SOCIEDAD COLOMBIANA DE PEDIATRÍA

Pediatría al DÍA

Tomo 2

SCP Sociedad Colombiana de Pediatría | 2017

Editora Nelly Lecompte Beltrán

Castillo Orozco, Juliana
Residente de tercer año en Pediatría
Universidad Pontificia Bolivariana

Castro Orozco, Edwin
Pediatra, neumólogo
Sinergia Global en Salud
EPS Sánitas, Cali

Cataño Jaramillo, María Lucía
Pediatra
Hospital General de Medellín

Cepeda Sarabia, Alfonso Mario
Pediatra, alergólogo
Jefe del Laboratorio de Alergia e Inmunología
Hospital Universitario Metropolitano, Barranquilla
Presidente 2013-2015
Sociedad Latinoamericana de Alergia Asma e Inmunología

Céspedes Londoño, Jaime Aurelio
Pediatra
Director de Pediatría
Fundación Cardioinfantil
Instituto de Cardiología

Céspedes Salazar, Camila
Pediatra, endocrinóloga
Profesora asociada
Facultad de Medicina
Pontificia Universidad Javeriana
Hospital Universitario San Ignacio

Chaskel, Roberto
Psiquiatra de niños y adolescentes
Coordinador Psiquiatría de Niños y Adolescentes
Hospital Militar Central
Universidad Militar Nueva Granada
Fundación Santa Fe de Bogotá

Chavarriaga Ruiz, Nataly
Pediatra
Fundación Hospital la Misericordia

Coba Torres, Kelly Laudith
Residente de tercer año en Pediatría
Universidad del Norte

Coll Barrios, Mauricio Absalón
Pediatra, endocrinólogo
Profesor titular
Facultad de Medicina
Universidad Nacional de Colombia
Centro de Endocrinología Pediátrica CENPA SAS

Coronell Rodríguez, Wilfrido
PhD en Medicina Tropical
Pediatra, infectólogo
Profesor
Universidad de Cartagena

Cuellar Santaella, Martha Helena
Pediatra
Residente de primer año en Neumología Pediátrica
Universidad de Antioquia

David Tarud, Gabriel Jesús
Pediatra, hematooncólogo
Centro Cancerológico del Caribe, Barranquilla

De la Peña Sanabria, Iván David
Residente de Pediatría
Universidad del Norte

De la Rosa Ramírez, Roberto Carlos
Pediatra
Hospital Universidad del Norte

De los Reyes Valencia, Iliana del Carmen
Pediatra, oncóloga
Hospital Universitario San Ignacio
Profesora
Pontificia Universidad Javeriana

Del Toro Camargo, Kenny Yelena
Pediatra, endocrinóloga
Unidad Médica Villa Country

Eraso Garnica, Ruth María
Pediatra, reumatóloga
Hospital Pablo Tobón Uribe
Coordinadora del Posgrado en Reumatología Pediátrica
Universidad de Antioquia, Medellín

Fernández Laverde, Mauricio
Pediatra, intensivista
Hospital Pablo Tobón Uribe
Profesor
Universidad CES

Forero Ronderos, Catalina
Pediatra, endocrinóloga

Iliana del Carmen de los Reyes Valencia
Martha Patricia Vizcaíno Valderrama
Elda Graciela Vélez Colmenares
Sandra Milena Quijano Gómez
Laline Paola Barragán Osorio

Leucemias agudas

Introducción

Las leucemias en niños son una enfermedad rara; sin embargo, son el cáncer más común de la edad pediátrica y representan en forma aproximada el 30 % de todos los tumores malignos de la infancia[1]. De las leucemias agudas, la leucemia linfoblástica aguda (LLA) representa el 75 % de todas las leucemias, y se presenta 5 veces más frecuentemente que la leucemia mieloide aguda (LMA)[2].

Las leucemias crónicas son poco comunes en los niños (3 %); los dos subtipos más frecuentes son la leucemia mieloide crónica (LMC), seguida por la leucemia mielomonocítica juvenil (LMMJ)[3].

Las leucemias constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades cuya diversidad se manifiesta en la presentación clínica, el diagnóstico, el tratamiento y otros factores que aumentan la complejidad del padecimiento, si bien los esfuerzos actuales van encaminados a mejorar la supervivencia.

Los avances terapéuticos en la sobrevida[4-11] son el resultado de la adecuada estratificación de riesgo (morfológica, inmunofenotípica, citogenética/molecular), de la adquisición de nuevos medicamentos, y de la introducción de mejoras en las medidas de soporte, entre otras razones, aunque en los países con recursos limitados los resultados son aún desalentadores[12].

En Colombia, la situación de las leucemias en niños constituye un problema que debe ser abordado de forma prioritaria desde varias dimensiones, en concordancia con los compromisos adquiridos a favor de la niñez en la Ley de infancia[13]; de ahí que las leucemias en la edad pediátrica ameriten ser consideradas como enfermedades de salud pública, objeto de intervenciones decididas de los distintos actores del Sistema General de Seguridad Social en Salud, incluida su vigilancia intensificada, con miras a contribuir a disminuir la mortalidad, mejorar la oportunidad en el diagnóstico y atender a los niños con esta patología[14].

Este capítulo revisa la definición, la epidemiología, los factores predisponentes, las manifestaciones clínicas, el diagnóstico (morfología, inmunofenotipo, citogenética/molecular), el diagnóstico diferencial, la clasificación por factores de riesgo, el tratamiento, el pronóstico y el seguimiento de las leucemias agudas en niños.

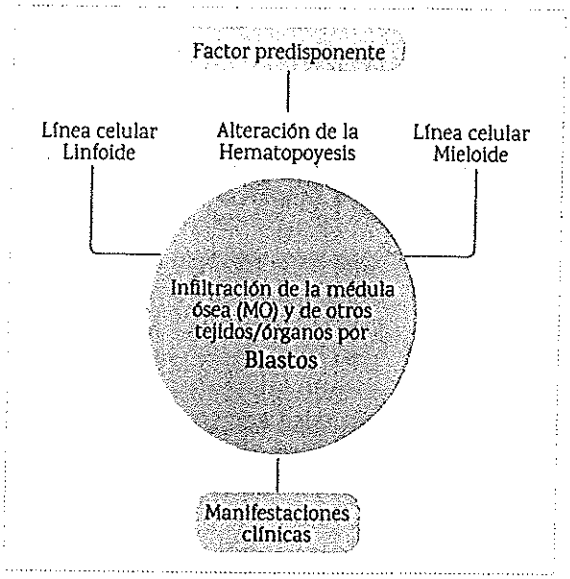
Definición

La leucemia infantil es una enfermedad universal, crónica, no transmisible, de etiología multifactorial, con manifestaciones diversas debido al compromiso de varios órganos y sistemas.

Las leucemias agudas representan un grupo heterogéneo de neoplasias malignas de la sangre, que comprometen la hematopoyesis normal de la línea linfoide o mieloide, con expansión clonal de las células neoplásicas (llamadas blastos) a otros tejidos formadores de sangre (Figura 1)[3].

El término 'agudo' se refiere al crecimiento acelerado y desorganizado de las células blásticas pobremente diferenciadas y a la instauración de un síndrome clínico que puede ser fatal si no es tratado en forma oportuna y especializada.

Figura 1. Definición de leucemia.



La presencia de uno o más factores predisponentes modifica la hematopoyesis normal; la subsecuente infiltración de blastos en la médula ósea y otras estructuras da inicio a las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Fuente: elaboración de autoras.

Epidemiología

El cáncer infantil es una condición poco frecuente, y representa sólo entre 0,5 % y 3 % de todas las neoplasias malignas en el mundo, con una incidencia de 120 a 150 casos por año por cada millón de habitantes menores de 14 años. A pesar de lo poco común, constituye un problema de salud pública por la alta probabilidad de muerte a edades tempranas y por el impacto social en los niños, sus cuidadores y familias[15].

En general, las leucemias son la principal causa de cáncer pediátrico, seguidas por los tumores del sistema nervioso central (SNC) y los linfomas[1].

En el continente europeo se diagnostican 5000 casos de LLA cada año, y en el continente americano también hay un riesgo incrementado de leucemia; en Estados Unidos se presentan en forma aproximada desde 2.500 hasta 3.500 casos nuevos de LLA cada año en menores de 15 años, con una incidencia calculada de 3,4 casos por cada 100.000 personas; para LMA, hay 500 casos nuevos cada año[2]

En un análisis de la base de datos de Vigilancia, Epidemiología y Resultados Finales (SEER) se presentó un aumento constante en la incidencia, que pasó de 25 casos por millón de habitantes en 1975, a 34 casos por millón en 2010[2]; otro estudio utilizó datos de 63 registros europeos de cáncer basados en la población de niños con diagnóstico de malignidad, en los que la incidencia de leucemia[16] aumentó 1,4 % desde 1970 hasta 1999; asimismo, un estudio realizado en Gran Bretaña documentó un aumento de la incidencia de leucemia, en períodos de cinco años, de 3,83 por cada 100.000 personas desde 1971 hasta 1975, y de 4,61 por cada 100.000 personas desde 1996 hasta 2000[17]. Este incremento sucede en contraste con lo que ocurre en los países nórdicos, que, después de registrar un aumento de la incidencia de leucemia entre 1975 y 1983, a partir de esa fecha se presentó una estabilidad de la enfermedad con un ritmo aproximado de 3,3 casos por 100.000 niños menores de 15 años[18].

En países con recursos limitados, la incidencia de LLA es sólo estimable, ya que existen muy pocos registros de cáncer basados en la población total; sin embargo, en muchos países con pocos ingresos la incidencia parece ser similar a la observada en países desarrollados con heterogeneidad en su comportamiento[12].

En Colombia se estima que ocurren 497 casos nuevos anuales de leucemia en menores de 15 años, lo que representa el 42,5 % de todos los tipos de cáncer en la niñez[19].

La edad de presentación de la LLA está entre 2 y 5 años[2,18,20-24], y para la LMA esa edad es constante desde el nacimiento hasta los 10 años; luego se observa un ligero pico que ocurre en la adolescencia tardía y después permanece estable hasta los 55 años cuando progresivamente aumenta.

En relación con el sexo, son más afectados los niños que las niñas; la preponderancia masculina es evidente en los casos de LLA linaje T[25].

En los Estados Unidos, la LLA es más común en los niños blancos no hispanos que en los niños negros[2,22].

Factores predisponentes

Existen varios factores relacionados con la etiología, como síndromes genéticos y de inmunodeficiencia (por ejemplo la trisomía 21 o síndrome de Down, la neurofibromatosis tipo 1, el síndrome de Bloom y la ataxia telangiectasia)[26,27]. En efecto, los niños

con síndrome de Down tienen una probabilidad 15 veces mayor de desarrollar leucemia que los niños sin este padecimiento[28]; otras alteraciones cromosómicas preexistentes menos comunes que se asocian a leucemia son el síndrome de Klinefelter y la anemia de Fanconi[20,21,29].

Existen además otras condiciones relacionadas con el desarrollo de la enfermedad, como peso mayor al nacer[30,31], y otras menos probables, como la exposición ambiental, la respuesta inmunitaria anormal a la infección, y la radiación; sin embargo, es controvertido el riesgo a la exposición a agentes químicos[32-43].

Manifestaciones clínicas

Los síntomas y signos de presentación reflejan el impacto de la infiltración de la médula ósea por las células leucémicas, y el compromiso extramedular en cualquier órgano/tejido por la enfermedad. Esos signos y síntomas suelen ser inespecíficos, insidiosos o bruscos, y de duración variable entre días y meses; los más frecuentes son fiebre, dolor de huesos/alteraciones musculoesqueléticas, cefalea, linfadenopatías, palidez, infección y sangrado. La persistencia inexplicable de estas manifestaciones clínicas debe plantear al médico la posibilidad diagnóstica de una neoplasia.

Las características de las presentaciones clínicas más comunes que sugieren malignidad son:

1. *Dolor de huesos no relacionado con el crecimiento* (21 % a 38 % lo presentaron)[44-47]: afecta especialmente a los huesos largos y se manifiesta por 'cojera' o limitación para soportar su propio peso[48]; es causado por la infiltración leucémica al periostio o por la osteonecrosis aséptica derivada de la apoptosis de los blastos en la médula ósea. El dolor musculoesquelético compromete las articulaciones y requiere diagnóstico diferencial con padecimientos reumatológicos.

2. *Cefalea y otras manifestaciones neurológicas:* el compromiso al sistema nervioso central ocurre en menos del 5 % de los casos y es más frecuente en la LMA[49,50]; la leucemia que afecta el SNC se manifiesta con síntomas secundarios al aumento de la presión intracraneal, como cefalea, vómito, papiledema, alteración del estado de conciencia y signos meníngeos[20]. En raras ocasiones, la leucemia se presenta con anormalidades de los nervios craneales[49,51] o con cloromas/sarcoma granulocítico (infiltración leucémica que produce efecto de masa, más frecuente en la LMA).

3. *Linfoadenopatías (50 %):* la linfoadenopatía periférica asociada a malignidad por lo general es firme, gomosa, adherida a planos profundos, no dolorosa y no responde a la terapia antibiótica inicial; la masa en mediastino es una representación de las linfoadenopatías profundas y es producida por la infiltración de células del tumor en los ganglios, lo cual origina la formación de un conglomerado ganglionar que produce síntomas y signos respiratorios y cuya severidad está relacionada con el grado de compresión (síndrome de mediastino / síndrome de vena cava superior). Esta manifestación es característica de los pacientes de raza negra con hiperleucocitosis y linaje T[20,21].

4. *Palidez (40 %):* es una manifestación de la anemia por fallo medular y cursa con fatiga (50 %), taquicardia, disnea y otras alteraciones cardíacas[20,21].

5. *Infección:* la neutropenia secundaria al desplazamiento de la granulopoyesis normal produce infección, que se manifiesta con fiebre (60 %) a la que no se le encuentra una etiología clara y no se resuelve con la terapia antibiótica convencional. Otra alteración de la granulopoyesis es la hiperleucocitosis, complicación metabólica que se relaciona con la presencia de un gran volumen por tumor y leucostasis[20,21].

6. *Sangrado (48 %):* resulta de la trombopenia inducida por la infiltración en la médula ósea y causa manifestaciones clínicas en piel (petequias, equimosis, púrpura, otros), mucosas (sangrado conjuntival, epistaxis, gingivorragia, hematemesis, hemoptisis, hematuria, sangrado genital) y en órganos nobles, como el SNC (hemorragia intracraneal)[20,21].

7. *Testículo agrandado (10 % a 23 %):* es una condición rara indolora que se manifiesta con el aumento del tamaño de uno de los testículos. La infiltración leucémica está presente en los espacios intersticiales y bajo la capa de las células de Sertoli; la destrucción de los túbulos ocurre en casos avanzados[20,21].

8. *Manifestaciones poco frecuentes en otros órganos:* compromiso renal (hematuria, hipertensión, fallo

renal); gastrointestinal (sangrado); genitourinario (infiltración ovárica, priapismo); pulmonar (infiltrados por malignidad, sangrado, trombosis, infección); cardíaco (infiltrados en miocardio/pericardio generalmente demostrados en autopsias); piel (nódulos subcutáneos, más frecuentes en la etapa neonatal) y cloromas (sarcoma granulocítico) cuya infiltración blástica produce efecto de masa y pueden aparecer en varios sitios anatómicos, entre ellos órbita/periorbitario y cordón espinal[20,21].

El curso de la enfermedad se podría resumir así: el niño(a) o adolescente tiene una enfermedad latente con un factor de riesgo cuantificable por estadística, que lo hace vulnerable a desarrollar la condición biológica de la enfermedad con el crecimiento acelerado/incontrolado de una clon celular anormal dentro de la médula ósea, que origina manifestaciones inespecíficas, como fiebre, pérdida de peso, astenia y adinamia, entre otras, lo que hace que los padres o cuidadores consulten a otras personas, como farmaceutas, sobanderos u otros. El pobre alivio de los síntomas y la adición de otras manifestaciones clínicas motivan a consultar al médico u otro personal de salud, que deben estar atentos para no confundir la condición maligna, pues esta simula otras patologías de la infancia. La solicitud inmediata de un hemograma ayuda a encontrar hallazgos anormales relacionados con leucocitos, hemoglobina, plaquetas y/o la presencia de blastos, los cuales son indicación prioritaria de confirmación diagnóstica de cáncer, en centro especializado[52].

Diagnóstico y diagnóstico diferencial

El diagnóstico de cáncer en un niño empieza con una historia clínica detallada/ completa y con un examen físico minucioso. Para un hematooncólogo pediatra, la sospecha de cáncer es muy alta; en cambio para un médico general no es esta la regla, debido a la heterogeneidad en las manifestaciones clínicas de la enfermedad, que provocan que se confunda con otras patologías (Tabla 1). Este comportamiento biológico diverso obliga a que haya que caracterizar los blastos leucémicos mediante diferentes técnicas (morfología, inmunología, citogenética/molecular), las cuales se profundizan en los siguientes tópicos.

Tabla 1. Diagnóstico diferencial de las leucemias agudas.

Enfermedades que simulan leucemia
Condiciones no malignas
· Artritis reumatoide juvenil
· Osteomielitis
· Linfocitosis infecciosa aguda
· Mononucleosis infecciosa
· Pertussis, parapertussis
· Púrpura trombopénica inmune
· Anemia aplásica
Condiciones malignas
· Neuroblastoma
· Retinoblastoma
· Rabdomiosarcoma
Presentaciones inusuales
· Síndrome hipereosinofílico

Fuente: adaptada de[20,21].

Como se había anotado, la historia clínica es el primer paso en el proceso del diagnóstico de cualquier tipo de cáncer y la queja del paciente dependerá del órgano comprometido por la neoplasia. El examen físico debe contener toda la información necesaria que ayude al clínico a su aproximación y diagnóstico.

Lo anterior, junto con las alteraciones en el extendido de sangre periférica (SP) y en el hemograma, son los primeros hallazgos y justifican la necesidad de un examen confirmatorio en médula ósea, el cual debe ser realizado en centros de cáncer pediátricos por personal calificado. (Figura 2).

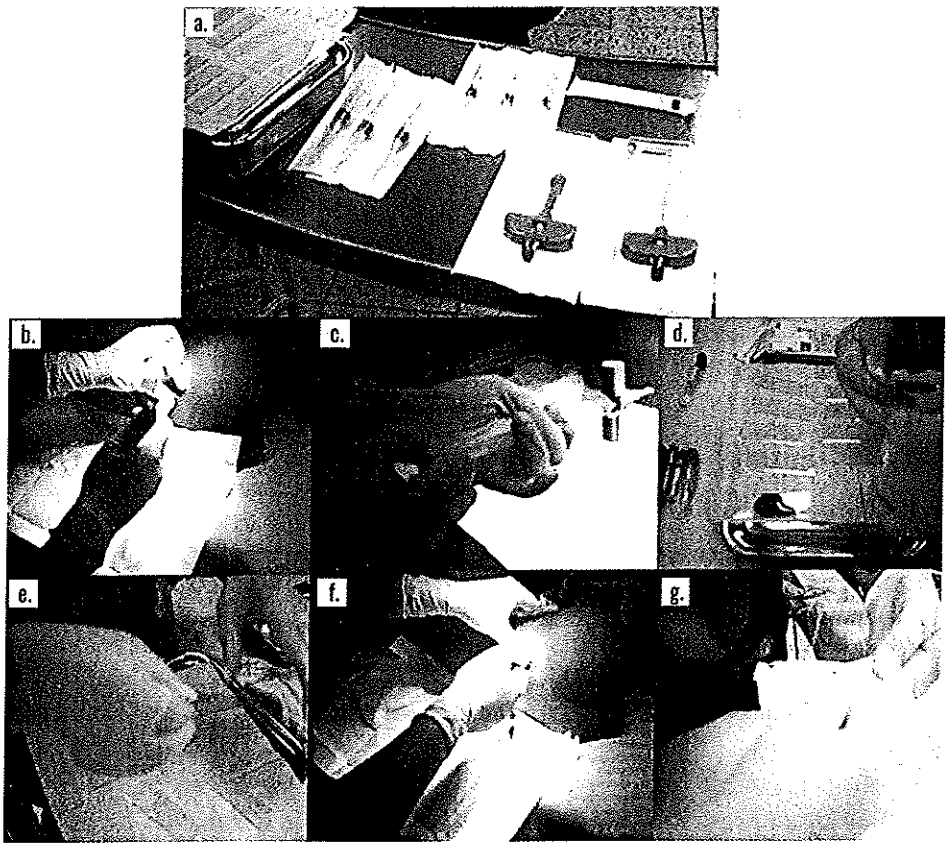
En la mayoría de los casos, en el hemograma se encuentra anemia, y en el 50 % trombopenia (las tres cuartas partes de estos pacientes tienen recuentos de plaquetas menores de 100.000/mm3 en el momento del diagnóstico); igualmente, el 50 % de ellos tienen conteos de leucocitos menores de 10.000/mm3, y el 20 % recuentos[20,21] de leucocitos superiores a 50.000/mm3.

El diagnóstico definitivo y la clasificación de la leucemia se basan en pruebas especializadas obtenidas de las muestras de la médula ósea: la médula leucémica está infiltrada por blastos y el espécimen medular es normalmente hipercelular mayor del 20 %[53] sin embargo, existen condiciones que pueden sugerir tomar la muestra sólo de la sangre periférica, por ejemplo aspiración difícil de médula ósea de-

bido a la densidad de los blastos causada por infarto óseo, necrosis o fibrosis; o estado clínico inestable que contraindica el procedimiento quirúrgico.

La evaluación del diagnóstico con el apoyo de laboratorios e imágenes permite identificar posibles complicaciones de la enfermedad en otros órganos o sistemas, por lo que es necesario solicitar[20,21]: hemoclasificación, fenotipo del Rh por microtécnica, tiempos de coagulación, electrolitos (Na, K, Cl, P, Mg, Ca), nitrógeno ureico, creatinina, uroanálisis, ácido úrico, lactato deshidrogenasa (LDH), transaminasas, bilirrubinas, proteínas, hormona estimulante del tiroides (TSH)/Tiroxina libre (T4L), perfil vírico (antígeno de superficie para hepatitis B, anticuerpos contra el antígeno de superficie para hepatitis B; anticuerpos para hepatitis C, virus de inmunodeficiencia humana -VIH-) y coprológico. Las imágenes que se incluyen dentro del estudio son: radiografía de tórax, ecografía de abdomen total y otras, justificadas con base en cada caso específico, o las que se requieran antes de iniciar la terapia, por ejemplo ecocardiograma. Se realizan otros estudios de extensión para clasificación pronóstica y de tratamiento, como el análisis citológico del líquido cefalorraquídeo obtenido a través de la punción lumbar, para confirmar la presencia de infiltración meníngea, aunque técnicas recientes como la citometría de flujo estabilizada con transfix han mejorado el diagnóstico (Figura3).

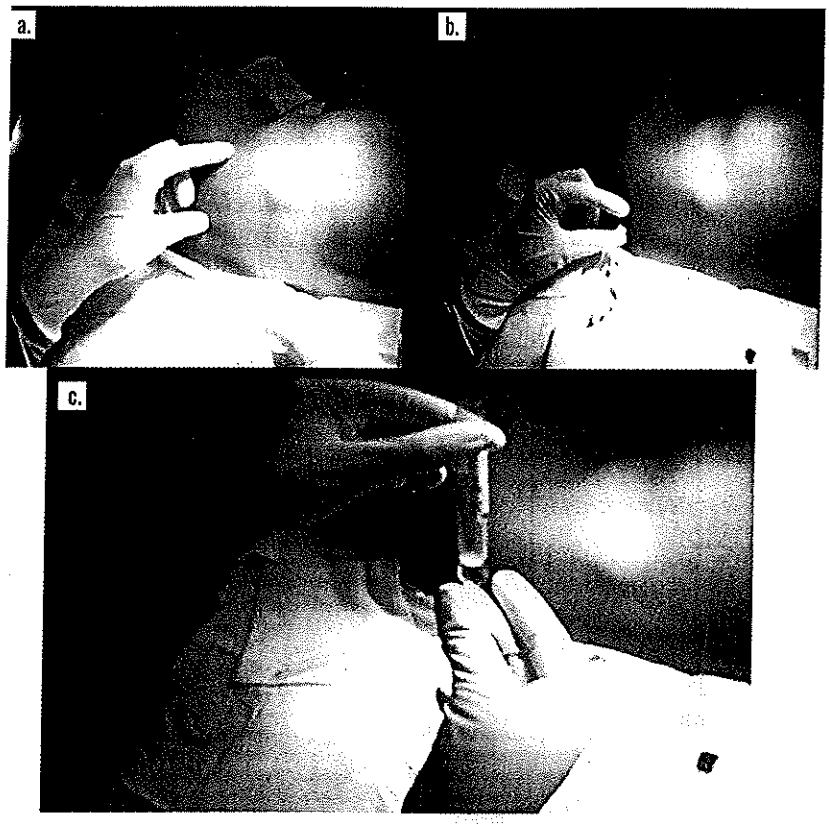
Figura 2. Aspirado y biopsia de médula ósea bajo anestesia general: estudios confirmatorios de leucemia.



a. Insumos requeridos para los procedimientos. b. Asepsia e infiltración en cresta ilíaca posterior derecha. c. Ubicación de la aguja de aspirado de médula ósea en cresta ilíaca posterior derecha y recolección de las muestras. d-e. Extendido del fluido medular en láminas para estudio de morfología/citoquímica; cariotipo (tubo con heparina); y molecular (tubo con ácido etilendiaminotetraacético EDTA y/o heparina). f-g. Biopsia de médula ósea en cresta ilíaca posterior derecha, obtención de fragmento óseo y extendido de improntas en láminas.

Fuente: archivo personal de autoras. Foto publicada con la autorización de los padres.

Figura 3. Punción lumbar bajo anestesia general para confirmación de infiltración al sistema nervioso central, a través de la evaluación del examen citológico del líquido cefalorraquídeo.



a. Ubicación del espacio anatómico para realizar la punción lumbar. b. Acomodación de la aguja en el espacio del canal espinal. c. Obtención de la muestra de líquido cefalorraquídeo para estudio citológico, el cual se debe procesar en forma inmediata por el riesgo de muerte celular.
Fuente: archivo personal de autoras; foto publicada con la autorización de los padres.

Diagnóstico morfológico de las leucemias agudas pediátricas

La clasificación inicial de las leucemias agudas se basó en la evaluación morfológica, citoquímica y, posteriormente, inmunofenotípica, de muestras derivadas de sangre periférica y médula ósea, desarrollada por un grupo de expertos franceses, estadounidenses ('americanos') y británicos, que la denominaron, por sus iniciales, 'clasificación FAB'[54]. A partir de entonces, clasificaciones como la MIC (Morfología, Inmunología, Citogenética), la REAL (Revisión Europeo-Americana de neoplasias linfoides), y la clasificación actual de las neoplasias hematolinfoides de la Organización Mundial de la Salud (OMS) han integrado hallazgos morfológicos, inmunofenotípicos, citogenéticos, moleculares y clínicos, con el fin de definir entidades biológicamente distintas y suministrar información útil para el diagnóstico, pronóstico, tratamiento y seguimiento[55,56]. En esta revisión se describirán las principales características morfológicas de las leucemias agudas, tanto linfoides como mieloides, de acuerdo con los criterios de la OMS y la clasificación FAB.

Diagnóstico morfológico de la leucemia linfoide aguda (LLA)

La OMS define la leucemia/linfoma linfoblástico (LLA) como una neoplasia de células precursoras (linfoblastos) de linaje B o T, compuesta por "blastos de tamaño pequeño a mediano, escaso citoplasma, cromatina moderadamente condensada a dispersa, núcleos redondos, irregulares o convolutos, y nucléolos poco evidentes comprometiendo MO y SP y ocasionalmente nódulos linfoides o sitios extranodales"; con esta definición, si el compromiso se hace extensivo a MO y SP y el porcentaje de blastos es generalmente mayor del 20-25 %, se aplica el término 'leucemia linfoblástica'[56].

La OMS clasifica las LLA-B en leucemia/linfoma linfoblástico B sin otra especificación (NOS), y leucemia/linfoma linfoblástico B con anormalidades genéticas recurrentes: t(9;22), t(v;11q23) MLL reordenado, t(12;21), hipodiploidía, hiperdiploidía y t(5;14); ninguna de ellas presenta hallazgos morfológicos o citoquímicos distintivos, excepto la t(5;14), en la cual se observa eosinofilia reactiva[56,57]. En la LLA-T, los linfoblastos son morfológicamente iguales a los de la LLA-B. La clasificación FAB dividió las células leucémicas (linfoblastos) de la LLA en tres grupos morfológicos distinguibles, L1, L2 y L3, tras su evaluación microscópica sobre tinciones Wright-Giemsa y teniendo en cuenta criterios morfológicos tales como tamaño de la célula, relación núcleo-citoplasma, irregularidades y tamaño del núcleo, presencia o no de nucléolos, grado de basofilia y vacuolización del citoplasma[58,59].

Subtipo FAB L1: blastos de tamaño pequeño a intermedio, escaso citoplasma, cromatina nuclear condensada y nucléolos ausentes o poco evidentes (Figura 5 A-B)[60].

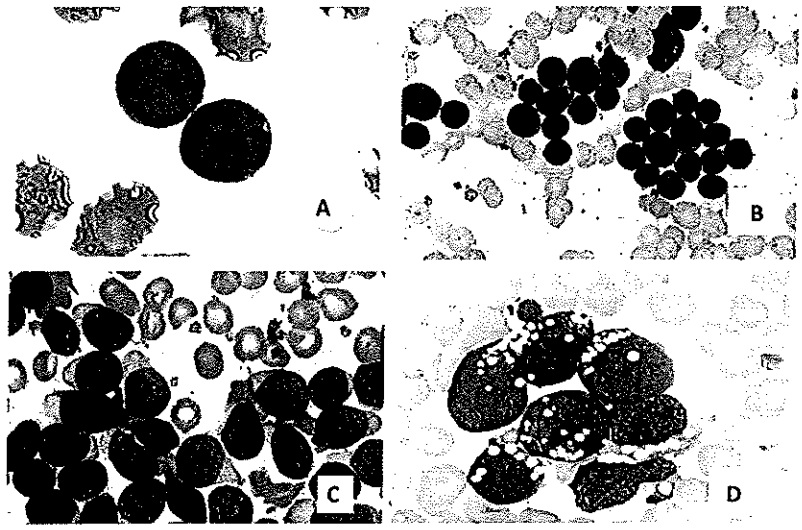
Subtipo FAB L2: blastos de tamaño intermedio-grande, moderada cantidad de citoplasma ligeramente basófilo, cromatina nuclear finamente dispersa y nucléolo(s) prominente(s) (Figura 5C)[60].

Subtipo FAB L3: blastos de tamaño grande, abundante citoplasma intensamente basófilo y vacuolado, cromatina nuclear gruesa, y presencia de nucléolos. La mayoría de células con esta morfología corresponden a células de linfoma de Burkitt (linfoma no Hodgkin de alto grado), aunque un subgrupo de leucemias de precursores linfoides con hipodiploidía presentan esta morfología[60] (Figura 5D). Es necesario analizar el reordenamiento genético del oncogén c-myc y el estudio inmunofenotípico para establecer si la célula corresponde a un precursor linfoide B o a una célula linfoide B madura.

Se han observado otras variantes morfológicas, principalmente con inclusiones tipo vacuolas, gránulos azurofílicos, proyecciones citoplásmicas tipo pseudópodos (células en espejo de mano) y asociadas a eosinofilia, esta última relacionada con la t(5;14). En algunos casos los linfoblastos de la LLA se pueden confundir con precursores linfoides B normales (hematogonias) ya que tienen características morfológicas e inmunofenotípicas similares; sin embargo, estos últimos presentan un mayor radio núcleo: citoplasma, cromatina homogéneamente condensada, no se observan nucléolos, y fenotípicamente no expresan marcadores aberrantes[56].

De acuerdo con la citoquímica, los linfoblastos son negativos para mieloperoxidasa (MPO), negro sudán B (NSB) y las esterasas específicas (EE) y no específicas (ENE), cloroacetato esterasa (CAE) y alfa naftil acetato esterasa (ANAE) respectivamente. La tinción PAS (ácido periódico de Schiff) suele ser positiva en el 75 % de los casos.

Figura 4. Clasificación FAB en LLA.



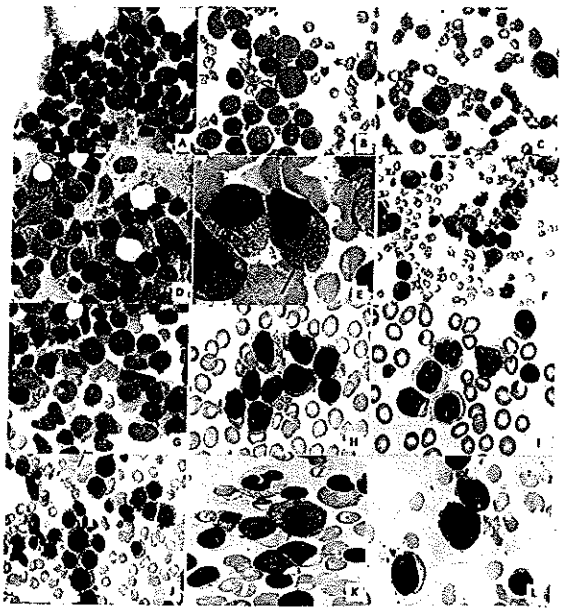
A. Linfoblastos subtipo FABL1 en sangre periférica; B. Linfoblastos subtipo FAB L1 en médula ósea; C. Linfoblastos subtipo FAB L2; D. Linfoblastos subtipo FAB L3.

Fuente: adaptado de ASH Image Bank-American Society of Hematology.

Diagnóstico morfológico de la leucemia mieloide aguda (LMA)

La leucemia mieloide aguda representa el 15-20 % de las leucemias agudas pediátricas y es considerada una enfermedad heterogénea desde el punto de vista morfológico, inmunofenotípico, citogenético y de comportamiento clínico. Su diagnóstico está basado en el estudio de las anteriores características sobre los blastos leucémicos tanto en SP como en MO[61]. Desde el punto de vista morfológico, el criterio definitivo para el diagnóstico y clasificación de una LMA es la presencia de un porcentaje igual o mayor (≥) del 20 % de mieloblastos en SP o MO, con excepción de las LMA con características genéticas recurrentes; en aquellas LMA con diferenciación monocítica, el promonocito es equivalente al blasto[56]. A continuación se describirán los principales hallazgos morfológicos descritos en la categoría 'LMA sin otra especificación, NOS', la cual continúa utilizando los criterios de clasificación FAB (Figura 5).

Figura 5. Clasificación FAB en LMA.



A. LMA con diferenciación mínima M0; B. LMA sin maduración M1; C. LMA con maduración M2; D. LPA M3 hipergranular; E. Célula *faggot*; F. LPA M3 microgranular; G. LMA mielomonocítica M4; H. LMA monoblástica M5a; I. LMA monocítica M5b; J. Leucemia eritroide pura; K. Eritroleucemia L. LMA megacarioblástica (M7).

Fuente: adaptada de ASH Image Bank - American Society of Hematology.

Leucemia mieloide aguda con diferenciación mínima (FAB M0)

Esta LMA está caracterizada, según la clasificación FAB, por una cantidad de blastos superior al 90 %, cuya naturaleza mieloide debe ser demostrada por marcadores inmunofenotípicos. Los blastos son de tamaño mediano, cromatina nuclear dispersa, núcleos redondos o ligeramente indentados, con uno o dos nucléolos, citoplasma agranular y un grado variable de basofilia. No se observan bastones de Auer. En algunas presentaciones los blastos pueden ser similares morfológicamente a los linfoblastos. Las tinciones MPO, NSB, CAE y ANAE son negativas (< 3 % blastos positivos)[56,62].

Leucemia mieloide aguda sin maduración (FAB M1)

Representada por un alto porcentaje de blastos, usualmente mayor del 90% en MO, sin evidencia de maduración hacia neutrófilos maduros (menor del 10 %). La naturaleza mieloide de los blastos es demostrada por la positividad para MPO, NSB, presencia de bastones de Auer e inmunofenotipo. Los mieloblastos pueden o no presentar granulación azurofílica, y presencia o no de bastones de Auer[56,63].

Leucemia mieloide aguda con maduración (FAB M2)

Caracterizada por la presencia de una proporción de blastos mayor del 20 % en MO y SP, y ≥ 10 % de células de línea granulocítica de neutrófilo; el componente monocítico es menor del 20 % de células en MO. Aquellos pacientes con t(8;21) muestran hallazgos morfológicos similares, con blastos de tamaño grande, citoplasma basófilo con numerosos gránulos azurofílicos y una zona perinuclear clara, y presencia de neutrófilos pseudo-Pelger-Hüet, entre otros cambios displásicos[56-64].

Leucemia promielocítica aguda (LPA) con t(15;17) (FAB M3)

En este tipo de LMA se describe la infiltración de promielocitos anormales. Existen dos tipos: la LPA hipergranular o típica, y la microgranular. En la LPA hipergranular los promielocitos presentan núcleos en forma arriñonada o bilobulada, citoplasma densamente ocupado por gránulos gruesos color rosa brillante o rojo, en la mayoría de casos se observan numerosos bastones de Auer intracitoplásmicos (células *faggot*). En SP se pueden encontrar ocasionales promielocitos leucémicos. En casos de LPA microgranular, la presencia de gránulos intracitoplásmicos es menos evidente (gránulos submicroscópicos), aunque se pueden observar promielocitos con gránulos visibles y bastones de Auer, y los núcleos son principalmente de forma bilobulada. A diferencia de la LPA típica, la LPA microgranular generalmente cursa con recuentos elevados de leucocitos y presencia de abundantes promielocitos de morfología

anormal en SP. La tinción MPO es fuertemente positiva en ambos tipos de LPA[56,63].

Leucemia mielomonocítica aguda (FAB M4)

Consiste en una proliferación de precursores tanto de línea granulocítica como monocítica, con un porcentaje de blastos superior al 20 %, que incluyen mieloblastos, monoblastos y promonocitos; los neutrófilos y monocitos y sus precursores comprenden más del 20 % de la celularidad en MO. Usualmente se observan en SP más de 5000 monocitos/μL. Al menos el 3% de los blastos presenta positividad para MPO, y los monoblastos, promonocitos y monocitos son positivos para las ENE[56,63].

Leucemia monoblástica y monocítica aguda (FAB M5a y M5b)

En este grupo de LMA, más del 80 % corresponde a un componente monocítico que incluye monoblastos, promonocitos y monocitos. Menos del 20 % puede incluir línea granulocítica neutrófilo. En la leucemia monoblástica aguda (LMA M5a), más del 80 % son monoblastos. En la leucemia monocítica aguda (LMA M5b), la mayoría son promonocitos. Los monoblastos son células grandes con abundante citoplasma de moderada a intensamente basófilo, presencia o no de gránulos finos dispersos y vacuolas, núcleos redondos con cromatina laxa y uno o más nucléolos prominentes. Los promonocitos tienen un núcleo irregular y delicadamente convoluto, citoplasma menos basófilo, algunas veces con gránulos azurofílicos y vacuolas. Se puede observar hemofagocitosis. La mayoría de los casos presentan positividad para ENE, los monoblastos son MPO negativos y los promonocitos son MPO débilmente positivos[56,63].

Leucemia eritroide aguda (M6)

Existen dos subtipos: la eritroleucemia y la leucemia eritroide pura. La eritroleucemia está definida por la presencia en MO de más del 50 % de precursores eritroides a partir del total de células nucleadas, y de más del 20 % de mieloblastos a partir de células no eritroides. Los precursores eritroides presentan cambios displásicos. Los mieloblastos pueden ser positivos para MPO, NSB y CAE. Así también el PAS puede ser positivo en los precursores eritroides. La leucemia eritroide pura se caracteriza por más del 80 % de células inmaduras de linaje eritroide (proeritroblastos), que son células de tamaño grande, núcleo redondo, cromatina fina, uno o más nucléolos, citoplasma intensamente basófilo, sin gránulos, y pequeñas vacuolas que suelen ser PAS positivo[56,63].

Leucemia megacarioblástica aguda (FAB M7)

Este tipo de leucemia se distingue por una cantidad de blastos superior al 20 %, de los que al menos el 50 % son de linaje megacariocítico. Los megacarioblastos son de tamaño mediano a grande, núcleos redondos, ligeramente irregulares o indentados con cromatina fina y uno a tres nucléolos, citoplasma basófilo, agranular y pueden presentar prolongaciones tipo pseudópodos. Se pueden observar en SP micromegacariocitos, plaquetas grandes displásicas y neutrófilos hipogranulares. Los megacarioblastos son negativos para MO, NSB y CAE[56,63].

Aplicaciones de la citometría de flujo para el estudio de las leucemias agudas

El análisis inmunofenotípico de las células hematopoyéticas normales y tumorales mediante citometría de flujo multiparamétrica (CMF) representa una herramienta fundamental en la clasificación y seguimiento de leucemias agudas en diferentes tipos de muestras, como la médula ósea, los ganglios linfáticos, los líquidos corporales, entre otros[65-68]. La CMF se caracteriza por ser una técnica de gran objetividad, sensibilidad, especificidad y rapidez, que permite analizar de forma simultánea diversas características celulares, lo que proporciona información de un gran número de parámetros de cada una de las células que se analizan, como tipo de célula, cantidad de células presentes, estadio madurativo, o fenotipos aberrantes[65-68].

Esta técnica se fundamenta en hacer pasar células u otras partículas en suspensión, alineadas, y de una en una, delante de un haz luminoso. La interacción de las células o partículas con el rayo luminoso genera señales que son captadas por detectores adecuados, en los que la información producida se puede agrupar en dos tipos fundamentales: la generada por la dispersión de la luz, que permite determinar el tamaño (representado por la dispersión de la luz en un ángulo cónico pequeño que coincide con la dirección de la luz incidente), por lo que es denominada FSC (*Forward Scatter*); y la complejidad (representada por la luz dispersada en ángulo recto), la cual es conocida como SSC (*Side Scatter*), relacionada con la emisión de luz por los anticuerpos específicos, conjugados con diversos fluorocromos unidos a sus antígenos o epítopes en las células. Por esta razón, el uso de diversos fluorocromos, cada uno

con distintas longitudes de onda de excitación y de emisión ('colores'), permite la evaluación de múltiples propiedades celulares de manera simultánea[68]. En la actualidad, los servicios de citometría aplican en la rutina clínica combinaciones de múltiples anticuerpos monoclonales conjugados con diversos tipos de fluorocromos, con combinaciones entre 6 y 8 fluorescencias distintas estandarizadas por grupos expertos, como las recomendadas recientemente por el consorcio europeo EuroFlow[66,69,70].

Dentro de las aplicaciones de la CMF en la rutina clínica se encuentran el diagnóstico, pronóstico, clasificación y monitorización de respuesta a tratamiento en pacientes con inmunodeficiencias primarias y adquiridas (pacientes VIH+), neoplasias hematológicas, pacientes posquimioterapia y postrasplante, y otras[68].. Un aspecto de relevancia en el control de calidad de los análisis por CMF es la formación académica del recurso humano. Por esta razón, en la actualidad el personal de salud (médicos especialistas, bacteriólogos especialistas, y bacteriólogos con formación de posgrado en esta área) debe contar en los servicios de citometría con las competencias necesarias para el análisis e interpretación de los resultados, la aplicación de los algoritmos diagnósticos recomendados por los consensos internacionales de CMF, las estrategias de procesamiento de las muestras, los tipos de paneles inmunofenotípicos empleados, entre otros. Todas estas variables en conjunto, si se aplican de forma adecuada por un grupo que cuente con el recurso humano apropiado, hacen que la CMF sea una de las mejores herramientas en el laboratorio clínico[71,72].

En la actualidad, para la evaluación de las leucemias agudas y otras neoplasias hematológicas, el consorcio europeo EuroFlow (consorcio científico internacional de citometría de flujo, formado en 2005 e iniciado con apoyo de la Unión Europea en abril de 2006 a través del proyecto LSHB-CT-2006-018708), ha realizado importantes avances que inciden en la realización de una CMF altamente sensible y estandarizada desde el punto de vista técnico (identificación de las clonas de anticuerpos adecuadas, titulación de anticuerpos conjugados, calibración y compensación de los citómetros de flujo, paneles inmunofenotípicos, algoritmos diagnósticos, otros). Estos avances han implicado el desarrollo de nuevas clonas de anticuerpos, introducción de nuevos ensayos de *inmunobeads* para la detección de alteraciones genéticas (proteínas de fusión) en leucemias agudas, aplicación de protocolos multicolor (al menos 8 fluorescencias), desarrollo de nuevos *software* de análisis de datos, creación de bases de datos de poblaciones celulares normales y tumorales para la clasificación inmunológica de la enfermedad, y mejora en términos de calidad y sensibilidad de los estudios de enfermedad mínima residual, variable con gran incidencia en la definición del pronóstico de la enfermedad (resultados comparables con técnicas moleculares)[66,69,70,73].

Dentro de las aplicaciones de la CMF en el estudio de las leucemias agudas se encuentran: identificación y cuantificación de blastos, clasificación inmunofenotípica de la enfermedad, identificación de línea, estadio madurativo y aberraciones fenotípicas, evaluación pronóstica, monitorización del tratamiento, cuantificación del ADN de células tumorales y detección de traslocaciones cromosómicas[67-69,73].

El algoritmo diagnóstico descrito por el consorcio europeo EuroFlow para el estudio de las leucemias agudas parte del marcaje inicial de un tubo de tamizaje o *screening*, denominado ALOT (*acute leukemia orientation tube*), el cual fue diseñado para la asignación del linaje celular implicado en las leucemias agudas (Tabla 2). Este tubo se vale de la combinación de anticuerpos en 8 fluorescencias distintas[66]:

Tabla 2. Tubo ALOT

Fluorocromo	Pacific Blue	Pacific Orange	FITC	PE	PercP-Cy5.5	PE-CY7	APC	APC-H7
Marcador	cyCD3	CD45	cyMPO	cyCD79a	CD34	CD19	CD7	smCD3

Cy: se refiere a marcaje de antígenos citoplasmáticos; sm: se refiere a marcaje de CD3 de superficie; FITC: isotiocianato de fluoresceína; PE: ficoeritrina; PerCP: peridinina clorofila proteína; PECY7: PE cianina (Cy)7; APC: aloficocianina; APC-H7, APC-Cy7.
Fuente: adaptada de[66].

Cuando se usa el tubo ALOT, el inmunofenotipo inicial de las células blásticas de leucemias agudas demuestra que el linaje de la leucemia es linfoide B ($CD34^+$, $CD45^{-/+débil}$, $cyCD79a^+$ y $CD19^+$), linfoide T ($CD34^{-/+}$, $CD45^{-/+débil}$, $CD7^+$, $cyCD3^+$ y $smCD3^{+-/}$) y mieloide ($CD34^{-/+}$, $CD45^{-/+débil}$ y $cyMPO^{-/+}$) [66].

Los marcadores incluidos en el tubo ALOT tienen la siguiente aplicación:

a) *CD45 (antígeno común leucocitario):* asociado al estado de maduración, es muy útil en la identificación de poblaciones celulares anormales y para la exclusión de células normales.

b) *CD34:* se expresa en células progenitoras/blastos y en un número significativo de leucemias agudas.

c) *CD19:* marcador muy sensible de línea B, expresado en todas las fases de maduración B y en las LLA-B. Se considera menos específico, pues está presente de forma aberrante en leucemias mieloides agudas (LMA).

d) *cyCD3:* marcador de alta especificidad para línea T; debe ser interpretado en combinación con smCD3 debido a que las LLA-T pueden ser además $smCD3^{-/lo}$.

e) *CD7:* presente en la mayoría de LLA-T y en subgrupos de LMA cyMPO-.

f) *cyMPO:* marcador de alta especificidad para línea mieloide.

g) *cyCD79a:* incluido para mejorar la asignación de línea B, a pesar de estar presente en LMA con t(8;21) y en LLA-T de fenotipo inmaduro[66,74,75] y LLA-T γδ.

CD22 fue excluido del tubo ALOT debido a que está presente en basófilos y en células dendríticas plasmocitoides[66,76,77].

Una vez asignado el linaje de la leucemia aguda, se procede a realizar el segundo paso del marcaje inmunofenotípico, que consiste en usar un panel de 4 tubos adicionales en combinaciones de 8 fluorescencias (en LLA-B y LLA-T) (Tablas 3 y 4, respectivamente) y de 7 tubos adicionales para las LMA (Tabla 5)[66].

Tabla 3. Panel inmunofenotípico para leucemia linfoide aguda B (LLA-B)

Fluorocromos	Pacific Blue	Pacific Orange	FITC	PE	PercP-Cy5.5	PE-CY7	APC	APC-H7
Tubo 1	CD20	CD45	CD58	CD66c	CD34	CD19	CD10	CD38
Tubo 2	smIgK	CD45	smIgu	CD33	CD34	CD19	sIgM y CD117	smIgL
Tubo 3	CD9	CD45	TdT	CD13	CD34	CD19	CD22	CD24
Tubo 4	CD21	CD45	CD15 y CD65	NG2	CD34	CD19	CD123	CD81

Cy: se refiere a marcaje de antígenos citoplasmáticos. pacB: Pacific Blue; pacO: Pacific Orange; FITC: isotiocianato de fluoresceína; PE: ficoeritrina; PerCP: peridinina clorofila proteína; PECY7: PE cianina (Cy)7; APC: aloficocianina; APCH7: APC-Cy7; smIgK: cadenas ligeras Kappa de superficie; smIgL: cadenas ligeras Lambda de superficie; smIgu: cadenas pesadas u (IgM) de superficie; TdT: desoxinucleotidil transferasa terminal.

Fuente: adaptada de[66].

Tabla 4. Panel inmunofenotípico para leucemia linfoide aguda T (LLA-T)

Fluorocromos	Pacific Blue	Pacific Orange	FITC	PE	PercP-Cy5.5	PE-CY7	APC	APC-H7
Tubo 1	cyCD3	CD45	TdT	CD99	CD5	CD10	CD1a	smCD3
Tubo 2	cyCD3	CD45	CD2	CD117	CD4	CD8	CD7	smCD3
Tubo 3	cyCD3	CD45	TCR γδ	TCR γδ	CD33	CD56	cyTCRβ	smCD3
Tubo 4	cyCD3	CD45	CD44	CD13	HLA-DR	CD45RA	CD123	smCD3

Cy: se refiere a marcaje de antígenos citoplasmáticos. pacB: Pacific Blue; pacO: Pacific Orange; FITC: isotiocianato de fluoresceína; PE: ficoeritrina; PerCP: peridinina clorofila proteína; PECY7: PE cianina (Cy)7; APC: aloficocianina; APC7: APC-Cy7.

Fuente: adaptada de[66].

Tabla 5. Panel inmunofenotípico para leucemia mieloide aguda.

Fluorocromos	Pacific Blue	Pacific Orange	FITC	PE	PerCP-Cy5.5	PE-CY7	APC	APC-H7
Tubo 1	HLA-DR	CD45	CD16	CD13	CD34	CD117	CD11b	CD10
Tubo 2	HLA-DR	CD45	CD35	CD64	CD34	CD117	CD300e (IREM2)	CD14
Tubo 3	HLA-DR	CD45	CD36	CD105	CD34	CD117	CD33	CD71
Tubo 4	HLA-DR	CD45	TdT	CD56	CD34	CD117	CD7	CD19
Tubo 5	HLA-DR	CD45	CD15	NG2	CD34	CD117	CD22	CD38
Tubo 6	HLA-DR	CD45	CD42a y CD61	CD203c	CD34	CD117	CD123	CD4
Tubo 7	HLA-DR	CD45	CD41	CD25	CD34	CD117	CD42b	CD9

Cy: se refiere a marcaje de antígenos citoplasmáticos; pacB: Pacific Blue; pacO: Pacific Orange; FITC: isotiocianato de fluoresceína; PE: ficoeritrina; PerCP: peridinina clorofila proteína; PECY7: PE cianina (Cy)7; APC: aloficocianina; APCH7: APC-Cy7.

Fuente: adaptada de[66].

Cada uno de estos paneles incluye marcadores denominados *backbone*, que permiten la identificación de la población problema y están presentes en todos los tubos de ampliación (LLA-B: CD34, CD19 y CD45; LLA-T: CD45, cyCD3 y smCD3, y en las LMA: HLA-DR, CD45, CD34 y CD117); los demás marcadores incluidos son de caracterización, que son de utilidad para la identificación de poblaciones celulares normales y malignas, con alta sensibilidad y especificidad, la identificación de fenotipos aberrantes asociados a leucemia (FAL) y la detección de fenotipos aberrantes asociados a alteraciones genéticas y moleculares[66,73]. La identificación de los FAL por CMF en el momento del diagnóstico representa una herramienta de alta sensibilidad y especificidad para incluir la evaluación de estos fenotipos en los estudios de enfermedad mínima residual (EMR) posterior a quimioterapia (que deben ser aplicados en el 100 % de los casos), ya que representa uno de los factores pronósticos más importantes en niños con LLA para predecir respuesta al tratamiento y riesgo de recaída, y para las evaluaciones pre- y postrasplante para los pacientes con LLA de alto riesgo que lo requieran[69,78].

En la Tabla 6 se describen los inmunofenotipos aberrantes asociados a LA como consecuencia de las anomalías genéticas presentes en las células tumorales.

Tabla 6. Fenotipos aberrantes asociados a LA identificados por CMF.

Alteración genética	Tipo de leucemia	Inmunofenotipo	Pronóstico
t(12;21) (p13;q22) con TEL-AML1	LLA-B común, LLA-B pre-B y raramente Pro-B	CD45débil, CD19+, CD34+, CD22débil/+, CD20-, CD24+, TdT+, CD10+, cyIgM-, CD15-, CD66c-, CD13+, CD33+, NG2-, CD9-.	Favorable
t(9;22) (q34;q11) con BCR-ABL Cr Philadelphia	LLA-B	CD45-/débil, CD19+, CD34+/-, CD22débil/+, CD20débil/+, CD24+, TdT+, CD10++, cyIgM-, CD15-, CD66c+, CD13+, CD33+, NG2-, CD25+, CD9+, CD38débil.	Desfavorable
t(1;19) (q23;p13) con E2A-PBX1	LLA-B pre-B	CD45débil, CD19+, CD34-, CD22débil/+, CD20débil/+, CD24+, TdT+, CD10débil/-, cyIgM+, CD15-, CD66c-, CD13-, CD33-, NG2-, CD9+.	Favorable
t(4;11) (q21;q23) con MLL-4F4	LLA-B pro-B	CD45débil, CD19+, CD34+, CD22débil/-, CD20-, CD24-, TdT+, CD10/-, cyIgM-, CD15débil, CD66c-, CD13-, CD33-, NG2+, CD9+.	Desfavorable
Hiperdiploidía de ADN con ganancias en cromosomas X, 4, 6, 10, 14, 17, 18 y 21.	LLA-B	CD45-, CD19+, CD34+, CD22+, CD20+/débil, CD24+, TdT+, CD10++, cyIgM-, CD15-, CD66c+, CD13-, CD33-, NG2-, CD9+.	Favorable

Tabla 6. Fenotipos aberrantes asociados a LA identificados por CMF.

Alteración genética	Tipo de leucemia	Inmunofenotipo	Pronóstico
t(15;17) (q22;q12) con PML-RARA	Leucemia promielocítica aguda	CD45+, CD34-, CD117+, CD13+, CD33++, CD15-/débil, CD64+, MPO++, CD14-, CD11b-, HLA-DR-, CD19-, TdT-, CD56+/-, CD2+/-, CD7-.	Favorable
11q23	Leucemia mielomonocítica, monoblástica	CD45+, CD34-/+, CD117-/+, CD13-, CD33+, CD15+/-, CD14+/-, CD4+, MPO-, CD11b+, HLA-DR+, CD19-/+, TdT-, CD2-, CD7-, NG2+.	Intermedio o desfavorable
t(8;21) (q22;q22) con AML1-ETO	LMA con maduración	CD45+, CD34++, CD117+, CD13++, CD33-/débil, CD15++, CD14-, MPO++, CD11b-, HLA-DR+, CD19débil, TdT+, CD2-, CD7-, CD56+/-.	Favorable
Inv. 16 CBFβ/SMMHC	Leucemia mielomonocítica	CD45+, CD34+, CD117+, CD13+, CD33+, CD15+, CD14+, MPO+, CD4+, CD11b+, HLA-DR+, CD19-, TdT-, CD2-/+, CD7.	Favorable

Fuente: adaptada de[79].

Fenotípicamente, la LLA-B se puede clasificar en cuatro subtipos principales: a) LLA BI o pro B con presencia de CD19 y/o CD22 y/o CyCD79a, en ausencia de CD10, CyIgμ o sIg; b) LLA BII o común, con expresión de CD10 y de los marcadores asociados a linaje B CD19, CD22 y CyCD79a, en ausencia de cyIgμ y sIg; 3) LLA BIII o pre B, con expresión de IgM en citoplasma (CyIgμ) sin expresión de IgM en superficie (sIg) y expresión variable de los marcadores CD10, nTdT y CD20 y; d) LLA BIV o madura, con presencia de marcadores característicos de linaje B, que incluyen además CD20 y CD22, sIg y negatividad[79] de nTdT y CD34 [79].

Como ejemplo de algunos FAL se encuentran los marcadores mieloides CD13, CD33, CD66c y CD15, los cuales son de distinta frecuencia[80] en LLA-B; NG2 (7.1): proteoglicano condroitín sulfato que se correlaciona con translocaciones en el gen MLL (81); CD9: tetraspanina, cuya baja expresión se asocia con reducción de adhesión de las células leucémicas a la matriz extracelular, progresión y metástasis, y con LLA-B *TEL/AML-1*+ t(12;21)+. Además, la presencia de CD9 se ha reportado en células *stem* leucémicas con alta capacidad de autorrenovación, potencial tumorigénico y recaída[82,83]. Otro marcador de gran relevancia es CD66c, antígeno mieloide aberrante reportado en casos BCR-ABL+/CRLF2+ y en otros con hiperdiploidía de ADN, correlacionada con ausencia de ETV6-RUNX1 y MLL-AF4 [84].

En las LMA, los blastos mieloides en general son CD34+, CD38+, HLA-DR+, CD117+ y CD33-/+, los marcadores asociados a linaje mieloide son: CD13, CD33, CD15, CD66c, CD16 y MPO, marcadores de linaje monocítico: CD64+, CD14, CD300e (IREM), CD36, lisozima y CD4, marcadores de linaje megacariocítico: CD36, CD41 (glicoproteína IIb/IIIa), CD42 (glicoproteína Ib), CD61 (glicoproteína IIIa); linaje eritroide: CD36, CD105, CD71, CD235 (glicoforina A) (85), basófilo, mastocito y célula dendrítica linfoplasmocitoide (CD123, CD117, CD203, CD22) [76,77].

Las LLA-T se subclasifican en 4 subgrupos principales, de acuerdo con los diferentes estadios de maduración de la célula T en el timo; estos incluyen la LLA-T Pro-T (cyCD3+, CD7+, CD34+), LLA-T Pre-T (CD2+, cyCD3+, CD5-/+, CD7+, CD34-/+), LLA-T cortical (CD1a+, CD2+, cyCD3+, SCD3+, CD4-/+, CD5-/+, CD7+ y CD8-/+) y la LLA-T medular (CD2+, cyCD3+, SCD3+, CD4+ ó CD8+, CD5+, CD7+) [60].

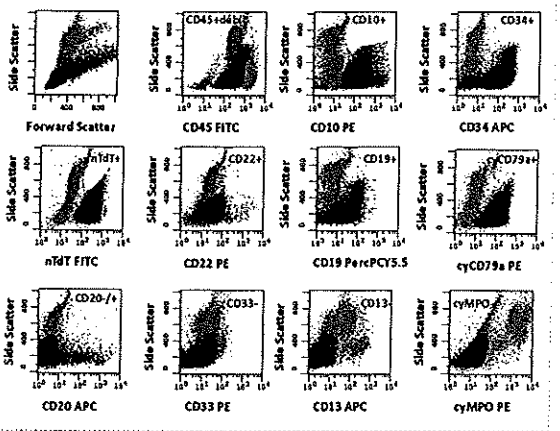
En pacientes pediátricos colombianos con LLA-B de fenotipo común se reportó que dentro de los FAL más frecuentes se encontraba la infraexpresión de CD34, TdT, CD10, CD38 y CD45 con sobreexpresión de CD19 y CD79a; y en las LLA-B pre-B, la infraexpresión de CD19, CD20, CD38, CD45 e IgM y sobreexpresión de CD10. En general, estos subtipos de LLA-B expresaron de forma aberrante los marcadores CD20 (marcador asociado a asincronismo madurativo), CD15, CD7, CD13 y CD33 (marcadores asociados a infidelidad de línea)[78]. Asimismo, el análisis del inmunofenotipo en estos pacientes mostró que la presencia de t(12,21) (p13;q22) con TEL-AML1 y t(9;22) (q34;q11) con BCR-ABL se asociaba de manera significativa con fenotipos aberrantes que incluyen asincronismos madurativos, infidelidad de linaje, y sobreexpresión e infraexpresión antigénica[78] con patrones alterados de tamaño (FSC) y granularidad (SSC). Así, los blastos con t(12;21) (p13;q22) mostraron sobreexpresión de CD20, CD13 y CD33, junto con infraexpresión de CD34, CD38, CD45 y TdT; de forma similar, los casos con t(9;22) (q34;q11)

sobreexpresaron CD19, cyCD79a, CD13 y CD33, en conjunto con disminución significativa del marcador CD38. De forma particular, el 100 % de las leucemias pre-B fueron CD20+ (marcador asociado a asincronismo madurativo); el 86 % fueron CD34+ (marcador presente en células preb normales) y el 28% CD7+ (marcador T asociado a infidelidad de línea)[78]. Por otra parte, los casos con hiperdiploidía de ADN se caracterizaron por una expresión más elevada de CD10 y TdT, junto a un mayor tamaño de los blastos (FSC) y tendencia a una menor expresión[78] de CD45 y CD38.

En las figuras 6 a 8 se muestran ejemplos casos de pacientes con LA analizados por CMF.

Podemos concluir que la CMF es de gran utilidad en la clasificación y seguimiento de las leucemias agudas y la identificación de las aberraciones fenotípicas (fenotipos FAL) y genéticas en los blastos leucémicos; además, constituye una herramienta muy importante para la evaluación y seguimiento de enfermedad mínima residual posterior a quimioterapia; por tanto, es un parámetro de gran relevancia en el pronóstico de la enfermedad y en estudios de seguimiento postrasplante[78,86].

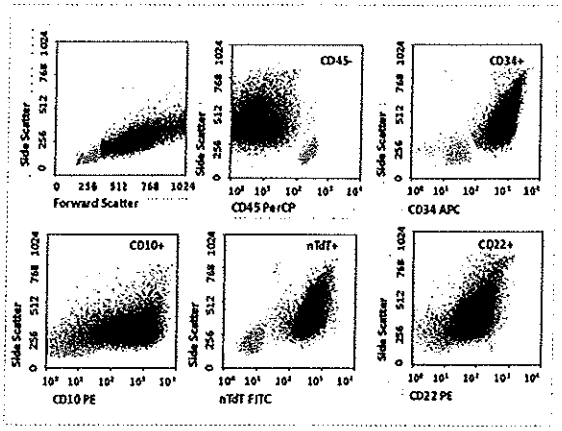
Figura 6. Representación del análisis por CMF de una muestra de médula ósea de un paciente con diagnóstico de LLA-B común.



En esta muestra se detectan blastos leucémicos (eventos de color negro), con valores intermedios para los parámetros de dispersión de la luz *Side Scatter* -SSC- y *Forward Scatter* -FSC-, positividad débil para el antígeno común leucocitario CD45, presencia de los marcadores asociados a células progenitoras inmaduras (CD34, CD10 y nTdT), presencia de marcadores de linaje B (CD19, CD22, cyCD79a), positividad parcial de CD20 (asincronismo madurativo) y ausencia de los marcadores asociados a linaje mieloide (CD13, CD33 y MPO).

Fuente: archivo de citometría-docencia (Dra. Sandra Milena Quijano Gómez).

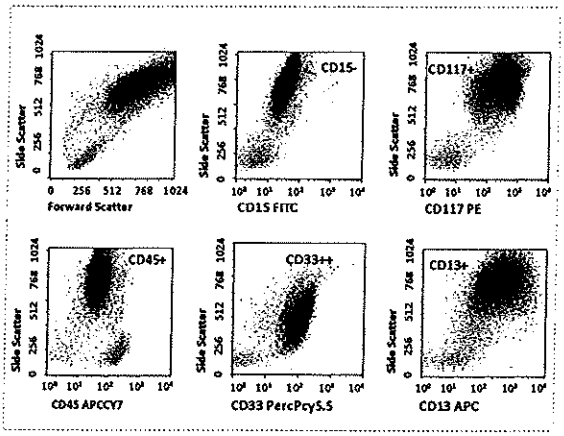
Figura 7. Representación del análisis por CMF de una muestra de médula ósea de un paciente con diagnóstico de leucemia bifenotípica B y mieloide.



En esta muestra se detectan blastos leucémicos (eventos de color negro), con valores altos para los parámetros de dispersión de la luz *Side Scatter* -SSC- y *Forward Scatter* -FSC- (células grandes y complejas), con pérdida de expresión de CD45, presencia de los marcadores asociados a células progenitoras inmaduras linfoides (CD34, CD10 y nTdT), presencia de marcadores de linaje B (CD19, CD22, cyCD79a y CD20), presencia de MPO y ausencia del marcador específico de linaje T (cyCD3) y del marcador mieloide (CD13). Este tipo de leucemia es raro, con una incidencia aproximada de 5 %, y es más frecuente en el sexo masculino y en adultos. El análisis inmunofenotípico se fundamenta en la expresión de dos marcadores de linaje específico, es decir, expresión citoplasmática de mieloperoxidasa para linaje mieloide y CD79a y CD22 para linaje B [87].

Fuente: archivo de citometría-docencia (Dra. Sandra Milena Quijano Gómez).

Figura 8. Representación del análisis por CMF de una muestra de médula ósea de un paciente con diagnóstico de leucemia promielocítica aguda.



En esta muestra se detectan promielocitos (eventos de color negro), con valores altos para los parámetros de dispersión de la luz *Side Scatter* -SSC- y *Forward Scatter* -FSC- (células grandes y complejas), con presencia de CD45 y con un inmunofenotipo típico de esta enfermedad: pérdida de expresión de CD15, presencia de CD117 y CD13 y sobreexpresión[79] de CD33 (79).

Fuente: archivo de citometría-docencia (Dra. Sandra Milena Quijano Gómez).

Genética de las leucemias agudas

Genética en cáncer

El rol que ha tenido la genética en los estudios sobre cáncer ha sido exponencial en los últimos 25 años, y los avances tecnológicos en biología molecular y en citogenética han sido invaluables para entender la patogénesis del cáncer en el ser humano. Actualmente las aplicaciones de la genética en cáncer son múltiples, entre ellas: establecer la presencia de clones malignos, servir de base al diagnóstico, indicar el pronóstico, distinguir una recaída de una aparición de un segundo proceso maligno, y ayudar a la determinación y seguimiento del tratamiento[88]. El objetivo de esta sección es revisar los conceptos básicos para comprender la aplicación de la genética en el abordaje clínico de los pacientes pediátricos con cáncer y su utilidad en las leucemias agudas.

Nomenclatura del cariotipo

De los 46 cromosomas de una célula somática humana normal, 44 son autosómicos y dos sexuales. Los cromosomas autosómicos son designados en pares del 1 al 22. De este modo, el cariotipo organiza los cromosomas según: el orden descendente del *tamaño* de los pares de cromosomas; la *posición del centrómero* (metacéntricos, submetacéntricos y acrocéntricos)[89]; y los patrones de bandeo que surgen tras el uso de distintos métodos de tinción, tales como el *bandeo* G (Giemsa) o el bandeo R (reverso).

Tanto las bandas como las regiones -que son un conjunto de bandas definidas entre dos puntos adyacentes del cromosoma- son numeradas consecutivamente a partir del centrómero hacia el telómero[90], por ejemplo: 22q11.2 significa: Cromosoma 22, brazo largo del cromosoma (q), región 1, banda 1, sub-banda 2. El reporte o no de subbandas dependerá de la resolución del cariotipo, que por lo general debe tener de 550 a 850 bandas en células detenidas en profase o prometafase, resolución que permite evaluar con mayor profundidad la estructura y, por ende, identificar posibles rearreglos[91].

La nomenclatura en citogenética está basada en una serie de consensos logrados en múltiples conferencias internacionales. El consenso más reciente es ISCN 2013 (por las siglas en inglés de Sistema Internacional de Nomenclatura para Citogenética Humana)[92]. Según este sistema, el primer ítem que debe ser reportado en un cariotipo es el número total de cromosomas, seguido por una coma, y luego la constitución de los cromosomas sexuales; en mujeres el cariotipo normal es 46,XX y en hombres 46,XY.

Posteriormente se anota el símbolo (de una o tres letras) que indica el tipo de rearreglo, e inmediatamente después el número del(de los) cromosoma(s) involucrado(s) en el rearreglo, escritos entre paréntesis. Si está comprometido más de un cromosoma, se separan entre sí con un punto y coma (;). Inmediatamente después, en un nuevo paréntesis, se mencionan los puntos de ruptura siguiendo el mismo orden de los cromosomas involucrados en el rearreglo, separados entre sí por punto y coma. Por ejemplo: t(10;12)(q24;p13)

Siguiendo las definiciones listadas en ISCN 2013, los términos y abreviaciones más comúnmente utilizados en citogenética del cáncer son los siguientes:

Anormalidades estructurales

- *Translocación (t):* desplazamiento de un segmento de un cromosoma hacia otro lugar del genoma. Las translocaciones pueden ser: *recíprocas*, cuando hay intercambio de segmentos entre cromosomas no homólogos; *robertsonianas*, que consisten en la rotura del extremo distal de los brazos cortos de dos cromosomas acrocéntricos no homólogos, y la posterior fusión céntrica de los brazos largos para formar un único cromosoma metacéntrico, lo que resulta en la disminución del número haploide. Así, por ejemplo, 46,XX, t(9;22)(q34;q11) describe un cariotipo femenino que contiene una translocación entre el cromosoma 9 y el 22, cuyos puntos de corte[88] están en la banda q34 del cromosoma 9 y en la banda q11 del cromosoma 22.
- *Inserción (ins):* anormalidad estructural en la que un segmento de un cromosoma es reposicionado intersticialmente en un área diferente del cariotipo, bien sea en el mismo cromosoma o en otro.
- *Inversión (inv):* consiste en la rotación de 180° de un segmento cromosómico. Puede ser *paracéntrica* cuando involucra únicamente un brazo del cromosoma, o *pericéntrica* cuando incluye al centrómero e involucra ambos brazos del cromosoma[90].
- *Deleción (del):* significa pérdida del material genético, que puede ser terminal o intersticial. De este modo, del(1)(q23) indica la deleción terminal en la banda q23, con pérdida del segmento distal del brazo largo del cromosoma 1. Mientras que del(1)(q21q31) indica la pérdida de un segmento intersticial comprendido entre las bandas q21 y q31.

- *Duplicación (dup):* presencia de una copia extra de una parte del cromosoma.
- *Isocromosoma (i):* cromosoma anormal en el cual uno de los brazos está duplicado y el otro brazo se pierde; es decir, es la imagen en espejo de un mismo brazo cromosómico, como consecuencia de un fallo en la división del centrómero (ruptura transversa).
- *Cromosoma en anillo (r):* consiste en la formación de un anillo, por la ruptura en el brazo corto y largo del mismo cromosoma con la fusión subsecuente.
- *Cromosoma marcador (mar):* designa estructuras cromosómicas supernumerarias anormales en las que ninguna parte es identificable.
- *Cromosoma derivado (der):* cromosoma generado por eventos de rearreglo entre 2 o más cromosomas o el resultado de múltiples eventos en un mismo cromosoma. Este término siempre se refiere a cromosomas con un centrómero intacto.

Nomenclatura de células tumorales

- Clon: son células derivadas de un único progenitor, por lo que comparten la(s) misma(s) anormalidad(es) en al menos 3 mitosis. Durante la progresión tumoral, pueden evolucionar subclones relacionados; los clones relacionados o no relacionados son separados por una barra diagonal (/) y el número de células observadas para cada uno se escribe entre paréntesis cuadrados '[ ]'.
- *Línea principal (ml):* (en inglés, *mainline*). se refiere al clon más común, el más representativo dentro de la población celular.
- *Línea madre (sl):* (en inglés, *stemline*). Clon más básico de la población clonal.
- *Subclones (sdl):* clonas celulares que surgen a partir de la línea madre.

Diagnóstico molecular del cáncer: leucemias agudas

El diagnóstico molecular de las leucemias permite confirmar el diagnóstico, establecer el pronóstico y seleccionar el tratamiento más adecuado. En la práctica, las muestras de sangre periférica y de médula ósea son enviadas al laboratorio con un diagnóstico provisional basado en los hallazgos clínicos, morfológicos y de inmunofenotipo. Las técnicas empleadas para determinar anormalidades genéticas dependen de múltiples factores, como el subtipo de leucemia, la urgencia clínica, el tipo y volumen de la muestra, la relevancia de los marcadores genéticos y, por supuesto, la tecnología disponible en el laboratorio.

Cariotipo

El análisis citogenético en pacientes recién diagnosticados consiste en el cultivo de células mitóticamente activas, preferiblemente obtenidas de muestras de médula ósea. Posteriormente las células son detenidas en metafase y teñidas, para evaluar la estructura y número de los cromosomas. Este análisis es útil para detectar aneuploidías y anormalidades estructurales tales como translocaciones e inversiones, que son frecuentes en LMA, LLA y LMC. La desventaja es su baja sensibilidad (5-10 %), puesto que depende del número de células analizadas y disponibilidad de células en división en la muestra referida[93].

Sin embargo, el análisis citogenético es una de las pruebas más robustas en hematooncología, ya que permite confirmar el diagnóstico al identificar rearreglos patognomónicos como: (t(9;22)(q34;q11) en LMC; t(15;17)(q24;21) PML-RARA en la leucemia promielocítica aguda, entre otros[53].

Hibridación fluorescente in situ (FISH)

Consiste en el uso de sondas de DNA o RNA marcadas con fluorescencia, que hibridan con secuencias cromosómicas de interés, que pueden ser posteriormente visualizadas en un microscopio de fluorescencia. La FISH permite identificar rearreglos numéricos y estructurales, así como translocaciones balanceadas y microdeleciones, según el diseño de la prueba y de las sondas[94]. La mayor ventaja que ofrece la FISH es que no requiere de células en proceso de división, por lo que el estudio se puede realizar en células en interfase de muestras de médula ósea o en sangre periférica; además, el tiempo de análisis citogenético es más rápido. Esta técnica tiene una mayor sensibilidad y resolución (100 Kb, dependiendo de la sonda) que el cariotipo convencional.

La FISH tiene gran utilidad en el diagnóstico de leucemia con anormalidades citogenéticas crípticas, por ejemplo t(12;21)(p13;q22) que resulta en la fusión génica entre ETV6-RUNX1, y es la traslocación pediátrica más frecuente en LLA linaje B [95]. Adicionalmente, la FISH de interfase es comúnmente utilizada en leucemia linfoide crónica (LLC), puesto que permite identificar cerca del 80 % de anormalidades genómicas tras la utilización de un panel de sondas específicas[96].

Hibridación genómica comparativa (CGH)

Este estudio permite comparar la muestra del paciente contra muestras de controles sanos, con el fin

de identificar variaciones en el número de copias en todo el genoma. La resolución y la sensibilidad dependen de la longitud, distribución y densidad de las sondas empleadas. La CGH puede detectar pequeñas deleciones o duplicaciones[97] hasta de 50 Kb; sin embargo, no puede identificar rearreglos balanceados, comunes en las leucemias.

Reacción en cadena de polimerasa (PCR)

Consiste en la amplificación exponencial de una secuencia de nucleótidos. Es utilizada para identificar mutaciones génicas, fusiones génicas como RUNX1-RUNX1T1, y monitoreo de enfermedad residual mínima en casos de leucemia con translocaciones recíprocas, como CBFB-MYH11. La PCR tiene una alta sensibilidad[98]; sin embargo, las mutaciones encontradas con estas técnicas siempre deben ser confirmadas con el método Sanger de secuenciación tradicional .

Secuenciación de siguiente generación (NGS) o secuenciación paralela masiva

La secuenciación es el método molecular por excelencia para caracterizar la secuencia de nucleótidos. Sin embargo, la secuenciación de Sanger ha tenido un uso limitado en leucemia por su baja sensibilidad para identificar mutaciones, cuando la fracción de alelos mutados es menor del 10-20 %.

La prueba NGS es útil para identificar marcadores pronósticos en neoplasias mieloides y en leucemias agudas, tales como: JAK2, MPL, KIT para neoplasias mieloproliferativas; NPM1, CEBPA, FLT3, RUNX1, KIT, WT1 y MLL en LMA [99].

La NGS es una nueva tecnología que permite secuenciar miles de genes en un único test y simultáneamente detectar deleciones, inserciones, sustituciones de bases nucleotídicas y translocaciones, que incluyen rearreglos balanceados. Su mayor uso clínico en leucemias ha sido la identificación, en LMA, de mutaciones en varios genes a la vez, como NPM1, NRAS, IDH1, entre otros.

Alteraciones más frecuentes en el cáncer: leucemias agudas

Mutaciones en leucemia mieloide aguda

En 2008, la Organización Mundial de la Salud (WHO) clasificó las leucemias en 7 grupos según las translocaciones recurrentes[92]. En primer lugar, RUNX1/RUNX1T1 que corresponde a [t(8;21) (q22;q22)]; CBFB/MYH11 derivado de [inv(16) (p13q22)] o [t(16;16) (p13;q22)]; PML/RARA a partir de [t(15;17) (q22;q12) PML/RARA]; MLLT3/MLL [t(9;11) (p22;q23)]; DEK/NUP214 que corresponde a [t(6;9) (p23q34)]; RPN1/EVI1 derivado de [inv(3) (q21q26.2)] o [t(3;3)(q21q26.2)]; RBM15/MKL1 que corresponde a t(1;22) (p13;q13); y dos grupos provisionales para las mutaciones génicas de NPM1 y CEBPA. Estas 9 entidades diagnósticas corresponden a cerca de 2/3 de todos los casos de LMA, mientras que los subtipos adicionales de LMA, en los que los factores genéticos desempeñan un rol principal, incluyen los síndromes mielodisplásicos y las neoplasias mieloides relacionadas con la terapia. Estas dos últimas entidades se caracterizan por presentar cariotipos complejos en los cuales coexisten 3 o más alteraciones citogenéticas clonales[100].

Los eventos de fusión favorables PML-RARA, RUNX1-RUNX1T1 y CBFB-MYH1 definen entidades pronósticas y biológicas distintivas. El pronóstico de las leucemias CBF (CBFB-MYH11 y RUNX1-RUNX1T1) es influenciado negativamente por mutaciones en KIT. Los rearreglos en el gen MLL localizado en 11q23 también confieren un mal pronóstico, exceptuando a MLL-MLLT3 que es derivado de [t(9;11)(p22;q23)], el cual tiene un curso intermedio. Adicionalmente, algunos rearreglos, como DEK – NUP214 [t(6;9)(p23;q34)], también son considerados como desfavorables[101].

La mutación en el gen de la nucleofosfamina (NPM1) es frecuente en LMA (entre 50 y 55 %), está asociado con cariotipos normales y es un indicador de buen pronóstico en casos aislados. Sin embargo, en caso de contener la duplicación FLT3-ITD o duplicaciones en tándem parciales de MLL-PTD, el impacto negativo de estas mutaciones se sobrepone al efecto de NPM1. Por el contrario, la ocurrencia de mutaciones bialélicas en CEBPA son favorables en cariotipos normales[102].

Mutaciones en leucemia linfoide aguda

Las anormalidades genéticas presentes en LLA incluyen translocaciones cromosómicas que desregulan la expresión génica o crean fusiones génicas, alteración en el número de copias (especialmente hiperdiploidía) y mutaciones en genes específicos[103]. La hiperdiploidía (más de 50 cromosomas en célula leucémica) se encuentra en alrededor del 25 % de los niños con LLA-B. Esta anormalidad numérica se encuentra relacionada con un pronóstico favorable, especialmente cuando coexiste con copias extra de los cromosomas 4, 10 o 17.

La fusión TEL/AML1 (ETV6/RUNX1) representa del 20 al 25 % de los casos y también se asocia con un buen pronóstico. La t(12;21) se ha relacionado con un buen pronóstico pues es altamente sensible a la quimioterapia.

Mutaciones en el gen MLL se presentan en alrededor del 80 % de los niños con LLA, y sólo en 2 % de niños mayores de 1 año de vida. Los rearreglos MLL/AF4 derivado de [t(4;11)]; MLL/MLLT1(ENL) derivado de [t(11;19)]; y MLL/MLLT3 derivado de [t(9;11)] se han asociado con un pronóstico desfavorable porque afectan la expresión del gen HOX durante la embriogénesis[104]. La translocación t(9;22) resulta en la fusión ABL/BCR, cuyo efecto patogénico radica en la sobreexpresión del gen ABL (el cual es una tirosinquinasa), que aumenta la proliferación y disminuye la apoptosis. La presencia de esta fusión usualmente se relaciona con un mal pronóstico.

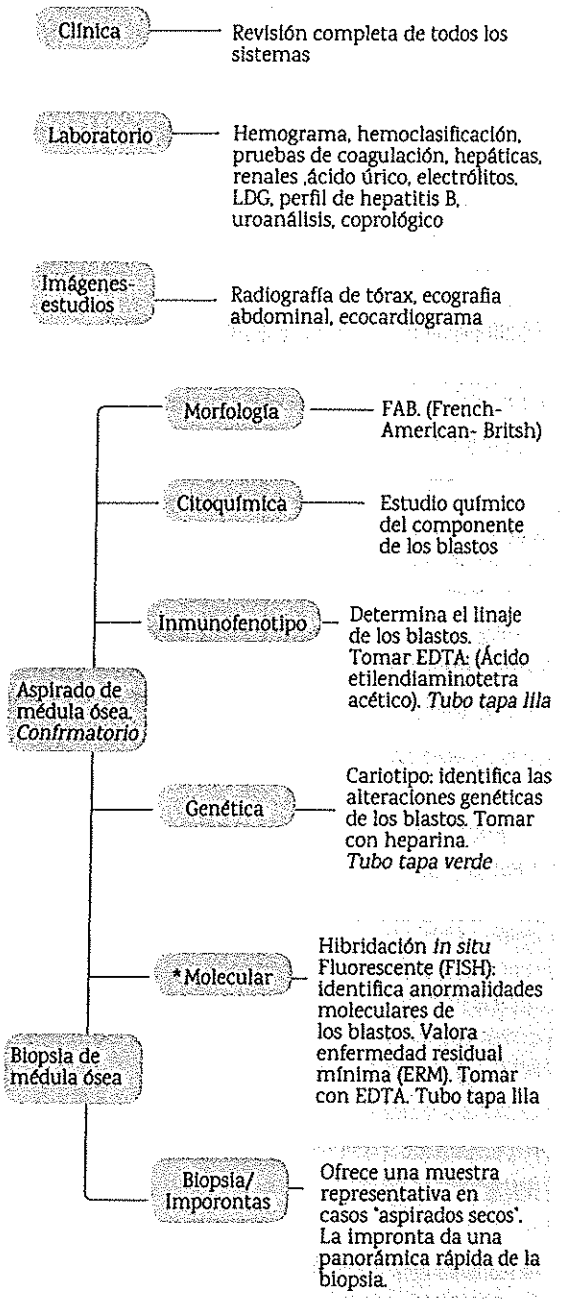
Respecto a las anormalidades en LLA-T, la fusión SIL/TAL1 derivada de t(1;14) se presenta aproximadamente en 25 % de todos los casos. Las translocaciones t(10;14) y t(7;10) ocurren en el 10 % de LLA-T y causan la activación del gen HOX11. Del mismo modo, la t(5;14), que representa el 25 % de los casos LLA-T, activa el gen homeótico HOX11L2 y el gen NOTCH1. La activación de este último gen ha sido relacionada con un pronóstico más favorable. Otras anormalidades descritas en LLA-T son: t(1;19) que produce la fusión E2A-PBX1 cuya presencia delimita un curso más agresivo; e hipodiploidía (< 45 cromosomas) también asociada con un pronóstico desfavorable.

Mutaciones en síndromes mielodisplásicos (SMD)

Las mutaciones en TP53, EZH2, ETV6, RUNX1 y ASXL1 han mostrado tener un mal pronóstico, independientemente de los factores de riesgo establecidos. Este mismo efecto ha sido identificado para las variantes en ASXL1, RUNX1 y EZH2. Las mutaciones en el gen DNMT3A confieren un mal pronóstico, porque se asocian con una rápida progresión de SMD a LMA. Por el contrario, se ha identificado que las mutaciones en SF3B1 se encuentran asociadas con sideroblastos en anillo, citopenias menores y largos períodos de remisión[105]. Del mismo modo, las mutaciones en TP53 se encuentran en casi 15 % de los pacientes con SMD de bajo riesgo, concomitantemente con la deleción 5q en estadios tempranos de la enfermedad, y están asociadas con un alto riesgo de evolución hacia leucemia.

Representación esquemática del diagnóstico confirmatorio de leucemia y evaluación de sistema nervioso central

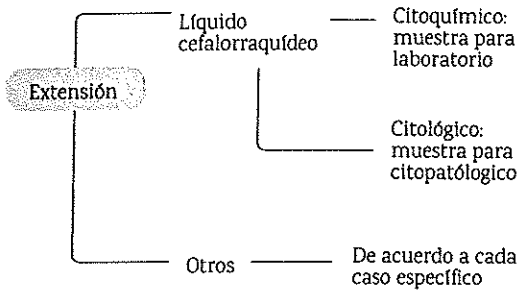
Figura 9. Orientación diagnóstica de los estudios generales y especializados confirmatorios frente a sospecha de leucemia aguda.



*Molecular: El tubo con heparina es requerido en algunos estudios moleculares según técnica de laboratorio

Fuente: elaboración de las autoras.

Figura 10. Estudios de extensión en leucemia.



Se tomará muestra de líquido cefalorraquídeo para citológico por cytospin, con el fin de evaluar la infiltración meníngea; la citometría de flujo en líquido cefalorraquídeo con estabilizador transfix es una herramienta diagnóstica novedosa. Otros estudios de extensión pueden ser indicados según el compromiso específico del órgano afectado.

Fuente: elaboración de las autoras.

Factores pronósticos

Las tasas de supervivencia de la leucemia han mejorado dramáticamente desde la década de 1980, con una tasa actual, a cinco años, de más del 90 %[106-108].

Esta mejora en la supervivencia se debe a la utilización de protocolos de tratamiento que hacen énfasis en la terapia basada en factores de riesgo, con el fin de reducir la toxicidad en los pacientes de bajo riesgo al tiempo que garantiza su respuesta; y una terapia más intensiva en los de alto riesgo de recaída; asimismo, la introducción de regímenes para prevenir la infiltración meníngea.

La estratificación de grupos de riesgo bajo, estándar, alto y muy alto incorpora información de datos clínicos y biológicos, como la edad del paciente, el recuento de leucocitos en el momento del diagnóstico, caracterización del inmunofenotipo, hallazgos citogenéticos, rapidez de citorreducción, entre otros.

Recuento de leucocitos/edad. Los niños con conteos de leucocitos superiores a 50.000/mm3 tienen un pronóstico más reservado y se estratifican en grupo de riesgo alto[109]; los pacientes mayores de 10 años o menores de 1 año también tienen resultados menos favorables y se asignan a los grupos de mayor riesgo[110-115].

Características citogenéticas de los blastos. La presencia de translocaciones (9;22) y (4;11) o la amplificación[116] iAMP21 y la hipodiploidía (< 45 cromosomas) también son factores de riesgo alto. *En relación con el inmunofenotipo,* las leucemias linfoides de linaje T y B maduras se asocian a peor pronóstico. *La respuesta al tratamiento como la evaluación del día 8 de esteroides y la enfermedad mínima residual (EMR)* (la presencia por reacción de cadena de polimerasa (PCR) > 1 % de blastos residuales, es decir, más de 1 célula leucémica / 100 células nucleadas) son potentes predictores de recaída.

En la leucemia mieloide aguda también existe una categoría de riesgo; la mutación del gen nucleofosmina (NPM1) confiere mejor pronóstico, no así la mutación Fms-Like Tyrosine Kinase 3 (FLT3) con pronóstico inferior. La t(8;21), inv 16 y la t(15;17) se relacionan con buen pronóstico.

En la *Guía Colombiana para Leucemia Linfoide Aguda* se citan los siguientes grupos de riesgo[117]:

Para LLA se recomiendan 3 grupos de riesgo: bajo, intermedio y alto, teniendo en cuenta la edad, recuento de leucocitos, linaje, genética, molecular y respuesta al día 8, 15 y fin de inducción, y la enfermedad mínima residual.

Riesgo bajo: edad: 1 a 9,9 años, leucocitos ≤ 20.000/mm3, linaje B, respuesta al día 8 de esteroides (< 1000 blastos absolutos en sangre periférica); día 15: blastos menos de 25 % por morfología, y menos de 5 % al final de la inducción. EMR día 15: ≤ 0,1 % y ERM fin de inducción: ≤ 0,01 %. Se deben cumplir todos los criterios.

Riesgo intermedio: edad < 1 año o mayor de 9,9 años, linaje T, compromiso de SNC. EMR día 15: 0,1-10 %, y ERM fin de inducción: 0,01 % - ≤ 1 %

Riesgo alto: No respuesta al día 8 esteroides, no respuesta al final de la inducción (más de 5 % de blastos morfológicos), genética t(4;11), t(9;22), MLL, BCR/ABL. EMR al día 15: ≥ 10 %, y ERM final de inducción: ≥ 1 %. Un solo criterio ubica al paciente en la categoría de alto riesgo.

Para la leucemia mieloide aguda, según la *Guía Colombiana de Leucemia Aguda.* también existe una clasificación de riesgo[117].

Riesgo favorable: t (8;21) inv (16) o t(16;16), independientemente de la presencia de otras alteraciones citogenéticas. NPMc positivo y ITD FLT3 negativo.

Riesgo intermedio: los pacientes no clasificados como favorables o desfavorables.

Riesgo desfavorable: las leucemias que tienen anormalidades del cromosoma 12, monosomía 7, anormalidades del brazo largo del cromosoma 5, t(6;9) y t(9:22), paciente con citogenética normal pero ITD – FLT3 positivo.

Tratamiento/Seguimiento

La mayoría de los niños con leucemia aguda de nuevo diagnóstico (LLA/LMA) se tratan con protocolos de investigación en los que se incluyen varios indicadores pronósticos que forman parte de la estratificación de riesgo de recaída; estos protocolos de manejo han contribuido a estandarizar el tratamiento, mejorar las tasas de supervivencia y reducir las complicaciones de la terapia a largo plazo.

El tratamiento de la leucemia aguda requiere de varios medicamentos antineoplásicos que actúan en diferentes fases del ciclo celular y son administrados en forma oral, endovenosa, intramuscular e intratecal (en el espacio subaracnóideo); la infusión de la terapia puede ser en bolo o continua, con variedad de horarios para maximizar la sinergia de las drogas y reducir al mínimo el desarrollo de resistencia a los medicamentos. Es necesario identificar al inicio del tratamiento las complicaciones oncológicas, para ofrecer un manejo integral que favorezca adecuadas condiciones al paciente[20].

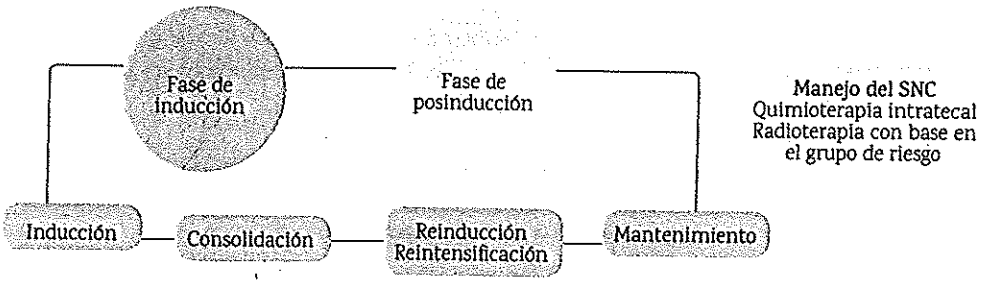
Una vez identificada la clasificación de riesgo de recaída, se le asignará al paciente el protocolo de manejo específico, el cual tiene una duración aproximada de 2 años o menos, de acuerdo con el tipo de leucemia; sugerimos revisar la *Guía Colombiana para el Manejo de la Leucemia Aguda*[117].

Son tres las fases del tratamiento de las leucemias agudas:

- *Fase de inducción.* Su objetivo es erradicar el volumen del tumor presente en la médula ósea y llevar al paciente a remisión morfológica (blastos ≤ 5 %), inmunológica (EMR) y citogenética/molecular, como también clínica.
- *Consolidación o terapia de intensificación.* Se inicia poco después de la consecución de la remisión completa (RC) y tiene como finalidad prevenir el rebrote leucémico, la resistencia a las drogas en las células leucémicas restantes y reducir la carga de tumor residual; en esta fase se garantiza el control de la enfermedad y/o se impide la infiltración de blastos leucémicos a otros sitios santuarios, como sistema nervioso central y testículo.
- *Mantenimiento o continuidad.* Permite mantener la remisión alcanzada; esta última fase no se incluye en el manejo de las leucemias mieloides agudas[21].

De acuerdo con la *Guía colombiana de atención integral para la detección oportuna, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de leucemias agudas (LLA/LMA) en niños, niñas y adolescentes,* se resaltan varias recomendaciones específicas acerca del manejo con base en la clasificación de riesgo; el acompañamiento para detectar y tratar en forma adecuada las complicaciones o secuelas derivadas de la enfermedad, el tipo de terapia recibida (quimioterapia, radioterapia, cirugía); y evaluar la integración a su rol normal con base en la edad, las cuales recomendamos revisar[117].

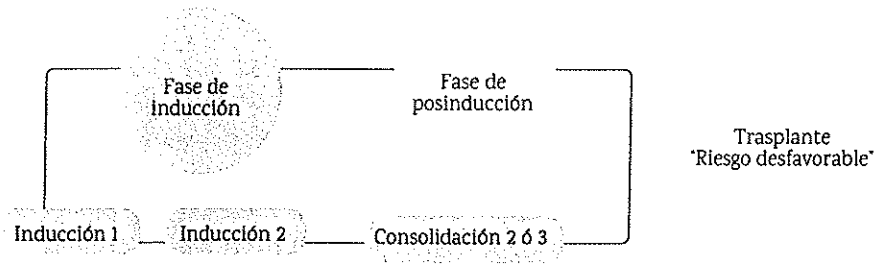
Figura 11. Esquema de las fases de tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda.



Se recomienda para todos los pacientes unas fases de inducción y post-inducción tan pronto se confirme el diagnóstico; el cumplimiento de las fases garantiza la remisión de los blastos leucémicos.

Fuente: adaptada de[117].

Figura 12. Esquema de las fases de tratamiento de la leucemia mielodie aguda.



Se recomiendan para todos los pacientes dos inducciones y una fase de post-remisión, que incluye 2-3 consolidaciones con base en la clasificación de riesgo.

Fuente: adaptada de[11].

Conclusiones

- Las leucemias agudas en niños son enfermedades de notificación inmediata.
- La leucemia linfoblástica aguda es la forma más común de cáncer en los niños.
- Los síntomas de presentación son inespecíficos y heterogéneos y simulan otras patologías.
- El diagnóstico y la clasificación confirmatoria se harán con la aspiración de médula ósea.
- Los niños con sospecha de leucemia deben ser remitidos a centros de cáncer pediátricos especializados para evaluación y manejo integral.
- La *Guía de práctica clínica de atención integral para la detección oportuna, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de leucemias agudas (LLA/LMA) en niños, niñas y adolescentes* ha facilitado al personal de salud en Colombia orientar el manejo integral de las leucemias.
- Colombia sigue trabajando motivada en el cuidado de los niños, niñas y adolescentes con leucemia, buscando resultados similares a los países desarrollados.

Referencias

1. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Garshell J, D Miller, Altekruse SF. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2011, National Cancer Institute. Bethesda, MD. [citado el 4 de septiembre de 2015]. Disponible en: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2011/

2. Ward E, DeSantis C, Robbins A, Kohler B, Jernal A. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. CA Cancer J Clin. 2014;64:83-103. Doi: http://doi.org/b6cf

3. Lanzkowsky Ph. Leukemia. En: Manual of Pediatric Hematology and Oncology. 4 ed. Burlington: Elsevier Academic Press; 2005. p. 415-52. Doi: http://doi.org/btnnq5

4. Nachman JB, Sather HN, Sensel MG, Trigg ME, Cherlow JM, Lukens JN, et ál. Augmented post-induction therapy for children with high-risk acute lymphoblastic leukemia and slow response to initial therapy. N Engl J Med.1998;338:1663-71. Doi: http://doi.org/c63nmx

5. Pui CH, Evans WE, Gilbert JR. Meeting report: International Childhood ALL Workshop Memphis TN, 3-4 December 1997. Leukemia. 1998;12(8):1313-8. Doi: http://doi.org/fp5rnv

6. Pollock BH, De Baun MR, Camitta BM, Shuster JJ, Ravindranath Y, Pullen DJ, et ál. Racial differences in the survival of childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group study. J Clin Oncol. 2000;18(4):813-23. Doi: http://doi.org/b748

7. Schrappe M, Reiter A, Ludwig WD, Harbott J, Zimmermann M, Hiddemann W, et ál. Improved outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia despite reduced use of anthracyclines and cranial radiotherapy: results of trial ALL-BFM 90. German-Austrian-Swiss ALL-BFM Study Group. Blood. 2000;95:3310-22.

8. Pui CH. Acute lymphoblastic leukemia in children. Curr Opin Oncol. 2000;12(1):3-12. Doi: http://doi.org/cqnrf5

9. Pui CH, Relling MV, Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia. N Engl J Med. 2004;350(15):1535-48. Doi: http://doi.org/dk6q8n

10. Schrappe M. Evolution of BFM trials for Childhood ALL. Ann Hematol. 2004;83(Supl 1):S121-3.

11. Saarinen-Pihkala UM, Gustafsson G, Carlsen N, Flaegstad T, Forestier E, Glomstein A, et ál. Outcome of children with high -risk acute lymphoblastic leukemia (HR-ALL): Nordic results on an intensive regime with restricted central nervous system irradiation. Pediatr Blood Cancer. 2004;42(1):8-23. Doi: http://doi.org/fs4wwv

12. Simone JV. Cancer Care and Clinical Research for Children in Less Developed Countries: Problems and Promise. J Pediatr Hematol Oncol. 2000;22(6):490-1. Doi: http://doi.org/btjzzq

13. República de Colombia (2010, 26 de mayo). Ley 1338 de 2010 por el derecho a la vida de los niños con cáncer en Colombia. Diario Oficial N°. 47.721.

14. Piñeros M, Pardo C, Otero J, Suárez M, Vizcaíno M, Álvarez VH, et ál. Protocolo de vigilancia en salud pública de las leucemias agudas pediátricas. Rev Colom Cancerol. 2007;11(4):219-27.

15. Vera AM, Pardo C, Duarte MC, Suárez A. Análisis de la mortalidad por leucemia aguda pediátrica en el Instituto Nacional de Cancerología. Biomed. 2012;32(3):355-64. Doi: http://doi.org/b749

16. Steliarova-Foucher E, Stiller C, Kaatsch P, Berrino F, Coebergh JW, Lacour B, et ál. Geographical patterns and time trends of cancer incidence and survival among children and adolescents in Europe since the 1970s (the ACCIS project): an epidemiological study. Lancet. 2004;364(9451):2097-105. Doi: http://doi.org/c2xtr2

17. Shah A, Coleman MP. Increasing incidence of childhood leukaemia: a controversy re-examined. Br J Cancer. 2007;97(7):1009-12. Doi: http://doi.org/b2wb5m

18. Svendsen AL, Feychting M, Klaeboe L, Langmark F, Schüz J. Time trends in the incidence of acute lymphoblastic leukemia among children 1976-2002: a population-based Nordic study. J Pediatr. 2007;151(5):548-50. Doi: http://doi.org/b5xh45

19. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathera C, Parkin DM. Globocan 2008. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No10. International Agency for Research on Cancer. [citado el 4 de septiembre de 2015]. Disponible en: http://globocan.iarc.fr

20. Margolin JF, Steuber CP, Poplack DG. Acute Lymphoblastic Leukemia. En: Pizzo PA, Poplack DC, editores. Principles and practices of pediatric oncology. 5 ed. Philadelphia: Lippinccott Williams & Wilkins; 2006. p. 538-90.

21. Golub TR, Arceri RJ. Acute myelogenous leukemia. En: Pizzo PA, Poplack DC, editores. Principles and practices of pediatric oncology. 5 ed. Philadelphia: Lippinccott Williams & Wilkins; 2006. p. 591-644.

22. Dores GM, Devesa SS, Curtis RE, Linet MS, Morton LM. Acute leukemia incidence and patient survival among children and adults in the United States, 2001-2007. Blood. 2012;119(1):34-43. Doi: http://doi.org/bdvg6f

23. Swensen AR, Ross JA, Severson RK, Pollock BH, Robison LL. The age peak in childhood acute lymphoblastic leukemia: exploring the potential relationship with socioeconomic status. Cancer. 1997;79(10):2045-51. Doi: http://doi.org/b2d65g

24. McNally RJ, Rowland D, Roman E, Cartwright RA. Age and sex distributions of hematological malignancies in the UK. Hematol Oncol. 1997;15(4):173-89.

25. Pendergrass TW. Epidemiology of acute lymphoblastic leukemia. Semin Oncol. 1985;12(2):80-91.

26. Barrington-Trimis JL, Cockburn M, Metayer C, Gauderman WJ, Wiemels J, McKean-Cowdin R, et ál. Rising rates of acute lymphoblastic leukemia in Hispanic children: trends in incidence from 1992 to 2011. Blood. 2015;125(19):3033-4. Doi: http://doi.org/b75b

27. Gurney JG, Bondy ML. Epidemiology of Childhood Cancer. En: Pizzo PA, Poplack DC, editores. Principles and practices of pediatric oncology. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p. 1-37.

28. Dördelmann M, Schrappe M, Reiter A, Zimmermann M, Graf N, Schott G, et ál. Down´s Syndrome in childhood acute lymphoblastic leukemia: clinical characteristics and treatment outcome in four consecutive BFM trials. Berlin Frankfurt-Munster Group. Leukemia. 1998;12(5):645-51. Doi: http://doi.org/b6z3ks

29. Miller RW. Persons with exceptionally high risk of leukemia. Cancer Res. 1967;27(12):2420-3.

30. Buffler PA, Kwan ML, Reynolds P, Urayama KY. Environmental and genetic risk factors for childhood leukemia: appraising the evidence. Cancer Invest. 2005;23(1):60-75. Doi: http://doi.org/b9s3tx

31. Hjalgrim LL, Rostgaard K, Hjalgrim H, Westergaard T, Thomassen H, Forestier E, et ál. Birth weight and risk for childhood leukemia in Denmark, Sweden, Norway, and Iceland. J Natl Cancer Inst. 2004;96(20):1549-56. Doi: http://doi.org/csg69r

32. Adelman AS, McLaughlin CC, Wu X-C, Chen VW, Groves FD. Urbanisation and incidence of acute lymphocytic leukaemia among United States children aged 0-4. Br J Cancer. 2005;92(1):2084-8. Doi: http://doi.org/cjjq55

33. Greaves M. Infection, immune responses and the aetiology of childhood leukaemia. Nat Rev Cancer. 2006;6(3):193-203. Doi: http://doi.org/dq992s

34. Kroll ME, Draper GJ, Stiller CA, Murphy MF. Childhood leukemia incidence in Britain, 1974-2000: time trends and possible relation to influenza epidemics. J Natl Cancer Inst. 2006;98(6):417-20. Doi: http://doi.org/cvr35j

35. Kroll ME, Swanson J, Vincent TJ, Draper GJ. Childhood cancer and magnetic fields from high-voltage power lines in England and Wales: a case-control study. Br J Cancer. 2010;103(7):1122-7. Doi: http://doi.org/bpw4x3

36. Kheifets L, Ahlbom A, Crespi CM, Draper G, Hagihara J, Lowenthal RM, et ál. Pooled analysis of recent studies on magnetic fields and childhood leukaemia. Br J Cancer. 2010;103(7):1128-35. Doi: http://doi.org/fmg8n7

37. Urayama KY, Ma X, Selvin S, Metayer C, Chokkalingam AP, Wiemels JL, et ál. Early life exposure to infections and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. Int J Cancer. 2011;128(7):1632-43. Doi: http://doi.org/dgbb9s

38. Reid A, Glass DC, Bailey HD, Milne E, de Klerk NH, Downie P, et ál. Risk of childhood acute lymphoblastic leukaemia following parental occupational exposure to extremely low frequency electromagnetic fields. Br J Cancer. 2011;105(9):1409-13. Doi: http://doi.org/dg53c9

39. Kroll ME, Stiller CA, Murphy MF, Carpenter LM. Childhood leukaemia and socioeconomic status in England and Wales 1976-2005: evidence of higher incidence in relatively affluent communities persists over time. Br J Cancer. 2011;105:1783-7. Doi: http://doi.org/c4f235

40. Chang JS, Tsai YW, Tsai CR, Wiemels JL. Allergy and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia: a population-based and record-based study. Am J Epidemiol. 2012;176(11):970-8. Doi: http://doi.org/f4f4xb

41. Bithell JF, Murphy MF, Stiller CA, Toumpakari E, Vincent T, Wakeford R, et ál. Leukaemia in young children in the vicinity of British nuclear power plants: a case-control study. Br J Cancer. 2013;109(11):2880-5. Doi: http://doi.org/f5jpnx

42. Krestinina LY, Davis FG, Schonfeld S, Preston DL, Degteva M, Epifanova S, et ál. Leukaemia incidence in the Techa River Cohort: 1953-2007. Br J Cancer. 2013;109(11):2886-93. Doi: http://doi.org/f5h82v

43. Bunch KJ, Keegan TJ, Swanson J, Vincent TJ, Murphy MF. Residential distance at birth from overhead high-voltage powerlines: childhood cancer risk in Britain 1962-2008. Br J Cancer. 2014;110(5):1402-8. Doi: http://doi.org/f52d4v

44. Kharazmi E, da Silva Filho MI, Pukkala E, Sundquist K, Thomsen H, Hemminki K, et ál. Familial risks for childhood acute lymphocytic leukaemia in Sweden and Finland: far exceeding the effects of known germline variants. Br J Haematol. 2012;159(5):585-8. Doi: http://doi.org/f22xfr

45. Rogalsky RJ, Black GB, Reed MH. Orthopaedic manifestations of leukemia in children. J Bone Joint Surg Am. 1986;68(4):494-501. Doi: http://doi.org/b75h

46. Hann IM, Gupta S, Palmer MK, Morris-Jones PH. The prognostic significance of radiological and

symptomatic bone involvement in childhood acute lymphoblastic leukaemia. Med Pediatr Oncol. 1979;6(1):51-5. Doi: http://doi.org/c7gr7h

47. Jonsson OG, Sartain P, Ducore JM, Buchanan GR. Bone pain as an initial symptom of childhood acute lymphoblastic leukemia: association with nearly normal hematologic indexes. J Pediatr. 1990;117(2 Pt 1):233-7. Doi: http://doi.org/cnqb7d

48. Vesterby A, Myhre Jensen O. Aseptic bone/bone marrow necrosis in leukaemia. Scand J Haematol. 1985;35(3):354-7. Doi: http://doi.org/fh4d8z

49. Bleyer WA. Central nervous system leukemia. Pediatr Clin North Am. 1988;35(4):789-814. Doi: http://doi.org/b75j

50. Levinsen M, Taskinen M, Abrahamsson J, Forestier E, Frandsen TL, Harila-Saari A, et ál. Clinical features and early treatment response of central nervous system involvement in childhood acute lymphoblastic leukemia. Pediatr Blood Cancer. 2014;61(8):1416-21. Doi: http://doi.org/f23x4p

51. Ingram LC, Fairclough DL, Furman WL, Sandlund JT, Kun LE, Rivera GK, et ál. Cranial nerve palsy in childhood acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin's lymphoma. Cancer. 1991;67(9):2262-8. Doi: http://doi.org/b4kdq6

52. De La Hoz F, Martínez D, Pacheco G, Quijada B. Vigilancia y análisis del riesgo en salud pública. Protocolo de Vigilancia en Salud Pública, Leucemias. Institutito Nacional de Salud. Pro R02.020. Versión01.2014 Jun11:1-19.

53. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. Blood. 2011;117(19):5019-32. Doi: http://doi.org/fk6pwf

54. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et ál. Proposals for the classification of the acute leukaemias (FAB cooperative group). Br J Haematol. 1976;33(4):451-8. Doi: http://doi.org/fpfczp

55. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW, editores. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid tissues. 3 ed. Lyon: IARC Press; 2001. p. 12-13.

56. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et ál, editores. World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid tissues. 4 ed. IARC; 2008. p. 14-178.

57. Inaba H, Greaves M, Mullighan Ch. Acute Lymphoblastic Leukemia. Lancet. 2013;381(9881):1943-55. Doi: http://doi.org/f2j8zk

58. Jiménez MC, de Miguel A. Club Español de Citología Hematológica: el linfoblasto en el contexto de la leucemia linfoblástica aguda. Haematologica. 2002;87:258-85.

59. Bain JB. Leukaemia Diagnosis. 4 ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2010. p. 1-63. Doi: http://doi.org/chrnc5

60. Onciu M. Acute Lymphoblastic Leukemia. Hematol Oncol Clin N Am. 2009;23(4):655-74. Doi: http://doi.org/fdkzr8

61. de Rooij JD, Zwaan CM, van den Heuvel-Eibrink M. Pediatric AML: From Biology to Clinical Management. J Clin Med. 2015;4(1):127-49. Doi: http://doi.org/b75k

62. Rohon P, Nedomova R, Prekopova I, Hubacek J, Holzerova M, Pikalova Z, et ál. Acute myeloid leukemia with minimal differentiation: unusual cytogenetics, morphology, phenotype and clinical course. Leuk Res. 2012;36(7):133-6. Doi: http://doi.org/f2g7nk

63. Heerema-McKenney A, Arber DA. Acute Myeloid Leukemia. Hematol Oncol Clin North Am. 2009;23(4):633-54. Doi: http://doi.org/b8f8bc

64. Reikvam H, Hatfield KJ, Kittang AO, Hovland R, Bruserud O. Acute Myeloid Leukemia with the t(8;21) Translocation: Clinical Consequences and Biological Implications. J Biomed Biotechnol. 2011;2011:1-23. Doi: http://doi.org/bkzv2j

65. Orfao A, Ortuño F, de Santiago M, López A, San Miguel J. Immunophenotyping of acute leukemias and myelodysplastic syndromes. Cytometry part A. 2004;58(1):62-71. Doi: http://doi.org/crvhf4

66. van Dongen JJM, Lhermitte L, Böttcher S, Almeida J, van der Velden VHJ, Flores-Montero J, et ál. EuroFlow

antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. Leukemia. 2012;26(9):1908-75. Doi: http://doi.org/bk5p

67. Saavedra C, Quijano SM, Romero M, Jaramillo R, Orduz R, Echeverri C, et ál. Reporte del Primer Consenso Colombiano de Citometría de Flujo para el estudio de trastornos hematológicos. Biomedica. 2012;30:11-21. Doi: http://doi.org/b75m

68. Jaye DL, Bray RA, Gebel HM, Harris W, Waller EK. Translational Applications of Flow Cytometry in Clinical Practice. J Immunol. 2012;188(10):4715-9. Doi: http://doi.org/b75n

69. Van Dongen JJ, van der Velden VH, Brüggemann M, Orfao A. Minimal residual disease diagnostics in acute lymphoblastic leukemia: need for sensitive, fast, and standardized technologies. Blood. 2015;125(26):3996-4009. Doi: http://doi.org/b75p

70. Kalina T, Flores J, van der Velden VH, Martin M, Böttcher S, Rotgen M, et ál. EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. Leukemia. 2012;26(9):1986-2010. Doi: http://doi.org/f36zpg

71. Greig B, Oldaker T, Warzynski M, Wood B. 2006 Bethesda international consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia by flow cytometry: recommendations for training and education to perform clinical flow cytometry. Clinical Cytometry Society. 2007;72B:S23-33. Doi: http://doi.org/b9mm53

72. Dayis B, Holden J, Bene M, Borowitz M, Braylan R, Cornfield D, et ál. 2006 Bethesda international consensus recommendations on the flow cytometric immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia: medical indications. Clinical Cytometry Society. 2007;72B:S5-13. Doi: http://doi.org/crfgv9

73. Van Dongen JJM, Orfao A. Euroflow: resetting leukemia and lymphoma immunophenotyping. Basis for companion diagnostics and personalized medicine. Leukemia. 2012;26(9):1899-907. Doi: http://doi.org/b75q

74. Hurwitz CA, Raimondi SC, Head D, Krance R, Mirro Jr. J, Kalwinsky DK, et ál. Distinctive immunophenotypic features of t(8;21)(q22;q22) acute myeloblastic leukemia in children. Blood.1992;80(12):3182-8.

75. Tiacci E, Pileri S, Orleth A, Pacini R, Tabarrini A, Frenguelli F, et ál. PAX5 expression in acute leukemias: higher B-lineage specificity than CD79a and selective association with t(8;21)-acute myelogenous leukemia. Cancer Res. 2004;64(20):7399-404.

76. Escribano L, Diaz-Agustin B, Lopez A, Nunez Lopez R, Garcia-Montero A, Almeida J, et ál. Immunophenotypic analysis of mast cells in mastocytosis: When and how to do it. Proposals of the Spanish Network on Mastocytosis (REMA). Cytometry B Clin Cytom. 2004;58(1):1-8. Doi: http://doi.org/cfshmp

77. Martin-Martin L, Almeida J, Hernandez-Campo PM, Sanchez ML, Lecrevisse Q, Orfao A. Immunophenotypical morphologic, and functional characterization of maturation-associated plasmacytoid dendritic cell subsets in normal adult human bone marrow. Transfusion. 2009;49(8):1692-708. Doi: http://doi.org/dnc3m3

78. Quijano S, Torres M, Vásquez L, Cuéllar G, Romero M, Martín L, et ál. Correlation of the t(9;22), t(12;21) and DNA hyperdiploid content with immunophenotype and proliferative rate of leukemic B cells of pediatric patients with acute B lymphoblastic leukemia. Biomédica. 2013;33:468-86. Doi: http://doi.org/b75r

79. Hrusák O, Porwit-MacDonald A. Antigen expression patterns reflecting genotype of acute leukemias. Leukemia. 2002;16(7):1233-58. Doi: http://doi.org/c2mhm2

80. Seegmiller AC, Kroft SH, Karandikar NJ, McKenna RW. Characterization of immunophenotypic aberrancies in 200 cases of B acute lymphoblastic leukemia. Am J Clin Pathol. 2009;132(6):940-9. Doi: http://doi.org/dffcn4

81. Behm FG, Smith FO, Raimondi SC, Pui CH, Bernstein ID. Human homologue of the rat chondroitin sulfate proteoglycan, NG2, detected by monoclonal antibody 7.1, identifies childhood acute lymphoblastic leukemias with t(4;11)(q21;q23) or t(11;19)(q23;p13) and MLL gene rearrangements.

Blood.1996;87(3):1134-9. Disponible en: https://goo.gl/tVNWWL

82. Gandemer V, Aubryc M, Rousseld M, Rio AG, Tayrac M, Valleea A, et ál. CD9 expression can be used to predict childhood TEL/AML1-positive acute lymphoblastic leukemia: Proposal for an accelerated diagnostic flowchart. Leukemia Research. 2010;34(4):430-7. Doi: http://doi.org/bmt778

83. Yamazaki H, Xu CW, Naito M, Nishida H, Okamoto T, Ghani FI, et ál. Regulation of cancer stem cell properties by CD9 in human B-acute lymphoblastic leukemia. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2011;409(1):14-21. Doi: http://doi.org/cm9ngc

84. Kiyokawa N, Iijima K, Tomita O, Miharu M, Hasegawa D, Kobayashi K, et ál. Significance of CD66c expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. Leukemia Research. 2014;38(1):42-8. Doi: http://doi.org/f2pbww

85. van Lochem EG, van der Velden VH, Wind HK, te Marvelde JG, Westerdaal NA, van Dongen JJ. Immunophenotypic differentiation patterns of normal hematopoiesis in human bone marrow: reference patterns for age-related changes and disease-induced shifts. Cytometry B Clin Cytom. 2004;60(1):1-13. Doi: http://doi.org/bcs9jw

86. Szczepański T, Harrison C, van Dongen J. Genetic aberrations in paediatric acute leukaemias and implications for management of patients. Lancet Oncol. 2010;11(9):880-9. Doi: http://doi.org/fjjzxm

87. Vizcaíno M, Guzmán C, De Los Reyes I, Quijano S, Campos A. Diagnóstico de leucemias bifenotípicas por citometría de flujo. Biomedica. 2010;30(Supl):22-26. Doi: http://doi.org/b75s

88. Gisselsson DF. Cytogenetics Methods. En: Heim S, Mitelman F, editores. Cancer cytogenetics: Chromosomal and Molecular Genetics Aberrations of tumors. 3 ed. Canada: John Wiley & Sons; 2010. p. 9-16. Doi: http://doi.org/bngttd

89. Paris Conference (1971): Standardization in human cytogenetics. Birth Defects Original Article Series, Vol VII, No. 7. The National Foundation, New York: 1972; también en Cytogenetics 11, 313-62.

90. Stetten G. The Principles of Clinical Cytogenetics. American Journal of Human Genetics. 2005;76(3):543. Doi: http://doi.org/fr43cv

91. Hastings RJ, Cavani S, Bricarelli FD, Patsalis PC, Kristoffersson U. Cytogenetic Guidelines and Quality Assurance: a common European framework for quality assessment for constitutional and acquired cytogenetic investigations. European Journal of Human Genetics. 2007;15(5):525-7. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17356549

92. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. Blood. 2008;5019-32 Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3109529/

93. Maciejewski JP, Tiu RV, O'Keefe C. Application of array-based whole genome scanning technologies as a cytogenetic tool in haematological malignancies. Br J Haematol. 2009;146(5):479-88. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19563474

94. Wolff DJ, Bagg A, Cooley LD, Dewald GW, Hirsch BA, Jacky PB, et ál. Guidance for fluorescence in situ hybridization testing in hematologic disorders. J Mol Diagn. 2007;9(2):134-43. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Guidance+for+Fluorescence+in+Situ+Hybridization+Testing+in+Hematologic+Disorders Doi; 10.2353/jmoldx.2007.060128

95. Harrison CJ, Haas O, Harbott J, Biondi A, Stanulla M, Trka J, et ál. Detection of prognostically relevant genetic abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: recommendations from the Biology and Diagnosis Committee of the International Berlin-Frankfurt-Munster study group. Br J Haematol. 2010;151(2):132-42. Doi: http://doi.org/f22mht

96. Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Krober A, Bullinger L, et ál. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med. 2000;343(26):1910-6. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11136261

97. Maciejewski JP, Mufti GJ. Whole genome scanning as a cytogenetic tool in hematologic malignancies. Blood. 2008;112(4):965-74. Doi: http://doi.org/b4q88t

98. Rennert H, Golde T, Wilson RB, Spitalnik SL, Van Deerlin VM, Leonard DG. A novel, non-nested reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) test for the detection of the t(15;17) translocation: a comparative study of RT-PCR cytogenetics, and fluorescence In situ hybridization. Mol Diagn. 1999;4(3):195-209. Disponible en:

99. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10553020

100. Mardis ER. Next-generation DNA sequencing methods. Annu Rev Genomics Hum Genet. 2008;9:387-402. Doi: http://doi.org/frt6rm

101. Watt CD, Bagg A. Molecular diagnosis of acute myeloid leukemia. Expert Rev Mol Diagn. 2010;10(8):993-1012. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21080817

102. Slovak ML, Gundacker H, Bloomfield CD, Dewald G, Appelbaum FR, Larson RA, et al. A retrospective study of 69 patients with t(6;9)(p23;q34) AML emphasizes the need for a prospective, multicenter initiative for rare 'poor prognosis' myeloid malignancies. Leukemia. 2006;20(7)1295-7. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16628187

103. Dufour A, Schneider F, Metzeler KH, Hoster E, Schneider S, Zellmeier E, et ál. Acute myeloid leukemia with biallelic CEBPA gene mutations and normal karyotype represents a distinct genetic entity associated with a favorable clinical outcome. J Clin Oncol. 2010;28(4):570-7. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20038735

104. Armstrong SA, Look AT. Molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. J Clin Oncol. 2005;23(26):6306-15. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16155013

105. Pieters R, Schrappe M, De Lorenzo P, Hann I, De Rossi G, Felice M, et ál. A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (Interfant-99): an observational study and a multicentre randomised trial. Lancet. 2007;370(9583):240-50. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17658395

106. Papaemmanuil E, Cazzola M, Boultwood J, Malcovati L, Vyas P, Bowen D, et al. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. N Engl J Med. 2011;365(15):1384-95. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21995386

107. Pui CH, Sandlund JT, Pei D, Campana D, Rivera GK, Ribeiro RC, et al. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Total Therapy Study XIIIB at St Jude Children's Research Hospital. Blood. 2004;104(9):2690-6. Doi: http://doi.org/cdw2rm

108. Gatta G, Capocaccia R, Stiller C, Kaatsch P, Berrino F, Terenziani M. Childhood cancer survival trends in Europe: a EUROCARE Working Group study. J Clin Oncol. 2005;23(16):3742-51. Doi: http://doi.org/fcj5rf

109. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. CA Cancer J Clin. 2011;61(14):212-36. Doi: http://doi.org/ft58wb

110. Smith M, Arthur D, Camitta B, Carroll AJ, Crist W, Gaynon P, et ál. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. J Clin Oncol. 1996;14(1):18-24. Doi: http://doi.org/b75t

111. Sather HN. Age at diagnosis in childhood acute lymphoblastic leukemia. Med Pediatr Oncol. 1986;14(3):166-72. Doi: http://doi.org/bpqgp3

112. Silverman LB, Gelber RD, Dalton VK, Asselin BL, Barr RD, Clavell LA, et al. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Dana-Farber Consortium Protocol 91-01. Blood. 2001;97(5):1211-8. Doi: http://doi.org/b9f7jj

113. Reaman G, Zeltzer P, Bleyer WA, Amendola B, Level C, Sather H, et al. Acute lymphoblastic leukemia in infants less than one year of age: a cumulative experience of the Children's Cancer Study Group. J Clin Oncol. 1985;3(11):1513-21. Doi: http://doi.org/b75v

114. Pui CH, Kane JR, Crist WM. Biology and treatment of infant leukemias. Leukemia. 1995;9(5):762-9.

115. Chessells JM, Eden OB, Bailey CC, Lilleyman JS, Richards SM. Acute lymphoblastic leukaemia in infancy: experience in MRC UKALL trials. Report from the Medical Research Council Working Party on Childhood Leukaemia. Leukemia.1994;8(8):1275-9.

116. Crist W, Pullen J, Boyett J, Falletta J, van Eys J, Borowitz M, et ál. Acute lymphoid leukemia in adolescents: clinical and biologic features predict a poor prognosis--a Pediatric Oncology Group Study. J Clin Oncol. 1988;6(1):34-43. Doi: http://doi.org/b75w

117. Moorman AV, Ensor HM, Richards SM, Chilton L, Schwab C, Kinsey SE, et ál. Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial. Lancet Oncol. 2010 May;11(5):429-438.

118. Guía de práctica clínica para la detección oportuna, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de Leucemia Linfoide Aguda y Leucemia Mieloide Aguda en niños, niñas y adolescentes. Guía N°. 9. ISBN 978-958-57937-2-9. Bogotá, Colombia, 2013.