

HOSPITAL DEL NIÑO "Dr. OVIDIO ALIAGA UPIA"  
FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS



TESIS DE GRADO  
PROGRAMA DE POSTGRADO DE  
ESPECIALIDAD EN PEDIATRÍA

"ESTUDIO CITOQUÍMICO DE MEDULA ÓSEA  
EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA CON  
LEUCEMIA, COMPAREDO CON OTRAS  
ENFERMEDADES DE AFECTACIÓN MEDULAR"

Postulante Dr. Daniel  
Bueno Saavedra

Tutores: Dr. Eduardo Aranda Torrelio FAAP.  
Dra. Patricia Gómez Laíente M.Sc.

LA PAZ - BOLMA

1998

**Hospital del Niño  
Facultad de Medicina  
Universidad Mayor de San Andrés**

**TESIS DE GRADO  
ESPECIALIDAD DE PEDIATRIA**



**"Estudio citoquímico de médula ósea  
en población pediátrica con leucemia,  
comparado con otras enfermedades  
de afectación medular"**

**POSTULANTE**

**Dr. Daniel Edgar Bueno Saavedra**

**1.998**

A mis padres, por su sacrificio. A  
Judith, por su constante apoyo.

# ÍNDICE DE CONTENIDO

## I-INTRODUCCIÓN

Leucemias en padiatría  
Epidemiología de las leucemias agudas  
Epidemiología analítica de la leucemia linfoblastica aguda.  
Epidemiología analítica de la leucemia aguda no linfocítica  
en la niñez

## II - CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS

Leucemia aguda linfoblastica  
Clasificación citoquímica de la leucemia linfoblastica  
aguda.  
Marcadores inmunológicos  
Leucemia aguda no linfocítica  
Leucemias crónicas de la infancia  
Leucemia mielocítica crónica  
Leucemia mielocítica crónica juvenil  
Leucemia mielocítica crónica familiar  
Leucemia mielomonocítica crónica  
Leucemia monocítica crónica  
Leucemia linfocítica crónica

## III - ESTUDIO CITOQUIMICO DE LEUCEMIAS EN LA POBLACIÓN PEDIÁTRICA BOLIVIANA

## IV- INCIDENCIA DE LEUCEMIAS EN NIÑOS

## V - JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

## VI - CONCLUSIONES DE LA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Leucemias Estudio  
citoquímico

## VII - PREGUNTA DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo general  
Objetivos secundarios

## VIII - DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Ventajas  
Desventajas  
Potenciales sesgos-problemas  
Variables de estudio  
Factores de riesgo  
Muestra  
Criterios de inclusión  
Criterios de exclusión

## IX - HIPÓTESIS

## X - RESULTADOS

Objetivos

## XI - MATERIAL Y MÉTODOS

## XII - ESPECIFICIDAD DE TINCIÓN CITOQUÍMICA PARA ANÁLISIS DE MEDULA OSEA

Mieloperoxidasa  
Sudán negro "B"  
Fosfatasa alcalina leucocitaria  
Reacción ácido periódico de Schiff  
Esterasa específica  
Esterasa inespecífica  
Inhibición de la esterasa inespecífica  
Fosfatasa acida

### XIII - RESULTADOS

Médula ósea de pacientes con LLA

Médula ósea de pacientes con enfermedades no  
leucémicas

### XIV-DISCUSIÓN

### XV - PRUEBAS ESTADÍSTICAS

### XVI - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## ÍNDICE DE ILUSTRACIÓN

Figura 1: Distribución de la enfermedad (LLA) por sexo

Figura 2: Factores de mal pronóstico para leucemia linfoblástica aguda.

Figura 3: Manifestaciones clínicas de la leucemia linfoblástica aguda.

Figura 4: Factores relacionados con la enfermedad"

Figura 5: Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la tinción mieloperoxidasa para la leucemia linfoblástica aguda.

Figura 6: Tinción de mieloperoxidasa

Figura 7: Tinción de negro sudan "B"

Figura 8: A) Tinción de esterasa específica y B) tinción de ácido periódico de Schiff.

Figura 9: Tinción de fosfatasa alcalina granulocítica grado II y III.

Figura 10: A) Tinción de esterasa inespecífica y B) tinción de fosfatasa acida.

Figura 11: Mapeo de procedencia de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla de clasificación inmunológica de las leucemias

Tabla de patrones citoquímicos de leucemias agudas no linfocíticas

Tabla que contiene lista de pacientes incluidos en el estudio

Tabla con resultados citoquímicos de pacientes con leucemia mieloblástica aguda

Tabla comparativa de perfiles citoquímicos de pacientes con LLA con patrón establecido

Tabla con resultados citoquímicos de pacientes con otras enfermedades

Tabla de valores estadísticos

## RESUMEN

Las leucemias son la causa más frecuente de cáncer en niños, la sobrevida depende de un diagnóstico acertado de su variedad y un tratamiento oportuno. De los recursos de diagnóstico en laboratorio uno de los iniciales es el estudio citoquímico de médula ósea el cual distingue algunas sustancias celulares que se tiñen proporcionando características diferentes que distinguen a los blastos presentes en las leucemias. Se identificaron en este trabajo las características citoquímicas de niños con leucemia linfoblástica aguda y se compararon con perfiles similares de niños que presentaron otras enfermedades. Se observó que los patrones de las leucemias identificadas fueron similares a las informadas en la literatura internacional, y su comparación con otros perfiles mostraron características diferentes.

## ABSTRACT

Leukemias are the most common cause of cancer in children. Survival depends on an accurate diagnosis of its variety and an oportune treatment. Among available laboratorial resources one of the inicial studies is the cytochemical study of bone marrow, by this study we can identify celular substances that can be dyed to differentiate traits of the blasts present in leukemias. This study identified the cytochemical characteristics of bone marrow of children with acute linfoblastic leukemia and compared them to similar profiles found in children with other diseases. We observed that patterns of leukemia identified were similar to those reported in intemational literature and their comparison with other profiles showed different characteristics.

## EPIDEMIOLOGÍA ANALÍTICA DE LA LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA:

Estudios analíticos han provisto información para documentar la existencia de asociación entre características específicas o exposiciones ambientales y el resultado de salud. El período de riesgo precede al tiempo de nacimiento y al tiempo de concepción. El período prenatal es de particular interés por la diferenciación natural de las células primitivas y la sensibilidad potencial de las influencias sobre el feto durante la fase del desarrollo. La edad avanzada de la madre ha sido asociado con el riesgo de adquirir LLA. La historia reproductiva de la madre ha sido encontrado por muchos como factor de riesgo para la enfermedad; un estudio de casos y controles ha identificado que existe relación importante entre el caso de leucemia con el antecedente de uno o de dos abortos previos de la progenitora. Una consistente asociación ha emergido entre el peso de nacimiento y la presencia de LLA ya que han sido observados en pacientes con peso de nacimiento de más de 4000 Kg.

Otros factores considerados de riesgo son la diabetes materna, la exposición pélvica a los rayos X y a la asociación con otros síndromes no claramente definidos. Estudios adicionales han evaluado riesgos durante el embarazo con la ingesta de contraceptivos orales, tabaquismo materno, uso de alcohol, drogas u otros medicamentos durante la gestación. Influencias ambientales han sido objeto de numerosos estudios analíticos ; uno de los estudios más comprensivos es la exposición a radiación ionizante. La exposición prenatal a radiación ionizante y el desarrollo de leucemias fue inicialmente demostrado en 1958 por Stewart, desde entonces otros estudios verificaron que existe una probabilidad de que exista leucemia en el orden de 1,4 a veces más que en los niños no expuestos. Se ha observado que niños que han sido gestados en el tiempo de la bomba nuclear en Hiroshima y Nagasaki han manifestado incremento de ocurrencia de leucemia aguda linfocítica y no linfocítica

en la etapa de la niñez. La exposición postnatal a radiaciones terapéuticas para el tratamiento de tumores ha sido también asociado con un incremento en el riesgo de LLA. Niños que han sido tratados con irradiación de rayos X para espondilitis anquilosante o hiperplasia de la glándula tímica han demostrado incremento en el número de leucemias. También se ha observado que niños escandinavos expuestos a materiales químicos especialmente hidrocarburos tienen la posibilidad de desarrollar la enfermedad. Se identificaron mayor cantidad de muertes por leucemias y linfoomas en el sudeste de norteamérica y se observó que eran lugares en los cuales existían familias enteras expuestas a herbicidas, pesticidas y virus zoonóticos. Infecciones virales han sido insistentemente asociadas con un tipo de leucemia.

Lista 1. Informes sobre factores de riesgo seleccionados por LLA en niños

#### Demográfico

Sexo: masculino

Edad materna avanzada

Historia reproductiva materna: pérdida fetal anterior

Peso de nacimiento incrementado

(Orden de nacimiento ; primogénito)

(Edad materna avanzada)

(Clase social)

#### Exposiciones prenatales

Diagnóstico de exposición a la radiación (Uso de contraceptivos orales maternos) (Infecciones virales ;n útero)

#### Exposiciones ambientales Radiación terapéutica

Detonación de bomba nuclear (Pruebas con radiación nuclear) (Exposición a campos electromagnéticos) (Infecciones postnatales)

(Hidrocarburos y productos del petróleo)  
(Zoonosis)  
(Exposición a pesticidas y herbicidas)

#### Genética/Familiar

Gemelo de paciente leucémico  
Síndrome de Down Anemia de  
Fanconi Síndrome de Schwachman  
Ataxia telangiectásica  
Neurofibromatosis Síndrome de  
Bloom

### EPIDEMIOLOGÍA ANALÍTICA DE LEUCEMIA AGUDA NO LINFOCITICA EN LA NIÑEZ:

Investigaciones epidemiológicas analíticas en niños con LLA son raras. Esta falta de información puede ser atribuida al número corto de casos diagnosticados anualmente. Estudios en población adulta con este tipo de cáncer han provisto de información importante los cuales han sido asociados con un incremento de riesgo para leucemia como: exposición a radiación ionizante, solventes, productos del petróleo y agentes quimioterapicos para el cáncer. Otros estudios demostraron que la exposición materna a los rayos X, ultrasonido, alcohol, tabaco, pesticidas, hervicidas, pinturas, solventes o productos de petróleo podrían tener efectos deletéreos con resultados aún no significativos. La exposición ocupacional paterna o materna a pesticidas se asocia fuertemente con el desarrollo de LLNA. Otra asociación estadísticamente significativa es la del padre con exposición a solventes y/o productos del petróleo y exposición materna a metales. El uso de marihuana se asoció a la presencia sobre todo subtipos mielomonocítica y monocítica. Los resultados del estudio epidemiológico del "Childreas Cáncer Study Group" sugieren que existe un agente etiológico ambiental en esta enfermedad similar a lo que ocurre en los pacientes adultos con esta entidad (3).

## II - CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS

Las leucemias en los niños se clasifican en dos grupos: leucemias agudas y leucemias crónicas.

Las leucemias agudas se clasifican a su vez en dos grandes grupos: a) Leucemia aguda linfoblástica y b) Leucemia aguda no-linfocítica. Las leucemias crónicas están constituidas por una miscelánea de entidades las cuales se mencionaran más adelante.

### LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA:

El niño menor de 15 años tiene un promedio anual de riesgo de 1: 23000 de desarrollar LLA con un pico de incidencia de 3 a 5 años de edad; de los 2000 niños diagnosticados cada año en los Estados Unidos, dos terceras partes son de esta variedad y el resto, Leucemia aguda no linfocítica (LLNA). La LLA compromete al 80% de las leucemias en los niños. Afecta más a los niños de raza blanca y los varones son los que más desarrollan la enfermedad.

Aunque la causa exacta de la leucemia es desconocida, han sido implicados algunos factores ambientales, genéticos, virales y factores inmunológicos al margen de condiciones de herencia correlacionados a la estructura cromosómica donde oncógenes en asociación con anomalías cromosómicas podrían ser importantes en la leucemogénesis.

### Presentación clínica y factores pronóstico:

La leucemia aguda linfoblástica incluye incontrollable proliferación de linfoblastos inmaduros y supresión de la normal hematopoyesis. Los síntomas usualmente son hemorragias (púrpura, petequias), fiebre, irritabilidad, fatiga, dolor óseo, linfadenopatía, hepatomegalia, esplenomegalia y pérdida de peso.

Análisis multivariados demostraron que muchos factores son usados para predecir la primera remisión de la médula ósea, estos factores que también predicen un pronóstico desfavorable son: inicio de la enfermedad antes de los 2 años de edad y después de los 10 años, cifra de leucocitos mayor a 100.000/uL, masa mediastínica a la radiografía de tórax, sexo masculino y niveles de hemoglobina menores de 10 g/dL y plaquetas disminuidas por debajo de 100.000/uL además de la afectación del padecimiento al sistema nervioso central.

Diagnóstico de laboratorio y clasificación biológica:

Se puede clasificar morfológicamente por la visión directa al microscopio de las características de las células encontradas. Clasificación FAB de la leucemia aguda linfoblástica.

LLA tipo L1 Predominantemente células pequeñas

Cromatina nuclear homogénea y algún caso regular.

Bordes del núcleo fisurados o indentados

Nucléolos no visibles o pequeños

Cantidad de citoplasma escaso

Basofilia del citoplasma claro o moderado

Vacuolización citoplasmática variable.

LLA tipo L2 Células grandes o heterogéneas en tamaño

Cromatina nuclear variable, heterogénea, irregular.

Bordes con fisuras e indentaciones comunes

Nucléolos uno o más presentes, frecuentemente grandes.

Cantidad de citoplasma variable o moderadamente abundante.

Basofilia del citoplasma variable

Vacuolización variable

LLA tipo L3 Tamaño celular grande homogéneo.

Cromatina nuclear finamente distribuida y homogénea

Borde nuclear regular, oval o redonda Nucléolos prominentes, una o más vesículas Citoplasma moderadamente abundante Basofilia del citoplasma muy teñido Vacuolización del citoplasma frecuentemente predominante

## CLASIFICACIÓN CITOQUIMICA DE LA LLA

Tinciones especiales y demostración de actividad anormal es usada para diferenciar la leucemia aguda linfoblástica de otras leucemias, como también para la diferenciación de varios tipos de leucemia aguda.

La tinción ácido-Schiff periódico (PAS) es comunmente usada, el objetivo principal es el de identificar glucógeno y otros carbohidratos. Las células leucémicas muestran grandes agregados de material PAS positivos. En la leucemia aguda no linfoblástica, los linfoblastos contienen variable cantidad de glucógeno y la tinción es finamente granular con patrón difuso. La tinción PAS es de gran valor en la diferenciación de la leucemia linfoblástica de la no linfoblástica y es positivo en el 60 a 90% de todos los casos de LLA. Sin embargo alguno de los casos de leucemia linfoblástica sobre la sola tinción de PAS ya que ambos tipos celulares pueden poseer grandes cantidades de material PAS positivo.

Sudan negro tiñe fosfolípidos en granulos mielocíticos. También peroxidasa, un constituyente de los granulos mielocíticos, es positivo en más de los tipos de leucemias mieloides y negativo en LLA.

La esterasa no específica usa acetato alfa-naftil bitirato y alfa-AS-D acetato como sustratos, esta enzimas son sustratos lisosomales usados frecuentemente para marcador de diferenciación monocítica. Cuando las esterasas son usadas

con y sin tratamiento con fluoruro sódico, granulocitos de células monocíticas pueden ser distinguidas. Moderada a fuerte, la tinción es observada en el citoplasma de las células monocíticas y es de vista variable en células granulocíticas.

La tinción alfa-naftil acetato esterasa es vista en la región paranuclear de linfocitos de linaje de células T.

La fosfatasa acida es una enzima lisosomal presente en las células.

Tinción fosfatasa acida focal es comunmente encontrada en células de origen celular T.

Desoxinucleotidil transferasa terminal ( TdT) es la enzima más común usada a distinguir LLA de LNLA, la misma que normalmente no se encuentra en linfocitos maduros, esta presente en linfoblastos todas las células LLA del linaje B. Esta enzima es una DNA polimerasa que cataliza la polimerización de desoxinucleótidos en un 60 a 80 % de timocitos y en menos de 2 % de células de médula ósea. Sobre el 90% de los niños con LLA son positivos para TdT, mientras que menos del 5% de los niños con LNLA son positivos. La actividad del TdT puede ser medido por prueba enzimática inmunoabsorbente, inmunofluorescencia, inmunoperoxidasa y pruebas enzimáticas.

Purina nucleótido fosforilasa es una purina catalizadora enzimática vista en altos niveles de LNLA y bajos niveles en LLA.

Adenosin deaminasa es incrementada en células nulas LLA y células T de la LLA, pero con CALLA positivo para LLA. Patrones isoenzimáticos para lactato deshidrogenasa, fosfatasa alcalina y esterasa acida carboxílica son también de gran ayuda para distinguir entre diferentes tipos de leucemias linfoblásticas.

La clasificación que se obtiene de las muchas características individuales de las células leucémicas tienen importantes implicaciones para el tratamiento y pronóstico.

## MARCADORES INMUNOLOGICOS

La clasificación inmunológica es importante para el pronóstico e incluye la presencia de tres grandes subgrupos de LLA.

Test / Subtipos de LLA	Células nulas	Pre - B	Células B	Células T
Inmunoglobulina de superficie	.....neg.	neg.	post.	neg.
Inmunoglobulina citoplásmica	. neg.	post.	post.	neg.
HLA asociado a antígeno	___ post. ___	post.	post.	post.
CALLA (Ag común de LLAJ)	post./neg.	post.	___ post ___	neg.
Rosetas (G.R. de carnero)	___ neg-.....	neg.	neg. _____	post./neg.
Anticuerpos monoclonales	neg.	neg.	neg.	post.

(4) , (5), (6)

## TRATAMIENTO

El tratamiento se realiza con diferentes fármacos quimioterápicos los cuales se utilizan generalmente bajo un esquema que puede variar de acuerdo a elección del médico tratante y sobre todo de la estirpe celular encontrada y el estadio o gravedad de la enfermedad. Existen generalmente cuatro fases de tratamiento las cuales se resumen como : período de inducción, periodo de consolidación, período de reinducción, profilaxis del sistema nervioso central y período de mantenimiento. Vale la pena señalar que un tiempo promedio de tratamiento dura aproximadamente 3 años. Los fármacos más utilizados en general son las vincristina, asparaginasa, metotrexato, arabinócido de citocina ó mercaptopurina y prednisona (7).

## LEUCEMIA AGUDA NO LINFOCITICA:

La leucemia linfocítica no aguda se refiere a una familia de neoplasias hematopoyéticas donde la producción de células sanguíneas están interrumpidas por la acumulación de células malignas inmaduras derivadas de precursores no linfoides. Se

calcula que el 25% de las leucemias en los niños son de este tipo. A diferencia de la LLA la cual tiene un pico de incidencia en niños de 3 a 5 años, la LNLA tiene una constante incidencia de aparición hasta los años juveniles. La leucemia aguda no linfocítica produciría hasta el fallecimiento de la mitad de los pacientes pediátricos con este padecimiento. En contraste con lo que ocurre en la edad adulta los niños rara vez tienen un síndrome preleucémico o fase mielodisplásica precedente al desarrollo de la enfermedad.

### Subtipos de Leucemia aguda no linfocítica

El diagnóstico definitivo de la LNLA está hecha por hallazgos sobre el 30% de blastos no-linfoides en el examen de médula ósea. La leucemia aguda no linfocítica puede ser subdividida basada sobre la morfología y patrones de tinciones citoquímicas. Ellas están subdivididas en leucemias mieloides (FAB M1, M2 y M3), mezcla leucemia mieloides y monocítica (FAB M4), leucemia monocítica pura (FAB M5), leucemia eritroide (FAB M6) y leucemia megacariocítica (FAB M7). Este esquema es usado ampliamente y conocido como la clasificación Francesa-Americana-Británica, es importante en el informe de casos para publicación y para la evaluación de las estrategias terapéuticas. Los patrones de tinción diferencial para los subtipos de leucemia se muestran a continuación.

### Patrones diferenciales de tinción citoquímica para células en la leucemia aguda no linfocítica

F.A.B	Tinción citoquímica	PAS	MPO	SBB	ANB	PPO
M1	.....ne&.....	.....neg.....	post. post.	post/neg	.....iltg.. neg.	.....neg.
M2	.....	neg.	post. post.	post/neg	neg.	neg.
M3	.....	neg.	neg.	post/neg	neg.	neg.
M4	.....	neg.	neg.	post/neg	post.	neg.
M5	.....	neg.	neg.	post, .....	post.	neg.
M6	.....	post.	neg.	neg^	neg^	neg.
M7	.....	neg.	neg.	neg.	neg.	post.

#### Abreviaciones:

PAS: Patrón periódico de ácido-Schiff

MPO: Mieloperoxidasa

SBB: Sudan negro B

ANB: Alfa-naftil butirato

PPO: Peroxidasa plaquetaria para megacariocitos

La mieloperoxidasa es el marcador para leucemia mieloide la cual al pasar por alfa-naftil butirato es detectado en leucemia monocítica. Esa no es una tinción- citoquímica definitiva para leucemia eritroide, aunque sus blastos se tiñen fuertemente con PAS, Por microscopía electrónica, peroxidasa plaquetaria es diagnóstica para leucemia megacariocítica.

Los subtipos mieloides se aproximan al 56 % de niños con leucemia aguda no linfocítica En M1 y M2 de LNLA, las células están inmaduras (M1) o estado de maduración más allá del estado promielocítico (M2), con unas pocas células que contienen estructuras rojo-azurófilas ( cuerpos de Auer) en el citoplasma de las células mieloides. En la leucemia progranulocítica (M3) la médula es reemplazada por granulocitos malignos que frecuentemente contienen numerosos manojos de cuerpos de Auer y granulos aberrantes.

Este tipo de LNLA está asociada con severa coagulopatía diseminada y una significativa mortalidad , se necesita un pronto diagnóstico y cuidado de soporte . Esos niños generalmente son mayores que el promedio de niños con LNLA y se presentan generalmente con recuento bajos de leucocitos y frecuentemente con hemorragias.

Las leucemias monocíticas (M3 y M5) son más frecuentes vistos en niños pequeños, particularmente lactantes. Las leucemias monocíticas son caracterizadas por grandes cantidades de leucocitos circulantes , frecuentemente infiltran piel (leucemia cutis) y alta frecuencia de presentación de compromiso del sistema nervioso central. Esos subtipos monocíticos las más de las veces incrementan síntesis de muramidasa , un marcador importante de

leucemias monocíticas y mielomonocíticas . Niveles elevados séricos y urinarios de esta enzima podría ser asociado con disfunción renal tubular y podría resultar en hipocalcemia. Esta es una disfunción no clara para leucemias monocíticas y mielomonocíticas.

La leucemia eritroide o síndrome de Di Guglielmo (M6) es una forma extremadamente rara de LNLA en niños. La médula es reemplazada por eritroblastos que contienen glucógeno y están teñidos fuertemente con PAS. Soporte indirecto para este diagnóstico viene de la detección de espectrin o expresión de superficie de antígenos asociados eritroides. Recientemente algunos casos de leucemia megacariocítica (M7) fueron diagnosticados como leucemias atípicas. Esta rara forma de LNLA es muchas veces asociado con mielofibrosis y expresión de antígenos de superficie asociados a plaquetas. El diagnóstico definitivo requiere la detección de actividad de peroxidasa plaquetaria por microscopía electrónica. Las terapias convencionales para LNLA en pediatría no son efectivas para las variedades eritroide y megacariocítica. (8)

## LEUCEMIAS CRÓNICAS DE LA INFANCIA

Las leucemias son clasificadas como aguda y crónica sobre la base de el nivel de maduración de la población neoplásica. Las leucemias agudas son caracterizadas por un severo defecto de la maduración llevando a la acumulación de células inmaduras (blastos); la falla produce como resultado una enfermedad fulminante, llevando a la muerte dentro de meses sin intervención médica. En contraste, las leucemias crónicas son definidas por un masivo sobrecrecimiento de elementos maduros, ellos tienden a ser relativamente asintomáticos en sus estadios iniciales, sin embargo más tarde esta neoplasia puede ser tan agresiva como la leucemia mielocítica crónica ( incluyendo las variantes juvenil y familiar), leucemia mielomonocítica crónica, leucemia monocítica crónica y leucemia linfocítica

crónica todos los cuales son desórdenes extremadamente raros en niños.

## LEUCEMIA MIELOCITICA CRÓNICA

La forma clásica o del adulto de leucemia mielocítica crónica es una panmielolopatía clonal que involucra todos los linajes de las células sanguíneas. Los factores predominantes son : expansión de los granulocitos totales, hiperplasia mieloide de la médula ósea, hematopoyesis extramedular y marcador citogenético específico, el cromosoma Filadelfia; En los niños han sido descritas dos formas de leucemia mielocítica crónica: la forma familiar y juvenil.

La LMC es primariamente una enfermedad de la edad media, este tipo de incidencia ocurre en la cuarta a quinta décadas de la vida. Esta es raramente vista en edad pediátrica, aconteciendo solamente en el 3% a 5% en casos de niños con leucemia. Esta variante de enfermedad a sido diagnosticada en lactantes menores de 3 meses de edad; sobre el 80% de los casos pediátricos son diagnosticados después de los 4 años de edad y el 60% después de los 6 años de edad. No existe predilección racial o sexual y no se ha demostrado componente hereditario. Agentes no infecciosos han sido relacionados con la patogénesis de la leucemia mielocítica crónica y solamente factores ambientales están implicados en la patología como radiación ionizante (radiólogos), supervivientes de la bomba atómica, individuos expuestos a radiación terapéutica para tratamiento de espondilitis anquilosante y otros desórdenes; sin embargo solamente un 5 a 7 % de todas las leucemias LMC han sido documentadas con respecto a la exposición a radiación y esto raramente esta implicado en la población pediátrica.

Estudio citológico de la fase blástica:

La transformación blástica pudiera involucrar alguno de los linajes linfohematopoyéticos. En aproximadamente 60 a 70%

de los casos el fenotipo es mieloblástico los cuales no manifiesta cuerpos de Auer o actividad de peroxidasa. El análisis completo usa marcadores de linaje específicos( glicoporina A, peroxidasa plaquetaria, anticuerpos monoclonales) que podrían explicar algunos de estos blastos mieloides son en naturaleza eritroides, monocíticos o megacariocitos. En un tercio de los casos aproximadamente las células blásticas tienen factores linfoides un fenotipo celular B temprano, en raros casos las células blásticas podrían expresar marcadores de linaje T. En algunos pacientes las células blásticas manifiestan una forma mixta como es la mieloides linfoides.

Historia natural:

La historia natural de LMC esta dividida en tres fases: crónica, acelerada y blástica.

La fase crónica esta caracterizada por expansión marcada de las líneas hematopoyéticas, las células son producidas morfológicamente maduras. Generalmente las células neoplásicas están restringidas a la médula ósea, hígado, bazo y sangre periférica. Como una consecuencia la sintomatología esta relacionada con los órganos infiltrados, hiperviscosidad, consecuencia de hiperproliferación. Como un promedio la fase crónica dura unos 3 años, los síntomas son no específicos como la fiebre, debilidad, diaforesis nocturna, dolor en el cuadrante superior izquierdo o dolor óseo. Disfunción neurológica, distrés respiratorio o dificultades de la visión o priapismo como complicación están descritos en la enfermedad.

Al examen físico se encuentra palidez, bajo grado de fiebre, equimosis, hepatoesplemegalia y sensibilidad esternal. Los hallazgos de laboratorio incluyen anemia normocítica normocrómica, marcada leucocitosis con desvío izquierdo y trombocitosis. En niños la media del hamatocítico esta en 25%, leucocitos por rango de 8000 a 800.000/uL, **extrema hiperleucocitosis con una cantidad promedio de 250.000/uL.**

La médula ósea es hipercelular con h́iperplasia granuloćitica. Mielofibrosis es relativamente coḿun en la fase cŕonica. Los hallazgos śericos característicos incluyen ácido úrico, lactato deshidrogenasa, vitamina B12. La característica anormal de los granulocitos es una reducci3n de la actividad de la fosfatasa alcalina leucocitaria. Anormalidades funcionales de los polimorfonucleares han sido descritos como la adherencia, quiomiotaxis y actividad bactericida en la fase cr3nica.

Metamorfosis:

Despu3s de la etapa anterior la LMC sufre un cambio hacia una fase m3s agresiva. Sobre el 5% de los casos la evoluci3n es explosiva con incremento r3pido de la poblaci3n celular bl3stica incrementando esta poblaci3n en sangre perif3rica. Sobre el 50% de los casos desarrollados llevan en un 50% de los casos cĺnicos a una leucemia aguda, el 45% restante tiene una evoluci3n gradual a un śndrome mieloproliferativo. El inicio de esta fase esta determinada por fiebre, diaforesis nocturna, p3rdida de peso, incremento del predominio celular leucocitario en sangre perif3rica con alta proporci3n de c3lulas inmaduras, basofilía e incremento de resistencia a la quimioterapia. Ocasionalmente la primera manifestaci3n de metamorfosis es extramedular.

La fase bl3stica esta cĺnicamente predominada por anemia, trombocitopenia, incremento de c3lulas bl3sticas en sangre perif3rica y médula ósea. Un porcentaje bl3stico medular de 30% m3s es diagnosticada en esta fase, las c3lulas bl3sticas m3s comunmente expresadas demuestran un fenotipo mieloide, pero tipo eritroide, megacarioćitico y otras transformaciones linfobl3sticas podrían ocurrir.

Consideraciones pronosticas:

La supervivencia media en LMC es de 3 a 4 ańos despu3s del diagn3stico c3n menos d3 30% de pacientes que sobreviven a los 5 ańos. La muerte ocurre generalmente en la etapa de

metamorfosis. Para adultos los factores de diagnóstico los cuales son predictivos de una transformación temprana son : esplenomegalia( mayor a 15 cm debajo del reborde costal), hepatomegalia (mayor a 6 cm del margen costal), trombocitopenia (menor a 150.000 mm<sup>3</sup>), trombocitosis (mayor a 500.000 mm<sup>3</sup>), extrema leucocitosis (mayor a 100.000/uL) o alta proporción de células blásticas o granulocitos inmaduros ( mayor a 1% o 20% respectivamente). Usando estos factores pronóstico, pacientes adultos de LMC pueden ser divididos en grupos de pobre, mediano y buen pronóstico ( sobrevida media de 3, 4 o 5 años respectivamente).

## LEUCEMIA MIELOCITICA JUVENIL CRÓNICA

La leucemia mielocítica crónica juvenil (LMCJ) es una panmielopatía clonal asociada con recuento leucocitario elevado, esplenomegalia y disminución de la fosfatasa alcalina leucocitaria. Se distingue virtualmente por el inicio en la infancia o en la niñez, manifestaciones cutáneas, linfadenopatía, trombocitopenia con diabetes hemorrágica, nivel de hemoglobina fetal elevada, deficiencia inmunológica, etc, involucra generalmente series monocíticas así como un curso relativamente rápido y ausencia del cromosoma Filadelfia. Aunque la evidencia citogénica y hematológica sugiere participación clonal de los linajes eritroide, mieloide, monocítica y megacariocítica en la LMCJ, el predominante es la variante monocítica. Existen dos factores asociados con esta enfermedad y son la neurofibromatosis y la presencia de Epstein Barr virus.

La mayoría de estos pacientes son diagnosticados antes de los 2 años de vida, presentan al examen eczema, xantomas, manchas café con leche, linfadenopatía, esplenomegalia, manifestaciones hemorrágicas y síntomas respiratorios.

Los valores en sangre periférica se caracterizan por presentar anemia, leucocitosis trombocitopenia. El examen de médula ósea generalmente presenta hiperplasia eritroide y

mieloide, células inmaduras de la serie monocítica predominantemente y la serie megacariocítica infrecuentemente.

En cuanto a la evolución, los más de los pacientes con este padecimiento sucumben frente a la infección de la fase blástica de la enfermedad, el promedio de vida es de 9 meses. Ocasionalmente la enfermedad concluye con una variante como es la eritroleucemia.

#### LEUCEMIA MIELOCITICA FAMILIAR CRÓNICA

Una forma familiar de LMC ha sido en los últimos tres pares de mellizos. Esta variante es indistinguible de LMCJ por los criterios laboratoriales. El curso es impredecible, no se tiene datos estadísticos apropiados en cuanto a esta entidad.

#### LEUCEMIA MIELOMONOCITICA CRÓNICA

Este es un desorden raro en los niños caracterizado por infecciones respiratorias altas y bajas, anemia, monocitosis inexplicable, neutropenia, trombocitopenia y esplenomegalia progresiva. Células monocíticas atípicas se observan en sangre periférica e hiperplasia de médula ósea con alta proporción de formas monocíticas y mieloides.

#### LEUCEMIA MONOCÍTICA CRÓNICA

Esta variante está caracterizada por anemia, neutropenia trombocitopenia en asociación con un incremento en el número de elementos monocíticos maduros en sangre y médula ósea, también compromete tejidos extramedulares tales como piel y visceras. Pocos casos de este tipo de leucemia han sido informados en niños.

#### LEUCEMIA LINFOCITICA CRÓNICA

Es una neoplasia monoclonal de linfocitos relativamente maduros generalmente del linaje de células B han sido

observados ocasionalmente en niños. Se presenta con palidez, hepatoesplenomegalia, linfadenopatía generalizada e infiltración de médula ósea con células maduras únfoides. El análisis es demostrable con monoclonalidad de la población linfoide, sin embargo ésta técnica no ha sido usada satisfactoriamente en la edad pediátrica. (10)

### III - ESTUDIO CITOQUIMICO DE LEUCEMIAS EN LA POBLACIÓN PEDIÁTRICA BOLIVIANA

Mieloperoxidasa

Negro Sudán B

Fosfatasa Alcalina Leucocitaria

Reacción de PAS (shiff-ácido periódico)

Esterasa Específica

Esterasa inespecífica

Inhibición de la esterasa inespecífica

Fosfatasa acida

Leucemia aguda linfoblástica

Leucemia aguda no linfoblástica

Leucemias crónicas

## IV-LEUCEMIAS EN NIÑOS INCIDENCIA

- Cuba : 2,5 a 3/ 100.000 niños
- España: 4/ 100.000
- Bolivia: no conocida

## V - JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

- \* Establecer el valor de la prueba citoquímica en este padecimiento.
- \* Futuras acciones terapéuticas oportunas de acuerdo a a la variedad de leucemia
- \* Normatizar el diagnóstico de la variedad de leucemia con recursos de laboratorio.
- \* Escasa información

## VI - CONCLUSIONES DE LA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### LEUCEMIAS

Incidencia general de 2 a 3 por 100.000 niños

Factores predisponentes: genético, exposición a tóxicos, radiaciones de ondas de baja frecuencia.

### ESTUDIO CITOQUIMICO

Se ha evidenciado que desde hace mucho tiempo se han utilizado diversas tinciones citoquímicas para el diagnóstico

de leucemias, estas características han sido desarrolladas en el marco teórico.

## VII - PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

CUAL ES LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL MÉTODO CITOQUÍMICO DE MEDULA OSEA EN NIÑOS LEUCÉMICOS COMPARADO CON OTRAS ENFERMEDADES DE AFECTACIÓN MEDULAR ?

### OBJETIVO GENERAL

- Determinar si la prueba citoquímica es una alternativa adecuada y confiable para diferenciar la enfermedad.

### OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Determinar las variedades de leucemias en la población infantil.
- Determinar la incidencia de leucemias en nuestra población infantil.
- Establecer posibles factores de riesgo en los niños con este padecimiento.
- Establecer el pronóstico de la enfermedad en nuestra población infantil investigando los respectivos factores de la leucemia aguda linfoblástica.
- Establecer principales rasgos clínicos de la enfermedad.

## VIII - DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN Diseño

descriptivo, observacional, prospectivo y longitudinal

PACIENTE MENOR DE 15 AÑOS  
CON LEUCEMIA

ADMISIÓN AL CENTRO DE REFERENCIA  
En distintos hospitales

ENCUESTA A LOS PADRES O TUTORES:  
Obtención de datos adicionales

TOMA DE MUESTRA POR PUNCIÓN-ASPIRADO  
DE MEDULA OSEA PARA FROTIS

ENVIÓ INMEDIATO DE SEIS LAMINAS  
DE LA INFORMACIÓN A LABORATORIO DE  
REFERENCIA A TRAVÉS DE SERVICIO CURRIER  
Para su respectivo proceso

CONTRA-REFERENCIA DE LOS RESULTADOS AL  
MEDICO TRATANTE MÁXIMO EN  
SIETE DÍAS

INVESTIGACIÓN Y ANÁLISIS  
DE LOS DATOS OBTENIDOS

VENTAJAS

Implica un trabajo que requiere solo un contacto con el paciente

Período de tiempo corto

Evalúa muestras de distintas regiones del país

Determina datos no estudiados en nuestro medio

DESVENTAJAS

Recursos financieros para el proceso de laboratorio y transporte de las muestras

La validez es afectada por la no captación de los enfermos

Distancia considerable entre los pacientes y el centro de estudio

Difícil pesquisa de pacientes con leucemia

Renuencia de los padres al procedimiento invasivo

#### POTENCIALES SESGOS-PROBLEMAS

- Recolección de datos defectuoso
- Pérdida de pacientes con enfermedad
- Retraso en el envío de las muestras
- Casuística anual disminuida
- Extravío de las muestras
- Mala coordinación local
- Poca colaboración departamental

#### VARIABLES DE ESTUDIO

Variables del paciente

Edad

Sexo

Procedencia

Ganglios mayores a 1 cm en cualquier región

Hepatomegalia y/o esplenomegalia

Hemoglobina en g/dL (<10g/dL) Leucocitos  
por mm<sup>3</sup> (>100mil/mm<sup>3</sup>)  
Plaquetas (<100mil/uL)

Fiebre ( mayor a 38 C)  
Faringe inflamada  
Tos  
Infección recurrente

Palidez  
Debilidad

Hemorragia cutánea ( petequias y/o equimosis)  
Hemorragia mucosa ( epistaxis o gingiv orragia)  
Menorragia

Dolor óseo

#### FACTORES PROBABLES DE RIESGO

Edad de la madre cuando nació el paciente  
Edad del padre cuando nació el paciente  
Abortos anteriores  
Clase social  
Exposición a rayos X antes del parto  
Uso de contraceptivos orales  
Historia familiar: Leucemia  
Síndrome de Down

En el paciente:

Exposición a campos electromagnéticos ( viven cerca de un centro  
de energía eléctrica o una fuente de energía)

Exposición a herbicidas y pesticidas

Exposición a derivados de hidrocarburos o productos del petróleo

Exposición a benceno

## MUESTRA

Lugar: Centros de referencia oncológicos en las ciudades de:  
La Paz y El Alto Deptos. del interior  
(opcional)

Población de referencia: Niños menores de 15 años con sospecha de enfermedad leucémica en La Paz y otros departamentos de Bolivia.

Población menor de 15 años con leucemia, púrpuras, tumores sólidos, mielodisplasias, anemia aplásica en la población paceña.

Marco muestral: Toda la población accesible.

## CRITERIOS DE INCLUSIÓN

\* Menores de 15 años con sospecha de leucemia ingresados en centros de referencia departamentales en el período de estudio planeado.

\* Menores de 15 años con leucemias, talasemias, linfomas, púrpuras, tumores sólidos, mielodisplasias y anemia aplásica en centros de referencia de la ciudad de La Paz

## CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

\* Ausencia de datos sobre el paciente

\* Rechazo a participar en el estudio

\* Muestra insuficiente o deficiente

## IX - HIPÓTESIS

Estudio descriptivo, puede prescindir de la hipótesis

## X - RESULTADOS

Las leucemias son la causa más frecuente de cáncer en la población pediátrica ocupando la tercera parte de todas las neoplasias descritas en la niñez. La variedad más frecuente es la linfoblástica aguda alcanzando casi el 80% de todas las presentaciones, las variantes restantes alcanzan el restante 20%. Todas las leucemias se caracterizan por un profundo deterioro de la médula ósea, sin embargo las características celulares analizadas en el laboratorio con diferentes métodos son completamente diferentes, deseando establecer el comportamiento de las mismas en nuestra región y en nuestros niños decidimos realizar este estudio comparando los mismos con otras enfermedades infantiles que afectan la médula ósea.

### OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar si el método citoquímico es una alternativa adecuada y confiable para diferenciar la enfermedad.

Objetivos secundarios:

Determinar las variedades de leucemias en nuestros niños.

Establecer el pronóstico de la enfermedad indagando factores de riesgo en los niños con LLA.

Establecer las características más frecuentes de presentación clínica de la enfermedad.

Considerar posibles agentes ambientales o factores epidemiológicos que se relacionen con la génesis de la enfermedad.

## XI - MATERIAL Y MÉTODOS

Se tomaron en cuenta 32 pacientes, los cuales casi en su totalidad fueron atendidos en el Hospital del Niño de la ciudad de La Paz - Bolivia, además de otros centros de referencia en el período de tiempo comprendido de junio a diciembre de 1997. Todos ellos fueron sometidos a punción aspirado de médula ósea prefiriéndose la cresta ilíaca como referencia anatómica para la obtención de la muestra.

Se aplicó un cuestionario en el cual se obtuvieron los datos clínicos preguntados y observados, además de algunos valores de sus hemogramas de ingreso y factores de riesgo que podrían haber influido en la génesis de la leucemia aguda.

De los 32 pacientes 11 fueron diagnosticados como leucemia linfoblástica aguda, 16 de ellos tuvieron otras enfermedades que requirieron estudio de médula ósea, un paciente con LLA fue integrado al grupo control por haber iniciado quimioterapia antes del estudio de médula ósea y cinco pacientes fueron eliminados (cuatro con estudio de médula ósea incompleta y un paciente con edad mayor a 15 años).

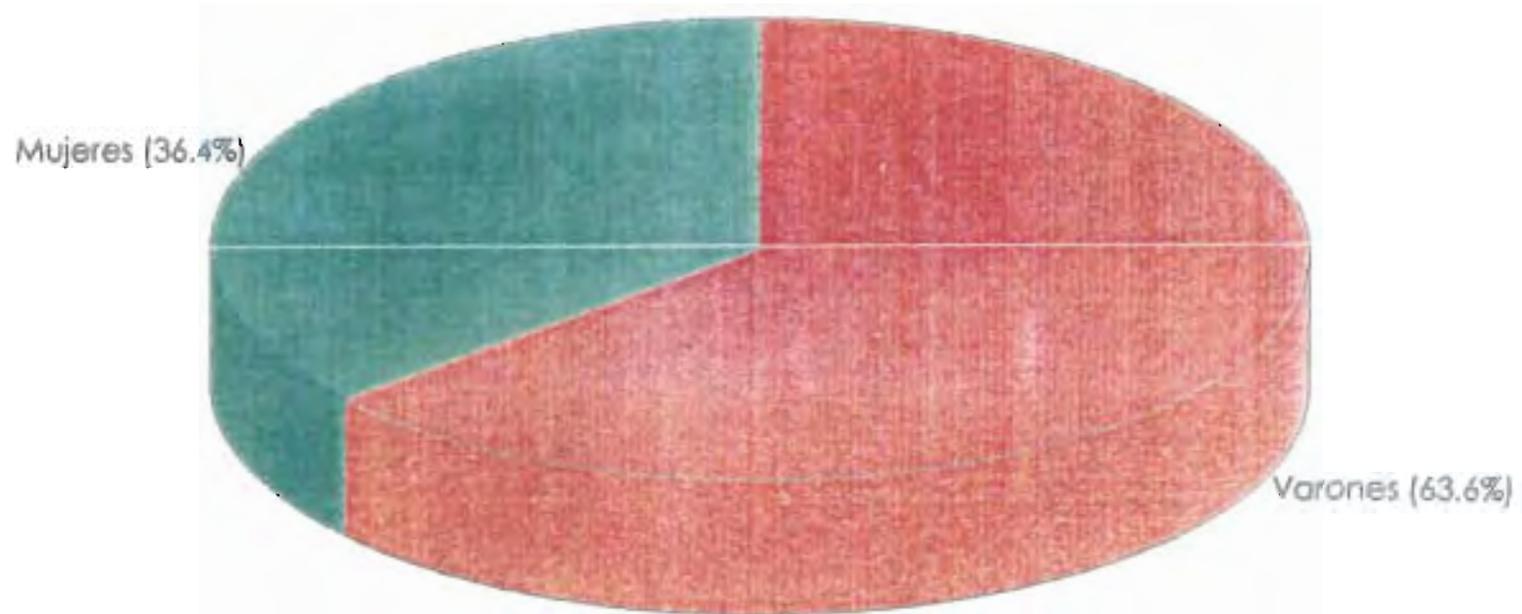
Se detalla a continuación los pacientes que fueron incluidos en el estudio:

## LISTA DE PACIENTES INCLUIDOS EN EL ESTUDIO CITOQUIMICO

No	PACIENTES	DIAGNOSTICO	PROCEPENIA
1	AC	Leucemia linfoblástica gguda	LgPgz
2 3	EI	Leucemia linfoblástica aguda	La Paz
4 5	FS	Leucemia linfoblástica aguda	La Paz
	HJ	Leucemia linfoblástica aguda	Denj
	MH	Leucemia linfoblástica aguda	Lafgj
6	PG	Leucemia linfoblástica aguda	La Paz
L.	QG	Leucemia linfoblástica aguda	La Paz
JL	RM	Leucemia linfoblástica aguda	Tarja
1	RA	Leucemia linfoblástica aguda	La Paz
10	QR	Leucemia linfoblástica aguda	La Paz
11	QR AO	Leucemia linfoblástica aguda	La Paz
12		Leucemia linfoblástica aguda	LgPgz
13	AR	Bicitopenia	La Paz
Ji	AY	Reacción leucemoide	La Paz
.	LE	Reacción leucemoide	La Paz
li	CD	Púrpura trombocitopénica	La Paz
17	PA	Púrpura trombocitopénica	La Paz
18	CF	Linfoma Hodgkin	La Paz
19	CW	Linfoma Hodgkin	La Paz
20	MR	Linfoma No Hodgkin	La Paz
21	LR	Anemia aplástica	La Paz
27.	QJ	Anemia aplástica	La Paz
23	RJ	Aplasia Medular	LgPgz
21.	QS	Síndrome mieloproliferativo	La Paz La Paz
25.	TR	Síndrome mieloproliferativo	La Paz
26	RA	Anemia megaloblastica	La Paz
27	VA	Leucemia mielocítica crónica	La Paz
28	VD	Linfoma no especificado	La Paz

Se realizó la evaluación citoquímica de las muestras de médula ósea incluyendo las recomendaciones del "British Haematological Council" de acuerdo al detalle presentado mas adelante. Todos los procedimientos fueron previamente estandarizados observando un coeficiente de variabilidad menor al 5% (datos no presentados en este trabajo) en la Unidad de Hematología del Instituto de Servicios de Laboratorios de Diagnóstico e Investigación en Salud (SELADIS).

**LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA**  
Distribución de la enfermedad por sexo



**Fig.1**

## XII - MÉTODO DE TINCIÓN CITOQUÍMICA PARA ANÁLISIS DE MEDULA OSEA

MIELOPEROXIDASA (MPO): Distingue células mieloides de linfoides. Positiva desde el estadio de mieloblasto hasta neutrófilo. Células linfoides siempre negativas.

SUDAN NEGRO "B" (SBB): Especificidad similar a MPO, positiva en células mieloides maduras e inmaduras.

FOSFATASA ALCALINA LEUCOCITARIA (FAG): El "score" de FAG que es: bajo en leucemia mielocítica crónica, normal o alto en leucemia aguda linfoblástica y alto en reacciones leucemoides, neutrofilia por infecciones, síndrome de Down y policitemia vera.

REACCIÓN PAS (Schiff-acido periódico): Positividad en bloques sugiere C-ALLA, pero puede ser negativo o débilmente positivo en otros tipos de leucemia aguda linfoblástica.

ESTERASA ESPECÍFICA (EE): Distingue mieloblastos (reacción positiva) de linfoblastos y monoblastos (reacción negativa).

ESTERASA INESPECÍFICA (EI): Distingue monoblastos y linfoblastos de mieloblastos

INHIBICIÓN DE LA ESTERASA INESPECÍFICA (Eli): Distingue monoblastos de linfoblastos, manteniéndose la positividad en linfoblastos después de la inhibición.

FOSFATASA ACIDA (FA): Positiva en desórdenes linfoproliferativos de células T, reacción característica localizada.

### XIII - RESULTADOS

Resultados obtenidos de los cuestionarios: Se consideraron 11 pacientes con leucemia linfoblástica aguda, de los cuales siete (63%) fueron varones y seis mujeres, con una edad promedio de 7 años (rango de 2 a 14 años) los cuales provenían tanto del área rural como urbana en el 50% de los casos respectivamente.

En la evaluación de algunos parámetros obtenidos del hemograma un porcentaje elevado (72%) tuvieron una hemoglobina menor a 10g/100ml, dos de ellos con leucocitosis mayor a 100.000/uL (18%) y en el 45% trombocitopenia menor de 100.000/uL.

Los datos de evaluación clínica evidenciaron que el signo clínico más frecuente de presentación de las leucemias agudas fue la palidez cutánea en el 80% de los casos, seguida de hepatomegalia, aumento de tamaño ganglionar, fiebre y debilidad en el 50% de los mismos. Los signos menos frecuentes fueron las equimosis y gingivorragia (20% de los pacientes).

En los resultados epidemiológico-ambientales observamos que las edades de los progenitores fueron mayores a 30 años en el 35% en ambos casos. El 40% de las madres de hijos leucémicos presentaron el antecedente de haber tenido un aborto anterior. La clase social predominante en estas familias fue baja en el 60%.

Factores ambientales relacionados a la enfermedad descritos en la literatura se encontraron que el 1% de los pacientes estuvieron en relación o proximidad con plantas de energía eléctrica, torres de transmisión, cables de alta tensión, hervicidas y pesticidas.

Los factores de mal pronóstico para la leucemia en aguda mostraron que el 30% de los pacientes tuvieron edad

# LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA

Factores de mal pronóstico.

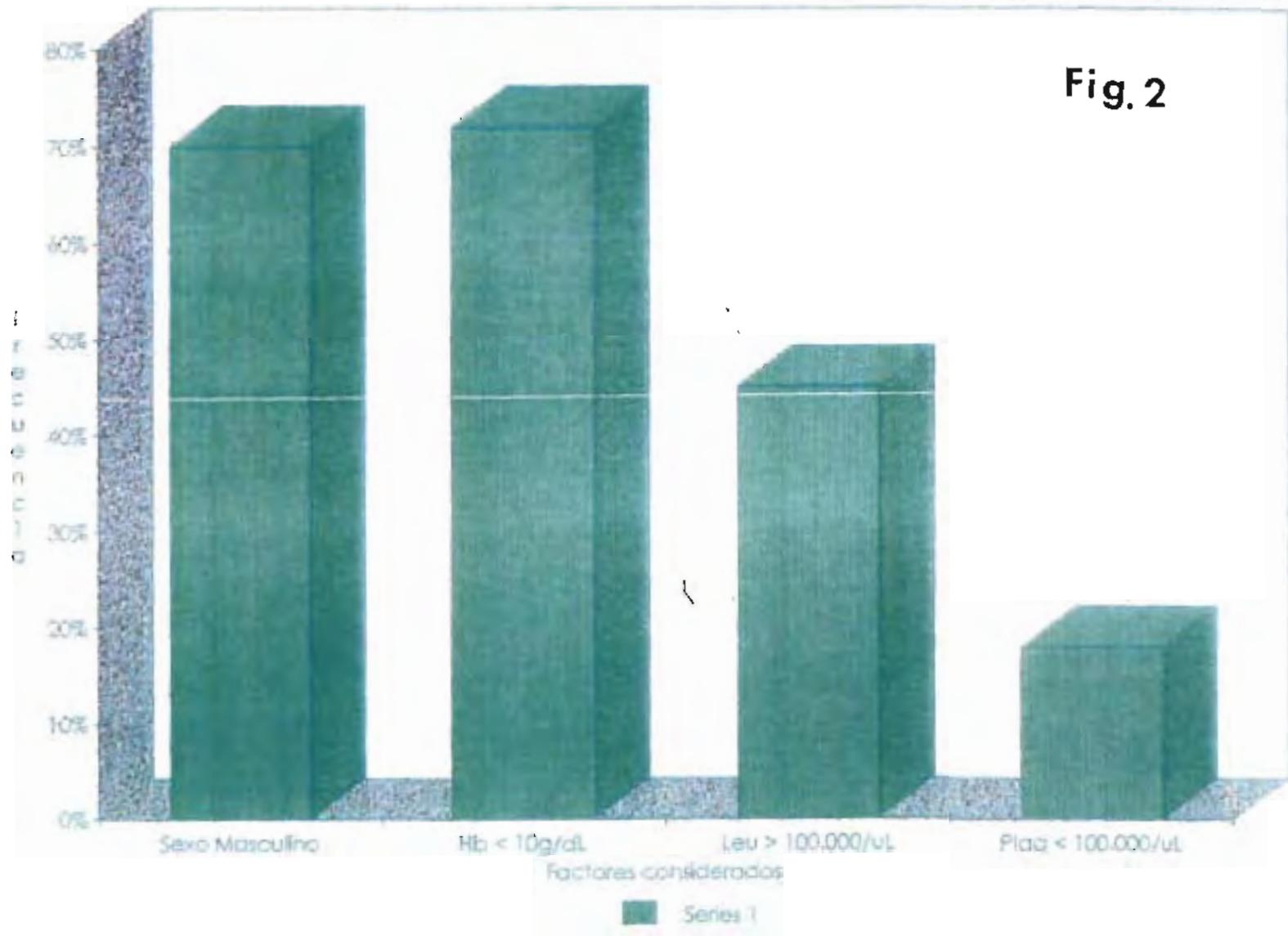


Fig. 2

mayor a los 10 años al inicio de la enfermedad, el 63% fueron de sexo masculino, en el mismo porcentaje presentaron anemia con hemoglobina menor a 10g/100ml al iniciar la enfermedad y por último el 36% de ellos debutaron con una leucocitosis mayor a 100.000/uL

Resultados obtenidos de las muestras de médula ósea:

Cuando en las tinciones convencionales para evaluación de morfología (Wright, Giemsa, Romanovsky) se observan un número considerable de blastos (mayor al 30%) se debe proceder a la identificación del linaje de los mismos, por medio de tinciones citoquímicas, las mismas que informan datos importantes para la identificación de la línea de las células involucradas en procesos neoplásicos además de poder establecer diagnósticos. Por ello la importancia de contar con estos procedimientos estandarizados como un primer paso en el diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda.

#### Egs\_uit,cjqqos de médula ós.e\_aiae\_pqci.ente\$ con leucemia linfoblástica aguda (tabla 1)

Los perfiles citoquímicos de médula ósea en casos de LLA incluidos en este estudio informan un porcentaje de células mieloperoxidasa negativas aumentada lo que confirma el origen linfoide de la población celular mayoritaria. El paciente O.A. con el diagnóstico LLA se debe considerar separadamente ya que fue considerado como grupo control por haber iniciado antes su terapia antineoplásica, se observa en este último disminución de células negativas que corresponden a linfoblastos existiendo predominio polimorfonuclear, indicando que aparentemente el tratamiento tuvo una respuesta favorable.

La tinción negro sudón B presenta paralelismo con la tinción mieloperoxidasa confirmando el linaje linfoide, sin

ESTUDIO CITOQUIMICO DE MEDULA OSEA EN PACIENTES CON LLA (tabla 1 )

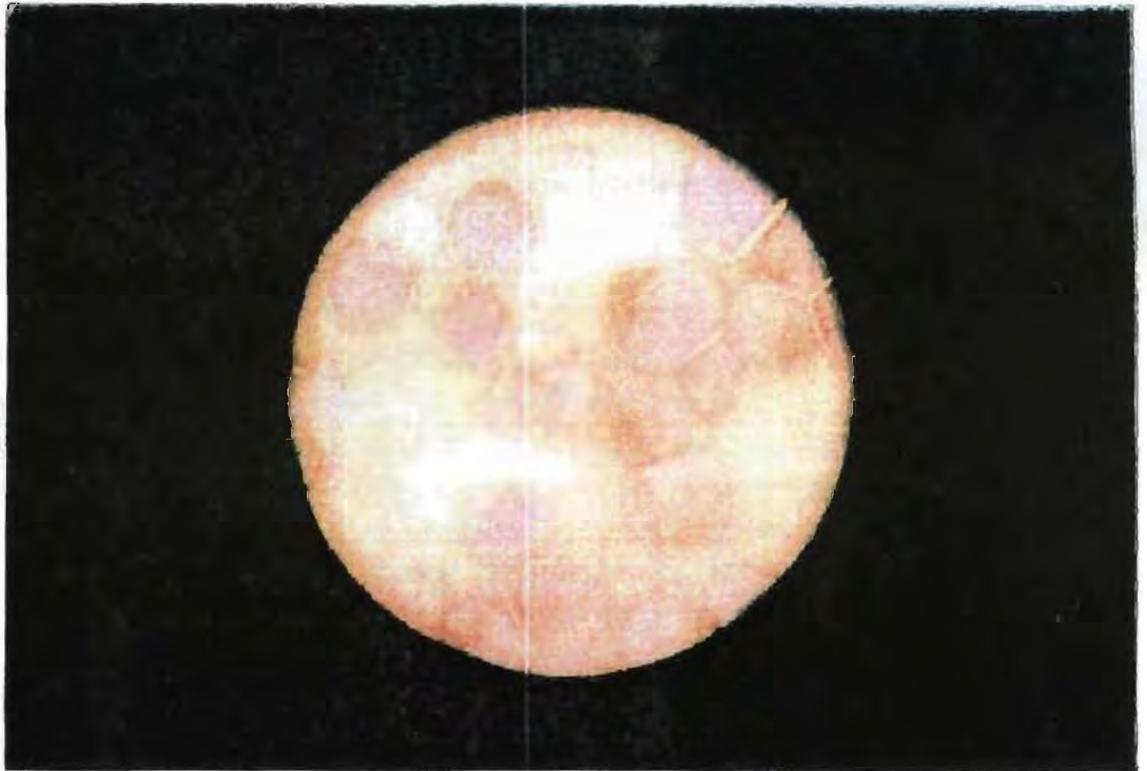
No	NOMBRES	VARIANTES	MPO	SBB	EE	PAS	FAG	EI	Eli	FA
1	AE	Positivo Negativo PMN	2 98 0	36 60 1	28 61 11	NSR	Score: 86	Bi:6 Dif:29 65 0	Bi:0 Dif:6 94 0	21 79
2	EI	Positivo Negativo PMN	3 92 5	1 94 5	4 92 4	Bi:26 Dif:7 67 0	Score: 298	Bi:1 Dif:11 88 0	Bi:0 Dif:1 99 0	5 95
3	FS	Positivo Negativo PMN	7 57 36	6 57 37	10 50 40	Bi:10 Dif:20 42 46	Score:1 16	NSR	NSR	NSR
4	HJ	Positivo Negativo PMN	1 98 1	1 99 0	1 99 0	81:34 Dif:7 59 0	Score:NSR	NSR	NSR	0 100
5	MH	Positivo Negativo PMN -	4 92 4	4 86 10	6 90 4	Bi:5 Dif:0 93 2	Score: 113	Bi:0 Dif:13 87 0	Bi:0 Dif:9 91 0	3 97
6	PG	Positivo Negativo PMN	1 98 1	NSR	2 98 0	Bi:1 Dif:10 83 6	Score:NSR	NSR	NSR	NSR
7	QR	Positivo Negativo PMN	5 89 6	4 92 4	2 94 4	Bi:96 Dif:3 1 0	Score:238	Bi:12 Dif:7 81 0	Bi:2 Dif:3 95 0	0 100
8	QR-2	Positivo Negativo PMN	7 62 31	NSR	2 68 30	Bi:15 Dif:16 79 0	Score:210	Bi:5 Dif:13 82 0	Bi:5 Dif:7 92 0	62 38
9	QS	Positivo Negativo PMN	0 99 1	NSR	0 100 0	Bi:2 Dif:17 81 0	Score:NSR	Bi:49 Dif:5 36 10	Bi:45 Dif:0 55 0	21 79
10	RM	Positivo Negativo PMN	0 99 1	NSR	0 100 0	Bi:0 Dif:0 100 0	Score:96	Bi:1 Dif:2 97 0	Bi:0 Dif:9 91 0	0 100
11	RA	Positivo Negativo PMN	1 98 1	0 99 1	1 97 2	Bi:35 Dif:0 65 0	Score:313	Bi:0 Dif:5 95 0	Bi:0 Dif:3 97 0	0 100

I tinción en bloque Df tinción difusa MPO-mieloperoxidasa SB3-sudán negro B EE-esterasa específica PAS-ácido periódico Schiff FAG-fosfatasa alcalina leuc EI-esterasa inespecífica Eli-esterasa específica FA-esterasa específica

COMPARACIÓN DEL PATRÓN CITOQUIMICO DE LLA, CON PERFILES  
CITOQUIMICOS DE TODOS LOS PACIENTES CON  
LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA

PACIENTES	MPO	SBB	E.E.	PAS	E.I.	FAG	F.A,
E.I.	Neg	Neg	Neg	Post Bloq	Neg.		Neg
A.R.	Neg	Neg	Neg	Post Bloq	Neg.		Neg
H.M.	Neg	Neg	Neg	Neg.	Neg.	Normal	Neg
J.H.	Neg	Neg	Neg	Post Bloq	Post Bloq	NSR	Nea
R.Q.	Neg	Neg	Neg	Post Bloq	Post Bloq		Neg
M.R.	Neg	Neg	Neg	Neg.	Neg.	Normal	Neg
G.Q.	Neg	Neg	Neg	Neg.	Post Bloq	Infii. Blast	Neg
E.A.	Neg	Neg	Neg	Neg.	Neg.	Infil. Blast	Neg
R.Q.2	Neg	Neg	Neg	Neg.	Neg.		Post.
S.F.	Neg	Neg	Neg	Neg.		Normal	Neg
LLA	Neg	Neg	Neg	(+)Bloq/Ne	(+)Bioq/Ne	Normal	(+)Focal/Neg

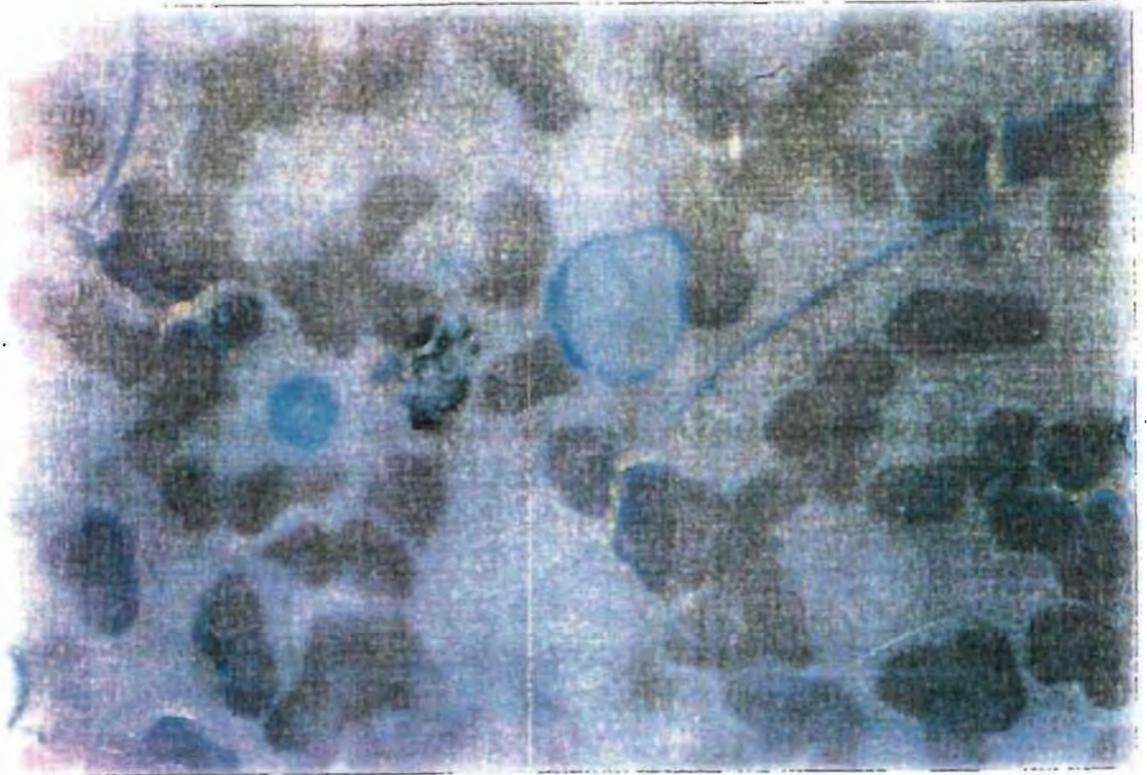
(\*) Nelson DA, Davey FR; Leucocito esterasa. En: Williams W, Beutler; Ersley A, Lichman MA, editors. Hematology 3th ed. New York MacGraw Hill Book Co; 1983, p. 1653



A

Fig.6

B



Tinción de mieloperoxidasa en células de médula ósea. A) Células de leucemia mielocítica crónica MPO (+) con intenso precipitado ocre marrón. B) Leucemia linfoblástica aguda, blasto central MPO (-), linfocito pequeño (-). Aumento 1000 X

embargo se realiza con la finalidad de confirmar los resultados de la anterior evidenciándose claramente este concepto en nuestro estudio.

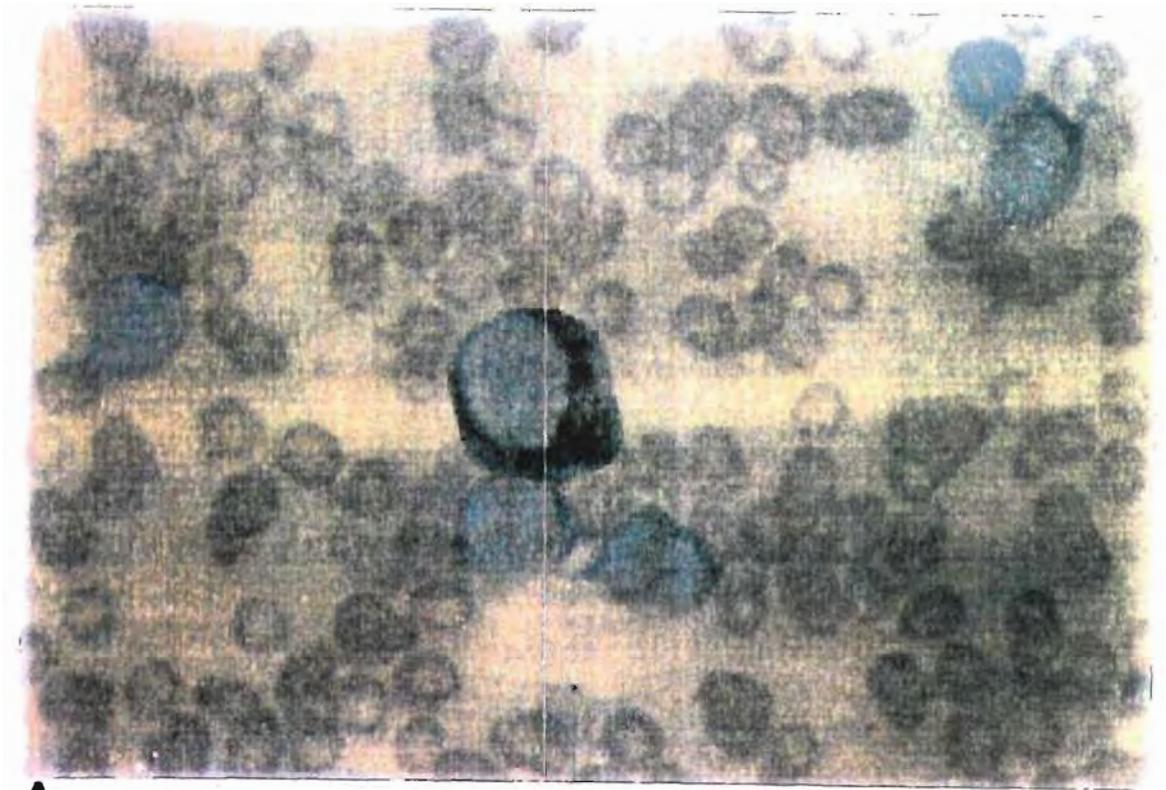
El mismo patrón de negatividad se encontró en la esterasa específica, enzima que solo es positiva en la línea mieloide y negativa en linfoblastos y monoblastos, los últimos que podrán ser discriminados con la esterasa inespecífica, así se completa lo observado con las dos primeras tinciones.

La tinción PAS sugiere que los pacientes IB, AR, JH, RQ podrían corresponder a C-ALLA (leucemia común) por la positividad en bloques mayor al 25%, los casos restantes con reacción negativa no contradicen la identidad linfoide de los blastos.

En las LLA estudiadas la fosfatasa alcalina granulocítica (FAG) mostró "scores" normales o elevados (80 a 148 normal en nuestro medio), característica establecida en la literatura y confirmada en este estudio.

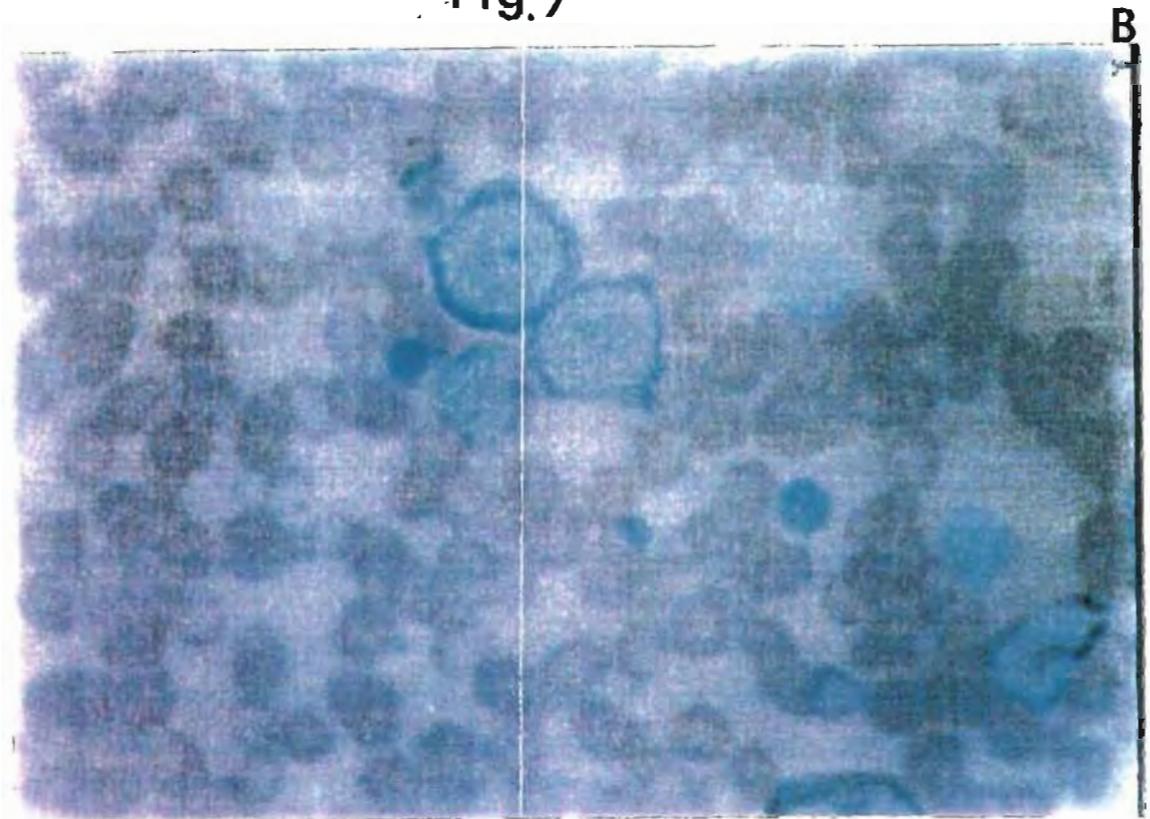
La esterasa inespecífica (ANAE) presenta reacción positiva para células monocíticas, sus progenitores y para células linfoides aunque estas también pueden ser negativas. La principal aplicación de esta tinción juntamente con su inhibición es diferenciar a los blastos monocíticos de los linfoides, siempre que estos presenten reacción positiva. En la mayoría de los casos de LLA se observaron patrones positivos y negativos en las células linfoides, el cual también está descrito en la literatura. Sin embargo existe un hallazgo llamativo en el caso QG en el que existe un porcentaje elevado de células positivas que se mantienen aún en presencia del inhibidor, comportamiento tipo de células linfoides aunque no común en todos los casos.

En la fosfatasa ácida la positividad de la reacción se origina en afecciones linfoproliferativas de células T agudas o crónicas con la característica de una reacción ácida fuerte.



A

Fig.7



B

Tinción sudón negro B en células de médula ósea. A) Leucemia linfoblástica aguda, blasto central SBB (+) con intenso precipitado pardo negruzco, polimorfonucleares SBB (+). B) Leucemia linfoblástica aguda, blastos centrales SBB (-), polimorfonucleares (+).

En el presente estudio todos los casos presentan negatividad en la mayoría de las células, sin que esto contradiga el origen linfoide. Solo un paciente RQ2 muestra un aumento en la positividad de las células linfoides con respecto a los demás casos lo que *podría* considerarse como un caso de leucemia de células T, sin embargo esto no significa que el fenotipo en los otros casos no corresponda al linaje B u otros estadios de maduración de ambas estirpes. En el caso de OA se hizo también el recuento de polimorfonucleares (con reacción positiva), por encontrarse en un número considerable verificándose su porcentaje normal (60% con Wright), ya que en este paciente como sólo se encontraron blastos residuales en 4% (datos no presentados) fue incluido como control.

Resultados de estudio de médula ósea en pacientes  
con enfermedades no leucémicas  
(tabla 2)

+ El caso de la bicitopenia (AR) muestra un perfil citoquímico dentro de los límites normales

+ Las reacciones leucemoides presentan perfiles normales con excepción del "score" de FAG que determina su diagnóstico, ya que este se encuentra aumentado en ambos casos (157 y 199 respectivamente) en relación al rango de referencia (80-148), evidenciándose la naturaleza de la leucocitosis.

+ Los casos de púrpura trombocitopénica presentan una sola característica común que es el "score" de FAG disminuido, probablemente esto pueda constituir una característica de ésta patología debiéndose ampliar la casuística de este tipo de enfermedad para confirmar dicho hallazgo. Sin embargo también existen otros datos específicos en cada caso: así CD presenta un número considerable de células fosfatasa acida positivas que podrían corresponder a linfocitos T; en el caso PA se observa mas bien casi 50% de las células PAS positivas que pueden corresponder también a linfocitos, pero de otra estirpe.

ESTUDIO CITOQUIMICO DE MEDULA OSEA EN PACIENTES NO LEUCÉMICOS (tabla 2)

No	NOMBRES	VARIANTES	MPO	SBB	EE	PAS	FAG	EI	Eli	FA
1	AO Diagnóstico LLA en Tío	Positivo Negativo PMN	14 26 60	23 18 59	17 20 63	Bl:4 Dif:61 35 0	Score: 127	81:10 Dif:0 70 0	Bl:5Dif:15 80 0	4 25 71
2	AR Diagnóstico Bicitopenia	Positivo Negativo PMN	24 63 13	39 60 1	21 68 11	NSR	Score: 86	Bl:6 Dif:29 65 0	Bl:0 Dif:6 94 0	NSR
3	AY Diagnóstico R. leucemoide	Positivo Negativo PMN	18 50 32	16 67 17	11 69 20	Bl:1 Dif:6 53 40	Score: 57	Bl:6 Dif:10 84 0	Bl:4 Dif:4 92 0	2 98
4	CD Diagnóstico P.T.	Positivo Negativo PMN	15 39 46	NSR	22 36 42	Bl:13Dif:9 78 0	Score:39	Bl:3Dif:14 83 0	Bl:0 Dif:2 98 0	47 53
5	CF Diagnóstico L. Hodgkin	Positivo Negativo PMN	8 40 52	11 41 48	18 39 43	NSR	Score: 110	Bl:1 Dif:0 99 0	NSR	10 90
6	CW Diagnóstico L. Hodgkin	Positivo Negativo PMN	20 23 57	16 21 63	NSR	NSR	Score: 95	Bl:10Dif:11 79 0	Bl:0 Dif:0 100 0	NSR
7	LR Diagnóstico L. No Hodgkin	Positivo Negativo PMN	0 89 11	NSR	0 88 12	Bl:1 Dif:7 82 0	Score:204	NSR	NSR	39 61
8	LE Diagnóstico R. leucemoide	Positivo Negativo PMN	32 28 40	NSR	43 26 31	Bl:3Dif:16 19 62	Score: 199	Bl:16Dif:7 41 36	Bl:16Dif:1 41 42	43 57
9	MR Diagnóstico L. No Hodgkin	Positivo Negativo PMN	16 33 51	18 27 55	16 24 60	Bl:2 Dif:27 20 51	Score:88	Bl:1 Dif:16 83 0	Bl:3Dif:10 87 0	NSR
10	PA Diagnóstico P.T.	Positivo Negativo PMN	13 45 43	14 45 41	15 42 43	Bl:7 Dif:42 41 0	Score :59	Bl:3Dif:17 80 0	Bl:0 Dif:5 95 0	4 96
11	QH Diagnóstico A. Aplástica	Positivo Negativo PMN	1 95 4	2 96 2	1 95 4	Bl:4 Dif:2 94 0	Score: 144	Bl:2 Dif:4 94 0	Bl:1 Dif:3 96 0	14 86

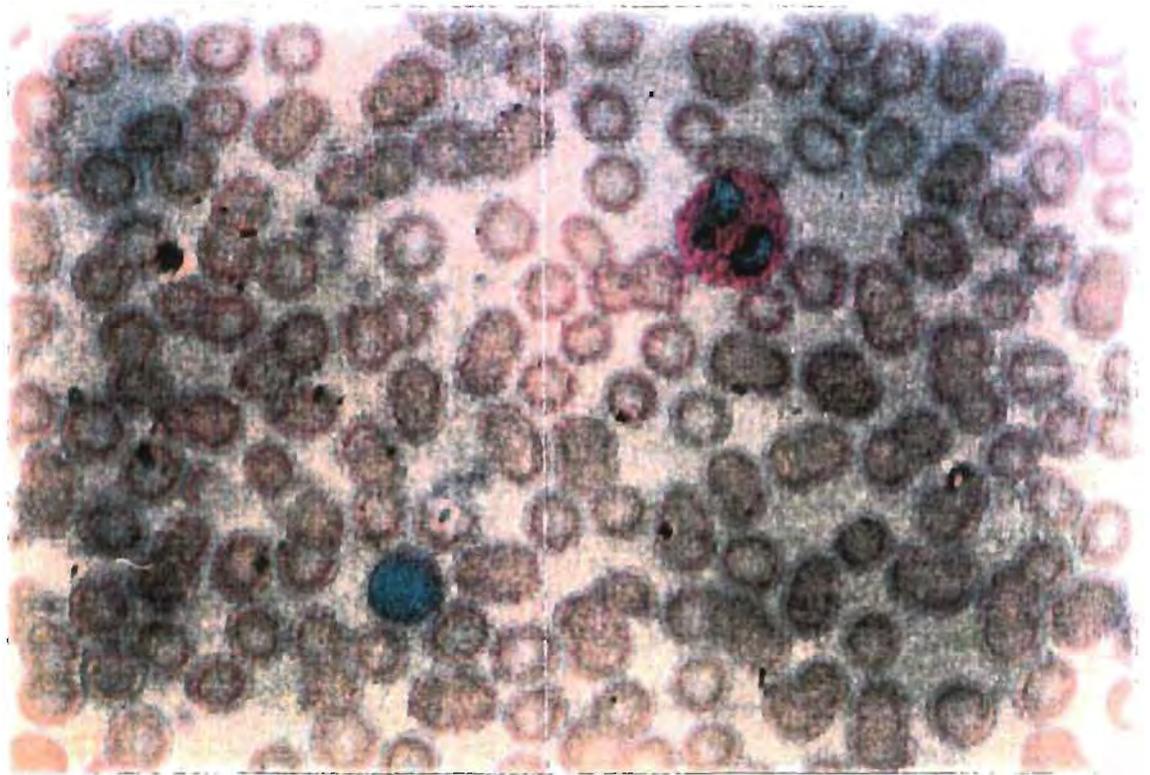
## ESTUDIO CITOQUIMICO DE MEDULA OSEA EN PACIENTES NO LEUC ÉMICOS (tabla 2)

No	NOMBRES	VARIANTES	MPO	SBB	EE	PAS	FAG	EI	Eli	FA
12	QS Diagnóstico S. Mieloprolif.	Positivo Negativo PMN	19 38 • 43	25 28 47	16 40 44	Bl:0 Dif:0 100	Score: 258	NSR	41 59	4 25 71
13	RJ Diagnóstico A. Medular	Positivo Negativo PMN	5 89 6	NSR	3 84 13	Bl:0 Dif:0 100	Score: 169	Bl:5 Dif:2 83	Bl:2 Dif:2 96	32 68
14	TR Diagnóstico S. Mieloprolif.	Positivo Negativo PMN	23 10 67	NSR	24 12 64	Bl:0 Dif:1 4 5 81	Score:64	Bl:5 Dif:19 76	Bl:2 Dif:18 80	23 77
15	VA Diagnóstico L. M. C.	Positivo Negativo PMN	39 5 56	32 3 65	33 8 59	NSR	Score: 13	Bl:2 Dif:13 85	Bl:0 Dif:1 99	14 86
16	VD Diagnóstico Linfoma	Positivo Negativo PMN	6 72 22	7 79 14	7 66 27	Bl:10 Dif:28 62	Score: 23	Bl:0 Dif:0 100	NSR	5 95

Bl: Tinción en bloques Dif:

Tinción difusa

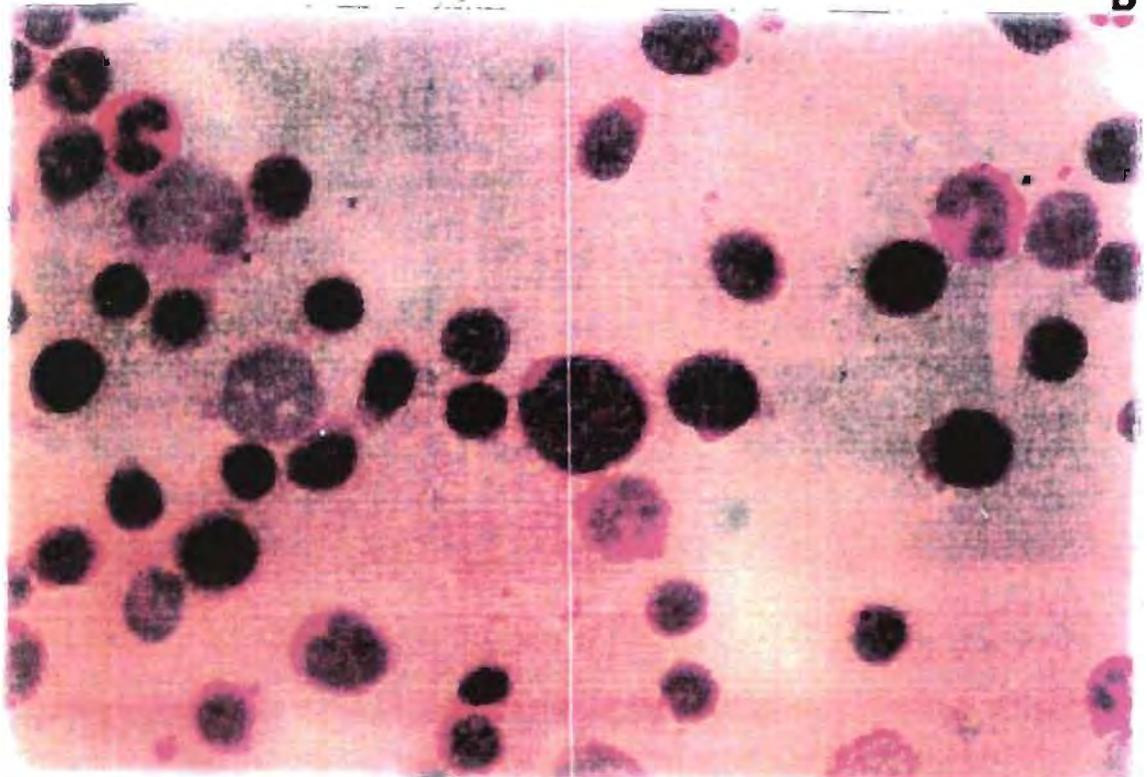
MPO-mieloperoxidasa. SBB-sudán negro B. EE-esterasa específica. PAS-ácido periódico Schiff. FAG-fosfatasa alcalina granulocítica. EI-esterasa inespecífica. Eli-inhibición de la EI. FA-fosfatasa acida



A

Fig. 8

B



A) Tinción de esterasa específica en células de médula ósea de púrpura trombocitopénica, neutrófilo (+) con intenso precipitado rojo naranja. Linfocito negativo.  
B) Tinción PAS en células de médula ósea de LLA, linfoblastos con positividad en bloques, neutrofilos positivos difusos, algunos linfocitos y linfoblastos negativos.

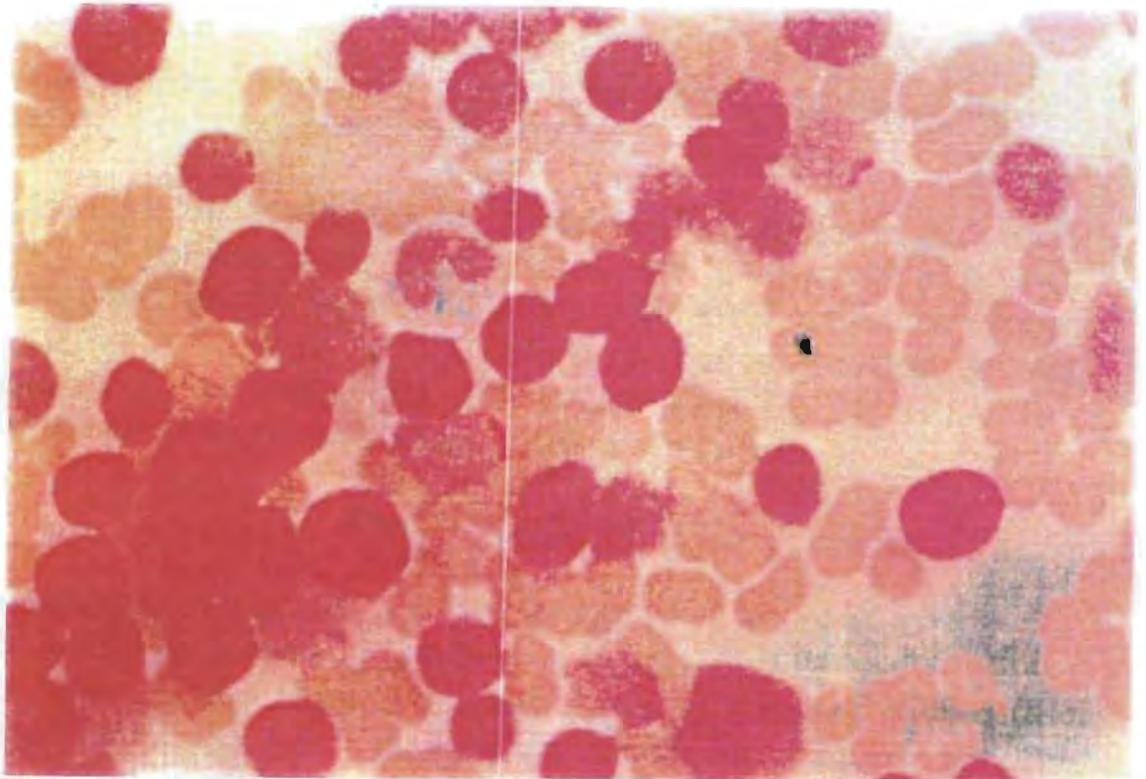
+Los dos casos de linfoma de Hodgkin estudiados no informan características citoquímicas similares a LLA que pudieran alterar el diagnóstico diferencial, aunque no se debe descartar que en algunos casos puede existir infiltración blástica medular.

+En los linfomas no-Hodgkin se observan perfiles diferentes entre sí, esto debido a la infiltración blástica medular en el paciente RL, lo que correlaciona con un porcentaje de células fosfatasa ácida positivas, que podrían representar linfocitos T. El otro caso presenta un perfil similar al normal, aunque desafortunadamente no fue posible realizar la tinción fosfatasa ácida.

+VD es otro caso de linfoma aunque sin especificación, el hallazgo llamativo en él es que existe un aumento drástico de células linfoides (72% determinados por MPO) sin que estas correspondan a linfocitos T, ya que sólo se observó el 5% de positividad en la tinción de fosfatasa ácida, además, el "score" de FAG está francamente disminuido, demostrando este último hecho que el "score" no tiene un comportamiento definido en los linfomas.

+Los casos de aplasia observados (QJ, RJ) muestran una característica importante que es el aumento considerable de células linfoides (95% y 89%, respectivamente) evidenciado en la tinción de MPO y confirmado por esterasa específica y que no puede ser atribuido a células leucémicas por la leucopenia marcada observada en ambos casos. Todos los otros parámetros se encuentran dentro de parámetros normales.

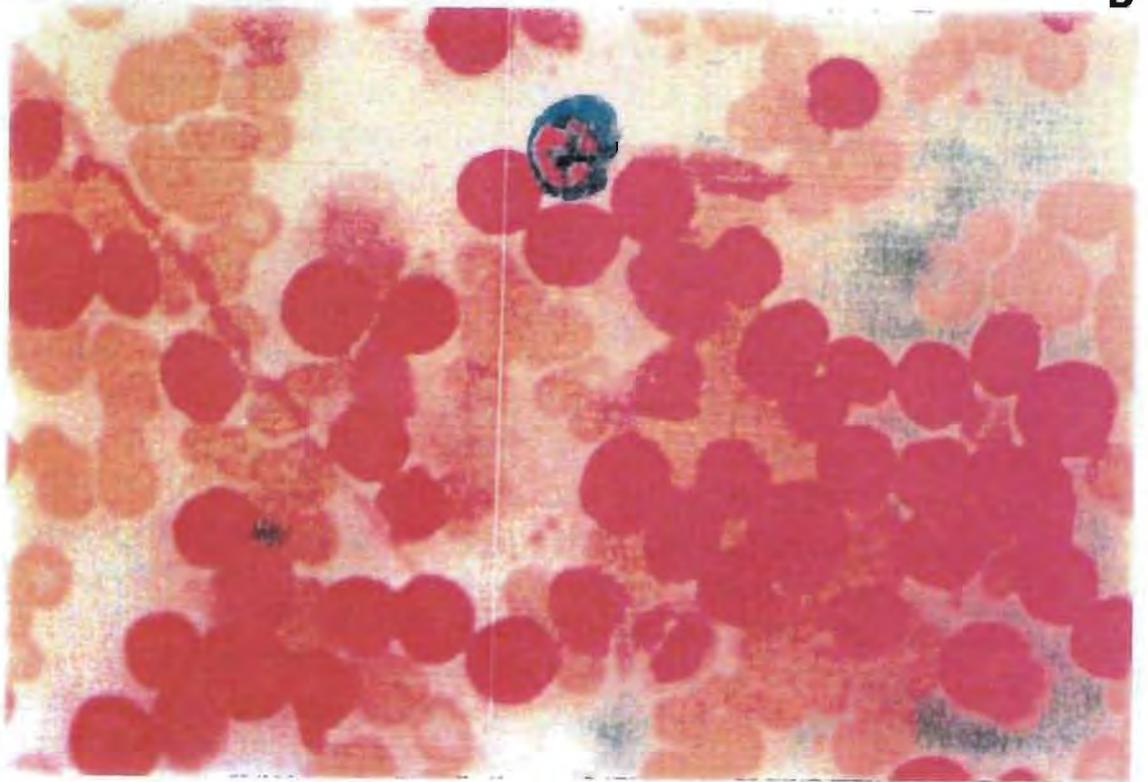
+En el síndrome mieloproliferativo (TR) se observa un aumento en los elementos de la serie mieloide (90%) y además un "score" de FAG disminuido, ambas observaciones correlacionan con datos descritos en las referencias



**A**

**Fig.9**

**B**



Tinción de fosfatasa alcalina granulocítica en células de médula ósea de leucemia linfoblástica aguda. A) Polimorfonucleares neutrófilo positivo grado 2, blastos negativos. B) Polimorfonucleares neutrófilo positivo grado 3, blastos negativos.

internacionales para este tipo de trastorno, el resto de los parámetros se muestran no alterados.

+Finalmente, el perfil de la leucemia mielocítica crónica estudiada ratifica este diagnóstico, al presentar 95% de células MPO positivas y un "score" de FAG drásticamente disminuido y que son hallazgos determinantes para establecer la enfermedad diferenciándola de la reacción leucemoide en la que el "score" está aumentado.

#### XIV - DISCUSIÓN

En el análisis clínico de los pacientes con leucemia aguda linfoblástica se puede advertir que la mayoría de ellos (81%) presentaron como signo más frecuente la palidez cutánea, esto se relaciona con el 72% de ellos que presentaron al hemograma inicial una hemoglobina menor a 10g/dL, los signos de presentación intermedia (hipertrofia ganglionar, hepatomegalia, fiebre y debilidad) se presentaron en el 50% de los pacientes; las manifestaciones menos frecuentes fueron las hemorragias (30%), todos estos síntomas buscados están descritos como la presentación clínica característica de las leucemias agudas linfoblásticas.

Se cita además en la literatura que pudieran existir algunos factores ambientales u otras características familiares las cuales se relacionan con la presentación de la enfermedad; en nuestro trabajo se investigó al respecto y hubo relación en el 40% de los casos el antecedente de un aborto anterior al nacimiento del paciente, el 60% fueron de clase social baja, 9% con antecedente de historia familiar de leucemia y en este mismo porcentaje los niños estuvieron en contacto con los siguientes elementos: planta de energía eléctrica, cables de alta tensión, torres de transmisión de energía eléctrica y pesticidas. Un caso tuvo antecedente de historia familiar de leucemia.

# LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA

Manifestaciones clínicas

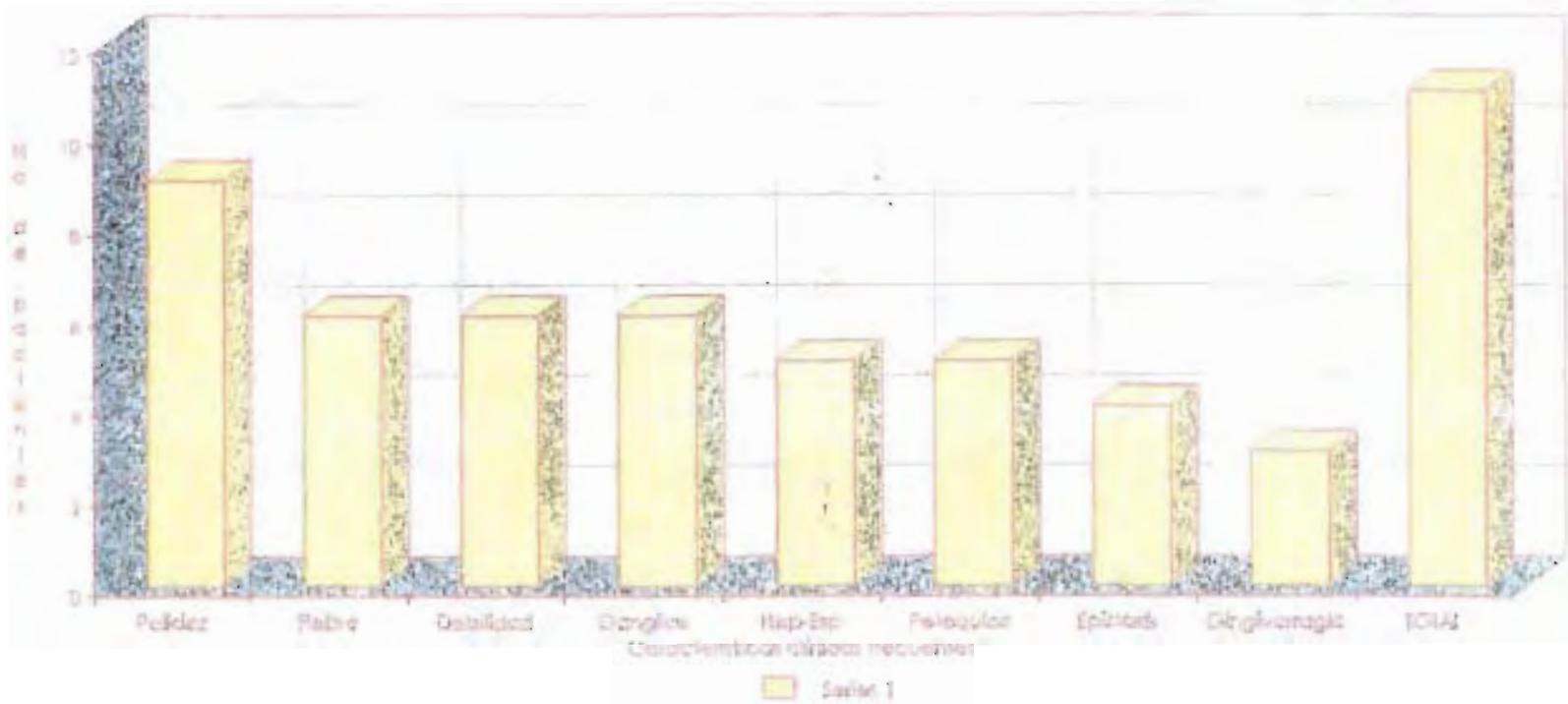


Fig.3

## LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA

Factores relacionados con la enfermedad

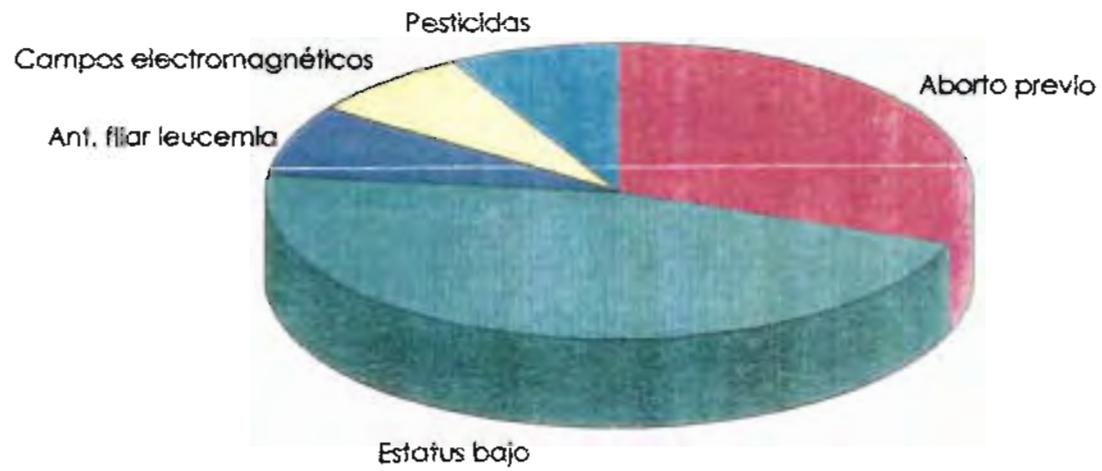


Fig.4

Se investigó también los factores de mal pronóstico de la enfermedad al inicio de la misma los cuales fueron identificados por datos proporcionados del hemograma inicial, la edad del paciente y el sexo. Observamos que el 30% de ellos tenían mas de 10 años de edad al inicio de su enfermedad, el 70% fueron de sexo masculino (met ástasis testicular preferencial de la enfermedad); 72% tuvieron una hemoglobina menor a 10 g/dL, las plaquetas estuvieron disminuidas menos de 100.000/uL en el 45% de los pacientes y la leucocitosis mayor a 100.000/mm<sup>3</sup> en el 18%. Aparentemente existe un porcentaje significativamente elevado de factores de mal pronóstico en nuestros niños con leucemia aguda.

-En el análisis de las pruebas de laboratorio todos los casos de LLA fueron confirmados en su diagnóstico al presentar blastos negativos para la enzima mieloperoxidasa y la tinción sudan negro B, técnicas que presentan confiabilidad por los métodos estadísticos empleados en este estudio. Esto además fue confirmado con la esterasa específica.

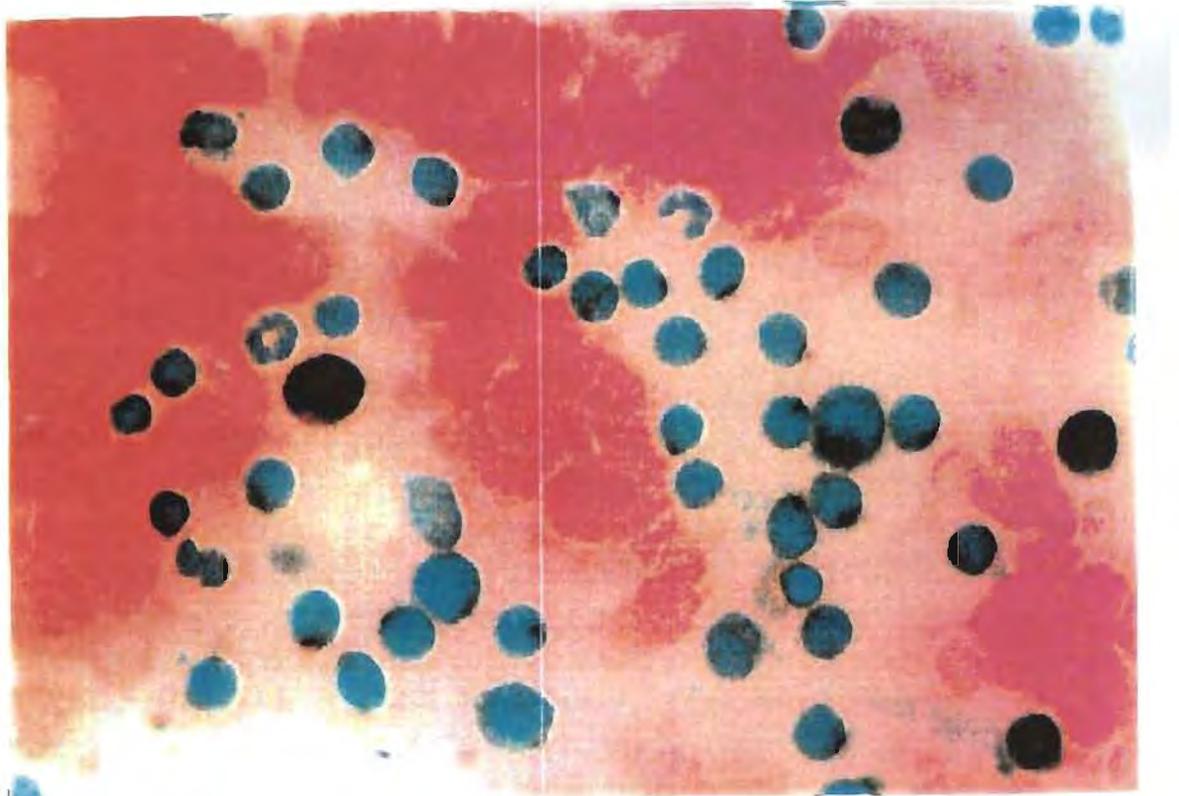
-La tinción PAS nos muestra que cuatro de los casos (IE, AR, JH, RQ) podrían corresponder a c-ALLA.

-La fosfatasa acida orienta a que uno de los casos (RQ2) podría involucrar a células T.

-Los "scores" de FAG en las LLA se presentan normales o aumentadas, sin mostrar un comportamiento particular con esta patología.

-Las otras entidades estudiadas no presentan perfiles citoquímicos comunes a las LLA, encontrándose especificidad confiable para las tinciones de MPO y SBB.

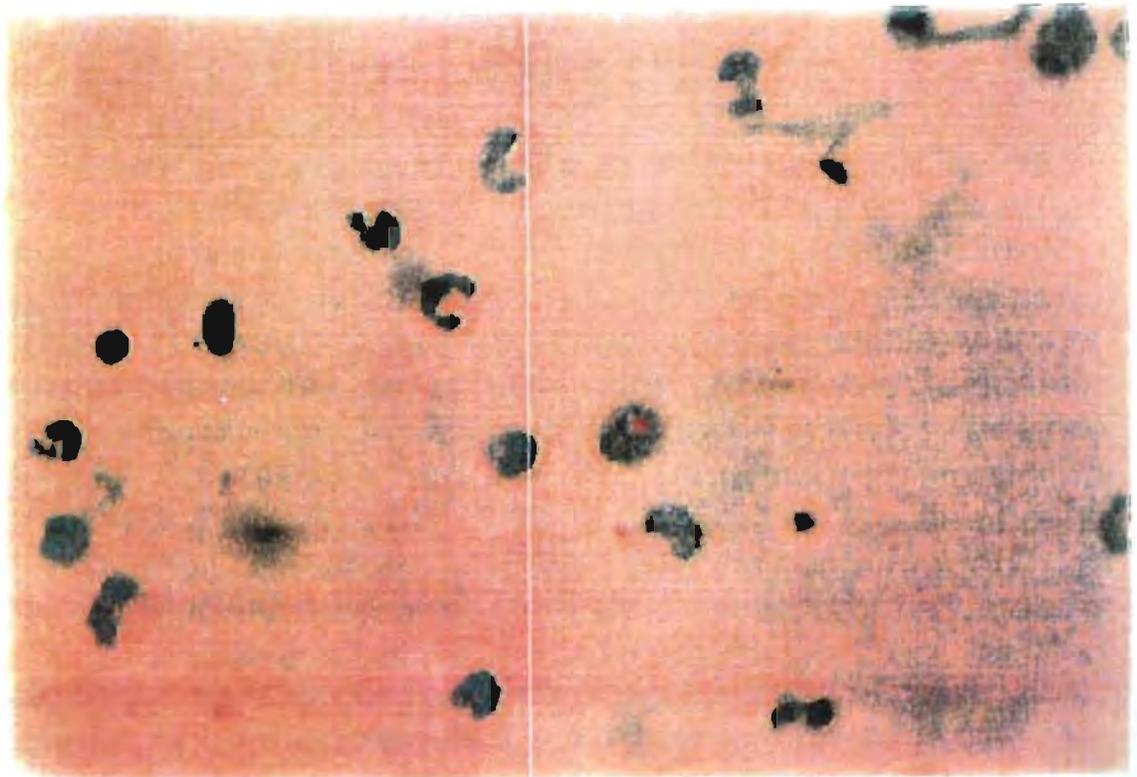
-La determinación del score de FAG es determinante para el diagnóstico de reacción leucemoide, como se observó en los casos previamente citados.



A

Fig. 10

B



A) Tinción esterasa inespecífica en células de médula ósea de LLA, linfoblastos positivos en bloques, monocitos intensamente positivos difusos, linfocitos negativos.  
B) Tinción fosfatasa acida en células de médula ósea de leucemia linfoblástica aguda, linfocito central con positividad focal, abundantes polimorfonucleares.

-Un hallazgo llamativo corresponde a los scores de FAG disminuidos en los dos casos de púrpura trombocitopénica, el mismo que podría estar relacionado con la enfermedad. Sin embargo, existe la posibilidad de que esta manifestación sea casual; esto induce a estudiar mayor número de pacientes con esta entidad.

-Si bien las tinciones citoquímicas proporcionan información importante para establecer el diagnóstico de LLA como se ratifica en este estudio, sus alcances son limitados en relación a la inmunotipificación que permite la identificación del linaje y el estadio de diferenciación de las células involucradas en el proceso neoplásico. Es por esto que el diagnóstico de las LLA en particular y de las neoplasias hematológicas en general debería ser enfocado considerando estos dos otros pilares diagnósticos que proporcionan información importante en el tratamiento y el pronóstico de estas patologías

#### XV - PRUEBAS ESTADÍSTICAS

Para finalizar se aplicaron pruebas estadísticas a este recurso de laboratorio para identificar la sensibilidad, especificidad y valores predictivos correspondientes considerando separadamente la tinción de MPO. Es necesario y sincero manifestar que nuestra muestra considerada no es la óptima y que probablemente estos resultados obtenidos adelante puedan modificarse considerando un número mayor de pacientes leucémicos, y' que en honor al tiempo de recolección de datos (8 meses) y la enfermedad de presentación infrecuente justifican el número reducido de pacientes considerados en el estudio.

Sensibilidad: Es la proporción de sujetos con la enfermedad que tienen una prueba positiva para la enfermedad.

## LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA

Pruebas Estadísticas

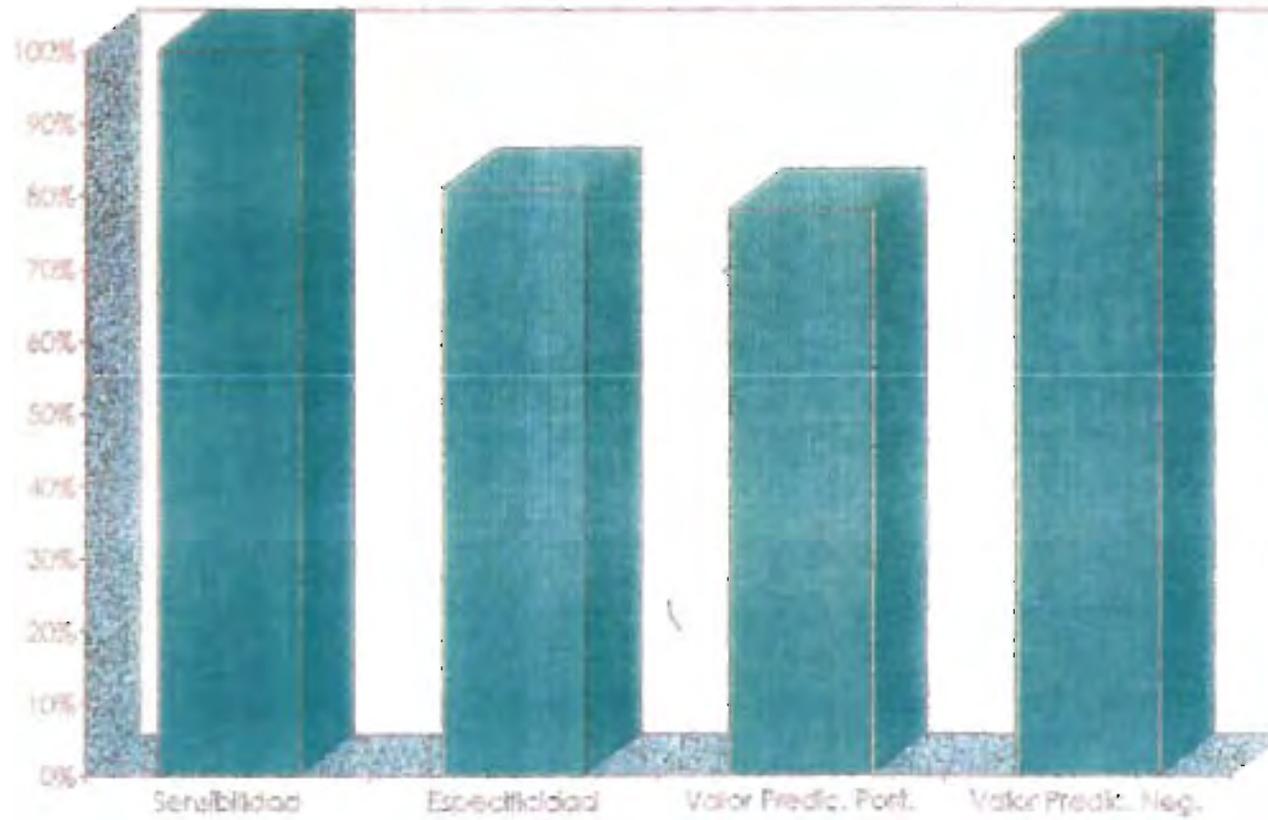


Fig. 5

■ MIELOPEROXIDASA

Citgquímico	LLA	QTRAS
<u>Positivo</u>	a) 11 <u>pacientes</u>	b) 3 pacientes
<u>Negativo</u>	le) 0 <u>pacientes</u>	ld) 13 <u>paciente s</u>

$$\text{Sensibilidad} = a/a+c = 11/11 = 1 = 100\%$$

Especificidad: Es' la proporción de sujetos sin la enfermedad que tienen una prueba negativa.

$$\text{Especificidad} = d/b+d = 13/16 = 0,81 = 81\%$$

Valor predictivo positivo: Probabilidad de la enfermedad en un paciente con un resultado positivo (anormal)

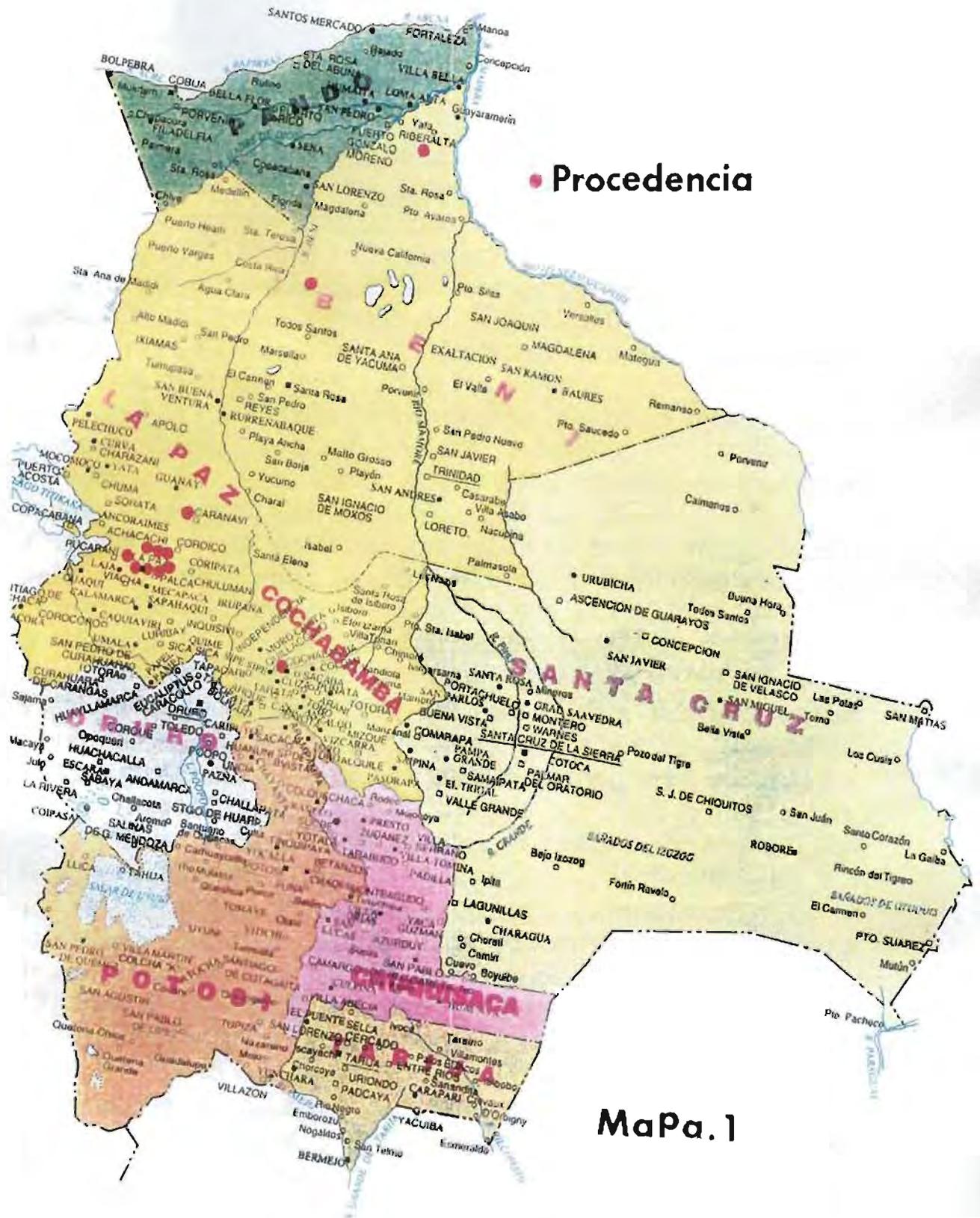
$$\text{VP}(+) = a/a+b = 11/14 = 0,78 = 78\%$$

Valor predictivo negativo: Probabilidad de no tener la enfermedad cuando el resultado de la prueba es negativo (normal).

$$\text{VP}(-) = d/c+d = 13/13 = 1 = 100\%$$

- Los resultados muestran sensibilidad del 100% y especificidad del 81% para la prueba con MPO, y existiría una probabilidad del 78% de tener la enfermedad con una prueba positiva y el 100% de probabilidad de no tener la enfermedad con una prueba negativa.

- Como corolario de este trabajo debemos recordar a nuestros lectores que este método de diagnóstico no fue empleado en el país sino hasta el momento y nos constituimos en los pioneros de los datos iniciales en nuestra población infantil y que a partir de este trabajo podremos recomendar futuros intentos de investigación relacionadas ya que surgieron nuevas pautas que estimulan a continuar con nuevos procesos metodológicos.



Mapa político de la República de Bolivia evidenciando con las "señales" los lugares de procedencia de los niños que padecen leucemia (datos obtenidos de junio a diciembre de 1997), Hospital del Niño "Dr. Ovidio Aliaga Uría" e Instituto "SELADIS", La Paz - Bolivia.

## XVI - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Stockman JA. Neoplasias y estructuras afines a las neoplasias. En Nelson WE, Behrman RE. Tratado de Pediatría. 14ta ED. Interamericana de España 1992. p. 1572-8
2. Silverberg E, Lubera J. Cáncer statistics. CA 1986; 36: 9-25
3. Neglia JP, Robinson LL. Epidemiology of the childhood acute leukemias. Pediatr Clin North Am 1988;35:675-92
4. Diamon C, Matthay K, Childhood acute lymphoblastic leukemia. Ped Ann 1988; 17:156-70
5. Steinhertz PG. Acute lymphoblastic leukemia of childhood. Hematol Oncol Clin North Am 1987; 1: 549-65
6. Poplac DG, Reaman G. Acute lymphoblastic leukemia in childhood. Pediatr Clin North Am 1988; 35: 903-32
7. Rizzari C, et al( editores): protocolli di chemioterapia della leucemia linfoblastica acuta dell'infanzia: manueale pratico, Iraed. FONOP, 1996
8. Hakani N. Acute nonlymphocytic leukemia in children. Hematol Oncol Clin North Am 1987; 1:56775
9. Vives JL. Métodos citoquímicos y otros procedimientos generales de estudio leucocitario. En: Vives JL, Aguilar JL, editores. Manual de técnicas de laboratorio en hematología, 1 ra ED SALVAT; 1987. p. 141 -58.
10. Altman AJ. Chronic leukemias of childhood. Pediatr Clin North Am 1988;35:765-87
11. Mckenzie SB. Aspectos generales y clasificaciones de la leucemia aguda. En: Mckenzie SB, editor. Hematología clínica. IraED. M&M; 1991. p. 314-30
12. Alert J, Caraballos M. Leucemia en los niños de Cuba. Incidencia durante el período 1979 a 1980. Rev Cub Pediatr 1986;58:639-45
13. Fajardo A, Garduño J, Yamamoto L, Hernández DM, Gómez A, Mejía M y col. Residencia cercana a fuentes eléctricas de alta tensión y su asociación con leucemia en niños. Bol Med Hosp Infant Mex 1993; 50: 32-7
14. Liesner RJ, Goldstone AH. The acute leukemias. Br Med J 1997;314:733-6

15. Antillón F, Jiménez M, Crespo E, Sierrasésúmaga L. Leucemias y linfomas en la infancia. *Medicine* 1995; 6: 3640-8.
16. Dacie J. Leucocyte cytochemical & immunological techniques. En: *Practical Haematology*. 2 Ed. London; 1995. p. 143-9.
17. Pui CH. Acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Clin North Am* 1997;44:831-46
18. Ebb DH, Weinstein HJ. Diagnosis and treatment of childhood acute myelogenous leukemia. *Pediatr Clin North Am* 1997;44:847-61
19. Sanders JE. Bone marrow transplantation for pediatric malignancies. *Pediatr Clin North Am* 1997; 44: 1005-20
20. Ribeiro RC, Pui CH. Prognostic factors in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Pathol* 1993; 7: 121-42
21. Browner WS, Newman TB, Cummins SR. Diseño de un nuevo estudio: III. Pruebas diagnósticas. En: Hulley SB, Cummins SR, editores. *Diseño de la investigación clínica*. Ira Ed. Doyma Barcelona; 1993. p. 97- 107