



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SÁN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
"DR. IGNACIO CHÁVEZ"
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADOS

CARACTERIZACIÓN INMUNOFENOTÍPICA, CITOGENÉTICA
Y CELULAR DE PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRA EN
CIENCIAS DE LA SALUD

P R E S E N T A:

Q.F.B. YAZMIN DEYANIRA HERNANDEZ MANZANO.



DIRECTOR DE TESIS:
DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS
SERGIO GUTIÉRREZ CASTELLANOS

MORELIA, MICH., AGOSTO 2014

En memoria de los pacientes.

A los que me aman.

A Dios.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco infinitamente a Dios por su presencia inefable, por su amor incalculable y por poner los medios adecuados para poder realizar lo que muchas veces parecía imposible.

Gracias a toda mi familia. Gracias Maury y Sergio por ser un regalo tan maravilloso a mi vida y darme todo cuanto tienen para mi bienestar siempre. Gracias padres míos por su apoyo, su compañía y su confianza en mí. Gracias Vivi y Mari por su alegría. Gracias Miguel, por tu apoyo y tu ejemplo pues me ha forjado para bien. Gracias Ximena, Edi y Pedro pues han hecho más bella mi vida.

Gracias a todos mis amigos, pero en especial a Elena, Roberto, Ara, Víctor, Juve, Zeltzin, Deneb, Samantha, Román, Ana Laura y Llanely; pues su ayuda constante y su cariño siempre vinieron muy bien. Gracias a mis compañeros: Paola, Anahí, Lind, Lili, Nora, David, Jorge y Adrián que bello fue emprender este caminar con ustedes, conocerles y disfrutar gratas amistades.

Gracias a toda mi familia de la Cruz. por ayudarme a ser mejor persona, por su compañía y su compartir. Gracias: Mariel, Cris, Viry, Adriana, Chucho, Felipe, Manuel, Arnold, Lebeo, Caro, Montse, Chava, Karla, Fanny, José, Gaby, Ricardo, Andy, Irma, Gabriel y Mario por su alegría y su amor. Gracias Armando haz sido una gran bendición, tu cariño y tu alegría ayudaron mucho. Gracias Ale, tu amistad, cariño y compañía fueron valiosos. Gracias Padre Esteban pues ha sido un hermoso testimonio en mi vida, gracias por darme a conocer el más bello amor.

Gracias doctor Sergio, por sus enseñanzas, su sencillez y su paciencia. Gracias doctora Sol por su buen ejemplo de trabajo. Gracias doctora Martha por su apoyo. Gracias doctora Sandra por su ayuda. Gracias Eloy por empaparame del amor a tu trabajo. Gracias Jaky por tus enseñanzas y gran ayuda. Gracias Carlos, fue muy agradable aprender de ti. Gracias Nena por tu apoyo y ayuda. Gracias a todo aquel que intervino de alguna manera para la elaboración de este trabajo.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Citopatología Molecular y Citometría de Flujo de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo bajo la asesoría del D. en C. Sergio Gutiérrez Castellanos. El trabajo se llevó a cabo con la colaboración del Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Regional no.1 del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) de Morelia, Michoacán, participando por dicha Institución el D. en C. Sergio Gutiérrez Castellanos. Así también se contó con la colaboración valiosa del departamento de Hematología del Hospital General “Dr. Miguel Silva” de Morelia, Michoacán, participando por dicha institución la Dra. Alicia Rivera Trujillo y la Dra. Sonia Hernández Rodríguez. De la misma manera se recibió apoyo esencial del Laboratorio de Análisis Clínicos y del departamento de Oncología del Hospital Infantil “Eva Sámano de López” participando por dicho Hospital la Q.F.B. Jaqueline Nava Miranda y el Dr. Eloy Pérez Rivera. Se agradece el gran apoyo y enseñanza por parte del Matemático Carlos Gómez Alonso del Centro de Investigación Biomédica de Michoacán (CIBIMI) que pertenece al IMSS. Agradezco a CONACYT por la beca otorgada para la realización de estudios de maestría con el no. de registro 444649/268320.

COMITÉ TUTORAL

D.C. Sergio Gutiérrez Castellanos

M.C. Eloy Pérez Rivera

D.C. Ma. Soledad Vázquez Garcidueñas

D.C. Martha Eva Viveros Sandoval

D.C. Sandra Guadalupe Sánchez Ceja

CONTENIDO

	Página
Índice general.	II
Índice de figuras VI	VI
Índice de tablas. VIII	VIII
Índice de abreviaturas. XI	XI
Resumen. XVII	XVII
Abstract. XVIII	XVIII

ÍNDICE GENERAL

	Página
1. Introducción.....	1
1.1. Hematopoyesis.....	1
1.1.1. Definición.....	1
1.1.2. Célula madre hematopoyética.....	1
1.1.3. Microambiente hematopoyético.....	2
1.1.4. Marcadores de diferenciación en la hematopoyesis.....	3
1.2. Leucemia Aguda.....	6
1.2.1. Definición.....	6
1.2.2. Fisiopatología.....	7
1.2.3. Manifestación clínica.....	8
1.2.4. Clasificación.....	9
1.2.5. Epidemiología.....	10
1.2.6. Diagnóstico.....	14
1.2.7. Supervivencia.....	15
1.2.8. Remisión y riesgo a recaída.....	16

1.2.9. Factores pronóstico.....	17
1.3. Citometría de flujo.....	22
1.3.1. Fundamento.....	22
1.3.2. Anticuerpo monoclonal.....	24
1.3.3. Inmunofenotipo de la Leucemia Aguda.....	25
a) Inmunofenotipo aberrante.....	25
b) Leucemia Linfoide Aguda (LLA).....	26
c) Leucemia Mieloide Aguda (LMA).....	27
2. Justificación.....	29
3. Hipótesis.....	30
4. Objetivos.....	30
4.1. General.....	30
4.2. Específicos.....	30
5. Material y métodos.....	31
5.1. Universo del trabajo.....	31
5.2. Muestra biológica.....	31
5.3. Diseño del estudio.....	31
5.4. Criterios de selección.....	32
5.4.1. Criterios de inclusión.....	32
5.4.2. Criterios de no inclusión.....	32

5.4.3. Criterios de exclusión.....	32
5.5. Esquema de trabajo.....	32
5.6. Procedimientos.....	33
5.6.1. Recolección de datos clínicos.....	33
5.6.2. Estudios de laboratorio.....	33
5.6.3. Caracterización del inmunofenotipo por Citometría de flujo.....	33
A. Inmunotinción.....	33
B. Adquisición de muestra y análisis de gráficos de puntos.....	36
C. Asignación del inmunofenotipo característico.....	37
5.7. Análisis estadístico.....	38
5.8. Consideraciones éticas.....	38
6. Resultados.....	39
Objetivo A. Caracterización fenotípica de la leucemia aguda (LA) mediante el análisis del inmunofenotipo.	39
Objetivo B. Análisis de la expresión citogenética, ciclo celular e índice de DNA de las células leucémicas agudas pediátricas.	44
Objetivo C. Frecuencias de las variables: demográficas, clínicas y de laboratorio de los pacientes pediátricos.	47
Objetivo D. Evaluación los factores de riesgo a recaída (cuenta de leucocitos, infiltración al SNC, infiltración extramedular, EMR, respuesta esteroidea) en pacientes pediátricos.....	52
Objetivo E. Asociación la evolución de paciente con los factores de riesgo a	

recaída.....	53
7. Discusión.....	67
Objetivo A. Caracterización fenotípica de la leucemia aguda (LA) mediante el análisis del inmunofenotipo.	67
Objetivo B. Análisis de la expresión citogenética, ciclo celular e índice de DNA de las células leucémicas agudas pediátricas.	71
Objetivo C. Frecuencias de las variables: demográficas, clínicas y de laboratorio de los pacientes pediátricos.	73
Objetivo D. Evaluación los factores de riesgo a recaída (cuenta de leucocitos, infiltración al SNC, infiltración extramedular, EMR, respuesta esteroidea) en pacientes pediátricos.....	74
Objetivo E. Asociación la evolución de paciente con los factores de riesgo a recaída.....	79
8. Conclusiones.....	85
9. Perspectivas.....	85
10. Bibliografía.....	86
11. Anexos.....	95

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.- Hematopoyesis y citocinas que la regulan.	2
Figura 2.- Microambiente Hematopoyético.	4
Figura 3.- Expresión de antígenos de superficie (CD) en la maduración del linfocito B...	6
Figura 4.- Esquema de citómetro de flujo.	23
Figura 5.- Esquema de trabajo general.	32
Figura 6.- Plot de adquisición de células leucémicas.	36
Figura 7.- Identificación de los blastos.	37
Figura 8.- Plot para determinar el porcentaje de células leucémicas positivas para un marcador (CD).	38
Figura 9.- Supervivencia de pacientes pediátricos de <i>novo</i> con cariotipo: diploide, hipodiploide e hiperdiploide.	60
Figura 10.- Supervivencia de pacientes pediátricos de <i>novo</i> según cuenta leucocitaria.	60
Figura 11.- Supervivencia de pacientes pediátricos de <i>novo</i> según la edad.	61
Figura 12.- Supervivencia de pacientes pediátricos de <i>novo</i> según el género.	61
Figura 13.- Supervivencia de pacientes pediátricos de <i>novo</i> según el ciclo celular.	62
Figura 14.- Supervivencia de pacientes pediátricos de <i>novo</i> según el índice de DNA. ...	62
Figura 15.- Supervivencia de pacientes pediátricos de <i>novo</i> según la infiltración extramedular (hepatomegalia).	63

Figura 16.- Supervivencia de pacientes pediátricos de <i>novo</i> según la infiltración extramedular (esplenomegalia).....	63
Figura 17.- Supervivencia de pacientes pediátricos de <i>novo</i> según EMR.	64
Figura 18.- Supervivencia de pacientes pediátricos de <i>novo</i> según LCR.	64
Figura 19.- Supervivencia de pacientes pediátricos de <i>novo</i> según respuesta esteroidea.	65
Figura 20.- Supervivencia de pacientes pediátricos de <i>novo</i> según co-expresión de marcadores.	65
Figura 21.- Supervivencia de pacientes pediátricos de <i>novo</i> según estirpe celular.	66
Figura 22.- Supervivencia de pacientes pediátricos de <i>novo</i> según el subtipo de LLA. ...	66

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1.- Marcadores de las células sanguíneas.	5
Tabla.- 2 Resumen de algunos de los antígenos de superficie de las diversas subpoblaciones de células CD34+.	6
Tabla.- 3 Características clínicas al diagnóstico en niños con leucemia.	8
Tabla 4.- Clasificación Francesa-Americana-Británica (FAB) de la leucemia mieloide aguda (LMA).	9
Tabla 5.- Frecuencias de inmunofenotipo de LLA de estirpe B y T, en pacientes pediátricos.	12
Tabla 6.- Perfil inmunofenotípico de leucemia linfoblástica de estirpe B (EGIL).	26
Tabla 7.- Perfil inmunofenotípico de leucemia linfoblástica de estirpe T (EGIL).	26
Tabla 8.- Perfil inmunofenotípico de las LMA sin alteraciones citogenéticas específicas.	27
Tabla 9.- Perfil inmunofenotípico de las LMA con alteraciones citogenéticas específicas.	28
Tabla 10.- Panel de anticuerpos.	35
Tabla 11.- Inmunofenotipo de pacientes adultos con Leucemia Aguda.	40
Tabla 12.- Inmunofenotipo de pacientes pediátricos con leucemia linfocítica aguda (LLA).	42
Tabla 13.- Inmunofenotipo de pacientes pediátricos con leucemia mieloide aguda (LMA).	43
Tabla 14.-Frecuencia de los fenotipos aberrantes en los casos pediátricos con leucemia	

aguda.	44
Tabla 15.-Características citogenéticas, de ciclo celular e índice de DNA en pacientes pediátricos con LLA.	45
Tabla 16.-Características citogenéticas, de ciclo celular e índice de DNA de 15 pacientes pediátricos con LMA.	46
Tabla 17.- Ciclo celular e índice de DNA en pacientes pediátricos con LA.	46
Tabla 18.- Frecuencia de variables demográficas en pacientes pediátricos con LA.	48
Tabla 19.- Frecuencia de variables clínicas en pacientes pediátricos con LA.	49
Tabla 20- Estado nutricional de pacientes pediátricos.	49
Tabla 21.- Valores descriptivos de características generales en pacientes pediátricos con LA.	50
Tabla 22.- Características bioquímicas pacientes pediátricos con LA.	51
Tabla 23.- Valores descriptivos de morfología en pacientes pediátricos con LA.	52
Tabla 24.- Factores de riesgo a recaída en pacientes pediátricos con LA.	53
Tabla 25.- Evolución al tratamiento en pacientes pediátricos con LLA.	54
Tabla 26.- Evolución al tratamiento en pacientes pediátricos con LMA.	55
Tabla 27.- Evolución al tratamiento en 55 pacientes pediátricos con LA.	55
Tabla 28.- Contingencia de factores de riesgo a recaída y supervivencia al tratamiento de 55 pacientes pediátricos a los seis meses de tratamiento.	57
Tabla 29.- Contingencia de factores de riesgo a recaída y eventos adversos de 55 pacientes pediátricos.	58
Tabla 30.- Contingencia de factores de riesgo a recaída y estado de pacientes pediátricos.	59

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

4-1BB	Ligando recombinante humano 4-1BB (miembro de la superfamilia de TNF)
A/G	Albumina/globulina
ABL	Homólogo de oncogén viral de la leucemia murina de Abelson
AMAI	Asociación Mexicana de Agencias de Investigación de Mercados y Opinión Pública
AML-1	Gen de la leucemia mieloide aguda
BAFF-R	Factor activador de los receptores de células B
Bcl-2	linfoma de células B 2
BCR	proteína de la región del punto de quiebre
C μ	IgM (Inmunoglobulina M)
C3AR	Receptor de C3a (una de las proteínas formada a partir del componente 3 del complejo).
CAS	Consejo Asesor Clínico
CBF β	Cadena β del "core binding factor"
CCG	Grupo de Cáncer Infantil
CCR3	Receptor de quimiocinas CC Tipo 3
CCR4	Receptor de quimiocinas CC tipo 4
CCR7	Receptor de quimiocinas CC Tipo 7
CCR8	Receptor de quimiocinas CC Tipo 8
CD	Grupo de diferenciación
C-kit	Factor de crecimiento Kit de la célula madre.
c-Maf	Factor de transcripción fibrosarcoma Avian musculoaponeurótico

CMH	Célula madre hematopoyética
C-Mpl	Oncogén del virus de leucemia mieloproliferativa (MPL)
CPH	Célula precursora hematopoyética
CR2/CR1	Receptor del complemento C3d/ receptor C3b/C4b
CRTH2	Receptor de la prostaglandina D2
CXCR4	Receptor del factor derivado de las células del estroma 1
del	Delección
DHL	Deshidrogenasa láctica
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
E2A	Factor de transcripción 3
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EGIL	Grupo Europeo para Caracterización Inmunológico de Leucemias
EMR	Enfermedad Mínima Residual
ETO	Proteína ocho veintiuno
EUA	Estados Unidos de América
FAB	Grupo Franco-Americano-Británico
FACS	Citometría de flujo
FcεRIα	Receptor de IgE de alta afinidad
FEC-G	Factor estimulante de colonias de granulocitos
FEC-GM	Factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos
FEC-M	Factor estimulante de colonias de macrófagos
FISH	Hibridación <i>in situ</i> con fluorescencia
FITC	Isotiocianato de fluoresceína
FL1	Fluorescencia relativa 1
FSC	luz dispersada hacia adelante o frontal

GATA3	Factor de transcripción codificado en humanos por el gen <i>gata3</i>
HCM	Hemoglobina corpuscular media
HI	Alto
HLA-DR	Receptor de superficie celular de MHC de clase II codificada por el complejo antígeno leucocitario humano.
ICOS	Coestimulador de células T inducible
IFN- γ R	Receptor de interferón- alfa
IFN- β	Receptor de interferón- beta
IgD	Inmunoglobulina D
IgE	Inmunoglobulina E
IgM	Inmunoglobulina M
Ig α	Inmunoglobulina alfa
Ig β	Inmunoglobulina beta
IL- 1R	Receptor de interleucina 1
IL-1	Interleucina 1
IL-10	Interleucina 10
IL-11	Interleucina 11
IL-13	Interleucina 13
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IL-7	Interleucina 7
IL-8	Interleucina 8
IMC	Índice de masa corporal
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social

Inv	Inversión
ISSSTE	Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado
JAML	Proteína de unión a la molécula de adhesión.
LA	Leucemia aguda
LCR	Líquido cefalorraquídeo
LIF	Factor inhibidor de la leucemia
LLA	Leucemia linfoide aguda
LLA-B	Leucemia linfoide aguda de estirpe B
LLA-T	Leucemia linfoide aguda de estirpe T
LMA	Leucemia mieloide aguda
LO	Baja
LPA	Leucemia promielocítica aguda
Ly- 6A/ E	Complejo 6 del antígeno del linfocito, locus A.
M4Eo	Subtipo 4 eosinofílico de la leucemia mieloide aguda.
MDR-1	Proteína de resistencia a múltiples fármacos 1
MED	Medio
MIC	Morfología, Inmunología y Citogenética
MLL	Leucemia de linaje mixto o mieloide/linfoide.
MO	Médula ósea
MPO	Mieloperoxidasa
MRP-14	Proteína relacionada con el factor inhibidor de la migración 14
MYH11	Gen de la cadena pesada de la miosina
NGFR	Receptor del factor de crecimiento nervioso
OMS	Organización Mundial de la Salud
OX40L	Ligando del CD134.

PBS	Buffer de fosfatos salinos
PBX1	Factor de transcripción de la leucemia de células Pre-B.
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa.
PE	Ficoeritrina
PML	Gen leucemia promielocítica
PMT	Tubos fotomultiplicadores
POG	Grupo oncológico pediátrico.
RAR α	Receptor del ácido retinoico alfa
RC	Remisión completa
RT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa acoplada a transcripción inversa
Sca-1	Proteína ataxia espinocerebelosa tipo 1
SCF	Factor de células madre.
SD	Síndrome de Down.
SDF-1	Factor de células derivadas del estroma 1
SLAM	Molécula de activación se señalización linfocítica
SLE	Supervivencia libre de enfermedad
SNC	Sistema nervioso central
SP	Sangre periférica
SPSS	Software IBM SPSS
SSC	Luz lateral dispersa
T	Translocación
TCR	Receptor de células T
Tdt	Transferasa desoxinucleotidil terminal.
TEL	Proteína relacionada con ETS (factor de transcripción E-veinti-seis)
Ter 119	Antígeno de linfocito 76.

TGF- β	Factor de crecimiento transformante beta.
TGF- β RI	Factor de crecimiento transformante beta isoforma 1.
Thy-1	Antígenos de linfocito T Thy-1.
Tie2/Tek	Receptor de tirosina cinasa.
Tim- 1	Proteína de membrana de células T 1
TLR2	Receptor de peaje 2, antígeno CD282.
TNF α	Factor de necrosis tumoral alfa.
TNF- β	Factor de necrosis tumoral beta.
TP	Tiempo de protrombina.
TPT	Tiempo de parcial de tromboplastina.
VCM	Volumen corpuscular medio.
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular.
VEGFR2	Factor de crecimiento endotelial vascular del receptor 2
VLA-4	Antígeno de activación muy tardía 4, CD49d/CD29.
VLA-5	Antígeno de activación muy tardía 5, CD49e.

CARACTERIZACIÓN INMUNOFENOTÍPICA, CITOGÉNÉTICA Y CELULAR DE PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA.

Hernández Manzano Y.D.¹, Nava Miranda J.², Pérez Rivera E.², Gutiérrez Castellanos S.^{1,3}, Vázquez Garcidueñas M.S.¹, Viveros Sandoval M.E.¹, Sánchez Ceja S.G.⁴, Gómez Alonso C.⁵

RESUMEN

La leucemia aguda (LA) es una neoplasia maligna del sistema hematopoyético que afecta con más frecuencia a los niños que adultos. La evolución del paciente con LA es variable y depende del subtipo de leucemia, de la presentación clínica y edad del paciente. En pacientes pediátricos la supervivencia es mayor (85%) en el subtipo linfóide (LLA) que en el mielóide (LMA) 40%. Hipótesis: Las características clínicas y celulares de la clona leucémica, son determinantes en el desenlace de los pacientes. Objetivo: analizar las características clínicas, celulares, citogenéticas e inmunofenotípicas de pacientes con leucemia aguda. Material y métodos: estudio longitudinal, prospectivo y observacional en el que se estudió el inmunofenotipo, cariotipo, variables clínicas y factores pronóstico de 92 casos con LA en pacientes pediátricos y adultos de hospitales del IMSS, SSA e ISSSTE de Morelia, entre 2010 y 2013. El inmunofenotipo se analizó mediante citometría de flujo. Resultados: de 92 casos estudiados 24 (26.1%) correspondieron a pacientes adultos y 67 (74.9%) a pacientes pediátricos. La distribución de los 68 casos pediátricos fue la siguiente: 49 (72.1%) LLA estirpe B, 4 (5.8%) LLA células T y 15 (22.1%) LMA. Los pacientes con LMA presentaron menor tiempo de supervivencia que los pacientes con LLA. La presencia de factores adversos como $\geq 50,000$ leucocitos/mL al diagnóstico e infiltración del sistema nervioso central, se asociaron a mayor cantidad de eventos adversos. Conclusiones: La citometría de flujo fue útil para clasificar e identificar fenotipos aberrantes presentes en la mayoría de los casos. Las características citogenéticas y celulares se asociaron a eventos adversos de los pacientes.

Palabras clave: leucemia aguda, inmunofenotipo, citometría de flujo.

¹ División de Estudios de Posgrados de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez" de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). ² Departamento de Oncología Pediátrica y Laboratorio Clínico del Hospital Infantil de Morelia "Eva Sámano". ³ Laboratorio Clínico, Hospital General Regional No. 1 – Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Morelia, Mich. ⁴ Facultad de Químico Farmacobiología- UMSNH ⁵ Centro de Investigación Biomédica de Michoacán (CIBIMI)-IMSS. qfbyazmín_hernandez@yahoo.com.mx

CHARACTERIZATION IMMUNOPHENOTYPING, CYTOGENETICS AND CELL OF PATIENTS WITH ACUTE LEUKEMIA.

Hernández Manzano Y.D.¹, Nava Miranda J.², Pérez Rivera E.², Gutiérrez Castellanos S.^{1,3}, Vázquez Garcidueñas M.S.¹, Viveros Sandoval M.E.¹, Sánchez Ceja S.G.⁴, Gómez Alonso C.⁵

ABSTRACT

Acute leukemia (AL) is a malignancy of the hematopoietic system that most often affects children than adults. The evolution of patients with LA is variable and depends on the subtype of leukemia, the clinical presentation and patient age. In pediatric patients, the survival rate is higher (85%) in the lymphoid subtype (ALL) patients in myeloid (AML) 40%. Hypothesis: clinical and cellular characteristics of the leukemic clone, are crucial to the outcome of patients. Objective: To analyze the clinical, cellular, cytogenetic and immunophenotypic patients with acute leukemia. Methods: Prospective, longitudinal, observational study in which the immunophenotype, karyotype, and clinical variables prognostic factors of 92 cases with LA in pediatric and adult hospitals of the IMSS, ISSSTE and SSA Morelia was studied between 2010 and 2013. immunophenotyping was analyzed by flow cytometry. Results: Of 92 cases studied, 24 (26.1%) were adults and 67 patients (74.9%) pediatric patients. The distribution of 68 pediatric cases was as follows: 49 (72.1%) B-lineage ALL, 4 (5.8%) ALL T cells and 15 (22.1%) AML. AML patients had shorter survival than patients with ALL. The presence of adverse factors such as leukocytes $\geq 50,000$ / mL at diagnosis and infiltration of the central nervous system, associated with increased adverse events. Conclusions: Flow cytometry was useful for classifying and identifying aberrant phenotypes present in most cases. Cytogenetic and cellular characteristics associated with adverse events of patients.

Keywords: acute leukemia, immunophenotyping, flow cytometry.

¹ División de Estudios de Posgrados de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez" de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). ² Departamento de Oncología Pediátrica y Laboratorio Clínico del Hospital Infantil de Morelia "Eva Sámano". ³ Laboratorio Clínico, Hospital General Regional No. 1 – Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Morelia, Mich. ⁴ Facultad de Químico Farmacobiología- UMSNH ⁵ Centro de Investigación Biomédica de Michoacán (CIBIMI)-IMSS. qfbyazmín_hernandez@yahoo.com.mx

1. INTRODUCCIÓN

1.1 HEMATOPOYESIS

1.1.1. DEFINICIÓN

La Hematopoyesis (*Hemat = sangre, poyesis = formación*) es un proceso complejo donde las células madre hematopoyéticas proliferan y se diferencian a células precursoras hematopoyéticas que a su vez maduran, es decir, se producen las células de la sangre: eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Todas ellas de vital importancia para el organismo (figura 1) (Gómez, 2003; Hirschi, 2012; Mayani et al., 2007; Sison & Brown, 2011; Soto Cruz, Cáceres Cortés, Mendoza Rincón, & Weiss Steider, 1999).

1.1.2. CÉLULA MADRE HEMATOPOYÉTICA

La médula ósea está compuesta por células hematopoyéticas y un microambiente hematopoyético (Konopleva, Tabe, Zeng, & Andreeff, 2009; Lane, Scadden, & Gilliland, 2009; Mayani et al., 2007; Sison & Brown, 2011). Como parte de las células hematopoyéticas, tenemos a las células más primitivas presentes en la médula ósea en un 0.1 %, llamadas células madre hematopoyéticas (CMH) (MacLean, Celso, & Stumpf, 2013; Mayani et al., 2007). Se puede decir que las células madre hematopoyéticas son las únicas necesarias y suficientes para el sustento de toda la vida del sistema normal de la sangre. Tienen la capacidad de autorrenovarse y de ser multipotenciales (MacLean et al., 2013; Mayani et al., 2007; Scadden, 2007). Las CMH producen células progenitoras pluripotenciales comprometidas con un tipo de linaje, simbolizan menos del 0.5% de la médula ósea. Estas últimas generan a las células precursoras hematopoyéticas (CPH) reconocibles por su morfología, representan >90% de la médula ósea. Los precursores hematopoyéticos de la sangre, maduran y migran hacia vasos sanguíneos (Mayani et al., 2007; Mckenzie, 2009; Soto Cruz et al., 1999).

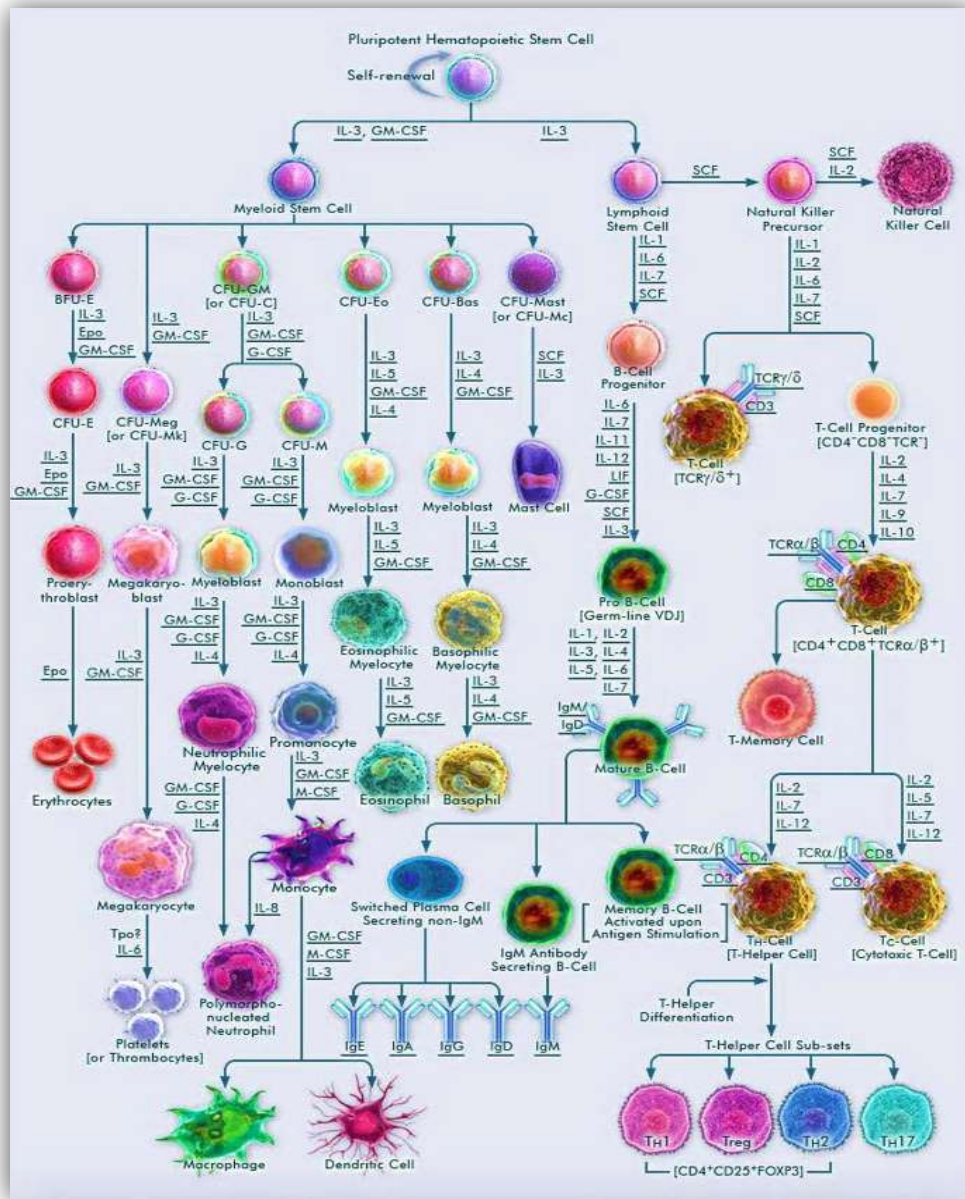


Figura 1.- Hematopoyesis y citocinas que la regulan. Tomado de affymetrix eBioscience, 2012

1.1.3. MICROAMBIENTE HEMATOPOYÉTICO

Dentro de los huesos largos entre las trabéculas del hueso esponjoso, se encuentra la médula ósea con un volumen de 30 a 50 mL/kg de peso. Existen dos tipos: médula ósea roja (hematopoyéticamente activa) y médula ósea amarilla (hematopoyéticamente inactiva), su regulación es llevada dentro de la misma médula ósea roja (Mayani et al., 2007; Mckenzie, 2009).

El microambiente hematopoyético o nicho consiste en una estructura tridimensional, altamente organizada, compuesta por células del estroma (del latín que quiere decir “colchón”) y productos del estroma que regulan el mantenimiento, localización y fisiología de las células hematopoyéticas (Konopleva et al., 2009; Lane et al., 2009; Lawal & Calvi, 2011; Mayani et al., 2007; Soto Cruz et al., 1999). Los osteoblastos, osteoclastos, adipocitos, fibroblastos, miocitos y células madre mesenquimales, son parte de las células del estroma (figura 2) (Konopleva et al., 2009, 2009; Lawal & Calvi, 2011; Mayani et al., 2007).

Las células del estroma producen factores solubles y moléculas que interactúan con las moléculas de superficie de las células madre. Estas interacciones contribuyen a la supervivencia, auto-renovación, proliferación, diferenciación, quiescencia (inactividad), migración de las células madre hematopoyéticas y células progenitoras hematopoyéticas (Fig. 1) (Hoggatt & Pelus, 2010; Mayani et al., 2007; Scadden, 2007; Sison & Brown, 2011).

La regulación hematopoyética ocurre a través de tres mecanismos: (1) el humoral, a través de la secreción de citocinas y quimiocinas, (2) la interacción a través de las moléculas de la matriz extracelular y (3) el contacto célula-célula a través de moléculas de adhesión y morfógenos (figura 2)(Mayani et al., 2007; Sison & Brown, 2011).

1.1.4. MARCADORES DE DIFERENCIACIÓN EN LA HEMATOPOYESIS

Diariamente se producen en nuestro organismo cantidades extraordinarias de células sanguíneas como parte de la compensación de su pérdida. Por ejemplo, en un adulto de 70 Kg de peso, se producen 2×10^{11} eritrocitos, 2×10^{11} plaquetas y 7×10^{10} granulocitos (Mckenzie, 2009; Soto Cruz et al., 1999). Tanto las células sanguíneas como las células hematopoyéticas tienen marcadores específicos en su superficie. La tabla 1 muestra los marcadores de superficie de las células sanguíneas (“affymetrix eBiocience,” 2012; Muñoz Marín, 2005).

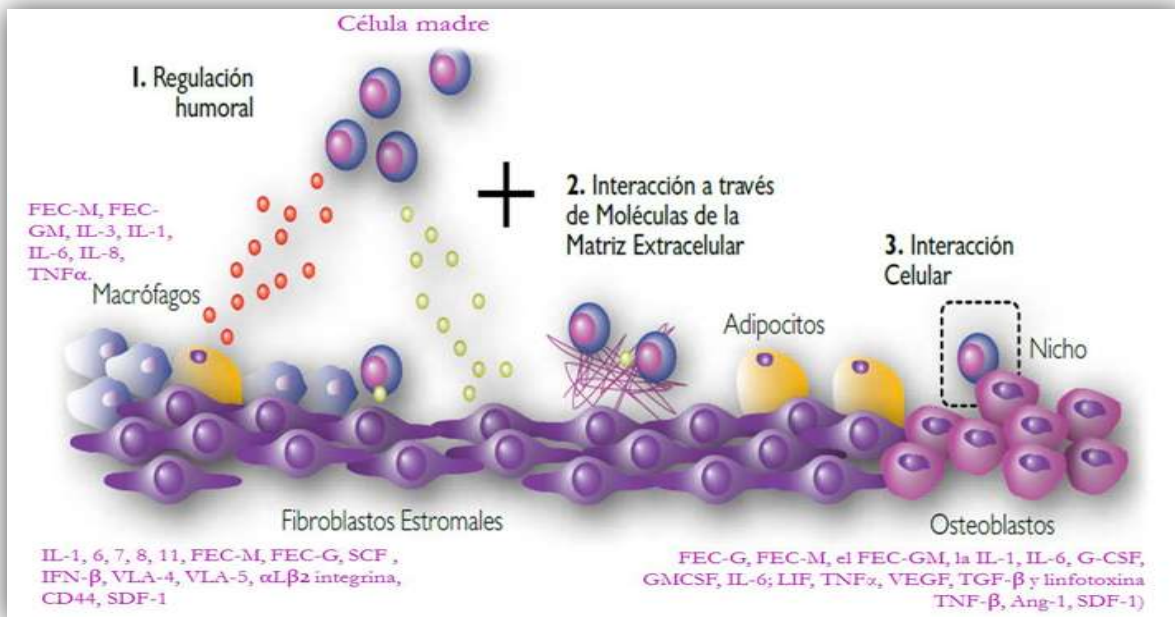


Figura 2- Microambiente Hematopoyético. Esquema representativo de los diferentes tipos celulares que integran el microambiente hematopoyético y los mecanismos de regulación de la hematopoyesis. (Tomado de Mayani y col., 2007).

La expresión de marcadores de diferenciación, “*cluster differentiation*” (CD), antígenos de diferenciación o moléculas de superficie permite confirmar la heterogeneidad de las células hematopoyéticas (Muñoz Marín, 2005).

La célula madre hematopoyética tiene una morfología linfoblastoide, la cual expresa los antígenos: CD34, CD90, CD133, CD93 (C1Rqp), Ly- 6A/ E(Sca-1), CD110 (C-Mpl), CD111, CD117 (C-kit), CD105 (Endoglin), TGF- β RI, TGF- β RI II, CD202b (Tie2/Tek), cd243 (MDR-1), CD135 (Flk-2), CD338, CD271 (NGFR), CD184 (CXCR4), CD150 (SLAM), CD309 (VEGFR2), carece de la expresión de antígenos de linajes específicos, como CD3, CD8, CD19, CD20, CD33, CD38, CD71, Glicoforina A, entre otros (“BioLegend Cell Markers,” 2013; Mayani et al., 2007; Muñoz Marín, 2005).

Las células progenitoras hematopoyéticas comparten ciertas características inmunofenotípicas con las células madre hematopoyéticas, como la expresión del antígeno CD34, sin embargo, presentan patrones de expresión de marcadores celulares muy particulares,

de acuerdo al linaje al que pertenecen. El antígeno CD34 es una molécula transmembranal que participa en la adhesión de los progenitores hematopoyéticos a las células estromales del microambiente hematopoyético (Mayani et al., 2007; Soto Cruz et al., 1999). La tabla 2 señala los marcadores de diferenciación de las células progenitoras hematopoyéticas (Soto Cruz et al., 1999).

Tabla 1.- Marcadores de las células sanguíneas

Célula sanguínea	Marcador de superficie (CD)
Neutrófilo	CD10, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD16/CD32, CD31, CD33, CD62L, CD64, CD66b, CD88, CD114, CXCR2, CXCR1, GR-1, JAML, TLR2.
Basófilo	CD13, CD44, CD54, CD63, CD69, CD107a, CD123, CD193, CD203c, TLR4, FcεR1α, IgE.
Eosinófilo	CD15, CD23, CD49d, CD52, CD53, CD88, CD129, CD183, CD191, CD193, CD244, CD294, CD305, C3AR, FcεR1α, Galectina- 9, MRP-14, Siglec- 8, Siglec- 10.
Linfocito B	CD19, CD20, CD22, CD23, CD40, CD45R/B220, CD69 CD70, CD79a (Igα), CD79b (Igβ), CD80, CD86, CD93, CD138 (Syndecan-1), CD252 (OX40L), CD267, CD21/ CD35 (CR2/CR1), CD137 (4-1BB), CD268 (BAFF-R), CD279/PD-1, IgD, IgM.
Linfocito T (Th2)	CD4, CD84 (CXCR4), CD193 (CCR3), CD194 (CCR4), CD197 (CCR7), CD278 (ICOS), CDw198 (CCR8), CRTH2, Tim- 1, IL- 1R. Expresión del factor de transcripción GATA3, c-Maf, GM- CSF y los productos de las citocinas: IL- 4, IL-5, IL-6, IL10, 1L-13.
Megacariocito**	CD9, CD31, CD41, CD42b, CD51, CD61, CD62 (P- Selectina).
Eritrocito	CD24, Ter 119, CD235a.

Construido en base a "affymetrix eBioscience," 2012.

** El megacariocito no se encuentra en la circulación sanguínea, pero produce las plaquetas.

Tabla.- 2 Resumen de algunos de los antígenos de superficie de las diversas subpoblaciones de células CD34+.

Células hematopoyéticas	Antígenos de superficie
Células madre hematopoyética	CD34+, CD38-, CD33-, CD71-, HLA-DR -, Thy-1+, CD90+, CD117+, CD133+, CD49+
Progenitores pluripotenciales	CD34+, CD38+/-, CD33+/-, CD45-, CD71-, HLA-DR +, Thy-1-
Progenitores mieloides	CD34+, CD38+, CD33+, CD45+, CD71-, HLA-DR +, Thy-1-
Progenitores eritroides	CD34+, CD38+, CD33-, CD45-, CD71+, HLA-DR +, Thy-1-
Progenitores linfoides T	CD34+, CD38+, CD2+, CD5+, CD7+, CD10+, HLA-DR+
Progenitores linfoides B	CD34+, CD38+, CD45+, CD10+, CD19+, HLA-DR +

Tomado de Soto Cruz et al., 1999

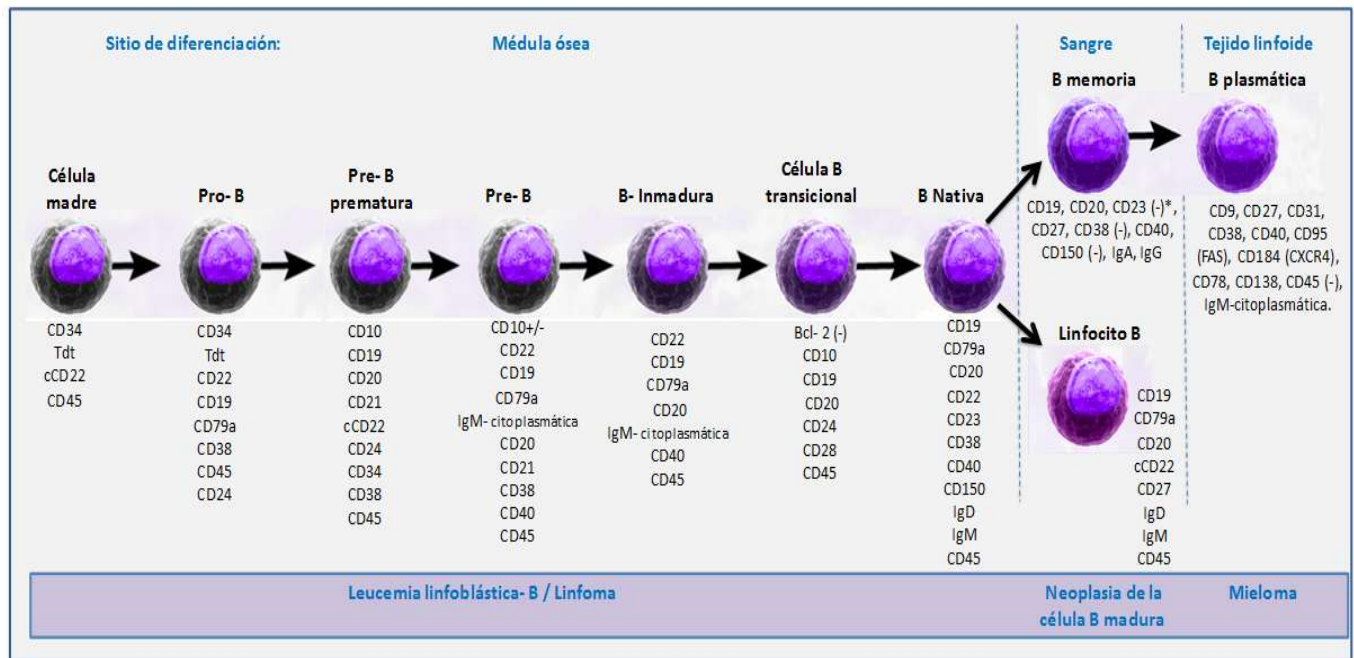


Figura 3.- Expresión de antígenos de superficie (CD) en la maduración del linfocito B. “BioLegend Cell Markers,” 2013; Erber, 2010; Uckun, 1990

1.2 LEUCEMIA AGUDA

1.2.1. DEFINICIÓN

La leucemia aguda es un grupo heterogéneo de enfermedades monoclonales del sistema hematopoyético, donde ocurre un desplazamiento de la hematopoyesis normal por la

proliferación de células inmaduras que han sufrido una transformación maligna como producto de una mutación somática. Estas células o clonas malignas pertenecen a las líneas celulares sanguíneas. Se ha clasificado a las leucemias agudas según la estirpe celular afectada, ya sea de la línea mieloide o linfoide. La evolución de las leucemias agudas es rápida, porque su evolución es en cuestión de unas cuantas semanas y no en años, como en las leucemias crónicas (Buitrón-Santiago et al., 2010; González-Salas et al., 2012; Mejía Aranguré, Ortega Álvarez, & Fajardo Gutiérrez, 2005; Mejía-Aranguré et al., 2000; Novoa, Núñez, Carballo, & Lessa, 2013; Ortega Sánchez, Osnaya Ortega, & Rosas Barrientos, 2007; Sánchez Segura et al., 2000; Zwaan & Heuvel-Eibrink, 2011).

1.2.2. FISIOPATOLOGÍA

La fisiopatología de la leucemia aguda (LA) es compleja e involucra diversos factores (genéticos, inmunes y ambientales) con relación estrecha y compleja entre ellos. Los factores genéticos de la leucemia aguda (LA) se han estudiado ampliamente, prácticamente todos los pacientes se pueden clasificar de acuerdo con la anormalidad genética específica. Sin embargo, la comprensión de cómo las alteraciones genéticas colaboran para inducir la transformación leucémica sigue siendo poco clara (Gallegos-Arreola et al., 2013).

Los genes alterados en la leucemia pueden ser resultado de: recombinación anormal (cromosómica, translocación, inversión, inserción), pérdida de material genético (supresión), ganancia de material genético (duplicación), presencia de copias adicionales de ciertos cromosomas (hiperdiploidía). Las alteraciones anteriores favorecen la activación de oncogenes que codifican proteínas que controlan la proliferación de las células, la apoptosis o ambos (Gallegos-Arreola et al., 2013; Romero & Jiménez, 2002). Cuando un oncogén se activa por mutación, la proteína codificada se modifica estructuralmente de modo que aumenta su actividad de transformación, por lo tanto permanece en estado activo, transmitiendo señales continuamente a través de la unión de tirosina y treonina cinasa. Estas señales inducen el crecimiento celular incesante. En general, los productos de los oncogenes pueden estar

clasificadas en seis categorías: factores de transcripción, remodelación de la cromatina, factores de crecimiento, receptores de factores de crecimiento, transductores de señales y reguladores de la apoptosis (Gallegos-Arreola et al., 2013).

1.2.3. MANIFESTACIÓN CLÍNICA

La presentación clínica es variable y relativamente corta (pocas semanas). La leucemia aguda (LA) suele presentar signos de insuficiencia de la producción de células sanguíneas normales, tales como: palidez, cansancio, problemas de alimentación debido a la anemia; sangrado espontáneo como consecuencia del recuento bajo de plaquetas; fiebre e infecciones por la disminución de glóbulos blancos. El recuento alto de leucocitos puede dar lugar a hiperviscosidad sanguínea, manifestándose como quejas pulmonares (disnea) o síntomas relacionados con el sistema nervioso central (SNC) (pérdidas de conciencia, convulsiones y coma). Frecuentemente ocurre dolor en los huesos debido a la alta presión intraósea. También puede presentarse infiltración leucémica, mostrándose como infiltrados en la piel (petequias y equimosis), testículos y organomegalias en bazo, hígado, encías y ganglios. En SNC, la leucemia puede provocar tumores sólidos. La tabla 3 muestra las características clínicas al diagnóstico de la leucemia aguda (Dorantes-Acosta et al, 2013; López Facundo et al, 2008; Ortega Sánchez et al., 2007; Romero & Jiménez, 2002; Zwaan & Heuvel-Eibrink, 2011).

Tabla.- 3 Características clínicas al diagnóstico en niños con leucemia.

Signo o síntoma	LLA	LMA
Fiebre	50 a 60%	33%
Sangrado	48%	35%
Adenopatía	50%	10 a 20%
Esplenomegalia	63%	41%
Hepatomegalia	30 a 40%	47%
Hepatoesplenomegalia	68%	50%
Dolor óseo	23 a 33%	20%
Hiperplasia gingival		10 a 15%

Adaptado de Piñeiros et al., 2007; Dorantes-Acosta et al., 2013

1.2.4. CLASIFICACIÓN

A) Clasificación por grupo FAB

En 1976, el grupo Franco-Americano-Británico (FAB) estableció criterios diagnósticos para la clasificación de la leucemia aguda (LA) mediante las características citomorfológicas y citoquímicas, distinguiendo dos grupos principales: leucemia linfoblástica aguda (LLA) y leucemia mieloblástica aguda (LMA) (Neame et al., 1986; Zwaan & Heuvel-Eibrink, 2011). Se asignaron tres clases a LLA, según sus características citológicas y grado de heterogeneidad. Fueron designadas L1 (tipo más común en pediátricos), L2 (grupo heterogéneo más común en adultos) y L3 (grupo homogéneo raro, con citomorfolología de Linfoma de Burkitt) (Gralnick, Galton, Catovsky, Sultan, & Bennett, 1977). De acuerdo a la línea celular predominante y el grado de diferenciación celular las LMA fueron clasificadas inicialmente en 6 tipos (M1 a M6), posteriormente con el uso de anticuerpos monoclonales dieron a dicha clasificación 2 tipos más (M0 y M7) (tabla 4) (BENNETT et al., 1985; Cuneo et al., 1995; Neame et al., 1986; Zwaan & Heuvel-Eibrink, 2011).

Cuadro 4.- Clasificación Francesa-Americana-Británica (FAB) de la leucemia mieloide aguda (LMA).

Subtipo FAB	Nombre	Frecuencia	Pronóstico
M0	Leucemia mieloblástica aguda indiferenciada	5%	Desfavorable
M1	Leucemia mieloblástica aguda con maduración mínima	15%	Intermedio
M2	Leucemia mieloblástica aguda con maduración	25%	Favorable
M3	Leucemia promielocítica aguda (LPA)	10%	Favorable
M4	Leucemia mielomonocítica aguda	20%	Intermedio
M4 eos	Leucemia mielomonocítica aguda con eosinofilia	5%	Favorable
M5	Leucemia monocítica aguda	10%	Intermedio
M6	Leucemia eritroide aguda	5%	Desfavorable
M7	Leucemia megacarioblástica aguda	5%	Desfavorable

Fuente American Cancer Society.

B) Clasificación por MIC

En los años 80's, surgió una nueva clasificación (clasificación MIC: Morfología, Inmunología y Citogenética) que pretendía diferenciar entidades según características citológicas, inmunológicas y citogenéticas, que tuvieran diferente pronóstico (Romero & Jiménez, 2002).

C) Clasificación por Organización Mundial de la Salud (OMS)

*La Clasificación de la OMS de los tumores de los tejidos linfoides y hematopoyéticas surge del consenso de un grupo de expertos convocados al Consejo Asesor Clínico (CAS). Dicho consejo, clasifica y establece criterios diagnósticos utilizados para leucemia aguda, entre otros. Esta clasificación, utiliza toda la información disponible en la morfología, citoquímica, inmunofenotipo, genética y características clínicas de dicha enfermedad (Coronel Morán, 2005; Vardiman et al., 2009). La 4ª edición, en 2008, nuevamente señala que a partir de 20% de blastos de estirpe mieloide, en sangre periférica (SP) o médula ósea (MO), se considera que es LMA *de novo*. También menciona que el diagnóstico de LLA debe aplazarse si hay menos de 20% de blastos en la MO hasta que haya pruebas definitivas para confirmar el diagnóstico (Vardiman et al., 2009).*

1.2.5. EPIDEMIOLOGÍA

Un panorama internacional, señala la existencia de 250,000 casos nuevos de leucemia en el año 2000 (Fernández Cantón et al., 2011). En el continente americano los niños menores de 15 años presentan un riesgo incrementado de presentar leucemia y más frecuentemente la LA (Piñeiros et al., 2007; Quero-Hernández, Coronado Díaz, Pérez-Bautista, & Reyes- Gómez, 2006).

En México, durante los años 1990 y 2000, los tumores malignos ocuparon un segundo lugar en causas de mortalidad, a diferencia de un tercer lugar en el 2008. A nivel nacional la leucemia representa el 5.6% de las muertes por tumores malignos y el 0.7% sobre el total de defunciones. La mortalidad por leucemia muestra un problema importante de salud pública en entidades como Tabasco, Yucatán, Baja California Sur y Veracruz. En el 2008, el estado de

Michoacán exhibió una tasa de 3.8 por cada 100,000 habitantes, por lo que se estima que la mortalidad por leucemia es de 175 personas al año aproximadamente (Fernández Cantón et al., 2011).

A) Leucemia aguda en pacientes pediátricos

De los casos de leucemia aguda en niños 75% son LLA y 25% son LMA (Fernández Cantón et al., 2011; Perez-Saldivar, Mejia-Arangure, Rangel-López, & Fajardo, 2013a; Piñeiros et al., 2007). En Bogotá, Colombia reportaron frecuencias de leucemias agudas: 85.1% correspondió a LLA y 14.9% LMA (Rocha, Martínez, Guevara, & Lopera de Garrido, 1999).

En México la leucemia aguda representa del 30 al 40% de neoplasias malignas en niños menores de 15 años (Fernández Cantón et al., 2011; Mejía Aranguré et al., 2005). En México, la LMA constituye poco más de 14 % y la leucemia no diferenciada ocupa 0.8 %. La LLA es la LA más común en los niños entre 2 y 15 años y representa cerca de 85 % de los casos (Mejía Aranguré et al., 2005). En 11 estados de la república Mexicana se reportaron incidencias desde 68.5% a 94.6% de LLA y 5.4% a 29.6% de LMA en niños (Fajardo-Gutiérrez et al., 2007). Se sabe que el género masculino es el más afectado por la LA (Quero-Hernández et al., 2006).

A nivel mundial la frecuencia de leucemia aguda linfoblástica (LLA) es de 44.7, 32.9, 14.5, 4.0%, en Costa Rica, EUA, Brasil y Nigeria, respectivamente (Quero-Hernández et al., 2006). En EUA se reportaron de 2000 a 2500 casos nuevos de LLA en menores de 20 años (Mushtaq, fadoo, & Naqvi, 2013). Los datos disponibles en nuestro país reportan un incremento en las tendencias, siendo la LLA más común en los niños (López Facundo et al., 2008). Para 1996 a 2000, se reportó una de las tasas más altas de incidencia (63.7) en el mundo (Mejía Aranguré et al., 2005). Las frecuencias del inmunofenotipo de la LLA en pacientes pediátricos en México, se reporta en la tabla 5.

Tabla 5.- Frecuencias de inmunofenotipo de LLA de estirpe B y T, en pacientes pediátricos.

Año	Tamaño muestra	Grupo edad	País	LLA					
				T	B (total)	pro- B	pre-temprana	B pre -B	B madura
1999	402	Pediátrico	México	9.4	90.6	5	82.1		3.5
2001	81	Pediátrico	México	8.6	91.4	7.4	77.8	6.2	0

(Asgarian Omran et al., 2007)

En los países desarrollados se observa un pico significativo de incidencia de la LLA entre las edades de dos y cinco años; seguido por el de cinco a nueve y en tercer lugar los mayores de diez años (Dorantes-Acosta et al., 2013; Quero-Hernández et al., 2006; Rocha et al., 1999). La incidencia de la LMA es constante desde el nacimiento hasta la edad de 10 años. Tras un ligero pico que ocurre en la adolescencia tardía, ésta permanece estable hasta la edad de 55 años, cuando progresivamente aumenta (Fernández Cantón et al., 2011).

La leucemia en niños (<1 año) es una enfermedad extremadamente rara. México registró la mayor tasa de incidencia en niños <1 año, superando las tasas de los Estados Unidos, algunos países de América Latina, Europa, Asia y Oceanía. Durante el periodo 2006-2007, la Ciudad de México reportó una tasa de incidencia 24.3×10^6 bebés para LLA y 4.1×10^6 bebés para LMA. Hay un pico en la incidencia en la LMA. Las LA en los menores de un año tienen un comportamiento clínico y pronóstico muy distinto a los niños mayores (Perez-Saldivar et al., 2013a). La evolución de los lactantes es peor en comparación con los niños mayores (Zwaan & Heuvel-Eibrink, 2011).

En México, se han reportado cifras de mortalidad temprana (durante el tratamiento de inducción a la remisión) en niños con LLA de hasta 18% sugiriéndose una asociación de esta con factores nutricionales inadecuados, baja tolerancia a la quimioterapia mieloblástica y por consiguiente una supervivencia más corta (López Facundo et al., 2008; Verduzco-Rodríguez, Verduzco-Aguirre, & López-Ariza, 2012). En países desarrollados el impacto de los tratamientos

para las leucemias agudas ha sido contundente con una tendencia significativa al descenso en las tasas de mortalidad (Piñeiros et al., 2007).

B) Leucemia aguda en pacientes adultos

La incidencia de LLA en adultos mayores es de 1/100,000 habitantes al año, es más frecuente en varones y en personas de raza negra. Existe una mayor incidencia de LLA en la población del norte y occidente de Europa, norte de África y Oceanía (Carlson & Guzmán, 2013; Ortega Sánchez et al., 2007). El riesgo de desarrollar esta enfermedad incrementa 10 veces más a partir de los 30 años hasta los 65 años (Buitrón-Santiago et al., 2010; Carlson & Guzmán, 2013).

Se muestra una predominancia de la LLA en un 49.7%, sobre la LMA 37%. (Rocha et al., 1999) En Colombia, un estudio de adultos reporta: 28.8% de casos de LMA y 66.7% de casos de LLA (Novoa et al., 2013). En México, en el año 2000 se informaron 1,926 casos nuevos de leucemia aguda. Las entidades federativas con mayor morbilidad fueron: Distrito Federal, Chiapas y Jalisco (Ortega Sánchez et al., 2007).

La mortalidad relacionada con el tratamiento de inducción de LMA oscila entre 8 a 22%. Aproximadamente 50 a 75% de los adultos con LMA alcanza la remisión completa (RC), pero sólo 20 a 30% de los pacientes logra una supervivencia libre de enfermedad (SLE) a largo plazo. La mayoría de los pacientes fallece por persistencia o recaída de la enfermedad (Buitrón-Santiago et al., 2010). Durante el estudio de varios protocolos de LMA, se concluye que no hay diferencia entre pacientes pediátricos y pacientes adultos, así pues el pronóstico adverso, disminuye con la edad, como consecuencia de una reducción de las anomalías citogenéticas de riesgo favorable y la reducción de acogida de tolerancia a la quimioterapia (Zwaan & Heuvel-Eibrink, 2011).

1.2.6. DIAGNÓSTICO

Para el diagnóstico de las leucemias agudas es necesario tener en cuenta, tanto las características clínicas de la enfermedad como los estudios de laboratorio que incluyen la morfología, citoquímica, inmunofenotipo y citogenética de las células neoplásicas involucradas (Novoa et al., 2013)

- A) Evaluación clínica:** se realiza una historia clínica, datos de laboratorio clínico y estudios de gabinete como ecocardiograma, tele de tórax e imagen radiológica de cavidad oral para identificar focos infecciosos (Ojeda Tovar et al., 2011).
- B) Evaluación morfológica:** se realiza como primer paso de la evaluación diagnóstica, en sangre periférica y aspirado de médula ósea usando microscopía de luz. Una característica morfológica clásica para distinguir la LMA de la LLA son los llamados bastones de Auer. Se emplea la tinción de Wright-Giemsa o Romanowsky; junto al análisis citoquímico con reacciones de mieloperoxidasa, Sudán Negro o de esterasa (Mckenzie, 2009; Zwaan & Heuvel-Eibrink, 2011).
- C) Evaluación inmunofenotípica:** últimamente es el método preferido para evaluar el fenotipo de células neoplásicas hematopoyéticas (Kalina et al., 2012). Las células leucémicas expresan patrones anormales de marcadores celulares y estos fenotipos aberrantes pueden ser identificados por citometría de flujo. El uso de anticuerpos monoclonales es imprescindible en esta técnica (Shook, Coustan-Smith, Ribeiro, Rubnitz, & Campana, 2009).
- D) Evaluación citogenética:** convencionalmente requiere células en división, siendo técnicamente difícil por la presencia de múltiples células anormales y patrones de bandeo cromosómicos complejos. La hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH), es más rápido que el análisis citogenético convencional (Diverio et al., 1993). Estos métodos tienen sensibilidad limitada de aproximadamente 1×10^{-2} (Juárez-Velázquez & Pérez-Vera, 2012).

E) Evaluación molecular: la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un ensayo enzimático, rápido y sensible para detectar rearrreglos de genes. Algunas translocaciones e inversiones son detectadas con alta sensibilidad (10^{-5}), por la reacción en cadena de la polimerasa acoplada a transcripción inversa (RT-PCR) (Diverio et al., 1993; T et al., 1994).

1.2.7. SUPERVIVENCIA

A) Pediátricos

En países desarrollados, como Estados Unidos, donde las mejores herramientas diagnósticas y los avances en el tratamiento de las leucemias pediátricas han llevado a tasas de curación entre el 70 y el 85% (Piñeiros et al., 2007; Verduzco-Rodríguez et al., 2012).

Recientemente, en países desarrollados se han reportado para pacientes pediátricos con LLA supervivencia libre de enfermedad a 5 años mayores a 90%, por lo que las investigaciones actuales, predominantemente se han enfocado a determinar los factores que influyen en el pronóstico de supervivencia y recaída (López Facundo et al., 2008; Miranda-Lora et al., 2012). Estos logros se deben, en parte, a la incorporación de servicios y tecnologías que forman parte de la estructura en el proceso de atención de estos pacientes (Miranda-Lora et al., 2012). El panorama no es precisamente el mismo en México porque se observan mayores cifras de mortalidad temprana en LLA (incluso 18% contra 1.6 - 4% en países desarrollados) (Verduzco-Rodríguez et al., 2012). En estudios similares al nuestro, las cifras de recaídas y supervivencias, se han relacionado con la presencia de algunos indicadores de pobreza como bajo ingreso *per cápita* y bajo consumo de energía (López Facundo et al., 2008). En pacientes con LLA, la supervivencia promedio posterior a una recaída es de alrededor de 7% al 10% a 5 años (Ramos-Peñafiel et al., 2010). Los niños <1 año con leucemia tienen una muy baja tasa de supervivencia a 5 años del 50% o menos. La tasa de supervivencia a 5 años para los niños < 1 año con LMA es de 40%, similar a lo reportado en niños mayores (Perez-Saldivar, Mejia-Arangure, Rangel-López, & Fajardo, 2013b).

B) Adultos

De forma general, la supervivencia de LLA es en promedio de 20% a 45% a cinco años, pero siendo menor en países en vías de desarrollo. Alrededor del 60% de los pacientes de riesgo alto al diagnóstico, presentarán recaída medular (Ramos-Peñafiel et al., 2010). La leucemia linfocítica aguda (LLA) en adultos es una neoplasia maligna con pobre pronóstico, las tasas de remisión completa (RC) van de 72 a 92% entre las diferentes series. No obstante, esto no se ha reflejado en la supervivencia global, la cual es aproximadamente de 35% a cinco años. La supervivencia global a los 5 años para los adultos con LMA en los Estados Unidos es un triste 15%. Sin embargo, ese número puede variar ampliamente en base a la edad del individuo al momento del diagnóstico, comorbilidades y las características únicas de la LMA de cada individuo (Carlson & Guzmán, 2013).

1.2.8. REMISIÓN Y RIESGO A RECAÍDA

Remisión es la disminución o desaparición de los signos y síntomas de la leucemia aguda (LA). En el caso de la remisión completa es la desaparición de todos los signos de LA en respuesta al tratamiento. Esto no siempre significa que ya se haya curado (Diccionario de cáncer, 2013). En pacientes pediátricos con LLA, la remisión completa se señala como: a) médula ósea con blastos menor a 5%, b) biometría hemática con aumento de la concentración de hemoglobina, un número absoluto $> 1,500$ neutrófilos/ μL , una cantidad $> 100,000$ plaquetas/ μL . y ausencia de blastos en el frotis, c) falta de síntomas atribuibles a leucemia, d) ausencia de signos físicos atribuibles de manera indudable a leucemia y e) ausencia de blastos en los frotis de sedimento de LCR (Rivera-Luna, 2010). La remisión hematológica de la LMA, en pacientes pediátricos debe cumplir los siguientes criterios: 1) menos del 5% de mieloblastos presentes en la médula ósea, 2) en sangre periférica recuento absoluto de neutrófilos superior a $1,000$ células/ μL , y 3) el recuento de plaquetas en la sangre periférica de más de $100,000$ plaquetas/ μL (Carlson & Guzmán, 2013).

El riesgo a recaída se define como la posibilidad de que retorne o no la enfermedad (en este caso leucemia aguda) con sus síntomas y signos después de un periodo de mejoría del paciente

(Diccionario de cáncer, 2013, Real Academia Española. Diccionario de la lengua española, 2001).

1.2.9. FACTORES PRONÓSTICO

La supervivencia a largo plazo y curación no ha sido únicamente obra del advenimiento de nuevas drogas para el tratamiento de la leucemia linfocítica aguda (LLA), también es debido a la identificación de factores pronósticos. Los cuales de manera directa han influido en la supervivencia libre de enfermedad de estos pacientes (Rivera-Luna, 2000).

Se define como factor pronóstico la situación, afección o característica del paciente que puede usarse para calcular la probabilidad de recuperación de una enfermedad o la probabilidad de que la enfermedad recurra (regrese) (Diccionario de cáncer, 2013). Existe una serie de factores los cuales cada uno de ellos tienen un peso específico. Es indudable que muchos de estos parámetros pronósticos no pueden efectuarse rutinariamente en muchas instituciones de la República Mexicana en la mayoría de las ocasiones por falta de recursos financieros para la obtención del equipo y en algunas por limitación de personal preparado para llevar a cabo estas pruebas (Rivera-Luna, 2000). A continuación se muestran los distintos factores pronóstico asociados con la leucemia aguda (LA):

A) Factores clínicos y epidemiológicos.

- **Edad:** el grupo cooperativo Pediatric Oncology Group (POG) y el St. Judes Childrens Research Hospital, modificaron la edad pronóstico y quedó como desfavorable por abajo de 1 año y por arriba de 10 años (Mushtaq et al., 2013; Ramos-Peñafiel et al., 2010; Rivera-Luna, 2000). Es la principal variable pronostica individual, es decir por si sola afecta el pronóstico (Ramírez-Duarte et al., 2013).

- **Género:** en 1998, el grupo cooperativo POG después de evaluar a 3,717 pacientes pediátricos con LLA pre-B demostraron que la supervivencia libre de enfermedad en niños fue 38% menor que en las niñas a los 2 y 5 años del diagnóstico. Esta situación se debe al riesgo de infiltración testicular (López Facundo et al., 2008; Rivera-Luna, 2000). Otros estudios corroboran que las LA afectan más al género masculino (López Facundo et al., 2008; Quero-Hernández et al., 2006).
- **Raza:** Algunos grupos cooperativos han llegado a la conclusión que un factor desfavorable lo constituye la raza negra y los que describen como aquellos de origen hispánico. Estos autores han concluido que el problema principal está precisamente en variaciones de la respuesta a la quimioterapia (Rivera-Luna, 2000).
- **Estado nutricional:** la desnutrición, por si sola, condiciona mayor riesgo de enfermedades infecciosas y disminuye la tolerancia a la quimioterapia, lo que incrementa el riesgo de complicaciones secundarias al mismo; además, la desnutrición puede estar asociada a un nivel socioeconómico bajo o pésimo, incrementando el riesgo a enfermedades infectocontagiosas (López Facundo et al., 2008). Estudios nutricios, indican que el pliegue cutáneo del tríceps y albúmina sérica muestran diferencias entre los grupos (Dávila-Rodríguez et al., 2010).
- **Infiltración extramedular (hepatomegalia, esplenomegalia, adenopatía):** se presenta como pronóstico desfavorable, este criterio, se va debilitando debido al tratamiento de quimioterapia más específico (Rivera-Luna, 2000). Se menciona que la enfermedad testicular pone al niño en mayor riesgo de recaída (Asgarian Omran et al., 2007).
- **Infiltración al SNC:** identificado como un factor definitivamente desfavorable (Asgarian Omran et al., 2007; Coronel Morán, 2005; López Facundo et al., 2008; Rivera-Luna, 2000). Quienes padecen infiltración del SNC al momento del diagnóstico tienen mayor riesgo de

fracaso con el tratamiento. La evaluación de dicha infiltración es por el análisis de líquido cefalorraquídeo (LCR)(Coronel Morán, 2005).

- **Factores epidemiológicos:** sólo un factor de riesgo ambiental (radiación ionizante) se ha relacionado significativamente con LLA o LMA (Belson, Kingsley, & Holmes, 2007). Han sido informado los factores que contribuyen para los bajos niveles de supervivencia libre de eventos y la supervivencia global: números altos de muertes tóxicas, el aumento de la tasa de recaída, el estado nutricional deficiente, malas condiciones socioeconómicas, retraso en el diagnóstico y la falta unidades de cuidados intensivos (Mushtaq et al., 2013).

B) Factores de laboratorio

- **Cuenta de leucocitos al diagnóstico:** el grupo cooperativo Childrens Cancer Group (CCG) y el POG concluyeron que la cuenta de leucocitos totales en sangre periférica al diagnóstico por abajo de 50,000/ μ L constituye un factor de pronóstico favorable (Coronel Morán, 2005; Mushtaq et al., 2013; Rivera-Luna, 2000; Zwaan & Heuvel-Eibrink, 2011). A diferencia de los adultos, donde las cifras mayores de 30,000/ μ L implican un pronóstico adverso.
- **Trombocitopenia (< 30,000/ mm^3):** se ha considerado como una situación desfavorable y condiciona un factor predisponente en la infiltración al SNC (Rivera-Luna, 2000).
- **Inmunoglobulinas:** los niveles bajos de IgG al diagnóstico se han asociado con una respuesta deficiente al tratamiento de inducción a la remisión. Niveles séricos bajos de IgM se han correlacionado con una supervivencia libre de enfermedad corta (Rivera-Luna, 2000).
- **Morfología médula ósea:** se describe a LLA- L1 con pronóstico favorable y la variedad L3 de mal pronóstico. Se define que los niños que presentan más de 10% de linfoblastos L2 tienen un pronóstico más desfavorable que aquellos pacientes con L1 (Rivera-Luna, 2000).

- **Respuesta esteroidea:** los corticoesteroides, son utilizados en pre-inducción, para bloquear la síntesis de proteínas por acción directa sobre el DNA. En pacientes con LLA, se administran durante siete días y al día +7, se verifica la cuenta de blastos en sangre periférica; si esta es menor de $1 \times 10^3/\mu\text{L}$, se considera como una respuesta favorable a esteroides (Ramos-Peñafiel et al., 2010; Rivera-Luna, 2000).
- **Inmunofenotipo:** estudio esencial que ofrece más un factor pronóstico, además de un tratamiento más racional según el subtipo de LA. (Rivera-Luna, 2000) La caracterización de las células leucémicas por inmunofenotipo tiene varios objetivos, incluyendo asignación de linaje, evaluación de la maduración de las células y evaluación de las aberraciones fenotípicas (Asgarian Omran et al., 2007).
- **Índice de DNA:** permite medir los linfoblastos que se encuentran en fase S del ciclo celular. Cuando el índice > 1.16 y existe hiperdiploidia indica buen pronóstico, relacionándose con una mayor sensibilidad de los agentes quimioterapéuticos fase-específicos. Por el contrario, el índice de DNA < 1.16 es de pronóstico adverso. (Rivera-Luna, 2000) Los pacientes con fenotipo LLA pre -B tuvieron pronóstico desfavorable en cuanto al índice de DNA. (Crist et al., 1990) Se encontró una mejor respuesta al tratamiento, en pacientes con frecuencia de células en fase-S > 6.8 (Look et al., 1985).
- **Enfermedad Mínima Residual (EMR):** definida como 1 célula maligna en 10,000 células normales (0.01%), tras finalizar la quimioterapia de inducción a la remisión. El término se refiere, a un bajo grado de enfermedad potencialmente compatible con la recaída de un paciente que se encuentra en una remisión de largo plazo (Juárez-Velázquez & Pérez-Vera, 2012; Ramos-Peñafiel et al., 2010). Puede ser identificada tanto por reacción de cadena de polimerasa (PCR) como por citometría de flujo (Ramos-Peñafiel et al., 2010).

C) Factores citogenéticos y moleculares

Un factor pronóstico muy importante son los estudios citogenéticos y las alteraciones moleculares. Indiscutiblemente el valor predictivo de estos factores se ve anulado si el paciente permanece en remisión continua por más de 24 meses (Rivera-Luna, 2000).

- **Alteraciones numéricas:** las modificaciones en el número de cromosomas se asocian como factores favorables (Dorantes-Acosta et al., 2013). Existe un grupo de bajo riesgo caracterizado por el cariotipo hiperdiploide, entre 51 a 65 cromosomas. Muestran mejor respuesta a la quimioterapia, sobre todo al metotrexato. Esto se ha explicado tanto por la mayor acumulación de poliglutamatos de metotrexato con mayor número de cromosomas, como por la mayor proporción de células en fase S que, además, tienen una marcada tendencia a la apoptosis espontánea, como se ha demostrado en cultivos celulares. Se asigna un alto riesgo al cariotipo hipodiploide (Verduzco-Rodríguez et al., 2012).
- **Alteraciones cromosómicas:** en LLA, las translocación t(12;21) (p12;q22) condicionan la fusión del gen TEL y AML 1 asociándose con un buen pronóstico. Las translocaciones t(8;14), t(1;19), t(9;22), y t(4;11) son alteraciones de muy mal pronóstico (Dorantes-Acosta et al., 2013; Ramos-Peñafiel et al., 2010; Rivera-Luna, 2000; Varma & Naseem, 2011; Verduzco-Rodríguez et al., 2012). Las alteraciones citogenéticas en LMA asociadas con un pronóstico favorable son Inv(16)(p13q22), t(8;21)(q22;q22) y t(15;17) (q22;q12); mientras que las alteraciones en el 11q23, t(6;9), t(9;22), -7, -5/del(5q) e Inv(3) están asociadas a un pobre pronóstico (Duque- Sierra et al., 2006; Neuhoff et al., 2010; Varma & Naseem, 2011; Zwaan & Heuvel-Eibrink, 2011).
- **Síndrome de Down (SD):** también llamada trisomía 21, tienen un marcado incremento, de 10 a 20 veces mayor a la población en general, en la frecuencia de leucemias linfoides. El pronóstico en los niños con SD y LLA es menos favorable que el de la población sin SD, en parte debido al incremento de la toxicidad, que se manifiesta por eventos de mucositis, infecciones y muerte durante la quimioterapia. Esta toxicidad se ha relacionado con el

aumento de los efectos del metotrexato, debido al exceso de actividad del transportador de folatos, codificado por un gen localizado en el cromosoma 21. Actualmente se sabe que el mal pronóstico es debido a la baja prevalencia de alteraciones citogenéticas de pronóstico favorable (Palomo-Colli et al., 2013). Los niños con SD tienen un mayor riesgo (aprox. 150 veces) de desarrollar leucemia mieloide (Zwaan & Heuvel-Eibrink, 2011).

- **Biología molecular:** hace posible detectar por reacción en cadena de la polimerasa acoplada a la retrotranscriptasa (RT-PCR), tanto de genes fusionados (BCR-ABL, TEL-AML1, E2A-PBX1, AML1-ETO, PML-RAR α , CBF β -MYH11) como de rearrreglos Ig/TCR, con una sensibilidad de 1×10^{-4} hasta 1×10^{-6} (Coronel Morán, 2005; Juárez-Caballero, Cabrera-Muñoz, Gallegos-Castoreña, & Muñiz-Ronquillo, 2007; Zwaan & Heuvel-Eibrink, 2011).

1.3. CITOMETRÍA DE FLUJO

En las leucemias agudas, la citometría de flujo es utilizada para detectar los antígenos de superficie de células leucémicas con anticuerpos monoclonales conjugados con diferentes fluorocromos o sustancias fluorescentes (Saxena & Anand, 2008). El diagnóstico por citometría se caracteriza por ser interpretativo pues es necesario explicar el significado de dicho resultado y por combinar patrones ya que uno rasgos esenciales de los gráficos (regiones, cuadrantes e intensidad de la expresión del antígeno unido al anticuerpo conjugado con el fluorocromo) (Wakui et al., 2008). La sensibilidad de la citometría de flujo es de 1×10^{-3} a 10^{-4} , es decir detecta 1 célula maligna en 1,000 o hasta en 10,000 células normales (Coustan-Smith et al., 2002; Juárez-Velázquez & Pérez-Vera, 2012).

1.3.1. FUNDAMENTO

La citometría de flujo mide simultáneamente y analiza múltiples características físicas de las células, a medida que fluyen las células a través de un haz de luz. Las propiedades medidas incluyen el tamaño, granularidad o complejidad y la intensidad de fluorescencia. Un citómetro

de flujo se compone de tres sistemas principales: de fluidos, óptico y electrónico (figura 4) (Givan, Melamed, & Shapiro, 2000).

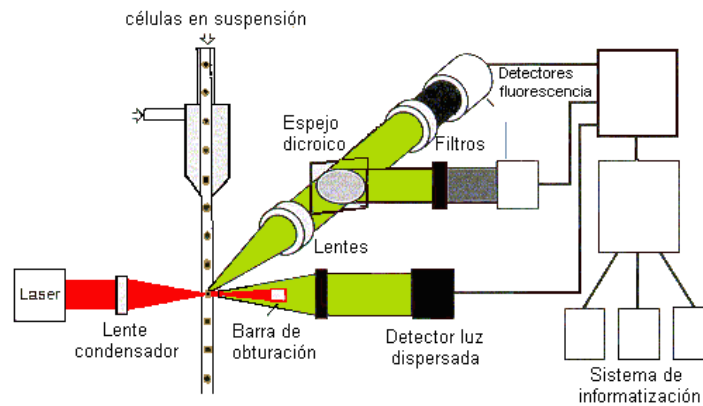


Figura 4.- Esquema de citómetro de flujo. Tomado de <http://www.revistaciencias.com/publicaciones/EEEFuFVpEViYvxbfZt.php>

El sistema de fluidos inyecta la muestra en un flujo que lleva cierta presión (LO, MED, HI), las células pasan por un pequeño orificio. Las células serán incididas por un láser, que producirá una dispersión o desviación de la luz láser, dando origen a las señales SSC y FSC, además de la emisión de fluorescencia. La medida en que esto ocurre depende de las propiedades físicas de una célula: su tamaño y complejidad. La luz dispersada hacia adelante o frontal (FSC) es proporcional al área de superficie celular o tamaño. La Luz lateral dispersa (SSC) es proporcional a la granularidad o complejidad. El sistema de óptico consiste en un láser, una serie de filtros ópticos, espejos y detectores de señales (fotomultiplicadores y fotodiodos). Después de haber sido incidida la célula, las señales SSC y la fluorescencia emitida se desvían a los tubos fotomultiplicadores (PMT- SSC, PMT- FL1, PMT- FL2, PMT- FL3, PMT-FL4, etc.) y las señales FSC son recogidas por un fotodiodo. Todas las señales se encaminan a sus detectores a través de un sistema de espejos y filtros de luz. El sistema electrónico convierte las señales de luz detectadas en señales electrónicas que pueden ser procesados por la computadora. Los datos recogidos de cada célula o evento, son almacenados en el ordenador para ser analizados por subpoblaciones por medio de gráficos distintos (Givan et al., 2000).

Un fluorocromo o compuesto fluorescente absorbe energía de la luz en un rango de longitudes de onda característica. Esta absorción de la luz hace que un electrón del fluorocromo se eleve a un nivel de energía más alto. Esta transición de la energía se denomina fluorescencia. Más de un fluorocromo se puede utilizar simultáneamente si cada uno se excita a una misma longitud de onda y si las longitudes de onda pico de emisión no son muy cerca uno del otro. La combinación de isotiocianato de fluoresceína (FITC) y ficoeritrina (PE) responde a estos criterios. La cantidad de señal fluorescente detectada es proporcional al número de moléculas de fluorocromo unidas a la célula. Cuando un fluorocromo se conjuga con un anticuerpo monoclonal, se puede utilizar para identificar un tipo de célula particular sobre la base de los marcadores de superficie antigénicos individuales de la célula (Givan et al., 2000).

1.3.2. ANTICUERPO MONOCLONAL

Los anticuerpos son glucoproteínas mediadoras de la inmunidad humoral, estos inician sus efectos al unirse a los antígenos. Los anticuerpos monoclonales, identificados por Georges Kohler y Cesar Milstein, son anticuerpos específicos frente a un determinante antigénico. Es decir, son anticuerpos que se producen de líneas celulares llamadas hibridomas. Estas células o hibridomas son seleccionadas específicamente (según el anticuerpo que se requiera), cuentan con la característica de ser inmortales, pues se producen a partir de una fusión celular (hibridación celular somática) entre una célula B normal productora de anticuerpos y una línea de mieloma. Entre las aplicaciones de los anticuerpos monoclonales está la identificación de los marcadores fenotípicos únicos de un tipo celular particular, en este caso células leucémicas. Actualmente existen varios cientos de anticuerpos que se han asignado en contra de grupo de diferenciación (CD) o antígeno para el diagnóstico de diferentes tipos de leucemia (Abbas, Lichtman, & Pillai, 2012; Asgarian Omran et al., 2007; Machado, Téllez, & Castaño, 2006). En el anexo A, se encuentran los anticuerpos monoclonales, el tipo de célula y el antígeno.

La utilidad en la tipificación celular a través del antígeno CD45 se basa en que es una proteína expresada de manera constitutiva en todas las células hematopoyéticas, que incrementa su densidad en los estadios finales de la hematopoyesis en los diferentes linajes celulares leucocitarios y permanece de manera estable en células maduras. Por otro lado, las células eritroides y las plaquetas pierden la expresión de este antígeno a lo largo de la diferenciación. Se sabe que la intensidad de expresión de CD45 no es la misma en todos los glóbulos blancos normales, que en las diferentes neoplasias hematológicas, situación que contribuye a la distinción entre los diferentes tipos celulares y la identificación de las poblaciones (Gerardo Collino, Rodríguez, Sastre, Heller, & Fernández, 2006).

1.3.3. INMUNOFENOTIPO DE LA LEUCEMIA AGUDA

A) Inmunofenotipo aberrante

La caracterización inmunofenotípica de los blastos leucémicos permite detectar alteraciones en la expresión de antígenos. En general, estos inmunofenotipos aberrantes pueden ser: 1) infidelidad de linaje o coexpresión de antígenos asociados a otro linaje, 2) ausencia de expresión de antígenos específicos de linaje, 3) sobreexpresión, menor expresión o expresión parcial de cierto antígeno por célula, 4) asincronismo madurativo en el cual antígenos de estadios inmaduros son co-expresados con antígenos presentes en estadios más maduros, 5) fenotipo ectópico o presencia de células con fenotipo no presente en ese tipo de muestra en condiciones normales y 6) características anormales de tamaño y complejidad interna de la población celular. El anexo B, muestra los resultados obtenidos en el estudio 364 pacientes adultos con leucemia aguda de diferentes hospitales del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires que dichas muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Inmunología de la Unidad de Inmunología e Histocompatibilidad del Hospital General de Agudos Dr. Carlos G. Durand (Novoa et al., 2013).

B) Leucemia Linfoide Aguda (LLA)

El Grupo Europeo para Caracterización Inmunológica de Leucemias (EGIL) publicó en 1995, el perfil inmunofenotípico de la leucemia aguda. En la práctica, cada laboratorio puede seleccionar un panel de anticuerpos en función de la carga de trabajo (Juárez-Velázquez & Pérez-Vera, 2012). Las tablas 7 y 8 muestran el perfil inmunofenotípico de la LLA de estirpe B y T.

Tabla 6.- Perfil inmunofenotípico de leucemias linfoblásticas de estirpe B (EGIL)

	CD22 _c	CD19	CD79a	CD34	CD10	Tdt	CD22 _s	CD20	CD38	CD45	Cμ	Ig _s
Pro B (E-I)	+	±	+	+	-	+	±	-	++	±	-	-
Pre B temprana (E-II)	+	+	+	±	++	+	+	±	+	±	-	-
Pre B (E-III)	+	+	+	-	+	+	+	+	±	+	+	0 ±
B madura (E-IV)	+	±	+	-	±	±	±	+	±	+	-	+

C, citoplasmática. S, superficial. Tomado de Ortuño Giner & Orfao, 2002

Tabla 7.- Perfil inmunofenotípico de leucemias linfoblásticas de estirpe T (EGIL)

	CD3 _c	CD3 _s	CD7	CD1a	Tdt	CD2	CD5	CD4/CD8
Pro T (E-I)	+	-	+	-	0 ±	-	-	-/-
Pre T (E-II)	+	±	+	-	0 ±	+	+	-/- 0 +/-
T cortical (E-III)	+	+	+	+	±	+	+	±/±
T madura (E-IV)	+	+	+	-	± 0 -	+	+	+/- 0 +/-

C, citoplasmática. S, superficial. Tomado de Ortuño Giner & Orfao, 2002

Algunos marcadores se han asociado con un pobre o buen pronóstico. La falta de expresión del CD10 es de pronóstico pobre; la negatividad de CD10 en menores de dos años da resultados precarios. Aunque en otros estudios no se encontró diferencia estadísticamente

significativa entre reactividad o no al CD10 en niños con LLA pre B (Coronel Morán, 2005). La expresión de CD34 se relaciona con buen pronóstico en pacientes LLA-B, la frecuencia de CD34 es mayor en pacientes con LLA-B(71-7%) que en pacientes con LLA-T (31.3%) (Tong, Zhang, Chunwei, Zhuogang, & Huang, 2010). La expresión de CD20 y CD38 se consideró como informativa para la búsqueda de anomalías genéticas comunes en la LLA-B (ver anexo C) (Piedras, Barrales Benítez, & López Karpovitch, 2000).

C) Leucemia Mieloide Aguda (LMA)

El perfil inmunofenotípico de las leucemias agudas no linfoblásticas incluidas en la clasificación FAB sin alteraciones citogenéticas específicas se presenta en la tabla 8 y con alteraciones citogenéticas específicas en la tabla 9. Los subgrupos de LMA con anomalías genéticas recurrentes se muestran en el anexo D.

Tabla 8.- Perfil inmunofenotípico de las LMA sin alteraciones citogenéticas específicas.

	M0	M1	M2	M4	M5a	M5b	M6	M7 ^b
MPO	± 0 +	+	+	+	±	±	+ ^a	-
CD13	± 0 +	+	+	+	- 0 ±	± 0 +	+ ^a	±
CD34	+	+	± 0 -	+	± 0 +	± 0 -	+ ^a	±
CD33	±	+	+	+	+	+	+ ^a	+
CD117	+	+	± 0 +	± 0 +	±	-	± 0 + ^a	+
HLA-DR	+	+	+	+	+	+	+	+
CD15	-	- 0 ±	+	+	- 0 ±	- 0 ±	+	- 0 ±
CD14	-	-	-	+	±	+	-	-
CD4	- 0 ±	- 0 ±	-	± 0 +	±	+	- 0 ±	- 0 ±
CD11b	-	- 0 ±	± 0 +	± 0 +	±	+	- 0 ±	- 0 ±
CD2	- 0 ±	-	-	- 0 ±	-	-	-	-
CD7	- 0 ±	-	-	- 0 ±	±	±	-	-
Tdt	± 0 +	- 0 ±	-	- 0 ±		-	±	±
CD71	±	±	±	±	±	±	++ ^c	- 0 ±
CD41a	-	-	-	-	-	-	+ ^d	+
CD42b	-	-	-	-	-	-	+ ^d	+
CD61	-	-	-	- 0 ±	- 0 ±	- 0 ±	+ ^d	+
CD56	-	-	- 0 ±	± 0 +	± 0 +	- 0 ±	-	-

^a En la fracción de blastos mieloides; ^b en megacarioblastos; ^c en elementos de serie eritroide; ^d en megacarioblastos. Tomado de Ortuño Giner & Orfao, 2002.

Tabla 9.- Perfil inmunofenotípico de las LMA con alteraciones citogenéticas específicas.

	M2 t(8;21)	M3 t(15;17)	M4Eo Inv(16)	t(9;22) ^a	-5/5q-	-7/7q-	3q21- q26	11q23	t(10;11) ^b
MPO	+	+	+	+	+	+	+	+	±
CD13	± 0 +	+	+	+	+	+	+	± 0 -	-
CD34	+	± 0 - (M3v +)	+	+	+	+	+	± 0 +	
CD33	+	± 0 +	+		+	+	+	+	+
CD117	+	± 0 -	+					± 0 -	
CD65	+	+	+		± 0 -	± 0 -	+	+	+
HLA-DR	+	± 0 -	+	+				+	
CD15	+	± ^c	+	+	+	+	+	+	
CD14	-	-	± 0 +		±	± 0 -	-	± 0 -	+
CD4	-	-	± 0 +					±	+
CD11b	+	± 0 +	±	± 0 -				+	
CD38									+
CD2	-	± ^d	± 0 +	± 0 -	-	± 0 +	± 0 -	± 0 -	
CD19	+	-	-	± 0 +	-	± 0 +	± 0 -	± 0 -	
CD56	± 0 +	± 0 -	± 0 -	± 0 -	± 0 -	± 0 -	± 0 -	+	

^a Leucemia aguda mieloide *de novo*, ^b t(10;11) con morfología M2 y M5; ^c débil; ^d M3 y M3v. Tomado de Ortuño Giner & Orfao, 2002.

2. JUSTIFICACIÓN

La leucemia aguda representa un problema de salud pública por ser la principal neoplasia maligna que afecta a pacientes pediátricos y ocupar un lugar importante entre las causas de mortalidad en México. En los hospitales del sector salud de Michoacán, la incidencia de la leucemia aguda también ha ido en aumento.

El desenlace terapéutico del paciente con leucemia aguda depende de muchos factores como son la edad al momento del diagnóstico, el subtipo de leucemia, las características clínicas, las características fenotípicas y moleculares de la clona leucémica. Por esta razón, a los pacientes con leucemia aguda se deben de estudiar estos factores para determinar el pronóstico de vida, pues en la actualidad el tratamiento depende de esta información. Asimismo, la disminución de la carga tumoral en las primeras fases de tratamiento, dicta el comportamiento de la evolución de la enfermedad: control o riesgo potencial de fallecimiento. En el presente trabajo se pretende analizar las características celulares de la clona leucémica, las características clínicas del paciente y su respuesta al tratamiento. Actualmente, se sabe que ciertos factores del paciente influyen en la eficacia del tratamiento. En Michoacán se desconocen muchos de los factores biológicos del paciente con leucemia que se pueden asociar al control de la enfermedad; por lo que consideramos de suma importancia contar con esta información para el mejor tratamiento y potenciar la cura de los pacientes.

3. HIPÓTESIS

Las características clínicas y celulares de la clona leucémica, son determinantes en el desenlace de los pacientes.

4. OBJETIVOS

4.1. GENERAL

Analizar las características clínicas, celulares, citogenéticas e inmunofenotípicas de los pacientes con leucemia aguda.

4.2. ESPECÍFICOS.

- A. Caracterizar fenotípicamente a la leucemia aguda mediante el inmunofenotipo.
- B. Analizar la información de la expresión citogenética, ciclo celular e índice de DNA de las células leucémicas.
- C. Determinar la frecuencia de las variables: demográficas, clínicas y bioquímicas.
- D. Evaluar los factores de riesgo a recaída: cuenta de leucocitos, edad, género, infiltración al sistema nervioso central (SNC), infiltración extramedular, índice de DNA, inmunofenotipo, enfermedad residual (EMR), respuesta esteroidea y factores citogenéticos.
- E. Asociar la evolución del paciente con los factores pronóstico.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. UNIVERSO DE TRABAJO

Pacientes de los servicios de Hematología y Oncología de los hospitales: Hospital General Regional No. 1 del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Hospital General Vasco de Quiroga del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE), Hospital Infantil de Morelia Eva Sámano de López Mateos y Hospital General Dr. Miguel Silva de la Secretaría de Salud. Todos pertenecientes al estado de Michoacán.

5.2. MUESTRA BIOLÓGICA

Se incluyeron 92 muestras de médula ósea y/sangre periférica de pacientes pediátricos y adultos con diagnóstico de leucemia aguda que ingresaron a dichos sitios de estudio durante el periodo de Noviembre del 2010 a Agosto del 2013. Todos los pacientes o tutores que aceptaron participar en el estudio firmaron la hoja de consentimiento informado (Anexo E).

5.3. DISEÑO DEL ESTUDIO

Longitudinal, prospectivo y observacional.

5.4. CRITERIOS DE SELECCIÓN

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes con diagnóstico de LA de *novo*
- Sin tratamiento previo de quimioterapia

5.4.1. CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN

- Pacientes con tratamiento.
- Muestras de pacientes con hemolisis, cantidad insuficientes o presencia de coagulo.

5.4.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes a los que se les suspendió el esquema de tratamiento o abandonaron el tratamiento de quimioterapia.

5.5. ESQUEMA DE TRABAJO

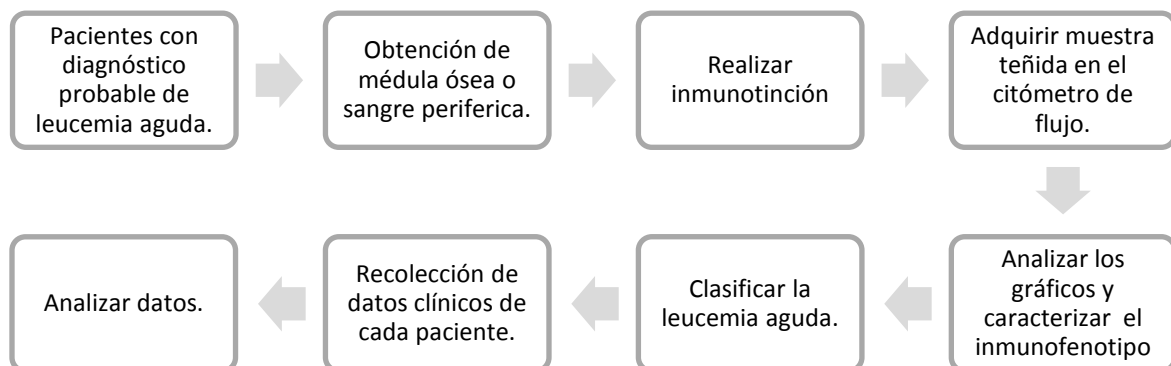


Figura 5.- Esquema de trabajo general.

5.6. PROCEDIMIENTOS

5.6.1. RECOLECCIÓN DE DATOS CLÍNICOS

A partir de una valoración clínica por los médicos correspondientes de cada hospital, se obtuvieron los siguientes datos: edad, género, signos, síntomas, talla, peso, respuesta esteroidea, infiltración al SNC, infiltración extramedular, lugar de origen, edad de los padres y trabajo de los padres.

5.6.2. ESTUDIOS DE LABORATORIO

Los estudios de laboratorio que se realizaron a los pacientes fueron: índice de DNA, enfermedad mínima residual (EMR), cariotipo, biometría hemática (hemoglobina, cuenta de leucocitos, plaquetas), química sanguínea (glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, bilirrubina, deshidrogenasa láctica), pruebas de coagulación (TP, TPT, fibrinógeno), morfología en médula ósea y sangre periférica. Los datos de estos resultados se obtuvieron del expediente clínico.

5.6.3. CARACTERIZACIÓN DEL INMUNOFENOTIPO POR CITOMETRÍA DE FLUJO

A. Inmunotinción

Se utilizaron dos tipos de inmunotinciones: inmunotinción de antígenos de superficie e inmunotinción intracelular.

La inmunotinción de antígenos de superficie fue empleada para detectar las proteínas de la membrana externa de las células mediante la combinación de los anticuerpos monoclonales: anti-CD3 FITC, anti-CD2 PE, anti-CD5 FITC, anti-CD7 PE, anti-CD10 FICT, anti-CD11b PE, anti-CD13 PE, anti-CD14 PE, anti-CD15 FITC, anti-CD19 PE-Py5 (PC5), anti-CD20 PE,

anti-CD22 PE, anti-CD33 PE, anti-CD34 FITC, anti-CD38 FITC, anti-CD41a FITC, anti-CD42b PE, anti-CD45 PC5, anti-CD64 FITC, anti-CD71 FITC, anti-CD117 PE y Anti-HLA-DR PE (Becton Dickinson, Franklin Lakes, EUA), de acuerdo a la tabla 10. En cada tubo se colocaron 300,000 leucocitos de la muestra de médula ósea o sangre periférica anticoagulada con EDTA, se adicionaron los anticuerpos utilizando 4µL de cada anticuerpos excepto para el anti-CD45 PC5, del cual se adicionaron de 1 a 2µL, se llevó a un volumen final de 100 µl con solución amortiguadora de fosfatos (PBS) y se incubó durante 15 min a temperatura ambiente en oscuridad. Luego se agregaron 500 µL de solución de lisis de eritrocitos (NH_4Cl 0.144 M, KHCO_3 10 mM, EDTA 1mM pH 8.0), se incubó durante 15 min a 4°C y se centrifugó a 1,500 rpm durante 5 min. El botón celular se lavó dos veces resuspendieron las células con 500 µL de PBS y centrifugando durante 5 min a 1500 rpm. Finalmente, las células se resuspendieron con 300 µL de PBS y 50 µL de formaldehído al 1%.

La inmunotinción intracelular se empleó para teñir marcadores antigénicos del citoplasma o nucleares, empleando los anticuerpos monoclonales: anti-MPO FITC, anti-CD79a PE, anti-Tdt FITC y Anti-IgM FITC (Becton Dickinson, Franklin Lakes, EUA). El procedimiento se realizó de la siguiente forma: se colocaron 600,000 leucocitos de médula ósea o sangre periférica anticoagulada con EDTA, se adicionaron 500 µL de solución de lisis de eritrocitos (NH_4Cl 0.144 M, KHCO_3 10 mM, EDTA 1mM pH 8.0) y se incubaron durante 15 min a 4°C en oscuridad. Se obtuvo el botón celular centrifugando la muestra a 1,500 rpm durante 5 min, se adicionaron 200 µL de solución de permeabilización 2 (Becton Dickinson, Franklin Lakes, EUA), se incubó durante 10 min a temperatura ambiente en oscuridad. Luego, las células se lavaron agregando 2,000 µL de PBS y centrifugando a 1500 rpm durante 5 min. En seguida, se adicionaron los anticuerpos de acuerdo al tabla 10 (10 µL de cada anticuerpo) y 200 µL de PBS, se incubó durante 30 min a temperatura ambiente, en oscuridad. Se realizó un lavado con 500 µL de PBS centrifugando a 1500 rpm durante 5 min. Finalmente, el botón celular se resuspendió en 500 µL de PBS y 50 µL de formaldehído al 1%.

Tabla 10.- Panel de anticuerpos.

No. de Tubo	Diagnóstico probable		
	LA	LLA	LMA
1	Células *	Células *	Células *
2	CD3	CD3	CD3
3	CD2	CD2	CD2
4	CD45	CD45	CD45
5	CD5/ CD7/ CD45	CD34/ CD13/ CD45	CD10/ CD33/ CD45
6	CD34/ CD22/ CD19	CD15/ CD117/ CD45	CD34/ CD22/ CD19
7	CD10/ CD33/ CD45	CD38/ CD11b/ CD45	CD38/ Anti HLA- DR/ CD45
8	CD38/ Anti HLA- DR/ CD45	CD20/ Anti HLA- DR/ CD19	CD20/ CD13/ CD45
9	CD20/ CD13/ CD45	CD71/ CD14/ CD45	CD5/ CD7/ CD45
10	CD15/ CD117/ CD45	CD41a/ CD42b/ CD45	Únicamente células *
11	CD71/ CD14/ CD45	Únicamente células *	IgM/ CD79a
12	CD64/ CD11b/ CD45	MPO/ CD79a	Tdt
13	Únicamente células *		
14	MPO/ 79 ^a		
15	IgM		

*Los tubos tiene únicamente células, sin anticuerpos.

B. Adquisición de la muestra y análisis de los gráficos de puntos.

Se adquirieron 10,000 eventos de cada tubo inmuno-teñido en el Citómetro de Flujo FACSCalibur (Becton Dickinson, Franklin Lakes, EUA) Se usó el programa CellQuest (Becton Dickinson, Franklin Lakes, Estados Unidos). Cada tubo del panel de anticuerpos empleados nos generó 4 gráficos de puntos diferentes. Una vez adquirida la muestra, se realizó el análisis de los gráficos de puntos como se describe a continuación:

1) El gráfico de la figura 6 de puntos A y B nos muestran las células adquiridas, según tamaño (FSC) y complejidad (SSC) de la célula. A partir de este gráfico se selecciona la región 1 (R1), las cuales son nuestras células de interés.

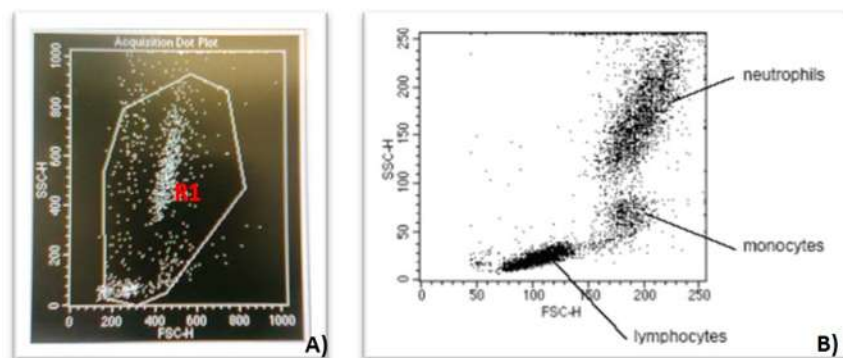


Figura 6.- Plot de adquisición de células leucémicas. A) Distribución celular de las poblaciones leucocitarias B) Representación esquemática (tomado de ilustraciones de manuales Becton Dickinson®)

2) La figura 7 se graficó tomando como base la región R1, cada “plot” o gráfico de puntos está dado por la presencia o ausencia del marcador CD45 (leído en el detector FL3- PMT) contra la complejidad celular (SSC). De este gráfico se selecciona la región 2 (R2), la cual nos identifica a los blastos presentes en la muestra.

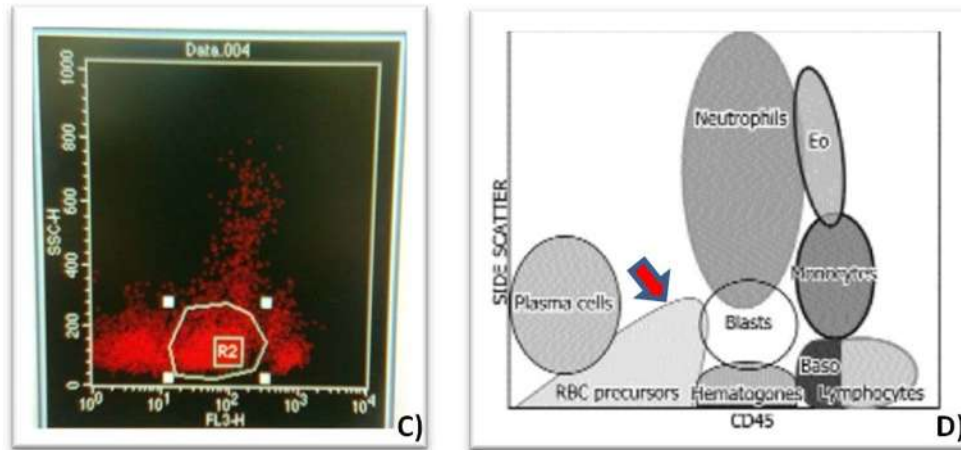


Figura 7.- Identificación de los blastos. C) Distribución celular de acuerdo a la expresión de CD45 y complejidad celular D) Representación esquemática (tomado de ilustraciones de manuales Becton Dickinson®)

3) La figura 8 ilustra la región R2 graficada en cuadrantes, según la expresión de los marcadores antígenicos. Es decir para el detector FL1-PMT observamos el resultado de los antígenos unidos al anticuerpo con fluorocromo FITC y para el detector FL2-PMT se presentan las células que se unieron al anticuerpo marcado con el fluorocromo PE. De los cuadrantes que tenemos, en el caso del ejemplo gráfico (Fig. E): UL nos representa las células positivas únicamente para el marcador CD2 y negativas para CD3. De esta manera se dice que la presencia o ausencia de las células según el cuadrante es positivo, negativo o doble positivo para el anticuerpo monoclonal.

C. Asignación del inmunofenotipo.

La manera de asignar el inmunofenotipo es dando como positivo aquel marcador que se encuentre en al menos 20% células. Una vez sabiendo que marcador es positivo, se comparó con los inmunofenotipos característicos de cada subtipo de leucemia aguda (Tablas del 7 al 10) y se estableció el diagnóstico.

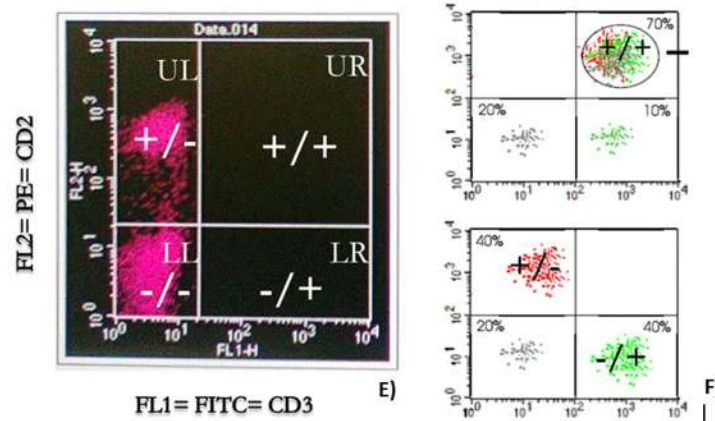


Figura 8.- Plot para determinar el porcentaje de células leucémicas positivas para un marcador (CD). C) Distribución celular en relación a la expresión del marcador antigénico unido al anticuerpo con su respectivo fluorocromo D) Representación esquemática (tomado de ilustraciones de manuales Becton Dickinson®)

5.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se realizó estadística descriptiva utilizando medidas de tendencia central (media) y medidas de dispersión (desviación estándar). Para análisis de la relación entre las variables se empleó la prueba no paramétrica de Chi- cuadrado de Pearson. En todos los casos se consideró significativo un valor de $p < 0.05$. Se utilizó el programa estadístico SPSS (software IBM SPSS) versión 18 (PASW Statistics 18.0, Quarry Bay, Hong Kong) para Windows.

5.8. CONSIDERACIONES ÉTICAS.

Los pacientes incluidos en el estudio firmaron una carta de consentimiento informado, en el caso de los pacientes adultos y en cuestión de los pacientes pediátricos la carta fue firmada por el tutor. Además el médico encargado les explicó en qué consistía dicho estudio. Para el estudio se hizo uso de la misma toma de muestra de médula ósea que usan para el propio diagnóstico de la enfermedad y su vigilancia clínica durante su estadía en el hospital. Los aspirados de médula ósea lo realizaron los médicos de base adscritos al servicio, con medidas necesarias para prevenir cualquier complicación.

6. RESULTADOS

Objetivo A. Caracterización fenotípica de la leucemia aguda (LA) mediante el análisis del inmunofenotipo.

De las 92 muestras estudiadas 24 (26.1%) correspondieron a pacientes adultos y 67 (74.9%) a pacientes pediátricos.

A) Pacientes adultos

Los casos de pacientes adultos se distribuyeron así: 17 casos (71%) presentaron fenotipo de linaje mielóide compatible con la leucemia mieloblástica aguda (LMA), 6 (25%) fenotipo linfóide B compatible con la leucemia linfoblástica aguda (LLA-B) y 1 (4%) fenotipo linfóide T compatible con la leucemia linfoblástica T (LLA-T). El fenotipo de las leucemias agudas en adultos se muestra en la tabla 11.

Las células leucémicas de LLA-B expresaron HLA-DR, CD19, CD22 y CD38 en todos los casos, mientras que CD20, CD10 y CD79a se encontraron en 67% de los casos y CD34 en 60%. Hubo infidelidad de linaje en un 20% con el marcador CD5 y un 60% con CD13. Según los patrones inmunofenotípicos 2/6 (33%) fueron caracterizados como LLA pre B temprana, 2/6 (33%) como LLA pre B y 2/6 (33%) como LLA de estirpe B sin poderse subclasificar. Se halló una diferencia estadísticamente significativa para el marcador HLA- DR ($p= 0.015$)(Tabla 11)

El 94% de los casos de LMA expresaron CD33 y CD13, 33% de CD14, 73% de CD15, 82% de CD117, 78% de MPO y 35% de CD34. La coexpresión de marcadores linfoides o infidelidad de linaje fue de CD2 20%, CD3 20%, CD19 31% y CD10 17%. La frecuencia de fenotipos compatibles con LMA-M1 fue de 1/17 (6%), LMA- M2 de 5/17 (29%), LMA- M3 de 6/17 (35%), LMA-M4 de 4/17 (24%) y LMA-M5 de 1/17 (6%). Se encontró diferencia estadísticamente significativa para los marcadores CD14 ($p = 0.013$) y CD33 ($p= 0.015$) (Tabla 11).

El único caso de LLA-T expresó los marcadores CD2, CD3, CD5, CD7 y CD34. Presentó infidelidad de linaje con los marcadores CD19, CD20 y CD22. Y de igual manera se encontró una diferencia estadísticamente significativa para CD3 (tabla 11).

Al realizar el análisis estadístico de la expresión de los marcadores, se encontró diferencias estadísticamente significativas en los marcadores HLA-DR, CD3, CD14, CD33 (tabla 11).

Tabla 12.- Inmunofenotipo de pacientes adultos con Leucemia Aguda.

Marcador	LLA (n/total)				LMA (n/total)					Valor ^d χ ²	Significancia χ ²
	T	B	Pre B Temp.	Pre B	M1	M2	M3	M4	M5		
CD45	1/1	2/2	2/2	2/2	1/1	4/4	4/5	3/4	1/1	3.245	N.S.
CD34	1/1	1/2	1/1	1/2	0/1	2/4	1/4	2/3	1/1	5.295	N.S.
CD2	1/1	0/1	0/2	0/1	0/1	1/4	2/5	0/4	0/1	7.812	N.S.
CD3	1/1	0/1	0/2	0/1	0/1	0/4	0/5	0/4	0/1	20.000	0.010*
CD5	1/1	1/2	0/2	0/2	-	0/1	-	0/1	0/1	6.875	N.S.
CD7	1/1	0/2	0/2	0/2	0/2	1/1	-	0/1	0/1	10.000	N.S.
CD11b	-	-	-	0/1	1/1	3/5	1/5	3/3	1/1	7.873	N.S.
CD13	0/1	0/1	2/2	1/2	1/1	3/5	6/6	3/3	1/1	12.320	N.S.
CD14	-	1/1	-	0/2	0/1	0/5	1/5	4/4	-	14.400	0.013*
CD15	-	-	-	1/2	0/1	5/5	2/5	3/3	1/1	8.812	N.S.
CD33	0/1	0/1	0/2	1/2	1/1	4/4	5/5	4/4	-	17.333	0.015*
CD41a	-	-	-	-	-	1/3	0/4	-	0/1	1.905	N.S.
CD64	-	-	-	0/2	0/1	0/1	0/2	0/1	-	-	&
CD42b	-	-	-	-	-	0/3	0/4	-	-	-	&
CD117	-	-	0/1	0/2	1/1	5/5	5/6	3/4	0/1	12.460	0.052
CD71	-	-	-	1/1	0/1	5/5	3/5	2/3	1/1	6.044	N.S.
MPO	-	-	-	0/2	0/1	3/4	4/4	-	-	7.759	0.051
HLA- DR	1/1	2/2	2/2	2/2	0/1	5/5	0/5	2/3	1/1	18.927	0.015*
CD19	1/1	1/1	2/2	2/2	0/1	2/4	2/4	0/3	0/1	10.078	N.S.
CD20	1/1	2/2	1/2	1/2	-	0/1	-	0/1	0/1	6.000	N.S.
CD22	1/1	1/1	2/2	2/2	-	0/1	0/1	0/2	0/1	11.000	N.S.
CD10	0/1	1/2	½	2/2	-	0/2	-	1/3	0/1	5.958	N.S.
CD38	0/1	1/1	2/2	2/2	1/1	4/5	2/5	1/3	1/1	9.000	N.S.
CD79a	0/1	-	½	2/2	-	0/4	2/4	-	-	6.663	N.S.
Tdt	0/1	-	0/1	1/1	-	-	-	-	-	3.000	N.S.
IgM	1/1	-	0/2	2/2	-	-	-	-	-	5.000	N.S.

LLA, leucemia linfocítica aguda. LMA, leucemia mieloide aguda.

ⁿ Cantidad de casos del total analizado

^d Chi- cuadrado

N.S. No significativo.

& No se calculó ningún estadístico porque el marcador es una constante.

*P < 0.05 (cifra estadísticamente significativa).

B) Pacientes pediátricos

Los 68 casos de los pacientes pediátricos se distribuyeron de la siguiente forma: 49 (72.1%) fueron de estirpe B, 4 (5.8%) de células T y 15 (22.1%) de estirpe mieloide (Tablas 12 y 13).

B.1.- LLA de estirpe B

Los casos de LLA de estirpe B se subclasificaron inmunofenotípicamente así: 3/49 (6.1%) LLA pro-B, 16/49 (32.6%) LLA pre-B temprana y 29/49 (59.1%) LLA pre-B. Los marcadores CD19, CD20, CD22, CD79a, CD10 e IgM (inmunoglobulina citoplasmática) tuvieron una diferencia estadísticamente significativa. En 41/49 (83.6%) de los casos presentaron una o más aberración fenotípica (Tabla 4). Todos los casos expresaron CD79a y CD38, CD19 y CD22 en 48/49 (97.8%), CD10 en 46/49 (93.9%), IgM en 29/49 (61.7%) y CD20 en 14/45 (31.1%), (Tabla 12).

B.2.- LLA de células T

Los casos de LLA-T mostraron fenotípicamente los marcadores CD2, CD5, CD7 en todos los casos, CD3 sólo 1/4 (25%) y CD38 en 3/4 (75%) (Tabla 13). Entre los fenotipos no existió infidelidad de linaje, pero sin embargo hubo ausencia de expresión de marcadores de linaje específico en todos los casos (Tabla 14).

B.3.- Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA)

Los casos de LMA se distribuyeron de la siguiente forma: 2/15 (13.3%) LMA-M0, 1/15 (6.6%) LMA-M2, 4/15 (26.6%) LMA- M3, 2/15 (13.3%) LMA- M4, 5/15 (33.3%) LMA- M5 y 1/15 (6.6%) LMA- M7. En las células de LMA se encontró la expresión de CD13 y CD33 en 13/15 (86.6%), MPO en 11/14 (78.5%), CD14 en 5/14 (35.7%), CD15 en 8/15 (53.3%), CD117 en 11/15 (73.3%) (Tabla 13). Todos los casos presentaron fenotipo aberrante, (Tabla 14). Se tuvo una diferencia estadísticamente significativa para los marcadores CD13, CD33 y CD41.

Tabla 12.- Inmunofenotipo de pacientes pediátricos con leucemia linfocítica aguda (LLA).

Marcador	LLA (n/total)					Valor ^d χ ²	Significancia χ ²
	Pro B	Pre B Temp.	Pre B	Pre T	T		
CD2	1/3	0/16	0/30	3/3	1/1	45.197	0.000*
CD3	0/3	0/16	0/30	0/3	1/1	53.000	0.000*
CD5	0/3	0/16	0/30	3/3	1/1	53.000	0.000*
CD7	0/3	0/16	0/30	3/3	1/1	53.000	0.000*
cCD3	0/3	0/12	0/28	2/2	-	45.000	0.000*
CD19	3/3	15/16	30/30	0/3	0/1	42.027	0.000*
CD20	1/3	10/13	3/29	0/3	0/1	21.246	0.000*
CD22	3/3	16/16	29/30	0/3	0/1	41.686	0.000*
CD24	-	5/5	5/5	-	-	-	&
CD79a	3/3	13/13	28/28	0/3	-	47.000	0.000*
Tdt	-	1/3	-	1/1	-	1.333	N.S.
CD10	0/3	16/16	30/30	0/3	0/1	53.000	0.000*
Clg	0/3	0/16	29/29	-	-	48.000	0.000*
Slg	0/3	0/16	1/23	0/1	-	0.890	N.S.
CD38	3/3	14/14	30/30	3/3	0/1	51.000	0.000*
CD58	-	2/2	0/1	1/1	-	4.000	N.S.
HLA- DR	3/3	12/14	28/29	0/3	0/1	27.743	0.000*
CD13	0/2	1/15	1/30	0/3	-	0.521	N.S.
CD14	-	0/5	0/14	0/3	-	-	&
CD15	-	0/3	1/15	0/3	0/1	0.489	N.S.
CD33	0/1	0/14	1/27	0/3	0/1	0.719	N.S.
CD117	0/3	2/16	1/30	0/3	-	2.028	N.S.
CD64	0/3	0/12	0/28	0/3	-	-	&
MPO	0/3	0/12	0/28	0/3	-	-	&
CD41	0/3	0/12	0/29	0/3	-	-	&
CD61	-	-	0/1	0/1	-	-	&
CD11b	-	-	-	0/1	0/1	-	&
CD4	0/1	0/2	0/19	0/3	-	-	&
CD8	0/1	0/2	0/17	0/3	-	-	&
CD34	2/3	9/15	25/30	2/3	0/1	5.747	N.S.
CD45	3/3	15/16	28/28	3/3	1/1	2.231	N.S.
CD16	-	0/1	2/15	0/2	-	0.450	N.S.
CD56	0/3	0/11	0/30	0/3	-	-	&

LLA, leucemia linfocítica aguda.

ⁿ Cantidad de casos del total analizado

^d Chi- cuadrado

N.S. No significativo.

& No se calculó ningún estadístico porque el marcador es una constante.

*P < 0.05 (cifra estadísticamente significativa).

Tabla 13.- Inmunofenotipo de pacientes pediátricos con leucemia mieloide aguda (LMA).

Marcador	LMA(n/total)						Valor ^d X ²	Significancia asintótica X ²
	M0	M2	M3	M4	M5	M7		
CD2	0/2	0/1	0/4	0/2	0/5	0/1	-	&
CD3	0/2	0/1	0/4	0/2	0/5	0/1	-	&
CD5	0/2	0/1	0/4	0/2	0/5	0/1	-	&
CD7	0/2	0/1	0/3	0/2	0/5	0/1	-	&
cCD3	0/2	0/1	0/4	0/1	0/5	-	-	&
CD19	½	1/1	0/4	0/2	1/5	0/1	6.875	N.S.
CD20	0/2	0/1	0/4	0/2	0/5	0/1	-	&
CD22	0/1	0/1	0/4	0/2	0/5	0/1	-	&
CD24	0/1	-	0/2	-	0/2	-	-	&
CD79a	0/1	0/1	0/4	0/1	1/5	-	1.527	N.S.
Tdt	0/2	0/1	0/4	0/2	1/5	0/1	2.143	N.S.
CD10	0/2	0/1	0/4	0/2	1/5	0/1	2.143	N.S.
Clg	-	-	-	-	0/1	-	-	&
Slg	-	-	-	-	0/1	-	-	&
CD38	0/2	0/1	0/4	0/1	0/5	0/1	-	&
CD58	-	-	-	1/1	-	-	-	&
HLA- DR	1/1	1/1	1/4	2/2	5/5	0/1	10.325	N.S.
CD13	2/2	0/1	4/4	2/2	5/5	0/1	15.000	0.010*
CD14	0/2	0/1	0/3	1/2	4/5	0/1	8.338	N.S.
CD15	0/2	0/1	2/4	2/2	4/5	0/1	7.768	N.S.
CD33	2/2	0/1	4/4	2/2	5/5	0/1	15.000	0.010*
CD117	2/2	0/1	4/4	2/2	3/5	0/1	8.864	N.S.
CD64	0/2	0/1	3/4	1/1	5/5	0/1	10.733	0.057
MPO	2/2	1/1	4/4	1/1	3/5	-	3.782	N.S.
CD41	0/2	0/1	0/3	0/1	0/5	1/1	13.000	0.023*
CD61	-	-	0/1	-	-	-	-	&
CD11b	0/1	0/1	0/4	2/2	2/4	0/1	8.306	N.S.
CD4	1/2	0/1	0/4	1/1	5/5	0/1	12.000	0.035*
CD8	-	0/1	0/2		0/3	0/1	-	&
CD34	2/2	1/1	0/4	2/2	3/5	0/1	10.179	N.S.
CD45	2/2	1/1	4/4	2/2	5/5	1/1	-	&
CD16	0/1	0/1	0/1	-	0/4	0/1	-	&
CD56	1/2	-	0/4	0/1	1/3	0/1	3.157	N.S.

LMA, leucemia mieloide aguda.

ⁿ Cantidad de casos del total analizado

^d Chi- cuadrado

^{N.S.} No significativo.

& No se calculó ningún estadístico porque el marcador es una constante.

*P < 0.05 (cifra estadísticamente significativa).

Tabla 14.-Frecuencia de los fenotipos aberrantes en los casos pediátricos con leucemia aguda.

Fenotipos aberrantes	LLA		LMA
	Estirpe B	Estirpe T	
Total casos	84%	100%	100%
1.- Infidelidad de linaje	16% CD13 (4%) CD33 (2%) CD15 (6%) CD117 (6%) CD2 (2%) CD11b (6%)	0%	60% CD19 (20%) CD10 (7%) CD4 (50%) CD56 (18%)
2.- Ausencia de expresión de antígeno	65% CD45 (2%) CD19 (2%) CD20 (69%) CD22 (2%) HLA- DR (6%)	100% CD3 (75%) CD4 (100%) CD8 (100%)	86% HLA- DR (29%) CD13 (13%) CD14 (64%) CD15 (47%) CD33 (13%) CD117 (27%) CD64 (33%) CD11b (69%)
3.- Asincronismo	71% CD34 (+) CD20 (+): 12 % CD34 (+) CD10 (+): 4 % CD34 (+) CD 22 (+): 71%		66.6 % CD34 (+) CD15 (+): 27% CD34 (+) CD117 (-): 7% CD13 (-) CD33 (+): 13% CD13 (+) CD33 (-):0% CD117 (+) CD15 (+): 40% HLA- DR (+) CD15 (+): 40% CD34 (+) HLA-DR (-): 0%

Objetivo B. Análisis de la expresión citogenética, ciclo celular e índice de DNA de las células leucémicas agudas pediátricas.

A) Análisis citogenético de LLA

La alteración en la cantidad de cromosomas de las células de los pacientes pediátricos con LLA mostraron 14/28 (50%) cariotipo normal o diploide, 8/38 (21%) disminución en la cantidad de cromosomas (hipodiploidia) y 6/38 (15.7%) hiperdiploidia (Tabla 15). Entre las alteraciones citogenéticas expresadas fueron la trisomía 21 (síndrome de Down) y la t(1;19) ambas presentes en un 3% aproximadamente. Para la t(1;19) se obtuvo un valor estadísticamente significativo.

B) Ciclo celular e índice de DNA de LLA.

Como factor pronóstico favorable, la fase S > 6.8 del ciclo celular se presentó en 13/41 (31.7%) casos e índice de DNA ≥ 1.16 se expresó en 6/47 (12.7%) casos.

Tabla 15.-Características citogenéticas, de ciclo celular e índice de DNA en pacientes pediátricos con LLA.

Características	LLA (n/total)					Valor ^d X ²	Significancia X ²
	Pro B	Pre B Temp.	Pre B	Pre T	T		
Citogenética							
t(9;22)	0/3	0/14	0/25	-	0/1	-	&
t(12;21)	0/2	0/13	0/24	-	0/1	-	&
t(4;11)	0/2	0/13	0/24	-	0/1	-	&
t(1;19)	1/3	0/13	0/24	-	0/1	12.983	0.005*
Síndrome Down	0/3	0/14	1/25	0/2	0/1	0.818	N.S.
Otras alteraciones	0/2	4/13	8/24	-	0/1	1.416	N.S.
Cariotipo						9.183	N.S.
Diploide	3/3	10/13	18/24	-	0/1		
Hipodiploide	0/3	2/13	2/24	-	1/1		
Hiperdiploide	0/3	1/13	4/24	-	0/1		
Ciclo celular							
Fase S > 6.8	0/2	3/11	9/24	1/3	0/1	1.868	N.S.
Índice de DNA							
≥ 1.16	0/3	3/12	3/28	0/3	0/1	2.743	N.S.

LLA, leucemia linfocítica aguda.

ⁿ Cantidad de casos del total analizado

^d Chi- cuadrado

^{N.S.} No significativo.

& No se calculó ningún estadístico porque el marcador es una constante.

*P < 0.05 (cifra estadísticamente significativa).

C) Análisis citogenético de LMA

Las características citogenéticas de los casos con LMA mostraron alteraciones numéricas: 3/12 (25%) diploide, 2/12 (16.6%) hipodiploidia y 3/12 (25%) hiperdiploidia (Tabla 16). La t(8;21) se presentó en 2/12 (16.6%) y la t(15;17) característica de la LMA-M3, únicamente se expresó en 1/4 (25%) de los casos.

D) Ciclo celular e índice de DNA de LMA

La fase S > 6.8 del ciclo celular se presentó en 2/11 (18.1%) casos e índice de DNA ≥ 1.16 no se expresó en ningún caso. Conforme al ciclo celular evaluado por citometría de flujo, los pacientes pediátricos en su mayoría (78.3%) presentan un ciclo diploide y en menor frecuencia ciclo hiperdiploide. La estadística descriptiva del ciclo celular e índice de DNA en 68 pacientes pediátricos con leucemia aguda se puede ver en la tabla 17.

Tabla 16.-Características citogenéticas, de ciclo celular e índice de DNA de 15 pacientes pediátricos con LMA.

Características	LMA (n/total)						Valor ^d χ ²	Significancia χ ²
	M0	M2	M3	M4	M5	M7		
Citogenética								
t(9;22)	0/2	0/1	0/4	0/1	2/3	0/1	7.200	N.S.
t(8;21)	½	1/1	0/4	0/1	0/3	0/1	8.400	N.S.
t(15;17)	0/2	0/1	1/4	0/1	0/3	0/1	2.182	N.S.
Síndrome Down	0/2	0/1	0/4	0/1	1/4	0/1	2.438	N.S.
Otras alteraciones	2/2	0/1	1/4	0/1	1/3	1/1	6.171	N.S.
							10.400	N.S.
Cariotipo								
Diploide	0/2	0/1	3/4	1/1	2/4	1/1		
Hipodiploide	½	0/1	0/4	0/1	0/4	0/1		
Hiperdiploide	½	1/1	1/4	0/1	2/4	0/1		
Ciclo celular								
Fase S > 6.8	0/1	0/1	2/4	0/2	0/2	0/1	4.278	N.S.
Índice de DNA								
≥ 1.16	0/2	0/1	0/4	0/2	0/3	0/1	-	&

LMA, leucemia mieloide aguda.

ⁿ Cantidad de casos del total analizado

^d Chi- cuadrado

^{N.S.} No significativo.

& No se calculó ningún estadístico porque el marcador es una constante.

*P < 0.05 (cifra estadísticamente significativa).

Tabla 17.- Ciclo celular e índice de DNA en pacientes pediátricos con LA.

Ciclo celular	Valor		Media	Desviación típica
	Mínimo	Máximo		
Fase G0-G1	43.7	99.8	90.4664	10.54496
Fase S	0.20	43.10	7.4683	7.75580
Fase G2- M	0.00	53.20	1.9367	6.94760
Celularidad	4.59	98.40	78.5708	22.42886
Índice de DNA	1.00	1.56	1.0610	0.12593

Objetivo C. Frecuencias de las variables: demográficas, clínicas y de laboratorio de los pacientes pediátricos.

Los pacientes se distribuyeron en 42/68 (61.8%) masculinos y 26/68 (38.2%) femenino. La edad más frecuente (58.8%) fue entre 1 y 9 años. El lugar de procedencia en primer lugar estuvo la región de Cuitzeo (19.4%), seguida por la región Purépecha (16.4%) y en tercer lugar se encuentra la región oriente (14.9%). La proporción de pacientes de procedencia rural y urbana fue similar. Cabe señalar que la procedencia externa al estado representó 11.9%. La mayoría de los padres de familia tuvieron nivel de escolaridad básica y su ocupación laboral fue campesino (39.7%). No existe diferencia significativa entre las frecuencias de cada uno de los subtipos de leucemia aguda y sus variables demográficas, excepto en la escolaridad del padre. La contingencia de variables demográficas en 68 pacientes pediátricos con LA se presenta en la tabla 18.

Las manifestaciones clínicas de mayor frecuencia asociada a los pacientes pediátricos con leucemia aguda tanto de estirpe mieloide como estirpe linfoide fueron astenia, palidez, adinamia y fiebre (Tabla 19). Otras variables clínicas se presentaron en: 38.2% pérdida de peso, 36.8% hiporexia, 25.0% cefalea, 30.9% sangrado, 41.2% adenopatía, 32.4% petequias, 33.8% equimosis, 35.4% esplenomegalia y 47.1% hepatomegalia. En menor relación con dichos pacientes, se encontraron las variables clínicas: mialgia, artralgia, dolor óseo, disnea e infecciones (Tabla 19).

La heterogeneidad de la leucemia aguda, se refleja también en su estado físico del paciente, la tabla 20 muestra tanto los valores mínimos como máximos en cuanto a talla y peso de todos los pacientes pediátricos. Mientras que en peso y talla al nacer presentaron una media de 3.2 kg y 0.50m, respectivamente; al momento del diagnóstico de la leucemia los pacientes presentaron una media de 27.4 kg y 1.16m. La media de tiempo de evolución entre el inicio de los síntomas y el diagnóstico fue de 36 días, con un mínimo de 1 día y un máximo de 180 días. Se presentan la distribución del estado nutricional del paciente con leucemia, según la concentración sérica de albúmina (Tabla 21)

Tabla 18.- Frecuencia de variables demográficas en pacientes pediátricos con LA.

Variable	LLA (%)					LMA (%)						Valor ^d X ²	Significancia X ²
	Pro B	Pre B Temp.	Pre B	Pre T	T	M0	M2	M3	M4	M5	M7		
Género												6.442	N.S.
Masculino	67	69	53	33	100	100	100	50	50	80	100		
Femenino	33	31	47	67	0	0	0	50	50	20	0		
Edad												9.013	N.S.
1 a 9 años	67	56	63	33	100	50	100	25	0	80	100		
<1 año y >9 a	33	44	37	67	0	50	0	75	100	20	0		
Región de procedencia												80.283	N.S.
Lerma- Chapala	0	0	13	0	0	0	0	25	0	0	0		
Bajío	0	6	13	0	0	0	0	0	50	0	0		
Cuitzeo	50	19	10	67	0	50	0	0	50	40	0		
Oriente	0	13	17	0	0	0	100	25	0	20	0		
Tepalcatepec	0	13	3	0	0	0	0	25	0	0	0		
Purépecha	50	19	20	0	0	0	0	0	0	0	100		
Patzcuaro- Zirahuen	0	0	3	33	0	0	0	0	0	20	0		
Tierra caliente	0	0	7	0	0	50	0	0	0	0	0		
Sierra- Costa	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0		
Churumuco	0	6	3	0	0	0	0	0	0	20	0		
Otro estado	0	25	7	0	100	0	0	25	0	0	0		
Población												6.871	N.S.
Urbana	33	31	50	67	100	50	100	50	50	20	0		
Rural	67	69	50	33	0	50	0	50	50	80	100		
Escolaridad:												20.692	N.S.
Madre													
Analfabeta	0	13	10	0	0	0	0	0	0	0	0		
Básica	100	75	87	100	100	100	0	100	50	80	100		
Media y superior	0	13	3	0	0	0	100	0	50	20	0		
Padre												33.203	0.032*
Analfabeta	0	0	17	33	0	0	0	0	0	0	0		
Básica	67	93	87	33	100	100	0	100	100	100	100		
Media y superior	33	7	0	33	0	0	100	0	0	0	0		
Ocupación- padre												12.045	N.S.
Campechino	33	29	45	0	0	50	0	100	0	50	100		

LLA, leucemia linfoide aguda. LMA, leucemia mieloide aguda.

^d Chi- cuadrado

^{N.S.} No significativo.

& No se calculó ningún estadístico porque el marcador es una constante.

*P < 0.05 (cifra estadísticamente significativa).

Tabla 19.- Frecuencia de variables clínicas en pacientes pediátricos con LA.

Manifestación clínica	LLA					LMA						Valor ^d χ ²	Significancia χ ²
	Pro B	Pre B Temp.	Pre B	Pre T	T	M0	M2	M3	M4	M5	M7		
Astenia	100	81	93	100	100	100	100	100	100	80	0	12.727	N.S.
Adinamia	100	69	80	100	100	100	0	75	100	40	100	11.381	N.S.
Palidez	100	93	93	100	100	100	100	75	50	80	100	7.083	N.S.
Pérdida de peso	33	44	37	100	0	50	0	25	50	20	0	8.206	N.S.
Hiporexia	67	50	33	33	100	0	0	25	0	40	0	7.996	N.S.
Cefalea	0	19	27	100	0	50	0	25	0	20	0	12.778	N.S.
Mialgias	33	19	17	33	0	0	0	0	0	40	0	5.125	N.S.
Artralgias	33	13	17	0	0	0	0	0	0	20	0	3.705	N.S.
Dolor óseo	33	25	20	33	0	0	0	0	0	20	0	3.760	N.S.
Disnea	33	19	7	0	0	0	0	25	0	20	0	5.183	N.S.
Infecciones	0	19	10	0	100	0	100	25	0	0	0	16.731	N.S.
Sangrado	0	25	40	33	0	50	0	50	0	20	0	6.315	N.S.
Fiebre	67	69	73	67	100	100	100	100	50	80	100	4.333	N.S.
Adenopatías	67	31	47	67	0	50	0	50	0	40	0	6.329	N.S.
Petequias	0	40	37	0	0	50	0	100	0	0	0	16.749	N.S.
Equimosis	33	44	33	0	0	50	0	100	0	0	0	15.412	N.S.
Tiempo de Evolución <1 mes	67	63	73	67	100	50	0	100	100	60	100	7.069	N.S.

LLA, leucemia linfocítica aguda. LMA, leucemia mieloide aguda.

^d Chi- cuadrado

^{N.S.} No significativo.

& No se calculó ningún estadístico porque el marcador es una constante.

*P < 0.05 (cifra estadísticamente significativa).

Tabla 20.- Valores descriptivos de características generales en pacientes pediátricos con LA.

Variable		Valor			
		Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Al nacer	Peso	2.30	4.90	3.24	0.63
	Talla	0.40	0.55	49.62	3.19
Al diagnóstico	Talla	0.57	1.80	1.165	0.33
	Peso	7.50	72.00	27.40	15.31
	IMC	9.26	53.56	20.37	8.63
Tiempo de evolución	Días	1	180	36.72	38.56

Tabla 21- Estado nutricional de pacientes pediátricos.

Estado nutricional (concentración albúmina)	Frecuencia
Sobre lo normal (>5.0 g/dL)	1 (1.9)
Normal (3.6-5.0 g/dL),	22 (40.7)
Disminuida leve (2.8-3.5 g/dL)	25 (46.3)
Disminuida moderada (2.1-2.7 g/dL)	6 (11.1)
Disminuida grave (<2.1 g/dL)	0 (0)

Los valores bioquímicos informados por el laboratorio se muestran en la tabla 21. Observamos que el nivel de hemoglobina fue 7.5 g/dL. Los valores de leucocitos van desde 25×10^9 /L hasta $256,530 \times 10^9$ /L. La cantidad de plaquetas más baja fue de 0×10^9 /L y el valor más grande fue $467,000 \times 10^9$ /L. En cuanto a la química sanguínea hubo valores de glucosa de hasta de 293 mg/dl, deshidrogenasa láctica (DHL) hasta de 2730 UI/L. En pruebas de coagulación, muestra una media en fibrinógeno de 273 mg/dL (Tabla 22).

Entre la morfología de sangre periférica de los pacientes pediátricos con leucemia mieloide aguda (LMA) y la leucemia linfocítica aguda (LLA) no hay diferencia, por mencionar, la media de blastos fue de 49.42% y 68.12%, respectivamente (Tabla 23). En médula ósea, la morfología, de la LMA presentó en la mayoría de los casos todos los estadios de maduración mieloide: blastos (25%), promielocitos (32.40%), mieloblastos (38.33%), blastos mieloides (76.14%) y blastos linfocíticos (69.75%). A diferencia de los casos con LLA, su morfología es casi en su totalidad de blastos linfocíticos (94.34%) en médula ósea.

Tabla 22.- Características bioquímicas pacientes pediátricos con LA.

Variable	Valor			
	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Biometría hemática				
Hemoglobina	2.62	13.90	7.55	2.60
Hematocrito	7.18	87.15	23.17	11.54
VCM	70.10	113.40	85.76	8.03
HCM	25.00	37.50	29.56	2.63
Leucocitos	25	256530	32127.53	53773.93
Plaquetas	0	467000	78010	104327
Química sanguínea				
Glucosa	59.00	293.00	111.98	34.28
Urea	0.40	69.90	24.14	12.95
Creatinina	0.16	9.00	0.72	1.34
Ácido Úrico	1.90	12.30	5.26	2.38
DHL	90	2730	704.75	657.01
Pruebas de coagulación				
Fibrinógeno	73.0	535.6	273.98	126.58
TP	9.9	21.0	13.62	2.24
TPT	19.8	57.3	32.92	8.42
Pruebas de función hepática				
Albumina	2.20	5.40	3.50	0.62
Globulina	1.60	6.60	2.84	0.80
A/G	0.45	2.53	1.31	0.39
Proteína total	3.80	8.40	6.32	0.89
Bilirrubina total	0.18	4.00	0.69	0.53
Bilirrubina directa	0.02	2.50	0.19	0.31
Bilirrubina indirecta	0.00	1.50	0.45	0.31
Electrolitos				
Potasio	2.90	5.20	3.97	0.50
Calcio	6.10	10.50	8.96	0.90
Fosforo	2.0	8.50	4.87	1.16
Sodio	121.00	150.00	137.70	5.38
Magnesio	1.70	3.10	2.34	0.32
Cloro	79.0	119.00	105.44	7.08

Tabla 23.- Valores descriptivos de morfología en pacientes pediátricos con LA.

Variable	LMA				LLA			
	S.P.		M.O.		S.P.		M.O.	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar
Neutrófilos	12.00	9.67	-	-	11.60	18.75	6.42	9.58
Linfocitos	37.14	28.80	8.00	4.58	40.15	31.77	6.62	7.70
Basófilos	2.00	1.41	-	-	1.00	0.00	-	-
Eosinófilo	1.50	0.70	4.00	.	1.640	0.92	2.0	.
Monocitos	10.43	12.75	1.50	0.70	5.17	6.54	5.00	2.91
Bandas	7.00	1.41	18.0	.	2.11	1.16	2.33	1.52
Monoblastos	-	-	13.50	16.26	-	-	-	-
Metamielocitos	1.75	0.50	5.00	.	1.33	0.57	2.00	0.00
Normoblasto	-	-	-	-	-	-	7.75	11.50
Mielocitos	2.00	0.81	-	-	1.00	0.00	7.00	-
Eritroblastos	5.00	.	-	-	1.33	0.57	-	-
Promielocitos	12.00	.	32.40	29.41	2.67	2.08	3.00	.
Mieloblastos	-	-	38.33	53.46	3.0	.	4.13	2.58
Blastos	49.42	28.19	25.00	28.28	68.12	27.51	13.00	15.55
Blastos mieloides	-	-	76.14	31.09	-	-	3.75	1.50
Blastos linfoides	5.00	.	69.75	40.58	14.20	17.05	94.34	10.43

LLA, leucemia linfocítica aguda. LMA, leucemia mieloide aguda. S.P. Sangre periférica. M.O. Médula ósea.

^{N.S.} No significativo.

& No se calculó ningún estadístico porque el marcador es una constante.

* P < 0.05 (Cifra estadísticamente significativa).

Objetivo D. Evaluación los factores de riesgo a recaída (cuenta de leucocitos, infiltración al SNC, infiltración extramedular, EMR, respuesta esteroidea) en pacientes pediátricos.

En los casos de leucemia aguda (LA) de los pacientes pediátricos 11/61(18%) presentaron cuenta leucocitaria mayor a 50×10^9 /L. De igual manera se evaluaron diferentes factores pronóstico y estos pacientes presentaron 9/65 (13.8%) infiltración en el sistema nervioso central (SNC), 2/41 (4.9%) infiltración testicular, 32/68 (47.1%) hepatomegalia, 24/68 (35.3%) esplenomegalia, 4/58 (6.8%) enfermedad mínima residual (EMR) >0.01 % blastos, 14/53 (26.4%) mala respuesta esteroidea y 17/68 (25%) co-expresión de un marcador no característico de linaje (Tabla 24).

Tabla 24.- Factores de riesgo a recaída en pacientes pediátricos con LA.

	LLA (n/total)					LMA (n/total)						Valor ^d X ²	Significancia X ²
	Pro B	Pre B Temp.	Pre B	Pre T	T	M0	M2	M3	M4	M5	M7		
Leucocitos													
>50 x 10 ⁹ /L	1/2	4/15	3/28	0/1	1/1	0/2	0/1	0/4	0/2	2/4	0/1	12.885	N.S.
Infiltración al SNC													
LCR	0/3	3/16	5/29	1/3	0/1	0/2	0/1	0/3	0/2	0/4	0/1	4.290	N.S.
Infiltración extramedular													
Hepatomegalia	1/3	7/16	14/30	2/3	1/1	½	0/1	2/4	1/2	3/5	0/1	4.029	N.S.
Esplenomegalia	2/3	5/16	12/30	2/3	0/1	0/2	0/1	1/4	1/2	1/5	0/1	6.606	N.S.
Testicular	1/2	1/11	0/16	0/1	0/1	0/2	0/1	0/2	0/1	0/4	-	10.632	N.S.
EMR													
>0.01 % blastos	0/3	0/12	4/25	0/2	0/1	0/2	0/1	0/4	0/2	0/5	0/1	5.192	N.S.
Respuesta esteroidea													
>1 000	1/3	6/16	6/28	1/3	0/1	-	-	-	-	0/2	-	2.594	N.S.
Co-expresión marcador													
Presencia CD no característico	1/3	3/16	4/30	0/3	0/1	2/2	1/1	0/4	1/2	5/5	0/1	30.289	0.001*

LLA, leucemia linfocítica aguda. LMA, leucemia mieloide aguda.

ⁿ Cantidad de casos del total analizado

^d Chi- cuadrado

N.S. No significativo.

& No se calculó ningún estadístico porque el marcador es una constante.

*P < 0.05 (cifra estadísticamente significativa).

Objetivo E. Asociación la evolución de paciente con los factores de riesgo a recaída.

Las tablas 25, 26 y 27 señalan la evolución de pacientes pediátricos con leucemia aguda (LA) *de novo*. El estado (vivo o muerto) del paciente se evaluó durante los primeros 6 meses y hasta la fecha de Octubre 2013. En general, 47/55 (85.4%) pacientes con LA sobrevivieron al primer tratamiento de 6 meses y 41/55 (74.5%) son los que lograron llegar con vida al año 2013. Los pacientes con LLA mostraron una supervivencia a 6 meses en 39/42 (92.8%), eventos adversos en 11/42 (26.1%) y sólo 35/42 (83.3%) están vivos a Octubre del 2013. En la LMA 8/13 (61.5%)

sobrevivieron durante los primeros 6 meses del tratamiento, 4/13 (30.7%) tuvieron algún evento adverso durante los primeros 6 meses de tratamiento y finalmente 6/13 (46.1%) se encuentran vivos a la fecha de Octubre, 2013.

Se evaluó la evolución de los pacientes pediátricos *de novo* con algunos factores de riesgo a recaída. A los 6 meses se marcó una diferencia significativa para la translocación (9;22), la edad de los pacientes y la estirpe de la LA (Tabla 28). Durante este mismo tiempo los eventos adversos evaluados mostraron diferencia significativa para los factores de índice de DNA, co-expresión de marcadores y tipo de estirpe celular de la leucemia (Tabla 29). A Octubre 2013, los factores que señalan una diferencia significativa entre sus resultados son la t(8;21), la infiltración al SNC y la estirpe celular (Tabla 30).

Tabla 25.- Evolución al tratamiento en pacientes pediátricos con LLA.

Variable	LLA(n/total)					Valor ^d X ²	Significancia Asintótica X ²
	Pro B	Pre B Temp.	Pre B	Pre T	T		
Supervivencia ^a	2/2	9/11	25/26	2/2	1/1	2.832	N.S.
Eventos adversos ^b	0/2	4/11	5/26	1/2	1/1	5.843	N.S.
Estado del paciente ^c	2/2	9/11	21/26	2/2	1/1	1.141	N.S.

LLA, leucemia linfocítica aguda.

^a Casos de pacientes vivos a 6 meses después del inicio del tratamiento.

^b Evento adverso o recaída, durante los 6 primeros meses de tratamiento.

^c Supervivencia paciente hasta Octubre 2013.

^d Chi- cuadrado

ⁿ Cantidad de casos del total analizado

N.S. No significativo.

* P < 0.05 (Cifra estadísticamente significativa).

Tabla 26.- Evolución al tratamiento en pacientes pediátricos con LMA.

Características	LMA (n/total)						Valor ^d X ²	Significancia X ²
	M0	M2	M3	M4	M5	M7		
Supervivencia ^a	1/2	1/1	3/4	1/2	1/3	1/1	6.184	N.S.
Eventos adversos ^b	1/2	0/1	1/4	1/2	1/3	0/1	9.046	N.S.
Estado del paciente ^c	0/2	0/1	3/4	1/2	1/3	1/1	17.694	0.060

LMA, leucemia mieloide aguda.

^a Casos de pacientes vivos a 6 meses después del inicio del tratamiento.

^b Evento adverso o recaída, durante los 6 primeros meses de tratamiento.

^c Supervivencia paciente hasta Octubre 2013.

^d Chi- cuadrado

ⁿ Cantidad de casos del total analizado

N.S. No significativo.

* P < 0.05 (Cifra estadísticamente significativa).

Tabla 27.- Evolución al tratamiento en 55 pacientes pediátricos con LA.

	LLA (n/total)					LMA (n/total)						Valor ^d X ²	Significancia X ²
	Pro B	Pre B Temp.	Pre B	Pre T	T	M0	M2	M3	M4	M5	M7		
Supervivencia ^a	2/2	9/11	25/26	2/2	1/1	½	1/1	3/4	1/2	1/3	1/1	30.665	0.060
Eventos adversos ^b	0/2	4/11	5/26	1/2	1/1	½	0/1	1/4	1/2	1/3	0/1	31.990	0.043*
Estado del paciente ^c	2/2	9/11	21/26	2/2	1/1	0/2	0/1	3/4	1/2	1/3	1/1	67.698	0.000*

LLA, leucemia linfocítica aguda. LMA, leucemia mieloide aguda.

^a Casos de pacientes vivos a 6 meses después del inicio del tratamiento.

^b Evento adverso o recaída, durante los 6 primeros meses de tratamiento.

^c Supervivencia paciente hasta Octubre 2013.

^d Chi- cuadrado

ⁿ Cantidad de casos del total analizado

N.S. No significativo.

* P < 0.05 (Cifra estadísticamente significativa).

Se estudió la supervivencia del paciente de acuerdo a los factores pronóstico. El análisis de supervivencia fue con el método de Kaplan- Meier, donde se construyeron gráficos de supervivencia y fueron comparados con el test de Log-Rank para conocer si es significativo o no.

A continuación se muestran los niveles de supervivencia estudiados en pacientes pediátricos de *novo*:

La supervivencia entre los tipos de cariotipo, muestra ser mejor para el cariotipo diploide (59.2%) que para el cariotipo hiperdiploide (50%) (Figura 9). Según la cuenta de leucocitos, la supervivencia es más favorable para la cuenta mayor de $50 \times 10^9 /L$ (100%) (Figura 10). De acuerdo con la edad del paciente pediátrico, viven más aquellos entre 1 y 9 años de edad (74.3%) (Figura 11). Al comparar la supervivencia entre los géneros: el género femenino (44.9%) es desfavorable a comparación del género masculino (74.6%) (Figura 12). En el ciclo celular, la fase $S < 6.8$ obtuvo supervivencia de 41.0% y la fase $S > 6.8$ expresó supervivencia de 82.4% (Figura 13). En cuanto al índice de DNA: el de buen pronóstico (>1.16) mostró supervivencia de 50% y el índice de DNA de pronóstico adverso (<1.16) expresó 56.2% de supervivencia (Figura 14). La presencia de infiltración extramedular tuvo mayor supervivencia con esplenomegalia (75.3%) que con hepatomegalia (54.7%) (Figura 15 y 16). Los casos que presentaron enfermedad mínima residual (EMR) $< 0.01\%$ mostraron supervivencia de 68.8%, el cual fue mayor que los casos con EMR de pronóstico adverso (50%) (Figura 17). La infiltración al sistema nervioso central (SNC), señala tener una supervivencia mayor (66.7%) que aquellos pacientes sin infiltración al SNC (56.3%) (Figura 18). La respuesta esteroidea $<1,000$ blastos tuvo 65.8% de supervivencia y la respuesta esteroidea $>1,000$ blastos tiene 72.7% de supervivencia (Figura 19). La co-expresión de marcadores mostró supervivencia del 46.7% y la ausencia de co-expresión tiene 63.7% de supervivencia (Figura 20). El tipo de estirpe celular señala supervivencia de 65.7% para la estirpe linfoide y 53.3% para la estirpe mieloide (Figura 21). Entre los subtipos de leucemia linfoide aguda (LLA), los subtipos LLA-T y LLA- pre B mostraron supervivencias del 100%; los subtipos LLA pro B (75.8%) y LLA pre B temprana (55.9%) tuvieron supervivencias menores (Figura 22).

Según el test de Log-Rank, ninguno de los gráficos de Kaplan- Meier, fue significativo. Es decir ninguno de los factores pronóstico muestra tener diferencias significativas entre los grupos que se comparan.

Tabla 28.- Factores de riesgo a recaída y supervivencia al tratamiento de 55 pacientes pediátricos a los seis meses de tratamiento.

Variable	Supervivencia ^a (n/total)	Valor ^d X ²	Significancia X ²
Citogenética			
t(9;22)	0/1	21.488	0.000*
t (15;17)	1/1	0.741	N.S.
t(8;21)	2/2	0.408	N.S.
Síndrome Down	1/1	0.183	N.S.
Otras alteraciones	13/16	2.374	N.S.
Cariotipo			
Diploide	25/29		
Hipodiploide	6/7		
Hiperdiploide	7/9		
Ciclo celular			
Fase S > 6.8	17/18	1.543	N.S.
Índice de DNA			
≥ 1.16	5/8	4.475	N.S.
Variables demográficas			
Género		0.554	N.S.
Masculino	30/34		
Femenino	17/21		
Edad		11.236	0.004*
1 a 9 años	33/34		
<1 año y >9 años	14/21		
Ocupación del padre			
Campesino	18/22	3.026	N.S.
Leucocitos			
>50 x 10 ⁹ /L	8/9	0.477	N.S.
Infiltración al SNC			
LCR	3/3	0.495	N.S.
Infiltración extramedular			
Hepatomegalia	21/25	2.767	N.S.
Esplenomegalia	15/18	0.286	N.S.
EMR			
> 0.01 % blastos	5/5	0.861	N.S.
Respuesta esteroidea			
>1 000	9/11	2.495	N.S.
Estirpe leucemia			
Mieloide	8/13		
Linfoide	39/42		
Co-expresión marcador			
Presencia CD no característico	9/13	3.605	N.S.

^a Casos de pacientes vivos a 6 meses después del inicio del tratamiento.

^d Chi- cuadrado

ⁿ Cantidad de casos vivos del total analizado

N.S. No significativo.

* P < 0.05 (Cifra estadísticamente significativa).

Tabla 29.- Factores de riesgo a recaída y eventos adversos de 55 pacientes pediátricos.

Variable	Eventos adversos ^b	Valor ^d X ²	Significancia X ²
Citogenética			
t(9;22)	0/1	10.233	0.006*
t(8;21)	0/2	20.451	0.000*
t(15;17)	0/1	1.667	N.S.
Síndrome Down	0/1	0.719	N.S.
Otras alteraciones	5/16	0.453	N.S.
		11.785	0.019*
Cariotipo			
Diploide	7/29		
Hipodiploide	4/7		
Hiperdiploide	3/9		
Ciclo celular			
Fase S > 6.8	3/18	1.991	N.S.
Índice de DNA			
≥ 1.16	8/42	7.203	0.027*
Variables demográficas			
Género		3.595	N.S.
Masculino	8/34		
Femenino	7/21		
Edad		1.174	N.S.
1 a 9 años	8/34		
<1 año y >9 años	7/21		
Ocupación del padre			
Campeño	6/22	1.059	N.S.
Leucocitos			
>50 x 10 ⁹ /L	2/9	1.483	N.S.
Infiltración al SNC			
LCR	0/3	3.645	N.S.
Infiltración extramedular			
Hepatomegalia	5/25	1.453	N.S.
Esplenomegalia	3/18	5.167	N.S.
EMR			
> 0.01 % blastos	3/5	3.219	N.S.
Respuesta esteroidea			
>1 000	4/11	3.588	N.S.
Estirpe leucemia		10.572	0.005*
Mieloide	4/13		
Linfoide	11/42		
Co-expresión marcador			
Presencia CD no característico	3/13	9.728	0.008*

^b Evento adverso o recaída, durante los 6 primeros meses de tratamiento.

^d Chi- cuadrado

ⁿ Cantidad de casos del total analizado

^{N.S.} No significativo.

* P < 0.05 (Cifra estadísticamente significativa).

Tabla 30.- Factores de riesgo a recaída y estado de pacientes pediátricos.

Variable	Estado de paciente ^c	Valor ^d X ²	Significancia X ²
Citogenética			
t(9;22)	0/1	3.070	N.S.
t(8;21)	0/2	22.501	0.000*
t(15;17)	1/1	1.667	N.S.
Síndrome Down	1/1	0.361	N.S.
Otras alteraciones	10/16	2.504	N.S.
Cariotipo			
Diploide	22/29		
Hipodiploide	5/7		
Hiperdiploide	5/9		
Ciclo celular			
Fase S > 6.8	15/18	1.235	N.S.
Índice de DNA			
≥ 1.16	5/8	1.084	N.S.
Variables demográficas			
Género		1.012	N.S.
Masculino	26/34		
Femenino	15/21		
Edad		4.350	N.S.
1 a 9 años	28/34		
<1 año y >9 años	13/21		
Ocupación del padre			
Campesino	15/22	1.674	N.S.
Leucocitos			
>50 x 10 ⁹ /L	8/9	1.308	N.S.
Infiltración al SNC			
LCR	2/3	0.236	0.023*
Infiltración extramedular			
Hepatomegalia	18/25	1.242	N.S.
Esplenomegalia	15/18	1.314	N.S.
EMR			
>0.01 % blastos	4/5	0.109	N.S.
Respuesta esteroidea			
>1 000	8/11	1.004	N.S.
Estirpe leucemia			
Mieloide	35/42	8.723	0.013*
Linfoide	6/13		
Co-expresión marcador			
Presencia CD no característico	7/13	5.792	0.055

^c Supervivencia paciente hasta Octubre 2013.

^d Chi- cuadrado

ⁿ Cantidad de casos del total analizado

N.S. No significativo.

* P < 0.05 (Cifra estadísticamente significativa).

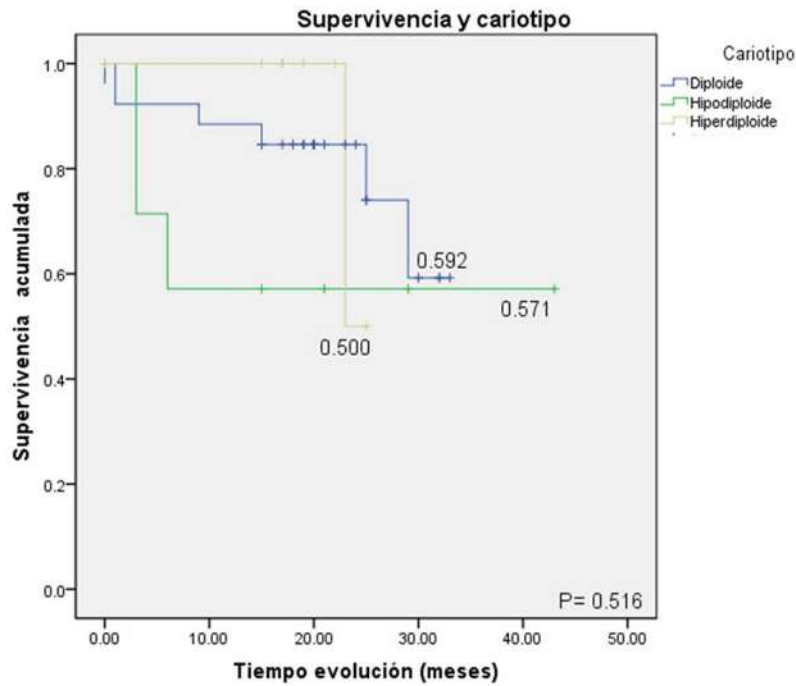


Figura 9.- Supervivencia de pacientes pediátricos de *novo* con cariotipo: diploide, hipodiploide e hiperdiploide.

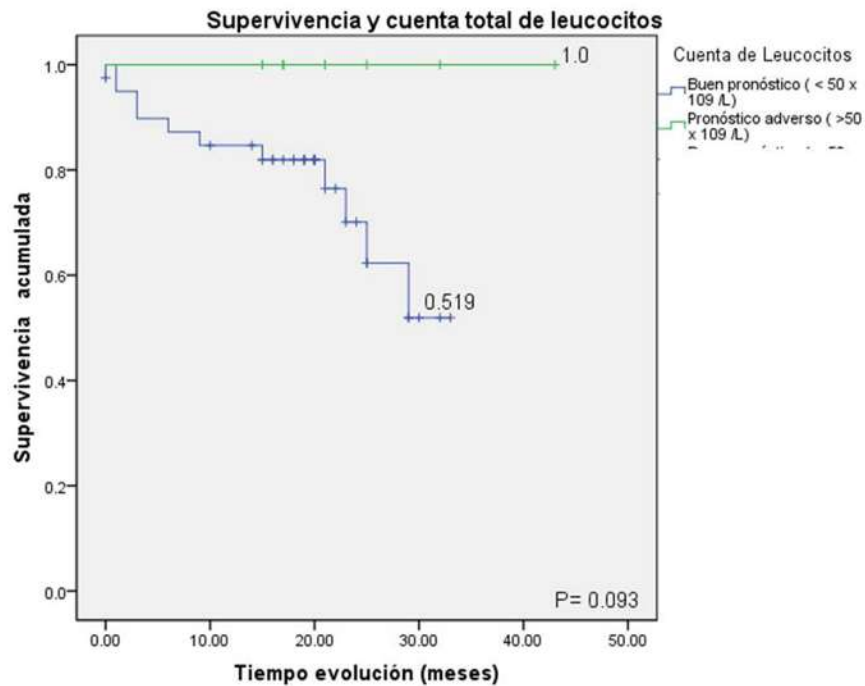


Figura 10.- Supervivencia de pacientes pediátricos de *novo* en relación a cuenta leucocitaria.

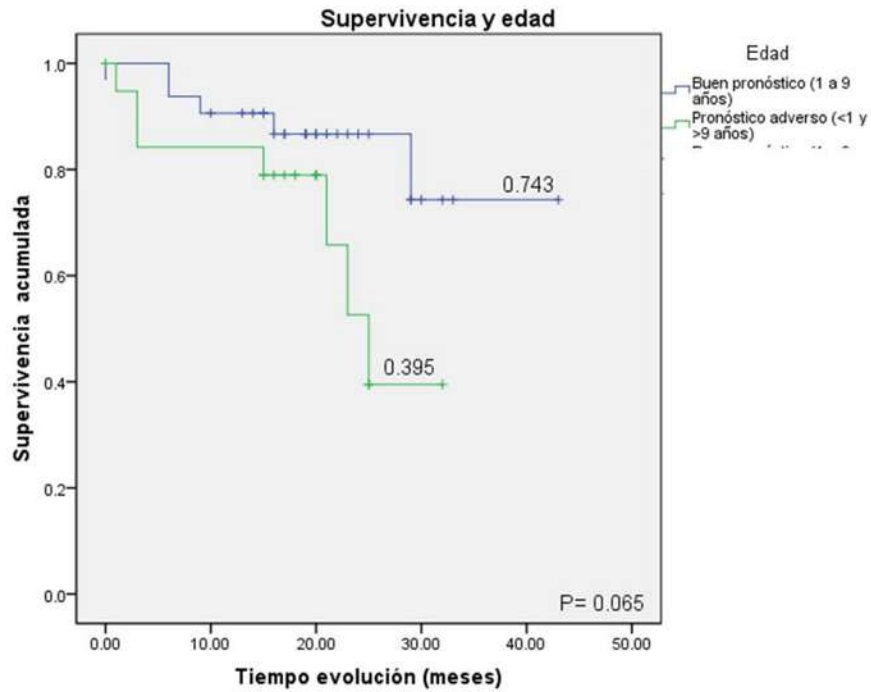


Figura 11.- Supervivencia de pacientes pediátricos de *novo* en relación a la edad.

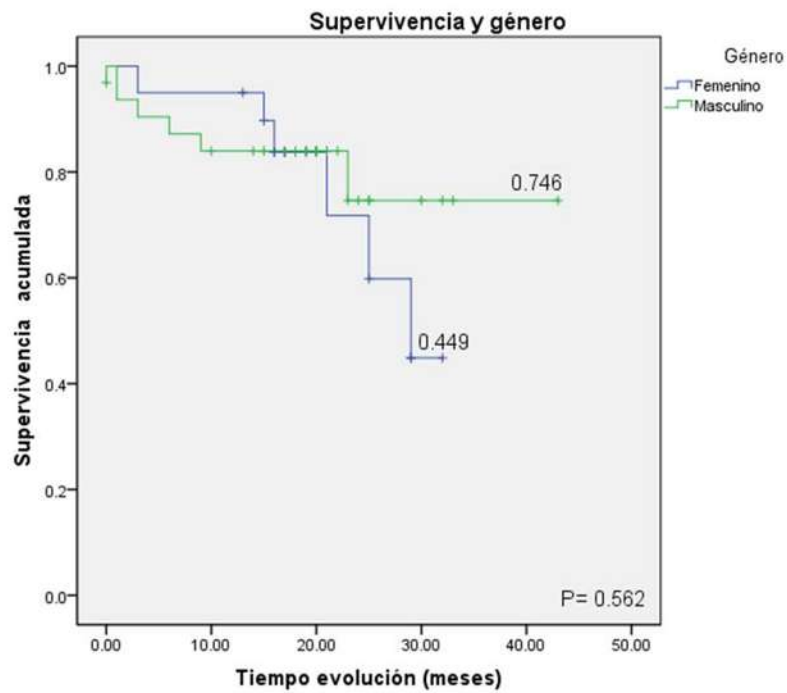


Figura 12.- Supervivencia de pacientes pediátricos de *novo* en relación a el género.

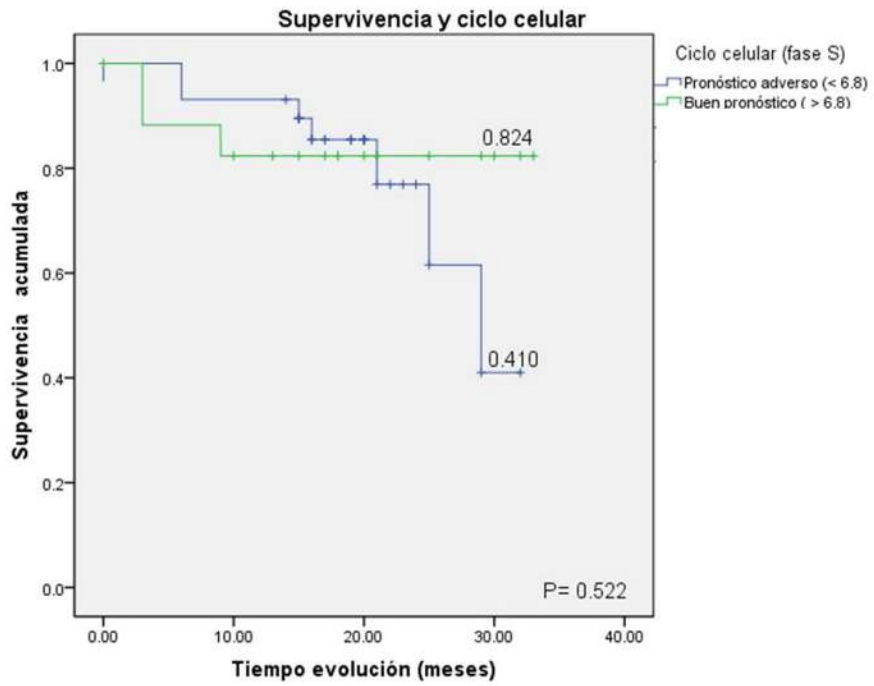


Figura 13.- Supervivencia de pacientes pediátricos de *novo* en relación a el ciclo celular.

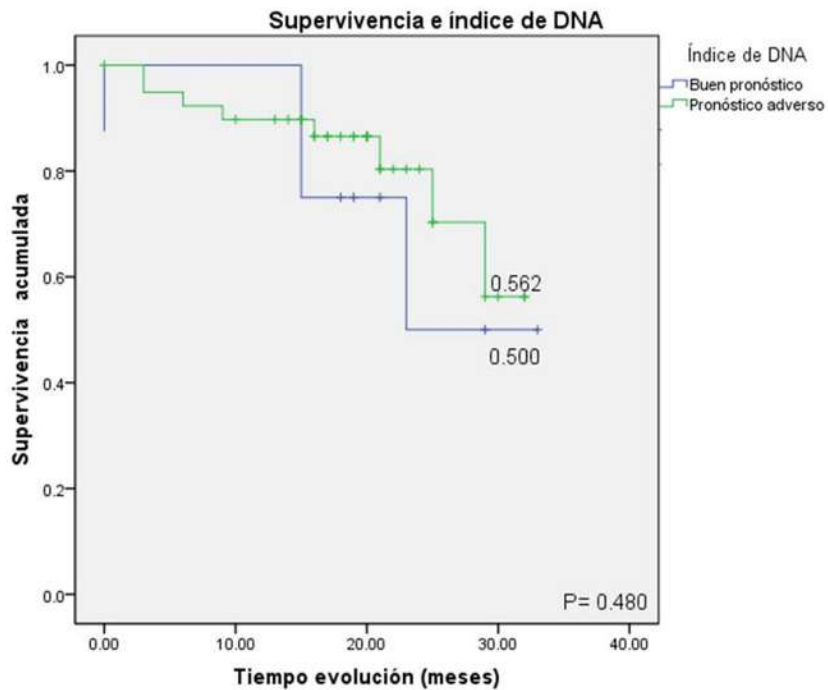


Figura 14.- Supervivencia de pacientes pediátricos de *novo* en relación a el índice de DNA.

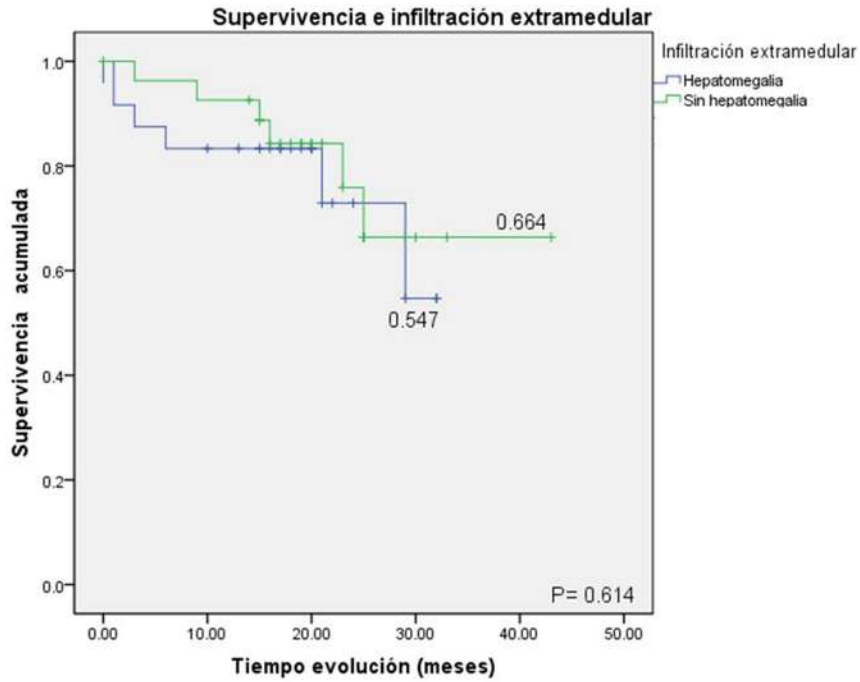


Figura 15.- Supervivencia de pacientes pediátricos de *novo* en relación a la infiltración extramedular (hepatomegalia).

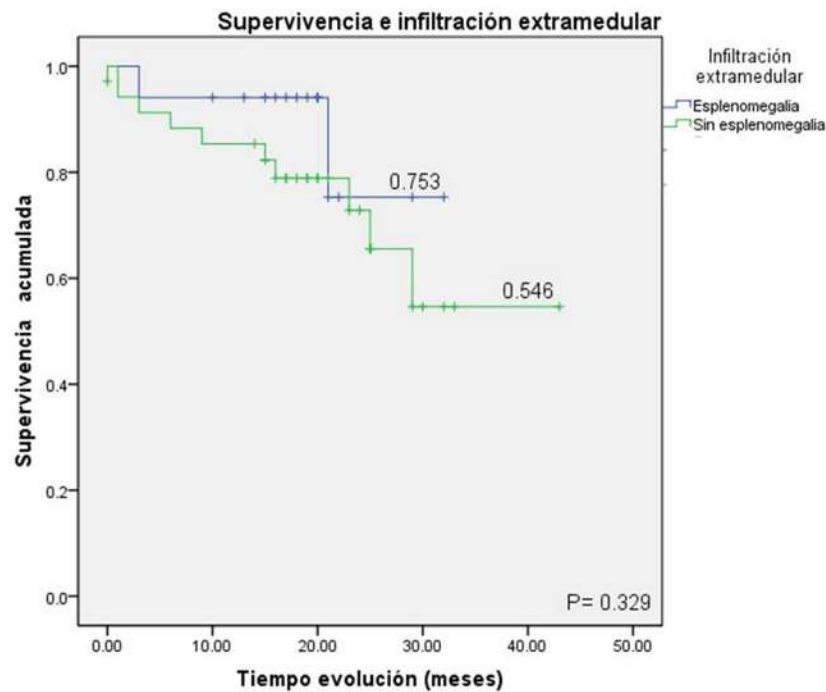


Figura 16.- Supervivencia de pacientes pediátricos de *novo* en relación a la infiltración extramedular (esplenomegalia).

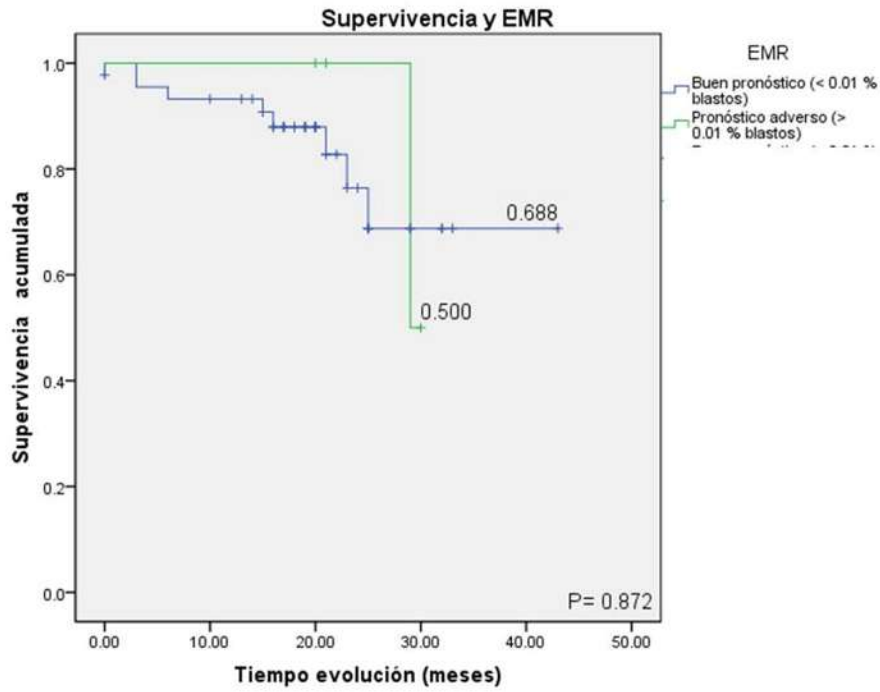


Figura 17.- Supervivencia de pacientes pediátricos de *novo* en relación a EMR.

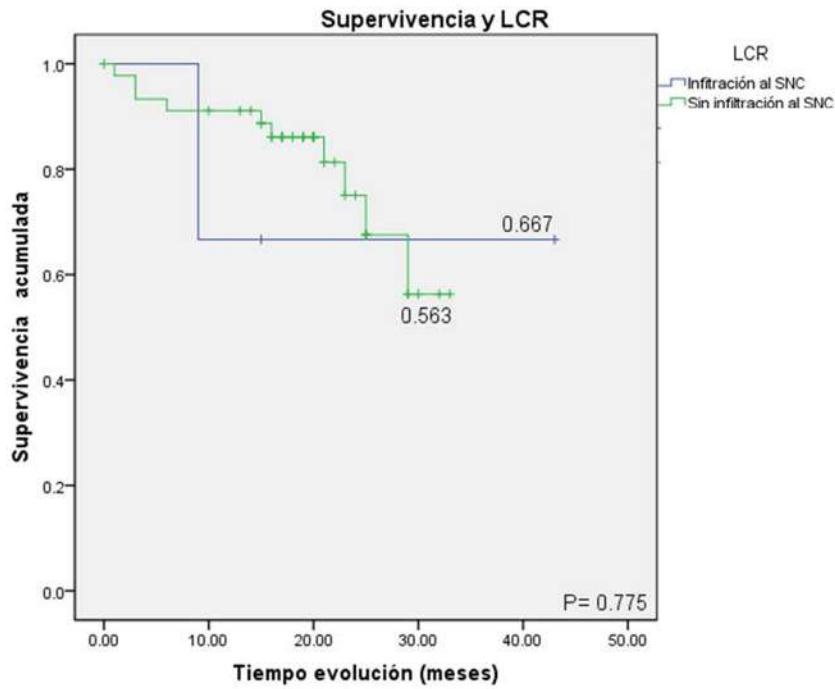


Figura 18.- Supervivencia de pacientes pediátricos de *novo* en relación a infiltración al LCR.

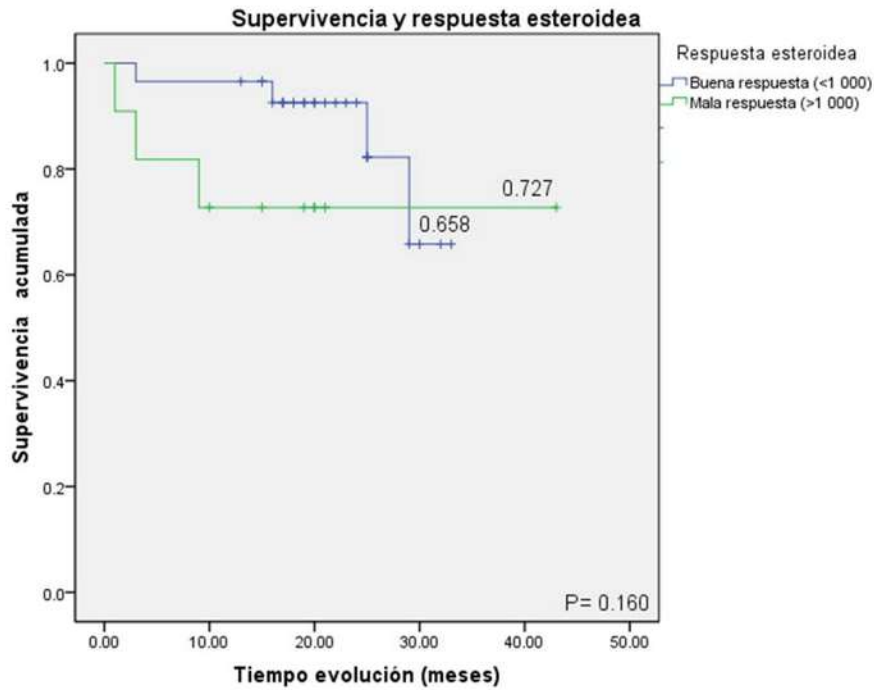


Figura 19.- Supervivencia de pacientes pediátricos de *novo* en relación a respuesta esteroidea.

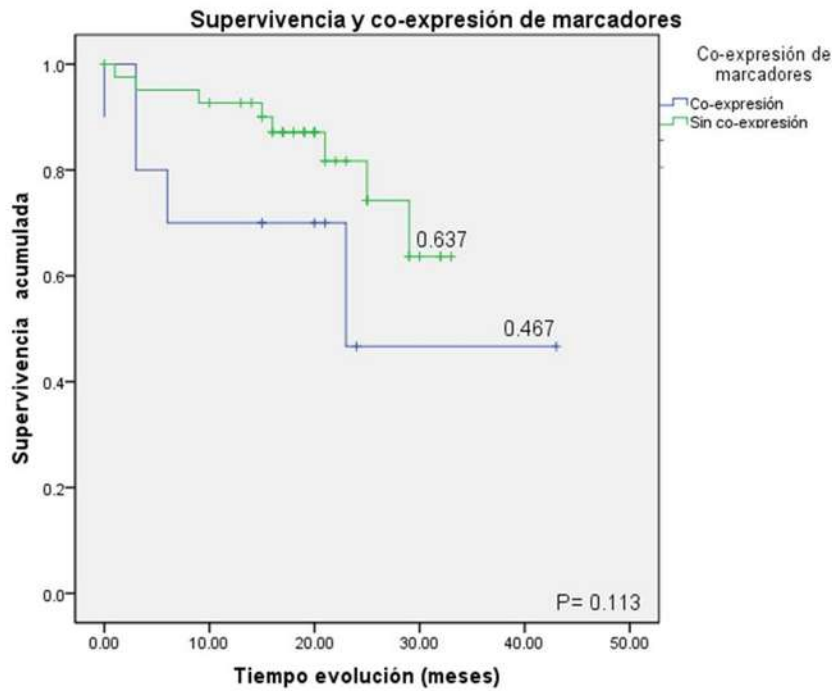


Figura 20.- Supervivencia de pacientes pediátricos de *novo* en relación a co-expresión de marcadores.

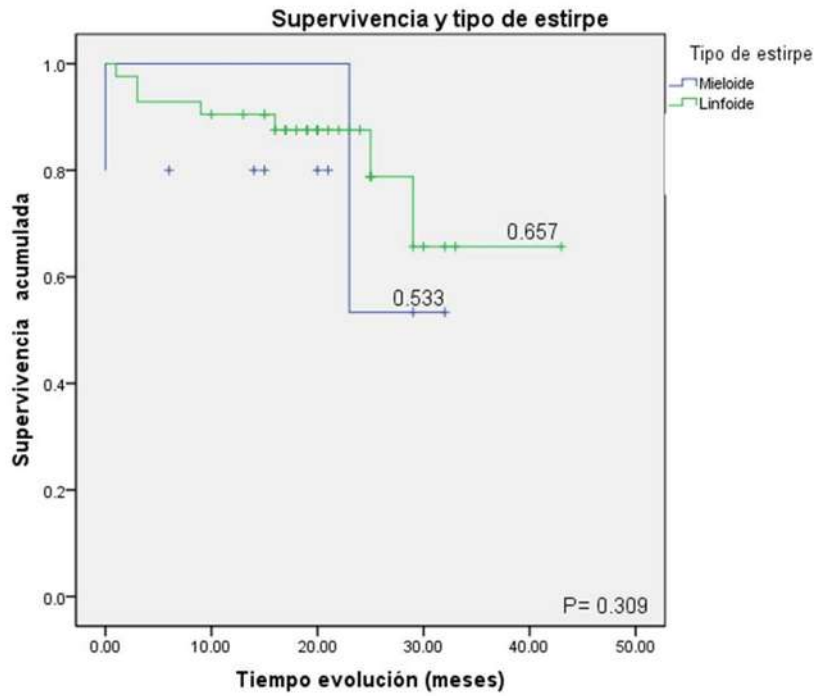


Figura 21.- Supervivencia de pacientes pediátricos de *novo* en relación a estirpe celular.

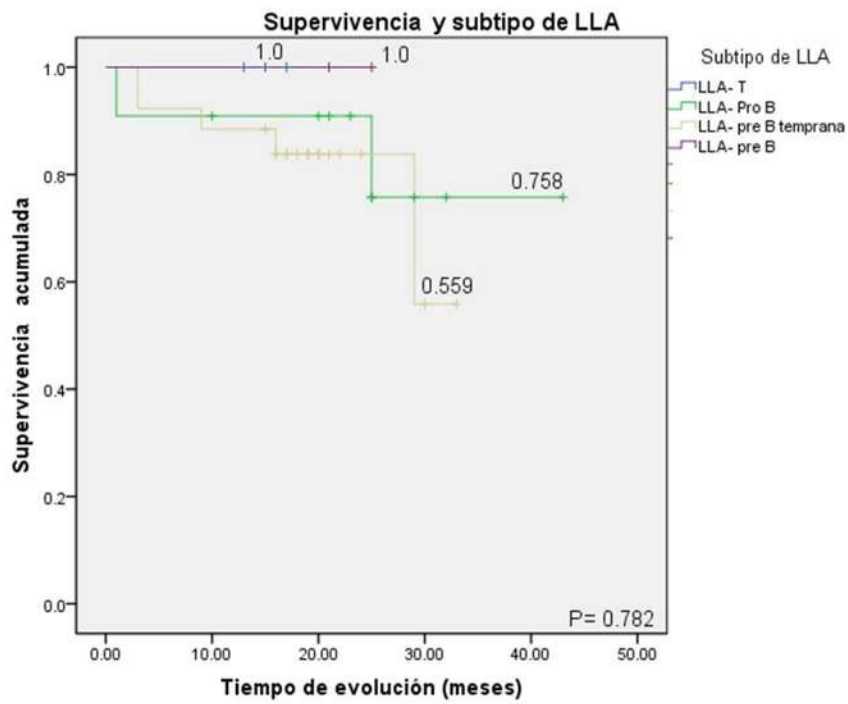


Figura 22.- Supervivencia de pacientes pediátricos de *novo* en relación a el subtipo de LLA.

4. DISCUSIÓN

Objetivo A. Caracterización fenotípica de la leucemia aguda (LA) mediante el análisis del inmunofenotipo.

En nuestro estudio se evaluó el inmunofenotipo de 92 pacientes, tanto de la población pediátrica como adultos. La población de adultos (25 pacientes, 26.1%) fue muy pequeña en comparación con la población pediátrica (67 pacientes, 72.8%), esto puede deberse al periodo de recolección menor, es decir, 1 año en comparación con 2 años en pacientes pediátricos.

A) Adultos

En adultos, las frecuencias de leucemia linfoblástica aguda (LLA) (29.1%) y leucemia mieloblástica aguda (LMA) (70.8%) confrontadas con lo reportado por Novoa y col. 2013, deja en claro que existe una gran diferencia entre ambos estudios; Novoa señala que los adultos tienen 28.8% de LMA y 66.7% de LLA. En nuestro estudio, este contraste en la frecuencia de los subtipos de leucemia, puede asociarse con la cantidad de pacientes, es decir Novoa estudió 364 pacientes adultos y nosotros sólo 24 pacientes adultos.

La expresión de los antígenos CD19, CD22, CD10 y CD34 en LLA es similar a lo reportado por Novoa y col., los marcadores CD79a, CD20 y Tdt en nuestro estudio se expresó menos. El tipo de aberración presente fue la infidelidad de linaje, en el cual el marcador CD13 se expresó en 60% en nuestro estudio y en 20% en el estudio de Novoa y colaboradores.

Asimismo, Novoa y col. evidencian que los casos de LMA tuvieron una expresión similar en los antígenos CD13, CD33 y MPO. Además, el marcador CD117 se expresó menos, contrario al marcador CD34. Las aberraciones fenotípicas fueron mayores que la infidelidad fenotípica de los pacientes adultos que estudió Novoa. El subtipo M3 se expresó el doble de lo reportado por

Novoa y col 2013, los subtipos M4 y M5 se expresaron igual. Quizás el número de pacientes de subtipo M3 se deba al tipo de población, pues aunque Novoa es un estudio latino (Argentina) no es un estudio de población mexicana.

El único caso de LLA de estirpe T, presento el inmunofenotipo característico, según el estudio de Novoa y col. La infidelidad de linaje estudiada fue muy distinta, pues aquí hubo marcadores de estirpe B y no mieloide, lo cual sugiere que se pudo tratar de un caso de leucemia bilineal, pero esto no se pudo confirmar.

B) Pediátricos

Los pacientes pediátricos con LA (77.9% LLA y 22.1% LMA) tuvieron una distribución muy parecida a la reportada en México por algunos autores (Mejía-Aranguré et al., 2000; Quero-Hernández et al., 2006), quienes señalan distribuciones entre 82 al 83% en LLA y un 17 al 18% en LMA.

En LLA, los resultados se compararon con el perfil de características inmunofenotípicas de cada subtipo (Anexo C). Los casos de estirpe B (92.4%) tuvieron una mayor distribución comparado con el 82% obtenido por (Dorantes-Acosta et al., 2013). Los pacientes con fenotipo característico de LLA pro-B representaron un 5.6% de todos los paciente con LLA, similar a lo señalado en la literatura (7.4%). Estos mismos pacientes, tuvieron marcadores característicos: HLA-DR, Tdt, CD19 y CD79a positivos; IgM y CD10 negativos. Sólo el marcador CD20, que debió ser negativo, en nuestro estudio fue positivo en un 33% de todos estos casos, lo cual podría explicar mayor resistencia a la quimioterapia. Los pacientes con LLA pre-B temprana (30.1%) fueron menor que el 77.8% reportado también en pacientes pediátricos de México (Asgarian Omran et al., 2007). Los antígenos que caracterizan a este tipo de leucemia se mostraron de la siguiente manera: CD10, CD19, CD79a, CD22 positivos; CD20 positivo o negativo; CD24 fuertemente positivo y IgM negativo. En los siguientes marcadores: HLA-DR (85%), CD34 (60%), Tdt (33%) y CD45 (6%) hubo diferencia en lo que característicamente debe de tener la LLA pre-B temprana. El inmunofenotipo de las LLA pre B (56.6%), es mucho mayor comparado con 6.2%

de un estudio en México que señala Asgarian Omran y col. El inmunofenotipo se caracterizó, tal cual la literatura lo marca: IgM, CD10, CD19, CD79a, CD22 y HLA-DR positivos; CD20 positivo o negativo. El marcador Tdt, no fue caracterizado en nuestro estudio en este tipo de leucemia. La distribución de los casos con LLA- T (7.5%) fue similar al 8.6% reportado en México el cual señalan Asgarian Omran y col. Fenotípicamente, la LLA de estirpe T tuvo los marcadores señalados por Zwaan & Heuvel-Eibrink: CD3, CD7, CD2 y/o CD5 positivos.

El perfil inmunofenotípico de la LMA, expuesto por Zwaan & Heuvel-Eibrink (Anexo D), se comparó con nuestros resultados. Los subtipos LMA-M1 (5-10%) y LMA-M6 (<5%) no tuvieron frecuencia en nuestro estudio y esto quizás se deba a la pequeña muestra de estudio (15 pacientes con LMA), además, de expresarse mínimamente entre todos los subtipos de LMA. Fue menor la distribución de los subtipos M2 (26.6%) y M4 (33.3%); mayor para los subtipos M0 (13.3%), M3 (13.3%) y M5 (33.3%); de manera muy similar para el subtipo M7 (6.6%). Se sabe que el subtipo LMA-M3 en población caucásica representa entre 3-9%, lo cual es mucho menor en población mestiza de origen latino en los Estados Unidos de América (EUA), en Italia, España, en algunos países de Centro y Sur América y México, donde puede llegar a representar entre el 20-25% de los casos o incluso llegar a ser tan alta como el 32% en algunas regiones de China (Buitrón-Santiago et al., 2010)

El subtipo LMA-M0 presentó CD34, HLA-DR, CD13, CD33, CD117 y MPO positivos; el marcador CD38 debió ser positivo y como marcador aberrante característico tenemos al CD56 y no hubo CD7. En el subtipo LMA-M2 sólo se expresaron los marcadores característicos CD45, MPO, HLA-DR, CD34, CD19; de manera aberrante estuvieron ausentes: CD33, CD13, CD15, CD11b. En la LMA subtipo M3 o leucemia promielocítica aguda (LPA) se expresaron los antígenos CD13, CD33, MPO, CD34; el HLA-DR tuvo que haber sido negativo en todos los casos aquí hubo una excepción (1/4 positivo); la coexpresión frecuente (CD2/CD19 y CD9) no se expresó en ningún caso. EL subtipo M4 de la LMA presentó las características señaladas en el perfil inmunofenotípico, a excepción de los marcadores que no se evaluaron y del marcador

CD4 que solo se expresó en 50% de los pacientes. El subtipo M5 de LMA presentó los marcadores CD33, CD13, CD64, HLA-DR y CD4 positivo; el marcador CD56 y CD14 no se presentaron en todos los casos. De igual manera, el subtipo M7 expresó el marcador CD41 como se indica la bibliografía, el marcador CD61 no fue evaluado, los marcadores CD34 y HLA-DR fueron negativos; de manera aberrante el marcador CD13 y CD33 no se presentaron. Durante el estudio, se obtuvo diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) para los marcadores: CD13, CD33 (característico de LMA-M2), CD41 (característico de LMA-M7), CD4 (característico de LMA-M4 y LMA-M5).

En los últimos años se ha visto que algunos patrones inmunofenotípicos aberrantes podrían reflejar alteraciones citogenéticas de las células neoplásicas. Por lo tanto, la identificación de estos inmunofenotipos presentes en la célula leucémica no solo permite el monitoreo de la respuesta al tratamiento quimioterapéutico y detección de EMR, sino también puede utilizarse en algunos casos para la identificación de alteraciones citogenéticas concretas y sugerir los estudios moleculares que confirmen la presencia de dichas alteraciones (Novoa et al., 2013).

Por el análisis de los fenotipos aberrantes se demostró que se presentaba en la mayoría de los casos (100% en LLA-T, 84% en LLA-B y 100% en LMA). Esta alta frecuencia es concordante con datos que exponen Novoa y col. 2013. La infidelidad de linaje se vio con mayor frecuencia en las LMA, seguido por las LLA-B y en menor frecuencia por las LLA-T. En las LMA, el CD4 (50%) fue el antígeno linfocitario expresado más frecuentemente y su presencia está asociada con la LMA-M4 y M5. El CD56 se presentó en 18% de casos con LMA, su presencia fue descrita como de pronóstico desfavorable según Novoa y col. El CD19 (20%), es un hallazgo importante por su asociación con LMA con translocación $t(8;21)$ de mejor pronóstico de acuerdo a Varma y col. 2011. En las LLA-B fueron expresados mayormente los antígenos mieloides CD15, CD117 y CD11b, aunque en baja frecuencia. La presencia del CD15 se asocia con el rearrreglo MLL que es de pobre pronóstico. La $t(9;22)$ y el gen BCR-ABL ambos de pobre pronóstico, se asocian con múltiples antígenos mieloides (entre ellos CD117, CD33 y CD13). La presencia de antígenos de

linaje linfóide T fue mucho menor, el único identificado fue CD2 (2%). En las LLA-T no se observó ninguna expresión de antígenos mieloides. El asincronismo madurativo fue observado en las LLA-B y en las LMA, siendo los más frecuentes CD34 (+)/CD22 (+) para las LLA-B y CD117 (+)/CD15 (+) y HLA-DR (+)/CD15 (+) para las LMA.

Objetivo B. Análisis de la expresión citogenética, ciclo celular e índice de DNA de las células leucémicas agudas.

En los casos de LLA de nuestros pacientes pediátricos, la suma de las frecuencias de los cariotipos normales (diploide) y pseudodiploides (46 cromosomas y alteraciones estructurales) fue de 50%, la cual fue un poco menor a lo reportado en otros estudios (56 a 90%); de este tipo de cariotipos (Verduzco-Rodríguez et al., 2012). El cariotipo hipodiploide, al cual se le asigna un riesgo alto, se expresó en mayor proporción (21%) comparado con diversos estudios (7-9%) (Forestier et al., 2003) asimismo es mucho mayor a lo que reporta Verduzco y col. 2012 en Veracruz (0%). La hiperdiploidia en nuestros pacientes pediátricos, representó un 15.7%, en decir, estos pacientes debieron de haber tenido mejor respuesta a la quimioterapia. La distribución encontrada en cariotipo hiperdiploide fue mayor que el estudio de Verduzco y col. (8%), menor que en otro estudio en México (36%) y se encuentra entre los valores que demás países señalan (15 al 46%)(Forestier et al., 2003). Las frecuencias mayores, para hiperdiploidia, las señalan países desarrollados (países nórdicos, Reino Unido, EUA). y frecuencias inferiores (Egipto, India, Corea) (Forestier et al., 2003). Verduzco y col. 2012, suponen que la menor frecuencia de leucemias hiperdiploides en países en vías de desarrollo y en zonas de alta marginación social es debido a la eliminación de clonas leucémicas hiperdiploides que tienen mayor tendencia a la apoptosis espontánea mediante un patrón de infecciones mayor en los primeros años de vida que modulan el sistema inmunológico del niño (Verduzco-Rodríguez et al., 2012)

Entre las alteraciones estructurales de los cromosomas en LLA la t(1;19) fue expresada en 3%, lo cual es similar a lo ya reportado. Otros países reportan distribuciones entre 5-6% y en México, Verduzco y col. 2012 señalan un 0%. La presencia de esta translocación es de pronóstico adverso para el paciente. Bermúdez Cortés y col., señala que la incidencia de LLA en el síndrome de Down está aumentada sobre 10 a 20%, nosotros tenemos un 3%, es decir, es menor que la reportada. El paciente con síndrome de Down presentó un inmunofenotipo característico de LLA pre-B, concordando así con lo descrito por Bermúdez Cortés y col. 1998, que señala mayor frecuencia de inmunofenotipo pre-B no asociado a t(1;19) y por tanto sin significación pronóstica desfavorable.

Forestier y col. 2003, describieron distribuciones similares a las expresadas en nuestro estudio, en alteraciones numéricas de LMA en pacientes pediátricos: diploide-pseudodiploide 52 a 83%, hipodiploide 8 a 3% y hiperdiploide 16 a 30%; nuestros resultados fueron 7/13 (54%) con diploide-pseudodiploide, 1/13 (8%) expresaron hipodiploidia y 5/13 (38%) hiperdiploidia. De las alteraciones citogenéticas, la t(8;21) mostró distribución mayor (16.6%) a lo que Varma y col. 2011 describieron (~5%). Pero si lo comparamos con los datos de Forestier y col. 2003 quienes señalan frecuencias de 9 al 24% es similar nuestro resultado. Este hallazgo es importante, pues dicha alteración es de buen pronóstico para el paciente que lo porta. La t(15;17), característica de la leucemia promielocítica aguda (LPA) de pronóstico favorable, tuvo una frecuencia de 8.3% de todos los casos con LMA pediátrica. Este resultado concuerda con lo que describe Varma y col. 2011, señalan frecuencias de 5-8% en todas las leucemias. Pero también, cabe señalar la t(15;17) solo se expresó en 1/4 (25%) de los casos de LMA-M3, lo que no coincide como la literatura que dice que el 95% de los casos presentan esta translocación característica (Varma & Naseem, 2011).

El ciclo celular e índice de DNA como factores pronósticos favorables analizados en los casos de LMA (2/13) se encontraron en el subtipo LMA-M3. El ciclo celular (fase S > 6.8), como factor pronóstico favorable, se presentó en 13/41(31.7%) pacientes con LLA y en mayor proporción en pacientes con LLA Pre-B, seguido por los pacientes con LLA Pre B-temprana. Nuestra

distribución es menor a lo que reportó Look y col. 1985, para los pacientes con fase S> 6.8, los cuales tuvieron una buena respuesta al tratamiento (49.7%). El índice de DNA, ha sido más estudiado, los autores (Coustan-Smith et al., 2002, 2002; Look et al., 1985) reportaron índice de DNA ≥ 1.16 en frecuencias de 18.6% a 27.2%. Estos datos, nos indican que nuestra expresión en índice de DNA ≥ 1.16 (12.7%) fue menor a las referencias. Este índice de DNA, se presentó más frecuentemente en LLA pre-B temprana, seguido de LLA Pre-B, lo que podría explicar el menor tiempo de supervivencia en nuestros pacientes.

Objetivo C. Frecuencias de las variables: demográficas, clínicas y de laboratorio.

Las neoplasias en población pediátrica son poco frecuentes paradójicamente se encuentran entre las primeras causas de mortalidad pediátrica en el mundo. Debido a esto se considera fundamental conocer las medidas necesarias para disminuir la incidencia de las leucemias agudas. Se han asociado diversos factores epidemiológicos con la condición de salud o enfermedad, provocando controversias por los resultados obtenidos, que muchas veces son inconsistentes y poco precisos.

Una de las variables demográficas estudiadas en pacientes pediátricos con leucemia aguda fue el género, donde el género masculino (61.8%) y el género femenino (38.2%) tienen frecuencias similares a la literatura. Diversos autores reportan para el género femenino desde 35% hasta 54% y para el masculino valores desde 45% hasta 65% (Coustan-Smith et al., 2002; Iwamoto et al., 2011; Legrand et al., 2000; Look et al., 1985; López Facundo et al., 2008; Mushtaq et al., 2013; Pui et al., 2009). Lo que nos lleva a confirmar que el género masculino es más afectado por leucemia aguda (LA) entre la edad pediátrica, como ya lo había señalado Quero-Hernández y col. 2006 en estudios anteriores en Oaxaca.

La edad evaluada como buen pronóstico fue 1 a 9 años, pues el grupo cooperativo Pediatric Oncology Group (POG) y el St. Judes Childrens Research Hospital así lo establecieron (Mushtaq et al., 2013; Ramos-Peñañiel et al., 2010; Rivera-Luna, 2000). La edad más frecuente (58.8%) fue la edad de buen pronóstico, lo que concuerda con lo publicado, pues en promedio se tiene un 57% de pacientes pediátricos entre 1 y 9 años (Coustan-Smith et al., 2002; Dastugue et al., 2013; Look et al., 1985; Nada et al., 2013; Pui et al., 2009).

Los lugares de procedencia, de los pacientes, dentro del estado de Michoacán fueron agrupados por regiones, para facilitar el análisis estadístico; la región Cuiteo (19.4%) encabeza este estudio, seguida por la región Purépecha (16.4%) y la región oriente (14.9%). Uno de los municipios de la región Cuitzeo es Morelia, así que creemos que por el factor población, pueda estar influyendo en este resultado. Por lo que se sugiere realizar un estudio más amplio y que se tome en cuenta este tipo de variables.

En México, la Asociación Mexicana de Agencias de Investigación de Mercados y Opinión Pública (AMAI) ha propuesto medir el índice de nivel socioeconómico mediante la regla AMAI 13x6, la cual clasifica a los hogares en seis niveles, considerando nueve características o posesiones del hogar y la escolaridad del jefe de familia o persona que más aporta al gasto. En base a esto, nosotros quisimos evaluar únicamente la educación de los padres (López Romo, 2009). En nuestro estudio, la escolaridad básica (primaria o secundaria) en ambos padres, representó más del 80%, con una diferencia estadísticamente significativa. Cabe señalar, que la escolaridad básica del jefe del hogar, según lo descrito por López-Romo, se presenta en grupos de nivel socioeconómico pobre.

La ocupación de los padres es una de las mayores fuentes de exposición del niño. La exposición más asociada al desarrollo de cáncer en niños es la paterna, como en los trabajos donde se expongan a: pinturas, productos de petróleo, disolventes (especialmente hidrocarburos clorados), insecticidas y metales. Se han propuesto diferentes mecanismos por

los que la ocupación de los padres puede conducir al desarrollo de cáncer en edad pediátrica (Mejía-Aranguré et al., 2000). Debido a lo anterior, nosotros quisimos evaluar la ocupación del padre, dando 39.7% de padres con ocupación campesina. En respecto de los resultados podemos decir que hay cierta asociación del paciente pediátrico con la ocupación del padre.

Los signos y síntomas de la leucemia aguda se pueden explicar a través de dos mecanismos fisiopatológicos: 1) insuficiencia medular por anemia, granulocitopenia que condiciona la fiebre y/o las infecciones y trombocitopenia que produce hemorragias de mucosa. La insuficiencia medular se debe a la invasión blástica de la médula ósea y a la acción inhibitoria que ejercen los blastos en el tejido hematopoyético normal. 2) proliferación blástica que explica las adenomegalias, las hepatoesplenomegalias, los dolores óseos y las alteraciones radiológicas del esqueleto. Los diversos síntomas de la leucemia aguda se han agrupado en cuatro síndromes: anémico (astenia, adinamia, palidez, disnea, hemoglobina baja) purpúrico (petequias, equimosis, gingivorragias, epistaxis y otras hemorragias), febril (fiebre, infecciones) e infiltrativo (hepatomegalia, esplenomegalia, dolor óseo, adenopatías) (Vargas P., Pino R., Barría C., Young A., & García U., 1980). En este estudio, los síndromes de los pacientes pediátricos de *novo* generalmente coexistieron y se combinaron entre sí, en gran mayoría presentaron la combinación de 2 a 4 síndromes. Ortega y col. 2007 describieron que los síntomas menos comunes son cefalea, vómito, alteraciones de las funciones mentales, oliguria y anuria; este mismo comportamiento se observó entre nuestros pacientes.

López Facundo y col. 2008 señalaron que el estado nutricional del paciente, condiciona a mayor riesgo de enfermedades infecciosas y disminuyó la tolerancia a la quimioterapia. En diversos estudios, donde han evaluado el estado nutricional por peso, edad y talla; concluyen que no son indicativos como factores pronósticos de pacientes con leucemia (Dávila-Rodríguez et al., 2010). Debido a lo anterior, no podemos presentar alguna conclusión sobre el estado nutricional de nuestros pacientes. Dávila y col. 2010, mencionan que la albúmina es un indicador apropiado del estado nutricional de pacientes con leucemia. Se han obtenido diferentes estados nutricionales según la concentración de la albumina (Baltazar Luna, Omaña Guzmán, Ortiz

Hernández, Ñamendis-Silva, & De Nicola Delfín, 2013). Así pues, de acuerdo a la concentración sérica de la albúmina el 40.7% de los pacientes tuvo una concentración normal, el 57.4% presentó una disminución leve/moderada y el 1.9% tuvo un aumento sobre lo normal. Sabiendo que, la frecuencia de desnutrición en el cáncer fluctúa entre un 40-80% (Lara-Rodríguez & Fing-Soto, 2012) en la población pediátrica y tomando en cuenta que esta distribución depende del grado de riesgo nutricional; decimos que nuestros resultados de estado nutricional disminuido leve/moderado (57.4%) está dentro de lo reportado. Cabe señalar que las neoplasias de las células formadoras de sangre son de bajo riesgo nutricional, sin embargo en nuestro estudio muestra ser un problema de importancia, pues más de la mitad de los pacientes con leucemia aguda presentaron algún grado de desnutrición, lo cual puede afectar la evolución y desenlace de la enfermedad.

La biometría hemática es el estudio por excelencia para despertar la sospecha de leucemia aguda, sin embargo se ha documentado que el 5% de pacientes con LLA cursan con una biometría hemática totalmente normal al diagnóstico (Rivera-Luna, 2010). En promedio, la hemoglobina presentada por los pacientes era de 7.55 g/dL, es decir, tenían anemia normocítica-normocrómica, el volumen corpuscular medio (VCM) y hemoglobina corpuscular media (HCM) estaban dentro de los valores normales. La anemia que se reconoce en los pacientes con LLA es normocítica normocrómica (Dorantes-Acosta et al., 2013; Rivera-Luna, 2010). La mayoría de los pacientes leucocitosis (exceso de leucocitos) y trombocitopenia (bajo número de plaquetas), lo que concuerda con las referencias (Asgarian Omran et al., 2007; Coustan-Smith et al., 2002; Pui et al., 2009; Ribera et al., 2002; Tong et al., 2010). La química sanguínea mostró que: la glucosa en varios pacientes se encontraba elevada aunque la media de glucosa de los pacientes era casi normal (111.9). Cabe señalar, que puede existir hiperglucemia como efecto secundario, en pacientes con tratamiento de esteroides (dexametasona y prednisona) es decir, en pacientes con leucemia aguda. La media de concentración sérica de urea, sobrepasa los valores normales, dicha elevación puede deberse a la infiltración del riñón. El valor promedio de deshidrogenasa láctica (DHL) fue mayor a lo normal, por lo que se considera que los pacientes están en riesgo de tener síndrome de lisis

tumoral. La creatinina y el ácido úrico se encontraron entre los valores normales. Los resultados de pruebas de coagulación, las medias de concentración de cada parámetro, están dentro de lo normal. La media de los valores de función hepática, se encontraron dentro de lo normal, sin embargo, se sabe que algunos pacientes presentaban infiltración en el hígado (hepatomegalia). Los electrolitos séricos en los pacientes con leucemia aguda, fue normal; cabe mencionar, que los electrolitos séricos se alteran debido al síndrome de lisis tumoral o daño renal secundario.

Por las características morfológicas de sangre periférica, tanto de LMA como LLA, se puede decir que es difícil diferenciar entre los subtipos, pues muchas veces solo se puede identificar a los blastos en general. Ahora bien, en médula ósea, el uso de morfología nos permite hacer una mayor diferencia entre los subtipos. Es decir, en las LMA se muestran células blásticas de estipe mieloide en frecuencias mayores que en la LLA. En cuanto a LLA, presentó una mayor homogeneidad, pues más del 90% de las células en médula ósea son linfoblastos.

Objetivo D. Evaluación los factores de riesgo a recaída (cuenta de leucocitos, infiltración al SNC, infiltración extramedular, EMR, respuesta esteroidea).

Los factores pronóstico, solo se evaluaron entre los paciente pediátricos. Realmente solo hubo diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los subtipos de leucemia para la coexpresión de marcadores inmunofenotípicos.

La cuenta leucocitaria total de mal pronóstico ($50 \times 10^9 /L$) en los pacientes pediátricos tuvo una frecuencia un poco mayor en LLA (19%) que en LMA (14%); estas cifras son menores al ser comparadas con las referencias. La cuenta mayor de leucocitos, en LLA se ha reportado desde un 21% hasta un 48%; en LMA otros estudios tuvieron 26.7% hasta 70% (Asgarian Omran et al., 2007; Coustan-Smith et al., 2002; Hashii, 2011; Nada et al., 2013; Pui et al., 2009; Ribera et al., 2002; Tong et al., 2010).

La infiltración del sistema nervioso (SNC), en pacientes pediátricos con LMA no se presentó. Es decir, según el estado del SNC, dichos pacientes presentan un pronóstico favorable. En la literatura, las frecuencias encontradas van desde 0% hasta 20%. Por lo que podemos decir que tenemos un resultado acorde a la literatura. Para la LLA, la distribución de infiltración fue de 17%, el cual es superior a lo que reportan Ribera (7%) y López Facundo (6%). Este porcentaje mayor puede deberse a la inclusión de algunos pacientes con recaída.

También, en pacientes pediátricos con LLA se evaluó la distribución de la infiltración extramedular como fue hepatomegalia (47%), esplenomegalia (40%) e infiltración testicular (6%). De acuerdo con la literatura, estos resultados concuerdan. Pues, la literatura reporta para hepatomegalia valores desde 38% hasta 74%; esplenomegalia en 32% hasta 67%; e infiltración testicular 2%. En LMA de pacientes pediátricos, la infiltración extramedular fue mayor en hepatomegalia (47%) que en esplenomegalia (20%), en cuanto a la infiltración testicular no hubo. Nada y col. 2013, reportan el total de infiltraciones extramedulares en pacientes pediátricos con LMA entre un 0% hasta un 18%. Obteniendo un promedio de las infiltraciones que manejamos, se tuvo un dato de infiltración extramedular global de 22.3%, el cual es poco mayor a lo que se señala en otros estudios (Asgarian Omran et al., 2007; López Facundo et al., 2008; Ribera et al., 2002).

La enfermedad mínima residual (EMR), es un factor pronóstico que mide la cantidad de blastos presentes en médula ósea, preferentemente al final de la inducción y si el resultado es >0.01 % blastos, existe EMR. La frecuencia de EMR en pacientes con LLA (9%) fue mayor que en pacientes con LMA (0%). Para la LLA en pediátricos, diferentes autores señalan frecuencias entre 2.8% hasta 27.1%, por lo que decimos que nuestro resultado es similar a lo reportado.

La respuesta esteroidea se evaluó en los pacientes con LLA de pediátricos al día 7, después de haber administrado un tratamiento inicial de esteroides. De acuerdo a Ramos y col.,

en un estudio Mexicano (58% supervivencia), decimos que nuestro resultado (65.8% supervivencia) es diferente a lo indicado en dicho estudio. En cambio, en un estudio Italiano la frecuencia es de 65%, comparándolo con nuestro resultado (65.8%) tenemos cierta similitud en cuanto a pacientes con buena respuesta esteroidea.

La co-expresión de un marcador no característico de linaje, fue un factor pronóstico con diferencia significativa ($p=0.001$) entre los subtipos de leucemia aguda. Hubo mayor infidelidad de linaje entre los subtipos de LMA (60%) que LLA (15%). Ribera y col. 2002, reportó coexpresión para LLA de 43%, la cual es menor a lo que nosotros tenemos entre nuestros pacientes. Sin embargo, Seegmiller y col., señalan la expresión de antígenos mieloides (en su mayoría 1 y 2 antígenos por paciente) en 88.5% de LLA-B en pediátricos y en 82% de LLA-B en adultos. Orfao y col., describieron la expresión del fenotipo aberrante en LMA >80%. Es decir, suponiendo que el valor que da Orfao sea únicamente en su mayoría en casos de infidelidad de linaje, solo entonces nuestro resultado será menor a lo señalado.

Objetivo E. Asociación la evolución de paciente con los factores de riesgo a recaída.

La supervivencia estudiada desde el inicio de la inducción hasta agosto 2013, es decir de 2 años y medio, fue más representativa de lo que sucede en un paciente pediátrico de *novo* con leucemia aguda. Al analizar las supervivencias a 6 meses (85.4%) y 2.5 años (74.5%), notamos que la última concuerda con lo reportado en otros estudios para la leucemia aguda (LA). Pues, se sabe que la supervivencia de las leucemias pediátricas ha alcanzado curación entre el 70 y el 85%. (Piñeiros et al., 2007; Verduzco-Rodríguez et al., 2012)

En los protocolos técnicos de cáncer en niños de México, se menciona que la supervivencia de pacientes con LLA a cinco años es superior a 80%; con respecto a esto,

decimos que la supervivencia a 2.5 años (83.3%) es más aceptable que la supervivencia a 6 meses (92.8%), puesto que concuerda mejor con lo descrito. Para la LMA, el Hospital Infantil de México han reportado supervivencias de 47%, lo cual es semejante al resultado que hemos tenido (46.1%). Y aunque parezca mínima la supervivencia, podemos decir que está dentro de los mejores resultados de México, pues se sabe que en diferentes hospitales mexicanos se manejan supervivencias de 18 a 30%. En cuanto, a eventos adversos, en la LMA (30.7%) hubo mayor cantidad que en pacientes con LLA (26.1%). Esto mismo se puede justificar con los niveles de supervivencia que manejan ambos subtipos de Leucemia, es decir, quienes viven más tienen menos eventos adversos.

Al analizar las supervivencias de los pacientes con las alteraciones numéricas, tenemos que nuestros resultados no son como se señala en la literatura. Es decir, el cariotipo hiperdiploide (50%) que debería de tener mejores niveles supervivencia, tuvo una desfavorable supervivencia a comparación del cariotipo diploide (57.1%) e hipodiploide (59.2%). Creemos que este resultado puede deberse a la cantidad de pacientes que se manejan en cada grupo: diploide, hipodiploide e hiperdiploide o a factores pronósticos adicionales en cada subgrupo. Además, cabe señalar que mediante el test de Log- Rank no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los tipos de cariotipo, por lo que, no podemos señalar a la alteración numérica de cariotipo como un factor pronóstico de importancia en nuestro estudio.

La supervivencia según el ciclo celular, como señala Look y col. 1985, la fase S <6.8 es de pronóstico adverso. Pues, se tiene supervivencia del 41%, la cual es menor que la supervivencia (82.4%) de los pacientes que presentaron fase S > 6.8. Look y col., informaron remisión completa en menos del 60% para pacientes con fase S >6.8 y remisión completa menor del 40% para pacientes con fase S <6.8. En base a esto, podemos decir, que el ciclo celular es un factor pronóstico de importancia en nuestro estudio.

El índice de DNA, mostró niveles de supervivencia diferentes a lo reportado, pues el índice de pronóstico favorable (índice de DNA de 1.16 o más) tiene supervivencia del 50%, además de ser menor un poco menor al grupo con índice de DNA de pronóstico adverso (56.2%). Esta diferencia de supervivencias entre, los grupos de pronóstico adverso y favorable, es evidente en el estudio de Pui y col. 2004, pues el índice de DNA de buen pronóstico presenta 91.2% de supervivencia y el grupo de pronóstico adverso tiene 78.5% de supervivencia. Por lo tanto, en nuestro estudio ésta cuantificación no pareció ser un factor pronóstico de interés entre nuestros pacientes pediátricos, pues no hubo evidencia entre los niveles de supervivencia.

Entre nuestros resultados, hubo una marcada diferencia entre las supervivencias del tipo de género. Es decir, los pacientes masculinos (74.6%) les fue mejor que a los pacientes femeninos (44.9%); lo que es contrario, a otros estudios. Pui y col. 2004, reportaron supervivencias de 83.3% para pacientes femeninos y supervivencia de 79.1% para pacientes masculinos. De acuerdo a la supervivencia de este factor pronóstico, decimos que en nuestro estudio fue relevante ser paciente pediátrico femenino o masculino.

La edad como factor pronóstico, fue corroborada, pues el grupo de pacientes de 1 a 9 años señalaron supervivencias de 74.3% y el grupo de pronóstico adverso (<1 año y >9 años) tiene supervivencia menor (39.5%). Y aunque, el resultado al ser comparado con el test de Log-Rank no fue significativo, a nuestra opinión según el comportamiento del gráfico (Figura 11). La edad fue un factor pronóstico importante al momento del desenlace del paciente. Pui y col, para las LLA en pacientes pediátricos señala supervivencias de 84.3% para pacientes de 1 a 10 años y supervivencia de 72.4% para menores de 1 año y mayores de 10 años. Creemos que al aumentar el número de pacientes, estos resultados podrían ser significativos.

La cuenta de leucocitos mayor a $50 \times 10^9/L$, se indica como un mal pronóstico para el paciente. En un estudio de LLA en el Hospital Pediátrico de San Judas en Estados Unidos, mencionan que la supervivencia de pacientes con leucocitos $>50 \times 10^9/L$ solo sobreviven 70.8% y para pacientes con cuenta de leucocitos $<50 \times 10^9/L$ sobreviven 85.6%. Aquí tuvimos un comportamiento contrario, pues la cifra total de leucocitos mayor a $50 \times 10^9/L$ tuvo supervivencia mayor que los otros pacientes de pronóstico favorable. El porqué de nuestros resultados, tal vez sea, que por sí sola la cuenta de leucocitos (en este estudio) no funciona como factor pronóstico o quizás sea porque algún otro factor pronóstico tiene una mayor influencia sobre los pacientes.

El líquido cefalorraquídeo (LCR), que evalúa la infiltración al sistema nervioso central (SNC), como factor pronóstico no mostró mayor diferencia entre los grupos con infiltración o sin infiltración al momento de evaluar la supervivencia de ambos. Pues, quienes no tuvieron infiltración al SNC sobrevivieron en 56.3% y los que tuvieron infiltración sobrevivieron 66.7%. La literatura nos señala supervivencia mayores (80.9% y 76.9% respectivamente) para aquellos que no tienen infiltración y por el contrario para lo que la tienen. La diferencia que hay entre nuestros resultados con la literatura, podía ser por el tamaño de los grupo, es decir era más pequeño el grupo de pacientes con infiltración (3 pacientes) que el de sin infiltración (50 pacientes).

La presencia de infiltración extramedular, como factor pronóstico tuvo un comportamiento distinto, dependiendo del tipo de infiltración. La supervivencia sin hepatomegalia (66.4%) fue mejor que con hepatomegalia (54.7%). Y la supervivencia con esplenomegalia (75.3%) fue mayor que sin esplenomegalia (54.6%). Es difícil, definir que la infiltración extramedular no sea un factor pronóstico útil en nuestro estudio, ya que se ha reportado por López- Facundo y col. 2008, que el tener infiltración extramedular provoca mayor muerte entre los pacientes con leucemia.

La enfermedad mínima residual (EMR) como factor pronóstico, mostró ser útil, pues los pacientes con buen pronóstico (<0.01% de blastos) tuvieron supervivencia del 68.8% y los pacientes con pronóstico adverso (>0.01% blastos) la supervivencia fue de 50%. Lo que es similar de cierta manera a lo que obtiene Pui y col. 2004, en el Hospital de San Judas. Pues se alcanza 84.8% de supervivencia entre los pacientes sin EMR y 65.5% de supervivencia en pacientes con EMR.

La respuesta esteroidea, señalada de buen pronóstico o como buena respuesta al tratamiento (<1000 blastos) tiene una supervivencia de 65.8% y en comparación con la respuesta adversa (>1000 blastos) con supervivencia de 72.7%, no muestra haber una diferencia significativa entre las supervivencias. Ramos- Peñafiel y col. 2010, señalaron que en su estudio en México pero con pacientes adultos con respuesta favorable a esteroides la supervivencia global fue de 58%. Entonces, de esta manera nuestro resultados en supervivencia de respuesta favorable es mayor a lo que reportan, más aún la respuesta adversa sigue siendo mayor que esta. Nuevamente el tamaño del grupo de estudio, puede estar influyendo en este resultado.

En los pacientes pediátricos con leucemia aguda, sin co-expresión de marcadores de estirpe diferente tuvieron supervivencia mayor (63.7%) que la supervivencia (46.7%) de los pacientes con co-expresión de marcadores. Puede que el contraste de estos resultados, sea porque algunos patronos inmunofenotípicos aberrantes, entre ellos la co-expresión, podrían reflejar alteraciones citogenéticas de las células neoplásicas (Novoa et al., 2013). La expresión de marcadores mieloides en la LLA del adulto se ha asociado con un pobre pronóstico; sin embargo, en niños esta correlación no ha sido demostrada (Marsán Suárez et al., 2002). Así pues, el pronóstico de nuestros pacientes fue adverso.

El tipo de estirpe celular (linfoide y mieloide) fue un importante factor pronóstico, pues los pacientes de estirpe linfoide (65.7%) sobrevivieron más que los de estirpe mieloide (53.3%). Como ya han mencionado varios autores (López Facundo et al., 2008; Miranda-Lora et al., 2012), la supervivencia que alcanzan los pacientes con leucemia de estirpe linfoide son mayores que lo que tienen leucemia de estirpe mieloide (Rivera-Luna, 2010). Por eso mismo es importante realizar la diferencia entre ambas estirpes.

La supervivencia también se analizó entre los diferentes subtipos de LLA de linaje B. Los pacientes con leucemia linfoide aguda (LLA), según el subtipo, mostraron diferentes niveles de supervivencia. La literatura, menciona que el subtipo de LLA de estirpe B no constituye un factor pronóstico desfavorable, son los factores adicionales que condicionan el pronóstico malo. Algunos autores mencionan que la supervivencia de pacientes LLA de linaje B tienen peor supervivencia aquellos con inmunofenotipos inmaduros. (Marsán Suárez et al., 2002; Rivera-Luna, 2010) En el caso de los pacientes con LLA pre B temprana (55.9%) vivieron menos que todos los demás subtipos; el subtipo LLA pro B tiene supervivencia de 75.8% y LLA pre B (100%). EL subtipo LLA pro B, el subtipo de leucemia más inmaduro, de riesgo estándar mostró una buena supervivencia, contrario a lo que Marsán y col. 2002, reportaron (<40%). El subtipo LLA pre B temprana debió de tener una mejor supervivencia, pues la literatura le asigna un riesgo bajo; Marsán y col. 2002, reportaron para este subtipo de leucemia aproximadamente un 50% de supervivencia. Es decir nuestro resultado en LLA pre B temprana es mayor y mejor a la literatura. Y el subtipo LLA pre B, clasificada en riesgo bajo presentó buena supervivencia acorde a señalado. De hecho es muy similar a lo que Marsán y col. 2002, reportaron (aproximadamente 100%). Las LLA de estirpe T, constituyen *per se* un grupo de leucemias poco frecuentes (10%) que tienen un mal pronóstico y, por tanto, su identificación es esencial porque se encuentran dentro de las LLA de alto riesgo o de muy mal pronóstico. (Rivera-Luna, 2010) En nuestros casos de LLA- T hubo supervivencia del 100%, es decir, no concuerda con lo señalado en la literatura. El estudio hecho en Cuba por Marsán y col. 2002, se obtuvo supervivencias menores al 70% a dos años y medio desde el inicio del tratamiento. Cabe señalar que el número de pacientes con LLA- T es mínimo (3 pacientes), así pues, el número de pacientes puede haber afectado el resultado que tenemos.

CONCLUSIONES

- La citometría de flujo fue útil para caracterizar el linaje de las leucemias agudas, clasificarlas e identificar fenotipos aberrantes presentes en la mayoría de los casos.
- La relación entre el inmunofenotipo, la citogenética y las características clínicas en pacientes con leucemia aguda lograron proporcionar elementos para comprender mejor la biología la enfermedad. Aquellos casos con fenotipos aberrantes expresaron cariotipos complejos o de mal pronóstico y tuvieron menor supervivencia.
- Los diversos factores pronósticos aportaron información importante para conocer el estado del paciente al momento del diagnóstico y ayudaron a los médicos a definir el esquema quimioterapéutico. El tipo de estirpe celular, la edad, el ciclo celular, el género, la enfermedad mínima residual, la co-expresión de marcadores inmunofenotípicos influyeron en la supervivencia del paciente con leucemia aguda.

PERSPECTIVAS

- Nuestro estudio proporcionó resultados semejantes a los descritos a nivel nacional e internacional, sin embargo, es necesario continuar con el estudio de los pacientes hasta completar los 5 años para evaluar mejor los resultados. Pues, este tipo de estudio contribuiría al mejor conocimiento de la leucemia aguda y por consiguiente a un mejor tratamiento para alcanzar niveles de supervivencia más prolongados y mejor calidad de vida.
-
- Asimismo, es necesario incrementar el tamaño de la muestra de pacientes para evaluar aquellas variables en las que sólo se observaron tendencias, pero que no fueron significativas. Por ejemplo: tipo de cariotipo, cuenta leucocitaria, ciclo celular, EMR, entre otros.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abbas, A. K., Lichtman, H., & Pillai, S. (2012). *Inmunología celular y molecular* (7th ed.). El sevier.
2. *affymetrix eBiociencia*. (2012). *Hematopoiesis from Pluripotent Stem Cell*. Retrieved March 2, 2014, from <http://www.ebioscience.com/resources/pathways/hematopoiesis-from-pluripotent-sem-cells.htm>
3. Asgarian Omran, H., Shabani, M., Shahrestani, T., Sarafnejad, A., Khoshnoodi, J., Vossough, P., ... Shokri, F. (2007). Immunophenotypic Subtyping of Leukemic Cells from Iranian Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia: Association to Disease Outcome. *Iran.J.Immunol*, *4*(1), 15–25.
4. Baltazar Luna, E., Omaña Guzmán, L. I., Ortiz Hernández, L., Ñamendis-Silva, S. A., & De Nicola Delfín, L. (2013). Estado nutricional en pacientes de primer ingreso a hospitalización del Servicio de Hematología del Instituto Nacional de Cancerología. *Nutr Hosp.*, *28*(3), 1259–1265. doi:10.3305/nh.2013.28.4.6484
5. Basso, G., Buldini, B., Zen, L. D., & Orfao, A. (2001). New methodologic approaches for immunophenotyping acute leukemias. *Haematologica*, *86*(7), 675–692.
6. Belson, M., Kingsley, B., & Holmes, A. (2007). Risk Factors for Acute Leukemia in Children: A Review. *Environmental Health Perspectives*, *115*(1), 138–145. doi:10.1289/ehp.9023
7. BENNETT, J. M., CATOVSKY, D., DANIEL, M. T., FLANDRIN, G., GALTON, D. A. G., GRALNICK, H. R., & SULTAN, C. (1985). Proposed Revised Criteria for the Classification of Acute Myeloid Leukemia A Report of the French-American-British Cooperative Group. *Annals of Internal Medicine*, *103*(4), 620–625. doi:10.7326/0003-4819-103-4-620
8. Bermúdez Cortés, M., Verdeguer Miralles, A., Jovaní Casano, C., Cañete Nieto, A., Fernández, J. M., Ferris Tortajada, J., & Castel Sánchez, V. (1998). Síndrome de Down y leucemia. *An Esp Pediatr*, *48*(6), 593–598.
9. *BioLegend Cell Markers*. (2013). BioLegend. Retrieved March 2, 2014, from https://www.biolegend.com/cell_markers
10. Buitrón-Santiago, N., Arteaga- Ortiz, L., Rosas- López, A., Aguayo, Á., López- Karpovitch, X., & Crespo-Solís, E. (2010). Experiencia del INCMNSZ en pacientes adultos con leucemia mieloide aguda. Cohorte 2003-2008. *Revista de Investigación Clínica*, *62*(2), 100–108.

11. Carlson, K.-S. B., & Guzmán, M. L. (2013). Is minimal residual disease monitoring clinically relevant in adults with acute myelogenous leukemia? *Current Hematologic Malignancy Reports*, 8(2), 109–115. doi:10.1007/s11899-013-0157-2
12. Coronel Morán, R. del C. (2005). Importancia del laboratorio en el diagnóstico y pronóstico de leucemia aguda linfoblástica de la infancia. *Acta Pediatr Méx*, 26(3), 129–136.
13. Coustan-Smith, E., Sancho, J., Behm, F. G., Hancock, M. L., Razzouk, B. I., Ribeiro, R. C., Campana, D. (2002). Prognostic importance of measuring early clearance of leukemic cells by flow cytometry in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 100(1), 52–58. doi:10.1182/blood-2002-01-0006
14. Crist, W. M., Carroll, A. J., Shuster, J. J., Behm, F. G., Whitehead, M., Vietti, T. J., ... Pullen, D. J. (1990). Poor prognosis of children with pre-B acute lymphoblastic leukemia is associated with the t(1;19)(q23;p13): a Pediatric Oncology Group study. *Blood*, 76(1), 117–122.
15. Cuneo, A., Ferrant, A., Michaux, J. L., Boogaerts, M., Demuyne, H., Orshoven, A. V., ... Hernandez, J. (1995). Cytogenetic profile of minimally differentiated (FAB M0) acute myeloid leukemia: correlation with clinicobiologic findings [see comments]. *Blood*, 85(12), 3688–3694.
16. Dastugue, N., Suci, S., Plat, G., Speleman, F., Cavé, H., Girard, S., ... Benoit, Y. (2013). Hyperdiploidy with 58-66 chromosomes in childhood B-acute lymphoblastic leukemia is highly curable: 58951 CLG-EORTC results. *Blood*, 121(13), 2415–2423. doi:10.1182/blood-2012-06-437681
17. Dávila-Rodríguez, M. I., Márquez-Solís, R., Cortés- Gutiérrez, E. I., Pérez-Cortés, P., Cerda-Flores, & Novelo-Huerta, H. I. (2010). Indicadores nutricionales en niños con leucemia linfoblástica aguda. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 48(6), 639–644.
18. *Diccionario de cáncer*. (2013). National Cancer Institute at the National Institutes of Health. Retrieved May 27, 2014, from <http://www.cancer.gov/diccionario>
19. Diverio, D., Pandolfi, P., Rossi, V., Biondi, A., Pelicci, P., & Lo-Coco, F. (1993). Monitoring of treatment outcome in acute promyelocytic leukemia by RT-PCR. *Leukemia*, 8 Suppl 2, S63–5.
20. Dorantes-Acosta, E., Medina-Sansón, A., Dávila-Rodríguez, M. I., & López-Martínez, B. (2013). Clasificación inmunológica de las leucemias agudas linfoblásticas del Hospital Infantil de México Federico Gómez, de acuerdo al EGIL (European Group for the Immunological Classification of Leukemia). *Gaceta Mexicana de Oncología*, 12(3), 136–142.
21. Duque- Sierra, L., Restrepo- Perdomo, C., Zapata-Cárdenas, A., Duque- Ortega, J., Donado-Gómez, J., & Mejía, G. (2006). Características morfológicas, citogenéticas e inmunofenotípicas de pacientes con leucemia mieloide aguda. Medellín, Colombia. *CIMEL*, 11(2), 72–77.
22. Erber. (2010). *Diagnostic Techniques in Hematological Malignancies*. Cambridge University Press.

23. Fajardo-Gutiérrez, A., Juárez-Ocaña, S., González-Miranda, G., Palma-Padilla, V., Carreón-Cruz, R., & Mejía Aranguré, J. M. (2007). Incidencia general y específica de cáncer en niños derechohabientes del IMSS. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 45(6), 579–592.
24. Fernández Cantón, S. B., León Álvarez, G., Herrera Torres, M. del C., Salazar Salgado, E., Sánchez Díaz, M. del R., Alcalá Orós, R. B., González Urban, L. (2011). *SINAIS/SINAVE/DGE/SALUD/Perfil epidemiológico de los tumores malignos en México*. México: IEPSA, Impresora y encuadernadora Progreso, S.A. de C.V.
25. Forestier, E., Heim, S., Blennow, E., Borgström, G., Holmgren, G., Heinonen, K., ... the NOPHO Leukaemia Cytogenetic Study Group (NLCSG). (2003). Cytogenetic abnormalities in childhood acute myeloid Leukaemia: a Nordic series comprising all children enrolled in the NOPHO-93-AML trial between 1993 and 2001. *British Journal of Haematology*, 121(4), 566–577. doi:10.1046/j.1365-2141.2003.04349.x
26. Gallegos-Arreola, M. P., Borjas-Gutiérrez, C., Zúñiga-González, G. M., Figuera, L. E., Puebla-Pérez, A. M., & García-González, J. R. (2013). Pathophysiology of Acute Lymphoblastic Leukemia. In J. M. Mejia-Arangure (Ed.), *Clinical Epidemiology of Acute Lymphoblastic Leukemia - From the Molecules to the Clinic*. InTech. Retrieved from <http://www.intechopen.com/books/clinical-epidemiology-of-acute-lymphoblastic-leukemia-from-the-molecules-to-the-clinic/pathophysiology-of-acute-lymphoblastic-leukemia>
27. Gerardo Collino, C. J., Rodríguez, C., Sastre, D., Heller, V., & Fernández, E. (2006). Utilización estratégica de CD45 en la identificación de células blásticas por citometría de flujo. *Acta Bioquím Clín Latinoam*, 40(2), 173–180.
28. Givan, A. L., Melamed, M. R., & Shapiro, H. (2000). *Introduction to Flow Cytometry: A Learning Guide*. San Jose, CA: Becton, Dickinson and Company.
29. Gómez, A. R. M. (2003). *Atlas de morfología celular, alteraciones y enfermedades relacionadas*. Pontificia Universidad Javeriana.
30. González-Salas, W. M., Olarte-Carrillo, I., Gutiérrez-Romero, M., Montañó-Figueroa, E. H., Martínez-Murillo, C., & Ramos-Peñafiel, C. O. (2012). Frecuencia de leucemias agudas en un hospital de referencia. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 50(2), 167–171.
31. Gralnick, H. R., Galton, D. A. G., Catovsky, D., Sultan, C., & Bennett, J. M. (1977). Classification of Acute Leukemia. *Annals of Internal Medicine*, 87(6), 740–753.
32. Hashii, Y. (2011). Pediatric Natural Killer Cell Malignancy. In M. Antica (Ed.), *Acute Leukemia - The Scientist's Perspective and Challenge*. InTech. Retrieved from

<http://www.intechopen.com/books/acute-leukemia-the-scientist-s-perspective-and-challenge/pediatric-natural-killer-cell-malignancy>

33. Hirschi, K. K. (2012). Hemogenic endothelium during development and beyond. *Blood*, *119*(21), 4823–4827. doi:10.1182/blood-2011-12-353466
34. Hoggatt, J., & Pelus, L. M. (2010). Eicosanoid regulation of hematopoiesis and hematopoietic stem and progenitor trafficking. *Leukemia*, *24*(12), 1993–2002. doi:10.1038/leu.2010.216
35. Iwamoto, S., Deguchi, T., Ohta, H., Kiyokawa, N., Tsurusawa, M., Yamada, T., Komada, Y. (2011). Flow cytometric analysis of de novo acute lymphoblastic leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *International Journal of Hematology*, *94*(2), 185–192. doi:10.1007/s12185-011-0900-1
36. Jennings, C. D., & Foon, K. A. (1997). Recent advances in flow cytometry: application to the diagnosis of hematologic malignancy. *Blood*, *90*(8), 2863–2892.
37. Juárez-Caballero, G., Cabrera-Muñoz, M. de L., Gallegos-Castoreña, S., & Muñiz-Ronquillo, T. (2007). Niño con leucemia no linfoblástica aguda e hiperleucocitosis. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México*, *64*(1), 49–58.
38. Juárez-Velázquez, R., & Pérez-Vera, P. (2012). Citometría de flujo en la evaluación de enfermedad mínima residual en leucemia linfoblástica aguda. *Acta Pediatr Mex*, *33*(4), 198–206.
39. Kalina, T., Flores-Montero, J., van der Velden, V. H. J., Martin-Ayuso, M., Böttcher, S., Ritgen, M., ... EuroFlow Consortium (EU-FP6, LSHB-CT-2006-018708). (2012). EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. *Leukemia*, *26*(9), 1986–2010. doi:10.1038/leu.2012.122
40. Konopleva, M., Tabe, Y., Zeng, Z., & Andreeff, M. (2009). Therapeutic targeting of microenvironmental interactions in leukemia: mechanisms and approaches. *Drug Resistance Updates : Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy*, *12*(0), 103–113. doi:10.1016/j.drug.2009.06.001
41. Lane, S. W., Scadden, D. T., & Gilliland, D. G. (2009). The leukemic stem cell niche: current concepts and therapeutic opportunities. *Blood*, *114*(6), 1150–1157. doi:10.1182/blood-2009-01-202606
42. Lara-Rodríguez, D., & Fing-Soto, E. A. (2012). Evaluación del Estado Nutricional de Niños y Adolescentes con Leucemia Linfoblástica Aguda en el Hospital General Celaya. *Bol Clin Hosp Infant Edo Son*, *29*(1), 19–23.
43. Lawal, R. A., & Calvi, L. M. (2011). The Niche as a Target for Hematopoietic Manipulation and Regeneration. *TISSUE ENGINEERING: Part B*, *17*(6), 415–422.

44. Legrand, O., Perrot, J.-Y., Baudard, M., Cordier, A., Lautier, R., Simonin, G., ... Marie, J.-P. (2000). The immunophenotype of 177 adults with acute myeloid leukemia: proposal of a prognostic score. *Blood*, *96*(3), 870–877.
45. Look, A. T., Roberson, P. K., Williams, D. L., Rivera, G., Bowman, W. P., Pui, C. H., ... Dahl, G. V. (1985). Prognostic importance of blast cell DNA content in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, *65*(5), 1079–1086.
46. López Facundo, N., Talavera Piña, J., & Tejocote Romero, I. (2008). Mortalidad temprana en niños con leucemia linfoblástica aguda en un país en vías de desarrollo; factores asociados con el pronóstico. *GAMO*, *7*(3), 93–101.
47. López Romo, H. (2009). Los Niveles Socioeconómicos y la distribución del gasto. *Instituto de Investigaciones Sociales S.C.*, 1–40.
48. Machado, N. P., Téllez, G. A., & Castaño, J. C. (2006). Anticuerpos monoclonales: desarrollo físico y perspectivas terapéuticas. *Infectio*, *10*(3). Retrieved from <http://www.revistainfectio.org/site/portals/0/ojs/index.php/infectio/article/view/174>
49. MacLean, A. L., Celso, C. L., & Stumpf, M. P. H. (2013). Population dynamics of normal and leukaemia stem cells in the haematopoietic stem cell niche show distinct regimes where leukaemia will be controlled. *Journal of The Royal Society Interface*, *10*(81), 20120968. doi:10.1098/rsif.2012.0968
50. Marsán Suárez, V., Macías Abraham, C., Rivero Jiménez, R., Sánchez Segura, M., Socarrás Ferrer, B., Gramatge Ortiz, A., ... Hernández Ramírez, P. (2002). INMUNOFENOTIPAJE Y SUPERVIVENCIA GLOBAL DE PACIENTES PEDIÁTRICOS CON LEUCEMIAS AGUDAS. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*, *18*(1), 34–40.
51. Mayani, H., Flores-Figueroa, E., Pelayo, R., Montesinos, J. J., Flores-Guzmán, P., & Chávez-González, A. (2007). Hematopoyesis. *Cancerología*, *2*, 95–107.
52. Mckenzie, S. B. (2009). *Hematología Clínica* (2a ed.). México: Manual Moderno.
53. Mejía Aranguré, J. M., Ortega Álvarez, M. C., & Fajardo Gutiérrez, A. (2005). Epidemiología de las leucemias agudas en niños. Parte 1*. *Rev Med IMSS*, *43*(4), 323–333.
54. Mejía-Aranguré, J. M., Fajardo-Gutiérrez, A., Bernáldez-Ríos, R., Paredes-Aguilera, R., Flores-Aguilar, H., & Martínez-García, M. del C. (2000). Incidencia de las leucemias agudas en niños de la ciudad de México, de 1982 a 1991. *Salud pública de México*, *42*(5), 431–437.
55. Miranda-Lora, A. L., Klünder-Klünder, M., Ruíz-Cano, J., Reyes-López, A., Dorantes-Acosta, E., Zapata-Tarrés, M., ... Muñoz-Hernández, O. (2012). Estructura hospitalaria y su relación con la sobrevivencia de pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda. *Bol Med Hosp Infant Mex*, *69*(3), 205–211.

56. Muñoz Marín, L. (2005). *Aportación del Análisis inmufenotípico en la caracterización de la leucemia aguda y la identificación de subgrupos moleculares*. (Doctoral). Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona España.
57. Mushtaq, N., fadoo, Z., & Naqvi, A. (2013). Childhood acute lymphoblastic leukaemia: experience from a single tertiary care facility of Pakistan. *J Pak Med Assoc*, 63(11), 1399–1404.
58. Nada, A. P. K., Milos, A. P. K., Dragana, A. P. V., Lidija, A. P. D., Dragan, M., Bojana, S., Dragana, P. J. (2013). Treatment results of childhood acute myeloid leukemia in Serbia. *Memo - Magazine of European Medical Oncology*, 6(1), 63–68. doi:10.1007/s12254-012-0051-y
59. Neame, P. B., Soamboonsrup, P., Browman, G. P., Meyer, R. M., Bengner, A., Wilson, W. E., ... McBride, J. A. (1986). Classifying acute leukemia by immunophenotyping: a combined FAB-immunologic classification of AML. *Blood*, 68(6), 1355–1362.
60. Neuhoff, C. von, Reinhardt, D., Sander, A., Zimmermann, M., Bradtke, J., Betts, D. R., ... Creutzig, U. (2010). Prognostic Impact of Specific Chromosomal Aberrations in a Large Group of Pediatric Patients With Acute Myeloid Leukemia Treated Uniformly According to Trial AML-BFM 98. *Journal of Clinical Oncology*, 28(16), 2682–2689. doi:10.1200/JCO.2009.25.6321
61. Novoa, V., Núñez, N. A., Carballo, O. G., & Lessa, C. F. (2013). Inmunofenotipos aberrantes en leucemias agudas en una población hospitalaria de Buenos Aires. *Medicina (Buenos Aires)*, 73(1), 9–16.
62. Ojeda Tovar, J., Balbuena Martínez, M., Barbosa Ibarra, A. A., Cervera Ceballos, E., Corrales Alfaro, C., Espinoza Zamora, J. R., Cortés-Franco, J. (2011). Onco guía Leucemia Aguda Mieloblástica. *Cancerología*, 6, 99–102.
63. Orfao, A., López, A., Flores, J., Vidriales, B., Pérez, J., Kneba, M., van Dongen, J. J. M. (2006). Diagnosis of Haematological malignancies: new applications for flow cytometry. *Hematology - The European Hematology Association Program* |, 2(1), 6–13.
64. Ortega Sánchez, M. A., Osnaya Ortega, M. L., & Rosas Barrientos, J. V. (2007). Leucemia linfoblástica aguda. *Med Int Mex*, 23, 26–33.
65. Ortuño Giner, F. J., & Orfao, A. (2002). Applicability of flow cytometry in the diagnosis and immunophenotyping follow-up of acute leukemias. *Medicina clínica*, 118(11), 423–436.
66. Palomo-Colli, M. A., Gaytán-Morales, J. F., Villegas-Juárez, L. E., Meza-Miranda, J., Perales-Arroyo, A., & Medina-Sansón, A. (2013). Síndrome de Down y leucemia aguda linfoblástica en niños: características clínicas y resultados de tratamiento en el Hospital Infantil de México Federico Gómez. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 12(3), 156–161.

67. Perez-Saldivar, M., Mejia-Arangure, J., Rangel-López, A., & Fajardo, A. (2013a). Sociodemographic and Birth Characteristics in Infant Acute Leukemia: A Review. In J. M. Mejia-Arangure (Ed.), *Clinical Epidemiology of Acute Lymphoblastic Leukemia - From the Molecules to the Clinic*. InTech. Retrieved from <http://www.intechopen.com/books/clinical-epidemiology-of-acute-lymphoblastic-leukemia-from-the-molecules-to-the-clinic/sociodemographic-and-birth-characteristics-in-infant-acute-leukemia-a-review>
68. Perez-Saldivar, M., Mejia-Arangure, J., Rangel-López, A., & Fajardo, A. (2013b). Sociodemographic and Birth Characteristics in Infant Acute Leukemia: A Review. In J. M. Mejia-Arangure (Ed.), *Clinical Epidemiology of Acute Lymphoblastic Leukemia - From the Molecules to the Clinic*. InTech. Retrieved from <http://www.intechopen.com/books/clinical-epidemiology-of-acute-lymphoblastic-leukemia-from-the-molecules-to-the-clinic/sociodemographic-and-birth-characteristics-in-infant-acute-leukemia-a-review>
69. Piedras, J., Barrales Benítez, O., & López Karpovitch, X. (2000). Clasificación de las leucemias agudas de acuerdo con el consenso de la primera conferencia latinoamericana en la tipificación inmunológica de las leucemias. *Rev. invest. clín*, 52(5), 524–28.
70. Piñeiros, M., Pardo, C., Otero, J., Suárez, A., Vizcaíno, M., Álvarez, V. H., Trejo, R. (2007). Protocolo de vigilancia en salud pública de las leucemias agudas pediátricas. *Rev Colomb Cancerol*, 11(4), 219–227.
71. Pui, C.-H., Campana, D., Pei, D., Bowman, W. P., Sandlund, J. T., Kaste, S. C., Relling, M. V. (2009). Treating Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia without Cranial Irradiation. *New England Journal of Medicine*, 360(26), 2730–2741. doi:10.1056/NEJMoa0900386
72. Quero-Hernández, A., Coronado Díaz, R., Pérez-Bautista, A., & Reyes- Gómez, U. (2006). Neoplasias malignas en niños en dos hospitales del estado de Oaxaca, México (1996-2002). *Acta Pediatr Mex*, 27(4), 183–189.
73. Ramírez-Duarte, S., Santoyo-Sánchez, A., Collazo-Jaloma, J., Salinas-Meritú, I., Díaz-Estrada, I., Martínez-Murillo, C., & Ramos-Peñañiel, C. (2013). Correlación entre la edad y la cifra de leucocitos al diagnóstico de leucemia aguda. *Rev Hematol Mex*, 14, 9–14.
74. Ramos-Peñañiel, C. O., Martínez-Tovar, A., Olarte-Carrillo, I., Castellanos-Sinco, H., Martínez-Murillo, C., León-González, G., & Rozen-Fuller, E. (2010). Experiencia del tratamiento de la leucemia linfocítica aguda en recaída en el Hospital General de México. *Rev Med Hosp Gen Mex*, 73(4), 263–267.
75. Real Academia Española. Diccionario de la lengua española. (2001). Madrid, España. Retrieved from <http://www.rae.es/>

76. Ribera, J. M., Ortega, J. J., Oriol, A., Granada, I., Hernández-Rivas, J. M., Parody, R., Miguel, J. S. (2002). Prognostic value of karyotypic analysis in children and adults with high-risk acute lymphoblastic leukemia included in the PETHEMA ALL-93 trial. *Haematologica*, 87(2), 154–166.
77. Rivera-Luna, R. (2000). La importancia de los factores pronósticos en leucemia aguda linfoblástica (LAL) de la población pediátrica en un país en vías de desarrollo. *Rev Inst Nal Cancerol (Mex)*, 46(4), 260–266.
78. Rivera-Luna, R. (2010). *Protocolos Técnicos Cancer en niños* (Primera.). México: Edamsa Impresiones S.A. de C.V.
79. Rocha, H., Martínez, O., Guevara, E., & Lopera de Garrido, T. (1999). Epidemiología de las leucemias en la infancia y la adolescencia. *Acta Med Colomb*, 24(1), 19–24.
80. Romero, A., & Jiménez, R. M. (2002). Leucemias agudas. *Medicina de Familia*, 3(1), 40–48.
81. Sánchez Segura, M., Rivero Jiménez, R., Marsán Suárez, V., Martínez Machado, M., Espinosa Martínez, E., González Otero, A., Hernández Ramírez, P. (2000). Inmunofenotipaje en el diagnóstico de síndromes linf y mieloproliferativos. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 16(3), 198–205.
82. Saxena, R., & Anand, H. (2008). Flow cytometry in acute leukemia. *Indian J. Hematol. Blood Transfus*, 24(4), 146–150.
83. Scadden, D. T. (2007). The stem cell niche in health and leukemic disease. *Best Practice & Research. Clinical Haematology*, 20(1), 19–27. doi:10.1016/j.beha.2006.11.001
84. Seegmiller, A. C., Kroft, S. H., Karandikar, N. J., & McKenna, R. W. (2009). Characterization of Immunophenotypic Aberrancies in 200 Cases of B Acute Lymphoblastic Leukemia. *American Journal of Clinical Pathology*, 132(6), 940–949. doi:10.1309/AJCP8G5RMTWUEMUU
85. Shook, D., Coustan-Smith, E., Ribeiro, R. C., Rubnitz, J. E., & Campana, D. (2009). Minimal residual disease quantitation in acute myeloid leukemia. *Clinical Lymphoma & Myeloma*, 9 Suppl 3, S281–285. doi:10.3816/CLM.2009.s.024
86. Sison, E. A. R., & Brown, P. (2011). The bone marrow microenvironment and leukemia: biology and therapeutic targeting. *Expert Review of Hematology*, 4(3), 271–283. doi:10.1586/ehm.11.30
87. Soto Cruz, I., Cáceres Cortés, J. R., Mendoza Rincón, J. F., & Weiss Steider, B. (1999). *Las citocinas en la Hematopoyesis y el sistema inmunológico: Mecanismos Celulares y Moleculares* (Primera.). México: Plaza y Valdés.

88. T, S., H, T., S, Y., Y, Y., T, U., J, N., & H, N. (1994). Detection of minimal residual disease in a patient with acute promyelocytic leukemia by RT-PCR: necessity of chemotherapy following ATRA therapy. *Fukuoka Igaku Zasshi = Hukuoka Acta Medica*, 85(2), 52–56.
89. Tong, H., Zhang, J., Chunwei, L., Zhuogang, L., & Huang, Y. (2010). Immunophenotypic, Cytogenetic and Clinical Features of 113 Acute Lymphoblastic Leukaemia Patients in China. *Ann Acad Med Singapore*, 39, 49–53.
90. Uckun, F. M. (1990). Regulation of human B-cell ontogeny. *Blood*, 76(10), 1908–1923.
91. Vardiman, J. W., Thiele, J., Arber, D. A., Brunning, R. D., Borowitz, M. J., Porwit, A., ... Bloomfield, C. D. (2009). The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*, 114(5), 937–951. doi:10.1182/blood-2009-03-209262
92. Vargas P., L., Pino R., S., Barría C., M., Young A., T., & García U., H. (1980). Aspectos Clínicos y Hematológicos Iniciales de la Leucemia en el niño. *Revista Chilena de Pediatría*, 55(3), 149–153.
93. Varma, N., & Naseem, S. (2011). Application of flow cytometry in pediatric hematology-oncology. *Pediatric Blood & Cancer*, 57(1), 18–29. doi:10.1002/pbc.22954
94. Verduzco-Rodríguez, L., Verduzco-Aguirre, H. C., & López-Ariza, B. (2012). Leucemia linfoblástica aguda hiperdiploide en niños. *Rev Hematol Mex*, 13(4), 172–176.
95. Wakui, M., Kuriyama, K., Miyazaki, Y., Hata, T., Taniwaki, M., Ohtake, S., Tomonaga, M. (2008). Diagnosis of acute myeloid leukemia according to the WHO classification in the Japan Adult Leukemia Study Group AML-97 protocol. *International Journal of Hematology*, 87(2), 144–151. doi:10.1007/s12185-008-0025-3
96. Zwaan, M., & Heuvel-Eibrink, M. M. van. (2011). Pediatric Acute Myeloid Leukemia. In M. Antica (Ed.), *Acute Leukemia - The Scientist's Perspective and Challenge* (pp. 235–277). InTech. Retrieved from <http://www.intechopen.com/books/acute-leukemia-the-scientist-s-perspective-and-challenge/pediatric-acute-myeloid-leukemia>

ANEXOS

ANEXO A.- Anticuerpos monoclonales

Anticuerpo monoclonal	Tipo de célula	Antígeno
CD2	Células T, la mayoría de las células NK	Receptor de eritrocitos-roseta
CD3	Expresión en superficie de las células T maduras, citoplasmática	Asociado con el receptor de células T, media en la expresión de la señal en la transducción de las células T inmaduras
CD4	Linfocitos T cooperadores, monocitos	Receptor para moléculas CMH II
CD5	Los timocitos, células T maduras, subpoblación de células B	En relación con la proliferación de células T
CD7	Células T, células NK, subpoblación de células mieloides inmaduras	Proteína de 40 kDa
CD8	Células T Citotóxicas/supresores, subpoblación de células NK	Receptor para moléculas CMH I
CD10	c-LLA, células precursoras linfáticas, neutrófilos y subconjunto de células B maduras	Antígeno de la leucemia aguda común (CALA), endopeptidasa neutra
CD11b	Monocitos, macrófagos, neutrófilos, células NK	Molécula de adhesión, receptor de C3bi
CD13	Células mieloides	N- Aminopeptidasa
CD14	Monocitos y neutrófilos	Receptor de LPS (lipopolisacáridos)
CD15	Neutrófilos y monocitos	Hapteno-X, 3-fucosil-N-acetil-lactosamina
CD19	Células B precursoras, células B	Puente para la señal de inmunoglobulina de superficie
CD20	Subpoblación de células B precursoras, células B	Canal de iones, sustrato de proteína quinasa C

CD22	Expresión en superficie de las células B, la expresión citoplasmática en las células B precursoras	Molécula de adhesión relacionada las células neutrales, un puente para la señal de inmunoglobulina de superficie
CD33	Los monocitos, células precursoras mieloides, débil expresión en	glicoproteína de neutrófilos de 67 kDa
CD34	Células precursoras linfoides y mieloides	glicoproteína de 105-120 kDa
CD38	Linfocitos activados, subpoblación de células B, plasma	Glicoproteína de células de 45 kDa
CD41b	Plaquetas, megacariocitos	Glucoproteína IIb / IIIa, receptor de fibrinógeno
CD42a	Plaquetas, megacariocitos	Glicoproteína Ib, parte del receptor del factor de Willebrand
CD45	Todos los leucocitos	Antígeno T200, proteína-tirosina-fosfatasa
CD64	Monocitos, macrófagos	Receptor de alta afinidad para IgG
CD71	Células eritroides, T- activados y los linfocitos B	Macrófagos receptor de transferrina
CD79a	Linfocitos- B, incluyendo las células B inmaduras	Ig- α /mb1, parte del receptor de antígeno de células B
HLA-DR	Linfocitos B, linfocitos T activados, monocitos	Parte de las células precursoras de complejos CMH II
MPO	Expresión lisosomal en neutrófilos y monocitos	Mieloperoxidasa incluyendo células mieloides inmaduras
Tdt	Expresión nuclear en las células precursoras linfoides	Desoxinucleotidil transferasa terminal
IgM	Linfocitos pre- B y B	Cadena pesada M de inmunoglobulina

(Basso, Buldini, Zen, & Orfao, 2001)

ANEXO B.- Inmunofenotipos aberrantes en leucemia aguda.

Fenotipos aberrantes	LMA	LLA	
		Estirpe B	Estirpe T
Total casos	86%	89%	100%
1.- Infidelidad de linaje	54% CD56 (22%), CD7 (17%), CD2 (14%), CD4 (9%), CD19 (5%) CD10 (4%) CD20 Y CD22 (1%).	40% CD13 (20%), CD33 (15%), CD15 (6%), CD2 (6%), CD56 (3%), CD11b (1%).	29% CD10 (17%) CD13 (12%) HLA-DR (8%) CD117 (4%) CD33 (4%)
2.- Ausencia de expresión de antígeno	21% HLA- DR (8%), CD117 (6%), CD33 (4%), CD13 (3%), CD4 (5%), CD14 (5%).	35% CD45 (28%), CD79a (5%) CD38 (2%), HLA- DR (1%), CD20 (1%), CD22 (1%),	100% CD3 (67%) CD4 (37%) CD8 (37%) CD2 (8%) CD5 (8%)
3.- Sobre-expresión o menor expresión del antígeno	21%	35%	70%
4.- Asincronismo	26 % CD34 (+) CD15 (+): 6% CD34 (+) CD117 (-): 5% CD13 (-) CD33 (+): 4.6% CD13 (+) CD33 (-): 3% CD117 (+) CD15 (+): 2.7% HLA- DR (+) CD15 (+): 2% CD34 (+) HLA-DR (-): 2%	37% CD34 (+) CD20 (+): 24 % CD34 (+) CD10 (+): 13%	
5.- Fenotipo ectópico			96%

(Novoa et al., 2013)

ANEXO C.- Clasificación inmunológica de las leucemias agudas de estirpe linfoide.

Subgrupo inmunológico	Frecuencia en niños	Perfil de características inmunofenotípicas	Pronóstico / Observaciones
LLA linaje B			
Pro B		HLA-DR, Tdt, CD19 y CD79a positivos. CD20, Ig y CD10 negativos.	Se presenta en un 5% de los pacientes con LLA linaje B. Más común en los lactantes.
Células tempranas pre-B	60-70%	CD10, CD19, CD79a, CD22, HLA-DR, CD34 y Tdt positivo. CD20 positivo o negativo. CD24 fuertemente positivo, CD45 e IgM negativo.	Bueno, excepto en CD10 negativos, especialmente en infantes, donde se asocia con desplazamiento que implica 11q23 que resulta en el reordenamiento del gen MLL, de mal pronóstico. Esta misma translocación se asocia con la presencia de CD15 y CD69 también. La t(9;22) asocia de múltiples antígenos mieloides.
Células pre-B	20%	Cadena pesada IgM, CD10, CD19, cyCD79a y CD22, HLA-DR positivo. CD20 positivo o negativo. Tdt negativo.	Pobre en comparación con pre-B temprana, expresión de t (1; 19) (q23; q13) es el principal determinante de pronóstico adverso en pre-B. Los niños que no tienen esta lesión pronóstico similar al pronóstico de pre-B temprana.
Células maduras B	2-5%	Inmunoglobulina de superficie, HLA-DR, CD79a, CD19, CD20, CD22, CD24 positivo, CD34 y Tdt negativo	Pobre con los regímenes terapéuticos estándar de LLA; Sin embargo, los regímenes de dosis intensivas de breve duración utilizada para el linfoma de Burkitt conducen a tasas de curación de 75% o más alto.

LLA linaje T

Células pro-T		CD3 y/o CD7 positivas	Mal pronóstico se informó con anterioridad, pero con el uso reciente de una terapia más intensiva da niveles de supervivencia similares a LLA no T. En el análisis multivariante, el inmunofenotipo de las células T per se no es una variable pronostica independiente. El inmunofenotipo menos maduros tienen peor pronóstico que aquellos con inmunofenotipos más maduros. Los pacientes con CD7 en ausencia de cualquiera de CD4 o CD8 tienen una pobre supervivencia. Ausencia de expresión CD2 también se asocia a una peor evolución.
Células pre-T		CYCD3, CD7, CD2 y/o CD5 positivas.	
Células cortical	T	15-20%; poco frecuente en niños menores de 1 año de edad.	CD3, CD7, CD2 y/o CD5 y CD1a positivas, la co-expresión de CD4 y CD8.
Células maduras	T		CD3, CD7, CD2 y/o CD5 y CD3 positivo, segregada CD4 o CD8 positivos.

(Asgarian Omran et al., 2007; Basso et al., 2001; Dorantes-Acosta et al., 2013; Jennings & Foon, 1997; Orfao et al., 2006; Seegmiller et al., 2009; Varma & Naseem, 2011)

Subgrupo inmunológico	Frecuencia en niños	Pronóstico	Inmunofenotipo
LLA de linaje B con t (9, 22) (q34; q11.2); BCR-ABL1	2-4% de ALL infancia	Pobre	CD10, CD19, Tdt positivo; CD13, CD33 frecuentemente expresado; CD117 típicamente negativo
LLA de linaje B con t (v; 11q23); rearreglo MLL	Leucemia más común en los bebés. Menos comunes en los niños mayores y aumenta con la edad hasta la edad adulta.	Pobres, de alta frecuencia de afectación del SNC.	CD19, CD15 positivo; CD10, CD24 negativo
LLA de linaje B con t (12;	25% de los de linaje B.	Bueno	CD10 brillante, CD19 con

21) (p13; q22); TEL-AML1 (ETV6-RUNX1)	Caracterizado como un subgrupo de células B precursoras, se observa en niños entre 1-10 años con un pronóstico muy favorable		dim/ausente CD9, CD20
LLA de linaje B con hiperdiploidía	25% de los de linaje B, que no se ve en los bebés y disminuye en frecuencia con la edad	Bueno	CD19, CD10, cyCD22, cyCD79a, CD34 positivo; CD45 suele ser negativa
LLA de linaje B con hipodiploidia	1% de los casos de LLA. Cerca haploides ALL (23-29 cromosomas) parecen limitarse a la infancia	Pobre	Pre-B fenotipo, típicamente CD19, CD10 positivo
LLA de linaje B con t (5; 14) (q31; q32); IL3-IGH	<1% de los casos de LLA	Esta translocación no tiene impacto en el pronóstico, que no se considera que es diferente de otros casos de LLA	CD19, CD10 positivo (incluso un pequeño número de explosiones en un paciente con eosinofilia debe sugerir este diagnóstico)
LLA de linaje B con t (1; 19) (q23; p13.3); E2A-PBX1 (TCF3-PBX1)	6% de los casos de todo linaje B y el 25% de los casos de LLA pre-B	Pobre	CD10, CD19, CD9 brillante positivo, CD34 negativo, CD20 menudo ausente o débilmente positivo

(Varma & Naseem, 2011)

ANEXO D.- Clasificación inmunológica de las leucemias agudas, estirpe mieloide.

Subgrupo	Frecuencia y características	Pronóstico	Inmunofenotipo
LMA t (8; 21)(q22; q22) RUNX1-RUNX1T1; (AML1-ETO)	~5% de todas las LMA; 10% de FAB-LMA-M2; pacientes más jóvenes; grandes explosiones.	Bueno	CD34, HLA-DR, MPO, CD13; CD33 débil; CD15/65 en algunas células; CD19 aberrante, CD56.
LMA Inv(16)(p13; 1q22) o t(16; 16)(p13.1; q22); CBFB-MYH11	5-8% de todos los LMA; pacientes más jóvenes; corresponde a FAB-LMA-M4 con eosinófilos (cloroacetato positivo).	Bueno	Dos poblaciones con CD34, CD117 y CD13, CD33, CD15, CD65, MPO positividad; y otra con CD14, CD4, CD11b, CD11c, CD64, CD36, lisozima positividad; CD2 aberrante. Presencia de la población de células con alta SSC y CD45 brillante en la leucemia positiva CD2 con la diferenciación mielomonocítica es altamente sugestiva de LMA con Inv (16).
LPA t(15;17)(q22; q12); PML-RARA	5-8% de todos los LMA; poco común en los niños.	Bueno	Bajo / negativo HLA-DR, CD34, CD11a, CD11b, CD18; CD33 y CD13 positivo; frecuente coexpresión de CD2 / CD19 y CD9. El reconocimiento del fenotipo característico LMA: negativo HLA-DR, guía a la prueba de t(15; 17).
LMA t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL	9-12% LMA pediátrica; corresponde a FAB-M5.	Intermedio	CD33, CD65, CD4, HLA-DR; CD13, CD34, CD14.
LMA t(6;9)(p22;q34); DEK-NUP214	0.7-1.8%; edad más joven; niveles bajos de hemoglobina y recuento de plaquetas.	Pobre	Fenotipo mieloide no específica con la expresión coherente de la MPO, CD13, CD33, CD38 y HLA-DR.
LMA Inv(3)(q21q26.2) o t(3;3)(q21;;q26.2); RPN1-EVI1	1-2% LMA; De novo o con síndrome mielodisplásico; aumento en el conteo de plaquetas.	Pobre	Mieloide inespecífica, con marcadores megacariocíticos CD13, CD33, CD38, HLA-DR, CD41, CD61.
LMA t(1;22) (p13;q13);	<1%; bebés sin síndrome	Pobre	CD 41, CD42, CD61; CD 13 y 33 positivo /

RBM15-MKL1	de Down.		negativo; CD34, CD45 y HLA-DR negativo. CD36 es característicamente positivo.
LMA con mínima diferenciación/ LMA-M0 mielóide	5% de los casos de LMA, más frecuentes en lactantes y niños mayores.	Pobre	CD34, HLA-DR fuertemente positiva; CD13 o CD33 positivo; CD38, CD117 generalmente positiva, MPO al menos el 3% de blastos; Aberrante de CD56 o CD7 se pueden observar.
LMA sin maduración/ LMA-M1	5-10% de los casos de LMA, observa con mayor frecuencia en niños mayores.	Pobre	MPO, CD13 y / o CD33 y / o CD117, CD45, HLA-DR positivas.
LMA con maduración/ LMA-M2	10% de todos los casos de LMA, se observa en niños de mayor edad	Bueno	CD45 positivo; CD33, CD13, CD15, CD11b positivo; MPO positivo; HLA-DR frecuentemente positivos.
Leucemia promielocítica aguda / LMA-M3	poco frecuentes, el 95% de los casos tienen t (15; 17)	Bueno	CD13, CD33 positivo; CD9 positivo; MPO fuertemente positiva; CD34, HLA-DR negativo.
LMA con diferenciación monocítica LMA-M4/LMA-M5	M4-comprende 5-10% y M5 comprende <5% de los casos de LMA	Bueno	CD33, CD13, CD64, CD56, CD4, HLA-DR positivo; CD117, CD34 negativo. CD33 con CD13 y CD34 negativo es altamente predictivo de la LMA con monocítica características.
LMA con diferenciación eritroide /LMA-M6	<5% de todas las LMA	Pobre	CD45 negativo, población celular positiva a CD71 y glicoforina. Otra población de células con CD34, CD33, CD13 y MPO positivos.
LMA con diferenciación megacariocítica/LMA-M7	< 5% de LMA	Pobre	CD41, CD61, CD13, CD33 positivo; CD34, CD45, HLA-DR negativo.

MPO, mieloperoxidasa; SSC, dispersión lateral. Tomado de Varma & Naseem, 2011



ANEXO E.- Carta de consentimiento informado.

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SÁN NICOLÁS DE HIDALGO
 FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
 "DR. IGNACIO CHÁVEZ"
 DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADOS
 LABORATORIO DE CITOPATOLOGÍA MOLECULAR Y CITOMETRÍA DE FLUJO



HOSPITAL _____ MORELIA, MICH.
 Servicios de Medicina Interna – Hematología - Oncología
 U.M.S.N.H. – IMSS – SSA - ISSSTE

Carta de consentimiento para la participación de proyectos de investigación científica

Morelia, Mich., a ____ de _____ del 20__

La presencia alteraciones moleculares y la clasificación inmunofenotípica, se pueden asociar a un buen o mal pronóstico, su detección oportuna es de suma importancia para aplicar los esquemas de tratamiento más adecuados dependiendo del tipo de alteración y con ello se alcanza la remisión completa.

Por medio de la presente acepto participar en el proyecto de investigación "Caracterización inmunofenotípica, citogenética y celular de pacientes con leucemia aguda" registrado ante el comité local de investigación con el número: _____. El objetivo de este trabajo es determinar al diagnóstico el inmunofenotipo, fenotipos aberrantes y alteración molecular en pacientes con leucemia aguda y asociarlos al progreso de la enfermedad. Se me ha explicado que se utilizarán aproximadamente 10 mL de médula ósea los cuales serán tomados por punción de la cresta iliaca, esta se me realizará en la toma para definir mi diagnóstico. Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos: dolor, moretón y / o hinchamiento en el sitio de la toma de médula ósea. El investigador principal se ha comprometido a responder las preguntas o cualquier duda que yo le planteé acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo. Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento sin que esto influya sobre la atención que recibo por esta institución, así como que dicha participación no tendrá ningún costo (no pagaré por participación del estudio).

El investigador principal me ha dado la seguridad de que los datos obtenidos serán en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionar la información actualizada que se obtenga durante el estudio.

 Dr. en C Sergio Gutiérrez Castellano

 Nombre y firma del participante

Nombre del Padre o tutor

Nombre y firma de testigo

Datos que debe leer el paciente antes de firmar la carta de consentimiento

- Finalidad de la investigación: evaluar los predictores moleculares de buen pronóstico para la remisión y supervivencia en pacientes con Leucemia Mieloide Aguda (LMA) atendidos en el Hospital Infantil de Morelia.
- Naturaleza de la investigación: consiste en tomar una muestra de 5 a 10mL ya sea sangre periférica o médula ósea, posteriormente analizar la muestra para aportar un diagnóstico.
- Razones para el diagnóstico molecular: el médico puede ordenar este examen si uno tiene tipos o cantidades anormales de glóbulos rojos, glóbulos blancos o plaquetas. El examen se utiliza para diagnosticar leucemia, determinar el estado y respuesta al tratamiento de la enfermedad.
- Consecuencias y beneficios de la investigación: al momento de la toma de muestra puede haber dolor. Posterior a la toma de muestra, la aparición de un hematoma. El beneficio será conocer el resultado del diagnóstico de la muestra aportada a la investigación.
- Al presentarse una consecuencia o efecto secundario al paciente, se dará atención médica adecuada.
- De poder tomar decisiones el menor de edad, se tomara en para la autorización del consentimiento informado.
- En caso de ser menor de edad, el padre familia o tutor tiene la obligación de firmar la carta de consentimiento informado.
- De no estar de acuerdo con los datos provistos en esta carta, evitar firmar la autorización de consentimiento informado.

NOTA: En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a: Investigador Responsable: D.C. Sergio Gutiérrez Castellanos, Tel. 4431802719. Correo electrónico: sergutica@yahoo.com.mx. Colaboradores: Médico Hematopatólogo Alicia Rivera Trujillo, Tel 4431397747. D.C. Martha Eva Viveros Sandoval, Tel. 4432278553. Q.F.B. Yazmín Deyanira Hernández Manzano, Tel. 7531111691. Comisión de Ética de Investigación de la división de estudios de posgrado de Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas "Dr. Ignacio Chávez", Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Dirección: Dr. Rafael Carrillo Esq. Dr. Salvador González Herrejón, Bosque Cuauhtémoc, Col. Centro, Morelia, Mich., C.P. 58000. Tel. 443) 3 12 00 14.

ANEXO F.- Formato de recolección de datos del paciente.



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SÁN NICOLÁS DE HIDALGO
 FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS Y BIOLÓGICAS "DR. IGNACIO CHÁVEZ"
 DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADOS

LABORATORIO DE CITOPATOLOGÍA MOLECULAR Y CITOMETRÍA DE FLUJO



DATOS DE ENVIO DE MUESTRA

Nombre completo	Fecha de toma de muestra
	No. de registro (Hospital)
Edad	
Sexo	Tipo de muestra
Diagnóstico probable	
A) De <i>novo</i>	Hospital
B) En tratamiento, días post-diagnóstico	
En caso de B), definir estadio de tratamiento (días, semanas o meses)	
a) Inducción a la remisión	
b) Consolidación	
c) Mantenimiento	
d) Vigilancia	
Observaciones	

Recolección de datos en pacientes con Leucemia **AL DIAGNÓSTICO**

Fecha de ingreso		No. de registro hospitalario:	
Nombre			
		No. de afiliación:	
Sexo	Edad	Hospital	
Observaciones			

Antecedentes:

AHF.- Neoplasias hematológicas	
No hematológicas	
APNP.- Originario	Residente
Ocupación	Nivel socioeconómico

Urbano/rural		Escolaridad	
Mielotóxicos	Benceno	Solventes	Pesticidas
Electromagnéticos	Radiaciones	Quimioterapia	
Otros			
APP.- Crónicos degenerativos:		DM	HAS
Nefropatías		Hepatopatías	Hepatopatía
Neuropatía			

Síntomas al diagnóstico:

Tiempo de evolución del padecimiento			
Astenia	Adinamia	Pérdida de peso	Hiporexia
Cefalea	Mialgias	Artralgias	Dolor óseo
Disnea	Infecciones	Sangrados	
Otros			

Examen físico al diagnóstico:

Adenopatías	Palidez	Sangrados	Púrpura
Hepatomegalia	Cm	Esplenomegalia	cm
Dolor óseo			
Fiebre	Infecciones		
Infiltración extramedular			
Peso	Karnofsky (KPS)		
Otros:			
BH	Q.S	Serología	Médula ósea
Hb	Gluc.	VHB	Morfología
Hto	Urea	VHC	%
VCM	Creat.	VIH	Eritro
HCM	Colest	Chag.	Prom
Leuc.	HDL		Mielo
Neutr.	LDL		Metam
Linf.	Alb: PT		Bandas
Basof.	BT		Seg
Eos.	BD		Eos
Mono.	BI		Bas
Blastos	DHL		Linf
Coagulaci.	AST		Mono
Pla.	ALT		Plasm
TP	GGT		Blastos
TTP	AU		Megas
TT	Dep.Crea		Celular
DD			Infil
PDF			Clasif. FAB
Lisis			