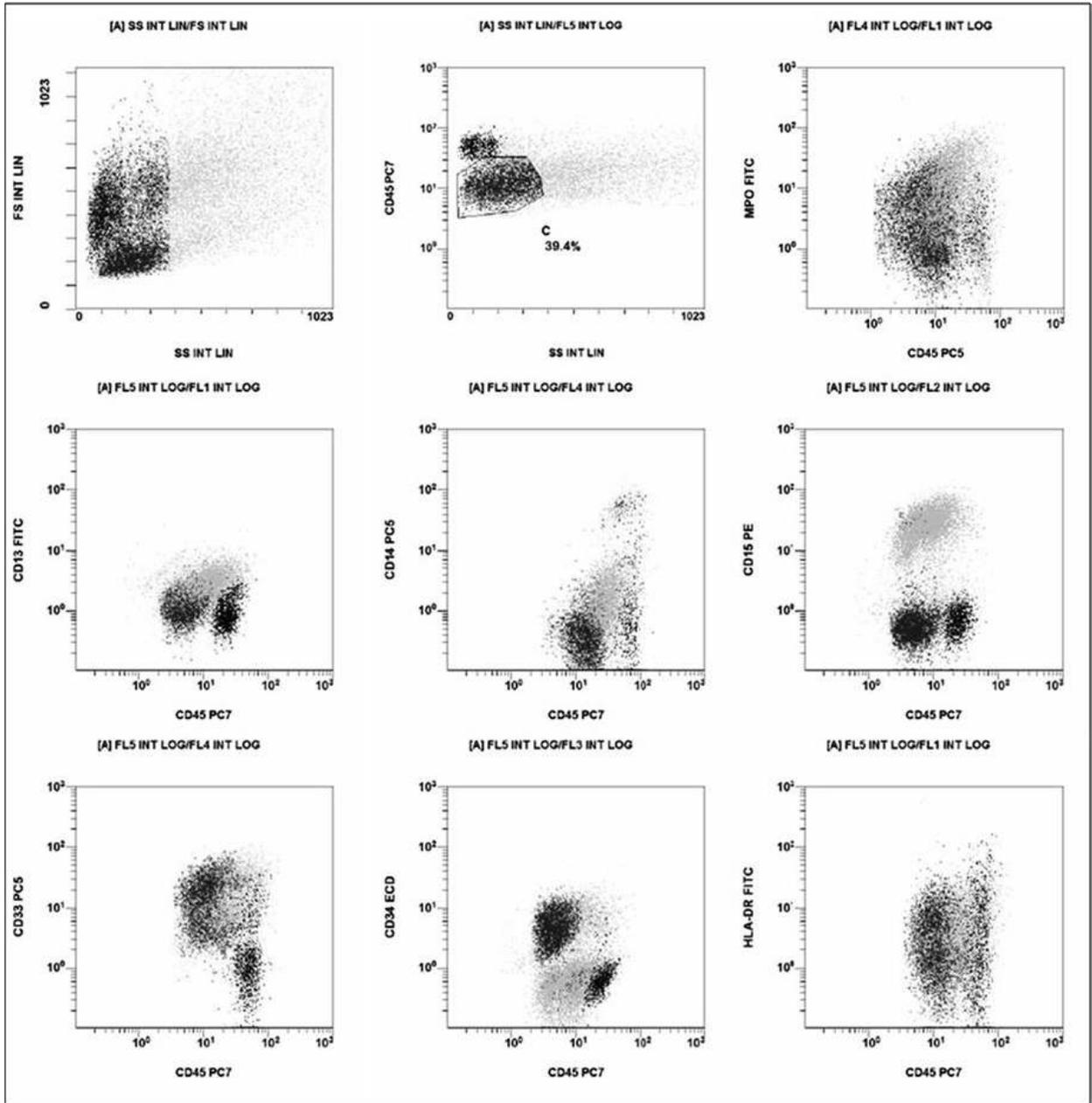


Figura 2: Inmunofenotipo compatible con leucemia aguda mieloblástica.

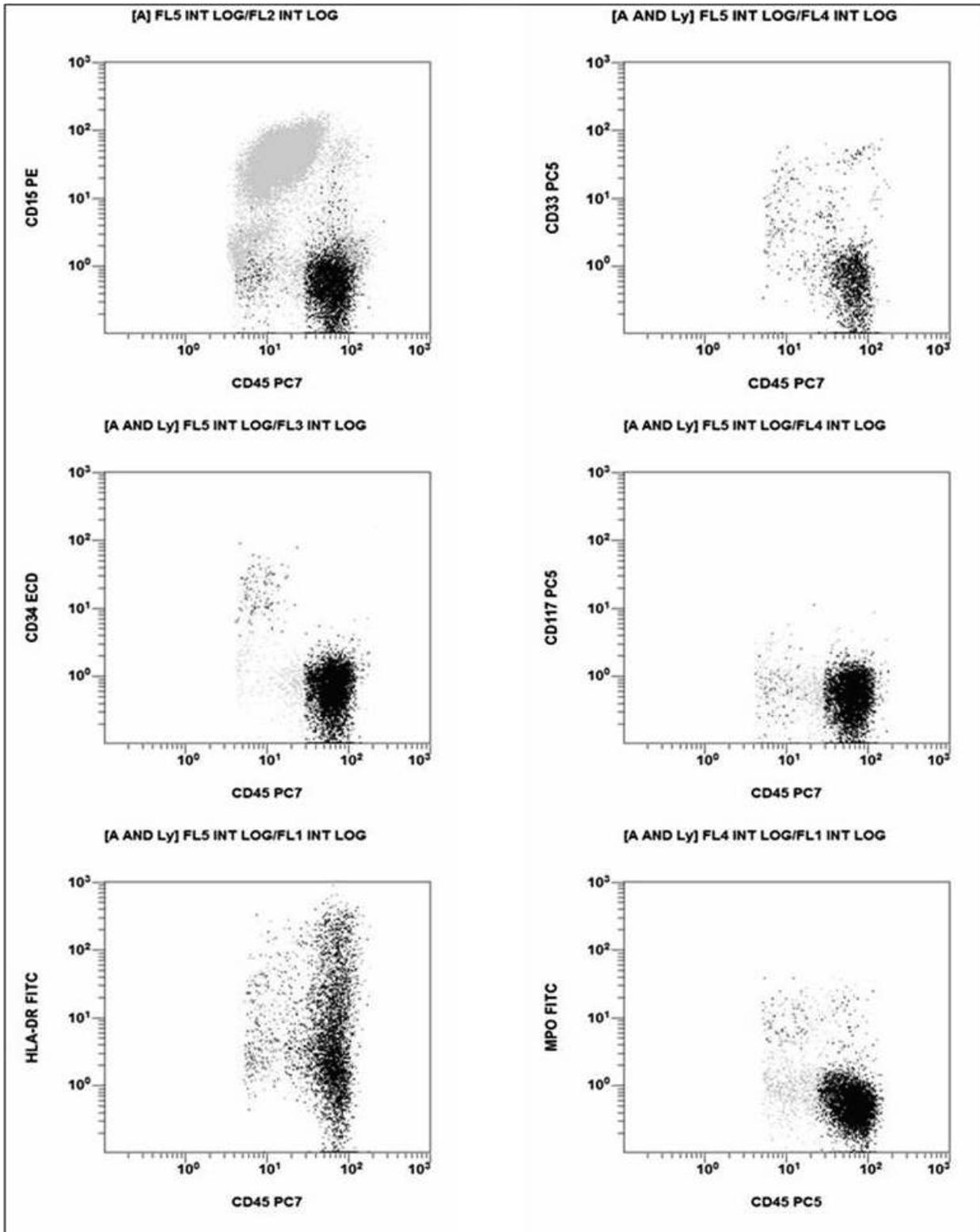


Figura 3: Inmunofenotipo compatible con leucemia aguda mieloblástica

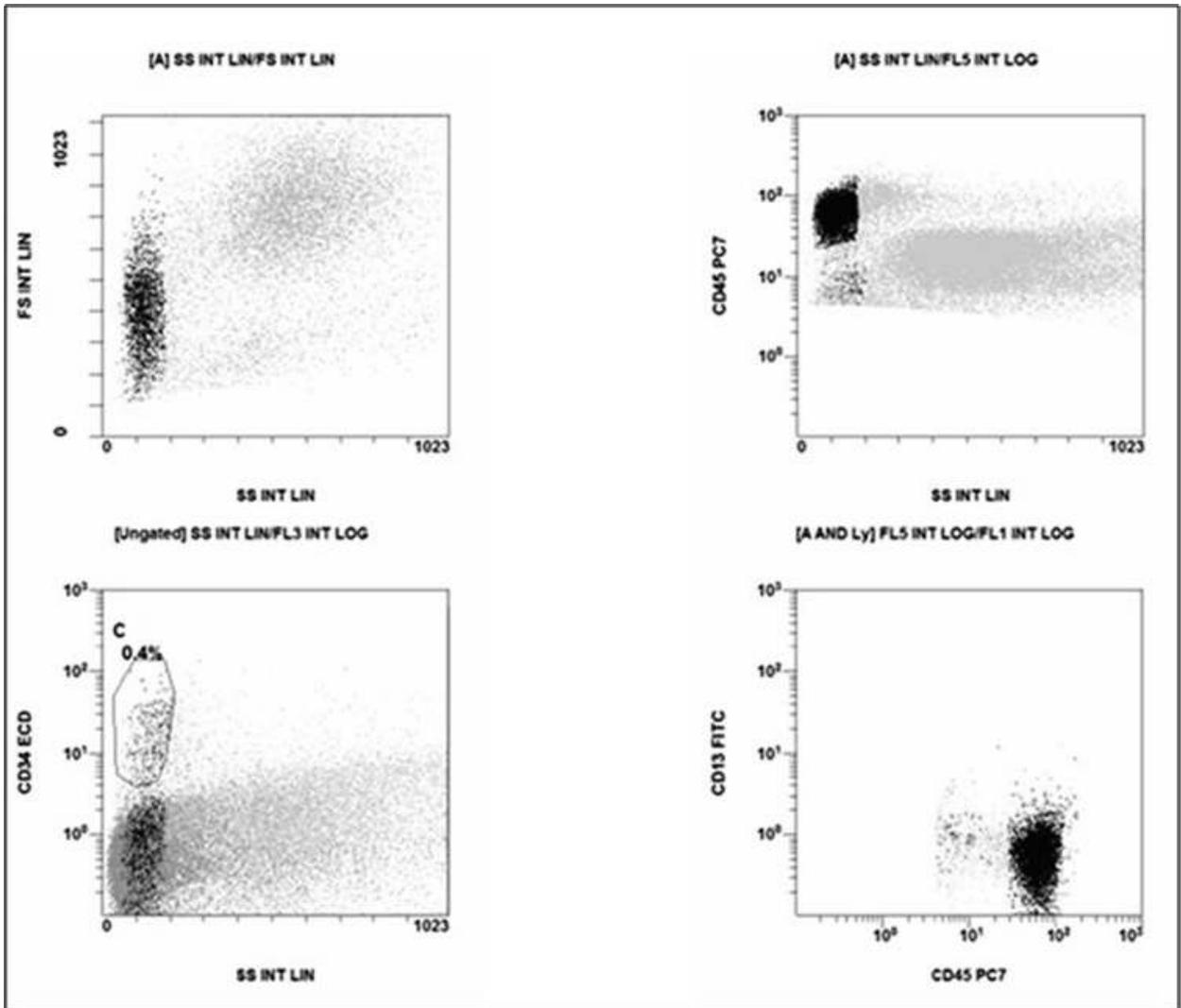


Figura 3.1: Inmunofenotipo compatible con leucemia aguda mieloblástica

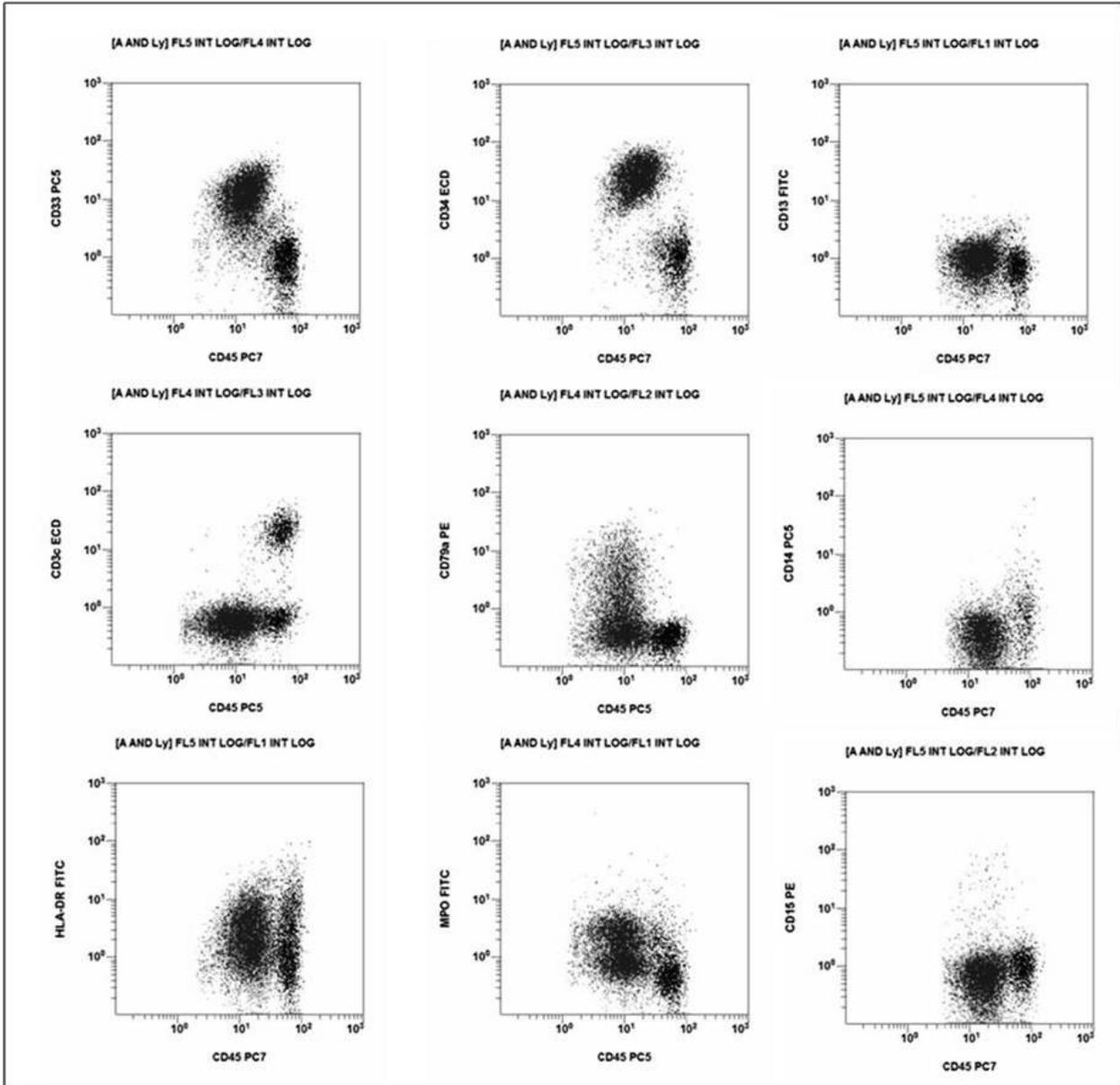


Figura 4: Inmunofenotipo compatible con leucemia aguda de fenotipo mixto B/mieloide.

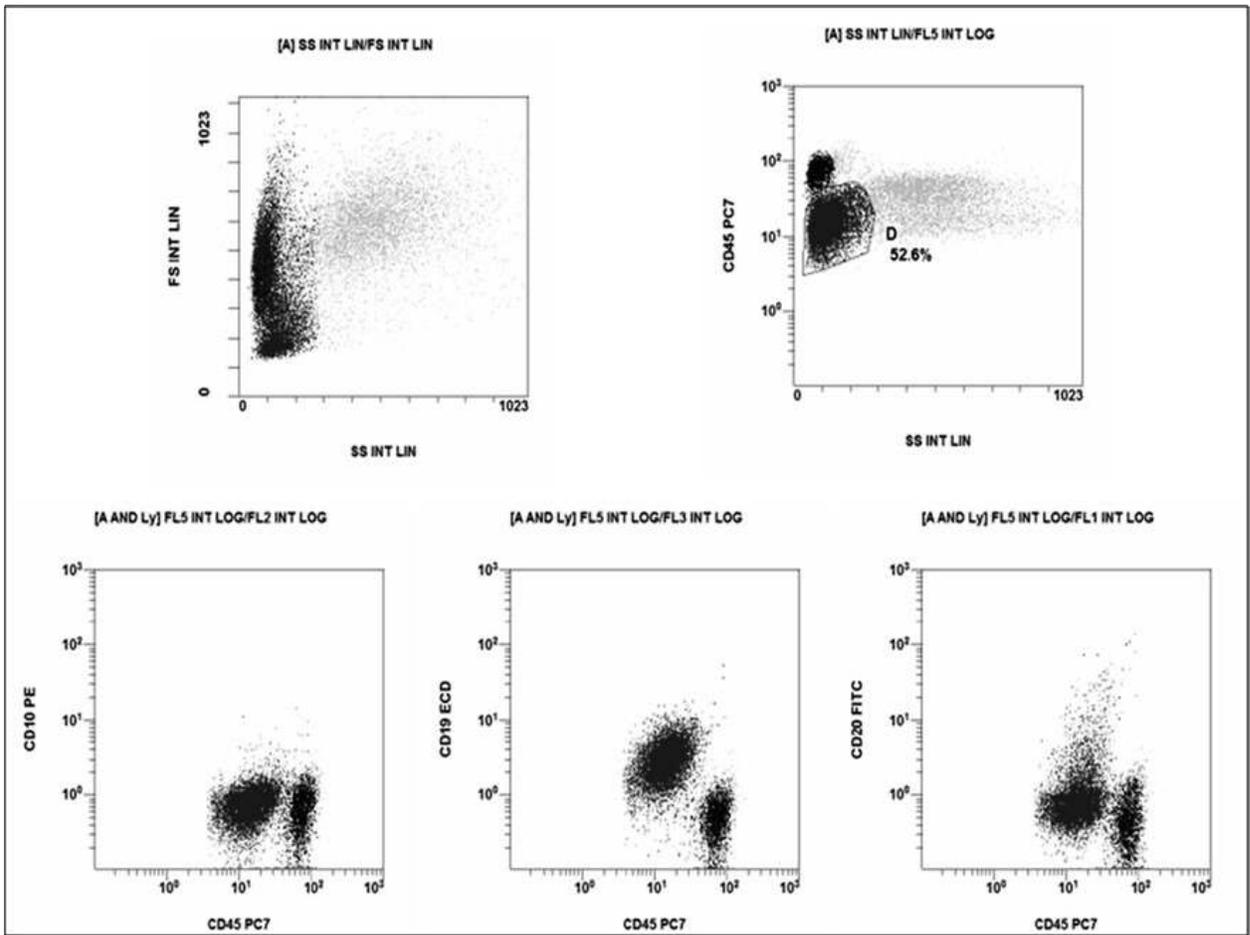


Figura 4.1: Inmunofenotipo compatible con leucemia aguda de fenotipo mixto B/mieloide.

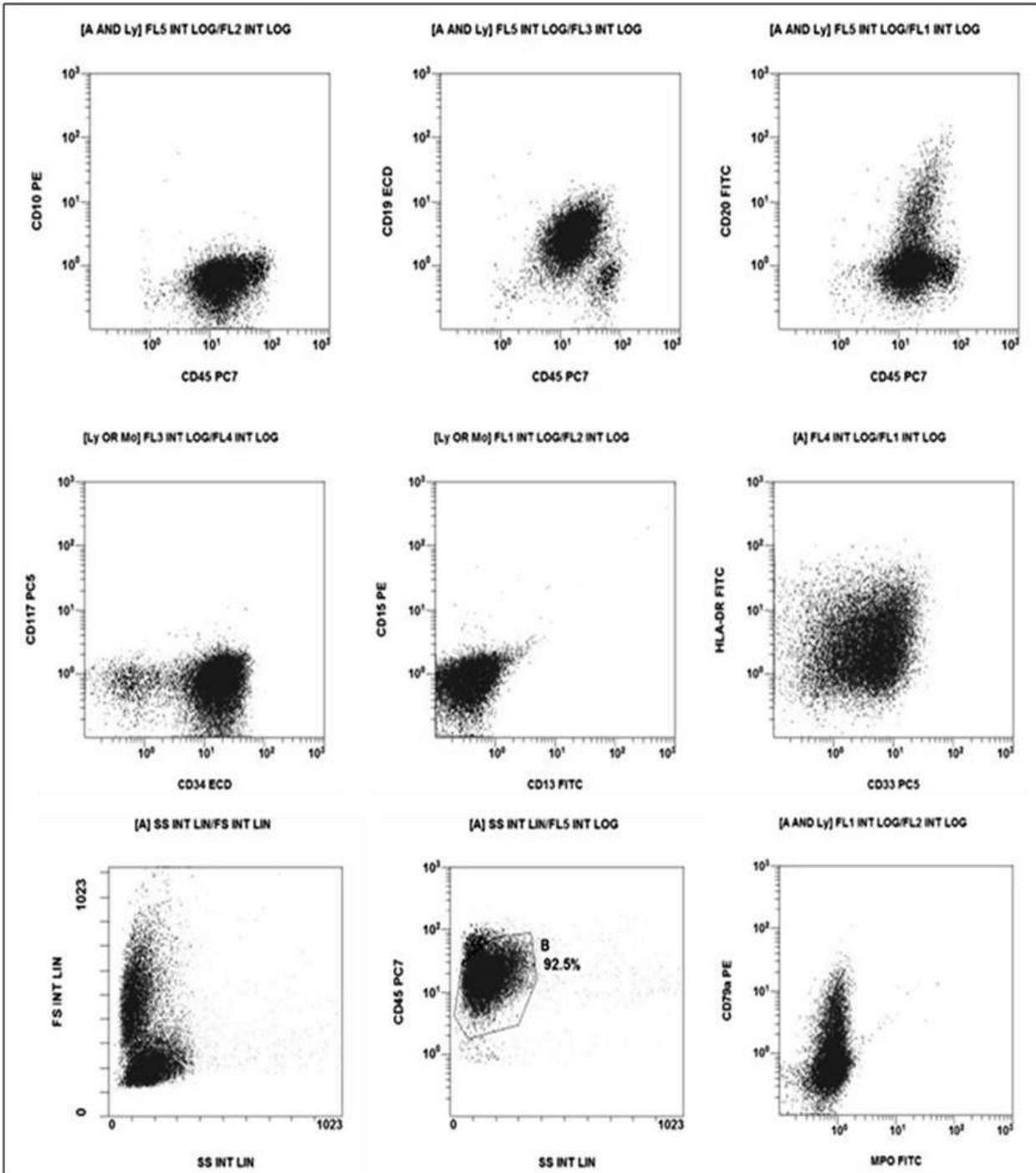


Figura 5: Inmunofenotipo compatible con leucemia aguda de fenotipo mixto B/mieloide.

Citogenética

31 de julio de 2012

La técnica RT-PCR resultó negativa para el cromosoma Filadelfia.

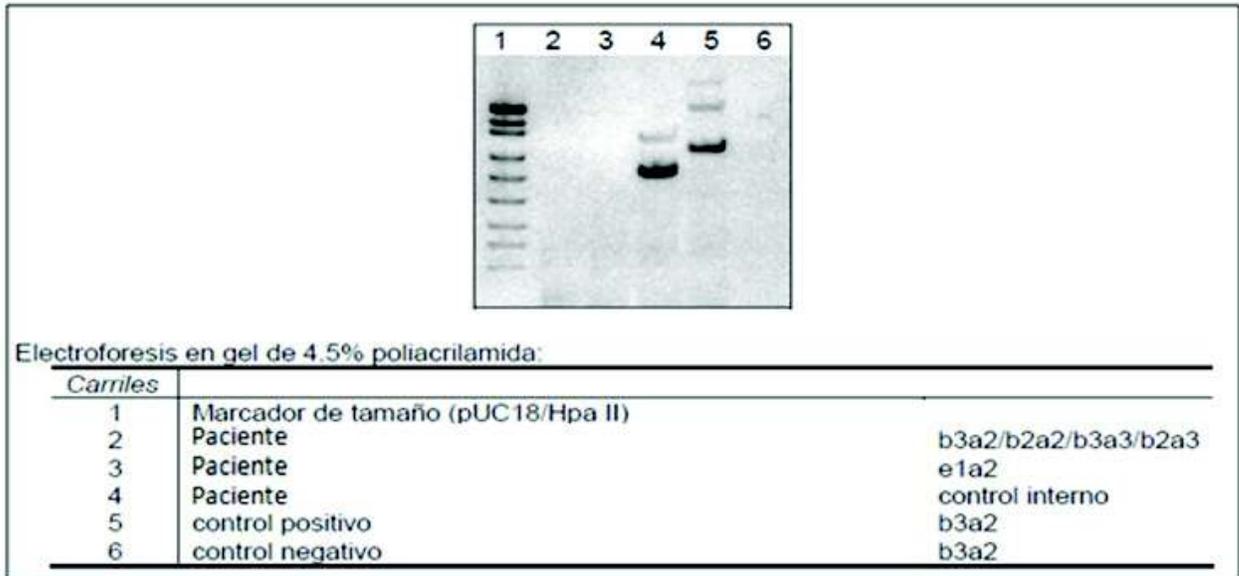


Figura 6: Detección del cromosoma Filadelfia de LAL por RT-PCR. Resultado negativo.

La amplificación de un fragmento de aproximadamente 317pb (translocación e1a2), 348pb (translocación b3a2), 273pb (translocación b2a2), 174pb (translocación b3a3) o 99pb (translocación b2a3) es específica para la presencia del cromosoma Filadelfia (carril 5). La ausencia de un producto específico (carriles 2 y 3) en presencia de un control interno positivo (carril 4) es interpretada como resultado negativo.

Pruebas de Histocompatibilidad de Antígenos HLA A, B, C, DR y DQ

05 de noviembre de 2012

Grupo sanguíneo: A (+)

Tipificación HLA:

HLA-A:	A*02 A*31
HLA-B:	B*07 B*40:02
HLA-C:	C*07:02 C*03:02
HLA-DRB1:	DRB1*07 DRB4*01 DRB1*08:02
HLA-DQA1:	DQA1*02:01 DQA1*04:01
HLA-DQB1:	DQB1*02:02 DQB1*04:02
Resultado:	2 haplotipos iguales Posible donador

Tabla 8. Resultado del primer inmunofenotipo correspondiente a LAL.

	Ac. específicos de linaje	Madurez	Subclasificación	Opcional
LAB	CD19+/-, CD79a+/-	CD34-/+,HLA-DR+/-, CD45+/-	CD10+	CD20+/-
LAM				

CD: cluster of differentiation (grupo de diferenciación).

Tabla 9. Resultado del segundo inmunofenotipo correspondiente a enfermedad residual mínima

	Ac. específicos de linaje	Madurez	Subclasificación	Opcional
LAB	CD19+	CD34-, CD45+/-, CD58-	CD10+	CD20+/-
LAM				

CD: cluster of differentiation (grupo de diferenciación).

Tabla 10. Resultado del tercer inmunofenotipo correspondiente a LAM

	Ac. específicos de linaje	Madurez	Subclasificación	Opcional
LAB		CD34+, CD45+, HLA-DR+/-		
LAM	MPO+/-, CD13-, CD33+		CD15-	

CD: cluster of differentiation (grupo de diferenciación).

Tabla 11. Resultado del cuarto Inmunofenotipo correspondiente a LAM

	Ac. específicos de linaje	Madurez	Subclasificación	Opcional
LAB		CD34+, CD45+/-, HLA-DR +/-		
LAM	MPO+, CD13-, CD33+, CD117		CD15-	

CD: cluster of differentiation (grupo de diferenciación).

Tabla 12. Resultado del quinto Inmunofenotipo correspondiente a LAFM

	Ac. específicos de linaje	Madurez	Subclasificación	Opcional
LAB	CD19+, CD79a-/+	CD34+, CD45+/-, HLA-DR +/-	CD10, IgS cadenas μ -	CD20-/+
LAM	MPO +/-, CD13-, CD33+, CD117		CD15-	

CD: cluster of differentiation (grupo de diferenciación).

Tabla 13, Resultado del sexto Inmunofenotipo correspondiente a LAFM

	Ac. específicos de linaje	Madurez	Subclasificación	Opcional
LAB	CD19+, CD79a-/+	CD34+, CD45+/- ,HLA-DR+	CD10-	CD20-/+
LAM	MPO+/-, CD13-, CD33+, CD117-		CD15-	

CD: cluster of differentiation (grupo de diferenciación).

Discusiones

En febrero del 2012 se recibió en el laboratorio clínico una muestra de médula ósea con sospecha diagnóstica de leucemia aguda. El conteo leucocitario arrojado por el contador electrónico resultó dentro de los valores de referencia. De acuerdo a la bibliografía consultada, las cuentas leucocitarias pueden ser muy bajas o pueden llegar a valores que sobrepasan las 100,000 cels/uL. Muchos pacientes cursan con niveles bajos de neutrófilos, eritrocitos y plaquetas a causa de la colonización excesiva de células leucémicas en médula ósea (Redaelli y col, 2005).

El caso índice se somete a un estudio de inmunofenotipo por citometría de flujo, el diagnóstico es de leucemia aguda linfoblástica de estirpe B. El médico indica tratamiento convencional para LAL.

La determinación de EMR es una forma de evaluar la respuesta al tratamiento de cada paciente; ésta puede ser evaluada en cualquier momento dentro de las diferentes fases del

tratamiento (inducción a remisión, consolidación y mantenimiento) de LAL (Juárez y Pérez, 2012). Con este conocimiento en el mes de Julio se realizó un estudio de citometría de flujo con el fin de determinar enfermedad residual mínima. El reporte reveló la presencia de 7% de linfoblastos B lo que indica un resultado positivo para enfermedad residual mínima. Una remisión morfológica se define como <5% (5 de cada 100) células tumorales en médula ósea. Sin embargo, la remisión molecular se define como <0.01% (1 de cada 10 000) blastos en médula ósea (Redaelli y col, 2005).

A la par se decidió realizar un estudio de biología molecular, con el fin de buscar alteraciones cromosómicas, en base a que éstas determinan en gran medida el pronóstico de las leucemias agudas. Específicamente, en los casos de leucemia aguda linfoblástica en adultos la alteración cromosómica más frecuente es el cromosoma Filadelfia: t(9q+;22q-)(q34,1; q11.2) el cual, afecta aproximadamente el 25% de los casos y se asocia a un pronóstico sombrío. De encontrarse presente, se debe de someter al paciente a un tratamiento extra (Imatinib) para bloquear la proteína tirosina quinasa, producto de la translocación. Por lo tanto se realizó la prueba de RT-PCR, con el fin de buscar dicha alteración cromosómica. Estos estudios resultaron negativos. Al no encontrarse presente el cromosoma Filadelfia el paciente se consideró de “riesgo estándar” (Redaelli y col, 2005).

Derivado de las observaciones morfológicas, en las cuales se observan blastos con una apariencia aberrante, se realizó un inmunofenotipo completo, en el cual se buscaron no sólo antígenos determinantes de la estirpe linfoide, si no también antígenos específicos para la estirpe mieloide. Se detectaron células neoplásicas con tamaño y granularidad heterogéneos. Resultó un total de blastos correspondiente al 39% del total de células con un fenotipo compatible con leucemia aguda mieloblástica lo que cambia el diagnóstico inicial. Se inició entonces un tratamiento convencional para leucemia aguda mieloblástica, sin embargo esto puso en duda todos los resultados anteriores de laboratorio. Se realizó una revisión del caso para confirmar resultados y se supuso la posible leucemia aguda de fenotipo mixto, lo que cambió el pronóstico del paciente.

Del 20 al 30% de los pacientes con leucemia sufren recaídas, durante las cuales es común encontrar alteraciones genéticas en la estirpe celular original (linfoide o mieloide). En estos individuos, la respuesta a las terapias para reinducción es usualmente de baja calidad y de corta duración. Entre este grupo se observa ocasionalmente el fenómeno de “cambio de estirpe”, lo que ocurre cuando las leucemias agudas que cumplen con los criterios estándar de FAB para ser clasificadas de cierta estirpe (linfoide o mieloide) al momento del diagnóstico inicial cumplen con el criterio para la estirpe contraria después de la recaída. El cambio de

estirpe se ha considerado como un tipo poco común de leucemia mezclada con una frecuencia de entre el 6 y el 9% de los casos en recaída (Dorantes, Pelayo, 2012).

En noviembre se inició el protocolo de trasplante de médula ósea. El trasplante alogénico de células hematopoyéticas Alo-TCH es la mejor alternativa en pacientes con leucemia mieloblástica aguda de riesgo intermedio y alto ya que puede curar aproximadamente al 50% de estos enfermos. El efecto curativo de esta opción terapéutica se debe a la acción de la quimioterapia utilizada en el esquema de acondicionamiento, en combinación con la enfermedad injerto contra leucemia. La elección del tipo de trasplante siempre deberá individualizarse tomando en cuenta las condiciones clínicas del paciente, su riesgo, la disponibilidad de un donador compatible y las posibilidades económicas (Gómez y col., 2012). Se buscó un posible donador relacionado (hermanos), para ello se utilizaron técnicas de biología molecular. Por medio de secuenciación, se realizó la prueba de identificación de los antígenos de histocompatibilidad (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1) la cual permitió identificar a un posible donador quien resultó con 2 haplotipos iguales a los del paciente.

En diciembre se realizó una citometría de flujo, la cual mostró una población de blastos del 0.4% con un inmunofenotipo de leucemia aguda mieloblástica. El hecho de que sea un porcentaje tan bajo de blastos fue esperanzador para el pronóstico del paciente, debido a que indica una remisión celular (<5% de células linfoides). En este punto el trasplante hubiera sido la mejor opción, sin embargo el paciente decidió no someterse al tratamiento.

Después de revisar el caso desde el punto de vista clínico y por supuesto desde el punto de vista de laboratorio, se decidió realizar una citometría de flujo con la intención de buscar blastos con inmunofenotipo para leucemia aguda de fenotipo mixto. Esto se llevó a cabo en enero del 2013 y como resultado se obtuvo una cuenta leucocitaria de 21,600 leucocitos/uL con una población de blastos con inmunofenotipo de leucemia aguda de fenotipo mixto B/mieloide que representaba aproximadamente el 52% del total de las células. Casi un año después se determinó un diagnóstico adecuado gracias a la relación entre los estudios de laboratorio y estudios clínicos llevados a cabo.

En febrero del 2013 se realizó una nueva citometría de flujo en la cual resaltó una marcada leucocitosis con una población de blastos del 93% del total de células con inmunofenotipo de leucemia aguda de fenotipo mixto B/mieloide.

Una semana después el paciente falleció debido a las complicaciones de la enfermedad.

A lo largo del padecimiento, el paciente cursó con cuadros de anemia, trombocitopenia, leucocitosis y leucopenia, además se observaron eritrocitos con morfología aberrante, todo esto

pudo haber sido derivado del tratamiento de quimioterapias o a la falla en la regulación de la hematopoyesis. Es común encontrar anemia en los casos de leucemia aguda y se debe a la competencia en médula ósea entre el tumor y la producción de eritrocitos. Muchos pacientes tienen, además, bajos niveles de plaquetas debido también a la colonización excesiva de células leucémicas en médula ósea. La falla en la hematopoyesis normal explica también la morfología celular atípica (Redaelli y col, 2005).

CONCLUSIONES

El caso clínico inicia con un diagnóstico de leucemia aguda linfoblástica tras presentar un cuadro clínico clásico de este padecimiento.

Se establece un cambio de inmunofenotipo revelando una leucemia aguda mieloblástica, se sospecha entonces de leucemia aguda de fenotipo mixto.

Tras revisar el caso manejando la clasificación OMS 2008 de Neoplasias de tejido hematopoyético y linfoide se logra determinar la presencia de una leucemia aguda de fenotipo mixto B/mieloide.

Todo esto fue posible gracias a las buenas prácticas de laboratorio y al uso correcto de las tecnologías disponibles que permiten diagnosticar y generar mayor conocimiento de los casos hemato-oncológicos poco comunes.

Es de suma importancia el trabajo de laboratorio en conjunto con el médico para llevar a cabo un diagnóstico y seguimiento de las patologías hematológicas, así mismo, el químico clínico debe contar con una capacitación, entrenamiento y experiencia en todas las áreas de laboratorio, desde el área básica, la pruebas llamadas especiales y hasta de alta complejidad, esto, con la finalidad de brindar el mejor servicio posible.

BIBLIOGRAFIA

1. Aguayo A. 2013. Estado molecular de la leucemia mieloide aguda. *Rev. Hematología Mex.* 14(1):52-54.
2. Azma RZ, Hamidah NH, Leong CF, Ainoon O, Fadilah SAW, Cheong SK, Salwati S, Sharifah NA. 2006. Biphenotypic Acute Leukemia: A Report of Two Cases. *Med & Health* 1(1): 53-60.
3. Béné M. 2009. Biphenotypic, bilineal, ambiguous or mixed lineage: strange leukemias!. *Hematological.* 94(7) 10.3324
4. Brunning RD, Borowitz M, Matutes E, Head D, Flandrin G, Swerdlow SH, Bennett JM. 2001. World Health Organization Clasification of Tumours. *Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.* IARC Press: Lyon. p 109-17.
5. Cáceres JR, 2011. Acute myelogenous leukemia: A perspective. *Rev Hematol Mex* 12(4): 257-266.
6. Camós M, 2007. Caracterización Biológica de la Leucemia Mieloide Aguda con translocación t(8;16)(p11;p13) y reordenamiento MYST3-CREBBP. Universidad de Barcelona. Barcelona, España.
7. CeNSIA, 2008. Dirección de Prevención y Tratamiento del Cáncer en Niños y Adolescentes. México.
8. Crespo E. 2010. Epidemiología de las leucemias agudas. *Rev Hematol Mex.* 11(1): 37-39
9. De Boer J, Walf- Vorderwülbecke, V, Williams O. 2013. In focus: MLL-rearranged leukemia. *Nature.* 27. 1224-1228.
10. [DGE] DGE, SINAIS, SINAVE, SALUD 2011. Perfil epidemiológico de los tumores malignos en México. Distrito Federal, México.
11. Dorantes E, Pelayo R. 2012. Lineage Switching in Acute Leukemias: A Consequence of Stem Cell Plasticity?. *Bone Marrow Research.* 1155(10): 406-796
12. Döhner H, Estey E, Amadori S, Appelbaum F, Büchner T, Burnett A, Dombret H, Fenaux P, Grimwade D, Larson R, Lo-Coco F, Naoe T, Niederwieser D, Ossenkoppele G, Sanz M, Sierra J, Tallman M, Löwenberg B, Bloomfield C. 2010. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood Journal.* 115(1): 453-474.
13. Gao Chen, Sands A, Sun J. 2012. Mixed Phenotype Acute Leukemias. *North American Journal of Medicine and Science.* 5(2); 119-122

14. Gómez D, Flores J, Cantú O, Gutiérrez C. 2012. Utilidad del trasplante de células hemtopoyéticas en la leucemia mieloide aguda. *Hematol Mex* 13(2):74-79.
15. González WM, Olarte I, Gutiérrez M, Montañó EH, Martínez C, Ramos C. 2012. Frecuencia de leucemias agudas en un hospital de referencia. *Rev Med Inst Mex Seguro* 50 (2): 167-171.
16. Grimwade D, Walker H, Oliver F, Wheatley K, Harrison C, Harrison G, Rees J, Hann I, Stevens R, Burnett A, Goldstone A. 1998. The Importance of Diagnostic Cytogenetics on Outcome in AML: Analysis of 1,612 Patients Entered Into the MRC AML 10 Trial. *Blood* 92: 2322-2333
17. Juaréz R, Pérez P. 2012. Citometría de flujo en la evaluación de enfermedad mínima residual en leucemia linfoblástica aguda. *Acta Pediátrica de México*. 33(4): 198-206.
18. Katsura, Y. 2002. Redefinition of lymphoid progenitors. *Nature Rev Immunol* 2:127-32.
19. [LLS] Leukemia & Lymphoma Society. 2012. Facts 2012. Ed. Leukemia & Lymphoma Society. White Plains, NY.
20. Matutes E, Morilla R, Farahat N, Carbonell F, Swansbury J, Dyer M, Catovsky D. 1997. Definition of acute biphenotypic leukemia. *Hematologica*.82: 64-66.
21. Matutes E, Pickl W, Veer M, Morilla R, Swansbury J, Strobl H, Attarbaschi A, Hopfinger G, Ashley S, Bene M, Porwit A, Orfao A, Lemez P, Schabath R, Ludwig W. 2010. Mixed phenotype acute leukemia (MPAL): clinical and laboratory features and outcome in 100 patients defined according to the WHO 2008 classification. *Blood* 10; 10,314682.
22. Mrózek K, Blum W, Ruppert A, Carroll A, Rao K, Pettenati M, Anastasi J, Larson R, Bloomfield C. 2004. Adult De Novo Acute Myeloid Leukemia with t(6;11)(q27;q23). Results from Cancer an Leukemia Group B Study 8461 and Review of the Literature. *American Cancer Society*. 101: 1420-1427.
23. Perea G, 2011. Factores Pronósticos en Leucemia Mieloide Aguda: utilidad de los estudios inmunofenotípicos y moleculares. Universidad Autónoma de Barcelona. España.
24. Quintero M. 2006. Diagnóstico práctico de las leucemias mieloides agudas. *Revista Colombiana de Cancerología*; 10(4): 282-290
25. Ramírez S, Santoyo A, Collazo J, Salinas I, Díaz I, Martínez C, Ramos C. 2013. Correlación entre la edad y la cifra de leucocitos al diagnóstico de leucemia aguda. *Rev Hematol Mex* 14 (1): 9-14

26. Ramos CO, Castellanos H, Martínez A, Montaña E, Martínez C, Olarte I, Collazo J, Rozen E. 2011. Eficacia de la quimioterapia intratecal con triple droga en pacientes con leucemia linfocítica aguda. *Rev Hematol Mex* 12(2):57-61.
27. Ravindranath Y. 2003. Recent Advances in Pediatric acute Lymphoblastic and Myeloid Leukemia. *Curr Opin Oncol*; 15: 23-35
28. Redaelli A, Laskin BL, Stephens JM, Botteman MF, Pashos CL. 2005. A systematic Literature Review of the Clinical and Epidemiological Burden of Acute lymphoblastic Leukaemia (ALL). *Eur J Cancer Care (Engl)*; 14: 53-62
29. Relos J, Rhea C. 2010. Mixed lineage coexpression in acute leukemia: a case report. *Philippine Journal of Internal Medicine*. 48 (3); 44:47.
30. Rubnitz JE, Pui CH. 2003. Recent Advances in the Treatment and Understanding of Childhood Acute Lymphoblastic Leukaemia. *Cancer Treat Rev*; 29: 31-44
31. Ruiz GJ. 2009. *Fundamentos de Hematología*. 4ta edición. Queretaro, México. Editorial Médica Panamericana. p 143.
32. Slovak M, Kopecky K, Cassileth P, Harrington D, Theil K, Mohamed A, Paietta E, William C, Head D, Rowe J, Forman S, Appelbaum F. 2000. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study. *Blood*. 96: 4075-4083.
33. Tirado L, Mohar A. 2007. Epidemiología de las Neoplasias Hemato-Oncológicas. *Cancerología* 2(2007): 109-120.
34. Vargas M. 1995 Las leucemias bifenotípicas. *Rev. Costarric. Cienc. Méd.* 16(1/2):23-31.
35. [WHO] World Health Organization. 2008. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. International Agency for Research on Cancer. Lyon, France.
36. Xu X, Wang J, Lü S, Chen L, Yang J, Zhang W, Song X, Hou J, Ni X, Qiu H. 2009. Clinical and biological characteristics of adult biphenotypic acute leukemia in comparison with that of acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia: a case series of a Chinese population. *Haematologica* 94(7);919:927.
37. Yan L, Ping N, Zhu M, Sun A, Xue Y, Ruan C, Drexler H, MacLeod R, Wu D, Chen S. 2012. Clinical, immunophenotypic, cytogenetic and molecular genetics features in 117 adult patients with mixed-phenotype acute leukemia defined by WHO-2008 classification. *Haematologica* 2012; 97(11)

38. Ziegler DS, Dalla L, Waters KD, Marshall GM. 2005. Advances in Childhood Leukemia: Successful Clinical-trials Research leads to individualized therapy. Med J Aust; 182: 78-81

ANEXO 1

Lista de abreviaturas

- BRC/ABL: proteína de fusión presente en el cromosoma Filadelfia.
- CBF: Core-Binding Factor (factor de unión al sitio principal).
- CD: Cluster of Differentiation (cúmulo de diferenciación).
- EDTA: anticoagulante ácido etilendiaminotetraacético.
- EGIL: Grupo Europeo para la Clasificación Inmunológica de Leucemias.
- EMR: Enfermedad Residual Mínima.
- FAB: Clasificación Franco-Americana-Británica.
- FISH: Hibridación In Situ Fluorescente.
- HLA: Antígenos Leucocitarios Humanos.
- LA: Leucemia Aguda.
- LMC: Leucemia Mieloide Crónica.
- LAFM: Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto.
- LAI: Leucemia Aguda Indiferenciada.
- LAL B: Leucemia Aguda Linfoblástica B.
- LAL: Leucemia Aguda Linfoblástica.
- LAL T: Leucemia Aguda Linfoblástica T.
- LAM: Leucemia Aguda Mieloblástica.
- LAM-Ly+: Leucemia Aguda Mieloblástica con marcador Linfoide.
- LAM-My+: Leucemia Agua Mieloblástica con marcador Mieloide.
- LAP: Leucemia Aguda Promielocítica
- M.O. : Médula ósea
- MIC: Clasificación Morfológica, Inmunológica y Citogenética
- MLL: histona-lisina-*N*-metiltransferasa HRX
- MPO: mieloperoxidasa.

NK: células natural killer (asesinas naturales).

NOS: No otherwise specified (no especificado de otra manera).

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PBS: solución buffer de fosfatos.

Ph: cromosoma Filadelfia.

RHNM: Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas.

RPM: revoluciones por minuto.

RT-PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa Transcriptasa Reversa.

SP: Sangre periférica

TCR: receptor de células T

TdT: Transferasa desoxinucleotidil Terminal.

ANEXO 2

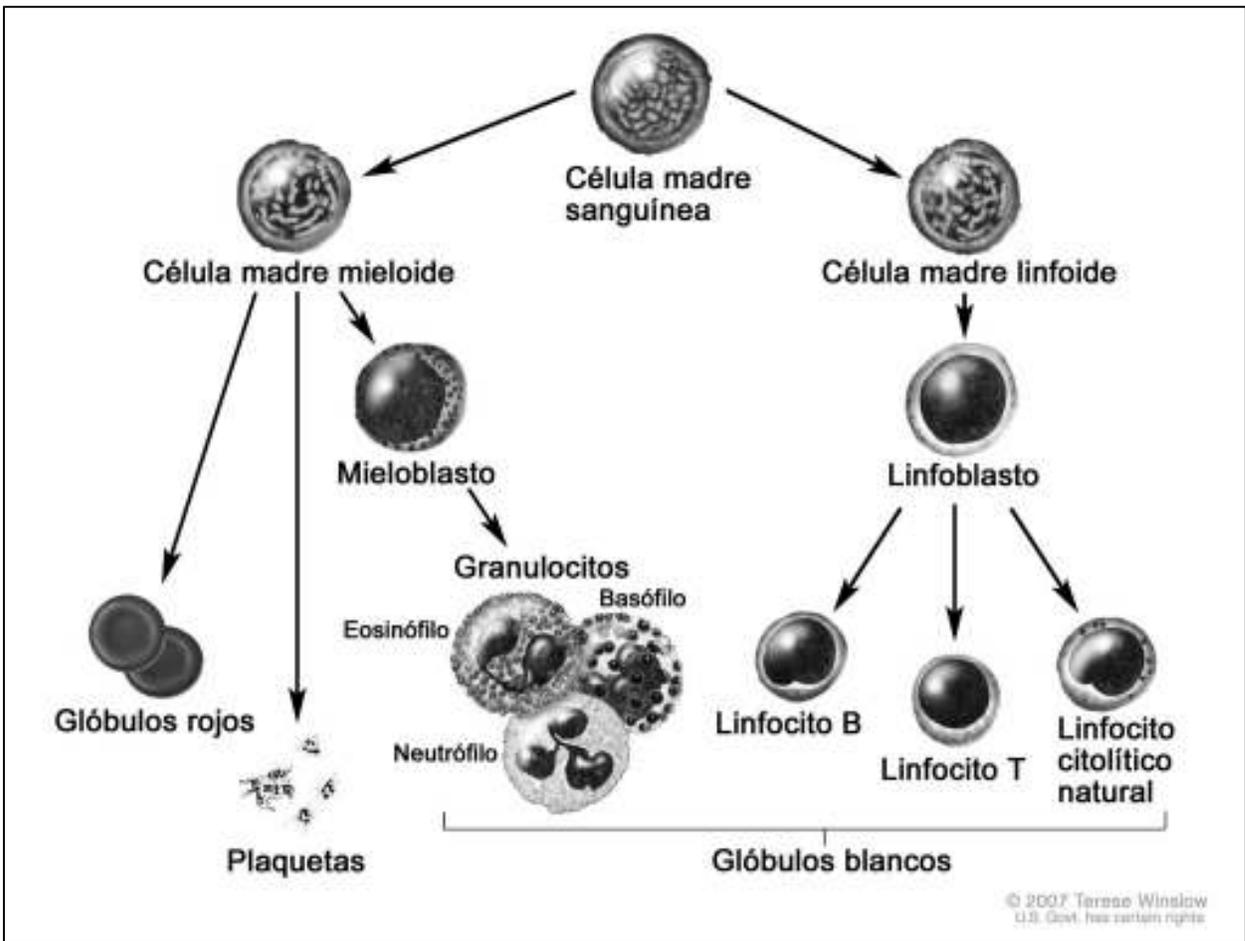


Diagrama de la Hematopoyesis.

ANEXO 3

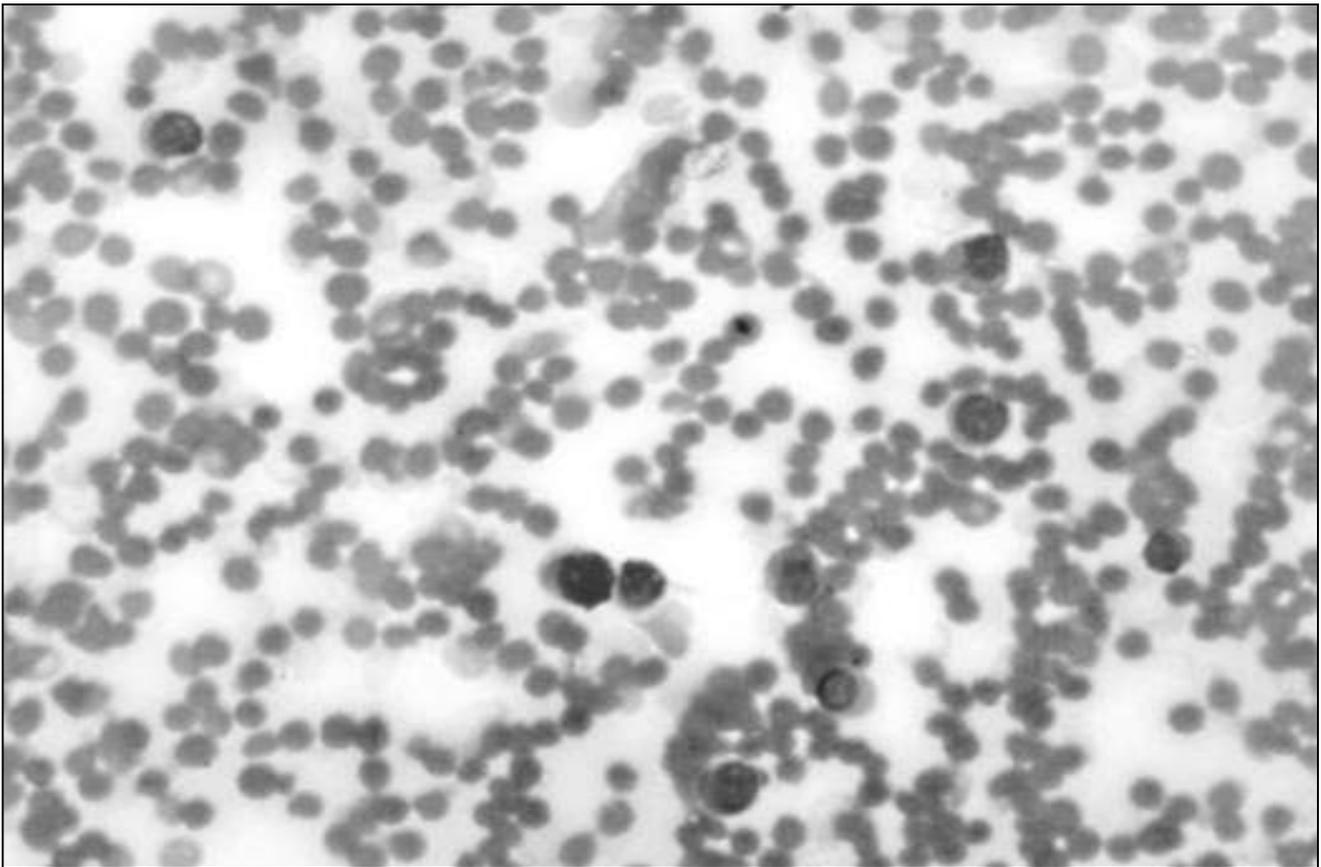


Imagen de la última clasificación morfológica del caso correspondiente a Leucemia aguda de Fenotipo Mixto. Muestra de Sangre Periférica. Aumento de 40X. Tinción Wright-Giemsa. Se observan blastos.

ANEXO 4

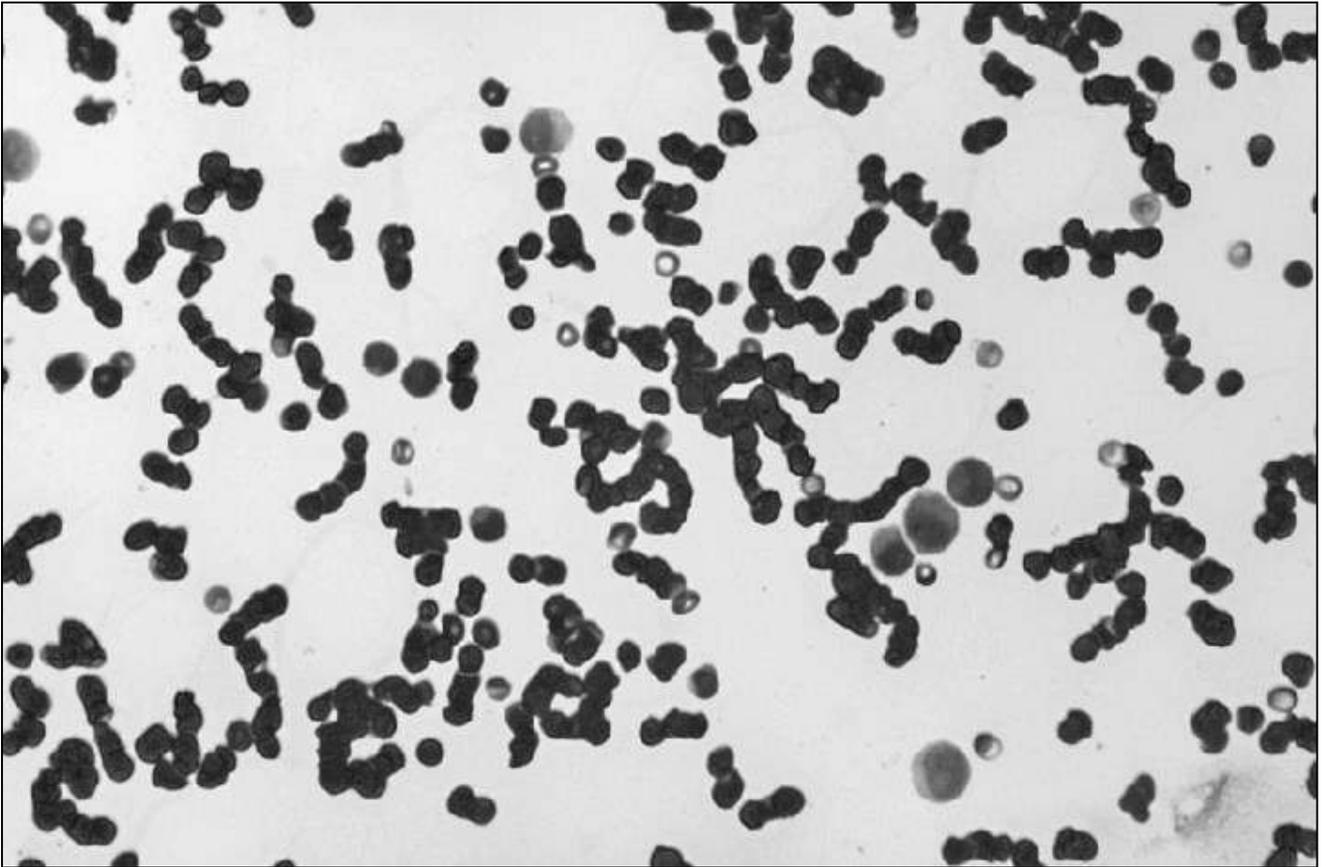


Imagen de la última clasificación morfológica del caso correspondiente a Leucemia aguda de Fenotipo Mixto. Muestra de Médula Ósea. Aumento de 40X. Tinción Wright-Giemsa. Se observan blastos.

ANEXO 5

Reactivos para la tinción de Wright-Giemsa:

Colorante

- 2gr de Wright disuelto en alcohol metílico.
- Agregar 20mL de Giemsa
- Aforar a 500mL

Buffer

- Fosfato de Potasio anhidro monobásico 600mg.
- Fosfato de Na anhidro dibásico 650mg.
- Disolver y aforar a 500cc.