

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y**  
**BIOQUIMICAS**  
**CARRERA DE BIOQUIMICA**



**CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLÓGICA,**  
**DEMOGRÁFICA Y HEMATOLÓGICA DE LAS**  
**LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS POR CITOMETRÍA**  
**DE FLUJO EN LAS GESTIONES 2011 - 2012**

**Tesis de grado presentada para la obtención del grado de Licenciatura en**  
**Bioquímica**

**POR: LUZ ESTEFANIA NERI GUARACHI**

**TUTOR: TANIA GINA TORRES ALDUNATE MSc.**

**LA PAZ - BOLIVIA**

**Abril, 2016**

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y**  
**BIOQUÍMICAS**  
**CARRERA DE BIOQUÍMICA**

Tesis de Grado:

**CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLÓGICA,**  
**DEMOGRÁFICA Y HEMATOLÓGICA DE LAS**  
**LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS POR CITOMETRÍA**  
**DE FLUJO EN LAS GESTIONES 2011 - 2012**

**Presentada por:** Univ. Luz Estefanía Neri Guarachi

Para optar el grado académico de **Licenciada en Bioquímica**

**Nota numeral:**.....**Nota Literal:**.....

**Ha sido:**.....

**Director de la carrera de Bioquímica:** Dr. Bernardo Torrico.....

**Tutor:** Dra. Gina Torres Alduante MSc.....

**Tribunal:** Dr. Luis Fernando Sosa Tordoya.....

**Tribunal:** Dra. Giovanna Dorigo Vargas.....

**Tribunal:** Dra. Zorka Castillo Vacano.....

LA PAZ - BOLIVIA

Abril, 2016

## **DEDICATORIA**

A mi PS, mis abuelitos, papás,  
hermanas y amigos, que me tuvieron  
paciencia y me apoyaron mucho,  
pero sobre todo a la sociedad para  
que sea como un granito de arena,  
que aporta al arenal.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi P. S. como yo lo concibo, a mi mamá, papá y hermanas por apoyarme incondicionalmente.

A mis amigos y guías espirituales que estuvieron ahí todo el tiempo echándome porras y escuchándome.

A mi asesora y a la Dra. Charito por tenerme tanta paciencia y siempre guiarme para cumplir el objetivo.

A los docentes de la carrera de Bioquímica que fueron conductos para mi aprendizaje académico

A la Unidad de Biología Celular de la UMSA por los equipos, el apoyo y la amistad incondicional brindada.

A LACYT SRL por el trabajo y amistad que me brindó dándome chance de escribir esta tesis y trabajar.

A México y Costa Rica por abrirme las puertas para mi crecimiento.



<b>2.8.1.1.5.</b> Leucemia Aguda Mielomonocítica (LMA M4).....	35
<b>2.8.1.1.6.</b> Leucemia Aguda Monoblástica (LMA M5).....	36
<b>2.8.1.1.7.</b> Eritroleucemia (LMA M6).....	38
<b>2.8.1.1.8.</b> Leucemia Aguda Megacarioblástica (LMA M7).....	39
<b>2.8.1.2.</b> Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS).....	41
2.8.2. El citómetro de Flujo.....	45
<b>2.8.2.1.</b> Generalidades del citómetro de flujo.....	45
<b>2.8.2.2.</b> Fundamentos y aplicaciones de la Citometría De Flujo.....	46
<b>2.8.2.3.</b> Aplicación de la Citometría de Flujo en el estudio de la leucemia...	48
<b>2.8.2.4.</b> Fenotipaje de la leucemia aguda .....	49
<b>2.8.2.5.</b> Otras aplicaciones de la Citometría de Flujo.....	51
2.8.3. La enfermedad mínima residual (EMR).....	52
<b>2.8.3.1.</b> Inmunofenotipo en EMR.....	53
2.9. Anticuerpos (Acs).....	54
2.9.1. Anticuerpos Monoclonales (AcMo).....	54
2.9.2. Cluster differentiation o grupo de diferenciación (CD).....	55
<b>2.9.2.1.</b> CD13, Aminopeptidasa N.....	56
<b>2.9.2.2.</b> CD14, Receptor para lipopolisacáridos.....	57
<b>2.9.2.3.</b> CD15, Lewis <sup>x</sup> (Le <sup>x</sup> ).....	57
<b>2.9.2.4.</b> CD33, GP67 y P67.....	58
<b>2.9.2.5.</b> CD34, mucosialina.....	58
<b>2.9.2.6.</b> CD45, antígeno leucocitario común (LCA), T200 y B220.....	59
<b>2.9.2.7.</b> Mieloperoxidasa (MPO).....	60
<b>2.9.2.8.</b> HLA-DR.....	61
<b>2.9.2.9.</b> CD11b o Mac-1.....	61
<b>2.9.2.10.</b> CD41 o GPIIb.....	62
<b>2.9.2.11.</b> CD61.....	62
<b>2.9.2.12.</b> CD16 o FcγRIII.....	62
<b>2.9.2.13.</b> Glicoforina A o CD235 a.....	63

<b>2.9.2.14.CD64</b> .....	63
3. JUSTIFICACIÓN.....	64
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	66
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	68
6. OBJETIVOS.....	69
6.1.OBJETIVO GENERAL.....	69
6.2.OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	69
7. DISEÑO METODOLÓGICO.....	70
7.1.Tipo de Estudio.....	70
7.2. Población Estudiada.....	70
7.2.1. Criterios de inclusión, selección de casos.....	71
7.2.2. Criterios de exclusión.....	71
7.3. Lugar y Tiempo.....	72
7.4. Aspectos éticos.....	72
7.5. Análisis Estadístico.....	73
8. MATERIAL Y MÉTODOS.....	74
8.1.Material Biológico.....	74
8.2.Equipos.....	74
8.3.Reactivos.....	74
8.4.Material fungible.....	75
8.5. Procedimiento.....	76
8.6.Métodos.....	77
8.6.1. Recepción de la muestra.....	77
8.6.2. Tinción May Grünwald/Giemsa.....	77
8.6.3. Observación al microscopio.....	78
8.6.4. Hemograma.....	78
8.6.5. Citometría de Flujo.....	79
8.6.6. Análisis de datos.....	80
9. RESULTADOS.....	81

9.1. Características generales de la muestra.....	81
9.2. Características demográficas de la población en estudio.....	84
9.3. Características epidemiológicas de la LMA.....	87
9.4. Características hematológicas de las LMA.....	95
9.4.1. <i>Glóbulos blancos</i> .....	95
9.4.2. <i>Plaquetas</i> .....	96
9.4.3. <i>Linfocitos</i> .....	96
9.4.4. <i>Monocitos</i> .....	97
9.4.5. <i>Neutrófilos</i> .....	98
9.4.6. <i>Glóbulos Rojos (GR)</i> .....	99
9.4.7. <i>Hemoglobina (Hb)</i> .....	99
9.4.8. <i>Hematocrito (Hto)</i> .....	100
9.4.9. <i>Volumen Corpuscular Medio (VCM)</i> .....	101
10. DISCUSIÓN.....	102
11. CONCLUSIONES.....	111
12. RECOMENDACIONES.....	113
13. BIBLIOGRAFÍA.....	114
14. ANEXOS.....	131



## INDICE DE FIGURAS

	PAG
<b>Figura 1.</b> Origen de la LMA, LMC y SMD.....	18
<b>Figura 2.</b> Evolución rápida de células inmaduras, según la clasificación de la FAB.....	20
<b>Figura 3.</b> Modelo actual del origen de la LMA.....	21
<b>Figura 4.</b> LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA MÍNIMAMENTE DIFERENCIADA (LMA M0).....	28
<b>Figura 5.</b> LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA SIN MADURACIÓN (LMA M1).....	29
<b>Figura 6.</b> LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA CON MADURACIÓN (LMA M2).....	31
<b>Figura 7.</b> LEUCEMIA AGUDA PROMIELOCÍTICA (LMA M3).....	32
<b>Figura 8.</b> LEUCEMIA AGUDA MIELOMONOCÍTICA (LMA M4).....	35
<b>Figura 9.</b> LEUCEMIA AGUDA MONOBLÁSTICA (LMA M5).....	36
<b>Figura 10.</b> ERITROLEUCEMIA (LMA M6).....	38
<b>Figura 11.</b> LEUCEMIA AGUDA MEGACARIOBLÁSTICA (LMA M7).....	39
<b>Figura 12.</b> Célula marcada con anticuerpos monoclonales intracelulares y extracelulares.....	55
<b>Figura 13.</b> Flujograma de trabajo empleado.....	76
<b>Figura 14.</b> Grupos de edad de la población con LMA (6 meses a 18 años). Bolivia 2011-2012.....	83
<b>Figura 15.</b> Grupos de edad de la población con LMA (18 a 82 años). Bolivia 2011-2012.....	84
<b>Figura 16.</b> Subtipos de LMA según cuartiles de edad. Bolivia 2011-2012.....	91

## ÍNDICE DE TABLAS

	PAG
<b>Tabla 1.</b> Alteraciones moleculares y pronóstico.....	21
<b>Tabla 2.</b> Clasificación FAB de LMA.....	27
<b>Tabla 3.</b> Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS).....	44
<b>Tabla 4.</b> Antígenos de superficie y citoplasma para el diagnóstico de LMA.....	50
<b>Tabla 5.</b> Panel base para linaje mielóide.....	80
<b>Tabla 6.</b> Características generales de la muestra. 2011-2012.....	82
<b>Tabla 7.</b> Distribución de personas con LMA según género y edad. Bolivia 2011-2012.....	85
<b>Tabla 8.</b> Distribución de personas con LMA según género y residencia. Bolivia 2011-2012.....	86
<b>Tabla 9.</b> Distribución de personas con LMA según edad y región. Bolivia 2011-2012.....	87
<b>Tabla 10.</b> Subtipos de LMA según género. Bolivia 2011-2012.....	88
<b>Tabla 11.</b> Razón (Hombre: Mujer) del número de casos de LMA. Bolivia 2011-2012.....	89
<b>Tabla 12.</b> Subtipos de LMA según edad. Bolivia 2011-2012.....	89
<b>Tabla 13.</b> Subtipos de LMA según promedio de edad. Bolivia 2011-2012.....	90
<b>Tabla 14.</b> Subtipos de LMA según región. Bolivia 2011-2012.....	92
<b>Tabla 15.</b> Tasa de LMA por 100.000 habitantes según región y gestión, menor 18 años. Bolivia 2011-2012.....	93
<b>Tabla 16.</b> Tasa de LMA por 100.000 habitantes según región y gestión, mayor a 18 años. Bolivia 2011-2012.....	94
<b>Tabla 17.</b> Subtipos de LMA según los niveles de Glóbulos Blancos. Bolivia 2011-2012.....	95

<b>Tabla 18.</b> Subtipos de LMA según los niveles de Plaquetas. Bolivia	
2011-2012.....	96
<b>Tabla 19.</b> Subtipos de LMA según los niveles de Linfocitos. Bolivia	
2011-2012.....	97
<b>Tabla 20.</b> Subtipos de LMA según los niveles de Monocitos. Bolivia	
2011-2012.....	98
<b>Tabla 21.</b> Subtipos de LMA según los niveles de Neutrófilos. Bolivia	
2011-2012.....	98
<b>Tabla 22.</b> Subtipos de LMA según los niveles de Glóbulos Rojos. Bolivia	
2011-2012.....	99
<b>Tabla 23.</b> Subtipos de LMA según los niveles de Hemoglobina (Hb).	
Bolivia 2011-2012.....	100
<b>Tabla 24.</b> Subtipos de LMA según el porcentaje del Hematocrito. Bolivia	
2011-2012.....	100
<b>Tabla 25.</b> Subtipos de LMA según los niveles del Volumen Corpuscular Medio.	
Bolivia 2011-2012.....	101

## INDICE DE ANEXOS

	PAG
<b>Anexo 1.</b> INFILTRADO DE BLASTOS MIELOIDES M1>90% EN MÉDULA ÓSEA.....	131
<b>Anexo 2.</b> ESTIMADO A 5 AÑOS DE PREVALENCIA DE CASOS DE CÁNCER (X1000), POBLACIÓN ADULTA.....	131
<b>Anexo 3.</b> RECEPCIÓN DE MUESTRAS.....	132
<b>Anexo 4.</b> BASE DE DATOS FILEMARKER PRO 8.....	132
<b>Anexo 5.</b> TINCIÓN MAY GRÜN WALD/ GIEMSA.....	133
<b>Anexo 6.</b> ANALIZADOR HEMATOLÓGICO HORIBA, MICROS 60.....	133
<b>Anexo 7.</b> RESULTADO IMPRESO POR EL ANALIZADOR DE HEMATOLOGÍA.....	134
<b>Anexo 8.</b> CENTRIFUGAS UTILIZADAS: a) EBA 20 Hettich de 8 tubos b) eppendorff 5702 de 34 tubos.....	135
<b>Anexo 9.</b> CITÓMETRO DE FLUJO UTILIZADO.....	135
<b>Anexo 10.</b> PROGRAMA UTILIZADO PARA EL ANÁLISIS CellQuest Pro.....	136
<b>Anexo 11.</b> PROGRAMA UTILIZADO PARA EL ANÁLISIS Paint-A-Gate.....	137

CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLOGICA, DEMOGRÁFICA Y HEMATOLÓGICA  
DE LAS LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN  
LAS GESTIONES 2011 - 2012

**RESUMEN**

En el mundo, la leucemia se encuentra entre los 5 tipos de neoplasias más frecuentes, así como en Bolivia, ya que en SEDES se aseveró que la leucemia es el cáncer más frecuente en la población infantil y Amaru publicó sobre la frecuencia de leucemia aguda, que va en aumento. La LMA es el segundo tipo de leucemia que se presenta en mayor porcentaje después de la LLA; por todo esto se vio la importancia de estudiar esta patología.

El presente estudio determinó la frecuencia de LMA en Bolivia con relación a las variables clínico-demográficas según los parámetros obtenidos en la Unidad de Biología Celular de la Facultad de Medicina-UMSA durante las gestiones 2011 y 2012. Para lo cual se evaluaron 90 muestras de pacientes con LMA, 83 fueron nuevos casos y 7 pacientes regresaron para un control después del tratamiento. A estos pacientes se les hizo el análisis morfológico, el hemograma, el estudio inmunofenotípico por Citometría de Flujo, y a los pacientes con LMA M3 se les hizo estudios de biología molecular.

Los pacientes fueron divididos en dos grupos de edades, de 6 meses hasta 18 años se consideraron como niños (35,6%) y de 18 en adelante adultos (58%).

La relación hombre mujer fue de 1:0,8, siendo para el género masculino un 56,7% y para el género femenino un 43,3%. Tomando en cuenta la procedencia de los pacientes fueron más los de Santa Cruz (37,8%), La Paz (25,6%) y Cochabamba (23,3). Los subtipos más frecuentes fueron M1 (52,2%) y M2 (17,8%). Según los parámetros hematológicos los pacientes presentaron anemia muy severa, de tipo normocítica, con recuento de blancos leucemoides y trombocitosis.

Los resultados que se obtuvieron en este estudio fueron muy parecidos a los que se publicó en Colombia, Brasil, o Perú, pero brindando un gran aporte al proporcionar datos característicos de Bolivia, datos necesarios para estudios posteriores al ser insuficientes los encontrados en el Ministerio de Salud.

**Palabras Claves:** Leucemia Mieloide Aguda, Citometría de Flujo, Parámetros hemáticos

## **EPIDEMIOLOGIC, DEMOGRAPHIC AND BLOOD CHARACTERIZATION OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA BY FLOW CYTOMETRY (2011 - 2012)**

### **ABSTRACT**

Worldwide, the leukemia is among the five most common types of cancers as well as in Bolivia, as was asserted at S.E.D.E.S that leukemia is the most common cancer in children and Amaru published on the incidence of acute leukemia that is increasing. AML is the second type of leukemia that occurs at a higher rate after the LLA; for all of this was the importance studying this disease.

This study determined the frequency of AML in Bolivia in relation to the clinical-demographic variables as the parameters obtained in the Cell Biology Unit of the Faculty of Medicine-UMSA during 2011 and 2012. For this purpose 90 samples were evaluated AML patients, 83 were new cases and 7 patients returned for control after treatment. These patients were asked morphological analysis, blood count, immunophenotypic study by flow cytometry, and M3 AML patients were asked molecular biology studies.

The Patients were divided into two age groups, children were considered from 6 months to 18 years (35.6%) and adults 18 and over (58%).

The male female ratio was 1: 0.8, for males 56.7% and for 43.3% female. Considering the origin of the patients were more of Santa Cruz (37.8%), La Paz (25.6%) and Cochabamba (23.3). The most common subtypes were M1 (52.2%) and M2 (17.8%). According to hematological studies they had severe anemia, normocytic type, with thrombocytosis, leukemoid count and white.

The results obtained in this study were very similar to those published in Colombia, Brazil or Peru, but giving a great contribution to provide characteristic data, data needed for subsequent studies found to be insufficient in the health Ministry.

**Keywords:** acute myeloid leukemia, flow cytometry, blood parameters.

## ABREVIATURAS

Ac: Anticuerpo

AcMo: Anticuerpo Monoclonal

Acs: Anticuerpos

Ag: antígeno

AMBE: alfa naftilbutirato esterasa

AMO: aspirado de médula Osea

ANAE: Alfa nafilacetato esterasa - esterasa inespecífica

ATRA: ácido all-trans-retinoico

BCR-ABL: breakpoint cluster region - Abelson

BFU-E: células formadoras de colonias eritroides

CAE: Cloro acetato esterasa

CD: Cluster differentiation, grupo de diferenciación

CFU-E: unidad formadora de colonia eritrocítica

CFU-GEMM: unidad formadora de colonia de célula madre mieloide multipotencial

CFU-MEGA: unidad formador de colonia de megacariocitos

CID: coagulación intravascular diseminada

Cit: citoplasma

DCs: células dendríticas

EMR: Enfermedad Mínima Residual

FAB: Grupo Francés-Americano-Británico

FITC: Isotiocianato de fluoresceína

FSC: Forward scatter component, dispersión frontal de luz

GRAN: granulocitos

HLA - DR: Antígeno leucocitario humano - molécula relacionada

Igs: Inmunoglobulinas

IPSS-R: revised International Prognostic Scoring System

kDa: kilodaltons

LBP: proteína de unión a los polisacáridos

LGC: leucemia granulocítica crónica  
Lin-: ausencia de expresión de antígenos específicos de línea celular  
Lin+: expresión de antígenos específicos de línea celular  
LLA: Leucemia Linfocítica Aguda  
LLC: Leucemia Linfocítica Crónica  
LMA: Leucemia Mieloide Aguda  
LMC: Leucemia Mieloide Crónica  
LPA: Leucemia Promielocítica Aguda  
LPS: lipopolisacáridos  
LsB: Linfocitos B  
MEGA: megacariocito  
MO: Médula ósea  
Mon: Monocitos  
MPO: mieloperoxidasa  
OMS: Organización Mundial de la Salud  
PAS: ácido periódico Schiff  
PE: Ficoeritrina  
PerCP: Proteína Clorófila Peridina  
PML-RARA a: promyelocytic leukemia-retinoic acid receptor, alpha  
POX: peroxidasa  
Pro GRAN: Pro granulocitos  
Pro Mon: Pro monocitos  
PSC: Célula madre pluripotente  
SBB: Sudan Black B o Negro de Sudan B  
SMD: Síndrome Mielo Displásico  
SP: sangre periférica  
TdT: desoxinucleotidiltransferasa terminal  
UFC-GM: unidad formadora de colonias granulomonocíticas



## 1. INTRODUCCIÓN

Las leucemias mieloides agudas (LMA) son un grupo heterogéneo de enfermedades que se caracterizan por la infiltración de células neoplásicas del sistema hematopoyético en sangre, médula ósea y otros tejidos. Comprenden una serie de procesos malignos que, si no se tratan, suelen evolucionar o empeorar rápidamente hacia la muerte. (Harrison, 2009).

Los eventos genéticos de mutación que tienen lugar en las primeras etapas, durante la maduración de la célula madre que no son corregidos, pueden originar leucemia. Otros factores son la exposición a agentes causales, como quimioterápicos, los de radiación y ciertos solventes, además de que pasen de 5 a 10 años puede que se presente el desarrollo de esta patología. Muchos casos de leucemia secundaria evolucionan a partir de una “fase pre leucémica” prolongada manifestada como un síndrome mielodisplásico de hipo producción con maduración anormal y sin comportamiento maligno. Finalmente, el análisis de las células precursoras en una etapa más temprana que la clona maligna expandida en un tipo determinado de leucemia, puede revelar anomalías genéticas como monosomía o trisomía de diferentes cromosomas. De acuerdo con el tema molecular general de la neoplasia, en la clona maligna se presentan cambios genéticos adicionales, comparados con la célula madre morfológicamente normal que la precede en el desarrollo (McPhee, 2007).

La incidencia de leucemia a nivel mundial junto a otras neoplasias va creciendo cada año, siendo mayor el porcentaje en varones que en mujeres y el porcentaje de LMA va aumentando con la edad, sabiendo que el promedio de vida de los seres humanos también va aumentando, es decir que se presenta más en personas adultas. En los últimos 10 años se ha observado un aumento importante en la incidencia de LMA, más o menos viendo que en la década de los 90 la incidencia era de 2 a 3 pacientes por cada 100000 habitantes, y ahora la incidencia va de 4 a 5 pacientes por cada 100000 habitantes (Juliusson, 2012; Merino, 2007; Howlader, 2015).

El 2010 en los Estados Unidos se calcula que más o menos acaecieron 17200 nuevos casos de leucemia mieloide (Harrison, 2012).

En Latinoamérica y el Caribe en el 2012, se presentaron 27510 casos, es decir 4.8 casos por 100000 habitantes en un 5.8% de todas las neoplasias malignas en ambos géneros (Globocan, 2012). Además por estudios actuales en Estados Unidos pacientes hispanos de 0 a 14 años la incidencia es de 0,8 y en blancos no hispanos es de 0,7 y en pacientes de, 15 a 19 años es de 1,0 y en blancos no hispanos es de 0,9 (ACS, 2012).

Los datos de las leucemias en Bolivia en la Unidad de Biología Celular (UBC) a partir de 1999 hasta el 2012 llegaron a 1473 casos, aumentando nuevos casos en los últimos años con una tasa de incidencia de 13,8 por 100000. (Amaru, 2008 - 2012).

En otros países existen bastantes estudios sobre la prevalencia, incidencia y correlación de marcadores fenotípicos de las LMAs, tomando a la Citometría de Flujo como una herramienta muy importante en estos últimos 15 años, para ayudar en el diagnóstico de la leucemia, así como para evaluar la enfermedad mínima residual (EMR).

La persistencia de EMR en pacientes tratados, se asocia con un peor pronóstico, de modo que su cuantificación forma parte del seguimiento de rutina. El grado de EMR evalúa la efectividad del tratamiento, proporcionando información útil para la toma de decisiones terapéuticas (Rubnitz, 2010).

El inmunofenotipo con la ayuda del citómetro de flujo y programas de adquisición y análisis como el Cell Quest Pro, Paint A Gate, e Infinicyt permiten en un corto tiempo dar un diagnóstico certero de LMA, diferenciando de las leucemias linfoblásticas agudas (LLA), las leucemias bifenóticas o las leucemias crónicas.

Se hace importante la verificación del hemograma, ya que es necesario conocer los valores de los neutrófilos, al diagnóstico, porque este es un valor predictor (IPSS) para pacientes con SMD y como sabemos el 5% se presenta en estos, después de haber sido diagnosticados con SMD.

Hoy en día el diagnóstico se basa en el estudio morfológico, la Citometría de Flujo y la biología molecular. Teniendo la ventaja el proceso realizado por citometría de flujo,

ya que, este se lleva a cabo de manera más rápida, es decir, en dos horas se obtiene los resultados con una sensibilidad de  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$ , con una aplicabilidad al 90% de los pacientes, a diferencia del proceso realizado por biología molecular, que tarda de tres a hasta quince días y tiene una sensibilidad de  $10^{-5}$ , con una aplicabilidad de 10 a 50% de los pacientes, además nos permite reconocer aberraciones fenotípicas de las células analizadas, y los datos pueden valorarse como estadísticamente significativos por la cantidad de células que se toman y pueden ser evaluados cuali-cuantitativamente (Domingo, 2011).

Por todo lo mencionado se ve la necesidad de tener datos estadísticos y específicos de leucemias mieloides para poder manejar con mayor amplitud de conocimientos a los pacientes en Bolivia, ya que esto nos permitiría en un posterior estudio observar la relación que tiene el inmunofenotipo con el pronóstico y características citogenéticas que presenta un paciente con LMA.

El presente estudio tiene por objetivo determinar la frecuencia relativa de las leucemias mieloides agudas (LMA) con relación a las variables clínico-demográficas según los parámetros de la Unidad de Biología Celular de la Facultad de Medicina-UMSA durante las gestiones 2011 y 2012.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Médula Ósea Normal**

En la médula ósea normal los predecesores hematopoyéticos CD34+ presentan estadios madurativos bien definidos como son los precursores linfoides y los precursores mieloides (Matarraz, 2008). Los precursores linfoides B CD34+/CD19+ muestran además positividad nuclear para la enzima deoxinucleotidil transferasa terminal (TdT), expresión débil de CD45 y CD22, expresión citoplasmática (cy) de CD79a y reactividad fuerte para CD10 y HLA-DR entre otros marcadores (Orfao, 2004a; van Lochem, 2004; Lucio, 1999; Ciudad, 1998). Los precursores que dan origen al linaje mieloides muestran expresión débil de CD45 así como de los marcadores CD117, CD123, HLA-DR, CD38, CD71 y CD13, también presentan expresión parcial de CD15 y de mieloperoxidasa (MPO) a nivel citoplasmático (van Lochem, 2004; Matarraz, 2008).

Al iniciar la maduración hacia la línea granulocítica, monocítica y eritroide la célula va perdiendo progresivamente la molécula CD34 en su superficie e incrementa los niveles de expresión de CD45, CD13, CD33; disminuye la reactividad para CD117 (van Lochem, 2004; Matarraz, 2008) y a medida que estas células se desarrollan, van expresando de forma dinámica marcadores específicos de los mismos.

El incremento en la expresión de MPO se relaciona con la maduración hacia neutrófilo, la adquisición de CD64 y/o CD14 se observa en la línea monocítica, y la pérdida de expresión de CD45, más la fuerte positividad para CD71, la adquisición de glicoforina A (CD235a) y CD36 dirigen la maduración hacia el linaje eritroide (van Lochem, 2004; Matarraz, 2008).

Por publicaciones y estudios realizados se demostró que los promielocitos son característicamente CD13<sup>++</sup>/CD11b<sup>-</sup>, los mielocitos CD13<sup>+</sup> débil/CD11b<sup>-</sup>, los metamielocitos CD13<sup>-</sup>/CD11b<sup>+</sup> y los neutrófilos CD13<sup>+</sup>/CD11b<sup>++</sup> (Orfao, 2004a; van Lochem, 2004; Roa-Higuera, 2010). Así también se vio que MPO, CD15, CD33, y CD16 se expresan en esta línea desde el estadio de promielocito, los cuales permanecen hasta el estadio de neutrófilo maduro (van Lochem, 2004).

El linaje monocítico a medida que se va diferenciando a promonocito y monocito se observan variaciones fenotípicas que incluyen aumento en la expresión de CD45, CD64 y CD33; disminución de los niveles de expresión de CD15 y adquisición del marcador CD14 en monocitos (Roa-Higuera, 2010).

Las células dendríticas (DCs) derivadas de monocitos expresan niveles altos de CD16 (van Lochem, 2004).

Las células de linaje eritroide presentan la pérdida secuencial de CD45, van adquiriendo en su superficie el receptor de transferrina CD71 en conjunto con el CD235a (glicoforina A), hasta que el eritrocito maduro pierde el CD71, conservando el marcador CD235a (Roa-Higuera, 2010).

Se ampliaron varios estudios con las diferencias inmunofenotípicas entre las distintas subpoblaciones de DCs de MO estableciendo que las DCs mieloides son CD11c<sup>+++</sup>/CD33<sup>+++</sup>/CD16<sup>-</sup>/CD123<sup>+</sup>, las DCs derivadas del monocito son CD11c<sup>+</sup>/CD33<sup>+++</sup>/CD16<sup>+</sup>/CD123<sup>+</sup>, mientras que las DCs plasmocitoides son CD11c<sup>+</sup>/CD33<sup>-</sup>/CD16<sup>-</sup>/CD123<sup>++</sup>. Todas estas células expresan HLA-DR con variable positividad para marcadores mielomonocíticos, moléculas de adhesión (CD11a, CD18), receptores para complemento (CD21, CD35, CD23) y receptores de quimioquinas (CXCR4, CXCR3) (Orfao, 2004b; Martin-Martin, 2009).

Los mastocitos, con una baja frecuencia reportada a nivel de MO normal, expresan CD34<sup>+</sup>/CD117<sup>+</sup>/CD13<sup>+</sup> (Roa-Higuera, 2010), así también expresan dos marcadores fenotípicos con alta intensidad: el antígeno CD117 y el receptor Fc de la IgE (FceRI) (Escribano, 2006), pero estas moléculas no son específicas de este subgrupo celular, porque el CD117 es positivo en progenitores mieloides de MO y en células de origen no hematopoyético (p.ej. melanocitos) y el FceRI es positivo también en basófilos (Ruiz-Arguelles, 2006; Escribano, 2006). Otras moléculas que se expresan en los mastocitos son CD45, CD71, CD44, CD13, CD11b, y CD40 (Escribano, 2006).

Los basófilos población de baja frecuencia en MO, con la expresión de CD123, otros marcadores de linaje mieloide como CD13 y CD11b y en ausencia de expresión de HLA-DR, (Matarraz, 2008).

## **2.2.Leucemia**

La leucemia es una proliferación maligna en la médula ósea donde se observan células hematopoyéticas inmaduras de tipo blástico, que se originan de una alteración genética del linaje mieloide y linfoide del tejido hematopoyético (Anexo Nro.1). Esta malignidad es clonal donde una sola célula se divide dando una progenie de células anormales. (Amaru, 2008)

El porcentaje de células blásticas en la médula, necesarios para un diagnóstico de leucemia aguda tradicionalmente fue arbitrariamente fijado en 30% o más (Gamal, 2011).

Sin embargo, recientemente se han propuesto sistemas de clasificación que han bajado el recuento de blastos a un 20% para muchos tipos de leucemia, y no requieren ningún porcentaje mínimo de células blásticas, cuando ciertas características morfológicas y citogenéticas están presentes (Domingo, 2011; LLS, 2011).



### **2.3. Leucemia Mieloide Aguda**

Este tipo de leucemia es conocida por leucemia mielógena aguda, leucemia mieloblástica aguda, leucemia no linfocítica aguda (LNLA) y leucemia mieloide aguda (LMA) (INC, 2009; SACC, 2011; McPhee, 2007).

Es una enfermedad neoplásica originada por la mutación somática de un progenitor mieloide único en alguna de las fases diferenciadas de la maduración celular, esto se debe a las mutaciones adquiridas en las células mieloides que causan problemas con el proceso normal de diferenciación; como consecuencia, hay una gran cantidad de células inmaduras, llamadas mieloblastos o blastocitos (Orfao, 2004a). Los blastocitos no funcionan como células sanguíneas sanas, totalmente desarrolladas. El gran número de blastocitos también reduce la producción de glóbulos rojos y plaquetas sanas. Por tanto, las personas con LMA generalmente son anémicas (ya que no tienen suficientes glóbulos rojos), son más propensas a las infecciones (los neutrófilos maduros están disminuidos) y tienen hematomas o sangran con facilidad (debido al bajo recuento de plaquetas). (SACC, 2011; ASCO, 2011; Duque, 2006).

### **2.4.Etiología**

A los pacientes que se les diagnosticó LMA se ha atribuido que la causa de su leucemia fue por herencia, radiaciones, contacto con fármacos y/o con sustancias

químicas, además de otros productos del medio laboral. No hay pruebas directas que sugieran una etiología vírica.

#### **2.4.1. Herencia**

Ciertos síndromes con aneuploidía cromosómica de las células somáticas, como por ejemplo la trisomía de par 21, que se observa en el síndrome de Down se asocian con mayor incidencia de LMA. Las enfermedades hereditarias con reparación defectuosa del DNA, como anemia de Fanconi, síndrome de Bloom y ataxia-telangiectasia se asocia con esta patología. La neutropenia congénita (Síndrome de Kostmann) que es una enfermedad con mutación en el receptor del factor estimulador de las colonias granulocíticas y de las elastasas de neutrófilos evoluciona a LMA. Por otros estudios también los síndromes mieloproliferativos pueden evolucionar a esta enfermedad (Orfao, 2004a). Las mutaciones de las líneas germinativas CCAAT/proteína potenciadora de la unión alfa, factor de transcripción relacionado con el factor renacuajo 1 (RUNX1), proteína tumoral p53 se han asociado con mayor predisposición a LMA (Esteve, 2007).

#### **2.4.2. Radiaciones**

Los sobrevivientes a las explosiones de las bombas atómicas lanzadas sobre Japón o los sobrevivientes al accidente de un reactor nuclear tuvieron mayor incidencia,

alcanzando su acmé cinco o siete años después de la explosión. La radiación terapéutica únicamente parece tener poco riesgo de producir LMA (SACC, 2011).

### **2.4.3. Exposición a sustancias químicas y otros productos**

El benceno que se utiliza como disolvente en la industria química, la fabricación de plásticos, gomas y productos farmacéuticos se vincula con mayor incidencia.

El hábito de fumar y la exposición a los derivados del petróleo, las pinturas, los líquidos para embalsamar, el óxido de etileno, los herbicidas y plaguicidas también conllevan al aumento del riesgo de padecer esta patología (ASCO, 2011).

### **2.4.4. Fármacos**

La principal causa de esta enfermedad, relacionada con los fármacos son los antineoplásicos. Las leucemias vinculadas con los alquilantes, estas leucemias aparecen por término medio de cuatro a seis años después de la exposición y los individuos afectados presentan anomalías de los cromosomas 5 y 7. Las leucemias vinculadas a un inhibidor de la topoisomerasa II presentan LMA después de uno a tres años luego de producirse el contacto con el fármaco, y las personas que enferman suelen tener anomalías que afectan a la banda cromosómica 11q23. El cloranfenicol, la fenilbutazona, y con menos frecuencia la cloroquina y el metoxipsoraleno, pueden provocar insuficiencia de la médula ósea, y estas evolucionan a veces hacia la LMA (Harrison, 2008).

## **2.5. Manifestaciones clínicas.**

### **2.5.1. Síntomas**

Los pacientes con LMA consultan casi siempre por síntomas inespecíficos de comienzo paulatino o brusco consecutivos a anemia, leucocitosis, leucopenia o a trastornos funcionales de los leucocitos o que guardan relación con la trombocitopenia.

Casi 50% de los pacientes han tenido síntomas durante tres meses o menos antes de ser diagnosticados de leucemia (Harrison, 2008) (Palomo, 2009).

El cansancio es el primer síntoma en el 50% de los pacientes, pero la mayor parte se queja de debilidad al momento del diagnóstico. Con frecuencia hay anorexia y pérdida de peso. La fiebre, acompañada o no de una infección identificable, es el primer síntoma en casi el 10% de los casos. El 5% de los pacientes advierten signos de hemostasia anormal (sangrado, fácil con los roces). En ocasiones hay dolores óseos, adenopatías, tos inespecífica, cefalalgia o sudores como síntomas iniciales (Harrison, 2008).

Son raros los pacientes que consultan por la aparición de una lesión en forma de tumoración situada en los tejidos blandos, la mama, el útero, los ovarios, la duramadre craneal o raquídea, en el tubo digestivo, los pulmones, el mediastino, la próstata, los

huesos u otros órganos. Estas masas son verdaderas tumoraciones de células leucémicas y se llaman sarcomas granulocíticos o cloromas. En estos pacientes puede aparecer una LMA típica al mismo tiempo, más adelante o nunca. Esta rara forma de manifestarse la LMA es la más frecuente en los pacientes con translocaciones t (8; 21) (Palomo, 2009).

### **2.5.2. Signos físicos**

En el momento del diagnóstico se detectan fiebre, esplenomegalia, hepatomegalia, linfadenopatías, dolor del esternón a la palpación y manifestaciones de infección y hemorragia, con gran frecuencia en la leucemia promielocítica aguda (LPA) se observan intensas hemorragias gastrointestinales e intrapulmonares o intracraneales.

En la LMA monocítica y con grados extremos de leucocitosis o trombocitopenia en otros subtipos morfológicos surge hemorragia, acompañada de coagulopatía. Se detectan hemorragias de retina en 15% de los pacientes. La infiltración de las encías, piel, tejidos blandos o meningitis con células leucémicas blásticas al momento del diagnóstico es característica de los subtipos de leucemias monocíticas y en aquellos con anomalías cromosómicas 11q23 (Palomo, 2009).

### **2.5.3. Datos hematológicos**

Al hacer el diagnóstico suele haber anemia, que puede ser importante. Su intensidad varía mucho independientemente de las demás alteraciones hematológicas, de la esplenomegalia o de la duración de los síntomas. Se trata por lo común de una anemia normocítica y normocrómica. La disminución de la eritropoyesis produce menor número de reticulocitos y la supervivencia de los eritrocitos está abreviada porque estos elementos se destruyen con mayor rapidez. Las hemorragias también contribuyen a anemia (Gomes, 2011).

La media del primer recuento de leucocitos puede ser de unos 15000/ul. En 25 a 40 % de los pacientes hay cifras menores a 5000/ul y 20% tienen mayor a 100000/ul. En menos del 5% no se encuentran células leucémicas en la sangre periférica. La morfología de las células malignas varía en diferentes grupos. En la LMA, el citoplasma a menudo contiene gránulos primarios (inespecíficos) y el núcleo muestra cromatina fina entretejida con uno o más nucléolos característicos de células inmaduras. Los gránulos anormales en forma de bastón, conocidos como bastones de Auer, no están presentes de manera uniforme, pero cuando lo están casi con certeza se trata de la línea celular mieloide. El trastorno de la función de los neutrófilos se puede deducir por el deterioro de la fagocitosis y de la migración (Harrison, 2008).

Al momento del diagnóstico se encuentran cifras de plaquetas menores a 100000/ul en casi el 75% de los pacientes, y alrededor de 25% tiene recuentos menores a 25000/ul. Al principio, cuanto menor es el conteo de plaquetas en la sangre de un paciente con LA, mayor será el poder proliferativo del clon leucémico (Gomes, 2010).

Pueden verse alteraciones morfológicas y funcionales de las plaquetas, como plaquetas grandes, con granulaciones anormales, e incapaces de agregarse o de adherirse normalmente (Gomes, 2011).

## **2.6.Epidemiología**

A nivel mundial acontecen 350434 nuevos casos de leucemias, con una incidencia de 5 por 100000 habitantes, además de una mortalidad calculada de 3,8 por 100000 habitantes (Globocan, 2012). En varones se presenta una incidencia de 5,8 y en mujeres la incidencia es de 4,3, con una razón hombre: mujer de 1,3:1. El 59,9% de los casos registrados se producen en los países en desarrollo, 210000 casos aproximadamente (Ferlay, 2008). Las tasas de incidencia de leucemia varían bastante entre las regiones del mundo, desde 0 hasta 19,7 casos por 100000 habitantes. Las tasas más altas se presentan en Estados Unidos, Canadá, Europa y Australia, el país con mayor número de pacientes con leucemia es Grecia con una incidencia calculada para cinco años de 19,7 y una mortalidad de 12,9 por 100000 habitantes (Globocan, 2012); las tasas más bajas ocurren

en países del África como en Cavo Verde con una incidencia de 0, como se observa en el anexo Nro.2, así como en Oceanía. (Curado, 2007; Globocan, 2012).

En cuanto a mortalidad a nivel mundial tenemos 3,8 y una prevalencia en cinco años de 7,4, es decir, un estimado de 257000 muertes en el año 2012, convirtiendo a la leucemia en la séptima causa de muerte por cáncer en ambos géneros (Globocan, 2012). Las tasas de mortalidad más altas se encuentran en países del Oriente Medio, Europa y en Estados Unidos (Ferlay, 2008; Globocan, 2012).

En latinoamérica y el Caribe se presenta en un 5,8% de todas las neoplasias malignas en ambos géneros, con 27510 casos en el 2012, es decir 4,8 casos por 100000 habitantes (Globocan, 2012). Además por estudios actuales en Latinoamérica en pacientes de 0 a 14 años la incidencia en hispanos es de 0,8 y en blancos no hispanos es de 0,7 y en pacientes de 15 a 19 años en hispanos es de 1,0 y en blancos no hispanos es de 0,9 (ACS, 2012)

En general las tendencias en la incidencia de leucemias han permanecido estables o con un leve incremento, teniendo un pico de incidencia en el grupo de niños menores de cinco años, desciende en el grupo de 5 a 9 años, y a partir de los 10 años se incrementa en forma exponencial con la edad (IARC-OMS, 2008).



En relación a la sobrevida a 5 años, la información más reciente de Estados Unidos indica que LMA en menores de 15 años alcanza tasas de sobrevida de 60%, experimentando un incremento importante desde la década de los años 70 cuando la sobrevida apenas era de 19%. El mismo análisis para todos los grupos de edad muestra que la sobrevida llega a niveles de 54%; sin embargo hay diferencias entre la población blanca (55%) y la población afro-americana (46%) (Jemal, 2011).

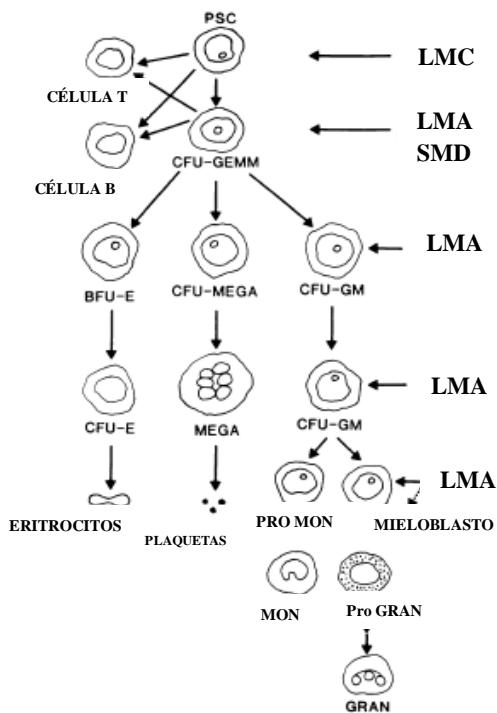
En el Perú, de acuerdo a los resultados de los registros de cáncer poblacional de Lima, Trujillo y Arequipa, se ha estimado que en el año 2004 se presentaron 1389 nuevos casos de leucemia (Poquioma, 2007). En la ciudad de Trujillo las leucemias ocupan el séptimo lugar en incidencia; las leucemias mieloides presentan tasas de 3,2 en hombres y 2,7 en mujeres (INEN, 2011); en Arequipa se encuentra que las leucemias mieloides representan el 1,7 por 100000 habitantes en ambos géneros, el 1,1 en hombres y 2,4 en mujeres (INEN, 2011). En Lima Metropolitana, para el período 2004-2005, la leucemia mieloides presentó una tasa de 2,14 casos por 100000 habitantes, un promedio de 181 casos por año, la tasa de incidencia en mujeres fue de 1,9 y en hombres 2,4 (INEN, 2011).

En Bolivia la última publicación refiere que de un total de 1473 casos recibidos en la Unidad de Biología Celular (UBC) para el diagnóstico de leucemias desde 1999 hasta mayo del 2012; 30% fueron de LMA, en niños se presentaron 172 casos y en adultos 176 casos, para hacer un total de 348 casos mostrando un importante porcentaje después de las LLA con 894 casos (Amaru, 2008, 2012).

La LMA pediátrica es la menos frecuente entre todas las leucemias agudas en niños, la frecuencia es igual entre niños y niñas, el subtipo predominante es la LMA-M1 (40%). En cambio las LMAs en adultos constituyen el 30% del total de las leucemias y se observa un aumento después de los 60 años con predominio en varones, los subtipos más frecuentes corresponden a la LMA-M1 y LMA-M2. (Amaru, 2008, 2012).

## 2.7. Origen clonal de la LMA

**Figura 1** Origen de la LMA, LMC y SMD



La leucemia se origina por el daño en las células hematopoyéticas (figura 1), que pueden ser afectadas por varias mutaciones, como ser la mutación en la célula madre progenitora (PSC), desencadenando así una LMC; pero si la mutación afecta a la colonia de unidades formadoras de células mieloides, puede producirse una LMA o un SMD.

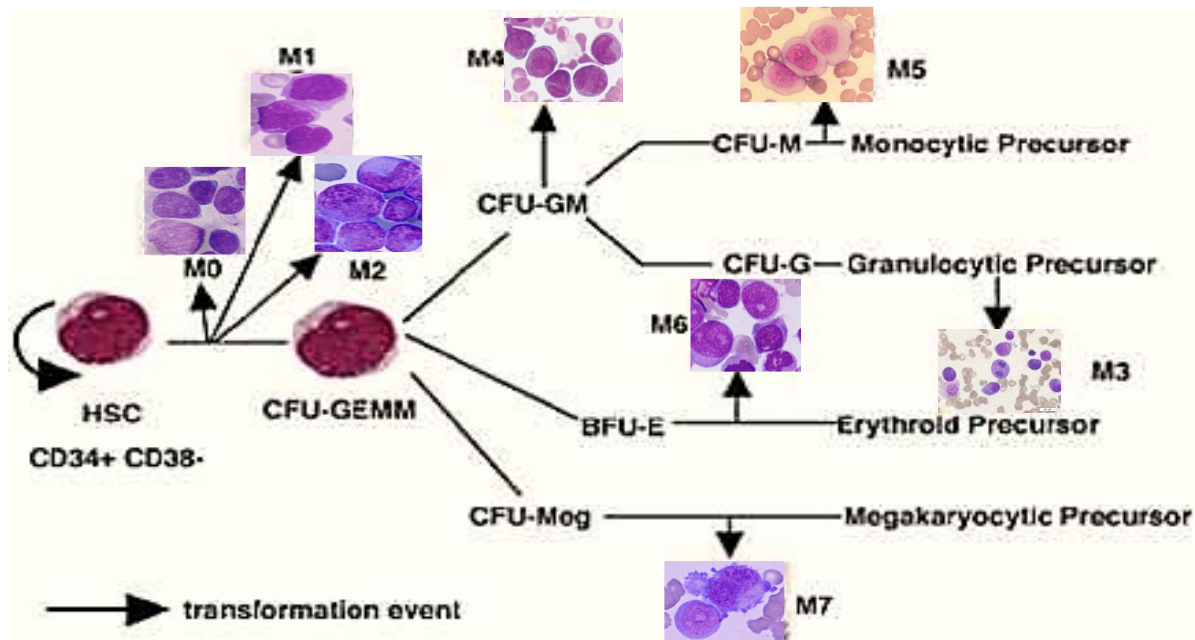
**Fuente:** Griffin, 1986, modificado por Neri, 2015

Si las mutaciones afectan a las colonias de unidades formadoras de progenitor de granulocitos y monocitos (CFU-GM), colonia de formadora de megacariocitos (CFU-MEGA), o las unidades formadoras de diferenciación a eritrocitos (BFU-E), también pueden desencadenar en una LMA, así como si la afección llega a colonias de unidades formadoras de granulocitos (CFU-G), colonia de unidades formadoras de macrófagos (CFU-M).

La LMA es una enfermedad que se origina como resultado de la expansión clonal de una sola célula hematopoyética inmadura, célula que presenta una evolución rápida a células inmaduras, que se ven impedidas de funcionar normalmente.

El primer modelo propuesto y que por mucho tiempo fue considerado como la visión general sobre el origen de LMA, fue que ésta puede surgir en distintas poblaciones de células hematopoyéticas (Fialkow, 1981) (Haase, 1995). Lo que determina que la patología tenga manifestaciones particulares y que clínicamente sea clasificada dentro de alguna de las 8 categorías (M0 - M7) es el estadio de maduración y el grado de compromiso de dichas poblaciones hacia un linaje específico. Por ejemplo, de acuerdo a este modelo, la LMA M1 se originaría en una población celular más primitiva que la LMA M3, LMA M5 o la LMA M6 (Figura.2) (Montesinos, 2001).

**Figura 2.** Evolución rápida de células inmaduras, según la clasificación de la FAB.



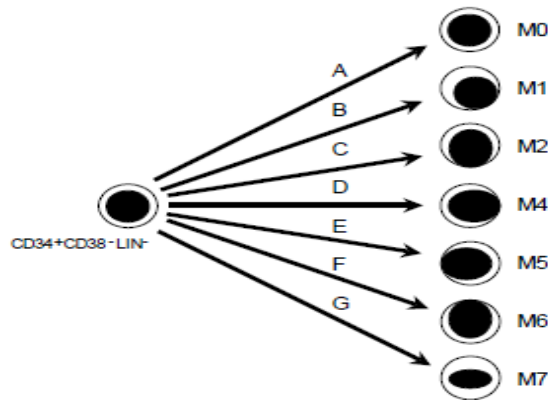
**Fuente:** Cabral, 2007, modificado por Neri, 2016

La célula hematopoyética inmadura ha sufrido una transformación molecular, es decir alteraciones en la expresión de ciertos genes, por lo tanto, dependiendo donde ha sufrido la alteración se puede desarrollar el subtipo de LMA, como por ejemplo si las mutaciones se presentan en CFU-G puede darse una LMA M3, o si la afección es en CFU-M puede originarse una LMA M5. (Montesinos, 2001).

Otro modelo ha sido propuesto recientemente, este plantea la posibilidad de que, en todos los casos (M0 - M7), la LMA se origina de una misma población de células hematopoyéticas primitivas, con inmunofenotipo CD34+ CD38- Lin- (Ausencia de expresión de antígenos específicos de línea celular); (Mehrotra,1995) (Dick, 1999),

dependiendo de la naturaleza de las alteraciones genéticas que se presenten, la clona leucémica seguirá un cierto patrón de comportamiento biológico y éste, a su vez, determinará sus características clínicas (Figura.3) (Turham, 1995).

**Figura 3.** Modelo actual del origen de la LMA.



**Fuente:** Montesinos, 2001

Dependiendo del tipo de alteraciones moleculares que se presenten (A-G), será el subtipo de la LMA que se desarrolle (Tabla 1). La única excepción que parece existir es la LMA - M3, en la que la transformación parece ocurrir en células progenitoras granulocíticas.

**Tabla 1.** Alteraciones moleculares y pronóstico.

Subtipo de LMA	Citogenética	Pronóstico
M0 (A)	No bien establecidos	Indeterminado
M1 (B)	t(9;22) (q34;q11)	Malo
	t(3;3) (q21;q26)	Indeterminado
	inv(3) (q21;q26)	Indeterminado
	9q- (q26)	Indeterminado

Subtipo de LMA	Citogenética	Pronóstico
M2 (C)	t(8;21) (q22;q22)	Bueno (si aislada)
	t(7;11) (p15;p15)	Indeterminado
M2 (C)	t(6;9) (p23;q34)	Malo
	12p- (?)	Indeterminado
M3	t(15;17) (q25;q22)	Bueno
M4 (D)	del/t(11) (q13-14)	Indeterminado
	inv(16) (p13;q22)	Bueno
	t(16;16) (p13;q22)	Bueno
	del(16) (q22)	Indeterminado
M5 (E)	t(9;11) (p22;q23)	Intermedio
	t(11;19) (q23;q13)	Indeterminado
	t(10;11) (p11;q23)	Indeterminado
	del(11) (q23)	Indeterminado
	<i>(Banda clave: 11q23)</i>	Indeterminado
	t(8;16) (p11;p13)	Indeterminado
M6 (F)	No bien establecidos	Indeterminado
M7 (G)	t(1;22)(p13;q13)	Indeterminado

**Fuente:** Feliu, 2008, modificado por Neri 2013

La LMA M3 (Leucemia Promielocítica Aguda; LPA), es el tipo de leucemia que está caracterizada por la expresión del gen quimérico PML-RAR $\alpha$ , proteína quimérica producto de la t(15;17) que actúa como represor transcripcional (Montesinos, 2011). En un estudio realizado por Turhan 1995 y colaboradores, se observó que las células CD34<sup>+</sup> CD38<sup>-</sup> (que incluyen a las células seminales y a los progenitores más inmaduros) de pacientes con LPA, no expresaban el gen quimérico, mientras que la población de progenitores hematopoyéticos intermedios y maduros CD34<sup>+</sup> CD38<sup>+</sup> sí lo expresaba, lo que apoya que se origina en una subpoblación de progenitores hematopoyéticos

comprometidos a un linaje específico y con cierto grado de maduración (Montesinos, 2001).

En médula ósea patológica la Citometría de Flujo multiparamétrica es de gran utilidad en la identificación y recuento de blastos (Orfao, 2004a; Alhan, 2014) y en la evaluación de fenotipos aberrantes donde se encuentran infidelidad de linajes, asincronismos madurativos, infra-expresión y sobre-expresión antigénica (Orfao, 2004a). Los fenotipos altamente asociados con anomalías genéticas recurrentes son: t(15;17) en leucemia promielocítica aguda con promielocitos aberrantes CD15-/+ débil, CD33++; inv(16)/t(16;16) que se relaciona con la expresión de MPO fuerte, CD2-/+ débil y presencia de monocitos aberrantes; t(8;21) con expresión de CD19 y CD56, o los casos con anomalías a nivel de 11q23 se asocian al fenotipo CD56+, CD2-/+ y CD19-/+ débil (Orfao,2004a). Conjuntamente, se observan patrones afectados en tamaño, complejidad, alteraciones en la distribución numérica de los mieloblastos, linfoblastos y otras subpoblaciones celulares (Orfao, 2004a).

En mieloblastos de SMD se reportan aberraciones fenotípicas que incluyen variaciones en la intensidad de los marcadores CD45, CD34, HLA-DR y CD117, con expresión aberrante de CD15, CD36, CD7 y CD11b (Alhan, 2014). Así también se reportan anormalidades en la granularidad en la línea granulocítica (Stetler-Stevenson, 2001) con sobre-expresión e infra-expresión de los antígenos CD45, CD13, CD33, CD11b, CD16 y CD64 con pérdida de expresión de CD10 y expresión aberrante de CD34 y CD14. En la estirpe monocítica se ha reportado sobre-expresión e infra-expresión de

CD13, CD33, patrones anormales en la expresión de CD11b, HLA-DR, CD14, CD64 y CD36 (Alhan, 2014). Se reportan anomalías en la expresión de CD45, CD71, CD235a y CD117 en la línea eritroide. Se divisan aberraciones fenotípicas en los mastocitos con mucha frecuencia en casos de mastocitosis sistémicas y leucemias de mastocitos, donde se observa ganancia de marcadores de linaje linfóide CD2 y CD25 (en más del 90% de los casos) en conjunto con CD117, por lo que constituyen marcadores muy útiles para diferenciar mastocitos normales de los mastocitos aberrantes en estas enfermedades (Escribano, 2006). Por lo que la identificación de fenotipos aberrantes al momento del diagnóstico representa una herramienta de gran utilidad en el seguimiento de la enfermedad post-tratamiento, es decir la enfermedad mínima residual (Vidriales, 2003).

## **2.8. Clasificación de las leucemias**

Las leucemias se clasifican según su agresividad en leucemias agudas, subagudas (mielodisplasias) y las leucemias crónicas, en el grupo de leucemias agudas está la leucemia mieloide aguda (Li, 2010).

### **2.8.1. Clasificación de las leucemias agudas**

La leucemia aguda se pueden clasificar de muchas maneras, por morfología y citoquímica complementada con el inmunofenotipo, según lo propuesto por el grupo



Franco-Americano-Británico (FAB) (Bennet, 1976), otra propuesta es de la Organización Mundial de la Salud para leucemia aguda (Harris, 1999), por último sólo por inmunofenotipo, según lo presentado por el Grupo Europeo que caracteriza las leucemias inmunológicamente (EGIL) (Bene, 1995; Hayhoe, 1988).

En sí, el propósito de una clasificación patológica es que se reúnan los casos con similitudes fundamentales, para poder identificar la causa, la patogénesis y la historia natural (Bain, 2010).

#### **2.8.1.1. Clasificación según la FAB**

La clasificación FAB para LLA y LMA se basa en la morfología y tinción citoquímica de blastos (Cheson, 1990).

La clasificación tradicional de leucemia aguda es la que utiliza criterios propuestos por el grupo cooperativo FAB, utilizando la médula ósea con un 30% de células neoplásicas (Bennett, 1985). Este sistema de clasificación originalmente distingue diferentes tipos de leucemia por características morfológicas y estudios citoquímicos, particularmente mieloperoxidasa (o negro Sudán B) y la tinción no específica de esterasa. Ha sido revisado para incluir los tipos de leucemia que sólo podían ser identificados con precisión con la adición de inmunofenotipificación o estudios de microscopía electrónica

(Bennett, 1991). Aunque la clasificación FAB no distinguió grupos inmunofenotípicos de leucemias linfoblásticas agudas, no reconoció la importancia de los cambios mielodisplásicos en leucemias mieloides agudas o anormalidades citogenéticas en cualquiera de los tipos de leucemia, y dio lugar a algunas subcategorías de poca importancia clínica, este sistema proporcionó directrices muy claras para la clasificación. Además, algunos distintos subtipos de leucemia, como la leucemia promielocítica aguda y especialmente leucemia mieloides aguda con eosinófilos anormales, se correlacionaron con aberraciones citogenéticas específicas y tenían características clínicas únicas, y permanecen en los sistemas de clasificación propuestos recientemente.

El esquema de clasificación original propuesto por el Grupo Cooperativo franco-americano-británico (FAB) divide a la LMA en 8 subtipos (M0 a M7). Aunque los blastos de la LMA evolucionan a partir de los precursores mieloides comunes, los 8 subtipos difieren en el grado de maduración. Tal como se especifica en la tabla 2, LMA M0 se designa con un mínimo de diferenciación morfológica o citoquímica, LMA M1-2 con diferenciación granulocítica mínima o moderada, M3 leucemia promielocítica aguda (LPA), LMA M4 con diferenciación mixta mielomonocítica, M5a y leucemia M5b monoblástica con diferenciación mínima o moderada, M6a leucemia mieloides con eritropoyesis de antecedentes displásicos, M6b leucemia eritroblástica aguda y M7, leucemia aguda megacarioblástica.

Esta clasificación se lleva a cabo mediante un examen de la apariencia de las células leucémicas al microscopio óptico o mediante técnicas citogenéticas, con el fin de

caracterizar las posibles anomalías cromosómicas. Los subtipos de LMA han mostrado diferencias en el pronóstico y en la respuesta a la terapia. Aunque la clasificación de la OMS parece ser más útil en muchos de los aspectos clínicos, el sistema FAB sigue siendo ampliamente utilizado y es útil para la diferenciación en laboratorio.

**Tabla 2.** Clasificación FAB de LMA.

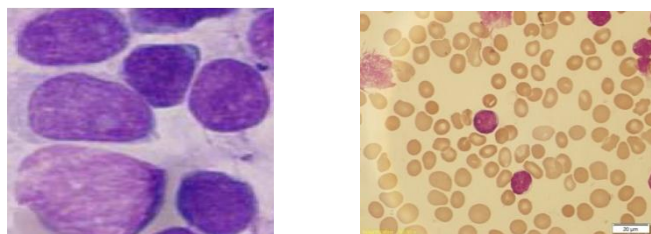
<b>Subtipo</b>	<b>Características</b>	<b>% de casos</b>
M0	Leucemia mínimamente indiferenciada. > 90 % de blastos, Peroxidasa positiva en < 3% de blastos Blastos usualmente positivos para CD13,CD33,CD34,CD117, CD11b, CD15 o MPO Sin evidencia de diferenciación citoquímica	< 5%
M1	Leucemia mieloblástica sin maduración > 90 % de Blastos > 3 % Positvas para POX o SBB 10 % de granulocitos o monocitos en proceso de maduración Se puede confundir con LLA	15-20%
M2	Leucemia mieloblástica aguda con maduración 30 -90 % de Blastos > 10 % de células granulocíticas < 20 % de células monocíticas Blastos positivos para POX o SBB	25 a 35%
M2v	Leucemia mielóide aguda con maduración (variante) Precursores eosinofílicos de morfología aparentemente normal. Negativos para PAS y CAE Son blastos grandes con numerosos gránulos asurofilos o incluso pseudo Chédiak-Higashi. Las células CD34 presentan una coexpresión para CD19 o CD56.	
M3	Leucemia promielocítica aguda (LPA) variante hipergranular Promielocitos anormales con granulación densa Presencia de bastones de Auer POX o SBB intensamente positivos en los promielocitos anormales y de aspecto sucio	5-10%
M3v	LPA, variante microgranular o hipogranular Los blastos no tienen que ser necesariamente > a 30% Son positivos intensamente para POX o SBB, pueden ser débilmente positivos o negativos para ANAE.	1-3%

Subtipo	Características	% de casos
M4	Leucemia aguda mielomonocítica (LAMM) > 30 % de Blastos > 20 % pero 80 % de células monocíticas, Aunque en MO tenga patrón de M2, pero en sangre son > a 5000 células monocíticas/mm <sup>3</sup> comprobadas por ANAE	20-30%
M4Eo	LAMM médula displásicas con eosinófilos Eosinófilos anormales positivos para CAEy PAS, > 5 % de eosinófilos. Poseen el cariotipo con t(16:16) o inv(16)	5-10%
M5	Leucemia aguda monoblástica (LAMo) o monocítica sin maduración, positivo para ANAE	10-20%
M5b	Leucemia aguda monocítica con maduración LAMo, diferenciados Monoblástica / promonocítica < 80 % de monoblastos < 20 % de células granulocíticas	2 – 10%
M6	"eritroleucemia" o leucemia eritroide aguda > 50 % de células eritrocíticas 30 % de blastos no eritroides granulares o agranulares	3-5%
M7	Leucemia aguda megacarioblástica (LAMC) > 30 % de megacarioblastos En citometría son positivos para CD41, CD61	< 5%

**Fuente:** Montesinos, 2001; Camos, 2007, Gomes, 2011 y Gamal, 2011 modificado por Neri 2014

### 2.8.1.1.1. Leucemia Mieloblástica Aguda Mínimamente Diferenciada (LMA M0)

**Figura 4** LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA MÍNIMAMENTE DIFERENCIADA (LMA M0)

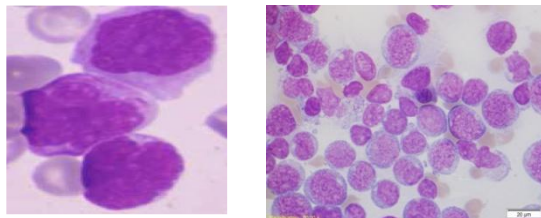


**Fuente:** Caracterización de las leucemias mieloides agudas por Citometría de Flujo en las gestiones 2011 – 2012

Es el subtipo de LMA común en pacientes adultos, de todos los pacientes con esta patología se dice que del 5 al 10%, presentan este subtipo (Gamal, A. 2011). Estos pacientes presentan leucocitosis en 40% de los casos y > 50% con leucocitopenia. Las células de estos pacientes presentan menos del 3% de blastos positivos para la peroxidasa o reaccionan con Negro de Sudán B (Gomes, 2011). En citometría los blastos son usualmente positivos para CD13, CD33 o CD117, CD34, pero existen casos donde se presentan como fenotipos aberrantes a TdT que puede también coexpresarse junto a CD7 (Venditti, 1998; Perea, 2011) así como pueden coexpresar los antígenos linfoides T (CD2) o B (CD19). La médula ósea aspirada es hipercelular en todos los pacientes y contienen un gran número de blastos leucémicos (Bennette, 1991). Casi no se ven células mieloides maduras, entre el 79 y 100% son blastos. Los blastos van de pequeños a medianos, redondeados con un núcleo excéntrico. Los núcleos a menudo tienen forma aplanada y a veces lobulada o troceados y contienen una cromatina fina con varios nucléolos diferenciados. El citoplasma es ligeramente basófilo sin gránulos. No se encuentran bastones de Auer (Figura 4) (Gomes, 2011; Gamal, 2011).

#### **2.8.1.1.2. Leucemia Mieloblástica Aguda Sin Maduración (LMA M1)**

**Figura 5:** LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA SIN MADURACIÓN (LMA M1)

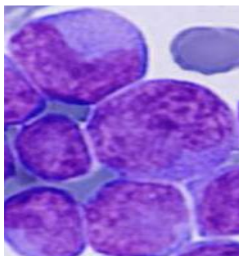


**Fuente:** *Caracterización de las leucemias mieloides agudas por Citometría de Flujo en las gestiones 2011 – 2012*

Subtipo que se encuentra en todos los grupos de edad, con mayor incidencia se observa en adultos y en niños menores de un año, con un promedio de 45 y 50 años (Gomes, 2011). Se encuentra con un recuento de leucocitos de 700 a 485000/mm<sup>3</sup> y con un porcentaje promedio de 77% de blastos, el 50% de los casos se presenta con leucocitosis, 25 % con leucopenia y 25% con recuento normal de leucocitos al momento del diagnóstico, porcentaje que va aumentando con el tiempo (Gomes, 2011). La célula predominante en sangre periférica por lo general es un mieloblasto pobremente diferenciado con fina cromatina reticulada y nucleolos prominentes. Los bastones de Auer se encuentran en los blastos en un 50% de la M1. Si no hay evidencia de presencia de gránulos o bastones de Auer, estos blastos pueden parecerse a los linfoblastos L2 (véase en figura 5). La mieloperoxidasa o el Negro de Sudán B son positivos en más del 3% de los blastos que indican diferenciación de granulocitos, así el diagnóstico es más probable que sea LMA-M1 que LLA. (Bennett, 1976). El ácido periódico de Schiff (PAS), alfa-naftil acetato esterasa y naftol AS-D-esterasa son negativos. Alrededor del 50% de los pacientes han adquirido aberraciones cromosómicas clonales en las células leucémicas. Los antígenos mieloides presentes son: CD13, CD14, CD15, CD 33 y CD34 frecuentemente positivos en la leucemia M1. La anomalía citogenética más común es: t (9; 22) (q34; q11) (Gamal, A. 2011), pero no existe marcador citogenético específico para las LMA M1, pero comúnmente se presentan como leucemias sensibles al tratamiento y tienen buen pronóstico, excepto cuando se asocian a cariotipos típicamente conservados o con hiperleucocitosis (Gomes, 2011).

### 2.8.1.1.3. Leucemia Mieloblástica Aguda Con Maduración (LMA M2)

**Figura 6:** LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA CON MADURACIÓN (LMA M2)



*Fuente: Caracterización de las leucemias mieloides agudas por Citometría de Flujo en las gestiones 2011 – 2012*

La presentación de los síntomas para LMA M2 es similar a los del tipo M1. Los leucocitos aumentan en un 50% de los pacientes. Los mieloblastos se pueden encontrar generalmente en los frotis de sangre y puede ser el tipo celular predominante. La mayoría de las células comunes que se observan en M2 son los Pseudopelger-Huet o de núcleo pelgeroide, y citoplasma hipogranular (Figura 6) (Gamal, 2011).

La médula ósea es hipercelular y los tipos I y II de mieloblastos forman del 30 al 83% de los promielocitos a madurar de las células segmentadas. El componente monocítico es menor en un 20%, en la diferenciación M2 de M4. Los basófilos en algunos pacientes (M2 baso) se incrementan. Los eosinófilos y sus precursores pueden ser abundantes, en algunos casos y supone hasta el 15% en el mielograma (Berger y Flandrin, 1984). La característica que distingue LMA-M2 de LMA-M1 es la presencia de maduración más allá de la etapa del promielocito. La maduración anormal de neutrófilos LMA-M2 aparece integrada con la translocación t (8;21) (q22;q22), que es de buen pronóstico; las M2 relacionadas a otro tipos de cariotipos poseen pronóstico variable, por

ejemplo con t(9;22) (q34;q11), t(11;17)(q23;q25) o t(6,9) (p23;q34) son de pésimo pronóstico; con t(11;17)(p15;p15) son de pronóstico intermedio (Gomes, 2011).

Los neutrófilos pueden mostrar muchas segmentaciones nucleares anormales y bastones de Auer.

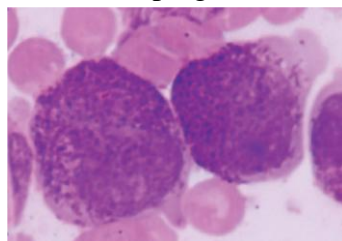
En el estudio citoquímico la mieloperoxidasa (MPO) es la reacción a menudo de poco valor práctico porque la naturaleza es de origen granulocítico de LMA-M2. El fluoruro de sodio no inhibe la esterasa. La reacción con PAS y esterasa no específica son negativas.

Los marcadores inmunológicos que se expresan en este subtipo fuertemente son MPO, CD13, y CD15 (Gamal, 2011, Gomes, 2011). Puede haber aumento de la expresión del antígeno linfoide NK CD56 y menos comúnmente, del antígeno CD19 en las células CD34 positivas. (Gomes, 2011).

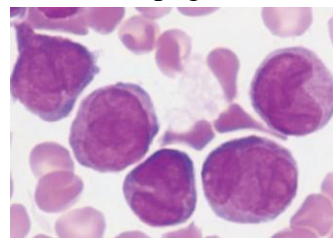
#### **2.8.1.1.4. LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA (LPA o LMA M3)**

**Figura 7:** LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA (LPA O LMA M3).

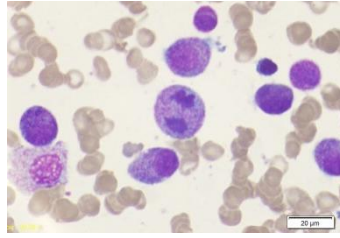
M3 Hipergranular



M3 Hipogranular







***Fuente:*** Caracterización de las leucemias mieloides agudas por Citometría de Flujo en las gestiones 2011 – 2012

Este subtipo de LMA se caracteriza por el bloqueo madurativo de diferenciación granulocítica en la fase de promielocitos. Se clasifica morfológicamente por el grupo FAB en hipergranular (clásica) o variante hipogranular (M3v). En el 80% de los casos de M3 los promielocitos anormales son hipergranulares y aproximadamente el 20% de los casos los promielocitos neoplásicos no presentan granulación azurófila (Bennett, 1980; Gomes, 2011). La M3 es de particular interés ya que resulta en la fusión truncada del receptor del ácido retinoico alfa (RAR-alfa) en el cromosoma 17 para formar una unidad de transcripción llamada PML (para leucemia promielocítica) en el cromosoma 15, es decir presentan la mayoría de los casos el cariotipo t(15;17) (q22;q11-12). Cuando los blastos son grandes, con abundante citoplasma, el núcleo suele ser irregular, es a menudo bilobulado o marcadamente manchado y se puede observar un nucleolo en cada lóbulo. El citoplasma está completamente ocupado por apretados gránulos grandes, manchas de color rosa brillante, rojo o púrpura (Figura 7).

Las células que contienen bastones de Auer "faggots" distribuidos al azar en el citoplasma, son característicos, pero no están presentes en todos los casos.

Se cree que la liberación de un gran número de gránulos promielocíticos, contienen un procoagulante que inicia la coagulación intravascular diseminada (CID).

Esta es la complicación más grave que se produce con frecuencia, tanto en LMA-M3 hipergranular, así como su variante hipogranular( LMA M3v) (McKenna, 1982).

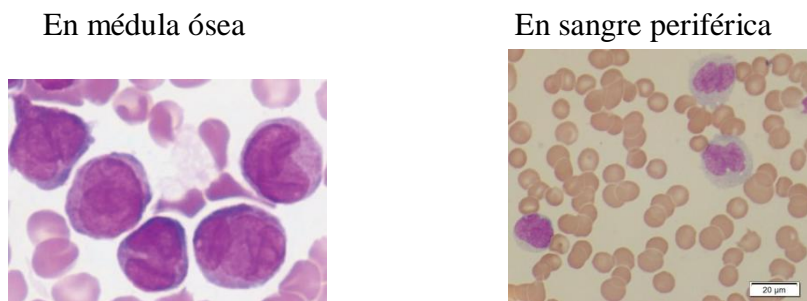
En el análisis citoquímico se observa peroxidasa y negro sudán B positivamente fuertes, así como la reacción con MPO, igualmente en la variante de LMA-M3.

El PAS es negativo y la esterasa no específica es débilmente positiva; los estudios inmunológicos demuestran la positividad de MPO, CD13, CD15 y CD33 que son antígenos mieloides. LMA M3 con t(15; 17) se caracteriza generalmente por la asociación de marcadores linfoides, CD2 y CD19, con marcadores mieloides y la negatividad de HLA-DR y CD34 (Gamal, A. 2011).

En el hemograma de las M3 hipergranulares se presenta característicamente con pancitopenia, con moderada a grave plaquetopenia. En cerca del 75% de los casos de M3 hipergranular, los conteos de leucocitos están por debajo de 10000/mm<sup>3</sup>. Por otro lado, las M3v usualmente se presentan con conteos elevados de leucocitos (Gomes. 2011).

#### 2.8.1.1.5. Leucemia Aguda Mielomonocítica (LAMM o LMA M4)

**Figura 8:** LEUCEMIA AGUDA MIELOMONOCÍTICA (LAMM o LMA M4).



**Fuente:** *Caracterización de las leucemias mieloides agudas por Citometría de Flujo en las gestiones 2011 – 2012*

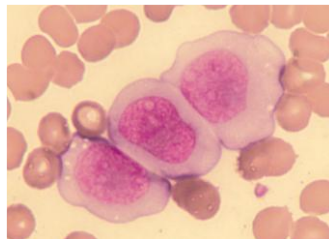
Se distingue de M1, M2, M3 y por una mayor proporción de células monocíticas de leucemia en la médula ósea y/o en la sangre. Está presente hiperplasia gingival con sangrado en los pacientes. Los niveles en suero y orina de muramidasa (lisozima) son generalmente elevados a causa de la proliferación de monocitos. El recuento de leucocitos suele aumentar en las células monocíticas (monoblasto, promonocitos, monocitos), que se incrementan a 5000 cel/ul o más. La anemia y trombocitopenia están presentes en casi todos los casos. La médula difiere de M1, M2 y M3 en exceso de células monocíticas en un 20% de las células nucleadas no eritroides. La suma de las células mielocíticas incluyendo mieloblastos, promielocitos y granulocitos posteriores es  $> 20\%$  y  $< 80\%$  de células eritroides. En la figura 8, la médula ósea se ve con un recuento de monocitos de sangre periférica de 5000cel/ul o más que es compatible con un diagnóstico de M4 (Gamal, A. 2011).

El perfil citoquímico incluye reacciones positivas para negro Sudán B o peroxidasa y tanto esterasa específica y no específica. Unos pocos casos de LMA M4 se caracterizan por el aumento de eosinófilos de médula y clasificados como M4Eo, que es una variante eosinofílica de la M4 (Berger, 1985; Gomes, 2011). Los estudios inmunológicos demuestran positividad para los marcadores CD13, CD33, CD11b y CD14 (Gamal, A. 2011).

En el estudio citogenético se puede observar la inversión (16) (p13; q22), (16:16) (p13; q22), y del (16) (q22), las dos primeras inversiones se asocian con la variante de M4E o (Gamal, A. 2011, Gomes, 2011).

#### **2.8.1.1.6. Leucemia monoblástica aguda (LMoA o LMA M5)**

**Figura 9:** LEUCEMIA MONOBLÁSTICA AGUDA (LMoA o LMA M5)



**Fuente:** *Caracterización de las leucemias mieloides agudas por Citometría de Flujo en las gestiones 2011 – 2012*

Estos pacientes presentan una alta frecuencia de infiltración extra medular en hígado, bazo, pulmones, colon, meninges, ganglios linfáticos, vejiga, laringe e hiperplasia gingival; son de pronóstico reservado, con remisión completa en 50 a 70% de los casos,

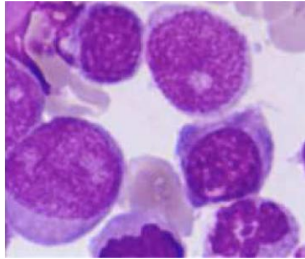
pero de corta duración y con alta tasa de recidiva después del trasplante de médula (Gomes, 2011). Los niveles séricos y urinarios de muramidasa son a menudo extremadamente altos. El único criterio para un diagnóstico de M5 es que el 80% o más de todas las células no eritroides presentes en médula ósea son células monocíticas. Hay dos formas distintas M5a (índice de maduración <4%) y M5b (índice de maduración >4%). En M5a los granulocitos son <20%, monocitos > 80% y monoblastos >80%. En M5b los granulocitos <20%, monocitos >80% y monoblasto <80% (caracterizada por la presencia de todas las etapas de desarrollo de los monocitos; monoblasto, promonocitos, monocitos) (Figura 9) En las tinciones citoquímicas no específicas se observa la esterasa y  $\alpha$ -Naftil Esterasa que son positivos, además el PAS es negativo. Mieloperoxidasa y negro Sudán B tienen una débil y difusa actividad en el monoblasto.

El uso de  $\alpha$ -Naftil Butirato Esterasa (ANBE) es ventajoso debido a su mayor grado de especificidad, fuerte reacción, y debido a la inhibición de fluoruro de sodio que no es requerida (Shibata, 1985). Los estudios inmunológicos expresan CD11b y CD14.

Existe una fuerte asociación entre la LMA M5/M4, por la translocación que involucra a la banda 11q23 (Gamal, A. 2011) por medio de traslocaciones t(9;11)(p22;q23); t(11;19) (q23;p13,1), t(1;11) (p12;q23), aun cuando pueda haber tales alteraciones citogenéticas también en ciertos casos de LMA M2, M4, raramente M7, y en las LLAs (Gomes, 2011).

#### 2.8.1.1.7. "Eritroleucemia" (LMA M6)

**Figura 10:** "ERITROLEUCEMIA"(LMA M6)



*Fuente:* Caracterización de las leucemias mieloides agudas por Citometría de Flujo en las gestiones 2011 – 2012

La LMA M6 es una rara forma de leucemia que afecta principalmente a las células periféricas. No hay diferencia de género para que afecte a los niños. Las manifestaciones clínicas son similares a otros tipos de LMA. Los cambios más dominantes en la sangre periférica son la anemia con poiquilocitosis y anisocitosis.

Glóbulos rojos nucleados demuestran configuración nuclear anormal. Los leucocitos y las plaquetas son generalmente disminuidos, es decir con un pancitopenia.

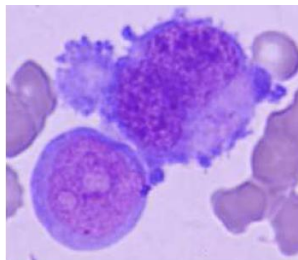
Los blastos periféricos generalmente están en pequeño porcentaje o, en algunos casos, hasta ausentes. El diagnóstico de la eritroleucemia se puede realizar cuando más del 50% de todas las células nucleadas de la médula ósea son eritroides y 30% o más de todas las restantes células no eritroides son tipo I o tipo II de células blásticas (Bennett, 1985). El eritroblasto es anormal, con extrañas características morfológicas. Las formas comunes son gigantes multinucleadas o multilobular (Figura 10). Otras características

son: la fragmentación de los cuerpos Howell-Jolly, sideroblasto en anillo, cambios en células megaloblásticas y la disfunción en la eritropoyesis, que son aspectos comunes. La citoquímica de eritroblastos normalmente es PAS negativa, pero en la LMA-M6, los eritroblastos son especialmente pronormoblastos que demuestra positividad en PAS. Las células blásticas expresan una variedad de antígenos mieloides asociados, como CD13, CD33, anti-MPO con o sin expresión de marcadores de células precursoras, es decir, CD34 y HLA-DR. En las formas variantes de M6, las células más diferenciadas pueden ser detectados por la expresión de glicoforina A y la ausencia de marcadores mieloides (Gamal, A. 2011).

Las alteraciones citogenéticas más comunes comprenden los cromosomas 5 y 7, en individuos ancianos o con síndrome de Down (Gomes, 2011).

#### **2.8.1.1.8. Leucemia aguda megacarioblástica (LAMC o LMA M7)**

**Figura 11: LEUCEMIA AGUDA MEGACARIOBLÁSTICA (LAMC o LMA) M7)**



**Fuente:** (Gomes, 2011)

Según Gomes la M7 es un raro y heterogéneo subtipo de LMA, que se origina de megacarioblastos inmaduros, se presenta como una transformación de leucemia

granulocítica crónica (LGC) y el síndrome mielodisplásico (SMD). Se caracteriza al momento del diagnóstico por la pancitopenia. La sangre periférica muestra micromegacariocitos y blastos indiferenciados. La biopsia de médula ósea muestra la presencia de más del 30% de células blásticas, un aumento de fibroblastos y/o aumento de la reticulina. El diagnóstico de la M7 se debe sospechar cuando las células blásticas muestran protrusión en citoplasma y puede no ser suficiente para hacer un diagnóstico, los frotis de sangre periférica deben ser examinados cuidadosamente para detectar la presencia de micromegacarioblastos. Las biopsias de médula ósea son generalmente necesarias y muestran una fibrosis reticulina prominente y un número excesivo de pequeños blastos (Figura 11).

Cuando se realiza el análisis por pruebas citoquímicas, son peroxidasa negativo, PAS + / -, esterasa + / - y fosfatasa ácida positiva, además de reacción positiva para alfa-naftil acetato esterasa y reacción negativa con butirato alfa-naftil esterasa, que es única para megacarioblastos, los monocitos reaccionan positivamente con ambos sustratos de esterasa (Gamal, 2011).

Los anticuerpos monoclonales reaccionan con las glicoproteínas Ib, IIb / IIIa y IIIb, de plaquetas, a través de la utilización de una técnica inmunológica, así también en Citometría de Flujo se presenta un reacción positiva de CD41, CD42b y CD61 (Gomes, 2011; Gamal, 2011).



En los niños la biología molecular es asociada a la expresión de t (1; 22) (p13; q13), que se ha encontrado casi exclusivamente en los niños pequeños, de menos de 18 meses de edad o que tienen el síndrome de Down (Gamal, 2011 y Gomes, 2011).

Son, en general, de mal pronóstico, solo algunos pacientes obtienen la remisión completa (Gomes, 2011).

### **2.8.1.2. Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS)**

La clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) intenta ser más útil que la FAB desde el punto de vista clínico. Su objetivo es dar más información significativa relacionada con el pronóstico de la LMA. Cada una de las categorías de la OMS contiene numerosas subcategorías descriptivas de gran interés para el hematopatólogo y para el oncohematólogo (Tabla 3).

La clasificación de la OMS fue designada para incluir nuevos factores pronósticos como los marcadores moleculares, translocaciones cromosómicas y evidencia de displasia, ya sea por morfología o historia previa que puedan predecir la capacidad de respuesta biológica, permitiendo a los médicos identificar subgrupos de pacientes que puedan beneficiarse de estrategias específicas de tratamiento (Harris, 2001). Basado en datos epidemiológicos que indican que la supervivencia es igual de pobre para SMD con 20 a 30% de blastos que con LMA con más de 30% de blastos. La OMS bajó el umbral para

diagnóstico de LMA a un 20% y retiró la categoría de SMD de anemia refractaria con exceso de blastos en transformación (AREB-T) (INEN, 2011).

Además, la OMS permite el diagnóstico de LMA a pesar del porcentaje de blastos en médula ósea en pacientes con hematopoyesis anormal y anomalías citogenéticas clonales características en pacientes con t(15;17), t(8;21) e inv(16) o t(16;16) (INEN, 2011).

En la clasificación de la OMS, el término "mieloide" incluye a todas las células pertenecientes a los linajes celulares granulocítico (neutrófilos, eosinófilos, basófilos) monocítico/macrófagos, eritroides, megacariocíticos y mastocitos. Los criterios de la OMS para las neoplasias mieloides se aplican al diagnóstico inicial en sangre periférica (SP) y médula ósea (MO), especímenes obtenidos antes de cualquier tratamiento definitivo por sospecha de neoplasia hematológica. Las características morfológicas, citoquímicas y / o inmunofenotípicas se utilizan para establecer el linaje de las células neoplásicas y para la evaluación de su maduración. El porcentaje de blastos sigue siendo una herramienta práctica de las neoplasias mieloides para clasificar y juzgar su progresión. En el esquema de la OMS, cuando la evolución de LMA se produce en el contexto de un síndrome mielodisplásico previamente diagnosticados (SMD) o de neoplasia mielodisplásica / mieloproliferativa (SMD / NMP), o transformación blástica en las neoplasias mieloproliferativas previamente diagnosticadas (MPN) la neoplasia mieloide con 20% o más blastos en SP o MO es considerada LMA. El diagnóstico de LMA en

algunos casos se asocia con anomalías genéticas específicas, sin embargo se podrá realizar independientemente del recuento de blastos en la SP o MO. El umbral del 20% de blastos no es un mandato para tratar al paciente con LMA o transformación blástica, las decisiones terapéuticas deben basarse siempre en la situación clínica después de que toda la información se considere. También se considera que es LMA si los blastos se encuentran en un sitio extra medular, es decir es atumoral (sarcoma mielóide), cuando se encuentra de nuevo o en un paciente con síndrome mielodisplásico SMD / MPN, así también en la transformación de blastos en caso de MPN.

Los porcentajes blásticos deben ser derivados, en los recuentos celulares de 200 leucocitos diferenciados en el frotis de SP y 500 células diferenciadas en los recuentos de todas las células nucleadas del frotis de AMO (aspirado de médula ósea), teñidas con Wright-Giemsa. Los blastos se definen utilizando los criterios recientemente propuestos por el grupo de trabajo internacional sobre la morfología de síndrome mielodisplásico (Mufti, 2008). La determinación del porcentaje de blastos en la evaluación por Citometría de Flujo es con células CD34+, no se recomienda como un sustituto para la inspección visual, no todos los blastos leucémicos expresan CD34+, los artefactos de hemodilución y el procesamiento puede producir resultados engañosos. Para la leucemia aguda, la Citometría de Flujo multiparamétrica (3 o más colores) es el método de elección para determinar el linaje de blastos, así como para la detección de perfiles aberrantes antigénicos que pueden resultar útiles para el seguimiento de la enfermedad (Vardiman, 2009).

Aunque la biopsia de MO puede no ser necesaria en todos los casos, una adecuada biopsia proporciona la evaluación más precisa de la celularidad de la médula, la topografía, los cambios del estroma, y el patrón de maduración de los linajes hematopoyéticos, puede ser muy valiosa en la detección de enfermedad residual dando seguimiento a la terapia. Además, el material de la biopsia nos proporciona la detección inmunohistoquímica de antígenos que pueden ser útil al diagnóstico y pronóstico, tal como CD34, TdT, y Ki67 (Orazi, 1997).

**Tabla 3:** Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para LMA

- **LMA con anomalías genéticas recidivantes:**
  - LMA con t(8;21)(q22;q22), *RUNX1-RUNX1T1(CBFA/ETO)*.
  - LMA con inv(16)(p13;q22) o t(16;16)(p13;q22), *CBFB-MYH11*.
  - Leucemia promielocítica aguda con t(15;17)(q22;q11-12), *PML-RARA*.
  - LMA con t(9;11)(p22;q23), *MLLT3-MLL*.
  - LMA con t(6;9)(p23;q34), *DEK-NUP214*.
  - LMA con inv(3)(q21;q26.2) o t(3;3)(q21;q26.2), *RPNI-EVII*.
  - LMA (megacarioblástico) con t(1;22)(p13;q13), *RBM15-MKLI*.
  - LMA con *NPM1* mutado.
  - LMA con *CEBPA* mutado.
- **LMA con características relacionadas con la mielodisplasia.**
- **Neoplasias mieloides relacionados con el tratamiento.**
- **LMA no especificada de otra manera:**
  - LMA con diferenciación mínima.
  - LMA sin maduración.
  - LMA con maduración.
  - Leucemia aguda mielomonocítica.
  - Leucemia monoblástica y monocítica aguda.
  - Leucemia aguda eritroidea.
  - Leucemia megacarioblástica aguda.
  - Leucemia basofílica aguda.
  - Panmielosis aguda con mielofibrosis.
- **Sarcoma mieloide.**

- **Proliferaciones mieloides relacionadas con el síndrome de Down:**
  - Mielopoyesis anormal transitoria.
  - Leucemia mieloide relacionada con el síndrome de Down.
- **Neoplasia celular dendrítico plasmacitoide blástico.**

**Fuente:** Vardiman, 2009; Gamal, 2011

## **2.8.2. El citómetro de Flujo**

### **2.8.2.1. Generalidades del citómetro de flujo**

En la última época los avances tecnológicos van a un paso vertiginoso, permitiendo prosperar en el conocimiento de la etiopatogenia y la fisiopatología de muchas enfermedades, así dando lugar en cierto modo al desarrollo concomitante de nuevos métodos de análisis celular. Entre estos métodos destaca la Citometría de Flujo por la relevancia alcanzada, tanto en el área de la investigación, como en la del diagnóstico clínico. La objetividad, sensibilidad ( $10^{-4}$ ) y rapidez, son algunas de las características, que han hecho que esta técnica de análisis se utilice ampliamente.

La Citometría de Flujo es un método que fusiona la física y la química, permitiendo analizar de forma simultánea diversas características celulares, dando origen a la obtención de información de un gran número de parámetros de cada una de las células (Shapiro, 2003; Muñoz, 2005).

El análisis inmunofenotípico es actualmente un complemento muy valioso de las técnicas clásicas utilizadas en el estudio de las enfermedades hematológicas como son la

morfología o la citoquímica, junto con la citogenética y la biología molecular constituyen técnicas imprescindibles por la correcta caracterización de las leucemias agudas (Muñoz, 2005), para lo cual a continuación se hace una breve descripción de algunas más sobresalientes, como ser la biología molecular y la citometría.

La mayor parte de los análisis a nivel molecular son cualitativos, indicando la presencia o ausencia de las células patológicas, con una sensibilidad de  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$ , y para cuantificar se utiliza la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RQ-PCR), que tiene una sensibilidad de  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ . (van der Velden, 2007)

La Citometría de Flujo es otra técnica cuantitativa importante para el diagnóstico de leucemias con una sensibilidad de  $10^{-4}$ , aplicable a más del 90% de los pacientes y proporciona resultados rápidos, siendo muy útil en la toma de decisiones terapéuticas (Craig, 2008).

#### **2.8.2.2.Fundamentos y aplicaciones de la citometría de flujo**

La Citometría de Flujo constituye un método rápido, objetivo y cuali-cuantitativo de análisis de células, núcleos, cromosomas, mitocondrias u otras partículas en suspensión. Se basa en el principio del paso de partículas o células alineadas por un haz luminoso, de una en una (Shapiro, 2003). La interacción de las células o las partículas con el rayo genera señales que son recogidas por los detectores del equipo. La información

producida puede agruparse en dos tipos fundamentales: la generada por la dispersión de luz y la relacionada con la emisión de luz por los fluorocromos presentes en la célula (Shapiro, 2003; Muñoz, 2005).

Las señales luminosas detectadas se convierten en impulsos eléctricos que se amplifican y se convierten en señales digitales que procesa el computador. Para todo ello los citómetros constan de los siguientes componentes:

- 1) **Sistema de inyección de la muestra** por el que las células o partículas se transportan en una corriente de flujo hidrodinámico.
- 2) **Sistema de fluidos** cuya función es crear un flujo laminar, mediante un sistema regulable de presiones que hace que las células permanezcan en el centro de un caudal de líquido isotónico y crucen verticalmente, alineadas y de una en una al rayo luminoso.
- 3) **La fuente de luz**, generalmente un láser que emite luz azul a 488 nm, pero actualmente los citómetros para la clínica poseen tres láseres.
- 4) **Sistema óptico** formado por un conjunto de lentes, espejos, y filtros que permiten separar la luz de diferente color, con información sobre las distintas características de las células analizadas como son la complejidad interna y el tamaño celular así como cada una de las emisiones fluorescentes correspondientes a los diferentes fluorocromos presentes en la célula y excitados de forma simultánea.
- 5) **Detectores** son los que generan pulsos eléctricos cuya área, altura y anchura son directamente proporcionales a la cantidad de luz total emitida, así como la intensidad máxima detectada y a la duración de la señal luminosa.

6) **Amplificador/convertidor**, las señales eléctricas generadas por los detectores son amplificadas y multiplicadas por un factor lineal o un logaritmo, así el tamaño de la señal eléctrica producida por una célula es una medida cuantitativa de la cantidad de compuesto fluorescente sobre su superficie y refleja en número de receptores/marcadores que tiene dicha célula.

7) **Sistema informático**, permite la presentación de los datos así como su análisis y almacenamiento en un computador (Shapiro, 2003; Muñoz, 2005).

### **2.8.2.3. Aplicación de la Citometría de Flujo en el estudio de la leucemia**

El manejo de la Citometría de Flujo ha sido exclusivo durante años a la investigación básica debido a la complicación de esta tecnología, ya que anteriormente se requerían instalaciones complejas y un personal especialista para la utilización del instrumento. Actualmente los nuevos avances en la tecnología en esta y otras áreas relacionadas han dado origen al desarrollo de nuevos instrumentos de gran sensibilidad analítica y de fácil manejo, contribuyendo a la rápida difusión de esta tecnología en el laboratorio clínico.

Ahora hay citómetros de ocho colores con paneles aprobados y estandarizados por el consorcio de EuroFlow, que permiten un análisis más específico para cada tipo de leucemia (van Dongen, 2010).



Entre las tantas aplicaciones que tiene la citometría se destaca el estudio de la leucemia aguda tanto desde el punto de vista del diagnóstico clínico como en el conocimiento biológico, donde se determinan los antígenos celulares mediante anticuerpos monoclonales (AcMo) contra antígenos celulares que pueden utilizarse para identificar poblaciones celulares específicas.

Esta utilidad de la citometría ha permitido la clasificación fenotípica de los diferentes subtipos de leucemia aguda, ha aportado información pronóstica, y recientemente se han empezado a utilizar en el seguimiento de la EMR, y pronosticar las posibles recaídas. (Muñoz, 2005).

#### **2.8.2.4. Fenotipaje de la leucemia aguda**

Las células de las leucemias agudas se caracterizan por estar bloqueadas en un estadio precoz de maduración. En general el diagnóstico y clasificación de estas patologías se ha basado en criterios morfológicos y citoquímicos, pero la Citometría de Flujo se ha convertido en el método más importante para el inmunofenotipaje, actualmente es fundamental para su diagnóstico, además de aportar valiosa información pronóstica así como permitir dar el seguimiento mediante la EMR y predecir futuras recaídas.

En el diagnóstico, el estudio inmunofenotípico permite clasificar el tipo de leucemia dependiendo la línea celular a la que pertenezca, para lo cual existe una gran variedad de marcadores útiles en la asignación de línea, entre los que destacan son los de citoplasma cCD79a, cCD3, MPO que son altamente específicos de la línea linfóide B, linfóide T y mielóide, respectivamente, dando lugar a la formación de un panel útil para la subclasificación de las leucemias agudas (EGIL, 1995).

El European Leukemia net realizó recientemente una revisión de las recomendaciones para la correcta caracterización inmunofenotípica de las LMAs y las leucemias agudas de fenotipo mixto, observable en la tabla 4. (Döhner, 2010).

**Tabla 4:** Antígenos de superficie y citoplasma para el diagnóstico de LMA.

<b>Expresión de antígenos</b>	
<b>Diagnóstico de LMA</b>	
Marcadores de inmadurez	CD34, CD38, CD117, CD 133, HLA-DR
Marcadores granulocíticos	CD13, CD15, CD16, CD33, CD65, MPO
Marcadores Monocíticos	Esterasas no específicas (ENE), CD11c, CD14, CD 64, lisozima, CD4, CD11b, CD36, NG2
Marcadores Megacariocíticos	CD41, CD61, CD42
Marcadores Eritroides	CD235a (glicoforina A)
<b>Diagnóstico LAFM</b>	
Línea Mielóide	MPO o diferencia de diferenciación monocítica (al menos dos de los siguientes: ENE, CD11c, CD14, CD64, lisozima)
Línea B	CD 19 (fuerte) más expresión de uno de los siguientes marcadores: CD79a, CD22c, CD10, o CD19 (débil) con al menos dos de los siguientes CD79a, CD22c, CD10.
Línea T	CD3c o CD3 de superficie

(LAFM: leucemia aguda de fenotipo mixto) **Fuente:** Döhner, 2010

### **2.8.2.5. Otras aplicaciones de la citometría de Flujo**

Las aplicaciones clínicas que presenta la Citometría de Flujo también es el estudio de los síndromes linfoproliferativos, siendo este un método rápido y objetivo para diferenciar la linfocitosis reactiva de un proceso monoclonal, además permite la filiación de un determinado proceso linfoproliferativo dentro de los subgrupos con características fenotípicas, clínicas y biológicas específicas. Otras de las aplicaciones es el estudio de las subpoblaciones linfocitarias especialmente en pacientes infectados con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), pero también útil en pacientes con inmunodeficiencias congénitas, enfermedades autoinmunes, neoplasias o en la monitorización de pacientes trasplantados (Shapiro, 2003).

Así también la citometría es de utilidad en el estudio de las gammapatías monoclonales, en las trombocitopenias y trombocitopatías, además del tipaje de antígenos HLA. Este método permite la cuantificación de ADN y de ARN, así igualmente permite realizar estudios de cuantificación de células progenitoras y de viabilidad celular en productos de aféresis para trasplante de progenitores hematopoyéticos (Muñoz, 2005).

### **2.8.3. La enfermedad mínima residual (EMR)**

Cuando se diagnostica a un paciente este puede llegar a tener al diagnóstico aproximadamente  $10^{12}$  células malignas (Ryan, 1988). Se considera que el enfermo está en remisión completa cuando se detectan morfológicamente menos del 5% de blastos en médula ósea (Cheson, 1990; Döhner, 2010), pero muchos de estos pacientes considerados en remisión completa mediante los métodos convencionales recaen (Muñoz, 2005).

Averiguar el nivel de células leucémicas que persisten en los enfermos con remisión completa ha sido el objeto de múltiples estudios, por esta razón las estrategias terapéuticas hasta ahora no han discriminado entre pacientes con altos niveles de células leucémicas tras el tratamiento de inducción, de aquellos en los que si se consigue erradicar toda la enfermedad.

El objetivo del estudio de la EMR es saber mejor la cantidad total de células leucémicas que aún permanecen en los enfermos en remisión completa y así detectar los con alta probabilidad de recaer (Muñoz, 2005).

### **2.8.3.1. Inmunofenotipo en EMR**

La Citometría de Flujo junto con las técnicas moleculares, son actualmente los métodos más utilizados en el estudio de la EMR en los pacientes con leucemia aguda, teniendo mayor ventaja la Citometría de Flujo ya que es un método rápido (2 horas) y sensible ( $10^{-3}$ - $10^{-5}$ ) a la vez que reproducible, además de fácil aplicación (Muñoz, L. 2005).

En LMA la Citometría de Flujo para EMR presenta mayor aplicabilidad, del 80 al 90% vs del 10% al 30% para las técnicas moleculares (Szczepanski, 2001). La sensibilidad que alcanza es  $10^{-3}$ - $10^{-4}$ , ligeramente inferior a la que presenta en LLA por las dificultades que plantean algunas características propias de la LMA, como es la presencia de varias poblaciones patológicas o el hecho de que en ocasiones algunas de ellas no expresan un marcador minoritario, lo que dificulta la realización de doble adquisición (Al-Mawali, 2009 a-b).

Se considera que el enfermo está en remisión completa cuando morfológicamente se detecta menos del 5% de blastos en MO (Cheson, 2003; Döhner, 2010)

La EMR se detecta al final del tratamiento quimioterápico, para una mejor correlación con la evolución de los pacientes, donde los valores críticos que predicen

recaída son: >0,1% para la Citometría de Flujo y >10 copias para la PCR cuantitativa (Feller, 2004; Perea, 2011)

## **2.9. Anticuerpos (Acs)**

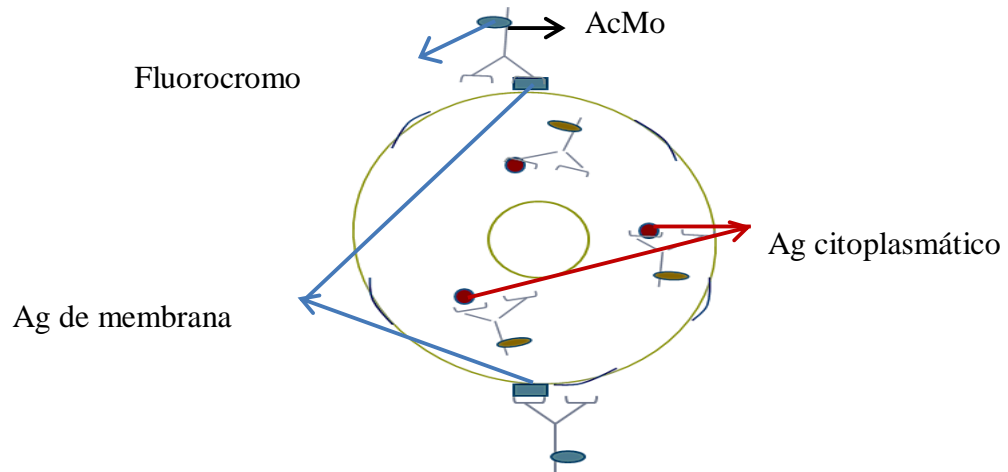
Son proteínas, llamadas inmunoglobulinas (Igs), producidas por células derivadas de los linfocitos B, llamadas células plasmáticas. Se generan como respuesta al contacto de estas células con un antígeno (Ag). El organismo produce un Ac distinto para cada Ag, por lo que la reacción Ag- Ac, es muy específica (Rojas, 2010).

### **2.9.1. Anticuerpos Monoclonales (AcMo)**

Son anticuerpos producidos por hibridomas, es decir, por fusión de una célula plasmática productora de un Ac y célula de mieloma de ratón, que actúan contra Ags específicos; son cultivados en el laboratorio, lo que permite obtener el Ac que se produce. (Rojas, 2010)

Estos AcMo pueden reconocer a un Ag citoplasmático y Ag de membrana como se observa en la figura 12

**Figura 12** Célula marcada con anticuerpos monoclonales intracelulares y extracelulares.



**Fuente:** (Universidad de Alcalá, 2012) modificado por Neri 2013

### 2.9.2. Cluster differentiation o grupo de diferenciación (CD)

Son moléculas que se ubican en la membrana de las células, cumpliendo diferentes funciones, cuya identificación permite distinguir y caracterizar las sub-poblaciones celulares. Entre la membrana celular e intracelular en las células del sistema inmune se han identificado más de 300 diferentes CDs. (Abbas, 2012; Rojas, 2010)

Una de estas moléculas se unen a moléculas especiales, por el reconocimiento que se da, estas moléculas pueden ser proteínas, carbohidratos o lipopolisacáridos presentes en las membranas de los microorganismos. Otras reconocen moléculas producidas por las células del sistema inmune como Acs y citoquinas, fortaleciendo el funcionamiento de las células de este sistema. Otras interactúan como células vecinas o con hormonas y factores

de crecimiento u otros estímulos externos. La unión de las moléculas de reconocimiento da origen a la activación en cascada de proteínas intracitoplasmáticas, proceso denominado señalización (Rojas, 2010).

Para el estudio de patologías como la leucemia se utiliza grupos de anticuerpos monoclonales que identifican la misma molécula de superficie celular, molécula designada CD, seguida por un número. (Rojas, 2010)

Siendo los CDs utilizados en el presente estudio para el diagnóstico de LMA los siguientes: CD13, CD 14, CD 15, CD33, CD 34, CD 45, MPO, HLA - DR, CD 11b, CD 41, CD 61, CD 16, CD 235 a y CD 64.

#### **2.9.2.1.CD13, Aminopeptidasa N**

Es una proteína de membrana integral de tipo II, localizada en la membrana plasmática como una ectoenzima, muy distribuida entre las diferentes especies y tejidos, como el sistema hematopoyético, en concreto en la línea mielomonocítica (Lendeckel, 1999).

Tiene un peso molecular de 150 a 170 kDa, su función es de zinc metaloproteínasa. (Murphy, K. 2009) Es una aminopeptidasa y está presente cuando el mielocito está en proceso de maduración (Rojas, W. 2010).



### **2.9.2.2.CD14, Receptor para lipopolisacáridos**

Es una glucoproteína enlazada al glucosil fosfatidilinositol, tiene un peso molecular de 53 a 55 kDa. Se expresa en los monocitos, los macrófagos interfoliculares, granulocitos y algunas células dendríticas (eBioscience. 2011). Su función es la unión a los complejos de lipopolisacáridos (LPS) y LPB (proteína de unión a LPS) se unen con gran afinidad a los monocitos a través del CD14 superficial (Murphy, 2009). Esto es necesario para la activación de los macrófagos inducidos por los LPS (Abbas, 2012).

### **2.9.2.3.CD15, Lewis<sup>x</sup> (Le<sup>x</sup>)**

Trisacárido terminal expresado sobre glucolípidos y muchas glucoproteínas de superficie celular (Murphy, 2009).

Esta fracción de carbohidrato 3-fucosil-N-acetil-lactosamina se expresa en los neutrófilos, eosinófilos. Los monocitos expresan esta estructura en distinto grado mientras que los linfocitos no la expresan (eBioscience. 2011) (Murphy, 2009). Es el ligando para molécula de adhesión de célula endotelial (Rojas, 2010).

#### **2.9.2.4.CD33, GP67 y P67**

Es una glucoproteína transmembranaria de tipo I de 67 kDa que es miembro de la familia Siglec (lectina de la superfamilia de Ig fijadora del ácido siálico). Es altamente específica del compartimento hematopoyético y se expresa en los monocitos, los linfocitos T activados, los granulocitos, los progenitores mieloides y los mastocitos (eBioscience. 2011) (Murphy, 2009).

#### **2.9.2.5.CD34, mucosialina**

Pertenece a una familia de proteínas en la que se incluyen también el endoglicano y la podocalicina. Miembros de esta familia son las proteínas transmembranarias de un solo paso con un dominio tipo mucina N-terminal y extracelular muy glucosilado (eBioscience. 2011).

Su función es de adhesión intercelular; unión al CD62L (selectina L) (Abbas A. 2012).

Se identificó primero como un antígeno expresado en los progenitores hematopoyéticos, y se ha utilizado ampliamente desde entonces como marcador para aislar células con capacidad de unión en las células hematopoyéticas. Además de la expresión en los progenitores hematopoyéticos, se expresa en algunas poblaciones de

citoblastos del mesénquima, estirpes celulares tumorales y por los endotelios vasculares en adultos. Los epítomos de la CD34 se han asignado a tres clases (clase I, II o III) en función de su sensibilidad diferencial a la descomposición enzimática mediante neuraminidasa, quimopapaína u O-glucoproteasa. Según este análisis, el anticuerpo 4H11 pertenece a la clase III, lo que indica que reacciona con un epítomo de la proteína. (eBioscience. 2011) (Murphy, 2009).

#### **2.9.2.6. CD45, antígeno leucocitario común (LCA), T200 y B220**

Se expresa en todas las células hematopoyéticas salvo las plaquetas y los eritrocitos circulantes. La porción citoplásmica de la CD45 presenta actividad enzimática de tirosinofosfatasa y desempeña un importante papel en la activación de los linfocitos, aumenta la emisión de señales por medio de receptor de antígeno de células B y T, múltiples isoformas se originan por empalme alternativo. (eBioscience. 2011) (Murphy, 2009).

Tiene un peso molecular de 180 a 240 kDa, además presenta múltiples isoformas (Murphy, 2009).

### **2.9.2.7.Mieloperoxidasa (MPO)**

Es una proteína que se encuentra en el interior de los gránulos azurofílicos de las células mieloides. La MPO es una proteína multimérica formada por dos subunidades 55 kDa y dos subunidades 15 kDa. Las subunidades mayores se unen a una hemoproteína, lo que produce un color verdoso. Como enzima, la MPO descompone el peróxido de hidrógeno y oxida a la tirosina (eBioscience. 2011). Los productos de esta reacción - ácido hipocloroso y radical tirosilo - producen los efectos citotóxicos y destructivos que son característicos de los neutrófilos es la proteína más abundante en estos.

Este es un potente agente oxidante que contribuye al mecanismo de defensa contra los agentes infecciosos; sin embargo, puede ser capaz de actuar sobre las células del hospedero en caso de activación incontrolable o excesiva e inactivar factores humorales.

Dado el amplio espectro de reactividad, el ácido hipocloroso es un mediador de daño hístico en numerosos procesos inflamatorios. Se presentan algunas características físico-químicas, el mecanismo de reacción, la biosíntesis y la relación de la enzima mieloperoxidasa con diferentes procesos patológicos (Garcia, 1998).

La MPO se utiliza como índice de diferenciación entre las leucemias linfoblásticas y mieloblásticas, por el aumento de la enzima en estas últimas (Schlaifer, 1993).

#### **2.9.2.8.HLA-DR**

Es un antígeno leucocitario humano DR, que pertenece al complejo mayor de histocompatibilidad clase II (Lampson, 1980) (Brodsky, 1984). Este antígeno es una glicoproteína de trasmembrana, compuesta por dos subunidades alfa y beta, que tienen un peso molecular de 36 y 27 kDa, respectivamente. Este antígeno se expresa en linfocitos B, monocitos, macrófagos, linfocitos T activados, linfocitos natural killer y células progenitoras humanas. (Levacher, 1990) (Edwards, 1986).

#### **2.9.2.9. CD11b o Mac-1**

Este CD posee un peso molecular de 170 kDa y su naturaleza bioquímica lo encuadra dentro de la familia de la integrina alfa. Su función biológica en la célula es: en la subunidad  $\alpha$ M de la integrina CR3 (relacionada con CD18). Se une a CD54, componente del complemento iC3b, y proteínas de la matriz extracelular. Se expresa específicamente en células mieloides y NK (Murphy, 2009).

#### **2.9.2.10. CD41 o GPIIb**

Tiene un peso molecular en los dímeros de GPIIba (125 kDa) y GPIIbb (22 kDa), su naturaleza bioquímica lo encuadra dentro de la familia de la integrina alfa. Su función

biológica en la célula es en la Integrina  $\alpha$ IIb, que se asocia con CD61 para formar el GPIIb, se une a fibrinógeno, fibronectina, factor de von Willebrand, y trombospondina. Se expresa específicamente en plaquetas y megacariocitos (Murphy, 2009).

#### **2.9.2.11. CD61**

Presenta un peso molecular de 110 kDa y su naturaleza bioquímica lo encuadra dentro de la Integrina  $\beta$ . Su función biológica en la célula es: subunidad  $\beta$ 3 de integrina, se relaciona con CD41 (GPIIb/IIIa) o CD51 (receptor de vitronectina). Se expresa específicamente en plaquetas, megacariocitos y macrófagos (Murphy, 2009).

#### **2.9.2.12. CD16 o Fc $\gamma$ RIII**

Su naturaleza bioquímica lo encuadra dentro de la familia de las inmunoglobulinas, con un peso molecular de 50-80 kDa. Su función biológica en la célula es actuar como componente del receptor de baja afinidad para Fc, Fc $\gamma$ RIII, y mediar en la fagocitosis y citotoxicidad debida a células dependientes de anticuerpos.

Se expresa específicamente en neutrófilos, células NK y macrófagos (Murphy, 2009).

#### **2.9.2.13. Glicoforina A o CD235 a**

Es una sialoglicoproteína integral de membrana, con tres dominios con diferentes funciones, un dominio hidrofóbico, en la parte extracelular, que tiene muchos hidratos de carbono, de ahí deriva su nombre, además esta región es la portadora del antígeno del grupo sanguíneo (Miale, 1985) (Müller-Esterl, 2008)

#### **2.9.2.14. CD64**

Es el receptor de mayor afinidad para la Ig G, se expresa en monocitos y macrófagos; es una proteína tipo I de trasmembrana de 75 kDa. Está implicada en la citotoxicidad dependiente de anticuerpos mediada por células (ADCC), la fagocitosis, y la regulación de la producción de citoquinas (eBioscience. 2011) (Murphy, 2009).

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Esta patología se encuentra entre los cinco tipos de neoplasias más frecuentes en el mundo que producen mortalidad tanto en adultos, como en niños, hombres y mujeres ocupando el primer lugar dentro de las neoplasias malignas según estadísticas publicadas por Gutiérrez , 1999.

La Sociedad Americana del Cáncer que maneja datos de países desarrollados, indica que es importante ver si existe una semejanza o diferencia con los factores ambientales y genéticos en relación a países en vías de desarrollo. (Tuhan, 1995)

La clasificación de las leucemias LLA-B, LLA-T o LMA-M0, por análisis morfológico es prácticamente imposible, porque los blastos observados al microscopio son muy parecidos; los estudios realizados por pruebas de ANBE (Alfa Naftil Butirato Esterasa) y APAAP (Anti-Fosfatasa Alcalina Anti-Fosfatasa) son muy subjetivas, porque no se puede identificar más de un Ag de superficie en una misma célula marcada con AcMo diferentes, en un mismo portaobjetos.

Actualmente es posible identificar subtipos de leucemias utilizando un panel de AcMo, para determinar la línea específica de origen de las células leucémicas y su nivel de maduración. Estos estudios de inmunofenotipaje celular son esenciales para distinguir la LLA de la LMA-M0.



La citometría de flujo es una técnica bastante rápida que en dos horas ya se puede obtener el resultado, a diferencia de la de biología molecular que puede tardar de tres hasta 15 días, estas dos técnicas deben ir acompañadas para dar el diagnóstico, como refiere Betz en una revisión el 2010.

Por tanto hoy en día el diagnóstico se basa en el estudio morfológico, inmunofenotipo por Citometría de Flujo que nos ayuda a reconocer aberraciones fenotípicas incluso cuando están presentes en una pequeña proporción de las células analizadas.

Herlinda Huayta jefa de epidemiología del SEDES refiere que “la leucemia es el cáncer más frecuente en la población infantil”, aseveración publicada por “La Patria” periódico boliviano, en febrero del 2011. (La Patria, 2011).

Al ser la leucemia la neoplasia hematológica más frecuente, su incidencia se ha incrementado en diferentes regiones del mundo. “Bolivia está experimentando el fenómeno de la transición epidemiológica, de una alta la incidencia de enfermedades infecciosas a una creciente prevalencia de las enfermedades oncológicas” (Amaru, 2012) no solo en niños, sino en adultos tanto en hombres como mujeres, es así que se ve la importancia y la necesidad de efectuar estudios actuales sobre LMA, siendo los resultados obtenidos información relevante en términos de diagnóstico para los médicos hematólogos, que indudablemente derivará en un mejor tratamiento de los pacientes así también permitirá dar seguimiento adecuado en la enfermedad mínima residual.

#### **4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Las LMAs están distribuidas por todas las regiones del mundo con características propias de cada región, que afecta a todas las etnias y edades entre los 5 meses y 83 años, variando su incidencia en Europa que es de 3,5 en 100000 habitantes por año, mientras que en Estados Unidos es aproximadamente de 2,3 casos por 100000 habitantes por año, y aumenta proporcionalmente con la edad, alcanzando un pico de 12,2 por 100000 habitantes en mayores de 65 años, siendo la razón hombre/mujer de aproximadamente 1,5:1. (Duque, 2006)

Amaru (2012) publica sobre LMA indicando que de un total de 1473 casos recibidos en la unidad de Biología Celular para el diagnóstico de Leucemia, 19% fueron de LMA en niños y 30% de LMA en adultos, mostrando un importante porcentaje de 23,6% después de las LLA.

La LMA pediátrica según Amaru (2012) es la menos frecuente de todas las leucemias agudas pediátricas, la frecuencia es igual entre niños y niñas. El subtipo predominante es la LMA-M1 (40%). En cambio la LMA en adultos constituye el 52% de las leucemias agudas del adulto y se observa el pico de presentación después de los 60 años con predominio en varones. El subtipo más frecuente corresponde a la LMA-M1 y LMA-M2.

Se debe tomar en cuenta que la etiología de la LMA está relacionada con factores hereditarios, aunque se reconocen otras causas como la asociación con síndrome mielodisplásico (SMD), radiación, contacto con agentes alquilantes, entre otros, ya que en 58% están presentes anormalidades genéticas recurrentes, que interfieren en las vías de proliferación y diferenciación mieloides. (Duque, 2006)

En vista que a nivel mundial y en los países vecinos existe una vasta información con respecto a la distribución tanto en niños, como en adultos de LMA, se ve la necesidad de tener datos propios de Bolivia.

Al implementarse en la facultad de medicina la citometría de flujo, se está en la condición de tipificar la LMA en nuestro medio, porque en Bolivia existe insuficiente información sobre la frecuencia de los diferentes tipos de LMA, lo cual nos ayuda a seguir mediante la EMR y así ver el pronóstico que no se podía obtener si se realiza por otros métodos menos específicos como el morfológico y el citoquímico, llevándonos al diagnóstico erróneo.

## **5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es la caracterización epidemiológica, demográfica y hematológica de las LMAs por citometría de flujo durante las gestiones 2011 y 2012 en Bolivia?

## **6. OBJETIVOS**

### **6.1.OBJETIVO GENERAL**

- Caracterizar las LMAs epidemiológica, demográfica y hematológica por Citometría de Flujo en Bolivia durante las gestiones 2011 y 2012.

### **6.2.OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Clasificar las LMAs mediante análisis morfológico, por citometría de flujo.
- Relacionar los subtipos de LMA con el hemograma, género, edad y procedencia.
- Determinar la frecuencia de pacientes con LMA en base a características demográficas.

## **7. DISEÑO METODOLÓGICO**

### **7.1. Tipo de Estudio.**

El presente estudio es de Serie de casos longitudinal

### **7.2. Población Estudiada**

Se analizaron 90 muestras de pacientes adultos y niños, varones y mujeres que llegaron a la Unidad de Biología Celular del 20 de enero del 2011 al 26 de junio del 2012.

Los datos fueron recolectados de la base de datos con el software FileMarker Pro 8 de la UBC de la Facultad de Medicina de la UMSA.

La información obtenida se organizó según fueron llegando las muestras de los pacientes, en las gestiones 2011 y 2012, para su evaluación y el análisis estadístico.

Luego se realizó el hemograma, el estudio morfológico, el inmunofenotipo y/o el estudio de biología molecular según pertinencia, se observó que de un total de 90 casos a todos se hizo el análisis por citometría de flujo y además a 8 se les hizo PML – RAR $\alpha$  para confirmar el diagnóstico de LMA M3.

De estos pacientes 83 fueron nuevos casos, a 7 pacientes se les realizó seguimiento, a 5 se les hizo EMR por segunda vez, a 1 por tercera y 1 por quinta vez.

### **7.2.1. Criterios de inclusión**

- ☞ Pacientes de ambos géneros
- ☞ Pacientes sin límite de edad, ni procedencia.
- ☞ Pacientes que hayan sido diagnosticados con LMA en la UBC desde enero, 2011 al 26 de junio, 2012.
- ☞ Muestras de AMO en tubos vacutainer con EDTA tripotásico, volumen mayor a 2ml
- ☞ Muestra de SP en tubos vacutainer con EDTA tripotásico, volumen mayor a 2ml

### **7.2.2. Criterios de exclusión**

- ☞ Pacientes con otro tipo de patología: Linfoma no Hodgking, Hemoglobinuria Paroxística Nocturna, Leucemia Mieloide Crónica, Leucemia Linfoide Crónica y Leucemia Linfoide Aguda.
- ☞ Pacientes cuya muestra no es valorable, es decir la muestra esté coagulada, o la cantidad de muestra sea menor a 2 ml.

### **7.3. Lugar y Tiempo**

El estudio se realizó en la Unidad de Biología Celular del Departamento de Ciencias Funcionales, Piso 7 de la Facultad de Medicina, durante el tiempo comprendido del 10 de enero, 2011 al 26 de junio del 2012.

### **7.4. Aspectos éticos**

Según el principio de beneficencia se puso al máximo el empeño en atender al paciente a través del análisis de sus muestras y se hizo cuanto se pudo para mejorar su salud.

Obedeciendo al Principio de no-maleficencia se asume que en las entidades hospitalarias han cumplido con este principio, ya que en el laboratorio no se trata directamente con el paciente.

Tomando en cuenta el principio de autonomía se asume que el paciente fue correctamente informado de su situación y de las posibles alternativas de tratamiento así mismo se respetaron las decisiones tomadas por este.

Para el principio de justicia se tomó en cuenta la igualdad en los tratamientos, toma de muestra y de análisis, así como la oportunidad de ser parte de una investigación.



Para proteger la identidad de los pacientes la UBC codifica las muestras para proseguir con los estudios. El análisis se realizó en muestras de pacientes cuyos médicos tratantes envían a la UBC para su diagnóstico, las cuales han sido catalogadas como positivas mediante análisis clínicos y de laboratorio.

### **7.5. Análisis Estadístico**

Los resultados se expresaron como frecuencias absolutas, frecuencias relativas, promedios y medianas, para el análisis estadístico se trabajó con el test de Chi cuadrado en el programa estadístico SPSS versión 20.0.

Para las gráficas se usó el paquete estadístico SPSS 20.0 y Excel 2010.

## **8. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **8.1. Material Biológico**

Se trabajó con muestras de aspirado de médula ósea y sangre periférica de pacientes con diagnóstico de leucemia, que llegaron al laboratorio.

### **8.2. Equipos**

- ✓ Centrifugadora EBA 20 Hettich y Eppendorf 5702
- ✓ Agitador vortex Zx3 Velp Científica
- ✓ Citómetro de Flujo de 3 colores (BD FACSCAN)
- ✓ Analizador hematológico Horiba, Micros 60
- ✓ Microscopios Zeiss – Axiolab E
- ✓ Estufa

### **8.3. Reactivos**

- ✓ Tinción Giemsa
- ✓ Tinción May Grünwald
- ✓ Solución fisiológica
- ✓ FACS FLOW para citometría de Flujo

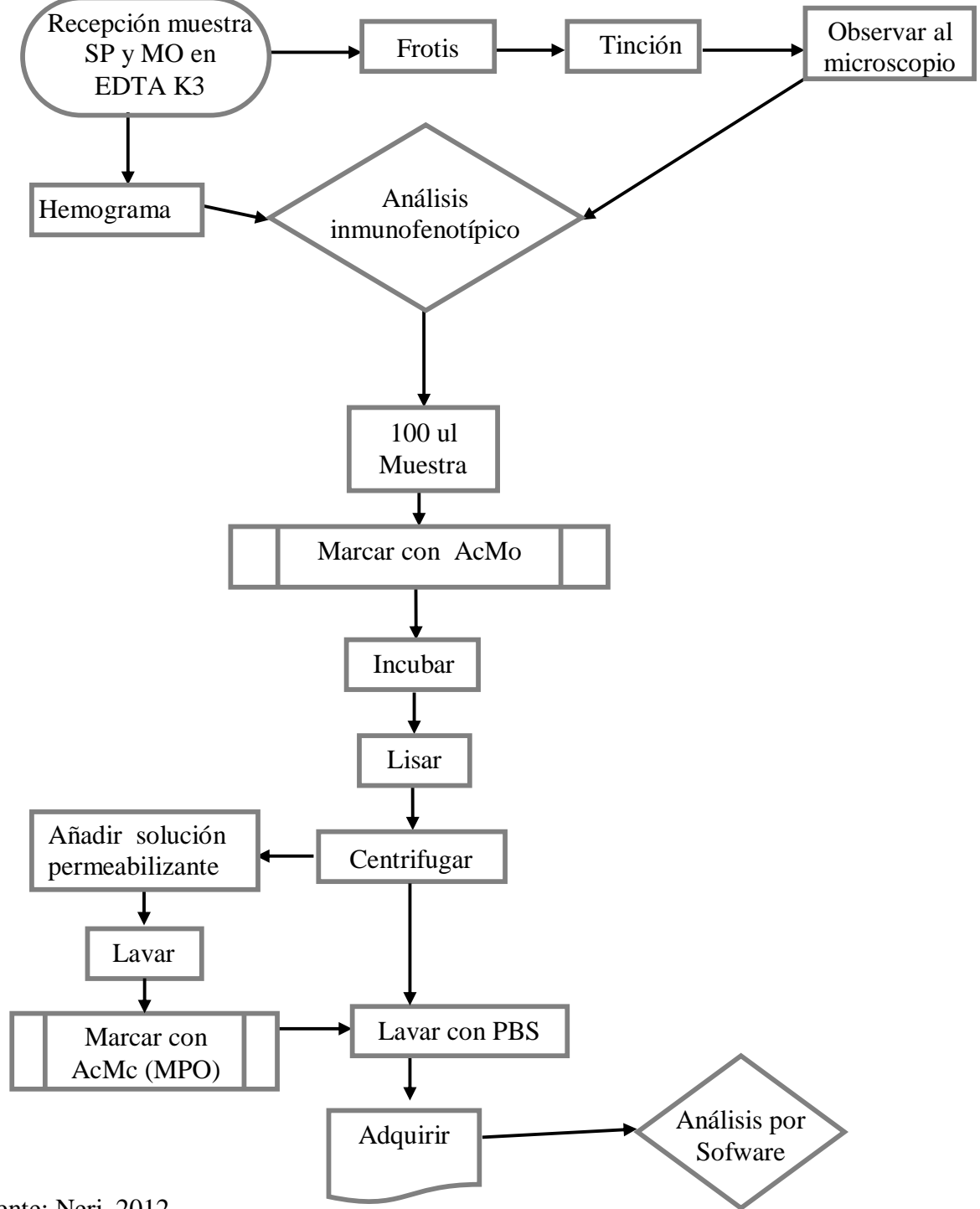
- ✓ FACS Lysing Solución 1 (BD Biosciences)
- ✓ FACS permeabilizing solución 2 (BD Biosciences)
- ✓ Anticuerpos monoclonales (AcMo): CD14 FITC, MPO FITC, HLA-DR FITC, CD15 PE, CD33 PE, CD13 PE, TdT PE, CD34 Per CP, CD45 Per CP, CD41FITC, CD61 PE, CD235a PE (BD Biosciences)

#### **8.4.Material fungible**

- ✓ Tubos de poliestireno fondo redondo BD Cat. 352054 USA
- ✓ Micropipetas: de 2-5, 20 – 50 100 y 1000ul marca Eppendorf
- ✓ Puntas para las pipetas
- ✓ Pipetas pasteur de plástico
- ✓ Pizetas
- ✓ Gradillas
- ✓ Pinzas
- ✓ Cronómetro

## 8.5. Procedimiento

Figura 13 Flujograma de trabajo empleado



Fuente: Neri, 2012

## **8.6.Métodos**

### **8.6.1. Recepción de la muestra**

Se tomaron en cuenta las muestras de AMO y SP de pacientes que cumplieron los criterios de inclusión, recibidas en la UBC desde el 20 de enero del 2011, provenientes de diferentes partes del país a través del servicio de Courier.

Cada muestra contaba con su respectiva orden de solicitud firmada por el médico tratante. (Anexo Nro. 3).

Una vez que llegó la muestra se verificó el nombre del paciente en la base de datos de la UBC de la Facultad de Medicina de la UMSA, desarrollados con el software FileMarker Pro 8 (Anexo Nro. 4); para otorgarle el número correlativo.

Luego se realizó el hemograma y los frotis, correspondientes tanto de SP y MO.

### **8.6.2. Tinción May Grünwald/Giemsa**

Una vez secos los frotis, se los identificó con el número correspondiente y se cubrieron las placas con colorante May Grünwald por 5 minutos, luego se lavó la placa con cuidado, se realizó una dilución 1:10 con agua destilada de la tinción de Giemsa, se añadió esta dilución a la placa y se dejó 15 minutos (Anexo Nro. 5).

Transcurrido este tiempo se lavan las placas y se espera que sequen para luego ser observadas al microscopio.

### **8.6.3. Observación al microscopio**

Las placas teñidas se observaron primero con el objetivo 10 x, luego con el objetivo de inmersión (100x), para observar detalles de la cromatina de los núcleos, determinar los tipos de células y clasificar a qué tipo de leucemia corresponde morfológicamente, en las muestras se deben observar el tamaño que puede variar según el subtipo, la cromatina nuclear en general es débil, pero puede ser fina y reticular, el contorno nuclear es redondo, regular, en algunos casos puede ser irregular y clivado o borde irregular, el nucléolo es visible y en algunos casos es vesicular, la relación núcleo citoplasma es variable, el color del citoplasma es leve basófilo, los gránulos del citoplasma pueden estar ausentes, delicados o presentes, las vacuolas en el citoplasma por lo general están ausentes o pueden ser variables, los cuerpos de Auer, pueden estar ausentes o presentes dependiendo el subtipo de LMA (Gomes, 2011).

### **8.6.4. Hemograma**

La muestra de SP se la llevó al analizador de hematológico Horiba, Micros 60 (Anexo Nro. 6), donde después de 2 minutos más o menos se imprimió el resultado, donde

se observa si existe un número mayor a 100000 leucocitos/mm<sup>3</sup>, si es así se hizo una dilución 1:10 para luego volver a realizar el hemograma.

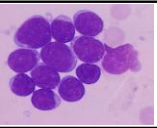
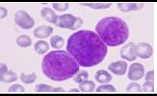
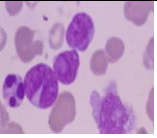
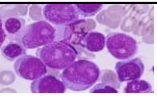
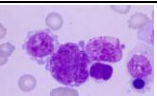
El analizador hematológico consta de una impresora que presenta como resultado 12 parámetros, en la serie blanca se muestran valores de linfocitos, monocitos, granulocitos. El hemograma se observa en el anexo Nro. 7.

#### **8.6.5. Citometría de Flujo**

Luego de la valoración morfológica y del hemograma se procedió a realizar el estudio inmunofenotípico, donde primero se identificó todos los tubos con el número del paciente, se colocó 100 ul de la muestra, y según el panel base designado para LMA(tabla 5), se procedió a marcar la misma con los AcMo pertinentes, se incubó durante 15 minutos en oscuridad a temperatura ambiente, se colocó la solución de lisis y se dejó incubar 10 minutos más, después de lo cual se centrifugó a 2000 rpm por 5 minutos, se desechó el sobrenadante y se lavó con PBS (Anexo Nro. 8).

Para luego adquirir 20000 células de cada tubo del panel mielóide en el equipo (Anexo Nro.9).

**Tabla 5** Panel base para linaje mieloide

<b>FAB</b>	<b>NOMBRE</b>	<b>FENOTIPO</b>	<b>IMAGEN</b>
<b>M0</b>	LMA minimamente diferenciada	CD13, CD33, CD34, 117+	
<b>M1</b>	LMA sin maduración		
<b>M2</b>	LMA con maduración		
<b>M3</b>	Leucemia promielocítica aguda	t(15;17) CD15- CD117+	
<b>M4</b>	Leucemia aguda mielomonocítica	CD4, 11c, 13,14, 33, 36, 64	
<b>M5</b>	Leucemia aguda monoblástica	CD4, 11b, 13,14, 36, 64	
<b>M6</b>	Eritroleucemia	CD11b, 13, 15,33, 34, 45, 71	
<b>M7</b>	Leucemia aguda megacarioblástica	CD 41, 42, 61	

**Fuente:** Fernández, 2013

### 8.6.6. Análisis de datos

Una vez que se adquirieron todos los tubos se procedió a analizar los datos con la ayuda de los paquetes CellQuest Pro y Paint-A-Gate. Con estos programas se pudo determinar la población clonal, el porcentaje de cada célula marcada con los AcMo, verificando la marcación de 1 o más AcMo a la vez en cada grupo (Anexo Nro. 10 y 11).



## **9. RESULTADOS**

### **9.1. Características generales de la muestra**

En la Tabla 6 se observa que del total de muestras (n=90), 39 (43,3%) corresponden a pacientes del género femenino y 51 (56,7%) al género masculino.

En la figura 14 se aprecia que de las 90 muestras de pacientes con LMA, el rango fue de edad mínima de 6 meses a un máximo de 82 años (figura 15), con un promedio de 35,1 años. Se dividió el total en dos grupos de los cuales 32 casos (35,6%) pertenecen al grupo de 6 meses hasta los 18 años y 58 casos (64,4%) pertenecen al grupo de 19 hasta los 82 años (Tabla 6).

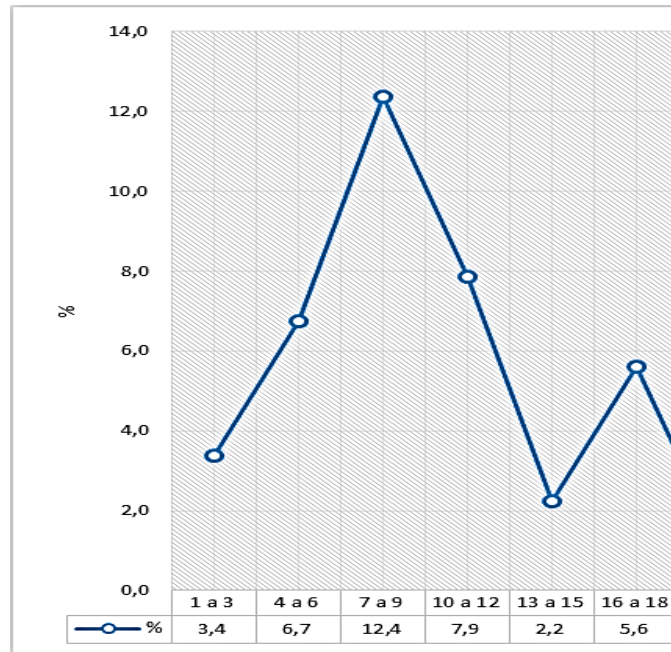
Se evidencia que un gran número de las muestras de pacientes con LMA, proviene de aquellos departamentos que componen el eje troncal, es decir: Santa Cruz (n=34 o 37,8%), La Paz (n=23 o 25,6%) y Cochabamba (n=21 o 23,3%). A su vez observamos que Tarija es el departamento con el menor número de casos (n=1 o 1,1%) (Tabla 6).

Tabla 6.  
**Características generales de la muestra. 2011-2012**

	N	%
<b>Género</b>		
Femenino	39	43,3
Masculino	51	56,7
<b>Edad</b>		
< 18	32	35,6
≥ 18	58	64,4
<b>Residencia</b>		
La Paz	23	25,6
Oruro	5	5,6
Potosí	3	3,3
Cochabamba	21	23,3
Tarija	1	1,1
Santa Cruz	34	37,8
Beni	3	3,3
<b>Total</b>	<b>90</b>	<b>100,0</b>

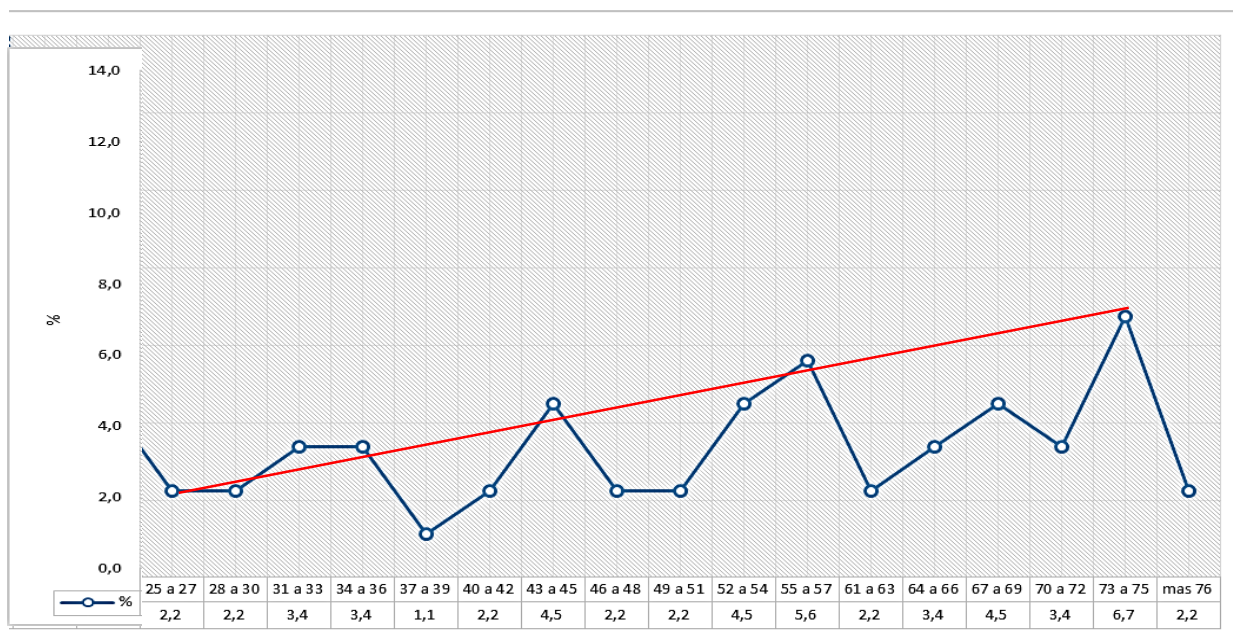
El análisis por grupos de edades evidencia que existe una mayor frecuencia de pacientes de 7 a 9 años, dato que se aprecia en la figura 14 de tendencias, se vio un pico alto con una frecuencia de 12,4% (11 casos).

Figura 14.  
**Grupo de edad de la población con LMA (6 meses a 18 años).**  
**Bolivia 2011-2012**



En la figura 15 se observó los picos de tendencia de edades de 19 años a 82, donde el pico más alto fue de 73 a 75 años, con una frecuencia de 6,7%, pero no es un pico significativo, otro pico que le sigue es de 55 a 57 años con un 5,6%, en general las frecuencias en los adultos están distribuidas en las diferentes edades, notándose aumento paulatino que se correlaciona con el aumento de la edad.

Figura 15.  
**Grupo de edad de la población con LMA (19 a 82 años).**  
**Bolivia 2011-2012**



## 9.2. Características demográficas de la población en estudio

La Tabla 7 establece que del total de casos con LMA con una edad inferior a los 18 años; 18 pertenecen al género femenino y 14 al género masculino. De igual manera se evidencia que del total de casos con LMA de una edad superior a los 18 años, 21(23,3%) pertenecen al género femenino y 37(41,1%) del género masculino.

Tabla 7.  
**Distribución de personas con LMA según género y edad.**  
**Bolivia 2011-2012**

	Femenino N (%)	Masculino n (%)	Ambos sexos n (%)
< 18 años	18 (20,0)	14 (15,6)	32 (35,6)
≥ 18 años	21 (23,3)	37 (41,1)	58 (64,4)
Total	39 (43,3)	51 (56,7)	90 (100 )

En la Tabla 8 se evidencia que del total de muestras de pacientes con LMA, el 34,4% (n=31) proceden de la región del Altiplano, el 24,4% (n=22) del valle y finalmente el 41,4% (n=37) de la región del Llano.

De igual manera se observa que de las 31 muestras que proceden del Altiplano 15 (16,7%) corresponden al género femenino y 16 (17, 8%) al género masculino.

En la región del Valle se evidencia que de las 22 muestras, 12 (13,3%) corresponden a personas del género femenino y 10 (11,1%) al género masculino.

Finalmente en la región del Llano, de los 37 casos de LMA, 13.3% (12) son del género femenino y 27,8% (25) del género masculino.

Tabla 8.  
**Distribución de personas con LMA según género y residencia.**  
**Bolivia 2011-2012**

	Femenino N (%)	Masculino n (%)	Ambos sexos n (%)
<b>Altiplano</b>			
La Paz	11 (12,2)	12 (13,3)	23 (25,6)
Oruro	1 (1,10)	4 (4,40)	5 (5,60)
Potosí	3 (3,30)	0 (0,00)	3 (3,30)
Subtotal	15 (16,7)	16 (17,8)	31 (34,4)
<b>Valle</b>			
Cochabamba	12 (13,3)	9 (10,0)	21 (23,3)
Tarija	0 (0,00)	1 (1,10)	1 (1,10)
Subtotal	12 (13,3)	10 (11,1)	22 (24,4)
<b>Llano</b>			
Santa Cruz	12 (13,3)	22 (24,4)	34 (37,8)
Beni	0 (0,00)	3 (3,30)	3 (3,30)
Subtotal	12 (13,3)	25 (27,8)	37 (41,1)
<b>Total</b>	<b>39 (43,3)</b>	<b>51 (56,7)</b>	<b>90 (100 )</b>

La Tabla 9 establece que del total de muestras de pacientes procedentes del Altiplano (n=31), 7,8 % son menores de 18 años y 26,7% son mayores de 18 años; en el Valle del total de casos (n=22) 8, 9% son menores de 18 años y 15,6% son mayores de 18 años. Finalmente en el Llano se evidencia que 18,9% tienen una edad inferior a 18 años y 22,2% una edad superior a los 18 años.

Tabla 9.  
**Distribución de personas con LMA según edad y región.  
Bolivia 2011-2012**

	< 18 años n (%)	≥ 18 años n (%)	Total n (%)
<b>Altiplano</b>			
La Paz	5 (5,60)	18 (20,0)	23 (25,6)
Oruro	1 (1,10)	4 (4,40)	5 (5,60)
Potosí	1 (1,10)	2 (2,20)	3 (3,30)
Subtotal	7 (7,80)	24 (26,7)	31 (34,4)
<b>Valle</b>			
Cochabamba	8 (8,90)	13 (14,4)	21 (23,3)
Tarija	0 (0,00)	1 (1,10)	1 (1,10)
Subtotal	8 (8,90)	14 (15,6)	22 (24,4)
<b>Llano</b>			
Santa Cruz	15 (16,7)	19 (21,1)	34 (37,8)
Beni	2 (2,20)	1 (1,10)	3 (3,30)
Subtotal	17 (18,9)	20 (22,2)	37 (41,1)
<b>Total</b>	<b>32 (35,6)</b>	<b>58 (64,4)</b>	<b>90 (100 )</b>

### 9.3. Características epidemiológicas de la LMA

En la Tabla 10 se observa que del total de muestras de pacientes con LMA (n=90), la mayoría (n=47 o 52,2%) corresponden al subtipo M1, de los cuales 20 (22,2%) son del género femenino y 30% son del género masculino. De manera contraria sólo una muestra corresponde al subtipo M6, la cual pertenece al sexo masculino.

Tabla 10.  
**Subtipos de LMA según género. Bolivia 2011-2012**

	Femenino n (%)	Masculino n (%)	Total n (%)
M0	1 (1,10)	3 (3,30)	4 (4,40)
M1	20 (22,2)	27 (30,0)	47 (52,2)
M2	10 (11,1)	6 (6,70)	16 (17,8)
M3	5 (5,60)	6 (6,70)	11 (12,2)
M4	3 (3,30)	8 (8,90)	11 (12,2)
M6	0 (0,00)	1 (1,10)	1 (1,10)
Total	39 (43,3)	51 (56,7)	90 (100 )

En la Tabla 11 se evidencia la razón que resulta del cociente entre el número de casos de mujeres sobre el número de casos de hombres. Así para el subtipo M1 la razón es de 0,7 lo cual establece que por cada hombre existen 0,7 mujeres con este subtipo de LMA. Sin embargo para aclarar la interpretación de dicho indicador se ha establecido la relación simplificada que no es nada más que la multiplicación de la razón inicial por 10, es de esa manera que para el subtipo M1 se establece, que por cada 10 hombres existen 7 mujeres, en el segundo subtipo común se ve que la relación simplificada es de 10 hombres por cada 17 mujeres con M2.



Tabla 11.  
**Razón (Hombre: Mujer) del número de casos de LMA.**  
**Bolivia 2011-2012**

	Nro. casos Hombres	Nro. Casos Mujeres	Razón	Relación H:M	Relación simplificada
M0	3	1	0,3	1:0,3	10:3
M1	27	20	0,7	1:0,7	10:7
M2	6	10	1,7	1:1,7	10:17
M3	6	5	0,8	1:0,8	10:8
M4	8	3	0,4	1:0,4	10:4
M6	1	0	0,0	1:0,0	10:0,0
Total	51	39	0,8	1:0,8	10:8

En la Tabla 12 se evidencia que de las 47 muestras de pacientes con LMA – M1 (mayor número de casos), 20% tienen una edad menor a 18 años y 32,2% tienen una edad superior a los 18 años, así como en los demás subtipos.

Tabla 12.  
**Subtipos de LMA según edad. Bolivia 2011-2012**

	< 18 años n (%)	≥ 18 años N (%)	Total n (%)
M0	1 (1,10)	3 (3,30)	4 (4,40)
M1	18 (20,0)	29 (32,2)	47 (52,2)
M2	6 (6,70)	10 (11,1)	16 (17,8)
M3	4 (4,40)	7 (7,80)	11 (12,2)
M4	3 (3,30)	8 (8,90)	11 (12,2)
M6	0 (0,00)	1 (1,10)	1 (1,10)
Total	32 (35,6)	58 (64,4)	90 (100)

En la Tabla 13 se observa el promedio de edad de los diferentes subtipos de LMA, donde el promedio de edad más bajo corresponde al subtipo M3 ( $\bar{x}=22,2$  IC95% 14,2;

30,1) y el promedio de edad más alto corresponde al subtipo M4 ( $x=42,7$  IC95% 27,5; 57,9).

De igual manera se evidencia que la significancia es mayor a 0,05 ( $p$  0,32) lo cual establece que no existe diferencias entre el promedio de edad de los diferentes subtipos de LMA.

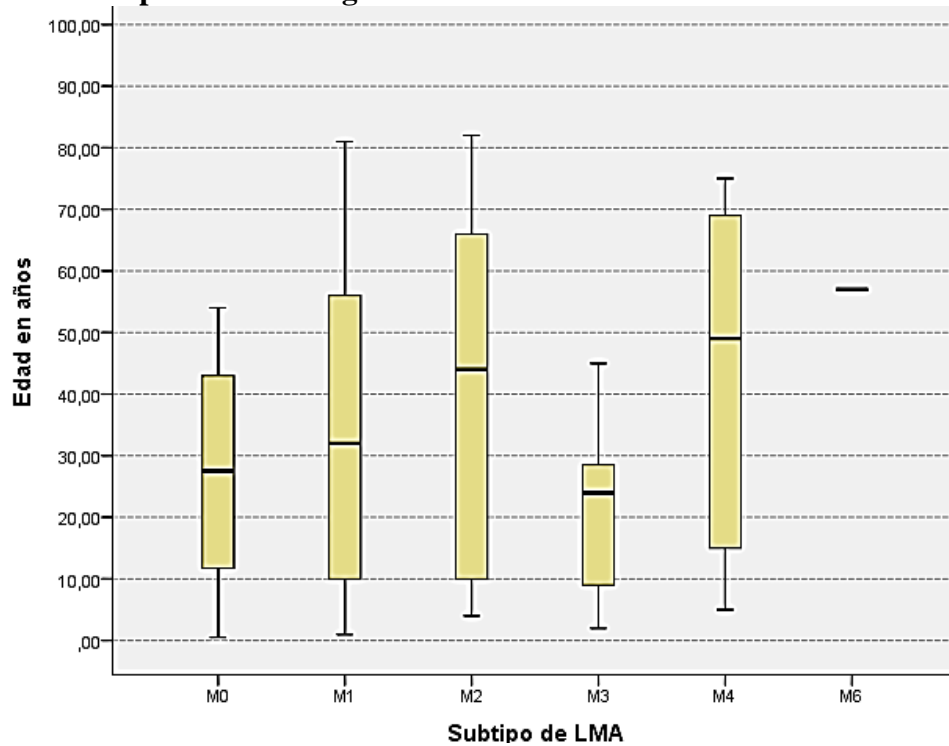
Tabla 13.  
**Subtipos de LMA según promedio de edad. Bolivia 2011-2012**

	Edad		Mediana	p - valor
	X	[IC 95% del X]		
M0	27,3	[1,31 ; 53,4]	27,5	0,32
M1	34,6	[28,6 ; 40,6]	32,0	
M2	40,4	[27,7 ; 53,1]	44,0	
M3	22,2	[14,2 ; 30,1]	24,0	
M4	42,7	[27,5 ; 57,9]	49,0	

En la Tabla 13 y figura 16 se evidencia que la mediana de edad varía entre los diferentes subtipos de LMA lo cual establece una diferente distribución de los rangos intercuartilares.

Figura 16.

**Subtipos de LMA según cuartiles de edad. Bolivia 2011-2012**



En la Tabla 15 se evidencia que de las 47 muestras de pacientes con LMA – M1 (mayor número de casos): 13 (14,4%) corresponden a la región del Altiplano, 13 (14,4%) a la región Valle y 21(23,3%) a la región del Llano.

Tabla 14.  
**Subtipos de LMA según región. Bolivia 2011-2012**

	Altiplano n (%)	Valle n (%)	Llano n (%)	Total n (%)
M0	1 (1,10)	2 (2,20)	1 (1,10)	4 (4,40)
M1	13 (14,4)	13 (14,4)	21 (23,3)	47 (52,2)
M2	6 (6,70)	5 (5,60)	5 (5,60)	16 (17,8)
M3	5 (5,60)	0 (0,00)	6 (6,70)	11 (12,2)
M4	6 (6,70)	2 (2,20)	3 (3,30)	11 (12,2)
M6	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (1,10)	1 (1,10)
Total	31 (34,4)	22 (24,4)	37 (41,1)	90 (100)

En la Tabla 15 se evidencia que las tasas de LMA presentan diferencias entre una y otra gestión.

De igual manera se observa que las tasas por gestión varían de acuerdo a la región y departamento. Es de esa manera que en la gestión 2011 la tasa más alta corresponde al departamento de Cochabamba cuyo indicador es de 1,03 lo cual significa que de cada 100.000 habitantes menores de 18 años al menos 1 cursaba con una LMA.

En la gestión 2012 la tasa más alta correspondió a la registrada en Santa Cruz cuyo índice es de 0,71 lo cual significa que 1 de cada 100.000 habitantes menor de 18 años LMA presentó en este departamento.

Tabla 15.  
**Tasa de LMA por 100.000 habitantes menor a 18 años, según región y gestión.  
 Bolivia 2011-2012**

	Población < 18 años	Número de Casos		Tasa x 100.000 hab.	
		2011	2012	2011	2012
<b>Bolivia</b>	3.808.091	22	10	0,58	0,26
<b>Altiplano</b>					
La Paz	1.040.033	4	1	0,38	0,10
Oruro	175.761	1	0	0,57	0,00
Potosí	349.283	0	1	0,00	0,29
Sub total	1.565.077	5	2	0,32	0,13
<b>Valle</b>					
Cochabamba	680.096	7	1	1,03	0,15
Chuquisaca	265.845	0	0	0,00	0,00
Tarija	85.819	0	0	0,00	0,00
Subtotal	1.031.760	7	1	0,68	0,10
<b>Llano</b>					
Santa Cruz	990.204	8	7	0,81	0,71
Beni	194.304	2	0	1,03	0,00
Pando	26.746	0	0	0,00	0,00
Subtotal	1.211.254	10	7	0,83	0,58

*Fuente: INE, 2012 y Caracterización de las leucemias mieloides agudas por citometría de flujo en las gestiones 2011 – 2012*

En la Tabla 16 de igual manera demuestra la diferencia de tasas entre una y otra gestión con relación a personas mayores o iguales a 18 años.

Se observa que las tasas por gestión varían de acuerdo a la región y departamento. Es de esta manera que en la gestión 2011 la tasa más alta corresponde al departamento de Santa Cruz cuyo indicador es de 1,15 lo cual significa que de cada 100.000 habitantes mayores de 18 años al menos 1 cursaba con una LMA.

En la gestión 2012 la tasa más alta correspondió a la que se registró para el departamento de Cochabamba cuyo índice es de 0,90 lo cual significa que 1 de cada 100.000 habitantes mayores de 18 años tienen LMA en este departamento.

Tabla 16.  
**Tasa de LMA por 100.000 habitantes mayor a 18 años, según región y gestión.  
 Bolivia 2011-2012**

	Población ≥ 18 años	Número de Casos		Tasa x 100.000 hab.	
		2011	2012	2011	2012
<b>Bolivia</b>	4366234	32	26	0,73	0,59
<b>Altiplano</b>					
La Paz	1310433	12	6	0,91	0,45
Oruro	216109	0	4	0,00	0,00
Potosí	359730	1	1	0,28	0,28
Sub total	1886272	13	11	0,69	0,58
<b>Valle</b>					
Cochabamba	775615	6	7	0,77	0,90
Chuquisaca	265677	0	0	0,00	0,00
Tarija	205407	0	1	0,00	0,48
Subtotal	1246699	6	8	0,48	0,64
<b>Llano</b>					
Santa Cruz	1039267	12	7	1,15	0,67
Beni	168217	1	0	0,59	0,00
Pando	25779	0	0	0,00	0,00
Subtotal	1233263	13	7	1,05	0,56

**Fuente:** INE, 2012 y *Caracterización de las leucemias mieloides agudas por citometría de flujo en las gestiones 2011 – 2012*

## 9.4. Características hematológicas de las LMA

### 9.4.1. Glóbulos blancos

En la Tabla 17 se observa el promedio de Glóbulos Blancos (GB) de los diferentes subtipos de LMA. Siendo el promedio de GB más bajo, aquel que corresponde al subtipo M0 ( $x=14.475$  IC 3.708; 25.241) y el promedio de GB más alto corresponde al subtipo M4 ( $x=67.981$  IC 49.020; 86.816).

De igual manera se evidencia que la significancia es mayor a 0,05 ( $p > 0,65$ ) lo cual establece que no existe diferencias significativas entre los promedios de GB de los diferentes subtipos de LMA.

Tabla 17.  
**Subtipos de LMA según los niveles de Glóbulos Blancos.  
Bolivia 2011-2012**

	Glóbulos Blancos/mm <sup>3</sup>			p - valor
	X	[IC 95% del X]	Mediana	
M0	14.475	[3.708 ; 25.241,9]	8.850	0,65
M1	40.334	[28.820 ; 51.849,4]	19600	
M2	38.437	[26.829 ; 50.045,7]	21950	
M3	54.000	[38.461 ; 69.538,2]	51300	
M4	67.918	[49.020, ; 86.816,1]	44600	

### 9.4.2. Plaquetas

En la Tabla 18 se observa el promedio de plaquetas de los diferentes subtipos de LMA, siendo el más bajo, aquel que corresponde al subtipo M4 ( $x=45.990$  IC 37.943; 54.038) y el más alto corresponde al subtipo M3 ( $x=96.000$  IC 64.349; 127.650).

De igual manera se evidencia que la significancia es mayor a 0,05 ( $p$  0,44) lo cual establece que no existe diferencias significativas entre los promedios de plaquetas de los diferentes subtipos de LMA.

Tabla 18.  
**Subtipos de LMA según los niveles de Plaquetas.  
Bolivia 2011-2012**

	Plaquetas/mm <sup>3</sup>			p - valor
	X	[IC 95% del X]	Mediana	
M0	65.750,00	[3.147,9 ; 128.352,1]	16.500,00	0,44
M1	66.059,00	[53.543,7 ; 78.574,4]	34.000,00	
M2	47.937,50	[31.855,5 ; 64.019,4]	28.500,00	
M3	96.000,00	[64.349,3 ; 127.650]	54.000,00	
M4	45.990,00	[37.943,6 ; 54.038,2]	44.000,00	

### 9.4.3. Linfocitos

En la Tabla 19 se observa el promedio de linfocitos de los diferentes subtipos de LMA, siendo el más bajo, aquel que corresponde al subtipo M2 ( $x=7.059$  IC 5.161; 8.957) y el promedio de linfocitos más alto corresponde al subtipo M3 ( $x=15.669$  IC 7.235; 24.103).



De igual manera se evidencia que la significancia es mayor a 0,05 (p 0,95) lo cual establece que no existe diferencias significativas entre los promedios de linfocitos de los diferentes subtipos de LMA.

Tabla 19.  
**Subtipos de LMA según los niveles de Linfocitos.**  
**Bolivia 2011-2012**

	Linfocitos/mm <sup>3</sup>		Mediana	p - valor
	X	[IC 95% del X]		
M0	10.256,	[1.342 ; 19.170]	4.428	0,95
M1	14.272	[8.777 ; 19.767]	4200	
M2	7.059	[5.161 ; 8.957]	3900	
M3	15.669	[7.235 ; 24.103]	3400	
M4	13.346	[10.584 ; 16.108]	12200	

#### **9.4.4. Monocitos**

En la Tabla 20 se observa el promedio de monocitos de los diferentes subtipos de LMA, siendo el más bajo, aquel que corresponde al subtipo M0 (x=2.953 IC 1.541; 4.365) y el promedio de monocitos más alto corresponde al subtipo M4 (x=12.591 IC 8.839; 16.343).

De igual manera se evidencia que la significancia es mayor a 0,05 (p 0,86) lo cual establece que no existe diferencias significativas entre los promedios de monocitos de los diferentes subtipos de LMA.

Tabla 20.  
**Subtipos de LMA según los niveles de Monocitos.**  
**Bolivia 2011-2012**

	Monocitos/mm <sup>3</sup>		Mediana	p - valor
	X	[IC 95% del X]		
M0	2.953,00	[1.541,4 ; 4.365,5]	3.060,00	0,86
M1	10.248,00	[7.674,6 ; 12.821]	4300,00	
M2	9.208,60	[6.172,1 ; 12.245]	3950,00	
M3	12.302,59	[6.716,3 ; 17.888]	7300,00	
M4	12.591,80	[8.839,8 ; 16.343]	8500,00	

#### 9.4.5. Neutrófilos

En la Tabla 21 se observa el promedio de neutrófilos de los diferentes subtipos de LMA, siendo el más bajo, aquel que corresponde al subtipo M0 ( $x=1.969$  IC 1.127; 2.811) y el promedio de neutrófilos más alto corresponde al subtipo M4 ( $x=39.915$  IC 25.405; 54.425).

De igual manera se evidencia que la significancia es mayor a 0,05 ( $p=0,06$ ) lo cual establece que no existe diferencias significativas entre los promedios de neutrófilos de los diferentes subtipos de LMA.

Tabla 21.  
**Subtipos de LMA según los niveles de Neutrófilos.**  
**Bolivia 2011-2012**

	Neutrófilos/mm <sup>3</sup>		Mediana	p - valor
	X	[IC 95% del X]		
M0	1.969,00	[1.127,7 ; 2.811,8]	2.350,00	0,06
M1	15.658,00	[11.969,3 ; 19.348,1]	8400,00	
M2	22.168,10	[15.042,1 ; 29.294,1]	11200,00	
M3	31.764,00	[22.647,3 ; 40.891,4]	29300,00	
M4	39.915,00	[25.405,3 ; 54.425,6]	22400,00	

#### 9.4.6. Glóbulos Rojos (GR)

En la Tabla 22 se observa el promedio de GR de los diferentes subtipos de LMA, siendo el promedio más bajo, aquel que corresponde al subtipo M2 ( $x=2,46$  IC 2,3; 2,5) y el promedio de GR más alto corresponde al subtipo M0 ( $x=3,3$  IC 2,9; 3,6).

De igual manera se evidencia que la significancia es mayor a 0,05 ( $p=0,24$ ) lo cual establece que no existe diferencias significativas entre los promedios de GR de los diferentes subtipos de LMA.

Tabla 22.  
Subtipos de LMA según los niveles de Glóbulos Rojos.  
Bolivia 2011-2012

	GR x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>			p - valor
	X	[IC 95% del X]	Mediana	
M0	3,30	[2,9 ; 3,6]	3,20	0,24
M1	2,60	[2,5 ; 2,7]	2,71	
M2	2,46	[2,3 ; 2,5]	2,56	
M3	2,88	[2,6 ; 3,1]	2,88	
M4	2,69	[2,4 ; 2,9]	2,60	

#### 9.4.7. Hemoglobina (Hb)

En la Tabla 23 se observa el promedio de Hb de los diferentes subtipos de LMA, siendo el promedio de Hb más bajo, aquel que corresponde al subtipo M1 ( $x=8,08$  IC 7,75; 8,41) y el promedio de Hb más alto corresponde al subtipo M2 ( $x=10,80$  IC 7,90; 13,7).

De igual manera se evidencia que la significancia es mayor a 0,05 ( $p=0,48$ ) lo cual establece que no existe diferencias significativas entre los promedios de Hb de los diferentes subtipos de LMA.

Tabla 23.  
**Subtipos de LMA según los niveles de Hemoglobina (Hb).**  
**Bolivia 2011-2012**

	Hb g/dL			p – valor
	X	[IC 95% del X]	Mediana	
M0	10,30	[7,49 ; 13,1]	9,40	0,48
M1	8,08	[7,75 ; 8,41]	7,80	
M2	10,80	[7,90 ; 13,7]	7,65	
M3	8,36	[7,69 ; 9,03]	8,50	
M4	8,39	[7,82 ; 8,95]	7,80	

#### 9.4.8. Hematocrito (Hto)

En la Tabla 24 se observa el promedio de hematocrito de los diferentes subtipos de LMA, siendo el más bajo, aquel que corresponde al subtipo M2 ( $x=23,97$  IC 22,4; 25,5) y el promedio de Hto más alto corresponde al subtipo M0 ( $x=31,40$  IC 22,4; 40,5).

De igual manera se evidencia que la significancia es mayor a 0,05 ( $p=0,97$ ) lo cual establece que no existe diferencias significativas entre los promedios de Hto de los diferentes subtipos de LMA.

Tabla 24.  
**Subtipos de LMA según el porcentaje del Hematocrito.**  
**Bolivia 2011-2012**

	Hto %			p - valor
	X	[IC 95% del X]	Mediana	
M0	31,40	[22,4 ; 40,5]	27,95	0,97
M1	30,87	[24,7 ; 37,1]	23,60	
M2	23,97	[22,4 ; 25,5]	23,50	
M3	25,40	[23,8 ; 26,9]	26,30	
M4	25,90	[23,8 ; 27,9]	22,70	

#### 9.4.9. Volumen Corpuscular Medio (VCM)

En la Tabla 25 se observa el promedio de VCM de los diferentes subtipos de LMA, siendo el más bajo, aquel que corresponde al subtipo M0 ( $x=86,2$  IC 82,8; 89,6) y el promedio de VCM más alto corresponde al subtipo M2 ( $x=95,13$  IC 93,3; 96,9).

De igual manera se evidencia que la significancia es mayor a 0,05 ( $p$  0,13) lo cual establece que no existe diferencias significativas entre los promedios de VCM de los diferentes subtipos de LMA.

Tabla 25.  
Subtipos de LMA según los niveles del Volumen Corpuscular Medio.

<b>Bolivia 2011-2012</b>				
	Edad		Mediana	p - valor
	X	[IC 95% del X]		
M0	86,20	[82,8 ; 89,6]	86,90	0,13
M1	91,27	[89,9 ; 92,5]	90,54	
M2	95,13	[93,3 ; 96,9]	95,50	
M3	88,13	[86,9 ; 89,2]	88,00	
M4	93,23	[90,5 ; 95,9]	92,54	

## 10. DISCUSIÓN

Se trabajaron en total 90 casos de pacientes con LMA, de los cuales se prosiguió al estudio de la morfología, el hemograma y el análisis por Citometría de Flujo, provenientes de diferentes partes del país, que fueron diagnosticados entre enero de 2011 a junio de 2012. De estos pacientes 92% fueron nuevos casos y 8% fueron casos ya existentes que enviaron sus muestras para hacer el seguimiento de la EMR.

El género más afectado con LMA fue el masculino, pero sin presentar una diferencia estadísticamente significativa en comparación con el género femenino, en las publicaciones se observa que pese a ser un gran número de datos no existe diferencia entre ambos géneros (Amaru, 2012); la razón hombre - mujer fue de 1:0,8, dato que coinciden con la literatura (Li, 2010; Amaru, 2012), quiere decir que de cada 10 hombres 8 mujeres presentan LMA, en Venezuela se reporta una razón de 1:0,9 siendo el género masculino el afectado (Borjas, 2012), así como señala la bibliografía en el Perú que la tasa de incidencia en mujeres fue de 1.9 y en hombres 2.4 (INEN, 2011).

En los niños no existió diferencia estadísticamente significativa, con una razón hombre – mujer de 0,9:1, dato que coincide con lo publicado, que refiere que en niños no existe una diferencia significativa entre géneros (Amaru, 2012) (Montesinos, 2001), pero no coincide con otras publicaciones donde la relación hombre mujer es de 1,6 en niños

(ASCO, 2014), este dato se puede ampliar con un estudio posterior y con datos de otros hospitales en Bolivia.

De todas estas muestras existe sesgo en la variable procedencia, porque los datos fueron introducido a la base File Marker Pro 8, algunas veces como lugar de nacimiento, lugar de hábitat y otras veces como lugar de procedencia del Centro Oncológico donde fue tomada la muestra; y sumado a esto está la migración interna en los últimos años en Bolivia, fenómeno que se observa en la publicación por ser datos de la misma procedencia (Amaru, 2012 y 2008), pero esto nos permite saber que en próximos estudios se puede enviar otra hoja de datos más específica, colocando por cada departamento el lugar de residencia para que de esta manera se pueda determinar exactamente los riesgos de vivir en esta zona, que puede ser por un río contaminado por minerales, alimentos o utilización de pesticidas.

Por lo que en el presente estudio se evidencia pacientes que proceden en mayor proporción del departamento de Santa Cruz, le siguen los de La Paz y en tercer lugar están los pacientes de Cochabamba, apreciándose claramente el sesgo por provenir del eje troncal, donde existe mayor número de centros oncológicos donde migran los pacientes, pero también hay que destacar que son los lugares donde existe mayor población.

Así también existe sesgo en cuanto a la cantidad de pacientes menores de 18 años, porque como en la UBC se realiza el diagnóstico gratuito a estos menores, hay una gran

cantidad de este grupo para su diagnóstico, pero pese a esto el número de pacientes menores de edad no rebasa a los adultos, donde el porcentaje de adultos es de 64,4% y de menores de edad de 35,6%, mostrándose en otros estudios que la frecuencia de LMA aumenta con la edad, datos relacionados, es decir que esta patología afecta más a adultos y adultos mayores, mostrando en el estudio que el promedio más alto es de 42 años, datos parecidos a los publicados (da Silva, 2006; Bain, 2003 y 2010; Quintero, 2006; Duque, 2006).

En adultos mayores también se sabe que incidencia de LMA deriva a partir del SMD, que la probabilidad de mortalidad se asocia a la quimioterapia de inducción, así también se da en menores de 60 años entre un 5 y 15%, por lo tanto el conteo de blastos en sangre periférica afectan negativamente en mayores de 60 años, ya que tienen una menor sobrevida (Milanés, 2002; Yin, 2010).

Es importante recalcar que este tipo de patologías se presentan cuando la esperanza de vida aumenta y la población vive un proceso de cambio de patologías infecciosas a patologías del 3er mundo como las oncológicas, así como se observa en Bolivia donde para el 2011 y el 2012 la esperanza de vida fue de 67,1 y 67,5 respectivamente; en comparación con otros países como Colombia donde su esperanza de vida llega hasta los 73,8 años, en Italia es 77 años (Banco Mundial, 2014, Amaru, 2012), presentándose en estos países mas casos de SMD que en nuestro país.



En cuanto a los niños, se observa que hay un mayor porcentaje de niñas que de niños, pero la diferencia no es estadísticamente significativa, ya que los datos fueron tomados de un periodo al azar. El mayor número de niños proceden de Santa Cruz y así como en los adultos el subtipo que más afecta es el LMA M1, presentándose para el 2011 una tasa de 0,81 y para el 2012 una tasa de 0,71 por cada 100000 habitantes y el subtipo con un promedio de edad menor fue el de LMA M3, datos que coinciden con los publicados en la literatura (Amaru, 2012; INEN, 2011; IARC-OMS, 2008), así también coincide con lo publicado en China, Colombia y continente europeo, ya que indican que en general la frecuencia de pacientes niños es menor que de pacientes adultos (Li, 2010; Quintero, 2006; Duque, 2006; Creutzig, 2012).

En cuanto a los subtipos de LMA en México el subtipo predominante para LMA es el M4, M3 y el M2 en tercer lugar (Corrales, 2011) o publicado para otros autores el subtipo más frecuente es el M2, seguido por M4 (Buitrón, 2010) o recientemente una publicación señala que los subtipos más frecuentes son: M4, M2 y M3 en tercer lugar, además que no se presentan pacientes con la variante para LMA M7, pero estos datos de México en lo que coinciden con los datos de Bolivia es que la incidencia de LMA M7 es muy rara, como en el presente estudio, que no se presentó ningún paciente con M7 (Sotomayor, 2014), pero el orden de los subtipos es muy diferente.

En Pakistán, se informó que el subtipo más frecuente es la variedad M4; en la República de Omán la variedad más común fue la M2 (Udayakumar, 2007), datos parecidos a los de México y diferentes a este estudio.

En Brasil, país limítrofe con Bolivia, en una región llamada San José dos Campos se encontró una alta prevalencia de pacientes con el subtipo M1 de novo, datos parecidos a los presentados en este estudio y el reportado por Amaru (2012), es decir que el subtipo frecuente es M1. Pero en la literatura del Brasil en otros estados señalan que el subtipo M1 es menor al 20% descrito para adultos, y la prevalencia al contrario es mayor para M3, en otro estado es más común M4 y M2 (Callera, 2006), mostrando así una diversidad.

Destacando que los subtipos de LMA pueden llevar a una controversia por la variedad étnica que existe en cada región, siendo típico de cada región algún subtipo, además del riesgo de sesgo.

Según Otero (1996) señala que la población hispana que habita en Estados Unidos muestra una prevalencia mayor de leucemias agudas linfoblástica y promielocítica (M3) en comparación con otras razas, en cambio en nuestro estudio la LMA M3 se presenta en un 12%, que es menor al de Estados Unidos.

Analizando los promedios de leucocitos se observa que de todos los subtipos estudiados se presenta una leucocitosis, datos que coinciden con lo publicado (Duque, 2006; Quintero, 2006). La bibliografía también indica que la hiperleucocitosis está relacionada con la mutación del gen FLT3-ITD del subtipo LMA M3 (Camós, 2007), así también sucede en M3 que la variante microgranular suele cursar con leucocitosis

(Merino, 2007), dato que se observa en este estudio, sabiendo que la hiperleucocitosis es el aumento considerable de glóbulos blancos mayor a 100000 leucocitos/mm<sup>3</sup>, cuando sobrepasa los 200000 leucocitos/mm<sup>3</sup> ocasiona el accidente cerebro vascular (Jaime, 2011); así como la leucocitosis en adultos, y la leucocitosis después del tratamiento es sinónimo de recaída (Muñoz, 2005). Comparando los promedios del recuento de leucocitos con la bibliografía (Gomes, 2011), el promedio que coincide con este estudio es del subtipo M2 con 37700 glóbulos blancos/mm<sup>3</sup> y M4 con 71600 glóbulos blancos/mm<sup>3</sup>, con una leve diferencia, pero ningún promedio sale del rango establecido por la publicación.

Los pacientes con alto riesgo de compromiso del SNC, son los con diferenciación monocítica (M4 ó M5) o hiperleucocitosis (100000 leucocitos/mm<sup>3</sup>) al inicio en el diagnóstico (INEN, 2011), en particular en niños (Perea, 2011) y en el presente estudio sólo se presentó la variante M4 con recuento de leucocitos dentro el promedio y solo se presentaron 3 casos.

Las plaquetas son un factor importante característico que se altera en la leucemia, presentándose así en el paciente a través de hematomas y petequias (Montesinos, 2001; Da Silva 2006; Romero, 2002; Da Silva 2006; Aruquipa, 2007; Da Silva 2006); en el estudio que se hizo no fue la excepción, donde se presentó una trombocitopenia, con un promedio elevado en el recuento del subtipo M3, superior al promedio de 20000 plaquetas/mm<sup>3</sup> (Gomes, 2011). En M3 se corre el riesgo de que se presente la coagulación

intravascular diseminada como consecuencia, debido a la activación intravascular y no localizada de la coagulación, llevando al paciente a una muerte más temprana. (Romero, 2002; Da Silva 2006).

En cuanto a los demás subtipos los promedios que son parecidos a la publicación son de M0, M2; con 65750 plaquetas/mm<sup>3</sup> y 47937 plaquetas/mm<sup>3</sup> respectivamente. (Gomes, 2011).

El recuento de linfocitos no se lo puede considerar una característica de este tipo de leucemia, si no de la leucemia linfocítica crónica y del linfoma no hodgkin en fase leucémica (Grinspan, 1985); el promedio general es de 12121 linfocitos/mm<sup>3</sup> en el recuento de linfocitos es más elevado en el subtipo LMA M3 y se ve un menor promedio en el recuento de LMA M2.

Los pacientes del estudio en general presentaron neutrofilia en una mayor proporción como se observan en los promedios por subtipos, siendo el promedio más alto para M4 con un recuento de 39915 neutrofilos/mm<sup>3</sup>, frecuencia que varía de la bibliografía revisada, ya que se habla de una neutropenia (Aruquipa, 2007; Rubnitz, 2008; Döhner, 2010), según Aruquipa y col. señalan que al diagnóstico de la enfermedad monoclonal el crecimiento celular es logarítmico (Aruquipa, 2007).

Según Aruquipa y Rubnitz en general refieren que los hallazgos para estos pacientes es neutropenia, por el desplazamiento de las células leucémicas a células normales (Aruquipa, 2007; Rubnitz, 2008), pero los datos obtenidos son por recuento automático, diferencia que no hace el equipo, pero para M0 si se presenta la neutropenia de la que se habla.

En los pacientes analizados a través del hemograma se encontró que en un alto porcentaje se presentó anemia muy severa; es decir que su hemoglobina fue menor a 9,4 g/dl, según la clasificación de la OMS adaptada a la altura (Dávila, 2011), dato característico en pacientes con LMA (da Silva, 2006) y el subtipo con promedio más bajo de nivel de hemoglobina es LMA M1. Y el subtipo con nivel de hemoglobina con promedio más alto fue para M2, por encima del promedio para ser considerada anemia muy severa.

En cuanto al porcentaje de hematocrito no fue muy tomado en cuenta por el error que puede existir en este, y en el estudio se apreció que los datos de hemoglobina no coincidían con el porcentaje de hematocrito ya que el promedio más alto fue para M0 y el más bajo fue para M2.

En un 86% se presentó anemia normocítica, apreciable en los promedios de los diferentes subtipos de LMA, dato que se corrobora con lo publicado en la literatura,

que indica que en general el tipo de anemia que se presenta en estos pacientes es normocítica (Duque, 2006; Romero, 2002; da Silva, 2006; Aruquipa, 2007).

## 11. CONCLUSIONES

Se caracterizó epidemiológica, demográfica y hematológicamente las LMAs por Citometría de Flujo en Bolivia durante las gestiones 2011 y 2012, datos que no sobrepasan la frecuencia de LLA, pero es la segunda variedad de leucemias con mayor frecuencia en Bolivia.

Se clasificó e interpretó las muestras de LMA por un análisis morfológico, citometría de flujo y biología molecular, comparando con los diferentes parámetros obtenidos del hemograma, viendo que el subtipo más frecuente tanto en adultos como en niños es LMA M1(52,2%), en cuanto al estudio por hemograma los pacientes presentaron leucocitosis en mayor frecuencia, con un promedio de recuento mayor de 67,918 GB/mm<sup>3</sup>, así como trombocitopenia y la hemoglobina nos mostró que hay una mayor frecuencia de pacientes con anemia muy severa y de tipo normocítica; cada subtipo de LMA presenta su peculiaridad en cuanto al análisis del hemograma y su propia característica.

Se relacionó la frecuencia de pacientes con LMA en base a la edad, mostrando que fue superior el número de pacientes mayores de edad (64,4%) en relación a los pacientes menores a 18 años (35,6%). El género más afectado fue el masculino (56,7%) con una razón 1:0,8 y una relación simplificada de 10 hombres por cada 8 mujeres. En cuanto a la procedencia de cada paciente, mayor fue el diagnóstico de pacientes procedentes de Santa Cruz (37,8%). En los subtipos de LMA en cuanto al género, el

subtipo M1 se presenta en mayor frecuencia con una relación de 1:0,8 para el género masculino. Con relación a la edad, se destaca la gráfica de los pacientes menores de 18 años que muestran un pico en pacientes de 7 a 9 años, con 12,4%. En los adultos no es tan obvio el pico, pero destacan los pacientes entre 73 y 75 años (6, 7%). Observando la procedencia por regiones se vio que en las tres regiones predomina el subtipo M1.



## **12. RECOMENDACIONES**

Es necesario que las muestras se envíen antes de indicar tratamiento farmacológico, porque se encontraron resultados hematológicos que no coincidían con los indicados por los médicos tratantes y que al realizar el estudio se verifique que fueron tratados previamente.

Los aspirados de médula ósea deben ser realizados por personal entrenado para que la muestra no esté contaminada con sangre periférica, que perjudica en el diagnóstico, sobre todo si es para determinar EMR. Evidenciándose 45 (3%) de muestras no valorables del total que llegaron al laboratorio durante estos 5 años.

Si bien la información generada en este estudio es de suma importancia, nos da muchas pautas sobre las LMA en Bolivia, se plantea la necesidad de continuar con esta investigación, realizando estudios de correlación entre los marcadores moleculares, la citogenética (FISH) y otros marcadores inmunofenotípicos por Citometría de Flujo de ocho colores como se mencionan en la literatura, además de relacionar con el riesgo que se presenta en estos pacientes, en base a los marcadores inmunofenotípicos, de biología molecular y citogenéticos.

### **13. BIBLIOGRAFÍA**

- 1) AMARU, R., TORRES, G., LIMACHI, M., et al. (2008). Epidemiología de las leucemias en Bolivia: Evaluación de 933 casos. Cuad. - Hosp. Clín. vol. 53(2):9-15.
- 2) ALHAN, C., WESTERS, TM., VAN DER HELM, LH., EELTINK, C., HULS, G., WITTE, BI., et al. (2014). Absence of Aberrant Myeloid Progenitors by Flow Cytometry is Associated with Favorable Response to Azacitidine in Higher Risk Myelodysplastic Syndromes. Cytometry Part B; 86B: 207–215.
- 3) AL-MAWALI, A., GILLIS, D., LEWIS, I., (2009a). The role of multiparameter flow cytometry for detection of minimal residual disease in acute myeloid leukemia. Am J Pathol; 131(1):16-26
- 4) AL-MAWALI, A., GILLIS, D. LEWIS, I. (2009b). The use of receiver operating characteristic analysis for detection of minimal residual disease using five color multiparameter flow cytometry in acute myeloid leukemia identifies patients with risk of relapse. Cytometry B Clin Cytom; 76B: 91-101
- 5) AMARU, R., TORRES, G., PEÑALOZA, R., Et al. (2012). Epidemiología de las leucemias en Bolivia: 1473 casos Enero 1999 a Mayo de 2012. Revista Médica La Paz, 18 (1): 9-19
- 6) AMERICAN CANCER SOCIETY (ACS). (2012). Datos y Estadísticas sobre el Cáncer entre los Hispanos/Latinos 2012-2014. Atlanta: Sociedad Americana Contra El Cáncer. 14-16 p.
- 7) ARUQUIPA, S. (2007). Evaluación de parámetros morfológicos, citoquímicos, e inmunofenotípicos durante la fase de inducción de pacientes adultos con leucemia. Tesis para optar el grado de especialista en diagnóstico clínico con mención hematología. La Paz. Universidad Mayor de San Andrés. 20 p.

- 8) BAIN, B. (2010). Leukaemia diagnosis. 4ta edición. Singapur. Wiley Blackwell. 1-382 p.
- 9) BANCO MUNDIAL. (2014). Esperanza de vida. [En línea] Disponible en URL:[http://www.google.com.bo/publicdata/explore?ds=d5bncppjof8f9\\_&met\\_y=sp\\_dyn\\_le00\\_in&idim=country:BOL:ARG:VEN&hl=es&dl=es#!ctype=l&strail=false&bcs=d&nselm=h&met\\_y=sp\\_dyn\\_le00\\_in&scale\\_y=lin&ind\\_y=false&rdim=region&idim=country:BOL:ARG:VEN:BRA:CHL:MEX:COL&ifdim=region&hl=es&dl=es&ind=false](http://www.google.com.bo/publicdata/explore?ds=d5bncppjof8f9_&met_y=sp_dyn_le00_in&idim=country:BOL:ARG:VEN&hl=es&dl=es#!ctype=l&strail=false&bcs=d&nselm=h&met_y=sp_dyn_le00_in&scale_y=lin&ind_y=false&rdim=region&idim=country:BOL:ARG:VEN:BRA:CHL:MEX:COL&ifdim=region&hl=es&dl=es&ind=false)
- 10) BENE, M.C., CASTOLDY, G., KNAPP, W., LUDWIG, W.D., MATUTES, E., ORFAO, A., et al. (1995). Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *Leukemia*; 9: 1783-6.
- 11) BENNETT, J.M., CATOVSKY, D., DANIEL, M.T., et al. (1976). Proposals for the classification of the acute leukaemias. *Br J Haematol*; 33:451 -8.
- 12) BENNETT, J., CATOVSKY, D., DANIEL, M.T., et al. (1985). Criteria for the diagnosis of acute leukemia of megakaryocytic lineage (M7): a report of the French-American-British cooperative group. *Ann Intern Med*; 103:460-2.
- 13) BENNETT, J., CATOVSKY, D., DANIEL, M.T., et al. (1991). Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML MO). *Brj Haematol*; 78:325-9.
- 14) BENNETT, J.M., CATOVSKY, D., DANIEL, M.T., et al. (1980). The French-American-British (FAB) Cooperative Group. Correspondence; a variant form of hypergranular promyelocytic leukemia (M3). *Br J Haematol* 44: 169-70
- 15) BERGER, R., BERNHEIM, A., DANIEL, M.T., et al. (1985). Cytogenetic studies on acute myelomonocytic leukemia (M4) with eosinophilia. *Leuk Res* 9: 279-88
- 16) BERGER, R., FLANDRIN, G. (1984). Determining the nature of cells studied cytogenetically. *Cancer Surveys* 3:423-38

- 17) BETZ, B.L., HESS, J. L. (2010). Acute Myeloid Leukemia Diagnosis in the 21st Century. Arch Pathol Lab Med. [En línea] Disponible en URL:<<http://www.archivesofpathology.org/doi/pdf/10.1043/2010-0245-RA.1>> [consulta: 20 enero 2012]
- 18) BRODSKY, F.M. (1984). A matrix approach to human class II histocompatibility antigens: reactions of four monoclonal antibodies with the products of nine haplotypes. Immunogenetics; 19:179-194.
- 19) BUITRÓN, N., ARTEAGA, L., ROSAS, A., AGUAYO, A., LÓPEZ, X., CRESPO, E. (2010). Experiencia del INCMNSZ en pacientes adultos con leucemia mieloide aguda. Cohorte 2003-2008. Rev Invest Clin; 62(2):100-8
- 20) CABRAL, H., RODRIGUES, M., ANDRÉ, N., (2007). Leucemia Aguda Mielóide. [diapositivas]. s.l. 49 diapositivas; texto en portugués. 1-22 p.
- 21) CALLE G. (2013). Bolivia mejora en esperanza de vida, ingresos y educación. La Paz, La Razón. [http://www.la-razon.com/index.php?\\_url=/sociedad/Bolivia-mejora-esperanza-ingresos-educacion\\_0\\_1811818818.html](http://www.la-razon.com/index.php?_url=/sociedad/Bolivia-mejora-esperanza-ingresos-educacion_0_1811818818.html)
- 22) CALLERA, F., MULIN, CC., ROSA, ES., MELO, DB., MELO, CM. (2006). High prevalence of morphological subtype FAB M1 in adults with de novo acute myeloid leukemia in São José dos Campos, São Paulo. Sao Paulo Med J.; 124(1):45-7
- 23) CELLULAR AND MOLECULAR IMMUNOLOGY. (2012). Por Abul K. Abbas "et al". 7°ed. Philadelphia, Elsevier. 475p.
- 24) CHESON, B.D., CASSILETH, P.A., HEAD, D.R. et al. (1990). Report of the NCI-sponsored workshop on definitions of diagnosis and response in acute myeloid leukemia. J Clin Oncol 8:813-819
- 25) CHESON, B.D., BENNETT, J.M., KOPECKY, K.J., BUCHNER, T. WILLMAM, C.L., ESTEY, E.H., et al. (2003). Revised recommendations of international working group for diagnosis, standardization of response

criteria, treatment outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*; 21: 4642- 4649

- 26) CIUDAD, J., ORFAO, A., VIDRIALES, B., MACEDO, A., MARTINEZ, A., GONZÁLEZ, M., LOPEZ-BERGES, MC., et al. (1998). Immunophenotypic analysis of CD19+ precursors in normal human adult bone marrow: implications for minimal residual disease detection. *Haematologica*; 83: 1069-1075.
- 27) CORRALES, C., LABARDINI, J., CERVERA, E., ESPINOZA, J., RAMÍREZ, A., LÓPEZ, O. (2011). Leucemia aguda mieloblástica. Características clínicas, bioquímicas y factores asociados con mortalidad en pacientes mexicanos del Instituto Nacional de Cancerología (INCAN). *Revista de Hematología Volumen 12, núm. 3.* 160 p.
- 28) CRAIG, F.E., FOON, K.A. (2008). Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood*; 111 (8): 3841-3967
- 29) CRESPO SOLIS E. Epidemiología de las leucemias agudas. (2010). Abril-May 13 Vol. 11, Supl. 1.
- 30) CREUTZIG, U., VAN DEN HEUVEL-EIBRINK, M.M., GIBSON, B., DWORZAK, M.N., ADACHI, S. “et al”. (2012). Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel. *Blood*, volume 120, number 16. 3187-3205
- 31) CRIVELLATO, E., BELTRAMI, C.A., MALLARDI, F., RIBATTI, D., (2003). Paul Ehrlich’s Doctoral Thesis: A Milestone In The Study Of Mast Cells. (Historical Review) *Br J of Haema* . 123: 19–21P. [serie en línea]. <[http://www.bloodmed.com/home/hann2pdf/bjh\\_4573.pdf](http://www.bloodmed.com/home/hann2pdf/bjh_4573.pdf)> [consulta: 20 enero, 2012]
- 32) CURADO, M.P. EDWARDS, H.R., SHIN, H., STORM, J., et al. (2007). *Cancer Incidence in Five Continents Volume IX.* IARC Scientific

Publications N° 160. International Agency for Cancer Research (WHO) and International Association for Cancer Registries; Lyon, France.

- 33) DA SILVA, G.C., PILGER, D.A., DE CASTRO, S.M., WAGNER, S.C. (2006). Diagnóstico laboratorial das leucemias mielóides agudas. J Bras Patol Med Lab. v. 42. n. 2. p. 77-84. [En línea] Disponible en URL:<<http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v42n2/a04v42n2.pdf>> [consulta: 20 enero 2012]
- 34) DÁVILA, I., FERNÁNDEZ, F., FREIRE, W., GUZMÁN, M. G. (2011). Normas, protocolos y consejería para la suplementación con micronutrientes, Ministerio de Salud Pública del Ecuador. 18-19 p.
- 35) DICK, JE. (1999). Assays for human leukemic stem cells. American Society of Hematology Education Program Book. 112-119p.
- 36) DÖHNER, H., ESTEY, E.H., AMADORI, S., APPELBAUM, F.R., BÜCHNER, T. BURNETT, A.K., DOMBRET, H., FENAUX, P., GRIMWADE, D., LARSON, R.A., LO-COCO, F., NAOE, T., NIEDERWIESER, D. et al. (2010). Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European Leukemia Net. Blood; 115, 453-474.
- 37) DOMINGO, E. (2011). Desarrollo de una técnica de citometría de flujomultiparamétrica que permite detectar enfermedad mínima residual por debajo del límite establecido. Tesis para optar al doctorado. Barcelona. Universidad de Navarra. Pamplona. 1-161 p.
- 38) DUQUE, L., RESTREPO, C., ZAPATA, A., DUQUE, J., DONATO, J., MEJIA, G. (2006). Características morfológicas, Citogenéticas e Inmunofenóticas de pacientes con Leucemia Mieloide Aguda. Medellín, Colombia [En línea] Disponible en URL:<<http://redalyc.uaemex.mx/pdf/717/71711207.pdf>> [consulta 20 enero, 2012]

- 39) EBIOSCIENCE. (2011). Catálogo. [En línea] Disponible en URL:<http://www.ebioscience.com/media/pdf>> [consulta: 25 febrero 2012]
- 40) EDWARDS, J.A., DURANT, B.M., JONES, D.B., EVANS, P.R., SMITH, J.L., (1986). Differential expression of HLA class II antigens in fetal human spleen: relationship of HLA-DP, DQ, and DR to immunoglobulin expression. *J Immunol*; 137:490-497.
- 41) ESCRIBANO, L., GARCIA MONTERO, AC., NUNEZ, R., ORFAO, A. (2006). Flow cytometric analysis of normal and neoplastic mast cells: role in diagnosis and follow-up of mast cell disease. *Immunology and Allergy Clinics of North America*; 26: 535-547.
- 42) ESTEVE, J. (2007). Caracterización biológica de la leucemia mieloide aguda con traslocación t(8;16)(p11;p13) y reordenamiento MYST3-CREBBP. Tesis para optar al grado de doctorado. Barcelona. Universidad de Barcelona. 1-73 p.
- 43) EUROPEAN GROUP FOR THE IMMUNOLOGICAL CHARACTERIZATION OF LEUKEMIA(EGIL). (1995). Bene, MC., Castoldi, G., Knapp, W., et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *Leukemia*;9:1783-6
- 44) FELIU, E., ROZMAN, M., AGUILAR, J.L., SAN MIGUEL, J.F., GONZALES, R., RÍOS, A., et al. (2008). Principios generales de la exploración del enfermo hematológico. En: Farreras-Rozman. *Medicina interna*. 16 ed. Barcelona. ELSEVIER. p.p. 1621-1645.
- 45) FELLER, N., VAN DER POL, M.A., VAN STIJN, A., WEIJERS, G., WESTRA, A., et al. (2004). MDR parameters using immunophenotypic detection methods are highly reliable in predicting survival in acute myeloid leukemia. *Leukemia*; 18: 1380-1390
- 46) FERLAY, J., SHIN, H.R., BRAY, F., FORMAN, D., et al. (2008). GLOBOCAN 2008, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for

- Research on Cancer; 2010. [En línea] <<http://globocan.iarc.fr>> [consulta: 30 marzo, 2012]
- 47) FERNANDEZ, C. (2013). Diagnóstico y clasificación de las leucemias agudas. [diapositivas]. s.26. Perú. 148
- 48) FIALKOW, P., SINGER, J., ADAMSON, J., VAIDYA, K., DOW, L., et al. (1981). Acute nonlymphocytic leukemia: Heterogeneity of stem cell origin. *Blood*; 57:1068-1073.
- 49) FUNDACIÓN POHEMA. (2013). Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Cáncer Pediátrico de Cali. VIGICANCER, boletín Nro. 4. 1-5 p.
- 50) GAMAL, A. (2011). Classification of Acute Leukemia, Acute Leukemia. Ed. The Scientist's Perspective and Challenge. [En línea] Disponible en URL: <<http://www.intechopen.com/books/acute-leukemia-the-scientist-s-perspective-and-challenge/classification-ofacute-leukemia>> [consulta: 11 noviembre 2012]
- 51) GARCIA, O., PEREIRA, N., FLORES, R. (1998). Enzimas generadoras de especies ractivas de oxígeno: mieloperoxidasa. *Rev Cubana Invest Biomed* 17(3):190- 197
- 52) GLOBOCAN. (2012). Incidence/Mortality > Rates: Populations by Cancer. [En línea] Disponible en URL:<[http://globocan.iarc.fr/Pages/summary\\_table\\_site\\_sel.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/summary_table_site_sel.aspx)> [consulta: 3 febrero 2015]
- 53) GOMES, R. (2011). Hemograma Cómo hacer e interpretar. Caracas, Amolca. 360-387p.
- 54) GONZÁLEZ, G., SALMON, S., QUEROL, N., JIMÉNEZ, N., SELL, M. (2011). Características clinicoepidemiológicas de las leucemias en el niño. *MEDISAN*; 15(12):1714
- 55) GRIFFIN, J., LOWENBERG, B. (1986). Clonogenic cells in acute myeloblastic leukemia. *Blood*; 68: 1185-1195. [En línea] Disponible en URL:<<http://bloodjournal.hematologylibrary.org/content/68/6/1185.full.pdf>>



html?sid=c04f3d41-44d9-48dd-b5fb-6c15364437fc> [consulta: 21 enero 2012]

- 56) GRINSPAN, S. (1985). El estudio del frotis de sangre periférica. Revista médica Honduras. Vol. 53. 282-290 p.
- 57) GUTIÉRREZ, A., MEJIA, J., HERNANDEZ, L., MENDOZA, H., GARDUÑO, J. et al. (1999). Epidemiología descriptiva de las neoplasias malignas en niños. Rev Panam Salud Publica Washington; 6 (2). [En línea] Disponible en URL:<<http://www.scielosp.org/pdf/rpsp/v6n2/a1.pdf>> [consulta 15 enero 2012]
- 58) HAASE, D., FEURING-BUSKE, M., KONEMANN, S., (1995). Evidence for malignant transformation in acute myeloid leukemia at the level of early hematopoietic stem cells by cytogenetic analysis of CD34+ subpopulations. Blood;86:2906-2911. [En línea] Disponible en URL:<<http://bloodjournal.hematologylibrary.org/content/86/8/2906.full.pdf+html?sid=84c5a249-d4e0-4710-b452-02fb7b175f95>> [consulta 13 enero, 2012]
- 59) HARANI, MS., ADIL, SN., SHAIKH, MU., KAKEPOTO, GN., KHURSHID M. (2005). Frequency of FAB subtypes in acute myeloid leukemia patients at Aga Khan University Hospital Karachi. J Ayub Med Coll Abbottabad;17(1):26-9
- 60) HARRINSON Principios de Medicina Interna. (2009). Por Fauci, Anthony “et al”. 17° ed. Distrito Federal, McGraw-Hill. 671p.
- 61) HARRINSON Principios de Medicina Interna. (2012). Por Fauci, Anthony “et al”. 18° ed. Distrito Federal, McGraw-Hill.
- 62) HARRIS, N.L. JAFFE, E.S. DIEBALD, J. FLANDRIN, G. MULLER-HERMELINK, H.K., VARDIMAN, J. et al. (2001). World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues: Report of the Clinical Advisory Committee-Airlie House, Virginia, November 1997. J Clin Oncol; 17: 3835-49.

- 63) HAYHOE, F.G. (1988). The classification of acute leukaemia. *Blood Rev*;2: 186-193.
- 64) HOWLADER, N., NOONE, A.M., KRAPCHO, M., GARSHEL, J., MILLER, D., ALTEKRUSE, S.F., et al. (2015) SEER Cancer Statistics Review, 1975-2012, National Cancer Institute. Bethesda, MD, [http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2012/](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2012/), based on November 2014 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2015.
- 65) IARC-OMS. (2008). World Cancer Report 2008. International Agency for Research on Cancer, Lyon.
- 66) INEN Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. (2011). Guía de práctica clínica Leucemia mieloide Aguda. Lima, Perú. [En línea] Disponible en URL:<[http://www.inen.sld.pe/portal/documentos/pdf/normas\\_tecnicas/2011/20102011\\_LEUCEMIA\\_MIELOIDE\\_AGUDA.pdf](http://www.inen.sld.pe/portal/documentos/pdf/normas_tecnicas/2011/20102011_LEUCEMIA_MIELOIDE_AGUDA.pdf)> [consulta: 21 septiembre 2012]
- 67) INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA. (2012). ("Bolivia: Estimaciones y Proyecciones de Población, Periodo 1950-2050", La Paz-Bolivia, Diciembre 2002) y ("Bolivia: Proyecciones de Población por Departamentos, según Sexo y Grupos de Edad, 2000-2030"; INE-UNFPA-CEPAL; La Paz-Bolivia). [http://www.ine.gob.bo/pdf/boletin/NP\\_2001\\_21.pdf](http://www.ine.gob.bo/pdf/boletin/NP_2001_21.pdf)
- 68) JAIME, J.C., ARENCIBIA, A., GUTIÉRREZ, A., RAMÓN, L., et al. (2011). Urgencias en Hematología: alteraciones metabólicas y leucocitarias. Artículo de revisión. [En línea] Disponible en URL: [http://www.bvs.sld.cu/revistas/hih/vol28\\_1\\_12/hih02112.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/hih/vol28_1_12/hih02112.htm)
- 69) JANSSEN-CILAG S.A. (2012). Anemia y Cancer. [En línea] España. <[http://www.janssen-cilag.es/bgdisplay.jhtml?itemname=anemia\\_cancer\\_asociada](http://www.janssen-cilag.es/bgdisplay.jhtml?itemname=anemia_cancer_asociada)> [consulta: 6 diciembre 2012]

- 70) JEMAL, A., SIEGEL, R., XU, J., WARD, E. (2011). Cancer statistics 2011. CA Cancer J Clin; 58(2): 71-96, p.9-15. [En línea] <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.20121/pdf>> [consulta: 19 enero 2012]
- 71) JULIUSSON, G., LAZAREVIC, V., HÖRSTEDT, A-S., HAGBERG, O., AND HÖGLUND, M. (2012). Acute myeloid leukemia in the real world: why population-based registries are needed. BLOOD, VOLUME 119, NUMBER 17. 3890-3399 p.
- 72) LA LEUCEMIA es el cáncer más frecuente en la población infantil. 2011. La Patria [Internet]. Oruro, Boliva. pag 4. [En línea] Disponible en URL:<<http://www.lapatriaenlinea.com/?t=la-leucemia-es-el-cancer-mas-frecuente-en-la-poblacion-infantil&nota=58984>> [contulta: 20 enero 2012]
- 73) LAPMPSON, L.A., LEVY, R. (1980). Two populations of Ia-like molecules on a human B cell line. J Immunol; 125:293-299.
- 74) LENDECKEL, U., ARNDT, M., FRANK, K., WEX, T., ANSORGE, S. (1999). Role of alanyl aminopetidase in growth and function of human T cells [review] Int J Mol Med 4: 17-27 p.
- 75) LEUCEMIA MIELOIDE (mielógena) aguda. (2011). Sociedad Americana Contra el Cáncer (S.A.C.C.); Atlanta, Estados Unidos [Folleto en línea]. [En línea] Disponible en URL:<<http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/002302-pdf.pdf>> [consulta: 19 enero 2012]
- 76) LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA. (2011). Leukemia and Linfoma Society (L. L. S.). 1-56 p.
- 77) LEUCEMIA: Leucemia mieloide aguda (AML) en adultos. (2011). American Society of Clinical Oncology (A.S.C.O.); Estados Unidos [Folleto en línea]. Disponible en URL:<[www.cancer.net/portal/servlet/pdfgen?fileName=Leucemia](http://www.cancer.net/portal/servlet/pdfgen?fileName=Leucemia):>

Leucemia mieloide aguda (AML) en adultos.pdf&url=http%3A%2F%2Fwww.cancer.net%2Fportal%2Fsite%2Fpatient%2Fmenuitem.2d0a70c157e13ecb5d8baf5c6e37a01d%2F%3Fvgnextoid%3Db866643bdfd1d010VgnVCM100000ed730ad1RCRD%26vgnnextchannel%3D876c6acf3495f010VgnVCM100000ed730ad1RCRD%26vgnnextfmt%3Dcancer%26vgnnextnoice%3D1> [consulta: 19 enero 2012]

- 78) LEVACHER, M., TALLET, S., DAZZA, M., DOURNON, E., ROUVEIX, B., POCIDALO, J. (1990). T activation marker evaluation in ARC patients treated with AZT: comparison with CD4+ lymphocyte count in non-progressors and progressors towards AIDS. *Clin Exp Immunol*;81:177-182.
- 79) LI, X., LI, J., DU, W., ZHANG, J., LIU, W., CHEN, X., LI, H., HUANG, S. and LI X. (2010). Relevance of immunophenotypes to prognostic subgroups of age, WBC, platelet count, and cytogenetics in de novo Acute Myeloid Leukemia [En línea] Oct 13 .[Citado 2012 Ene 20] Disponible en: URL:<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0463.2010.02694.x/pdf>>
- 80) LO QUE USTED NECESITA SABER SOBRE LA LEUCEMIA. (2009). Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU. Institutos Nacionales de la Salud; Instituto Nacional del Cáncer [Folleto en línea]. <[http://www.cancer.gov/espanol/tipos/necesita-saber/WYNTK\\_Leucemia\\_Web.pdf](http://www.cancer.gov/espanol/tipos/necesita-saber/WYNTK_Leucemia_Web.pdf)> [consulta: 20 enero 2012]
- 81) LUCIO, P., PARREIRA, A., VAN DEN BEEMD, MW., VAN LOCHEM, EG., VAN WERING, ER., et al (1999). Flow cytometric analysis of normal B cell differentiation: a frame of reference for the detection of minimal residual disease in precursor-B-ALL. *Leukemia*; 13: 419-427.
- 82) MARTIN-MARTIN, L., ALMEIDA, J., HERNANDEZ-CAMPO, PM., SANCHEZ, ML., LECREVISSE, Q., ORFAO, A. (2009). Immunophenotypical, morphologic, and functional characterization of

maturation-associated plasmacytoid dendritic cell subsets in normal adult human bone marrow. *Transfusion*; 49: 1692-1708.

- 83) MATARRAZ, S., LOPEZ, A., BARRENA, S., FERNANDEZ, C., JENSEN, E., FLORES BARCENA, P., et al (2008). The immunophenotype of different immature, myeloid and B-cell lineage-committed CD34+ hematopoietic cells allows discrimination between normal/reactive and myelodysplastic syndrome precursors. *Leukemia*; 22: 1175-1183.
- 84) MCGLAUFLIN, S., MUNGER, J., and NELSON, R. (2005). History of Leukemia. [En línea]. [citado 2012 Ene 17]; Disponible en: URL: <<http://rebeccanelson.com/leukemia/history.html>>
- 85) MCKENNA, R.W., PARKIN, J., BLOOMFIELD, C.D., et al. (1982). Acute promyelocytic leukemia: a study of 39 cases with identification of a hyperbasophilic microgranular variant. *Br J Haematol* 50:201-14
- 86) MCPHEE, S.J. y GANONG, W.F. (2007). Fisiopatología médica: una introducción a la medicina clínica. 5º e. Distrito Federal, Manual Moderno. 107 p.
- 87) MEHROTRA, B., GEORGE, T.I., KAVANAU, K. (1995). Cytogenetically aberrant cells in the stem cell compartment (CD34+ Lin-) in acute myeloid leukemia. *Blood*; 86:1139-1145.
- 88) MERINO, A. (2007). LEUCEMIAS AGUDAS. *Ed Cont Lab Clín*;11: 48-55p.
- 89) MIALE, J. (1985). Hematología: medicina de laboratorio. Barcelona, Reverte. 7- 1168 p.
- 90) MILANÉS, M.T., LOSADA, R., HERNÁNDEZ, P., AGRAMONTE, O.M., ROSELL, E. (2002). Aspectos clínicos y epidemiológicos de la leucemia mieloide aguda en el anciano. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*; 18(1):25-33
- 91) MONTESINOS, J. J., MAYANI, H. (2001). Nuevos conceptos en la biología de la leucemia mieloide aguda [En línea], Oct 12. [Citado 2012 Ene 20]

Disponible en URL: <http://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2002/gm021g.pdf>

- 92) MUFTI, G.J., BENNETT, J.M., GOASGUEN, J., et al. (2008). Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. *Haematologica*; 93:1712-1717.
- 93) MÜLLER-ESTERL, W. 2008. Bioquímica. Fundamentos para Medicina y Ciencias de la Vida Fundamentos de medicina. Barcelona, Reverte. 5- 680p.
- 94) MUÑOZ, L. 2005. Aportación del análisis inmunofenotípico en la caracterización de la leucemia aguda y en la identificación de subgrupos moleculares. Tesis para optar al doctorado. Barcelona. Universidad Autónoma de Barcelona. 1-218 p.
- 95) MURPHY, K. Travers, P., et al. (2009). INMUNOLOGÍA DE JANEWEY. 7° ed. Distrito Federal, McGraw-Hill Interamericana. 1-913p.
- 96) ORAZI, A., ALBITAR, M., HEEREMA, N.A., HASKINS, S., NEIMAN R.S., (1997). Hypoplastic myelodysplastic syndromes can be distinguished from acquired aplastic anemia by CD34 and PCNA immunostaining of bone marrow biopsy specimens. *Am J Clin Pathol*; 107: 268-274 p.
- 97) ORFAO, A., ORTUNO, F., DE SANTIAGO, M., LOPEZ, A., et al. (2004a). Immunophenotyping of acute leukemias and myelodysplastic syndromes. *Cytometry A*; 58:62-71.
- 98) ORFAO A. (2004b). Neoplasias of dendritic cells: are they the counterpart of one or more cell lineages? *Laboratory Hematology*; 10: 171.
- 99) OTERO, JC. SANTILLANA, S. FERREYROS, G. (1996). High frequency of acute promyelocytic leukemia among Latinos with acute myeloid leukemia. *Blood*; 88(1):377

- 100) PALOMO, I., PEREIRA, J., PALMA, J. (2009). HEMATOLOGÍA. Fisiopatología y Diagnóstico. Talca, Editorial universidad de Talca. 310-317p.
- 101) PEREA, G. (2011). Factores pronósticos en leucemia mieloide aguda: utilidad de los estudios inmunofenotípicos y moleculares. Tesis doctoral. Barcelona. 155 p.
- 102) PINKEL, D. (1999) Childhood Leukemias [En línea]. [citado 2012, Ene 17] Disponible en: URL: <http://catdir.loc.gov/catdir/samples/cam032/98046407.pdf>
- 103) POQUIOMA, E. (2007). Estimaciones de parámetros epidemiológicos y cálculo de AVISA del Grupo Cáncer. Lima: Promoviendo alianzas y estrategias, Abt Associates Inc.
- 104) PRIETO, J., YUSTE, J. (2010). Balcells. La clínica y el laboratorio. 21° ed. Barcelona, Masson. 3-20; 556-558 p.
- 105) QUINTERO, M.V. (2006). Diagnóstico práctico de las leucemias mieloides agudas. Rev Colomb Cancerol; 10(4):282-290 p.
- 106) RIBEIRO, RC., REGO, E. (2006). Management of APL in developing countries: epidemiology, challenges and opportunities for international collaboration. Hematology Am Soc Hematol Educ Program.:162-8.
- 107) ROA-HIGUERA, D.C., FIORENTINO, S., RODRÍGUEZ-PARDO, V., M. CAMPOS-ARENAS, A.M., et al. (2010). Análisis inmunofenotípico de muestras normales de médula ósea: aplicaciones en el control de calidad en los laboratorios de citometría. Universitas Scientiarum. p. 206-223.
- 108) ROJAS, W., ANAYA, J.M., ARISTIZABAL, B. et al. (2010). INMUNOLOGÍA DE ROJAS. 15° ed. Medellín, Corporación para investigaciones biológicas. 5-11, 192-196 p.
- 109) ROMERO A. JIMÉNEZ RM. (2002). Leucemias agudas. Medicina de Familia (And) Vol. 3, N.1. 40-48 p.

- 110) RUBNITZ, J., INABA, H., DAHL, G., RIBEIRO, R., BOWMAN, W., TAUB, J., et al. (2010). Minimal residual disease-directed therapy for childhood acute myeloid leukaemia: results of the AML02 multicentre trial. *Lancet oncology*; 11(6): 543-552 p.
- 111) RUIZ-ARGUELLES, A., RIVADENEYRA-ESPINOZA, L., DUQUERE, ORFAO, A. (2006). Report on the second Latin American consensus conference for flow cytometric immunophenotyping of hematological malignancies. *Cytometry B Clinical Cytometry*; 70: 39-44.
- 112) RYAN, D.H., VAN DONGEN, J.J.M. (1988). Detection of residual disease in acute leukemia using immunological markers, in Bennett JM, Foon KA (eds): *Immunologic Approaches to the Classification and Management of Lymphomas and Leukemias*. Dordrecht. The Netherlands, Kluwer Academic. 173 p.
- 113) SAAVEDRA, C., QUIJANO, S.M., ROMERO, M., JARAMILLO, R., ORDUZ, R., ECHEVERRI, C., LONDOÑO, M., ORFAO, A. (2010). Reporte del Primer Consenso Colombiano de Citometría de Flujo para el estudio de trastornos hematológicos. *Biomédica*; 30 (Supl). 11-21 p.
- 114) SANTOYO, A., RAMOS, C., PALMEROS, G., MENDOZA, E., OLARTE, I., MARTÍNEZ, A., et al. (2014). Leucemias agudas: Características clínicas y patrón estacional *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*;52(2):176-81
- 115) SCHLAIFER, D. COOPER, M. ATTAL, M. SARTOR, A. TREPPEL, J. LAURENT, G. et al. (1993). MPO: an enzyme involved in intrinsic vincristine resistance in human myeloblastic leukemia. *Blood*; 81(2):482-489.
- 116) SELVA, J. (2010). Reacción leucemoide. [En línea] Disponible en URL:<<http://drjulioselva.com/archives/79>> [consulta: 10 noviembre 2014]
- 117) SHAPIRO H. M. (2003). *PRACTICAL FLOW CYTOMETRY*. Fourth Edition. New Jersey, WILEY-LIS. 1-733 p.



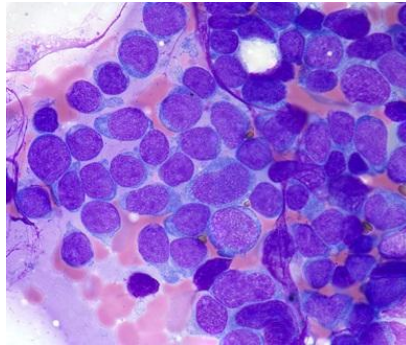
- 118) SHIBATA, A., BENNETT, J.M., CASTOLDI G.L., et al. (1985). Recommended methods for cytological procedures in haematology. Clin Lab Haematol 7:55-74
- 119) STETLER-STEVENSON, M., ARTHUR, DC., JABBOUR, N., XIE, XY., MOLLREM, J., et al. (2001). Diagnostic utility of flow cytometric immunophenotyping in myelodysplastic syndrome. Blood; 98: 979-987.
- 120) SZCZEPANSKI, T., ORFAO, A., VAN DER VELDEN, V., SAN MIGUEL, J., VAN DONGEN, J., (2001). Minimal residual disease in leukemia patients. The lancet oncology; 2(7): 409-417
- 121) TURHAN, AG., LEMOINE, FM., DEBERT, C. (1995). Highly purified primitive hematopoietic stem cells are PML-RARA negative and generate monoclonal progenitors in acute promyelocytic leukemia. Blood;85:2154-2161.
- 122) UDAYAKUMAR, AM., PATHARE, AV., AL-KINDI, S., KHAN, H., REHMEN, JU., ZIA, F., AL-GHAZALY, A., et al. (2007). Cytogenetic, morphological, and immunophenotypic patterns in Oman patients with de novo acute myeloid leukemia. Cancer Genet Cytogenet; 177(2):89-94. [PubMed]
- 123) UNIVERSIDAD DE ALCALÁ. (2012). Citometría de flujo en el análisis bioquímico. [diapositivas]. s.l. España. 49 diapositivas; texto en español. 1-49 p.
- 124) VAN DER VELDEN, V., PANZER-GRÜMAYER, E., CAZZANIGA, G., FLOHR, T., SUTTON, R., SCHRAUDER, A., et al. (2007). Optimization of PCR-based minimal residual disease diagnostic for childhood acute lymphoblastic leukemia in a multi-center setting. Leukemia; 21(4) 706-713 p.
- 125) VAN DONGEN, J., LHERMITTE, L., BÖTTCHER, S., ALMEIDA, J., VAN DER VELDEN, V., FLORES-MONTERO, et al. (2010). EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric

immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia*; 2- 18 p.

- 126) VAN LOCHEM, EG., VAN, DVV., WIND, HK., TE MARVELDE, JG., WESTERDAAL, NA., VAN DONGEN, JJ., (2004). Immunophenotypic differentiation patterns of normal hematopoiesis in human bone marrow: reference patterns for age-related changes and disease-induced shifts. *Cytometry B Clinical Cytometry*; 60: 1-13.
- 127) VARDIMAN, JW., THIELE, J., ARBER, DA., BRUNNING, R.D., BOROWITZ, M J., PORWIT, A. et al. (2009). The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*, 114. 5; 937-95 p.
- 128) VENDITTI, A., DEL POETA, G., BUCCISANO, F., TAMBURINI, A., COX-FRONCILLO, MC., ARONICA,G. et al. (1998). Prognostic relevance of the expression of Tdt and CD7 in 335 cases of acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 12(7):1056-1063 p.
- 129) VIDRIALES, MB., SAN-MIGUEL, JF., ORFAO, A., COUSTAN-SMITH, E., CAMPANA, D. (2003). Minimal residual disease monitoring by flow cytometry. *Best Practice & Research Clinical Haematology*; 16: 599-612.
- 130) YAMAMOTO, JF., GOODMAN, MT., (2008). Patterns of leukemia incidence in the United States by subtype and demo-graphic characteristics 1997-2002. *Cancer Causes Control*;19(4):379-90
- 131) YIN, CC., MEDEIROS, LJ., BUESO-RAMOS CE. (2010). Recent advances in the diagnosis and classification of myeloid neoplasms – comments on the 2008 WHO classification. *International Journal of Laboratory Hematology* (32) 461–476p

## Anexos

### Anexo 1. INFILTRADO DE BLASTOS MIELOIDES M1>90% EN MÉDULA ÓSEA.

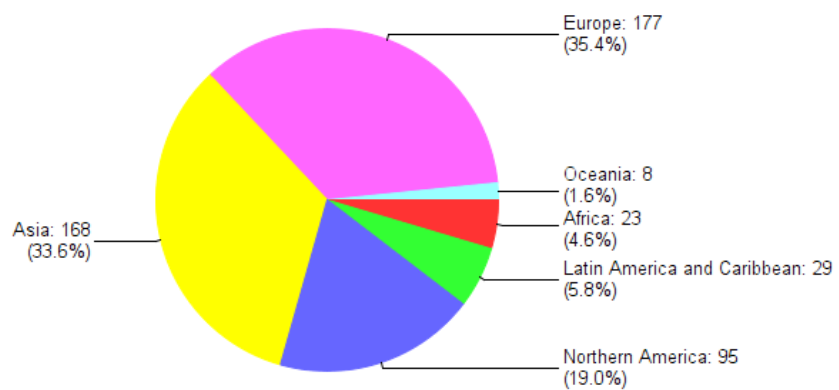


**Fuente:** (Torres, 2012)

### Anexo 2. ESTIMADO A 5 AÑOS DE PREVALENCIA DE CASOS DE CÁNCER (X1000), POBLACIÓN ADULTA

International Agency for Research on Cancer  
Leukaemia: both sexes  
Organization

Estimated 5-year prevalent cancer cases (x1000), adult population



### Anexo 3.

### RECEPCIÓN DE MUESTRAS.



Se observa nueve muestras en tubos vacutainer en una gradilla, al lado derecho se encuentra un frasco negro donde envían las muestras, con la identificación del destino (UBC), abajo se observa la hoja de solicitud, con los datos del paciente, a la izquierda debajo de las placas el hemograma impreso, encima los frotis de SP y AMO identificados

### Anexo 4.

### BASE DE DATOS FILEMARKER PRO 8

Area: Mononucleares	TÍPICO	proliferación clonal:
CD13 80%	CD33 85%	
CD14/CD33 20%	HLA-DR/CD34 81%	
CD15 83%	MPO 0%	

Conclusion Leucemia mielomonoblastica aguda

En la verificación de la base de datos, se observa el nombre del paciente, edad, género, fecha, procedencia, institución, médico, estudio inmunofenotípico, hemograma, estudio morfológico, biomolecular y diagnóstico.

**Anexo 5.**

**TINCIÓN MAY GRÜNWARD/ GIEMSA**



Se observan cuatro placas en proceso de tinción con los reactivos correspondientes.

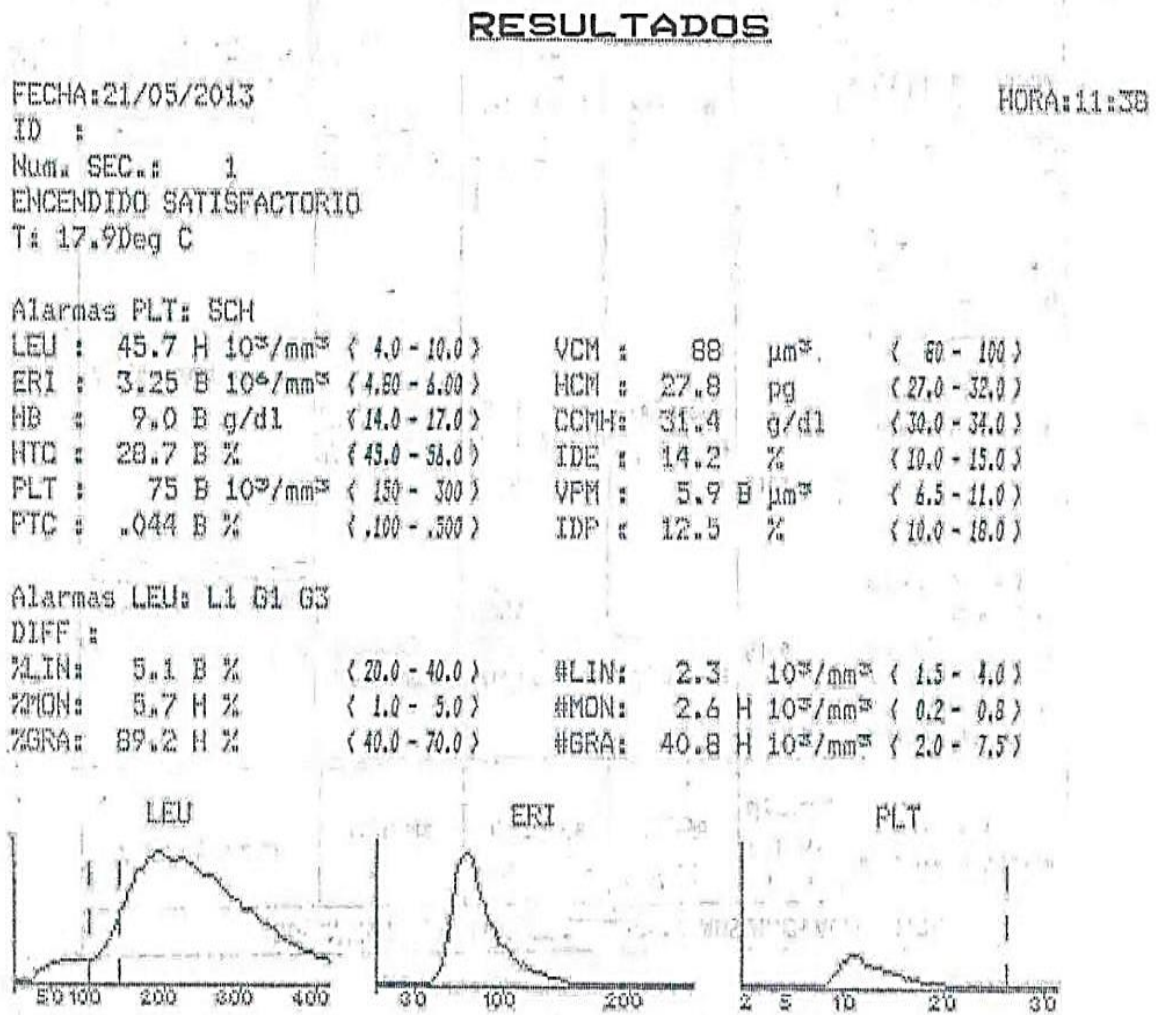
**Anexo 6.**

**ANALIZADOR HEMATOLÓGICO HORIBA, MICROS 60**



En el lado izquierdo del analizador hematológico se encuentran 8 muestras a ser analizadas

**Anexo 7. RESULTADO IMPRESO POR EL ANALIZADOR DE HEMATOLOGÍA**



El hemograma que se observa es de un paciente con leucemia, ya que el recuento de granulocitos y monocitos es elevado.

**Anexo 8. CENTRIFUGAS UTILIZADAS:**

a) EBA 20 Hettich de 8 tubos



b) eppendorff 5702 de 34 tubos



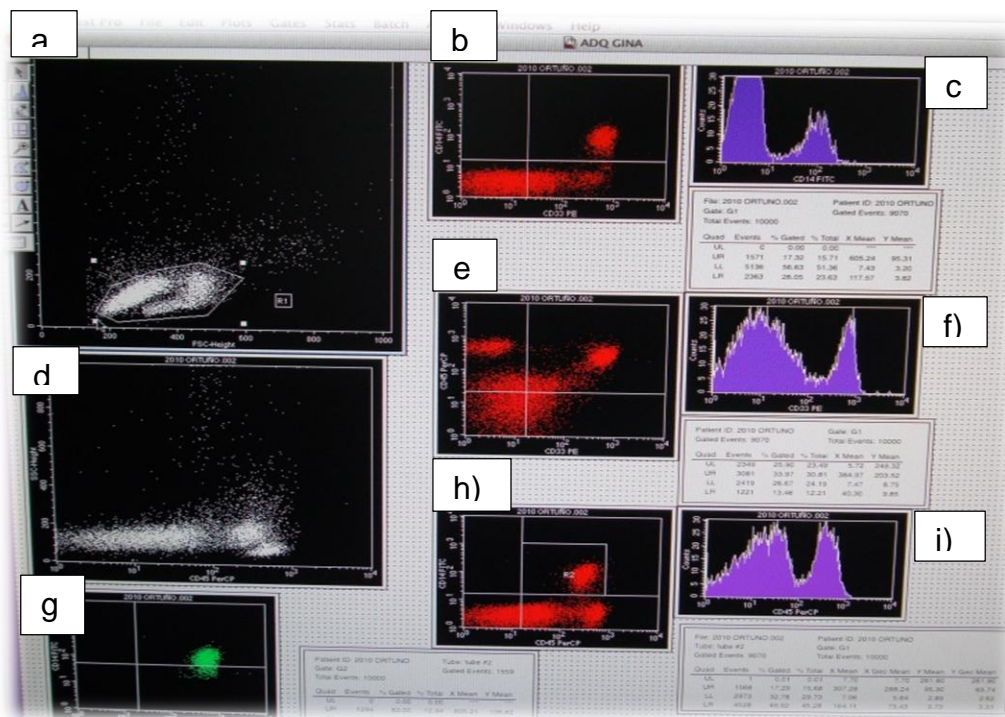
**Anexo 9. CITÓMETRO DE FLUJO UTILIZADO**





En la figura se observa a la izquierda el citómetro como tal es decir donde se encuentra el láser y los diferentes sistemas, en el centro está la pantalla mostrando el programa Cell Quest Pro abierto, con su respectivo ordenador e impresora.

## Anexo 10. PROGRAMA UTILIZADO PARA EL ANÁLISIS DE CÉLULAS MARCADAS CellQuest Pro

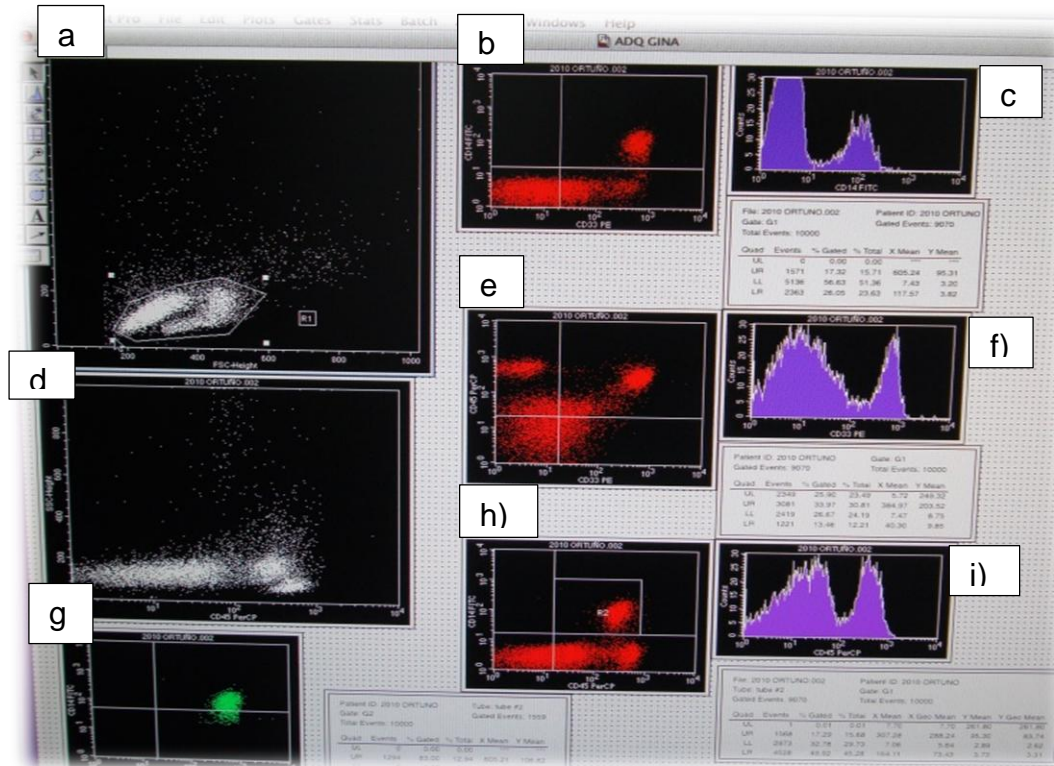


Se aprecia la gráfica que desarrolla el programa CellQuest Pro, donde se observa en a) el gate donde se diferencia en la gráfica de puntos un clon seleccionado como anormal, b) gráfica de puntos con cuadrantes, entre estos cuadrantes están células marcadas con CD33 y CD14, c) gráfico de área, donde muestra que hasta el  $10^3$  presenta CD14, abajo esta la representación numérica de las gráficas.



d) gráfico de puntos que muestra células marcadas con CD45, e) se aprecia otra gráfica de puntos con cuadrantes donde muestran las células marcadas con CD45 y CD14, f) se observa una gráfica de área con su respectivo cuadro estadístico a indicando el porcentaje de células marcadas con CD45, g) se aprecia otra gráfica de puntos de células marcadas con CD14 y CD33, al centro una gráfica de puntos con células marcadas con CD45 y CD14, para ambos marcadores positivos, h) gráfica de puntos con células marcadas como malignas, i) histogramas mostrando el recuento para CD45, con sus respectivos cuadros de datos.

**Anexo 11. PROGRAMA UTILIZADO PARA EL ANÁLISIS DE CÉLULAS MARCADAS Paint-A-Gate**



Se puede apreciar en a) el Forward Scatter con el Side Scatter que muestran parámetros de mayor complejidad celular, b) gráficas de puntos (dot-blot) se presentan células marcadas, en los siguientes cuadrantes d), e), f) se observa las células marcadas con CD14, CD33 y CD45 respectivamente; g) se observa en 3D las células marcadas por los 3 marcadores, donde destaca un clon CD14<sup>+</sup>, CD33<sup>+</sup> y CD45<sup>+</sup>, esta gráfica es movable y se puede apreciar las células de interés en tres dimensiones diferentes. h) cuadrante se observa un clon CD33<sup>+</sup> y CD14<sup>+</sup>, el otro es CD14<sup>+</sup> y CD45<sup>+</sup>, i) se observa CD33<sup>+</sup> y CD45<sup>+</sup> en Side Scatter .