

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**"HISTOGRAMAS DE DISTRIBUCIÓN
LEUCOCITARIA EN EL
DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIAS"**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN BIOQUÍMICA CLÍNICA.

PRESENTA:

Q.F.B. JUANA SABINO SÁNCHEZ

DIRIGIDO POR:

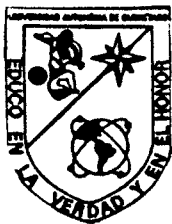
Q.F.B. ESPECIALISTA EN BIOQUÍMICA CLÍNICA ALEJANDRO MORALES DE LA VEGA

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QRO.

MARZO, 2001

[Faint, illegible stamp or signature]

No. Adq. H 64845
No. Título _____
Clas. IS
616.155
S 116 b
Ejo 1



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERETARO

FACULTAD DE QUÍMICA

"HISTOGRAMAS DE DISTRIBUCIÓN LEUCOCITARIA EN EL DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIAS"

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN BIOQUÍMICA CLÍNICA.

PRESENTA:

Q.F.B. JUANA SABINO SÁNCHEZ

DIRIGIDO POR:

Q.F.B. ESPECIALISTA EN BIOQUÍMICA CLÍNICA ALEJANDRO MORALES DE LA VEGA

SINODALES

QFB. ESP. EN BQ. CL. ALEJANDRO MORALES DE LA VEGA
(PRESIDENTE)

QFB. ESP. EN BQ. CL. MA. ELENA VILLAGRAN HERRERA
(SECRETARIO)

QFB. ESP. EN BQ. CL. PATRICIA VILLALOBOS AGUILERA
(SECRETARIO)

M. EN C. LOURDES ELVIA RUIZ FLORES
(SUPLENTE)

M. EN C. LETICIA DE LA ISLA HERRERA
(SUPLENTE)

M. EN C GUSTAVO PEDRAZA ABOYTES
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE
QUÍMICA

DR SERGIO QUESADA ALDANA
DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y
POSGRADO

AGRADECIMIENTOS

A todas las personas que de una u otra manera contribuyeron para que yo realizara esta especialidad. Entre ellos a la Química **Silvia Ugalde** y al Sr. **Humberto Espinoza**.

A mi director de tesis el Químico **Alejandro Morales de la Vega**, que con su valiosa aportación y apoyo se logró la realización del presente trabajo.

RESUMEN

La leucemia es una enfermedad maligna y progresiva del sistema hematopoyético y cuya incidencia ha ido en aumento en los últimos años; de ahí la trascendencia de un diagnóstico presuntivo y oportuno apoyado inicialmente por los parámetros de una citometría hemática y su diferencial leucocitario. El diferencial leucocitario es un tema de controversia ya que a pesar de su gran utilidad clínica tiene ciertas limitaciones como lo es el conteo de 100 células y la distribución de las mismas en un frote sanguíneo.

Como respuesta a estas desventajas, existen equipos automatizados con una tecnología moderna que presenta un diferencial más completo apoyado en las características de volumen, conductividad y dispersión de rayo láser, además de aportar una gráfica de poblaciones celulares (histogramas).

Se analizaron en el equipo automatizado Coulter STKS 13 casos de pacientes leucémicos del servicio de Hematología del Hospital de Especialidades del Centro Médico siglo XXI y se realizó un frote sanguíneo para la observación microscópica de la morfología celular.

Al evaluar los histogramas se observa como la distribución celular ayuda en la observación microscópica del frote teniendo ya el antecedente de que tipo celular está predominando en las diferentes regiones.

Asimismo, las señales de alarma que aporta el equipo nos pone alerta para tener una mayor visión en el momento de la observación microscópica del frote.

Finalmente, tanto los parámetros aportados por el Coulter STKS como la observación microscópica del frote se deben tomar como herramientas complementarias para el diagnóstico presuntivo de las diferentes leucemias.

ÍNDICE GENERAL

	PÁGINA
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE CUADROS	v
LISTA DE ABREVIATURAS	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	4
A. LEUCEMIAS	4
A.1 EPIDEMIOLOGÍA	4
A.2 ETIOLOGÍA	6
A.2.1 SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA	7
A.2.2 MUTACIÓN SOMÁTICA	8
▪ Carcinógenos directamente activos	9
▪ Carcinógenos que deben ser metabolizados	9
▪ Carcinógenos naturales que afectan los alimentos	9
A.2.3 INFECCIÓN VIRAL	10
A.2.4 DISFUNCIÓN INMUNOLÓGICA	10
B. CLASIFICACION DE LEUCEMIAS	11
B.1 LEUCEMIAS CRÓNICAS	12
B.1.1 LEUCEMIA GRANULOCÍTICA CRÓNICA	12
▪ Anatomía patológica	13
▪ Signos y síntomas	13
▪ Diagnóstico de laboratorio	15
▪ Evolución	17
▪ Tratamiento	18
▪ Pronóstico	19

	PÁGINA
B.1.2 LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA	20
▪ Anatomía patológica	20
▪ Cuadro clínico	21
▪ Diagnóstico de laboratorio	23
▪ Alteraciones inmunológicas	24
▪ Evolución	24
▪ Tratamiento	28
▪ Pronóstico	28
B.2 LEUCEMIA AGUDA	29
B.2.1 CLASIFICACIÓN	30
B.2.1.1 CLASIFICACION MORFOLÓGICA	30
B.2.1.2 CLASIFICACION INMUNOLÓGICA	32
B.2.1.3 CLASIFICACIÓN CITOGENÉTICA	33
B.2.2 LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA	34
▪ Datos estadísticos y etiología	35
▪ Cuadro clínico inicial y diagnóstico diferencial	36
▪ Clasificación franco-americana-británica	39
▪ Clasificación inmunológica	40
▪ Alteraciones citogenéticas	42
▪ Tratamiento	43
▪ Pronóstico	45
B.2.3 LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA	46
▪ Epidemiología	47
▪ Datos clínicos	49
▪ Diagnóstico de laboratorio	50
▪ Características biológicas	52
▪ Clasificación franco-americana-británica	53

	PÁGINA
▪ Citogenética	57
▪ Características inmunofenotípicas	58
▪ Tratamiento	60
▪ Pronóstico	61
III JUSTIFICACIÓN	62
IV OBJETIVOS	64
V MATERIAL Y MÉTODOS	65
A. MATERIAL	65
B. METODOLOGÍA	65
C. FUNDAMENTO COULTER	66
D. TECNOLOGÍA VOLUMEN, CONDUCTIVIDAD Y DISPERSIÓN	72
VI RESULTADOS Y DISCUSIONES	80
VII CONCLUSIONES	106
VIII APÉNDICE	107
A. PRUEBAS CITOQUÍMICAS	107
A.1 REACCIÓN DE PEROXIDASA	108
A.2 TINCIÓN DE SUDÁN NEGRO B	108
A.3 REACCIÓN DE ESTERASAS	109
A.4 REACCIÓN DEL ÁCIDO PERIÓDICO DE SCHIFF	110
A.5 REACCIÓN DE LA FOSFATASA ALCALINA	111
B. VALORES DE REFERENCIA	112
IX BIBLIOGRAFÍA	114

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	TÍTULO	PÁGINA
1	Fundamento Coulter	66
2	Histograma de dispersión DF1	76
3	Histograma de dispersión DF2	77
4	Histograma de dispersión DF3	78
5	Señales de alarma de poblaciones celulares anormales	79

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	TÍTULO	PÁGINA
1	Síntomas y signos observados en pacientes con Leucemia Granulocítica Crónica	14
2	Clasificación de RAI	25
3	Clasificación internacional de Binet	26
4	Características antigénicas de las Leucemias Agudas Linfoblásticas	33
5	Características de las Leucemias Agudas Mieloblásticas	33
6	Signos clínicos y de laboratorio en el diagnóstico de Leucemia Linfoblástica en niños	38
7	Clasificación francesa-americana-británica de la Leucemia Linfoblástica	40
8	Pronóstico de Leucemia Linfoblástica	45
9	Concordancia en la clasificación de Leucemias Mieloblásticas	53
10	Pronóstico de Leucemias Mieloblásticas	61
11	Resultados del equipo Coulter STKS para el caso 1	80

ÍNDICE DE CUADROS (CONTINUACIÓN)

12	Resultados del equipo Coulter STKS para el caso 2	82
13	Resultados del equipo Coulter STKS para el caso 3	84
14	Resultados del equipo Coulter STKS para el caso 4	86
15	Resultados del equipo Coulter STKS para el caso 5	88
16	Resultados del equipo Coulter STKS para el caso 6	90
17	Resultados del equipo Coulter STKS para el caso 7	92
18	Resultados del equipo Coulter STKS para el caso 8	94
19	Resultados del equipo Coulter STKS para el caso 9	96
20	Resultados del equipo Coulter STKS para el caso 10	98
21	Resultados del equipo Coulter STKS para el caso 11	100
22	Resultados del equipo Coulter STKS para el caso 12	102
23	Resultados del equipo Coulter STKS para el caso 13	104
24	Diagnóstico citoquímico de Leucemias	111
25	Valores de referencia	112

LISTA DE ABREVIATURAS

Función discriminante 1	DF1
Función discriminante 2	DF2
Función discriminante 3	DF3
Anticuerpos monoclonales	AcMo
Leucemia granulocítica crónica	LGC
Leucemia linfocítica crónica	LLC
Clasificación franco-americana-británica	FAB
Leucemia aguda linfoblástica	LLA
Leucemia linfoblástica "típica"	LA-L1
Leucemia linfoblástica "atípica"	LA-L2
Leucemia linfoblástica parecida al linfoma de Bürkit	LA-L3
Leucemia aguda mieloblástica	LAM
Leucemia mieloblástica indiferenciada	LA-M0
Leucemia mieloblástica inmadura	LA-M1
Leucemia mieloblástica con maduración	LA-M2
Leucemia promielocítica hipergranular	LA-M3
Leucemia mielomonoblástica	LA-M4
Leucemia monoblástica pura	LA-M5
Eritroleucemia	LA-M6
Leucemia megacarioblástica	LA-M7
Amplitud de distribución eritrocitaria	ADE
Volumen corpuscular medio	VCM
Hemoglobina corpuscular media	HCM
Concentración media de hemoglobina corpuscular	CMHC
Volumen plaquetario medio	VPM
Reacción del ácido periódico de Schiff	PAS
Tecnología volumen, dispersión, conductividad	VCS

I. INTRODUCCIÓN

En 1845, dos personas, John Bennet, en Edimburgo y Rudolf Virchow, en Berlín, publicaron en forma independiente sus observaciones en pacientes leucémicos. A ellos se acredita generalmente la definición de la leucemia y el reconocimiento de su importancia como entidad patológica. Las historias clínicas de sus pacientes fueron análogas; los dos hombres describieron los síntomas de debilidad creciente, hinchazón de abdomen y epistaxis graves. En las autopsias, los dos hallazgos más destacados eran un bazo muy crecido y un aspecto peculiar en la consistencia y color de la sangre. Bennet pensó que la sangre tenía ese aspecto de haberse mezclado con material purulento. En la observación microscópica afirmó que la sangre contenía corpúsculos grandes semejantes a los encontrados en el pus, Bennet recalcó que no se encontraron signos manifiestos de inflamación, estado que, por lo general, acompaña a la presencia de pus, (Shirlyn BM, 1996).

Virchow prefirió el término "sangre blanca" a fin de describir el color amarillo-verdoso de la sangre, para evitar la insinuación de que los cambios sanguíneos se relacionen con un proceso inflamatorio. Dos años más tarde el término "sangre blanca" se tradujo al griego, convirtiéndose en "leucocitemia" y posteriormente fue acortado a Leucemia..

A medida que se estudiaron más pacientes afectados por esta entidad, Virchow reconoció que no todas las leucemias se relacionaban con un incremento en el mismo tipo de célula blanca (leucocito), en algunos casos, los corpúsculos blancos eran granulares con núcleos irregulares o divididos y el bazo estaba crecido en exceso. En otros casos, los corpúsculos eran agranulares con núcleos redondos y los ganglios linfáticos del paciente mostraban crecimiento. Es probable que estas distinciones observadas se refieren a lo que ahora se clasifican como leucemias mieloide y linfoide, (Carrillo FJ, 1995; Shirlyn BM, 1996).

Virchow en 1846 clasificó las leucemias según su evolución típica, en crónicas y agudas. Las primeras se caracterizaban por una mayor supervivencia de los pacientes, con células maduras en sangre periférica, y las agudas, por la presencia de células inmaduras y un transcurso clínico de pronta evolución. Ahora bien, las leucemias se clasifican de acuerdo al tipo de célula involucrada y, dentro de una línea celular dada, al grado de maduración. Durante algunos años existió la necesidad de un esquema que unificara los criterios morfológicos y que sirvieran para correlacionarlos con el pronóstico de la enfermedad, y fue así, que en 1976, un grupo de expertos morfológicos (franceses, americanos y británicos) propusieron una clasificación que en la actualidad es la más importante, (Casas MA, 1994; Henderson ES, Hull J. & Proctor SW, 1990; Ruiz AG, 1994).

El origen de las leucemias es un poco incierto, aunque se sugiere se encuentran implicados factores genéticos, radiaciones, antígenos tóxicos o virus. Ciertas personas tienen alto riesgo de desarrollar leucemia: 1) el gemelo idéntico de un enfermo, 2) algunas personas con problemas hematológicos adquiridos, incluyendo Policitemia vera, 3) aquellos que padecen síndromes congénitos asociados a anomalías cromosómicas, incluso el síndrome de Down, el síndrome de Bloom y la anemia de Fanconi, 4) aquellos que han sido expuestos accidentalmente a radiación excesiva (ensayos de armas nucleares o accidentes nucleares), y 5) médicos y científicos expuestos a cantidades excesivas de radiaciones. Asimismo, hay una impresión cada vez más firme de que puede ser de etiología vírica. Es probable que la leucemia no se debe a un sólo factor sino a un conjunto de agentes etiológicos (genéticos, virus, sustancias, etc), e incluso es posible que la causa varíe de una persona a otra, habiendo personas más predispuestas a padecerla.

La incidencia de leucemia ha aumentado de tres a seis veces en los últimos 20 años, con igual distribución entre leucemias agudas y crónicas. Se calcula que cada año se presentan 6 nuevos casos de leucemia por cada 100,000 habitantes.

En niños de hasta 7 años la leucemia constituye casi el 50% de todas las formas de cáncer; después la frecuencia decrece para volver a aumentar a partir de la sexta década de la vida, (Bennington JL, 1991; Casas MA, 1994; Fisher MH, Burrow GW & Morgan HL, 1996; Kasten MB, Grady JW & Grisham WE, 1989).

Para su adecuado tratamiento es indispensable realizar la clasificación específica de la leucemia ya que de ello depende la calidad de vida de un paciente, y con éste fin, en la actualidad se cuenta con el apoyo de la citomorfología, la citoquímica, los marcadores inmunológicos y la citogenética. Sin embargo, debemos remarcar la gran importancia que tiene la morfología celular ya que aproximadamente un 70% de leucemias se diagnostican en base a sus características morfológicas.

El diferencial leucocitario ha sido un tópico de debate entre los expertos por muchos años. El recuento diferencial de glóbulos blancos puede tener gran utilidad clínica, sin embargo, tiene algunas limitaciones. Es indispensable una buena preparación, lo mismo para un examen de rutina, como para un diagnóstico adecuado, ya que si el área es demasiado espesa, los eritrocitos y los leucocitos se verán pequeños y no se apreciarán detalles morfológicos y si es muy fina, los eritrocitos se observarán con aspecto de macrocitos y con más cantidad de hemoglobina de la que tienen en realidad. La distribución y el conteo de 100 células representa una desventaja ya que hacia el extremo terminal y los bordes se acumulan por cuestiones de peso específico y de densidad los monocitos y los polimorfonucleares y hacia la parte inicial y central se cuentan cifras mayores de linfocitos, (Jones AR, 1995).

A continuación se presentan algunas bases teóricas que sustentan el presente trabajo.

II. ANTECEDENTES

A. LEUCEMIAS

La leucemia es una enfermedad maligna, progresiva, del sistema hematopoyético caracterizada por la proliferación incontrolable de un tipo celular (linfocitos, monocitos, granulocitos, eritrocitos, o megacariocitos), (Carrillo FJ, 1995; Shirlyn BM, 1996).

Un aspecto muy importante a considerar es que las leucemias son proliferaciones clonales, lo que quiere decir que todas las células neoplásicas en un paciente derivan de una sola célula maligna original que tiene una gran capacidad proliferativa. La proliferación clonal por medio de divisiones sucesivas a partir de una célula progenitora constituye el origen de las leucemias, (Carrillo FJ, 1995; Cartwright EG, 1983).

A.1 EPIDEMIOLOGÍA

En Estados Unidos, el índice de mortalidad de la leucemia es de 7/100,000 personas, siendo mayor el número de varones afectados que el de mujeres. Es probable que la incidencia actual de la leucemia sea mayor que esta cifra debido a que las estadísticas de supervivencia han mejorado de manera substancial en las últimas décadas, en especial de las leucemias infantiles. Más o menos 50% del total de leucemias se clasifican como agudas. Aunque hay algunas diferencias en la frecuencia de las leucemias agudas entre los países y sus regiones, éstas no son grandes. Por otra parte, todas las leucemias prevalecen más en judíos de Rusia, Polonia y Checoslovaquia, que en personas que no tienen ascendencia judía. Además, la leucemia aguda es más común en la raza blanca que en la negra. Se desconoce si estas diferencias reflejan el impacto de factores

ambientales o de factores genéticos, (Bennington JL, 1991; Bernacer BM, Borja JL & Sánchez MN, 1991).

En México, la letalidad media anual de las leucemias agudas es de tres a cinco casos por cada 100,000 habitantes y hay una tendencia notable al aumento del padecimiento. En los niños; las leucemias agudas son la causa más frecuente de muerte por neoplasia. En la segunda mitad del siglo XX, se han realizado avances importantes en el tratamiento de las leucemias agudas, que cambiaron de modo notable el concepto que prevalecía de que la palabra leucemia era sinónimo de muerte a muy corto plazo. Estos avances han permitido que en la actualidad se curen casi todos los niños y aproximadamente un tercio de los adultos con leucemia linfoblástica. En el caso de las leucemias mieloblásticas, los avances terapéuticos han sido menos notables y las cifras de curación para niños y adultos oscilan en torno a 25 y 15%, respectivamente, (Bernacer BM, Borja JL & Sánchez MN, 1991).

De particular interés es la frecuencia y la variación morfológica de la leucemia aguda entre grupos de diferentes edades. Aunque la leucemia ocurre en todas ellas, hay una incidencia máxima en la primera década, en particular de dos a cinco años de edad. Después, la frecuencia decrece en la segunda y tercera décadas. Más adelante la incidencia empieza a aumentar, elevándose en forma notable después de los 50 años de edad. El tipo celular de leucemia que ocurre en estos períodos máximos, difiere de manera significativa. La mayor parte de las leucemias agudas infantiles son del tipo linfoide, en tanto que las que se producen en adultos son de origen mieloides. Las leucemias crónicas son poco comunes en los niños. La mayor parte de las leucemias mieloides crónicas se presenta en adultos jóvenes o de mediana edad, en tanto que la leucemia linfocítica crónica prevalece de manera primaria en adultos de mayor edad, (Bennington JL, 1991; Bernacer BM, Borja JL & Sánchez MN, 1991)

A.2 ETIOLOGÍA

A pesar de la abundante investigación, las causas de la leucemia permanecen en misterio. La frecuencia de leucemia aguda es mayor en personas con trastornos mieloproliferativos o mielodisplásicos crónicos. Esto ha propiciado que algunos hematólogos empleen el término "preleucemia" para estos trastornos. La leucemia aguda se presenta con mayor frecuencia en personas con leucemia granulocítica crónica, en estos casos más del 70% evoluciona a una fase terminal que no se distingue de la leucemia aguda. Otras enfermedades con incidencia aumentada de leucemia, son hemoglobinuria paroxística nocturna, anemia aplásica, mieloma múltiple y linfoma. Es interesante señalar que todos estos padecimientos se consideran producidos por alteración de las células precursoras, donde el efecto hematológico primario radica en células precursoras mieloides, linfoides o pluripotenciales, (Lee RG & Thomas MW, 1993).

Es más probable que la leucemia no se deba a un factor sino a un conjunto de aspectos epigenéticos que incluyen factores genéticos y exposiciones ambientales. También es probable que la causa varíe de una persona a otra y que algunas sean más susceptibles a los trastornos hematopoyéticos, (Lukens NJ, Thomson LN & Jones RJ, 1994).

De estudios en animales de laboratorio, se ha propuesto la intervención posible de cuatro factores: Susceptibilidad genética, mutación somática, infección viral y disfunción inmunológica, (Pizzuto FJ, 1993).

A.2.1 SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA

Muchas son las pruebas que indican que factores hereditarios y material genético anormal tienen efectos leucemogénicos importantes. Cierta número de personas que padecen anomalías genéticas relacionadas con cariotipos anormales, presentan un riesgo notablemente elevado de desarrollar leucemia aguda. De estas anomalías, la que mejor se conoce es el síndrome de Down. Varios otros trastornos genéticos se relacionan también con un incremento en el riesgo de leucemia, como anemia de Fanconi, síndrome de Klinefelter, síndrome de Bloom, síndrome de Wiscott-Aldrich y síndrome de Diamond-Blackfan, (Pizzuto FJ, 1993; Rapaport IS, 1985).

Las pruebas que apoyan la asociación de factores genéticos con la aparición de leucemia, provienen de estudios familiares. Se sabe de incidencia mayor de leucemia entre gemelos monocigotos (mayor de la que se espera por simple probabilidad). Al parecer, el índice de concordancia en gemelos, prevalece más en niños pequeños y el principio de la enfermedad tiende a producirse en sucesión muy próxima, (Pizzuto FJ, 1993; Rapaport IS 1985).

Puede ser que existan diferentes mutaciones como una delección, (parte de un cromosoma se halla ausente pudiendo ser homocigoto o heterocigoto), duplicación (un segmento del cromosoma está representado dos veces o más), traslocación (intercambio entre segmentos de cromosomas no homólogos), o una inversión (fractura de un segmento seguida de la fusión en posición invertida)

A.2.2 MUTACIÓN SOMÁTICA

La mutación de células somáticas es un cambio que se adquiere en el material genético de las células que no intervienen en la reproducción. La posibilidad de que estas mutaciones desempeñen un papel en la leucemogénesis, ayudaría a explicar la acción de la radiación y las toxinas químicas en la leucemia aguda. La radiación y algunos compuestos químicos pueden causar algunas mutaciones cromosómicas, (Pizzuto FJ, 1993; Rapaport IS, 1985).

Se ha observado que, después de tratamiento con agentes alquilantes y otros medicamentos quimioterapéuticos, usados para muchas clases de neoplasias, hay un incremento en la leucemia. El único compuesto químico específico, diferente a los empleados como fármacos, que se considera implicado en la etiología de la leucemia, es el benceno. La exposición crónica al mismo es un riesgo ocupacional de los zapateros en Italia y Turquía. La frecuencia de leucemia en estas personas es alrededor de 13/100,000, bastante arriba de la incidencia en la población general.

(Braunwald EH, Bowyer RK & Minelli RH, 1987).

De tiempo atrás se ha reconocido que la radiación ionizante es capaz de inducir leucemia, como se hizo evidente por los resultados de la exposición de seres humanos a la radiación de las reacciones nucleares, a la radiación terapéutica y a la radiación en centros de trabajo. En Japón, después de las exposiciones nucleares en 1945 en Hiroshima y Nagasaki, hubo un incremento notable en el desarrollo de leucemia entre los supervivientes. La incidencia máxima se produjo entre seis y siete años después de la explosión. La ocurrencia de leucemia se relacionó directamente con los niveles de exposición, es decir, la frecuencia fue mayor en aquellas víctimas expuestas a 100 o más radiaciones (rems). Un aumento en la incidencia de leucemia se conoce también en personas que reciben radiación terapéutica para espondilitis anquilosante, enfermedad de

Hodgkin y policitemia vera. Durante años, antes de conocer los riesgos de la radiación, la frecuencia de leucemia entre radiólogos era varia veces mayor que en la población general. Con el advenimiento de las medidas de seguridad el índice de mortalidad entre estos profesionistas disminuyó en forma considerable. Los informes de leucemia respaldan el papel leucemogénico de las dosis pequeñas de radiación por períodos prolongados, (Williams WH et.al, 1995; Shirlyn BM, 1996).

Agentes capaces de producir cáncer, el cual no se hubiera desarrollado sin su influencia o bien, incrementan el riesgo:

CARCINÓGENOS DIRECTAMENTE ACTIVOS:

Agentes alquilantes (mostaza nitrogenada, ciclofosfamida, melfalan) y agentes orgánicos derivados del arsénico (principalmente sulfhidrilos).

CARCINÓGENOS QUE DEBEN SER METABOLIZADOS:

Hidrocarburos aromáticos (benzantraceno, metilcolantreno, benzopireno), aminas aromáticas (anilinas), nitrosaminas (humo de tabaco) e hidrazinas (procarbacin).

CARCINÓGENOS NATURALES QUE ALTERAN LOS ALIMENTOS:

Alcaloides y aflatoxina, (Williams WH et.al, 1995; Shirlyn BM, 1996).

A.2.3 INFECCIÓN VIRAL

Se ha comprobado que los retrovirus causan leucemia en animales de laboratorio, aunque no se dispone de pruebas definitivas para un papel viral semejante en la leucemia humana. Los retrovirus contienen la enzima transcriptasa inversa que les permite producir una copia de DNA del RNA viral. Luego, ese DNA puede ser trasladado para sintetizar más genomas del virus o se incorpora en el DNA nuclear de la célula huésped. La prueba más fehaciente de la existencia de un virus leucemogénico en el hombre proviene del aislamiento de un retrovirus tipo C humano, conocido como virus de leucemia de célula T/linfoma humano (HTLV): El virus se ha identificado en cultivos de líneas celulares de pacientes con neoplasias de los linfomas T maduros. Al parecer éste virus prevalece en Japón y algunas regiones del Caribe. No está clara la forma en que los virus inducen leucemia, aunque se sospecha que la incorporación del genoma viral al DNA del huésped puede conducir a un rompimiento de la regulación celular normal ejercida sobre la expresión de la información genética, (Pizzuto FJ, 1993; Rapaport IS, 1985).

1.2.4 DISFUNCIÓN INMUNOLÓGICA

Se sabe que es mayor la frecuencia de leucemia linfocítica en personas con trastornos inmunológicos congénitos y adquiridos. Estos trastornos incluyen las enfermedades inmunológicas hereditarias: síndrome de Wiskott-Aldrich, agammaglobulinemia ligada a X de Bruton y ataxia telangiectasia. Así mismo, se ha observado una relación entre tratamiento prolongado de pacientes con agentes inmunodepresores (por ejemplo, en trasplante renal) y leucemia. Es posible que la autovigilancia inmunológica mediada por células y/o una producción deficiente de anticuerpos contra antígenos extraños, conduzca a la producción y supervivencia de células malignas, (Pizzuto FJ, 1993; Rapaport IS, 1985):

B. CLASIFICACIÓN DE LEUCEMIAS

Como ya se mencionó, la clasificación de las leucemias se ha intentado desde la época de Virchow en el siglo pasado. El interés en la clasificación se apoya en tres razones: (a) proporciona a clínicos e investigadores un método de comparación para los diversos regímenes terapéuticos; (b) es un sistema para identificar y cotejar las características clínicas y los resultados de laboratorio y (c) permite relacionar las anormalidades genéticas con la enfermedad.

Las leucemias agudas son un trastorno hematológico en el cual hay una proliferación desordenada de células hematopoyéticas, (Aguilar LR, Reyes RA & Hernández PM, 1994). La falla de los mecanismos de control negativo del crecimiento clonal mutante casi siempre se debe a cambios en los genes reguladores del ciclo de división celular, lo que conduce a sobreproducción sin sentido de células incapaces de madurar y funcionar normalmente. Las células malignas individuales maduran con lentitud y de manera incompleta; el tiempo de su ciclo celular a menudo es prolongado y la mayoría de dichas células incompetentes sobrevive más que las normales. Estas células malignas no cumplen sus función, es decir, este trastorno se caracteriza por una exagerada producción y la maduración está bloqueada. Así, hay una exagerada liberación de leucocitos morfológica y fisiológicamente afectados desde la médula ósea a sangre periférica y a otros tejidos. En sangre periférica, la cuenta total de leucocitos puede estar baja, normal o alta y en el frote sanguíneo, la mayoría de las células son muy inmaduras. Su tiempo de evolución es muy rápido, (Williams WH et.al, 1995; Rapaport IS, 1985; Ruiz AG, 1994).

Las leucemias crónicas se caracterizan por una exagerada producción, maduración y liberación de leucocitos morfológica y fisiológicamente afectados desde la médula ósea a sangre periférica y otros tejidos. Su evolución es más

larga, puede cursar durante algunos años sin causar trastornos graves, por lo que los pacientes tienen una mayor supervivencia, (Ruiz AG, 1994).

Dentro de la clasificación de aguda y crónica, las leucemias se subdividen en forma general en mieloide y linfoide de acuerdo con el tipo celular que predomina y se identifican por la presencia de células diferenciadas de morfología reconocida. Aunque en muchos casos es difícil distinguir sólo por su morfología los linfoblastos de mieloblastos, monoblastos, megacarioblastos o eritroblastos. Sin embargo, la distinción es importante para que el médico seleccione la terapéutica apropiada, (Shirlyn BM, 1996).

B.1 LEUCEMIAS CRÓNICAS

B.1.1 LEUCEMIA GRANULOCÍTICA CRÓNICA

La leucemia granulocítica crónica es una proliferación neoplásica predominantemente de la serie granulocítica, sin embargo, se observan alteraciones en la serie roja y en las plaquetas, lo cual indica, que el origen de la entidad parte de la célula madre. Esta enfermedad se ha relacionado con una anomalía cromosómica (traslocación del cromosoma 22 al 9; t:9q+:22q-) que se denomina Cromosoma Filadelfia (Cr Phi), la cual se observa en más del 90% de los pacientes, (Aguilar LR, Reyes RA & Hernández PM, 1994).

La enfermedad en México es menos común que la leucemia aguda pero un poco más habitual que la leucemia linfocítica crónica, esto es muy diferente de lo que ocurre en los países anglosajones, donde la leucemia linfocítica crónica es mucho más frecuente. La entidad se puede observar a cualquier edad, pero en los niños sólo constituye el 3% de las leucemias en general, su frecuencia aumenta gradualmente y predomina en adultos jóvenes o de edad mediana. Es más

frecuente en varones que en mujeres con una relación de tres a dos, (Williams WH et.al, 1995; Ruiz AG, 1994).

La leucemia granulocítica crónica se puede clasificar en forma clínica en:

Típica: Cromosoma Filadelfia presente.

Atípica: Cromosoma Filadelfia ausente.

Variedad juvenil: Atípica del niño, (Ruiz AG, 1994).

ANATOMÍA PATOLÓGICA

La célula proliferante no es una en especial, como en el caso de las leucemias agudas, sino prácticamente todas las células hematopoyéticas, si bien predomina la serie granulocítica. La médula ósea es de hecho de poca utilidad para el diagnóstico, ya que sólo se observa hiperplasia granulocítica, la cual es inespecífica en ausencia de un cuadro clínico y de laboratorio característico. En ocasiones existe cierto grado de fibrosis, los elementos maduros de la serie granulocítica demuestran disminución de la fosfatasa alcalina leucocitaria y el hallazgo más consistente y específico es la presencia del cromosoma filadelfia. La proliferación de células se correlaciona con crecimiento esplénico y, en menor grado, hepático, también se puede encontrar hematopoyesis extramedular en otros sitios. Pocas veces se halla invasión a otros tejidos, (Ruiz AG, 1994).

SIGNOS Y SÍNTOMAS

Incluyen fatiga, intranquilidad, disminución de la tolerancia al esfuerzo, anorexia, desórdenes abdominales, pérdida de peso y excesiva sudoración. Los síntomas son vagos, no específicos. Una examinación física puede detectar palidez y esplenomegalia, (Williams WH et.al, 1995).

Los síntomas que se presentan poco comunes incluyen aquellos de hipermetabolismo (sudoración nocturna, intolerancia a escuchar) simulando tirotoxicosis, artritis aguda, presumiblemente relacionada a hiperuricemia, hay dolor del hombro izquierdo como consecuencia de infarto esplénico y urticaria asociada con hiperhistaminemia. También puede ocurrir una dermatosis aguda febril y una infiltración perivascular de neutrófilos en la dermis. Es característico que se presente fiebre acompañada por lesiones dolorosas máculo-nodulares en el tronco, brazos, piernas y cara. Es poco frecuente la ruptura espontánea del bazo, (Williams WH et.al, 1995).

CUADRO 1: SÍNTOMAS Y SIGNOS OBSERVADOS EN PACIENTES CON LEUCEMIA GRANULOCÍTICA CRÓNICA

<u>SÍNTOMAS</u>	<u>% DE PACIENTES</u>
FATIGA	83
PÉRDIDA DE PESO	61
PLENITUD ABDOMINAL	38
SANGRADO	35
DOLOR ABDOMINAL	33
<u>HALLAZGOS FISICOS</u>	
ESPLENOMEGALIA	95
HEPATOMEGALIA	48
DOLOR ESTERNAL	78
PÚRPURA	27
HEMORRAGIA RETINAL	21
FIEBRE	11
NÓDULOS LINFÁTICOS PALPABLES	64

(Williams WH et.al, 1995):

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El diagnóstico de leucemia granulocítica crónica se realiza con los resultados de la cuenta de células sanguíneas y el exámen del frote sanguíneo. El hematocrito está disminuido en la mayoría de los pacientes. Los glóbulos rojos están solo ligeramente alterados, con un incremento en el grado de anisocitosis y ocasionalmente formas de eritrocitos irregulares. Se presenta un número pequeño de eritroblastos. La cuenta de reticulocitos es normal o ligeramente elevada, pero clínicamente es raro que exista una hemólisis significativa, (Williams WH et.al, 1995).

La cuenta total de leucocitos es siempre elevada, algunos arriba de $2.5 \times 10^9/L$ y la mitad de los pacientes arriba de $10 \times 10^9/L$. Los pacientes pueden tener severas variaciones cíclicas en la cuenta total de leucocitos. Se presentan granulocitos en todos los estados de desarrollo y son generalmente normales en apariencia. También se presentan comúnmente neutrófilos hipersegmentados, (Williams WH et.al, 1995):

La actividad de la fosfatasa alcalina es baja o ausente en aproximadamente el 90% de los pacientes con leucemia granulocítica crónica

La proporción de eosinófilos usualmente no está incrementada. Raramente, los eosinófilos pueden ser tan prominentes como para dominar las células granulocíticas. Un incremento absoluto de los basófilos está presente en cada paciente, y este hallazgo puede ser útil para una consideración preliminar del diagnóstico diferencial. La proporción de basófilos no es mayor del 10 al 15% durante la fase crónica pero puede, en algunos pacientes, representar del 30 al 80% de la cuenta total de leucocitos durante la fase aguda y permitir la designación de Cromosoma filadelfia basofílico positivo, (Williams WH et.al, 1995).

La cuenta total absoluta de linfocitos está aumentada como resultado de un incremento balanceado en las células T cooperadoras y las células T supresoras. Los linfocitos B no están aumentados. Los linfocitos T están aumentados en el bazo. La actividad de las células asesinas naturales es detectada en pacientes con LGC como resultado de una maduración disminuida en estas células in vivo.

La cuenta plaquetaria está elevada en más del 50% de los pacientes y es normal en el resto. La cuenta plaquetaria puede incrementarse durante el curso de la fase crónica, pueden ser frecuentes las cuentas superiores a $1000 \times 10^9/L$. Pueden presentarse complicaciones trombohemorrágicas. Ocasionalmente, la cuenta plaquetaria es normal, (Williams WH et.al, 1995; Heckner F & Platt RJ, 1994).

Anormalidades funcionales de los neutrófilos como adhesión, fagocitosis, se pueden presentar en forma moderada pero son compensadas por altas concentraciones de neutrófilos, y no predisponen a los pacientes en la fase crónica a infecciones por organismos oportunistas. Disfunciones plaquetarias pueden ocurrir pero no están asociadas con sangrados espontáneos o exagerados, (Heckner F & Platt RJ, 1994).

La médula ósea es marcadamente hipercelular y el tejido hematopoyético ocupa del 75 al 90% del volumen de la médula. La granulopoyesis es dominante. La eritropoyesis está usualmente disminuida, y los megacariocitos son normales o aumentados. Los eosinófilos y los basófilos pueden estar aumentados, usualmente, en proporción a su incremento en la sangre. Las formas mitóticas están aumentadas en número. Algunas veces se presentan células de Gaucher, (Williams WH et.al, 1995; Heckner F & Platt RJ, 1994).

EVOLUCIÓN

La mayoría de los pacientes en LGC pasan de una fase crónica o de diagnóstico a una fase de remisión en la cual hay desaparición de síntomas, ausencia de visceromegalia, hemoglobina superior a 10 g/L y recuento leucocitario menor de $15 \times 10^9/L$, posteriormente entran a una fase de metamorfosis en la cual hay alteraciones en la serie eritroide, plaquetaria y granulocítica como las siguientes:

SERIE ERITROIDE: Anemia o policitemia, anisocitosis, dacriocitos, eritroblastos, reticulocitopenia y alteraciones megaloblásticas.

SERIE GRANULOCÍTICA: Desviación a la izquierda, formas agranulares, blastos mayor al 10%.

SERIE PLAQUETARIA: Incrementadas o disminuidas, gigantes y bizarras, disfuncionales, (Nieto CR, 1991).

Posteriormente se presenta la manifestación más severa de este tipo de Leucemia que es la crisis blástica en la cual hay una palidez creciente, gran malestar general, astenia y fatiga, anorexia y pérdida de peso, fiebre y aumento de la esplenomegalia (dolorosa) así como de la hepatomegalia. Junto con estos hechos clínicos aparecen otros datos como adenomegalias, dolores óseos, artralgias, mialgias y, sobre todo, síntomas de fracaso medular (anemia, diátesis hemorrágica, infecciones, etc), (Franklin ZM, Richard WL & Green JT, 1988; Henderson ES, Hull J & Proctor SW, 1990; Nieto CR, 1991).

TRATAMIENTO

El objetivo de la terapéutica es reducir la masa leucocitaria, mejorar la función de la médula ósea, disminuir la esplenomegalia y suprimir los síntomas.

El medicamento más utilizado es un agente alquilante, busulfán. En un lapso entre dos y seis semanas se observa respuesta favorable en la mayoría de los casos, lo que permite reducir el tratamiento por períodos variables, (Ruiz AG, 1998).

Otro medicamento es la hidroxiurea ya que la respuesta es más rápida y la toxicidad menor y predecible (el busulfán puede causar daño permanente a médula ósea y fibrosis pulmonar). Otra opción terapéutica es el uso de una proteína humana denominada interferón alfa, éste es capaz de mantener la remisión de la enfermedad y reducir las células cromosoma Filadelfiapositivas. Tiene como inconvenientes su alto costo y puede causar efectos colaterales como fiebre, astenia, cefalea y dolor óseo. El interferón en la actualidad es probablemente la mejor opción terapéutica y puede combinarse con quimioterapia, (Shirlyn BM, 1996).

A veces, se emplea leucoféresis para disminuir la masa de las células. Las medidas de sostén durante los regímenes del tratamiento incluyen transfusión para anemia grave y antibióticos contra las infecciones. No se conoce tratamiento alguno que prevenga la transformación blástica, (Ruiz AG, 1998).

PRONÓSTICO

La evolución natural de la leucemia granulocítica crónica, una vez que se detecta en forma clínica, tiene una duración de aproximadamente tres o cuatro años. La enfermedad al inicio se mantiene estable y responde en forma adecuada y rápida al tratamiento (fase crónica) después de algunos años la respuesta es poca y la enfermedad se vuelve más agresiva y resistente (fase acelerada) para posteriormente en un lapso menor a un año transformarse en una enfermedad aguda con la presencia de numerosos blastos (más del 20%) que finalmente termina con la vida del enfermo (crisis blástica): A veces, existen otros cambios diferentes a lo señalado, sin embargo, la mayoría de los sujetos muere en esta fase. El pronóstico depende básicamente del tiempo de evolución antes del diagnóstico y de la clasificación clínica de la entidad, ya que las variantes atípicas de ésta suelen tener un pronóstico peor. La llamada "variante juvenil" es muy agresiva y presenta características clínicas atípicas como lesiones en piel, gran organomegalia y poca respuesta al tratamiento. En algunas ocasiones, se ha observado individuos con supervivencias mayores a 10 años y quizás esto se deba a desaparición por reducción máxima de la clona celular Cromosoma Filadelfia positiva; sin embargo, la supervivencia habitual oscila entre los tres y cuatro años a partir del momento del diagnóstico si el paciente recibe sólo quimioterapia y mejora considerablemente en aquellos pacientes que responden a interferón, (Franklin ZM, Richard WL & Green JT, 1998; Henderson ES, Hull H & Proctor SW, 1990; Nieto CR, 1991).

El pronóstico de la enfermedad es difícil de establecer en cada caso particular, aunque datos tales como la rapidez de comienzo y progresión, el tamaño del bazo, la severidad de la anemia y/o trombocitopenia, la mieloblastosis importante, la ausencia de cromosoma Filadelfia, la eosinofilia y basofilia exageradas, las adenomegalias, etc., pueden hacer pensar en una evolución corta, (Rapaport IS, 1985).

B.1.2 LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA

La leucemia linfocítica crónica es una neoplasia hematológica que se caracteriza por proliferación y acumulación de linfocitos de aspecto relativamente maduro o normal en la sangre, médula ósea y tejido linfoide. Esta leucemia se origina, en 90% de los casos, en linfocitos de tipo "B". La leucemia linfocítica crónica es la leucemia más común en Estados Unidos y Europa, y comprende 30% de todos los casos de aquella entidad. En el Lejano Oriente es muy escasa y en México, aunque se observa con alguna frecuencia, probablemente ocupa el último lugar, sólo antes que la leucemia de células peludas, (Williams' WH et.al, 1995; Ruiz AG, 1994).

La enfermedad aparece de manera típica en individuos mayores de 50 años, es infrecuente en extremo en adultos menores de 35 años y muy excepcional en niños. Prevalece en el sexo masculino en una proporción 2:1, (Ruiz AG, 1994).

En este padecimiento, al igual que en el resto de las leucemias, la radiación, los agentes químicos, etc., pueden desempeñar un papel etiológico importante, sin embargo, estudios recientes han implicado en gran medida a los virus como causa etiológica más probable en esta enfermedad, y de hecho se han demostrado partículas virales en células cultivadas de pacientes con leucemia linfocítica crónica, (Ruiz AG, 1994).

ANATOMÍA PATOLÓGICA

Los órganos afectados casi en forma exclusiva son aquéllos en que normalmente se encuentra tejido linfoide, como sangre, médula ósea, ganglios linfáticos y bazo.

Muy pocas veces se hallan infiltraciones a otros órganos, y más que proliferación acelerada de estas células, en apariencia existe supervivencia prolongadas de las mismas y, en consecuencia, acumulación de los linfocitos en los órganos señalados. El diagnóstico casi siempre requiere estudio por medio de aspiración de médula ósea, en que se observa infiltración variable de linfocitos. Por lo menos al inicio de la enfermedad, dicha infiltración ocurre en forma nodular e irregular, lo cual se asocia con mejor pronóstico que cuando la médula ósea se encuentra infiltrada de manera difusa, (Ruiz AG, 1994).

CUADRO CLÍNICO:

Manifestaciones diagnósticas: Dado que la acumulación linfocitaria se realiza de manera muy lenta (con muy pocas repercusiones iniciales), en casi un tercio de los casos el diagnóstico del proceso se hace de manera más o menos casual. Esto ocurre generalmente al practicar un hemograma de rutina a adultos mayores a los que se está estudiando por causas diversas, no relacionadas con leucemia linfocítica crónica, (Ruiz AG, 1994). En muchos de estos pacientes no existen adenopatías palpables en el momento del diagnóstico. La mayoría de los pacientes acude al médico por haberse palpado adenopatías de diferente localización. Otros pacientes solicitan atención médica por manifestaciones generales diversas (astenia, pérdida de peso, infecciones de repetición, herpes zoster u otras manifestaciones cutáneas, trastornos abdominales, etc), (Ruiz AG, 1994).

Las manifestaciones clínicas más importantes son las secundarias a la hipertrofia progresiva de órganos linfoides, tales como los ganglios y el bazo. En fase relativamente temprana de la enfermedad, suele ser ya apreciable un cuadro progresivo de poliadenopatías que afecta en la mayoría de los pacientes a las zonas cervicales, supraclaviculares, axilares e inguinales. Se trata de adenopatías de tamaño variable, no dolorosas, de consistencia elástica, no adheridas entre sí ni

a otros planos hísticos y, por tanto, movibles y resbaladizas a la palpación. Son raras las adenopatías mediastínicas e hiliopulmonares, por el contrario, la afección ganglionar abdominal es relativamente precoz, aunque en fases avanzadas llegan a ser palpables los ganglios mesentéricos. Raras veces, las adenopatías son gigantes, sobre todo en fases iniciales o de estado de la enfermedad, siendo este dato más propio de linfomas malignos o de la malignización local del proceso (síndrome de Richter). Por estas consideraciones sobre la consistencia y el tamaño ganglionar en la leucemia linfocítica crónica, es perfectamente comprensible que los cuadros de compresión de partes blandas sean excepcionales (síndrome mediastínico, ictericia obstructiva, hidronefrosis, linfedema de extremidades, ascitis quillosa, etc), (Ruiz AG, 1994).

La segunda afección de órganos linfoides en la enfermedad es sin duda una esplenomegalia que se puede encontrar con o sin adenopatías en un 30-40% de los casos, en fase diagnóstica, para llegar a un 60% de los casos en fases avanzadas, (Ruiz AG, 1994).

Dentro de la infiltración de órganos o sistemas extrahematopoyéticos hay que descartar una cierta hepatomegalia, generalmente discreta, que aparece en un 10-20% de los casos, en fase diagnóstica, (Ruiz AG, 1994).

También puede haber manifestaciones dermatológicas que aparecen en un 10% de los casos, éstas pueden ser inespecíficas, como son prurito, herpes zoster y diversas formas de estafilodermias.

Por último siendo un proceso preferentemente linfoacumulativo, son poco llamativos, en fases iniciales, los síntomas como astenia, pérdida de peso, febrícula, sudores nocturnos, etc. Estos aparecen en los estadios avanzados del proceso, (Ruiz AG, 1994).

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

En un adulto, el hecho más característico de la leucemia linfocítica crónica es la presencia de una linfocitosis sanguínea. La tasa de linfocitos es variable en cada paciente, según el momento del diagnóstico. En estadios iniciales es discreta ($0.5 \times 10^9/L$ - $1.5 \times 10^9/L$) y sólo en un 10% de los pacientes dicha linfocitosis supera $10 \times 10^9/L$ al descubrirse la enfermedad, (Sánchez FJ, 1993).

Los glóbulos rojos son típicamente normocíticos, normocrómicos. Cerca del 15% de los pacientes presentan anemia normocítica. Alrededor del 20% de los pacientes presenta una prueba de Coombs positiva y cerca del 8% presenta una anemia hemolítica autoinmune, (Williams WH et.al, 1995).

La población linfocitaria periférica está formada por células homogéneamente pequeñas, con núcleo redondo, citoplasma reducido y cromatina gruesa. La cromatina aparece como "segmentada", como "rebanadas de pastel", que no se encuentra en las linfocitosis reactivas. También se presentan núcleos destruidos, pues las células son muy lábiles, (Carrillo FJ, 1995).

La trombocitopenia es una complicación tardía y generalmente secundaria a ocupación medular, aunque en casos aislados pueden existir mecanismos periféricos autoinmunes o de hiperesplenía, (Sánchez FJ, 1993).

El estudio del aspirado medular suele mostrar, muy precozmente, un grado variable de infiltración linfocítica, sin apenas actividad mitótica, de morfología idéntica a la sanguínea, (Sánchez Fj, 1993).

El estudio de marcadores inmunológicos en linfocitos sanguíneos es el que define la naturaleza B de más del 95% de las leucemias linfocíticas crónicas. En todas ellas la tasa de rosetas con hematíes de carnero es muy baja, mientras que en casi todas la formación de rosetas murinas está elevada.

La presencia de inmunoglobulinas es positiva en el 80-90% de los casos, aunque generalmente con fluorescencia suave. Estas células son también portadoras de algunos antígenos de membrana (B1, B2, etc) detectados con anticuerpos monoclonales, (Sánchez FJ, 1993).

ALTERACIONES INMUNOLÓGICAS

Entre éstas destaca una hipogammaglobulinemia que puede aparecer entre 20-40% de los casos, en el momento del diagnóstico. En un 1-2% de pacientes con leucemia linfocítica crónica se descubre la presencia en el suero de una inmunoglobulina monoclonal (IgG o IgM), generalmente, de las mismas características inmunológicas de las encontradas en la membrana linfocitaria de dichos pacientes, (Ruiz AG, 1994).

EVOLUCIÓN

Hoy en día se sabe que la acumulación hística de linfocitos inmunoincompetentes en la leucemia linfocítica crónica no se realiza de manera caprichosa, sino siguiendo un cierto orden secuencial (sangre y médula ósea---ganglios---bazo e hígado). Este hecho ha permitido, en estos últimos años, diseñar diferentes estadios del proceso, en cada uno de los cuales se incluyen los pacientes que acumulan una serie de datos clínico-biológicos a los que se ha atribuido un cierto significado pronóstico. Son varias las clasificaciones

propuestas, pero vamos a mencionar la clasificación de Kanti Rai y la clasificación internacional de Binet de 1975 (Sánchez FJ, 1993).

CUADRO 2: CLASIFICACIÓN DE RAI

ESTADO	HALLAZGOS CLINICOS	SUPERVIVENCIA EN MESES
O	Linfocitosis sanguínea y medular	Mayor a 150
I	Estadio 0 + adenopatías	101
II	Estadio 0 + esplenomegalia y/o hepatomegalia y/o adenopatías	Mayor a 71
III	Estadio 0 + anemia (Hb < 11 g/L) independientemente de que existan adenopatías, etc.	19
IV	Estadio 0 + trombocitopenia (menos de 100×10^9 L), independientemente de adenopatías, etc.	19

(Sánchez FJ, 1993).

CUADRO 3: CLASIFICACION INTERNACIONAL DE BINET

ESTADO	HALLAZGOS CLÍNICOS	SUPERVIVENCIA EN AÑOS
A	Menos de tres zonas afectadas* Hb>100 g/L Plaquetas>100x10 ⁹ L	> 10
B	Tres o más zonas afectadas* Hb>100 g/L Plaquetas>100x10 ⁹ L	5
C	Hb<100 g/L Plaquetas<100x10 ⁹ L	2

*Zonas a valorar: ganglios cervicales, axilares, inguinales, bazo palpable, e hígado palpable, (Sánchez FJ, 1993).

El curso evolutivo de estos pacientes suele estar acompañado de complicaciones infecciosas, manifestaciones hemorrágicas tardías por trombocitopenia, cuadros hemolíticos autoinmunes en algunos casos y fenómenos de compresión con menor frecuencia. También es conocida la incidencia en enfermos de leucemia linfocítica crónica de diversos cánceres (cutáneos,

digestivos, genitourinarios y broncopulmonares) es tres veces superior a lo normal. Igualmente puede aparecer, en raras ocasiones, una leucemia aguda no linfocítica como segunda neoplasia, (Sánchez FJ, 1993).

Independientemente de todo esto, el trastorno linfocítico que define la enfermedad puede seguir una evolución variable en diferentes etapas:

1) En una pequeña proporción de los casos (sin duda inferior al 1%) una "aparente" leucemia linfocítica crónica experimenta una regresión espontánea (temporal o automantenida), (Sánchez FJ, 1993).

2) En una proporción más sensible (5-10%), la situación clínico-hematológica parece quedar "estabilizada", al menos durante mucho tiempo, sin signos de progresión. La mayoría de estos pacientes fallecen de "otra patología" propia de la edad, (Sánchez FJ, 1993).

3) Finalmente, en la mayoría de los pacientes ocurre una progresión continua de la enfermedad. En todos ellos dicha progresión significa un incremento de la masa tumoral y el fracaso inexorable de la hemopoiesis mieloide. Sin embargo, en una pequeña fracción de estos últimos asistimos a un cierto grado de metamorfosis citohistológica del proceso, (Sánchez FJ, 1993).

Esta metamorfosis puede adoptar rasgos diferentes: a) pocas veces adquiere el aspecto de una leucemia aguda linfoblástica. b) con mayor frecuencia muestra rasgos morfológicos de una leucemia prolinfocitoide y c) en una cierta proporción de los pacientes (5-10%) se puede detectar territorios (ganglionares o extraganglionares) de un cuadro de linfoma inmunoblástico, (Sánchez FJ, 1993).

La aparición de este último debe sospecharse ante una leucemia linfocítica crónica, en fase terminal, con brusco crecimiento de un territorio ganglionar, con

dolores locales y/o efecto compresivo, asociado a fiebre no infecciosa. Por último, en casos excepcionales, en el seno de una leucemia linfocítica crónica puede aparecer un mieloma múltiple. En todos estos casos de "metamorfosis" el fenotipo inmunológico de la nueva población celular es idéntico al de la leucemia linfocítica crónica de la que procede, (Sánchez FJ, 1993).

TRATAMIENTO

En la leucemia linfocítica crónica, en muchos de los pacientes, la enfermedad es leve y sutil que no requiere tratamiento alguno, en particular, en individuos con recuento linfocitario bajo, sin anemia o trombocitopenia y con ausencia de crecimiento ganglionar y esplénico. Se considera que estos enfermos se encuentran en un estadio temprano, lo cual no se modifica prácticamente con el tratamiento convencional. La terapéutica que a menudo se utiliza es la quimioterapia a base de un agente alquilante que impide la división del DNA y un corticosteroide que es capaz de destruir linfocitos inmaduros. Este tratamiento se reserva para aquellos pacientes en etapas más avanzadas de la enfermedad, (Shirlyn BM, 1996).

El objetivo del tratamiento es controlar y, en su caso, hacer retroceder los efectos negativos del padecimiento. Tratamientos más agresivos suelen ser poco útiles y se asocian con mayor frecuencia de complicaciones, en especial de tipo infeccioso, (Shirlyn BM, 1996).

PRONÓSTICO

De las leucemias linfocíticas crónicas, la mayoría es del tipo B, lo cual casi siempre implica buen pronóstico y supervivencia promedio cercana a los cinco años. Sin embargo, se han observado algunos pacientes que han sobrevivido por

períodos mayores, algunos hasta 15 años desde el momento de su diagnóstico. Se han presentado enfermos con estadios clínicos más avanzados al momento del diagnóstico, o bien con fenotipo leucémico tipo T, la supervivencia promedio suele ser menor de tres años, (Shirlyn BM, 1996).

B.2 LEUCEMIAS AGUDAS

Las leucemias agudas son un grupo heterogéneo de padecimientos que suponen proliferación desordenada de una clona de células hematopoyéticas. La falla de los mecanismos de control negativo del crecimiento clonal mutante casi siempre se debe a cambios en los genes reguladores, lo que conduce a sobreproducción sin sentido de células incapaces de madurar y funcionar normalmente. Las células malignas individuales maduran con lentitud y de manera incompleta, el tiempo de su ciclo celular a menudo es prolongado y la mayoría de dichas células incompetentes sobrevive más que las normales. La proliferación de blastos en la médula ósea, el desplazamiento de los precursores medulares normales y la invasión del resto de los órganos de la economía son los mecanismos principalmente responsables de los efectos devastadores de la enfermedad, (Henderson ES, Hull J & Proctor SW, 1990; Ruiz AG, 1994).

La letalidad media anual de las leucemias agudas es de tres a cinco casos por cada 100,000 habitantes y hay una tendencia notable al aumento del padecimiento, (Williams WH et.al, 1995).

B.2.1 CLASIFICACIÓN

La mejor clasificación que puede efectuarse de una leucemia aguda es la clasificación MIC (morfológica, inmunológica y citogenética), (Williams WH, 1995).

B.2.1.1 CLASIFICACIÓN MORFOLÓGICA

En 1976, fueron propuestos por un grupo internacional de investigadores (franceses, americanos y británicos) los criterios para realizar la clasificación morfológica de las leucemias agudas, que las dividían en nueve tipos, tres de estirpe linfoide y seis de estirpe mieloide, (Williams WH et.al, 1995; Franklin ZM, Richard WL & Green JT, 1988).

El desarrollo de esta clasificación franco-americana-británica (FAB) fue estimulado por la necesidad de un esquema que unificara los criterios morfológicos y sirviera para correlacionarlos con el pronóstico de la enfermedad. Algunos años más tarde y ante el cúmulo de información generada por el uso de inmunorreactivos para clasificar células leucémicas, los mismos miembros del grupo FAB agregaron a esta clasificación inicial dos variedades más de leucemia mieloblástica (M₀ y M₇) las que estrictamente no pueden ser diagnosticadas solo con bases morfológicas, ya que se requieren estudios adicionales para ser definidas, (Ruiz AG, 1994).

Se describen a continuación los 11 tipos de leucemias agudas que en la actualidad reconoce el grupo FAB.

- * LA-L1: Linfoblástica "típica"
- * LA-L2: Linfoblástica "atípica"
- * LA-L3: Parecida al linfoma de Burkitt, (Ruiz AG, 1994).

- * LA-MO: Mieloblástica mínimamente diferenciada
- * LA-M1: Mieloblástica inmadura
- * LA-M2: Mieloblástica con maduración
- * LA-M3: Promielocítica hipergranular
- * LA-M4: Mielomonoblástica
- * LA-M5: Monoblástica pura
- * LA-M6: Eritroleucemia
- * LA-M7: Megacarioblástica, (Ruiz AG, 1994).

Cuando se emplea la morfología panóptica convencional como medio único para efectuar la clasificación de las leucemias agudas, se pueden cometer errores diagnósticos, y en consecuencia terapéuticos, aproximadamente en 20% de los casos de leucemia aguda. Las equivocaciones más frecuentes son: no diferenciar entre variedades L1 y MO, L2 y MO, L1 y M1, y L2 y M1, no reconocer las variantes MO y M7, no distinguir una LAM-M3 microgranular de una LAM-M4, y no diferenciar una LAM-M5a de un linfoma centroblastico/inmunoblástico en fase leucémica. El empleo de tinciones citoquímicas, clasificación inmunológica de las leucemias, citogenética y, en algunos casos, microscopía electrónica, permite establecer con certeza la naturaleza de las células malignas y, por lo tanto, efectuar diagnóstico preciso y tratamiento adecuado, (Ruiz AG, 1994).

B.2.1.2 CLASIFICACIÓN INMUNOLÓGICA

Los marcadores inmunológicos, al identificar las células a través de sus características antigénicas, han permitido en el estudio de células hematopoyéticas: a) reconocer estirpes o tipos celulares que difícilmente pueden clasificarse mediante métodos morfológicos y citoquímicos convencionales, b) establecer subgrupos inmunológicos en poblaciones celulares normales y en su contraparte leucémica, y c) definir poblaciones celulares con propiedades biológicas específicas. Por lo tanto, mediante los métodos inmunológicos es posible reconocer antígenos en la membrana celular, algunos de los cuales son específicos para diferentes poblaciones de células, (Ruiz AG, 1994).

Para identificar dichos antígenos se dispone de marcadores convencionales, como técnicas de rosetas y heteroantisueros contra inmunoglobulinas de superficie (IgS) o citoplasmáticas (IgC). Adicionalmente se cuenta con múltiples anticuerpos monoclonales (AoMo) que identifican antígenos celulares, (Ruiz AG, 1994).

Algunos AoMo pueden ser específicos para una determinada línea celular e incluso para un estadio concreto de maduración, otros, sin embargo, detectan antígenos más ampliamente distribuidos. La selección apropiada de un grupo de AoMo y de otros marcadores convencionales permite establecer el origen de la mayoría de las leucemias, siendo de gran ayuda en aquellos casos en que los datos morfológicos y citoquímicos no son concluyentes, (Ruiz AG, 1994).

Las siguientes tablas muestran la manera simplificada de realizar la asignación del fenotipo de las leucemias agudas de acuerdo con la expresión de los antígenos o marcadores en células leucémicas, (Ruiz AG, 1994).

CUADRO 4: CARACTERÍSTICAS ANTIGÉNICAS DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS LINFOBLÁSTICAS

TIPO	CD19	CD10	CD2	Clg	Slg
B temprana	+	-	-	-	-
"Común"	+	+	-	-	-
Pre B	+	+	-	+	-
B	+	+	-	+/-	+
T	-	+/-	+	-	-

Clg=Inmunoglobulina AA de citoplasma
Slg=Inmunoglobulina de superficie

(Ruiz AG, 1994).

CUADRO 5: CARACTERÍSTICAS ANTIGÉNICAS DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS MIELOBLÁSTICAS

TIPO	CD33	CD13	CD14	Glucoforina	CD41
M0	+	-	-	-	-
M1/2/3	+	+	-	-	-
M4/5	+	++	+	-	-
M6	-	-	-	+	-
M7	-	-	-	-	+

(Ruiz, 1994).

B.2.1.3 CLASIFICACIÓN CITOGENÉTICA

En muchos casos de leucemia aguda se encuentran alteraciones cromosómicas. En la leucemia aguda mieloblástica ocurren en más del 50% de los enfermos. Se han encontrado algunas correlaciones entre las anomalías cromosómicas y el tipo de leucemia aguda. De las alteraciones únicas en leucemia aguda mieloblástica, pueden señalarse: $t(4:11)(q21;23)$ en LA-M4 (mielomonoblástica), $t(8;21)(q22.1;q22.3)$ en LA.M2 (mieloblástica con

maduración), t(15;17)(q22;q11.2) en LA-M3 (promielocítica) e inv(16)(p13.2q22) en LA-M4 (mielomonoblástica), (Ruiz AG, 1998).

En leucemias linfoblásticas, la alteración cromosómica más regular es el cromosoma Filadelfia: t (9q+;22q-)(q34.1;q11.2), que produce también un gen quimérico llamado BCR/ABL (breakpoint cluster region/Abelson) que codifica la síntesis de la proteínas p190 de leucemia linfoblástica y p210 de leucemia mieloide crónica. El cromosoma Filadelfia aparece en 2% de los enfermos de LAL infantil e incluso en 25% de los casos adultos; su presencia se ha asociado con diagnóstico sombrío, (Ruiz AG, 1998).

Se sabe que la respuesta al tratamiento en LAM es mejor en sujetos que no presentan alteraciones cromosómicas, e incluso se ha definido una clasificación de LAM por riesgos a partir de los trastornos genéticos, que permite predecir la posibilidad de lograr remisión completa del padecimiento, duración de la misma y supervivencia. La traslocación (15;17)(q22;q11.2) de LA-M3 (promielocítica) produce un gen quimérico (PML/RAR-alfa) (leucemia promielocítica/ácido retinoico receptor alfa) dicho gen codifica la producción de un receptor alfa del ácido retinoico que no responde a niveles normales de ácido holo-trans-retinoico (ATRA) pero sí a dosis muy altas de éste, que así pueden activar al gen quimérico y normalizar el control de la diferenciación celular normal, (Ruiz AG, 1998).

B.2.2 LEUCEMIAS AGUDAS LINFOBLÁSTICAS

En los últimos 30 años ha habido una mejoría impresionante en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda en niños. (LLA). En la actualidad, en promedio, 60% de los niños con dicha enfermedad han estado en remisión completa e ininterrumpida cinco años después del diagnóstico inicial, y en muchos casos se ha considerado que ha habido curación, (Pizzuto FJ, 1993).

DATOS ESTADÍSTICOS Y ETIOLOGÍA

La leucemia es la forma más común de cáncer en niños, y de unos 2,000 casos diagnosticados en Estados Unidos cada año, 75% corresponden a LLA y la mayor parte de los demás a leucemia aguda no linfoblástica. La LLA en niños muestra una cifra "máxima" entre dos y seis años de edad. Curiosamente este pico en temprana edad se ha observado en estadounidenses de raza blanca, pero no en los de raza negra. No se conoce la causa de dicha diferencia, pero probablemente explique la observación de que la frecuencia de la leucemia aguda es del doble en niños blancos que en los de raza negra, con una cifra de 4,2 y 2,4, respectivamente, (Pizzuto FJ, 1993).

La LLA de la infancia ataca con mayor frecuencia al sexo masculino. No se conoce la causa exacta de la leucemia. Se han analizado factores predisponentes de muy diversa índole, incluidos de tipo ambiental y genético, virus y estados de inmunodeficiencia. De todos los factores ambientales estudiados, el mejor analizado ha sido la radiación ionizante. También se ha señalado un mayor riesgo en niños expuestos in utero a las radiaciones con fines diagnósticos, particularmente en el primer trimestre, (Henderson ES, Hull J & Proctor SW, 1990). Por fortuna, es rara esta forma de leucemia que ataca como "segundo cáncer" a niños que han recibido tratamiento de otras formas de cáncer. Se ha advertido una relación neta entre diversas anomalías cromosómicas de índole general y la leucemia de la infancia. En pequeños con trisomía 21 (Síndrome de Down) el riesgo de leucemia es 15 veces mayor que en los niños normales. La frecuencia de leucemia aguda también aumenta en la anemia de Fanconi y el síndrome de Bloom, éstos son trastornos raros de transmisión recesiva que se acompañan de una mayor fragilidad cromosómica. La mayor frecuencia de leucemia en los hermanos de los niños leucémicos, el mayor riesgo en sus gemelos idénticos y la mayor prevalencia señalada de leucemia en sus familias, también son argumentos en pro de una base genética de la aparición de la leucemia. Sin embargo, es

posible que éstas últimas situaciones reflejen en contacto o exposición común a un factor leucemógeno en el ambiente. Por último, hay pruebas de que el sistema inmunológico interviene importantemente en la leucemogénesis del humano. Por ejemplo, los niños con muy diversas enfermedades de inmunodeficiencia, como el síndrome de Wiskott-Aldrich, la hipogammaglobulinemia congénita y la ataxia telangiectasia, están muy expuestos a padecer una neoplasia linfoide que incluye LLA, (Henderson ES, Hull J & Proctor SW, 1990).

CUADRO CLÍNICO INICIAL Y DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

La LLA es una neoplasia hematológica que se caracteriza por la proliferación y el crecimiento irrestrictivo de células linfoides inmaduras. Los signos y síntomas iniciales en el niño reflejan el grado de infiltración de la médula ósea, por los linfoblastos leucémicos, y la magnitud de la diseminación extramedular. Los síntomas y signos más comunes reflejan la anemia subyacente, la trombocitopenia y la neutropenia que derivan de la falta de hematopoyesis normal, (Williams WH et.al, 1995). A menudo se identifican palidez y fatiga, petequias, púrpura, hemorragia y fiebre. La diseminación extramedular de las células leucémicas asume la forma de linfadenopatía, hepatomegalia y esplenomegalia. La duración de los síntomas en un niño que tiene LLA como cuadro inicial, puede variar de días a semanas y, en algunos casos, meses. Es común la anorexia, lo mismo que el dolor óseo que representa el ataque del periostio y el hueso por las células leucémicas. Los niños de corta edad en particular pueden tener inicialmente aversión al caminar. Las artralgias que son consecuencia de la infiltración articular por células leucémicas, pueden ser difíciles de diferenciar de otros problemas no cancerosos como la artritis reumatoide juvenil o la osteomielitis. Ya que típicamente, los niños con LLA muestran síntomas muy diversos e inespecíficos que incluyen malestar, anorexia, irritabilidad y febrícula. La mononucleosis infecciosa, la púrpura trombocitopénica idiopática, la linfocitosis infecciosa aguda, la tosferina y síndromes parapertusis y algunas infecciones

virales como citomegalovirus, pueden tener un cuadro clínico inicial bastante similar. El diagnóstico definitivo obliga a aspirar y estudiar la médula ósea. La LLA también debe distinguirse de la anemia aplásica, la cual, en forma semejante, puede tener una presentación inicial con pancitopenia. La LLA también debe diferenciarse del linfoma de variedad diferente a la de Hodgkin, el retinoblastoma, el neuroblastoma y el rhabdomyosarcoma, (Miescher PA, 1992).

En más del 66% de todos los niños con LLA aparecen anemia y trombocitopenia. El recuento linfocítico se eleva a más de $1 \times 10^9/L$ en la mitad de los pacientes, y en la quinta parte excede de $5 \times 10^9/L$. La leucocitosis importante en el momento del diagnóstico, conlleva un mal pronóstico. Aunque es posible identificar células leucémicas en la sangre periférica de muchos individuos en el diagnóstico, su evaluación morfológica puede ser desorientadora, y por ello es indispensable el estudio de la médula ósea para corroborar un diagnóstico definitivo de leucemia, (Williams WH et.al, 1995).

En muchas circunstancias, el líquido de aspiración de médula ósea aporta material diagnóstico suficiente, aunque en algunos niños se necesita a veces la biopsia medular. Por lo regular, la mayor parte de las células son linfoblastos leucémicos, (Williams WH et.al, 1995).

Además de las anomalías del hemograma, a menudo se observan otras anomalías en estudios de laboratorio de niños con LLA recién diagnosticada, y estos datos y la magnitud de la desviación a menudo reflejan la "carga" total de células leucémicas y son consecuencia de su proliferación y destrucción excesiva. El incremento del valor del ácido úrico en el suero puede aparecer en el momento del diagnóstico, ser desencadenado por el tratamiento o surgir en ambas situaciones. La hiperuricemia conlleva el peligro de nefropatía por ácido úrico e insuficiencia renal ulterior. También puede haber incremento de los niveles séricos de calcio, potasio, fosfato y deshidrogenasa láctica, particularmente en niños con

cifras altas de leucocitos en el estadio inicial, y extensa linfadenopatía y hepatoesplenomegalia, (Williams WH et.al, 1995).

La mayoría de los enfermos sufren ataque extramedular en cierta medida, en el momento del diagnóstico. Además de la hepatoesplenomegalia y la linfadenopatía puede detectarse una masa en el mediastino anterior por la radiografía de tórax en 5 a 10% de los pacientes recién diagnosticados. La leucemia en el sistema nervioso central en el momento del diagnóstico es poco frecuente y afecta menos del 4% de los enfermos, (Williams WH et.al, 1995).

CUADRO 6: SIGNOS CLÍNICOS Y DE LABORATORIO EN EL DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA EN NIÑOS

SIGNOS CLINICOS Y DE LABORATORIO	% DE PACIENTES
SINTOMAS Y SIGNOS FISICOS	
Fiebre	61
Hemorragias (petequias o púrpura)	48
Dolor en huesos	23
Linfadenopatía	50
Esplenomegalia	63
Hepatoesplenomegalia	68
DATOS DE LABORATORIO	
Número de leucocitos (células/L)	
Menos de 10×10^9	53
10×10^9 a 49×10^9	30
Más de 50×10^9	17
Hemoglobina (g/dL)	
Menos de 7.0	43
7.0 a 11.0	45
Más de 11.0	12
Número de plaquetas (células/L)	
Menos de 20×10^9	28
20×10^9 a 99×10^9	47
Más de 100×10^9	25
Morfología de linfoblastos	
L1	84
L2	15
L3	1

(Williams WH et. al, 1995).

CLASIFICACIÓN FRANCO-AMERICAN-BRITÁNICA

El grupo FAB ha establecido un sistema que ha sido aceptado en el mundo y divide los linfoblastos en tres categorías. Los linfoblastos L1 son células de menor tamaño, tienen escaso citoplasma y nucleolos poco visibles. Los linfoblastos L2 son de mayor tamaño, muestran gran heterogeneidad en sus dimensiones y con nucleolo importante y citoplasma más abundante. Los linfoblastos del tipo L3 tienen como característica su intensa basofilia citoplásmica, gran tamaño y a menudo vacuolización citoplasmática notable. Las células del tipo L3 son morfológicamente idénticas a las del linfoma de Burkitt, (Williams WH et.al, 1995). En promedio, el 85% de los enfermos tienen linfoblastos de los subtipos L1, menos del 15% morfología L2 y un subtipo más común que aparece en adultos, y sólo 1% de los niños en promedio, tienen células con morfología L3. Si bien los linfoblastos L3 suelen poseer inmunoglobulinas de superficie y otros marcadores de linfocitos B no hay correlación entre los subtipos linfoblásticos L1 y L2 y marcadores celulares inmunológicos, (Williams WH et.al, 1995).

El de clasificación FAB parece ser útil en el pronóstico. Los pacientes con morfología L1 tienen un mayor índice de inducción de remisiones, y la remisión dura mucho más, así como la supervivencia. Los pacientes con morfología L2 tienen un pronóstico insatisfactorio y, al parecer, esta característica funciona como una variable pronóstica independiente. Los niños con enfermedad L3 tienen el peor pronóstico, (Williams WH et.al, 1995).

CUADRO 7: CLASIFICACIÓN FAB DE LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA

CARACTERÍSTICAS CITOLÓGICAS	L1	L2	L3
Tamaño de las células	Predominan pequeñas	Grandes y de tamaño heterogéneo	Grandes y homogéneas
Cromatina nuclear	Homogénea en todos los casos	Variable, heterogénea en casi todos los casos	Con moteado fino y homogénea
Forma del núcleo	Regular, con indentaciones ocasionales o fisuras	Irregular con indentaciones y fisuras	Regular oval o redonda
Nucleolo	No visible y pequeño y poco notable	Aparentemente uno o más, a menudo grandes	Importantes, uno o más, vacuolados
Cantidad de citoplasma	Escaso	Variable y a veces moderadamente abundante	Moderadamente abundante
Vacuolización citoplasmática	Variable	Variable	A veces notable

(Williams WH et al, 1995).

CLASIFICACIÓN INMUNOLÓGICA

Las leucemias agudas linfoblásticas fueron las primeras neoplasias en beneficiarse de los estudios inmunológicos, siendo clasificadas inicialmente en B, T o nulas (no T no B) según expresarán SIg, formaran rosetas con hematíes de carnero o carecieran de ambos marcadores, respectivamente. Posteriormente, el descubrimiento de un antígeno (Ag) presente en el 70% de las LAL infantiles (cALLA) o CD10 permitió definir un nuevo fenotipo "común", al que pertenecían la mayoría de las LAL nulas. Además, todas las LAL, excepto las SIg+. expresaban la enzima intranuclear transferasa terminal deoxinucleotidílica (TdT). A lo largo de la década de los 80 se obtuvieron numerosos anticuerpos monoclonales que detectan antígenos de línea linfóide B y T, demostrándose que la mayoría de las LAL no T no B (comunes y nulas) son de origen B. En la diferenciación B, los primeros antígenos en aparecer son CD19 en la membrana y CD22 a nivel de citoplasma. Inmediatamente después o incluso a la vez aparece CD10 y más tarde CD20. Posteriormente el linfocito B adquiere cadena pesada μ de Igs en el

citoplasma para expresarla finalmente en la membrana. De acuerdo a estos marcadores, las LAL de origen B se clasifican actualmente en: B-temprana(CD19+CD22c+); común (CD10+); pre B (Clg+) y B (Slg+), (Ruiz AG, 1998).

Debe reseñarse que aunque todas son de origen B, el término LAL-B se reserva para las del tipo más maduro Slg+. Las LAL de origen T se dividen en dos grandes grupos: Pre-T y tímicas. Las Pre-T se identifican con la expresión del AgCD7 en la membrana o CD3 en el citoplasma que son los marcadores T más precoces. Las restantes LAL-T son de origen tímico: 1)El fenotipo T precoz se caracteriza por la adquisición de receptor para hematíes de carnero (CD2); 2)a nivel de timocito cortical común la célula coexpresa los Ags CD4 y CD8 junto a CD1, mientras que 3)el timocito medular maduro expresa CD3s y CD4 o CD8, pero no los dos a la vez. Este último estadio es más propio de linfoma linfoblástico que de LAL-T, (Ruiz AG, 1998).

Con respecto al valor pronóstico de la clasificación inmunológica, aunque su influencia parece haber variado en función de la intensificación de la terapéutica de las LAL, es evidente que, con tratamientos convencionales, el fenotipo común se asocia con mejor pronóstico que el Pre-B y T y que a las LAL Slg+ les corresponde la peor evolución. Aunque existen algunas controversias, en general, las LAL Pre T tienen peor pronóstico que las LAL-T. Con respecto a los antígenos individuales, la positividad para CD10 se asocia a una mejor evolución en la población pediátrica, aunque no en adultos, posiblemente por la alta frecuencia de t(9;22), de mal pronóstico, en las LAL CALLA+ de los adultos. La presencia de Slg que define a la LAL-B madura condiciona un peor pronóstico cuando se emplea quimioterapia convencional. La presencia de antígenos asociados a diferenciación mieloide (CD13, CD33, CD15, CD14,etc.,) no parece modificar el pronóstico de las LAL infantiles; en cambio, en adultos suele asociarse con una reducción substancial en

el porcentaje de remisiones completas y con una menor supervivencia, (Ruiz AG, 1998).

ALTERACIONES CITOGENÉTICAS

Las alteraciones citogenéticas pueden corresponder a cambios en el número o en la estructura cromosómica. Para el estudio de estos cambios es útil tener en cuenta que una clona es una población celular que se ha derivado de una simple célula progenitora. Se infiere este origen clonal cuando las células tienen la misma o muy similar anormalidad cromosómica. En general, se acepta que existe una clona cuando dos o más células tienen la misma aberración estructural o presentan el mismo cromosoma supernumerario. Cuando la aberración implica la pérdida de un cromosoma, este cambio debe estar presente por lo menos en tres metafases, (Ruiz AG, 1998).

El número modal es el número cromosómico encontrado con mayor frecuencia en la población de células leucémicas y la línea o estirpe celular es la constitución cromosómica más frecuente, teniendo en cuenta tanto alteraciones estructurales como numéricas. Cualquier variación de la clona principal es una sublínea, (Ruiz AG, 1998).

Es característico encontrar en las células leucémicas; aumento (hiperdiploidia) o disminución (hipodiploidia) en el número de los cromosomas; células pseudodiploides, que son aquellas que contienen un número cromosómico aparentemente normal, pero tienen aberraciones estructurales; rompimiento con fracturas, fragmentos acéntricos, cromosomas marcadores, cromosomas "disminuidos", dicéntricos o en anillos. También puede observarse el fenómeno de la endorreduplicación cuando los cromosomas se duplican, pero no se separan por lo que permanecen juntos. El aporte más significativo de la citogenética, sin

embargo, lo constituye el haber demostrado alteraciones cromosómicas específicas en las leucemias, (Ruiz AG, 1998).

En la leucemia linfoblástica, el 70% de los pacientes tienen anomalías citogenéticas que tienen gran utilidad para la clasificación diagnóstica y para establecer el pronóstico. Células hiperdiploides con más de 50 cromosomas se encuentran en cerca de la quinta parte de los niños y en el 10% de los adultos con LLA. La hiperdiploidia tiene un pronóstico más favorable que la diploidia o la hipodiploidia. Pueden encontrarse líneas casi haploides con 26 a 28 cromosomas que constituyen un signo de muy mal pronóstico, (Ruiz AG, 1998).

Las aberraciones citogenéticas se correlacionan con la duración de la remisión y con la supervivencia de los pacientes y se ampliarán, en la presentación, las consecuencias de los rearrreglos cromosómicos con las modificaciones a nivel molecular de los oncogenes, los genes homeóticos, el receptor del ácido retinoico, los receptores de células T, las interleucinas, los interferones y los genes de las cadenas pesadas y las cadenas ligeras de las inmunoglobulinas, (Ruiz AG, 1998).

TRATAMIENTO

El tratamiento para la leucemia linfoblástica se realiza en varias fases:

INDUCCIÓN DE LA REMISIÓN: En esta fase se pretende destruir la mayoría de las células leucémicas y recuperar la hematopoyesis normal y el bienestar del paciente. Para ello se utilizan fármacos que no afectan la síntesis de ADN (vincristina, prednisona, asparaginasa), no producen daño a la médula ósea normal, actúan rápidamente y no son útiles para tratamiento a largo plazo, (Ruiz AG, 1998).

CONSOLIDACIÓN: El objetivo es destruir las células residuales que han sobrevivido en la etapa previa, se pueden utilizar medicamentos que sí afectan la síntesis de ADN e idealmente que puedan destruir células en reposo o fuera del ciclo mitótico, (Ruiz AG, 1998).

TRATAMIENTO PREVENTIVO DE LA LEUCEMIA MENÍNGEA: A esta etapa también se le llama "profilaxis del SNC" ya que la quimioterapia sistémica no alcanza niveles óptimos en dicho sistema. De no llevarse a cabo esta fase, más del 50% de los enfermos recae en el SNC, (Ruiz AG, 1998).

QUIMIOTERAPIA DE CONTINUACIÓN O MANTENIMIENTO: El objetivo es destruir los últimos vestigios de leucemia residual, utilizando medicamentos que interfieren en la síntesis de DNA como mercaptopurina y metotrexato que producen mielosupresión, (Ruiz AG, 1998).

PRONÓSTICO

CUADRO 8: PRONÓSTICO DE LEUCEMIAS LINFOBLÁSTICAS

	FAVORABLE	DESFAVORABLE
1) EDAD	1 a 10 años	< 1, > 10 años
2) SEXO	Femenino	Masculino
3) MAGNITUD Y DISTRIBUCIÓN DE LA CARGA TUMORAL *LEUCOCITOS *TUMOR MEDIASTINAL *VISCEROMEGALIAS "MASIVAS" *INFILTRACIÓN TESTICULAR *INFILTRACIÓN RENAL *INFILTRACIÓN SCN	< 10x10 ⁹ /L Ausente Ausente Ausente Ausente Ausente	> 50x10 ⁹ /L Presente Presente Presente Presente Presente
4) CLASIFICACIÓN CITOMORFOLÓGICA	FAB L1	FAB L2, L3
5) CLASIFICACIÓN INMUNOLÓGICA	LAL "común"	LAL tipo "T", "B"
6) CLASIFICACIÓN CITOGENÉTICA	Alteraciones numéricas: Hiperdiploidía >50 Cromosomas	Alteraciones estructurales: t(9;22,1;19,4;11,8;14,11;14)
7) RESPUESTA AL TRATAMIENTO DE INDUCCIÓN	M0=M1 (<5% blastos en el día 14)	M0=M3 (>25% blastos en el día 14).
8) ESTADO NUTRICIONAL AL DIAGNÓSTICO	Normal	Deficiente

(Ruiz AG, 1998).

Las características iniciales del enfermo con leucemia linfoblástica, permiten predecir con cierta seguridad la respuesta a la terapéutica y las posibilidades de supervivencia prolongada o curación. Esto indica que la enfermedad es heterogénea y variable en presentación, morfología, inmunología, citogenética, etc. Por otra parte, las características del paciente también influyen en el pronóstico: edad, sexo, estado nutricional y raza, (Ruiz AG, 1998).

La leucemia tipo T tiene peor pronóstico cuando se presenta con hiperleucocitosis; la leucemia linfoblástica tipo B presenta comportamiento agresivo y tiene un mal pronóstico; las leucemias linfoblásticas con antígenos mieloides son de mal pronóstico, (Ruiz AG, 1998).

Los pacientes de riesgo habitual o normal tienen 18 meses a 10 años de edad, menos de 30,000 leucocitos al diagnóstico, antígeno CALLA/CD10 positivo, ausencia de translocaciones o marcadores mieloides, carencia de infiltración al sistema nervioso central al diagnóstico y contenido euploide o hiperdiploide de ADN: Las leucemias linfoblásticas de los adultos tienen un pronóstico más sombrío que en los niños, (Ruiz AG, 1998).

B.2.3 LEUCEMIAS AGUDAS MIELOBLÁSTICAS

La leucemia mieloblástica ó leucemia aguda no linfoblástica se puede presentar a cualquier edad pero es más común en adultos con edad avanzada. Clínicamente las características son similares en todas las edades y son el resultado del reemplazo de elementos de médula normal por blastos malignos, con frecuencia resulta una hematopoyesis deteriorada con citopenias y crecimiento de órganos. La célula de origen de la leucemia mieloblástica es un blasto que más frecuentemente muestra diferenciación mioide o monocítica, (Williams WH et.al, 1995).

La patogénesis de la leucemia mieloblástica permanece incierta, pero las anomalías cromosómicas han sido detectadas en un 50-70% de los pacientes. Los síndromes genéticos seleccionados y las exposiciones a tóxicos contribuyen a la patogénesis en algunos pacientes. Aunque el papel de los oncógenes es incierto, estudios preliminares sugieren que la expresión de algunos patooncógenes puede correlacionarse con subtipos de leucemia mieloblástica y pronósticos, (Fisher MH, Burrow GW & Morgan HL, 1990)..

Los avances terapéuticos han cambiado, la tasa de curación de 10 a 20% en los años 60's y de 40 a 60% para grupos seleccionados en los años 80's. Una muestra del avance en el tratamiento es el trasplante de médula ósea en pacientes con leucemia mieloblástica en primera remisión, sin embargo, las altas dosis del arabinósido de citocina con antraciclinas como quimioterapia consolidante ha renovado la pregunta de cual es la mejor terapia inicial, (Fisher MH, Burrow GW & Morgan HI, 1990).

EPIDEMIOLOGÍA

Las tasas de incidencia son mayores en países desarrollados y en ciudades industrializadas. Los estudios revelan un incremento de riesgo para los países del Este de Europa y un decremento de riesgo para las poblaciones orientales. La incidencia es menor de 1 por 100,000 por año por debajo de los 30 años y 14 por 100,000 para edades de 75 años. Los hombres tienen una incidencia mucho más alta que las mujeres. La leucemia mieloblástica comprende un 12% de los casos de leucemia en niños por debajo de los 10 años, 28% entre los 10 y 15 años y de 80 a 90% en adultos, (Williams WH et.al, 1995).

Factores genéticos han sido implicados por su desarrollo en síndromes caracterizados por anomalías cromosómicas o inestabilidades. Niños con síndrome de Down o trisomía 21 tienen alto riesgo de desarrollar leucemia mieloblástica o linfoblástica. Otros síndromes con alto riesgo incluyen anemia de Fanconi, síndrome de Bloom, síndrome de Kostmann, síndrome de Klinefelter y neurofibromatosis. Enfermedades adquiridas asociadas con riesgo para desarrollar leucemia mieloblástica (LMA) incluyen síndromes mieloproliferativos crónicos, anemia aplásica, hemoglobinuria paroxística nocturna y síndromes mielodisplásicos, (Henderson ES, Hull J & Proctor SW, 1990).

Factores ambientales han sido también involucrados en la patogénesis de la LMA. El benceno es bien conocido como un factor leucemogénico. La radiación ionizante es también leucemogénico con muchos datos que empezaron con los sobrevivientes japoneses de la bomba atómica, (Henderson ES, Hull J & Proctor SW, 1990).

El período de latencia entre la exposición y el desarrollo de la leucemia es entre 5 y 21 años, (Williams WH et.al, 1995).

Fumar, aunque es mejor conocida su asociación con cáncer de pulmón, ha sido asociado también con LMA. El incremento en el número de cromátidas hermanas intercambiadas en linfocitos y el incremento de mutagenicidad de la orina por fumadores indican cambios cromosomales que podrían degenerar en leucemia, (Williams WH et.al, 1995).

El riesgo de leucemia se incrementa en pacientes tratados con agentes alquilantes para neoplasias, incluyendo enfermedad de Hodgkin, mieloma múltiple, cáncer de ovario, cáncer de seno y para desórdenes no neoplásicos, particularmente, en enfermedades vasculares. En la enfermedad de Hodgkin, la radiación puede ser un factor contribuyente, pero el riesgo en pacientes que han recibido radiación solamente es del 0 al 1.5% comparado con 1.5-5% para aquellos quienes han recibido quimioterapia que contiene alquilantes y 5-10% por pacientes que han recibido ambos tipos de terapia. Aproximadamente 25% de estos pacientes podrían tener una fase preleucémica con citopenias y desórdenes hematopoyéticos en la médula y otro 25% puede tener un componente monocítico en su leucemia aguda. Las anomalías en los cromosomas 5 y 7 son más comunes en leucemias secundarias que en LMA de novo, (Fisher MH, Burrow GW & Morgan HL, 1990).

Otras drogas y químicos se han sugerido como leucemogénicos pero en menor proporción. Agentes analgésicos como la fenilbutazona han sido asociados con aplasia, agranulocitosis y menos frecuentemente con LMA. Cloramfenicol y cloroquina también están asociados a LMA. También ha sido reportado un incremento de riesgo de trabajadores expuestos a pintura, fluidos embalsamantes, pesticidas, caucho, óxido de etileno, rayos X, y aves de corral, (Fisher MH, Burrow GW & Morgan HL, 1990).

DATOS CLÍNICOS

La molestia más común es la fatiga no específica o malestares que usualmente se han presentado por varios meses. Palidez y debilidad pueden estar relacionados con anemia. La fiebre es común y se presenta en un 15-20% de los pacientes, es frecuente que se asocie con sudoraciones y ocurren porque puede haber una infección secundaria a neutropenia. Los signos hemorrágicos y síntomas incluyen contusiones (moretones), petequias y epistaxis, se pueden encontrar en más de la mitad de los pacientes y se correlacionan con la severidad de la trombocitopenia, (Williams WH et.al, 1995).

Arriba del 50% de los pacientes sufren pérdida de peso aunque usualmente no es tan severa. El dolor de huesos se presenta en menos del 20% de los pacientes. Aunque la organomegalia y las adenopatías han sido reportadas en sólo la mitad de los pacientes con LMA, éstos signos son más comúnmente asociados con LLA. Las implicaciones en piel ocurren aproximadamente en un 10% de los pacientes y se caracterizan por comezón y enrojecimiento, dichas lesiones son violáceas y nodulares y son más comunes en pacientes con un componente monocítico de LMA. La infiltración en encías es también representativa de LMA: En cerca de la mitad de los niños con LMA, la piel presenta lesiones nodulares azul-grisáceas, (Williams WH et.al, 1995).

Las anomalías cardíacas usualmente se relacionan con un desequilibrio electrolítico, particularmente del potasio pero puede resultar de un involucramiento directo de la conducción del sistema nervioso o por infiltración de las paredes de los vasos. Los síntomas pulmonares ocurren en pacientes con leucocitosis o con infecciones relacionadas con neutropenia, (Williams WH et.al, 1995).

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

La cuenta de leucocitos es muy variable, puede ser baja, normal o aumentada. Los blastos son identificados usualmente en un frote periférico, cuerpos Phi y bastones de Aüer son considerados patognomónicos de LMA: Los cuerpos Phi son fusiformes o en forma de bastones en espiral, (Williams WH et.al, 1995).

La leucemia aleucémica (no se observan blastos en sangre periférica) es rara. La neutropenia es común en estos pacientes y el exámen de médula ósea, la cual puede encontrarse hipocelular, puede revelar la presencia de blastos, (williams WH et.al, 1995).

La neutropenia está presente en casi todos los pacientes con LMA. La anemia es común y es predominantemente normocítica-normocrómica. Las células rojas nucleadas y la reticulocitopenia están frecuentemente presentes. Los precursores eritroides en médula ósea son a menudo megaloblastos, particularmente en la eritroleucemia aguda o en LMA que procede de un síndrome mielodisplásico, (Williams WH et.al, 1995).

La trombocitopenia, la cual puede agravar el diagnóstico, se puede asociar con coagulación intravascular diseminada. La trombocitosis es raramente identificada, pero pueden encontrarse plaquetas gigantes y bizarras; los megacariocitos disminuyen usualmente en número y pueden tener una morfología nuclear anormal, incluyendo formas uninucleadas e hiperlobulares. La coagulación intravascular diseminada ocurre más comúnmente en LMA que en LLA y es más frecuente en leucemia promielocítica aguda. Se ha pensado que el mecanismo de coagulación intravascular diseminada se relaciona con la liberación de procoagulantes de gránulos azurófilos entre las células leucémicas y las que son típicamente observadas durante la inducción de la quimioterapia. La coagulación intravascular diseminada se manifiesta clínicamente por fluido difuso de sangre y está caracterizado por trombocitopenia, hipofibrinogenemia y una elevada disgregación de los productos de fibrina y deficiencia en el factor V, (Williams WH et.al, 1995; Fisher MH. Burrow GW & Morgan HL, 1990).

La hiperuricemia ha sido notada en cerca de un 50% de pacientes con LMA y se puede asociar con la ruptura o destrucción de tumores, (Henderson ES, Hull J & Proctor SW, 1990).

La hiperleucocitosis, arbitrariamente se define como sangre blanca con un conteo celular mayor a $100,000/\text{mm}^3$, ocurre en 20-25% de los pacientes con LMA. La hiperleucocitosis está asociada con problemas en pulmón, sistema nervioso central, y/o tracto genitourinario. Las manifestaciones pulmonares se manifiestan por disnea, taquipnea, infiltrados intersticiales y dificultad respiratoria asociada a un pronóstico grave. Los síntomas en sistema nervioso central son dolores de cabeza y visión nublada y puede complicarse con una fatal hemorragia intracerebral. Datos de laboratorio asociados con hiperleucocitosis incluye una cuenta falsamente elevada produciendo pseudohipoxemia al contar fragmentos de células blancas, prolongando erróneamente las pruebas de coagulación y pseudohipercalcemia. La hiperleucocitosis está asociada con un pronóstico menos favorable porque se

asocia con hemorragia en sistema nervioso central, (Henderson ES, Hull J & Proctor SW, 1990).

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS

Por definición, la LMA es una neoplasia de médula ósea compuesta de células inmaduras o blastos. Las células neoplásicas de LMA, en contraste con leucemia mieloide crónica, usualmente muestra sólo limitada diferenciación, presumiblemente por las anomalías en la regulación del crecimiento y diferenciación que inhiben a las células para que lleguen a ser maduras y competitivamente funcionales, las células se quedan bloqueadas en estadios tempranos. El análisis de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa de células leucémicas de mujeres heterocigotas demostraron anomalías clonales en otras células individuales o en más de una línea celular (mieloide y eritroide, mieloide y megacariocítica, etc.) indicando que los eventos leucémicos pueden involucrar cualquier "diferenciación restrictiva" o al grupo celular multipotencial. La forma más común es en pacientes menores de 45 años, mientras que más tarde han sido identificadas en pacientes mayores a 60 años, (Williams WH et.al, 1995).

La LMA es una enfermedad compleja y heterogénea en todos los aspectos: características citológicas, estadio de diferenciación, expresión antigénica, anomalías cromosómicas, expresión genética, regulación de crecimiento, respuesta al tratamiento y características de remisión. Los sistemas de clasificación, regímenes de tratamiento y la respuesta a la terapia no son adecuados porque no han reflejado esta heterogeneidad biológica. Con el desarrollo de cultivos "in vitro" de médula ósea y el incremento sofisticado de técnicas de investigación y clínica se pueden contar con medios terapéuticos más efectivos, (Williams WH et.al, 1995).

CLASIFICACIÓN FRANCO-AMERICANA-BRITÁNICA

La clasificación FAB identifica 8 subtipos de leucemia mieloblástica. Las leucemias M1, M2 y M3 son predominantemente granulocíticas, M4 tiene menos de un 20% de células monocíticas, mientras que M5 tiene más de un 80% de células monocíticas, M6 muestra predominantemente diferenciación eritroide con características megaloblásticas, la M7 es la leucemia megacariocítica identificada por la peroxidasa plaquetaria, un sistema con demarcación de membrana con estudios estructurales, o la presencia de antígenos en megacariocitos incluyendo glicoproteínas plaquetarias como Ib o IIb/IIIa, (Williams WH et.al, 1995).

Los subtipos de leucemia mieloblástica no identificados por la clasificación FAB incluyen leucemia aguda indiferenciada con o sin morfología o evidencia citoquímica pero con marcadores ultraestructurales o inmunofenotípicos para leucemia mieloblástica, leucemia mieloblástica hipocelular, leucemia mieloblástica mezclada, leucemia eosinofílica y leucemia basofílica, (Williams WH et.al, 1995).

La concordancia entre siete expertos observadores quienes utilizaron los criterios originales de la FAB fue la siguiente:(Se analizan 71 casos por 7 observadores), (Nieto CR, 1991).

CUADRO 9: CONCORDANCIA EN LA CLASIFICACIÓN DE LEUCEMIAS MIELOBLÁSTICAS

EN 26 CASOS	7 CONCORDARON
EN 17 CASOS	6 CONCORDARON
EN 17 CASOS	5 CONCORDARON
EN 11 CASOS	4 CONCORDARON

(Nieto CR, 1991).

CRITERIO PARA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA MÍNIMAMENTE DIFERENCIADA:

Se encuentran blastos grandes agranulares (similares a blastos L2), aproximadamente el 1% de los blastos son mieloperoxidasa positivo.(Leucemia mieloblástica indiferenciada). Son C33+ y/o CD13+, (Nieto CR, 1991).

CRITERIO PARA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA INMADURA: En esta entidad la maduración es prácticamente nula, los blastos tienen cromatina fina, el núcleo generalmente regular, los nucléolos son de 2 a 5, son escasos los bastones de Aürer o cuerpos Phi. El porcentaje de blastos es del 90% tipo 1 y 2 (tipo 1 son agranulares y tipo 2 son blastos con menos de diez gránulos), 3% de los blastos son mieloperoxidasa positivo o sudán negro positivo y 10% de granulocitos y monocitos. Por otra parte no se ha identificado alguna aberración cromosómica predominante o típica, (Nieto CR, 1991).

CRITERIO PARA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA CON MADURACIÓN: Esta entidad muestra un tropismo hacia órganos extramedulares, por lo que es frecuente la esplenomegalia. Las células leucémicas tienden a pasar a estadios un poco más evolucionados, las características morfológicas son muy parecidas a las M1, sólo que la positividad de la mieloperoxidasa y sudán negro es más intensa. La suma de blastos tipo 1 y 2 es del 30-89%, con más tendencia a madurar pero sin llegar a ser promielocitos, porcentaje un poco variable de granulocitos y 10% de promielocitos. Son comunes las aberraciones dishematopoyéticas. Los pacientes responden bien a la terapia y presentan remisiones prolongadas. Los blastos son positivos a la reacción de peroxidasa, del ácido peryódico de Schiff(PAS) y cloroacetatonaftol esterasa, (Nieto CR, 1991).

CRITERIO PARA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA HIPERGRANULAR: Es una variante menos frecuente, son comunes las escotaduras o lobulaciones nucleares, hay predominio de promielocitos hipergranulares. Se encuentran de 30 a 89% de promielocitos, y 10% de blastos. Los bastones de Aürer son tan abundantes que en

ocasiones se agrupan en empalizadas. Este trastorno se caracteriza por hemorragias más graves de lo que cabría esperar por el grado de trombocitopenia. Se atribuyen a coagulación intravascular que aparentemente se inicia por el material procoagulante de los gránulos de las células anormales, (Williams WH et.al,1995; Nieto CR, 1991).

Una variante de la M3 es la leucemia promielocítica hipogranular o microgranular, en la cual los gránulos citoplasmáticos parecen escasos a la microscopía óptica y numerosos, pero más pequeños, con microscopía electrónica. Las tinciones citoquímicas son un poco menos positivas que en la variante hipergranular, (Williams WH et.al, 1995; Nieto CR, 1991).

En la leucemia promielocítica aguda, más del 85% de las células leucémicas se tiñen con mieloperoxidasa, sudán negro B y cloroacetato. En un 25% de casos, más del 20% de las células leucémicas se tiñen intensa y difusamente con la α -naftilacetato esterasa, (Williams WH et.al, 1995).

Sin embargo, estas células leucémicas no manifiestan ninguna de las características inmunofenotípicas de los monocitos, y clínicamente estos casos se comportan de manera similar a otros casos de leucemia promielocítica aguda, (Williams WH et.al, 1995).

CRITERIO PARA LEUCEMIA MIELOMONOBLÁSTICA: En esta leucemia coexiste un componente granulocítico y monocítico inmaduro en proporciones variables. De un 30 a un 80% de las células son de la serie mieloide (mieloblastos, promielocitos y mielocitos), y 20% monocitos. Una forma conocida de M4 se caracteriza por un cuadro monocítico esencial en sangre periférica pero en médula ósea el componente monocítico es mínimo, dando la apariencia de una M1 o M2. Existe una variante eosinofílica con más del 5% de eosinófilos bizarros. Aunque los caracteres citomorfológicos son orientadores es indispensable la citoquímica para

definirla. La peroxidasa y la alfa naftil acetato esterasa fluoruro sensible son suficientes. Los marcadores indican la fenotipicidad. Se presentan células de Pelger Hüete de pseudomaduración degenerativa y la delección parcial de peroxidasas de los neutrófilos demostrada en casos de este tipo de leucocitosis, (Nieto CR, 1991).

CRITERIO PARA LEUCEMIA MONOBLÁSTICA PURA: En esta entidad se conocen tres variantes, la forma pobremente diferenciada (M5a), la diferenciada (M5b) y la M5c. La M5a y M5b son muy infiltrativas a encías, ganglios linfáticos y sistema nervioso central. La M5a tiene más del 80% de monoblastos cuyo núcleo es redondo o irregular, cromatina plegada y citoplasma abundante. Los blastos son de estructura nucleocitoplasmática muy delicada, con aspecto de velos, que suele mostrar repliegues entre los cuales no es raro que participe el mismo núcleo. A veces pueden observarse nucléolos. El diagnóstico definitivo se hace por citoquímica y por marcadores. Se caracteriza por la alfa aceto-naftil esterasa positividad intensa, fluoruro sensible. En la M5b hay menos del 80% de monoblastos con más predominio de promonocitos cuyo núcleo es irregular, cromatina plegada, escasas granulaciones y eventuales bastones de Auer. En la M5c predominan los macrófagos, (Nieto CR, 1991).

CRITERIO PARA ERITROLEUCEMIA: Existe una proliferación mixta tanto de elementos granulocíticos muy indiferenciados y eritroblastos en estadios muy tempranos y bizarros (diseritropoyéticos), poliploides y megaloblastoides. El componente eritroide excede el 50% de las células nucleadas y existen más del 30% de blastos tipo 1 y 2. Si el porcentaje de eritroblastos es mayor a 50 pero hay menos del 30% de blastos tipo 1 y 2 se requiere establecer el diagnóstico diferencial con síndrome mielodisplásico, (Nieto CR, 1991).

En algunos casos de M6, las células eritroides pueden mostrar una intensa positividad de PAS del citoplasma. Esta es granular en los estadios precoces de precursores eritroides y difusa en los estadios tardíos. Los precursores eritroides son PAS-negativos en los individuos normales y en la mayoría de enfermedades, incluida la anemia megaloblástica nutricional, (Nieto CR, 1991).

En la eritroleucemia, los mieloblastos suelen teñirse con el sudán negro B, la mieloperoxidasa y cloroacetato esterasa. A menudo es evidente un componente monocítico positivo a esterasa inespecífica. A veces los precursores eritroides neoplásicos son también positivos para la α -naftilacetato y la α -naftilbutirato esterasa, (Grignaschi VJ, Koziner BL & Larripa U, 1991).

CRITERIO PARA LEUCEMIA MEGACARIOBLÁSTICA: Esta variante de leucemia fué oficialmente reconocida en 1985. Las dificultades en su identificación morfológicas están dadas por su aspecto prácticamente indiferenciado (pseudolinfoide), con excepción en algunos casos de la presencia de células con casquetes citoplasmáticos hialinos (timón de barco) y con eventual tendencia a formar plaquetas. Dada las dificultades de su clasificación se requieren pruebas como la utilización de anticuerpos monoclonales (CD41) o la mieloperoxidasa plaquetaria para su diagnóstico, (Balcells GA, 1993; Bernard HJ, 1993).

CITOGENÉTICA

Con técnicas habituales de bandas, cerca del 50% de los pacientes con leucemia aguda mieloblástica presentan alteraciones cromosómicas identificables. El porcentaje aumenta a cerca del 100% si se utilizan técnicas de alta resolución cromosómica o técnicas de hibridación in situ por fluorescencia, (Ruiz AG, 1998).

Las aneuploidias más frecuentes son la trisomía 8 (t8), la monosomía 7 (-7) y la monosomía 5 (-5), y las alteraciones estructurales contribuyen a definir los

subgrupos de la leucemia mieloblástica según la clasificación FAB. Así ocurre con la translocación t(8;21) en el M2, en la translocación t(15;17) encontrada prácticamente en el 100% de los casos M3, en la inversión o en la delección 16 en el M4 y en la delección o en la translocación (11q) en la M5, (Ruiz AG, 1998).

La translocación 8;21 es más frecuente en pacientes jóvenes y es muy rara después de los 50 años, (Ruiz AG, 1998). En realidad esta translocación es la aberración citogenética más común en niños con leucemia mieloblástica. A menudo, como cambio secundario, presenta la pérdida del cromosoma Y (-Y), (Ruiz AG, 1998).

Otras alteraciones encontradas son la translocación t(6;9)(p23;q34) que se encuentra en pacientes con una elevada proporción de células basofílicas en la médula ósea; inversión pericéntrica del cromosoma 3 inv(3) (q21q26) o la translocación 3;3 con los mismos sitios de rompimiento que se encuentran en pacientes con tendencia a la trombocitopenia; la translocación 1;3(p36;q21) que acompaña algunos casos con dismegacariocitopenia, y la translocación t(1;7)(p11;p11) que se encuentra en algunos sujetos con antecedentes de exposición a agentes genotóxicos, (Ruiz AG, 1998).

CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS

En las leucemias mieloblásticas el estudio inmunofenotípico tiene, aparentemente, menor utilidad que en las leucemia linfoblásticas. Los primeros antígenos en detectarse en la diferenciación hematopoyética mieloide normal son CD33 y CD13 que son diagnósticos de MO. Al igual que ocurriera en la linfopoyesis, CD13 se expresa primero en citoplasma y después en membrana. La exposición de alta intensidad de los antígenos CD15 y CD14 es específica de granulocito y monocitos maduros, respectivamente; sin embargo, ambos se coexpresan en los precursores mieloides, lo que cuestiona su utilización para

diferenciar leucemias granulocíticas (M1, M2 y M3) de monocíticas (M5), (Ruiz AG, 1998). La glicoforina A es un marcador eritroide específico, pero aparece relativamente tarde en la eritropoyesis, por lo que muchas M6 son negativas. En cambio la diferenciación (CD61, CD41 y CD42 que reconocen a las glicoproteínas IIIa, IIb/IIIa y complejo IX/Ib, respectivamente) lo que les convierte en el arma clave para la detección de las leucemias megacarioblásticas (M7), (Ruiz AG, 1998).

De hecho, la utilización de anticuerpos monoclonales en el diagnóstico de las leucemias agudas se centra en las M7 y M0 (indiferenciadas) y quizá también en la variante microgranular de la leucemia promielocítica (HLA DR-) que, morfológicamente, puede plantear problemas diagnósticos con la M4 (HLA DR+), así como para distinguir las M5 de algunos linfomas leucemizados con los que pueden presentarse a confusión, (Ruiz AG, 1998). En las otras variantes de leucemia aguda realmente el único papel de los anticuerpos monoclonales, salvo los estudios de investigación, es confirmar el diagnóstico morfo-citoquímico. A diferencia de esto, en las leucemias linfoblásticas, no existe una clasificación inmunológica de las leucemias mieloblásticas totalmente aceptada; una posible opción incluiría los siguientes fenotipos: mieloblástico (positivo sólo para mieloperoxidasa, CD33 y/o CD13); granulomonocítico (CD15+ y/o CD14+); eritroide (glicoforina A +) y megacariocítico (CD61+ y/o CD41+), (Ruiz AG, 1998).

Los únicos antígenos de células precursoras o línea mieloide que parecen influir en el diagnóstico de leucemia mieloblástica, todos ellos de forma negativa, en al menos el 50% de las series, son CD34 y CD11b. Con respecto a la coexpresión de antígenos asociados a la línea linfóide, sólo CD7 parece condicionar un pronóstico adverso y existe controversia respecto a la influencia de CD2, antígeno que últimamente se ha asociado con leucemia promielocítica, (Ruiz AG, 1998).

TRATAMIENTO

El tratamiento para la leucemia mieloblástica se divide en tres etapas:

INDUCCIÓN DE LA REMISIÓN: Se debe lograr que desaparezca clínica y hematológicamente el cuadro leucémico. La mayoría de los esquemas de inducción de remisión combinan arabinósido de citosina con un antracíclico. En esta fase se induce hipoplasia medular grave para que posteriormente se recupere sólo la médula ósea normal; es en esta etapa cuando se precisa apoyo transfusional y medicamentoso, (Ruiz AG, 1994).

TRATAMIENTO POSTREMISIÓN: La terapéutica de consolidación o mantenimiento, posterior a que la entidad ha remitido por completo, y su efecto sobre la prolongación de la remisión y la supervivencia son controversiales. Algunos autores han demostrado que el tratamiento quimioterapéutico posremisión, con arabinósido de citosina a dosis altas en ocasiones combinado con asparaginasa, prolonga la duración de la remisión. Cuando es posible, cabe utilizar trasplante de médula ósea; éste puede ser alogénico o autotrasplante. En esta última variedad se utiliza el autotrasplante de células pluripotenciales periféricas mediante factores de crecimiento hemolinfopoyético como filgrastim o molgramostin, (Ruiz AG, 1994).

QUIMIOTERAPIA DE MANTENIMIENTO: Se apoya en el uso de tioguanina o daunorrubicina con cursos de arabinósido de citosina subcutánea o intravenosa. La mayoría de los autores está de acuerdo en que el tratamiento de mantenimiento no ofrece mayores ventajas en la supervivencia libre de leucemia, (Ruiz AG, 1994).

PRONÓSTICO

En la leucemia mieloblástica del adulto, aunque existe notable mejoría en los resultados terapéuticos a largo plazo, las posibilidades de remisión completa y sostenida son malas, del orden de 15 a 40% a cinco años; ello, a pesar de los avances en el desarrollo de nuevos medicamentos antileucémicos, apoyo transfusional y antimicrobiano y advenimiento del trasplante de médula ósea. Las posibilidades de lograr la remisión completa con quimioterapia varían entre 50 y 70%, (Ruiz AG, 1994).

CUADRO 10: PRONÓSTICO DE LEUCEMIAS MIELOBLÁSTICAS

FACTOR	FAVORABLE	DESFAVORABLE
CLÍNICA		
Edad	< 45 años	< 2 años, > 60 años
Leucemia	De novo	Precedida de mielodisplasia
Leucocitosis	< a 25,000/mm ³	> a 100,000/mm ³
Enfermedades del SNC	Ausente	Presente
Citorreducción	Rápida	Retardada
MORFOLOGÍA		
Bastones de Auer	Presente	Ausente
Eosinófilos	Presente	Ausente
Megaloblastos eritroides	Ausente	Presente
Clasificación de la FAB	M3 y M4	M1, M2, M5, M6 y M7
MARCADORES DE SUPERFICIE ENZIMÁTICOS		
Mieloide	MY4-, MY7-	MY4+ (CD14), MY7+ (CD13), MY10+ (CD34)
HLA-DR	Negativo	Positivo
TdT	Ausente	Presente
Linfoide	(CD2), (CD19)	Bifenotípico (≥ 2 marcadores linfoides)
CITOGENÉTICA		
	t(15;17), t(8;21), inv (16)/del(16q)	Anormales: Menos 7, del(7q); -5, del (5q); 11q23; 3q21 y 3q26

(Ruiz AG, 1994).

III. JUSTIFICACIÓN

Como respuesta a las necesidades de los laboratorios, durante las últimas dos décadas, diferentes compañías han explorado nuevas áreas y han mejorado la tecnología existente para automatizar el análisis del diferencial leucocitario ya que en forma manual el diferencial presenta algunas desventajas. .

Diversas compañías han producido una serie de analizadores hematológicos basados en el principio de impedancia eléctrica. Los sistemas semiautomatizados compactos como el M430 y el CBC5 sólo suministran datos básicos como recuento eritrocitario, recuento leucocitario, hemoglobina, hematocrito y volumen corpuscular medio, (Bollinger PM & Evans MH, 1983). Más tarde, se diseñaron los modelos JS, St, STKR y STKS que utilizan un sistema de código de barras de identificación positiva y un muestreo de tubos cerrados. Se suministran parámetros que incluyen recuento leucocitario, recuento eritrocitario, hemoglobina, hematocrito, hemoglobina corpuscular media (HCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), plaquetas, amplitud de distribución eritrocitaria (ADE) y volumen plaquetario medio (VPM), más el histograma del recuento diferencial leucocitario. El informe interpretativo manifiesta la presencia de posible eosinofilia, basofilia, blastos, variantes de linfocitos, granulocitos inmaduros, eritrocitos nucleados y otras anomalías como señales de anisocitosis, microcitosis, macrocitosis, etc.(6). En el transcurso de varios años han salido al mercado diversos sistemas como los antes mencionados, pero este trabajo se enfoca al modelo STKS, el cual utiliza una nueva tecnología que provee un diferencial completo, rápido y confiable combinando características de volumen, conductividad y dispersión de luz láser en un sistema íntegro para la identificación de células sanguíneas (principio VCS), y que nos provee una gráfica tridimensional de población y subpoblaciones celulares, cuyos datos aportados nos proporcionan gran información para orientarnos a un diagnóstico, (Cartwright EG, 1983).

El presente trabajo trata de resaltar la importancia que tienen los aspectos morfológicos y la gran ayuda que en un momento dado, nos aportan los datos de los histogramas del Coulter modelo STKS sin que se pretenda reemplazar la observación de un frote sanguíneo por la automatización sino aceptarlos como complemento para el diagnóstico de las leucemias ya que de un diagnóstico oportuno depende la calidad de vida de un paciente.

IV. OBJETIVOS

▪ OBJETIVO GENERAL

1.- Evaluar los histogramas de distribución leucocitaria e identificar los puntos característicos que estas gráficas muestran con diferentes leucemias utilizando el equipo Coulter STKS y analizar que parámetros hematológicos concuerdan con los hallazgos microscópicos.

▪ OBJETIVOS PARTICULARES

1.- Analizar en el equipo Coulter STKS los parámetros hematológicos de 13 pacientes con un diagnóstico presuntivo de algún tipo de leucemia que asisten al servicio de hematología del Hospital de Especialidades del Centro Médico siglo XXI.

2.- Realizar un frote de sangre periférica de dichos pacientes y caracterizar morfológicamente las células sanguíneas mediante microscopia con tinción de Wright.

3.- Evaluar los histogramas aportados por el equipo Coulter STKS como una posible herramienta para el diagnóstico presuntivo de leucemias y establecer los patrones de los histogramas que son importantes como apoyo para el diagnóstico posterior de leucemias.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

A. MATERIAL

- * Muestra de sangre anticoagulada con EDTA
- * Portaobjetos
- * Colorante de Wright
- * Equipo automatizado Coulter modelo STKS
- * Microscopio óptico

B. METODOLOGÍA

- * Se utilizaron muestras de sangre periférica con EDTA como anticoagulante de pacientes con un diagnóstico presuntivo de leucemia del servicio de Hematología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.
- * Se les practicó una Biometría Hemática en el Coulter modelo STKS.
- * Se realizó un frote de sangre periférica el cual se tiñó con colorante de Wright y se observó al microscopio.
- * Se presentan 13 casos de pacientes con probable leucemia cuyos histogramas aportan mayor información respecto al tipo celular predominante en las diferentes regiones.

C. FUNDAMENTO COULTER

El principio Coulter cuenta y mide las células al detectar y medir los cambios en la resistencia eléctrica a medida que las células pasan a través de una pequeña abertura en un líquido conductor como se muestra en la fig. 1, (Bernard HJ, 1993).

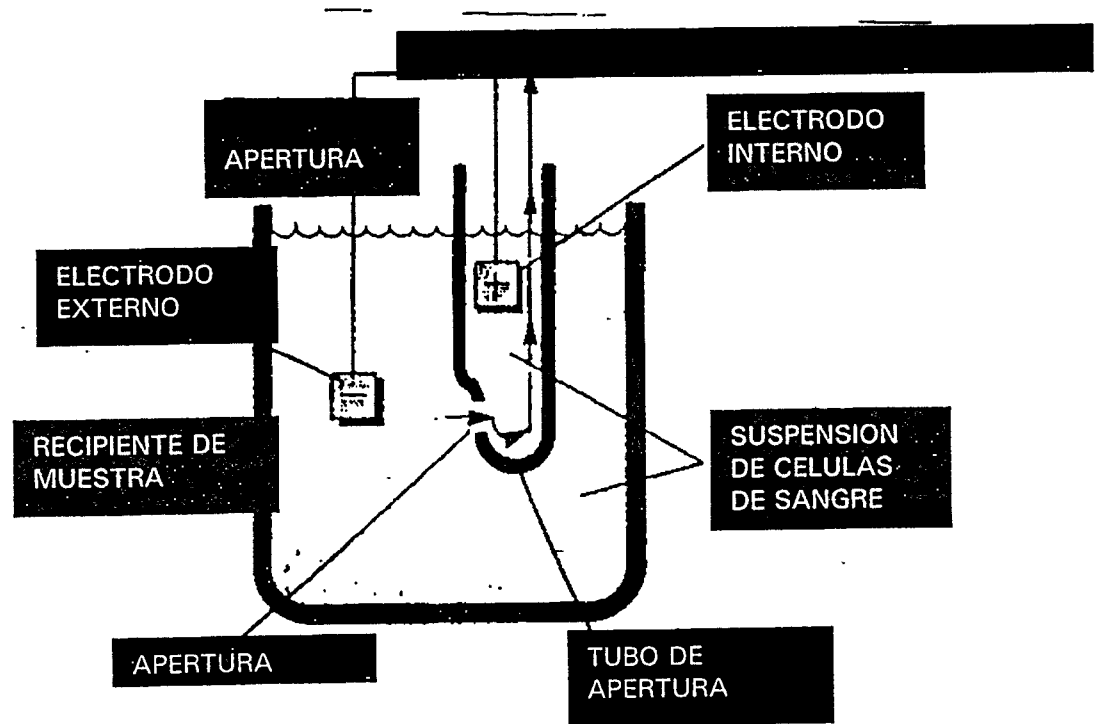


Fig. 1 Fundamento Coulter.

En un compartimiento que contiene una solución que actúa como diluyente y además es buena conductora de la corriente eléctrica, se encuentran sumergidos dos electrodos, uno dentro del tubo de apertura y otro fuera, al aplicar un voltaje determinado se establece entre ambos una diferencia de potencial constante (conteo de fondo). Cuando cada célula pasa a través de la apertura, momentáneamente aumenta la resistencia para el flujo de corriente eléctrica. El tamaño (amplitud) del pulso eléctrico que se produce es proporcional al volumen de la célula, (Bernard HJ, 1993; Cornbleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

PERÍODOS DE RECuento: Una suspensión de células que pasa a través de una apertura en uno de los baños se detecta en tres recuentos simultáneos. Estos tres "períodos de recuento" normalmente duran hasta 4 segundos y durante este tiempo el analizador colecta y amplifica los pulsos eléctricos producidos por las células. También revisa que se acumulen datos suficientes para garantizar que las curvas de distribución por tamaño reflejen con precisión las poblaciones verdaderas de las células. Si no han sido acumulados datos suficientes, existe una extensión automática del período de recuento, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

UMBRALES: Los umbrales, son los límites de tamaño electrónicamente establecidos, excluyen las partículas no deseadas del análisis. Las partículas por encima del umbral o entre un umbral superior o inferior se analizan, las partículas debajo o fuera del umbral(es) no son analizadas. Los umbrales también se usan para distinguir electrónicamente entre dos tipos de célula diferentes y separar las células dentro de una población para producir curvas de distribución de tamaño o histogramas, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

CORRECCIÓN POR COINCIDENCIA: Ocasionalmente, más de una célula se puede encontrar dentro de los límites de detección de una apertura a la vez. Cuando esto ocurra, solamente un pulso es contado. La frecuencia de coincidencia es una función estadísticamente predecible de la concentración de células. El analizador automáticamente corrige la coincidencia de los resultados, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

RECHAZO: Este proceso se usa en el recuento de leucocitos, eritrocitos, plaquetas, cálculo de volumen corpuscular medio y amplitud de distribución eritrocitaria. La computadora del analizador compara los datos de los tres períodos de recuento para verificar que al menos dos de éstos concuerden uno con el otro dentro de una escala estadística establecida, si tres concuerdan los datos son

promediados y reportados y si existe una variación total entre los tres se proyecta un código para indicar un rechazo total, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

RECUENTO DE LEUCOCITOS: Este es medido directamente. Un diluyente lisa a los eritrocitos y altera a los leucocitos. El reactivo de lisis modifica la membrana citoplasmática leucocitaria y produce un colapso alrededor del núcleo retraído y de los gránulos. Estas células alteradas son aspiradas mediante vacío a través de tres orificios de 100 x 75 μ y se cuentan y calibran según su resistencia. El analizador cuenta todas las partículas en la dilución que son mayores de 35 fl como leucocitos. Aunque los eritrocitos son de tamaño similar, han sido eliminados de la dilución por el reactivo lítico. Las plaquetas que caen por debajo del umbral de 35 fl, son por lo tanto ignoradas por el analizador. Después de realizar la corrección por coincidencia usual y los procedimientos de rechazo, el analizador multiplica el recuento de leucocitos por un factor de calibración y reporta el resultado en ul. El número absoluto para cada población es calculada multiplicando el porcentaje diferencial por el recuento total de leucocitos y reportado en células $\times 10^9$, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

RECUENTO DE ERITROCITOS: Este parámetro también es medido directamente. La dilución contiene eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Las partículas que son mayores de 36 fL o mayores son contadas como eritrocitos. Los leucocitos presentes en la dilución son incluidos en el recuento, no obstante, su interferencia es insignificante debido a que son normalmente miles en comparación con millones de glóbulos rojos. Después de la corrección por coincidencia y el rechazo, el analizador multiplica el recuento por un factor de calibración y los reporta en células $\times 10^{12}$, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

HISTOGRAMA DE ERITROCITOS: Además de ser contados, éstos son categorizados de acuerdo con su tamaño por un analizador de altura de pulsos. El analizador de altura de pulsos usa un número de umbrales para distribuir las partículas en 256 categorías de tamaño (volumen) o canales y para crear un histograma de las partículas. El histograma de datos resultante se detalla por una técnica de promedio móvil y proyectado en la pantalla. La escala de proyección es de 24 a 360 fl. Existe un área de proyección adicional entre 24 y 36 fl. que permite que el extremo inferior del histograma sea controlado. Se puede detectar una anomalía que pudiera afectar la precisión de los parámetros de eritrocitos o que le envíe un mensaje para que se revise el frote. El histograma eritrocitario representa el volumen nativo de las células (eje X) frente a su frecuencia (eje Y) , (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO: Es el tamaño promedio de todas las células en el histograma de eritrocitos que comprende desde 36 hasta 360 fl. El VCM es corregido para el paso de coincidencia debido a que dos células que pasen simultáneamente a través de la apertura crean un pulso grande. Después que sean corregidas, el VCM se multiplica por un factor de calibración y el resultado es reportado, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

AMPLITUD DE DISTRIBUCIÓN ERITROCITARIA: El ADE (Amplitud de distribución de eritrocitos) es una medida de la variabilidad en el tamaño de los eritrocitos y es derivado del histograma de éstos. La computadora en el analizador tiene en consideración ambos extremos de la curva de distribución para eliminar los datos que sean confusos y calcula el coeficiente de variación del tamaño de las células. Esto lo hace calculando la desviación estándar y el VCM y entonces usa estos datos en la fórmula:

$$ADE = \frac{\text{Desviación estándar} \times 100}{VCM}$$

CONCENTRACIÓN DE LA HEMOGLOBINA: La concentración de la hemoglobina es un parámetro medido directamente. El reactivo lítico es añadido a la dilución de leucocitos para estromalisar los eritrocitos y convertir la hemoglobina liberada en un pigmento estable que puede ser medido fotométricamente. La luz monocromática en una longitud de onda de 525 nm es transmitida a través del baño de apertura de leucocitos el cual contiene la muestra que va a ser medida. Mientras más hemoglobina hay presente en la muestra, más luz es absorbida. La absorbancia de la muestra es comparada a una lectura de blanco que fue determinada más tempranamente en el ciclo con diluyente limpio, un factor de calibración es aplicado, y el resultado de la concentración de hemoglobina es reportado, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

HEMATOCRITO: Es un parámetro calculado y es el volumen relativo de eritrocitos expresado como porcentaje. La fórmula que se aplica es:

$$\text{HCT} = \frac{\text{ERIT} \times \text{VCM}}{10}$$

HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA: La HCM es calculada e indica el peso promedio de la hemoglobina en el eritrocito. La fórmula utilizada es:

$$\text{HCM} = \frac{\text{Hb} \times 10}{\text{ERIT}}$$

CONCENTRACION MEDIA DE HEMOGLOBINA CORPUSCULAR: La CMHC es una expresión de la concentración promedio de la hemoglobina en los eritrocitos. Relaciona la cantidad promedio (peso) de la hemoglobina en los eritrocitos con el volumen promedio de los eritrocitos. Se calcula usando la fórmula:

$$\text{CMHC} = \frac{\text{Hb} \times 100}{\text{HCT}}$$

RECUENTO DE PLAQUETAS: Aunque éstas células son medidas directamente usando el principio Coulter, su recuento es derivado del histograma. Las partículas entre 2 y 20 fl en la dilución de ERIT/PLQ son contadas y medidas mientras pasan a través de la apertura. Los datos resultantes son comprobados contra un grupo de criterios matemáticos y ajustados a una curva logarítmica normal de 0 a 70 fl. Este recuento se deriva de la curva ajustada la cual representa todas las plaquetas en la muestra, inclusive aquellas que son más pequeñas de 2 fl. o mayores de 20 fl. Además de "ajustar" dichas células que son de tamaño variable, el proceso de la curva provee la ventaja extra de excluir interferencias de partículas, microburbujas, fragmentos de eritrocitos o eritrocitos excepcionalmente pequeños. El resultado final es más preciso y se reporta en células $\times 10^9$. El histograma plaquetario representa el volumen nativo de las células (eje X) frente a su frecuencia (eje Y), (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO: El VPM representa el tamaño promedio de las plaquetas. La computadora del analizador usa el histograma de plaquetas como la base para derivar el VPM, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

Son generados tres histogramas por separado, uno de cada uno de los tres períodos de recuento. Los datos reciben corrección por coincidencia y se decide sobre éstos si son rechazados. El resultado promedio para ambos el recuento de plaquetas y el VPM es multiplicado por su factor de calibración respectivo antes de ser reportado en fentolitros, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

D. TECNOLOGÍA VOLUMEN, CONDUCTIVIDAD Y DISPERSIÓN.

La tecnología VCS combina el volumen, la conductividad y la dispersión de luz láser en un sistema integrado para la enumeración discreta de los leucocitos, incluyendo linfocitos, monocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

SISTEMA DE REACTIVOS: Un factor esencial para distinguir los tipos de células mediante la tecnología VCS comienza con la célula misma. Los leucocitos, linfocitos, monocitos, neutrófilos, basófilos y eosinófilos, exhiben naturalmente características distintivas. Para que el ojo humano pueda ver algunas de estas diferencias, los constituyentes de la célula tienen que ser resaltados con tintes y entonces aumentados. El proceso de tinción y la mayoría de otros métodos de tratamiento químico, pueden alterar algunas de las características naturales de la célula, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

El sistema de reactivos no altera la morfología de la célula nativa. Trabajan en conjunto tres reactivos, Erythrolyse II para la lisis del eritrocito, Stabilyse para neutralizar la acción lítica y un fluido de recubrimiento isotónico (Isoton III) para acentuar las diferencias inherentes entre los tipos de células sin la necesidad de tinciones especiales. El volumen nativo de la célula, contenido, citoplasma y características de la superficie permanecen intactas. Las características innatas que diferencian un basófilo de un neutrófilo, un linfocito de

un monocito, o una célula madura de una inmadura permanecen sin cambiar, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

VOLUMEN, CONDUCTIVIDAD Y DISPERSIÓN: La combinación de volumen, conductividad y dispersión de luz es la clave para la capacidad de diferenciación y resolución de esta tecnología, realizándolo simultáneamente. Miles de partículas se analizan individualmente durante cada ciclo del instrumento, proporcionando una alta precisión estadística, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

VOLUMEN: El Principio Coulter es utilizado para las mediciones de volumen de las células. Un flujo de corriente directa se establece entre dos electrodos dentro de la celda. Estos electrodos se encuentran a cada lado de la apertura. A medida de que los leucocitos en su estado casi nativo pasan a través de la apertura, aumentan la resistencia al flujo de corriente directa y producen un voltaje proporcional a su volumen, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

El tamaño es una característica distintiva de la identidad de los leucocitos; sin embargo, algunas células son similares en tamaño pero difieren en otras formas medibles. Por ejemplo, los linfocitos pequeños y los basófilos maduros son aproximadamente de 9 a 12 μm de diámetro. Las mediciones simultáneas de conductividad y dispersión de luz proveen datos adicionales mediante los cuales estas células pueden ser diferenciadas una de la otra, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

DISPERSIÓN DE LA LUZ: Además de los datos de volumen y conductividad, las características de dispersión de la luz de la superficie de una célula proveen información distintiva respecto al tipo de ésta. Cada una de ellas se detecta con luz monocromática de una fuente de láser. Los patrones resultantes proveen

información sobre la estructura, la forma y la reflectividad. La dispersión de la luz es particularmente útil para separar las células basado en sus tipos y cantidad de gránulos, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

CONDUCTIVIDAD: La conductividad es una medición de contenido interno utilizando una sonda electromagnética de alta frecuencia.

Con el antecedente de que las paredes celulares son conductoras cuando se exponen a corriente de alta frecuencia, a medida que ésta pasa a través de la célula, se detectan cambios medibles como resultado de los constituyentes granulares y nucleares y la composición química del citoplasma, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

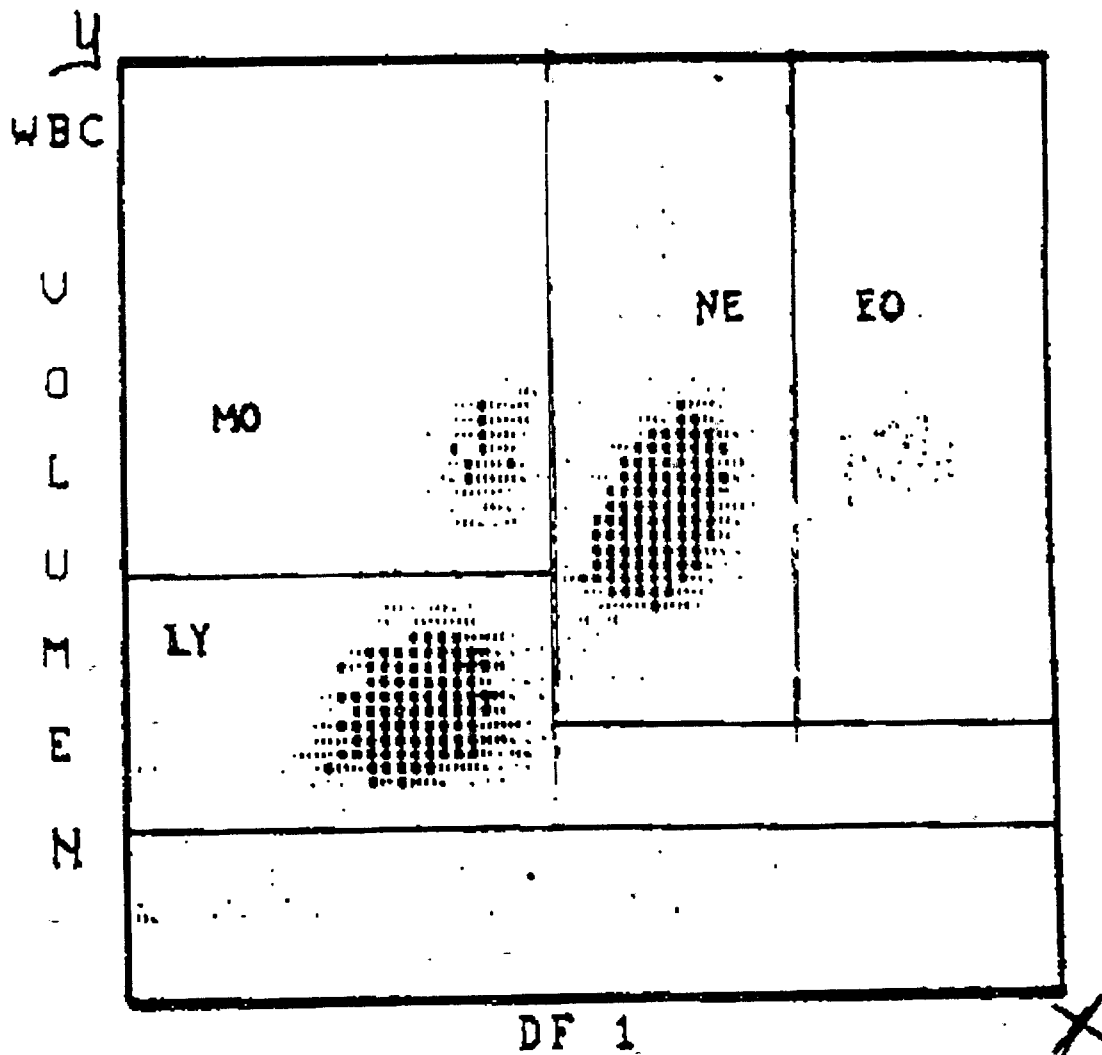
La conductividad ayuda a diferenciar las células de tamaño similar, pero de composición diferente. Por ejemplo, los linfocitos pequeños y los basófilos aparecerían como una sola población si se miden solamente por volumen. Una medición de conductividad, no obstante, va a detectar diferencias pronunciadas en la relación núcleo/citoplasma y la granularidad. Por lo tanto, dos poblaciones de células que hubieran aparecido como idénticas usando mediciones de volumen solamente, pueden ser distinguidas por análisis de conductividad, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

Combinando la dispersión de la luz con el tamaño volumétrico y la técnica electromagnética de alta frecuencia provee el aislamiento preciso de las características multicelulares.

HISTOGRAMA DE DISPERSIÓN DEL VCS: Los datos recolectados son analizados por la tecnología VCS y producen lo que es esencialmente un gráfico tridimensional de poblaciones y subpoblaciones celulares, (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

Estos datos pueden ser visualizados en la pantalla en forma de histogramas de dispersión, éstos representan un aspecto diferente del gráfico tridimensional. Aunque solamente un aspecto es proyectado a la vez, existen tres aspectos disponibles. Se les refiere como a DF1, DF2 y DF3 (función discriminante) , (Jones AR, 1995; Combleet PJ, Hillman WH & Magner JA, 1993).

El eje Y del histograma de dispersión representa el volumen. El eje X principalmente representa una de las otras dos tecnologías, dependiendo cual aspecto sea proyectado, (Jones AR, 1995).



DISPERSION DE LUZ

Fig.2 Histograma de dispersión DF1

Este histograma se deriva principalmente de la dispersión de la luz la cual se representa en el eje X. Los linfocitos, monocitos y eosinófilos se proyectan con alta resolución. Los basófilos se encuentran detrás y no son visibles desde este ángulo (fig. 2), (Jones AR, 1995).

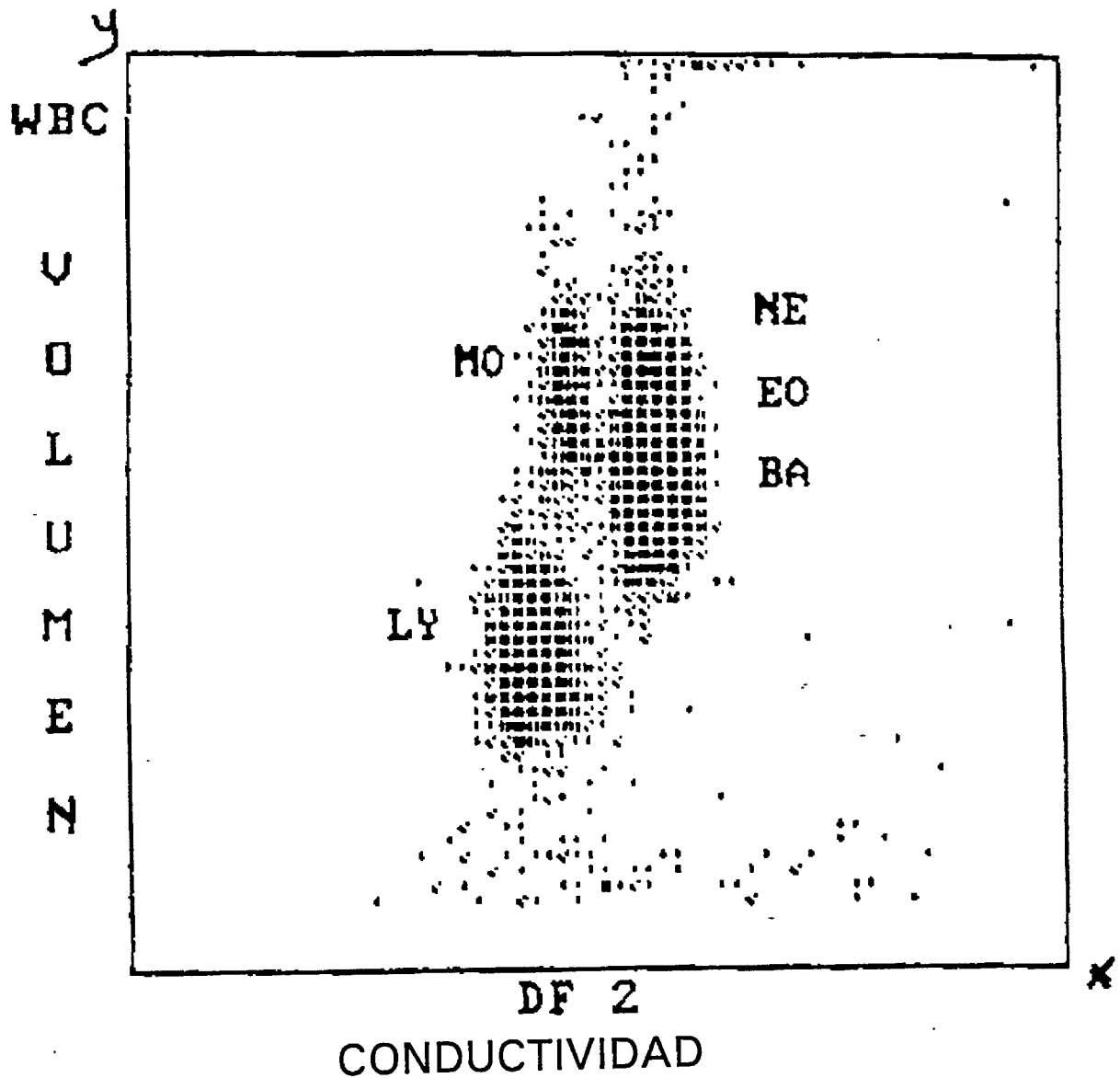


Fig. 3 Histograma de dispersión DF2

El histograma DF 2 se deriva principalmente de la conductividad. El gráfico tridimensional se rota 90 grados de manera que el eje X ahora se encuentra representando conductividad. En éste gráfico se representan linfocitos, monocitos y granulocitos. que incluyen neutrófilos, eosinófilos y basófilos (fig. 3) , (Jones AR, 1995).

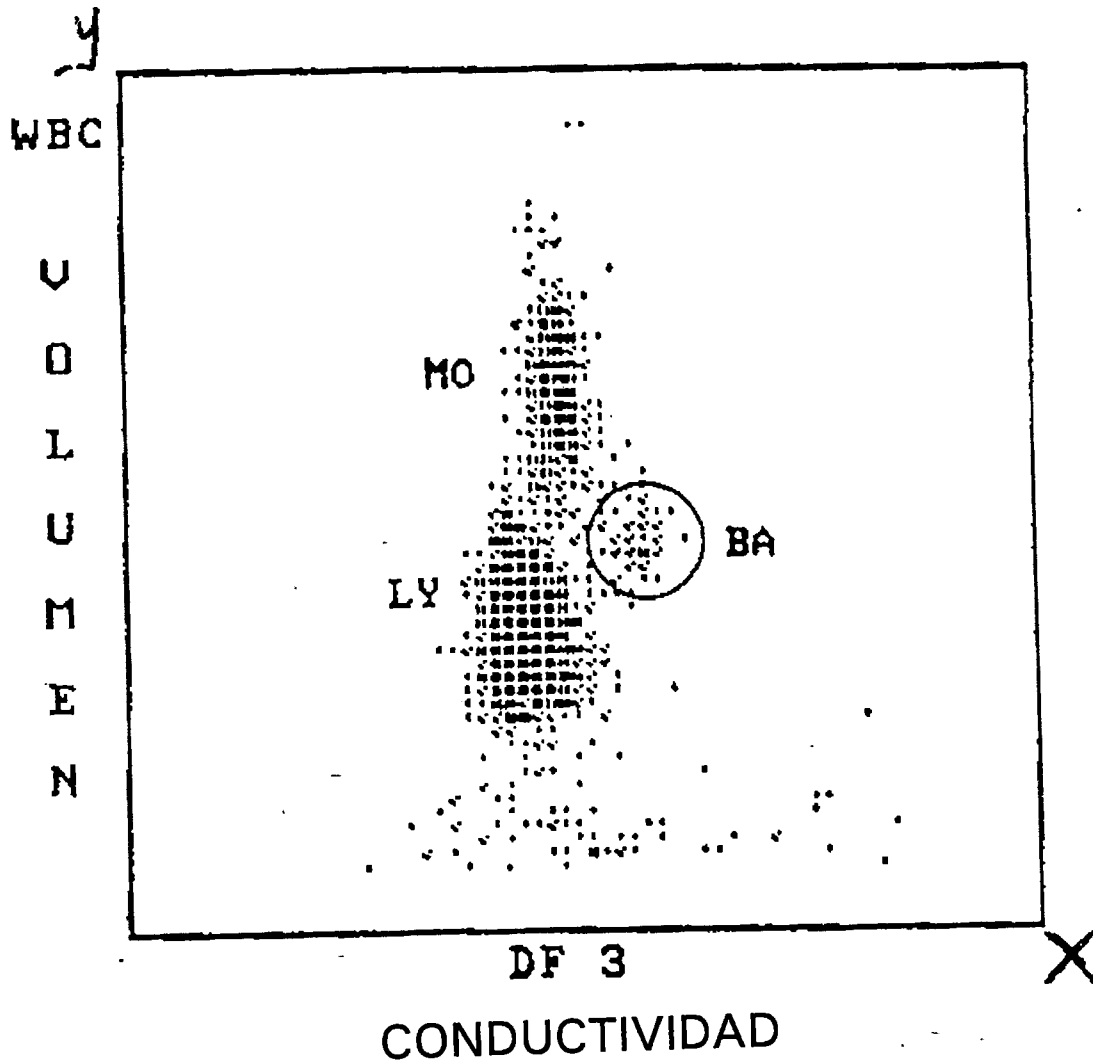


Fig. 4 Histograma de dispersión DF3

El histograma DF 3 proyecta los mismos datos que DF 2 con las poblaciones de neutrófilos y eosinófilos separadas, excepto que la población de neutrófilos se elimina temporalmente para poder visualizar la población de basófilos. Las poblaciones de células de linfocitos, monocitos y basófilos son observadas desde este ángulo (fig. 4), (Jones AR, 1995).

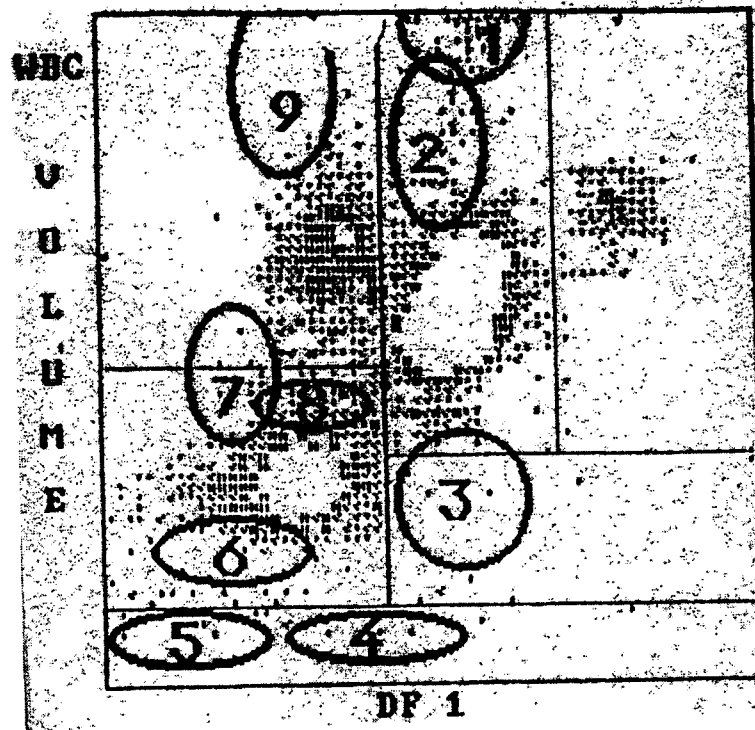


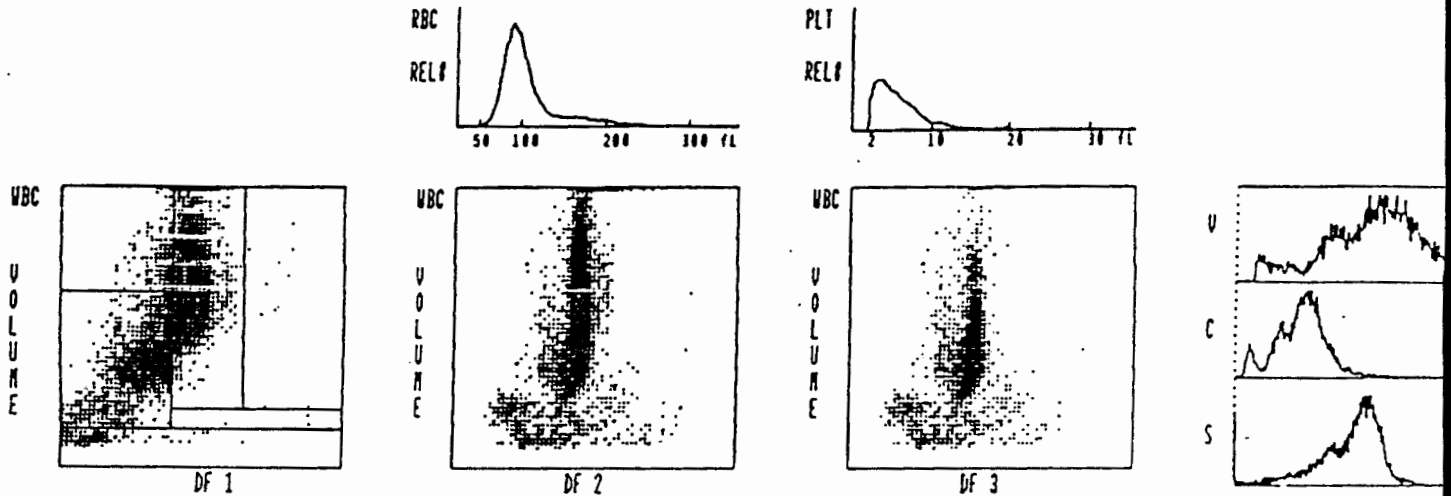
Fig. 5 Señales de alarma de poblaciones celulares anormales

Las poblaciones de células anormales (fig. 5) se distribuyen en el histograma DF1 en base a los datos obtenidos de complejidad, tamaño celular y conductividad, observándose en este cuadro las más frecuentes:

- 1) Sospecha de los blastos de la serie mieloide
- 2) Sospecha de granulocitos inmaduros
- 3) Neutrófilos envejecidos y dañados
- 4) Plaquetas gigantes
- 5) Eritrocitos nucleados
- 6) Linfocitos transformados
- 7) Sospecha de blastos de serie linfoides
- 8) Linfocitos transformados
- 9) Sospechas de blastos de serie monocítica, (Jones AR, 1995).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES

1^{er} CASO: LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA TIPO 2:



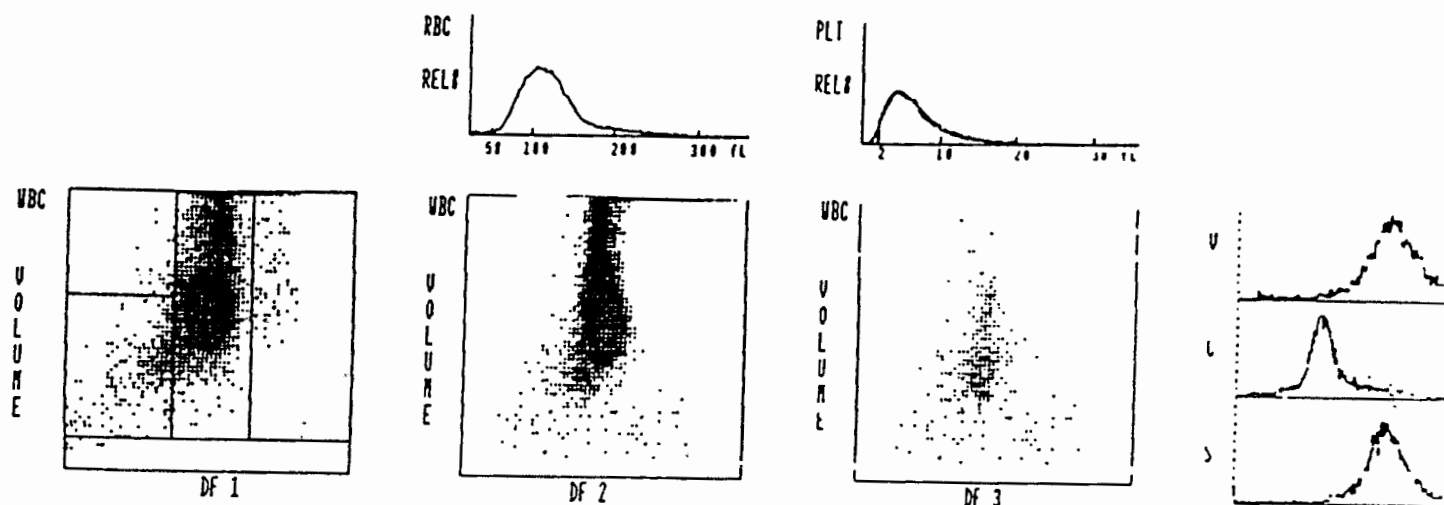
CUADRO 11: RESULTADOS DEL EQUIPO COULTER STKS PARA EL CASO 1

FORMULA BLANCA					
VALOR ABSOLUTO			PORCENTAJE		
LEUCOCITOS	8.5	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	100	%
NEUTRÓFILOS	5.6	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	65.9	%
LINFOCITOS	0.6	$\times 10^3/\mu\text{L}$	BAJO	6.7	%
MONOCITOS	0.2	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	2.9	%
EOSINÓFILOS	0.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.2	%
BASÓFILOS	2.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	24.3	%
SEÑALES DE ALARMA	BLASTOS BASOFILIA ABSOLUTA		LINFOPENIA ABSOLUTA BASOFILIA RELATIVA	LINFOPENIA RELATIVA GRANULOCITOS INMADUROS	
FÓRMULA ROJA					
		VALOR	UNIDADES		
ERITROCITOS		3.07	$\times 10^6/\mu\text{L}$		BAJO
HEMOGLOBINA		9.5	g/dL		BAJO
HEMATOCRITO		28.3	%		BAJO
VCM		92.0	fL		NORMAL
HCM		31.1	pg		NORMAL
CMHC		33.7	g/dL		NORMAL
ADE		15.5	%		ALTO
SEÑALES DE ALARMA	ANEMIA				
PLAQUETAS					
		VALOR	UNIDADES		
PLAQUETAS		45	$\times 10^3/\mu\text{L}$		BAJO
VPM		6.4	fL		BAJO
SEÑALES DE ALARMA	TROMBOCITOPENIA		PLAQUETAS PEQUEÑAS		

DISCUSIÓN PARA EL CASO 1:

La serie roja cursa con una moderada anemia normocítica-normocrómica (VCM, HCM y CMHC normales) con discreta anisocitosis (ADE ligeramente incrementado), la trombocitopenia es severa con plaquetas pequeñas que puede ser indicativo de la falla medular, la cifra de leucocitos es normal pero el recuento diferencial muestra alteraciones. La función discriminante 1 (DF1) que confronta tamaño celular contra dispersión de la luz, se observa que la mayor densidad de población celular está en el área de granulocitos, con presencia de células grandes y que se comprueba en el histograma de volumen de la derecha (V) en el que se pierden las poblaciones, una proporción mediana de células se encuentra en el área de linfocitos-basófilos y que el equipo detectó como basófilos, posiblemente por ser células pequeñas pero con gránulos grandes (¿azurófilos?). La función discriminante 2 (DF2) que confronta tamaño contra conductividad, muestra una distribución de células con conductividad similar pero heterogénea en tamaño y que se comprueba en el histograma (C), lo que puede ser indicativo de blastos en diferentes estadios del ciclo celular. LA DF3 que confronta tamaño contra conductividad ligada a baja dispersión de luz, se observa una población homogénea que descarta la presencia de basófilos por no haber células con conductividad similar a la de ellos, este canal resulta de utilidad en la discriminación de basófilos contra otras células granulares. Las variantes evaluadas, nos hablan de una gran proporción de células grandes con moderada granularidad aunque de tamaños variables, el equipo sugiere la presencia de blastos y granulocitos inmaduros. Con la observación del frote, se comprueba la presencia de numerosos blastos, algunos con bastones de Auer, imagen sugestiva de leucemia mieloblástica tipo 2.

2º CASO: LEUCEMIA GRANULOCÍTICA CRÓNICA:



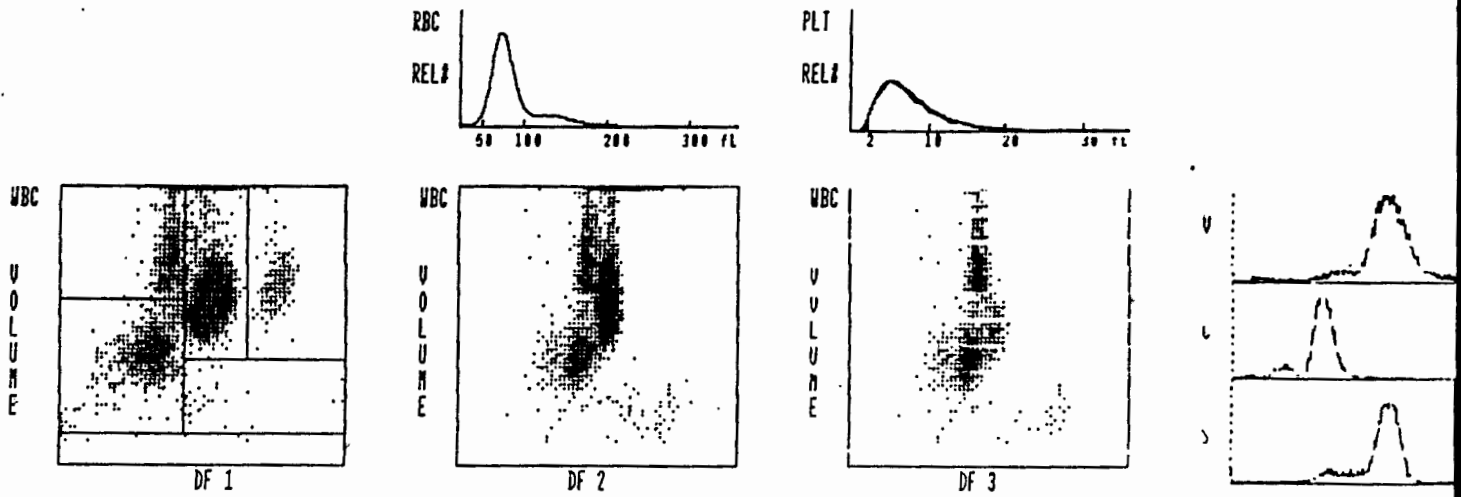
CUADRO 12: RESULTADOS DEL EQUIPO COULTER STKS PARA EL CASO 2

FORMULA BLANCA						
VALOR ABSOLUTO				PORCENTAJE		
LEUCOCITOS	70.8	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	100	%	
NEÚTRÓFILOS	66.4	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	93.9	%	ALTO
LINFOCITOS	2.8	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	3.9	%	BAJO
MONOCITOS	0.3	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.4	%	BAJO
EOSINÓFILOS	1.2	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	1.7	%	NORMAL
BASÓFILOS	0.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.1	%	NORMAL
SEÑALES DE ALARMA	LEUCOCITOSIS NEUTROFILIA RELATIVA GRANULOCITOS INMADUROS		BLASTOS LINFOPENIA RELATIVA	NEUTROFILIA ABSOLUTA EOSINOFILIA		
FÓRMULA ROJA						
VALOR			UNIDADES			
ERITROCITOS	3.85	$\times 10^6/\mu\text{L}$	BAJO			
HEMOGLOBINA	11.0	g/dL	BAJO			
HEMATOCRITO	40.3	%	NORMAL			
VCM	104.6	fL	ALTO			
HCM	35.2	pg	ALTO			
CMHC	33.6	g/dL	NORMAL			
ADE	24.0	%	ALTO			
SEÑALES DE ALARMA	-					
PLAQUETAS						
VALOR			UNIDADES			
PLAQUETAS	405	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO			
VPM	7.2	fL	BAJO			
SEÑALES DE ALARMA	PLAQUETAS PEQUEÑAS					

DISCUSIÓN PARA EL CASO 2:

Los datos de la biometría muestran una anemia ligera con moderada macrocitos (VCM mayor de 100 fL) probablemente asociado a depleción de vitamina B12 (incremento de transcobalamina III) o a quimioterapia por antagonistas de ácido fólico, y normocromía (CMHC normal), la anisocitosis es acentuada (ADE mayor de 14.5), la cifra de plaquetas está ligeramente incrementada. La leucocitosis es muy evidente y por lo anotado en el recuento diferencial, ésta es a expensas de granulocitos neutrófilos. La función DF1 muestra una distribución heterogénea de células extendido en la zona de polimorfonucleares, al observar los histogramas de volumen (V) y dispersión (S) se comprueba que son células grandes y con alto grado de dispersión de luz e incluyen un área considerable que habla de una sola línea celular pero en diferentes estadios de maduración. La función DF2 muestra células con gran heterogeneidad de tamaño pero conductividad similar en la zona de granulocitos. La función DF3 aporta pocos datos. Conjuntando datos, vemos que se trata de una población heterogénea de células de estirpe granulocítica, por la leucocitosis sospechamos fuertemente que se trata de una leucemia y por las cifras de hemoglobina y plaquetas, se puede considerar que es crónica y no aguda, posiblemente una leucemia mielocítica crónica. El equipo nos marca la sospecha de blastos. Al observar los frotos se comprobó que efectivamente se trata de una LGC con todos los estadios de maduración desde mieloblastos (menos del 5%) hasta neutrófilos segmentados, algunos macropolicitos, una moderada proporción de eritrocitos muestran gran tamaño, estos cambios megaloblásticos se deben a que el paciente ha recibido quimioterapia con fármacos antifolatos.

3º CASO: POLICITEMIA VERA



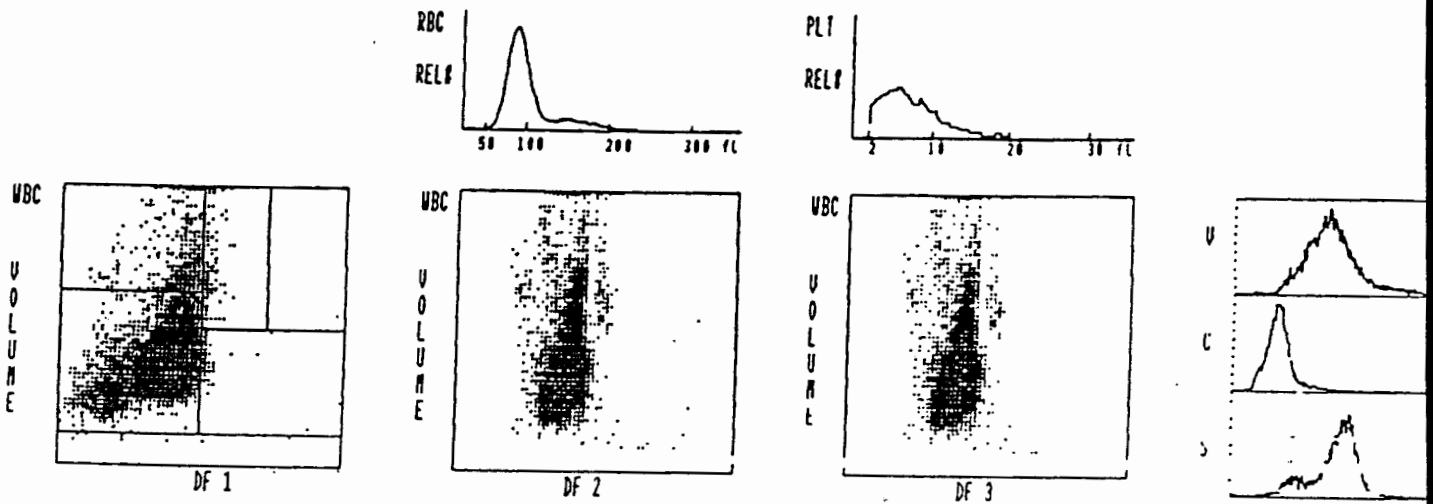
CUADRO 13: RESULTADOS DEL EQUIPO COULTER STKS PARA EL CASO 3

FORMULA BLANCA					
VALOR ABSOLUTO			PORCENTAJE		
LEUCOCITOS	16.3	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	100	%
NEUTRÓFILOS	13.3	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	81.0	% ALTO
LINFOCITOS	1.6	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	10.0	% BAJO
MONOCITOS	0.9	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	5.4	% NORMAL
EOSINÓFILOS	0.4	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	2.7	% NORMAL
BASÓFILOS	0.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.9	% NORMAL
SEÑALES DE ALARMA	BANDAS NEUTROFILIA RELATIVA GRANULOCITOS INMADUROS		LEUCOCITOSIS LINFOPENIA RELATIVA	NEUTROFILIA ABSOLUTA MONOCITOSIS ABSOLUTA	
FÓRMULA ROJA					
VALOR		UNIDADES			
ERITROCITOS	6.95	$\times 10^6/\mu\text{L}$	ALTO		
HÉMOGLOBINA	15.6	g/dL	NORMAL		
HEMATOCRITO	49.9	%	NORMAL		
VCM	71.7	fL	BAJO		
HCM	22.4	pg	BAJO		
CMHC	31.3	g/dL	BAJO		
ADÉ	16.8	%	ALTO		
SEÑALES DE ALARMA	ERITROCITOSIS				
PLAQUETAS					
VALOR		UNIDADES			
PLAQUETAS	855	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO		
VPM	8.1	fL	NORMALO		
SEÑALES DE ALARMA	TROMBOCITOSIS				

DISCUSIÓN PARA EL CASO 3:

Los datos de esta biometría muestran a un paciente no anémico pero si con microcitosis (VCM menor de 80 fL), el histograma eritrocitario inicia antes de los 50 fL, lo que reafirma lo anterior, también muestra hipocromía (HCM y CMHC disminuidas), anisocitosis ligera (ADE mayor de 14.5) y poliglobulia (recuento eritrocitario de $6.95 \times 10^6 / \mu\text{L}$), la trombocitosis es significativa y la cifra de leucocitos es superior a la normal. El recuento diferencial nos habla de que la leucocitosis es a expensas de la serie mieloide (granulocitos y monocitos) ya que la cifra absoluta de linfocitos es normal. Las funciones DF1, DF2 y DF3 muestran patrones de distribución normales pero con linfopenia la cual es relativa, ya que lo que existe es granulocitosis y monocitosis absolutas. Esta imagen de incremento de todas las líneas de la serie mieloide (granulocitos, eritrocitos y plaquetas) es sugestivo de policitemia vera. El dato de microcitosis apunta a que el paciente está en la fase "gastada" del padecimiento debido a múltiples sangrías que lo han llevado a un estado de ferropenia.

4º CASO: LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA L1:



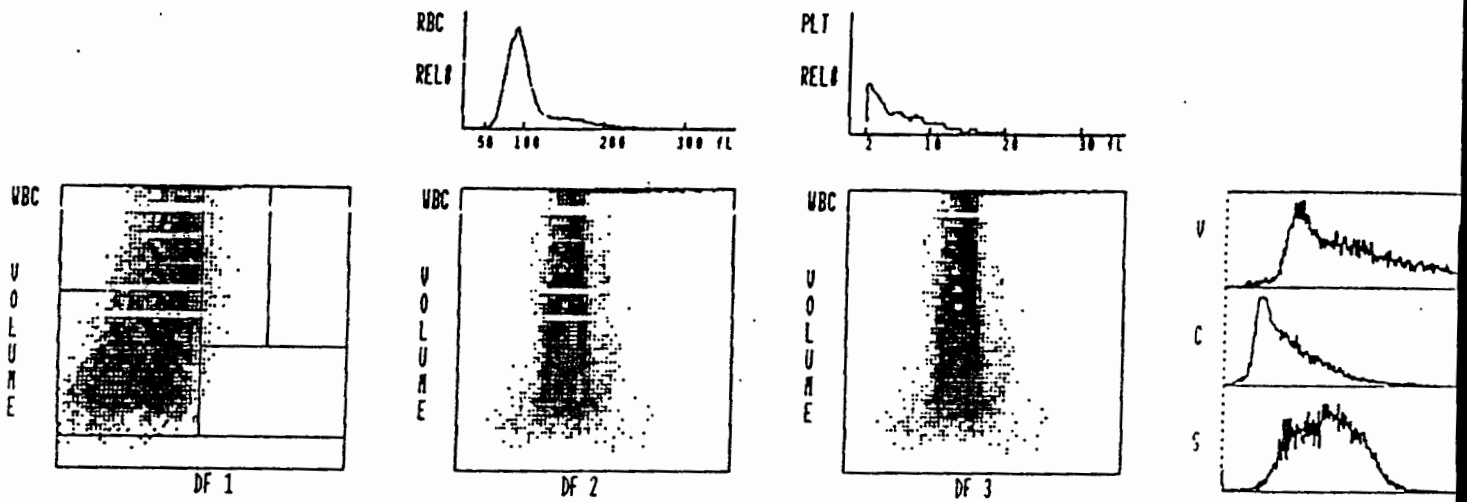
CUADRO 14: RESULTADOS DEL EQUIPO COULTER STKS PARA EL CASO 4

FORMULA BLANCA					
VALOR ABSOLUTO			PORCENTAJE		
LEUCOCITOS	33.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	100	%
NEUTRÓFILOS	0.4	$\times 10^3/\mu\text{L}$	BAJO	1.3	% BAJO
LINFOCITOS	31.3	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	94.7	% ALTO
MONOCITOS	1.2	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	3.6	% NORMAL
EOSINÓFILOS	0.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.0	% BAJO
BASÓFILOS	0.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.4	% NORMAL
SEÑALES DE ALARMA	VARIANTES DE LINFOCITOS NEUTRO PENIA RELATIVA LINFOCITOSIS RALATIVA		BLASTOS NEUTROPENIA ABSOLUTA LINFOCITOSIS ABSOLUTA		LEUCOCITOSIS MONOCITOSIS ABSOLUTA
FÓRMULA ROJA					
VALOR		UNIDADES			
ERITROCITOS	3.66	$\times 10^6/\mu\text{L}$		BAJO	
HEMOGLOBINA	10.6	g/dL		BAJO	
HEMATOCRITO	32.5	%		BAJO	
VCM	88.6	fL		NORMAL	
HCM	28.9	pg		NORMAL	
CMHC	32.5	g/dL		BAJO	
ADE	13.6	%		NORMAL	
SEÑALES DE ALARMA	ANEMIA				
PLAQUETAS					
VALOR		UNIDADES			
PLAQUETAS	26	$\times 10^3/\mu\text{L}$		BAJO	
VPM	8.0	fL		NORMAL	
SEÑALES DE ALARMA	TROMBOCITO PENIA				

DISCUSION PARA EL CASO 4:

Los datos de la biometría de este paciente muestran que padece una anemia normocítica-normocrómica (VCM, HCM yCMHC normales) sin anisocitosis (ADE menor de 14.5), con trombocitopenia severa. La cifra de leucocitos es superior a lo normal. La distribución celular en DF1 agrupa a la gran mayoría en la zona de linfocitos-basófilos que se comprueba en el histograma V que nos habla de células pequeñas, sin embargo, el equipo contabilizó como basófilos esto, porque la dispersión de la luz (S) fue superior a la de los linfocitos pues las células de este paciente poseen una cromatina más heterogénea y menos condensada que la de un linfocito, la función DF2 sólo muestra células con conductividad similar y poca heterogeneidad en tamaño y la función DF3 muestra a la población celular con conductividad, dispersión de luz y tamaño homogéneos, descartando la presencia de basófilos. Esta imagen tan monótona nos habla de células pequeñas con poca variación de tamaño, el equipo sugiere la presencia de blastos que se comprueba al observar el frote. La sospecha de una LA-L1 se incrementa al investigar la edad del paciente (7 años).

5° CASO: LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA L2:



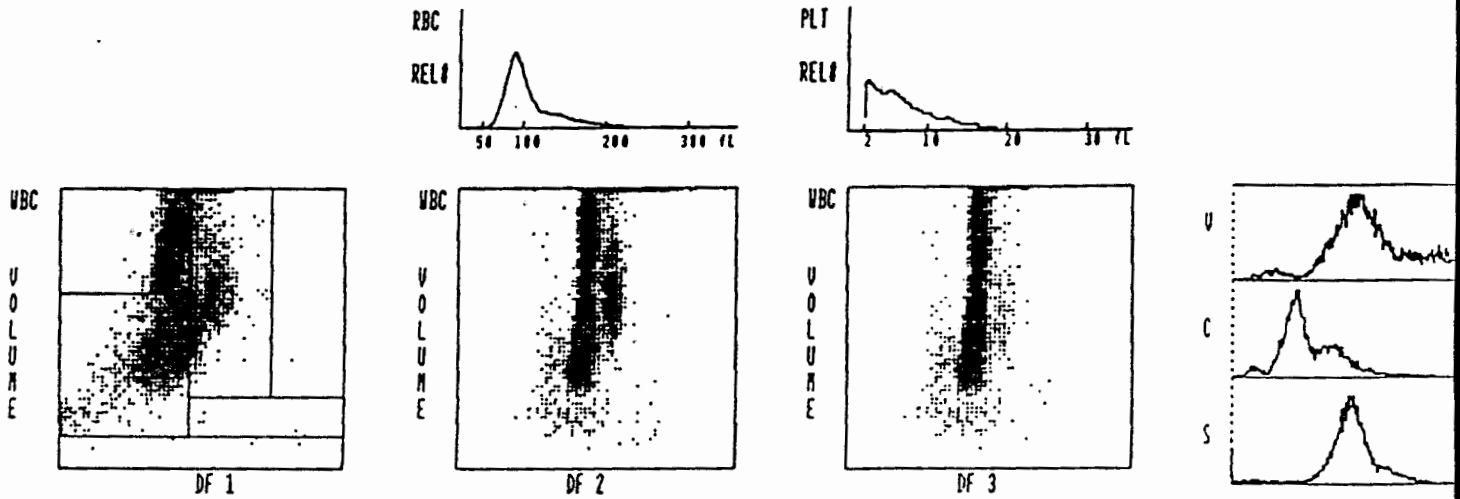
CUADRO 15: RESULTADOS DEL EQUIPO COULTER STKS PARA EL CASO 5

FORMULA BLANCA					
VALOR ABSOLUTO			PORCENTAJE		
LEUCOCITOS	77.5	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	100	%
NEUTRÓFILOS	2.3	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	3.0	% BAJO
LINFOCITOS	54.2	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	69.9	% ALTO
MONOCITOS	19.9	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	25.7	% ALTO
EOSINÓFILOS	0.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.0	% BAJO
BASÓFILOS	1.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	1.4	% NORMAL
SEÑALES DE ALARMA	VARIANTES DE LINFOCITOS NEUTROPENIA RELATIVA MONOCITOSIS RELATIVA		BLASTOS LINFOCITOSIS ABSOLUTA MONOCITOSIS ABSOLUTA	LEUCOCITOSIS LINFOCITOSIS RELATIVA BASOFILIA ABSOLUTA	
FÓRMULA ROJA					
VALOR		UNIDADES			
ERITROCITOS	3.80	$\times 10^6/\mu\text{L}$		BAJO	
HEMOGLOBINA	11.5	g/dL		BAJO	
HEMATOCRITO	34.2	%		BAJO	
VCM	90.0	fL		NORMAL	
HCM	30.3	pg		NORMAL	
CMHC	33.6	g/dL		NORMAL	
ADE	15.0	%		ALTO	
SEÑALES DE ALARMA	ANEMIA				
PLAQUETAS					
VALOR		UNIDADES			
PLAQUETAS	14	$\times 10^3/\mu\text{L}$		BAJO	
VPM	8.5	fL		NORMAL	
SEÑALES DE ALARMA	TROMBOCITO PENIA				

DISCUSIÓN PARA EL CASO 5:

Este paciente manifiesta una anemia normocítica-normocrómica (VCM; HCM y CMHC normales) con ligera anisocitosis (ADE mayor de 14.5), la cifra de plaquetas está severamente disminuida y el recuento de leucocitos es muy elevado. Estos datos nos hacen sospechar de una leucemia aguda. La función DF1 agrupa a la población celular en la zona de linfocitos-basófilos y monocitos que habla de células de tamaño mediano y grandes, se comprueba al ver el histograma de tamaño (V) que muestra heterogeneidad, la dispersión de luz (S) se aprecia en la zona de mononucleares. En la función DF2 se observa una distribución homogénea en conductividad en la zona de linfocitos pero heterogénea en tamaño traslapándose con la zona de monocitos. La función DF3 muestra características similares a la anterior. Esta imagen de células de tamaños variados pero agrupadas en la zona de mononucleares, sugiere la presencia de una LA-L2. El equipo marca una bandera de sospecha de blastos y de variantes de linfocitos, al examinar el frote se observan células inmaduras de estirpe linfoide de diversos tamaños que permiten sugerir con alto grado de certeza la presencia de una LA-L2, diagnóstico que se confirma con citoquímica.

6° CASO: LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA.M4:



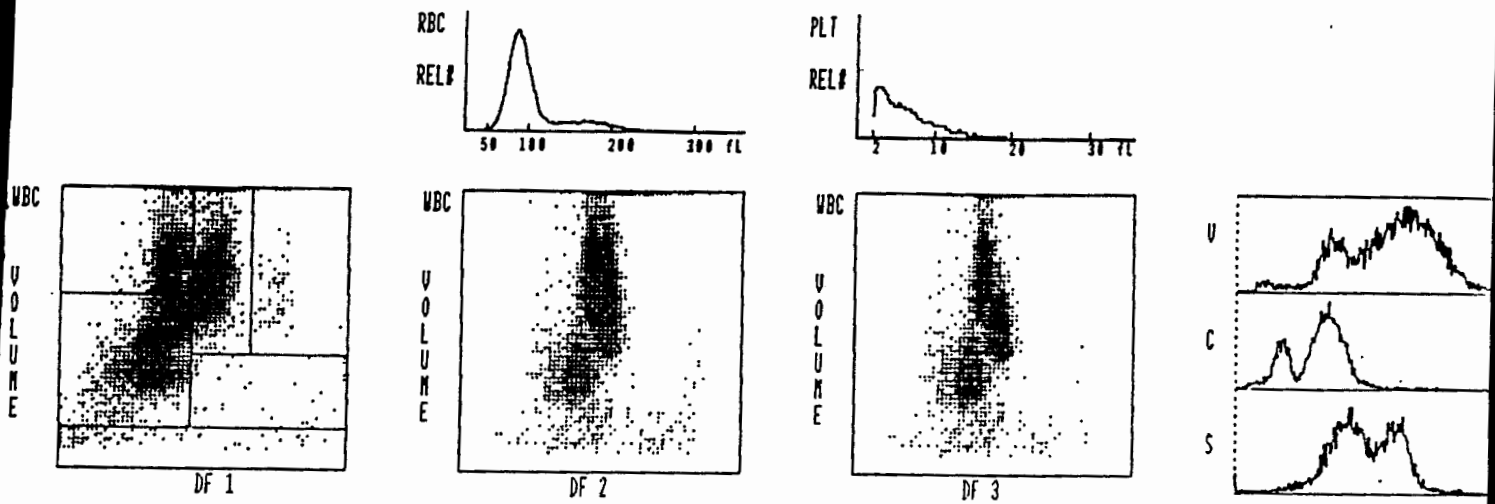
CUADRO 16: RESULTADOS DEL EQUIPO COULTER STKS PARA EL CASO 6

FORMULA BLANCA					
VALOR ABSOLUTO			PORCENTAJE		
LEUCOCITOS	12.2	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	100	%
NEUTRÓFILOS	2.7	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	22.0	% BAJO
LINFOCITOS	6.6	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	54.0	% NORMAL
MONOCITOS	2.9	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	23.6	% ALTO
EOSINÓFILOS	0.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.0	% BAJO
BASÓFILOS	0.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.4	% NORMAL
SEÑALES DE ALARMA	BANDAS LEUCOCITOSIS MONOCITOSIS ABSOLUTA		BLASTOS NEUTROPENIA RELATIVA MONOCITOSIS RELATIVA	VARIANTES DE LINFOCITOS LINFOCITOSIS ABSOLUTA GRANULOCITOS INMADUROS	
FÓRMULA ROJA					
VALOR		UNIDADES			
ERITROCITOS	2.0	$\times 10^6/\mu\text{L}$		BAJO	
HÉMOGLOBINA	6.2	g/dL		BAJO	
HEMATOCRITO	19.3	%		BAJO	
VCM	96.4	fL		NORMAL	
HCM	31.1	pg		NORMAL	
CMHC	32.2	g/dL		BAJO	
ADE	15.4	%		ALTO	
SEÑALES DE ALARMA	ANEMIA				
PLAQUETAS					
VALOR		UNIDADES			
PLAQUETAS	16	$\times 10^3/\mu\text{L}$		BAJO	
VPM	8.3	fL		NORMAL	
SEÑALES DE ALARMA	TROMBOCITOPENIA				

DISCUSIÓN PARA EL CASO 6:

Los datos de la biometría muestran a una paciente con anemia normocítica-normocrómica (VCM, HCM y CMHC normales) con ligera anisocitosis, la trombocitopenia es severa y la cifra de leucocitos está ligeramente incrementada. La función DF1 muestra una distribución de células agrupada en la parte superior de la zona de linfocitos-basófilos y extendida a lo largo de la zona de monocitos, una pequeña proporción se encuentra en la zona de polimorfonucleares, se comprueba con el histograma de tamaño (V), en éste gráfico se aprecian dos poblaciones grandes que no se separan francamente lo que pudiera interpretarse como células mielomonocitoides. En la función DF2 se aprecia la población de mononucleares con conductividad similar pero tamaño heterogéneo separada de la población de polimorfonucleares que tienen mayor conductividad. La función DF3 es similar a la anterior. Al conjuntar datos, el equipo agrupó en los canales de linfocitos y monocitos a la mayor proporción de células, pero por las características anormales de tamaño y conductividad señala una bandera de sospecha de blastos, granulocitos inmaduros y variante de linfocitos. La imagen nos sugiere una leucemia aguda de estirpe monocítica (M4 ó M5). Al realizar la observación de los extendidos de sangre periférica, vemos la presencia de blastos precursores de serie monocítica y mieloide que son sugestivos de LA-M4 que tendrá que comprobarse con citoquímica.

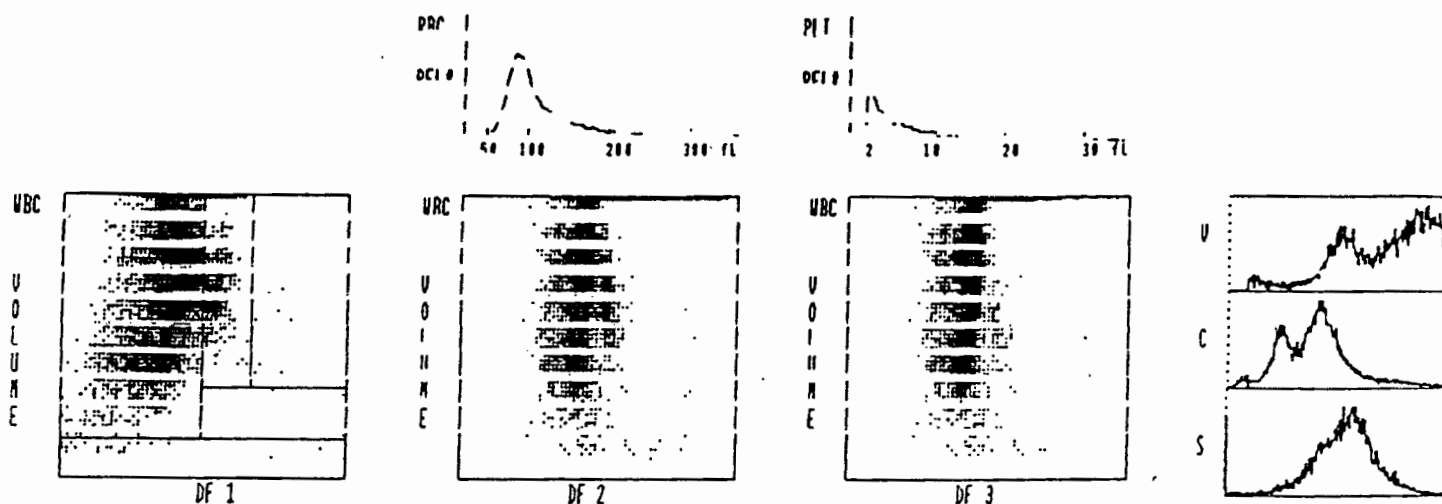
7º CASO: LEUCEMIA GRANULOCÍTICA CRÓNICA:



CUADRO 17: RESULTADOS DEL EQUIPO COULTER STKS PARA EL CASO 7

FORMULA BLANCA					
VALOR ABSOLUTO			PORCENTAJE		
LEUCOCITOS	5.7	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	100	%
NEUTRÓFILOS	2.5	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	44.2	%
LINFOCITOS	1.4	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	24.0	%
MONOCITOS	0.8	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	14.7	%
EOSINÓFILOS	0.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	1.1	%
BASÓFILOS	0.9	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	16.0	%
SEÑALES DE ALARMA	MONOCITOSIS ABSOLUTA BASOFILIA RELATIVA		MONOCITOSIS RELATIVA	BASOFILIA ABSOLUTA	
FÓRMULA ROJA					
	VALOR	UNIDADES			
ERITROCITOS	3.64	$\times 10^6/\mu\text{L}$		BAJO	
HÉMOGLOBINA	11.3	g/dL		BAJO	
HEMATOCRITO	32.5	%		BAJO	
VCM	89.3	fL		NORMAL	
HCM	31.2	pg		NORMAL	
CMHC	34.9	g/dL		ALTO	
ADÉ	14.3	%		ALTO	
SEÑALES DE ALARMA	ANEMIA				
PLAQUETAS					
	VALOR	UNIDADES			
PLAQUETAS	17	$\times 10^3/\mu\text{L}$		BAJO	
VPM	8.1	fL		NORMAL	
SEÑALES DE ALARMA	TROMBOCITOPENIA				

8º CASO: LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA M5:



CUADRO 18: RESULTADOS DEL EQUIPO COULTER STKS PARA EL CASO 8

FORMULA BLANCA					
VALOR ABSOLUTO			PORCENTAJE		
LEUCOCITOS	8.5	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	100	%
NEUTRÓFILOS	0.9	$\times 10^3/\mu\text{L}$	BAJO	10.3	%
LINFOCITOS	2.3	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	26.7	%
MONOCITOS	5.2	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	62.0	%
EOSINÓFILOS	0.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.2	%
BASÓFILOS	0.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.8	%
SEÑALES DE ALARMA	NEÚTROPENIA RELATIVA MONOCITOSIS RELATIVA		NEÚTROPENIA ABSOLUTA MONOCITOSIS RELATIVA	BLASTOS	
FÓRMULA ROJA					
VALOR		UNIDADES			
ERITROCITOS	2.68	$\times 10^6/\mu\text{L}$			BAJO
HEMOGLOBINA	8.6	g/dL			BAJO
HEMATOCRITO	25.1	%			BAJO
VCM	93.7	fL			NORMAL
HCM	32.1	pg			NORMAL
CMHC	34.3	g/dL			NORMAL
ADE	22.8	%			ALTO
SEÑALES DE ALARMA	ANEMIA				
PLAQUETAS					
VALOR		UNIDADES			
PLAQUETAS	10	$\times 10^3/\mu\text{L}$			BAJO
VPM	8.2	fL			NORMAL
SEÑALES DE ALARMA	TROMBOCITOPENIA BLASTOS				

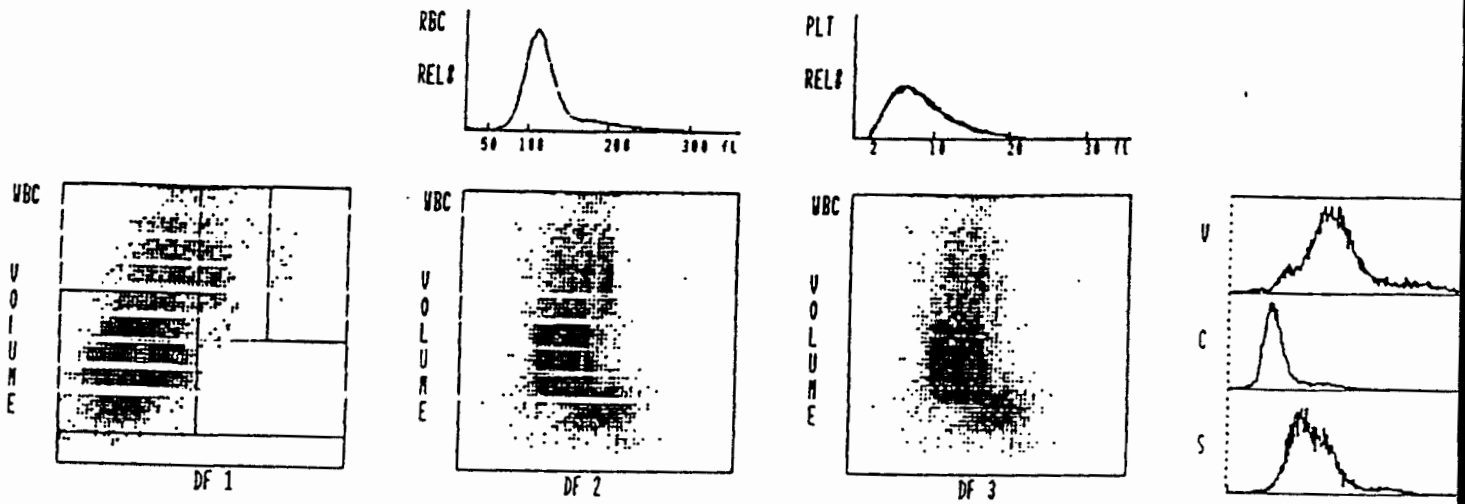
DISCUSIÓN PARA EL CASO 8:

Los datos de la fórmula roja muestran una anemia normocítica-normocrómica (VCM, HCM y CMHC normales) pero con marcada anisocitosis (ADE mayor de 14.5). La cuenta de leucocitos es normal pero la diferencial manifiesta un valor incrementado de las cifras porcentual y absoluta de monocitos, también se observa neutropenia. La trombocitopenia es severa. En la función DF1 se observa a la mayor densidad de población extendida en la zona de monocitos manifestándose una gran heterogeneidad de tamaños. La DF2 muestra una sola población celular de conductividad similar (células mononucleares) pero de tamaños diferentes. La DF3 no separa células de conductividad y dispersión de luz similares. Los histogramas de volumen (V), conductividad © y dispersión (S) concuerdan con las funciones discriminantes. Las alarmas de sospecha señalan la presencia de blastos los cuales por su ubicación corresponderían a precursores de la serie monocítica, la posibilidad de una leucemia aguda se reafirma por la severa trombocitopenia. Al observar el frote, se observan blastos de diferentes tamaños, en su mayoría grandes y con características monocitoides (más del 80%) lo que nos hace sugerir una leucemia LA-M5, la cual se comprueba con citoquímica e inmunofenotipo.

DISCUSIÓN PARA EL CASO 9:

Por los datos de la biometría, vemos que el paciente no cursa con anemia, sin embargo, maneja una macrocitosia normocrómica (VCM mayor de 100 fL, CMHC y HCM normales) con ligera anisocitosis (ADE mayor de 14.5). La cifra de plaquetas se encuentra dentro de los límites normales. El recuento de leucocitos es muy superior a los valores de referencia. La función DF1 muestra la mayor densidad de células blancas en la zona de linfocitos con alto grado de dispersión, ésta se comprueba al observar el histograma de volumen (V) que se aprecia extendido sin manifestarse otro tipo de población celular. En la función DF2 se observa una población de conductividad homogénea y tamaño pequeño que corresponde a linfocitos, el histograma de conductividad © muestra lo anterior. En los datos del recuento diferencial se anotan 6.8% de monocitos y 7.6% de basófilos. Al observar la imagen de la función DF3 vemos la mayor población en la zona de linfocitos pero un segundo grupo pequeño de mayor conductividad resalta a la derecha y algunas células de mayor tamaño en la parte superior del grupo de linfocitos. Hoy se sabe que los linfocitos activados tienen una composición bioquímica en su citoplasma que responde a la corriente alterna de alta frecuencia con una conductividad similar a la de los basófilos. Al observar el frote al microscopio, se comprueba la linfocitosis que es superior al 90% en su mayoría linfocitos de aspecto maduro; la señal de alarma de blastos y variante de linfocitos se entiende al ver la presencia de algunos linfocitos grandes y transformados que el equipo detectó como monocitos por su tamaño. Un porcentaje de linfocitos presenta gránulos (posiblemente de linaje T) y alteraciones morfológicas (linfocitos activados) que el analizador agrupó como basófilos. Al no haber datos de anemia en la biometría y la cifra de plaquetas es normal pero con leucocitosis importante apunta a que enfrentamos un trastorno proliferativo maligno crónico, al concluir que es a expensas de linfocitos podemos sugerir con alto grado de certeza que se trata de una leucemia linfocítica crónica ya que no se observan células inmaduras (blastos). Basados en la clasificación de RAI es posible que el paciente se encuentre en el estadio 0/1 de dicha clasificación.

9º CASO: LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÓNICA:



CUADRO 19: RESULTADOS DEL EQUIPO COULTER STKS PARA EL CASO 9

FORMULA BLANCA					
VALOR ABSOLUTO			PORCENTAJE		
LEUCOCITOS	56.9	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	100	%
NEUTRÓFILOS	2.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	3.6	% BAJO
LINFOCITOS	46.5	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	81.7	% ALTO
MONOCITOS	3.9	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	6.8	% NORMAL
EOSINÓFILOS	0.2	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.3	% BAJO
BASÓFILOS	4.3	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	7.6	% ALTO
SEÑALES DE ALARMA	LEUCOCITOSIS LINFOCITOSIS RELATIVA BSOFILIA RELATIVA		NEUTRÓPENIA RELATIVA MONOCITOSIS ABSOLUTA		LINFOCITOSIS ABSOLUTA BASOFILIA ABSOLUTA
FÓRMULA ROJA					
		VALOR	UNIDADES		
ERITROCITOS		4.11	$\times 10^6/\mu\text{L}$		NORMAL
HEMOGLOBINA		13.9	g/dL		NORMAL
HEMATOCRITO		43.9	%		NORMAL
VCM		106.9	fL		ALTO
HCM		34.0	pg		ALTO
CMHC		31.8	g/dL		BAJO
ADE		15.3	%		ALTO
SEÑALES DE ALARMA		-			-
PLAQUETAS					
		VALOR	UNIDADES		
PLAQUETAS		167	$\times 10^3/\mu\text{L}$		NORMAL
VPM		9.7	fL		NORMAL
SEÑALES DE ALARMA		-			-

DISCUSIÓN PARA EL CASO 10:

La biometría de este paciente muestra una anemia normocítica normocrómica (VCM y CMHC normales) sin ADE menor de 14.5), la disminución de plaquetas no es importante y la leucocitosis es moderada.

La función DF 1 muestra una distribución de células con predominio en las regiones de polimorfonucleares y monocitos siendo menor la de linfocitos que aunque en porcentaje están disminuidos, la cifra absoluta es normal. Tanto monocitos como polimorfonucleares muestran una distribución extendida hacia los tamaños grandes que se comprobaba en el histograma V que se extiende al extremo de mayor tamaño.

La función DF 2 muestra una sola población de conductividad similar distribuida desde los tamaños pequeños (linfocitos) hasta los mayores (monocitos y polimorfonucleares).

La DF 3 separa a los polimorfonucleares dejando ver a las poblaciones de linfocitos y monocitos a solas.

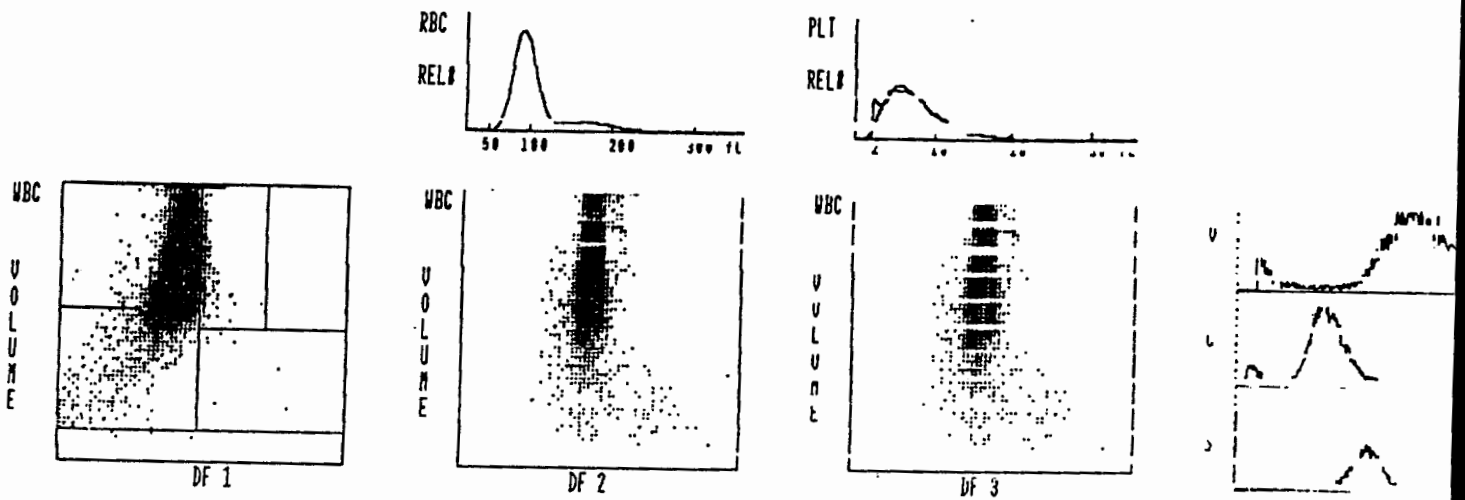
En condiciones normales los polimorfonucleares se aprecian desplazados hacia la derecha en la función DF 2 por tener mayor conductividad que monocitos y linfocitos, pero en este caso no se separaron posiblemente por tener menor contenido granular que el normal.

En las señales de alarma se marca el posible hallazgo de blastos y granulocitos inmaduros.

Al revisar los frotos se confirma la presencia de una gran proporción de polimorfonucleares, algunos de ellos mostrando anomalías como hipogranularidad, hiposegmentación (pseudopelger-huet) y gran tamaño (disgranulopoyesis). La serie monocítica también muestra anomalías al presentarse células con características híbridas "células mielomonocitoides" que poseen núcleos de aspecto monocítico con citoplasma granular como de serie granulocítica, así como otros monocitos con numerosas vacuolas y gran tamaño.

Con estos datos más la observación de tres células blásticas en el recuento porcentual, nos permiten sospechas de un síndrome mielodisplásico.

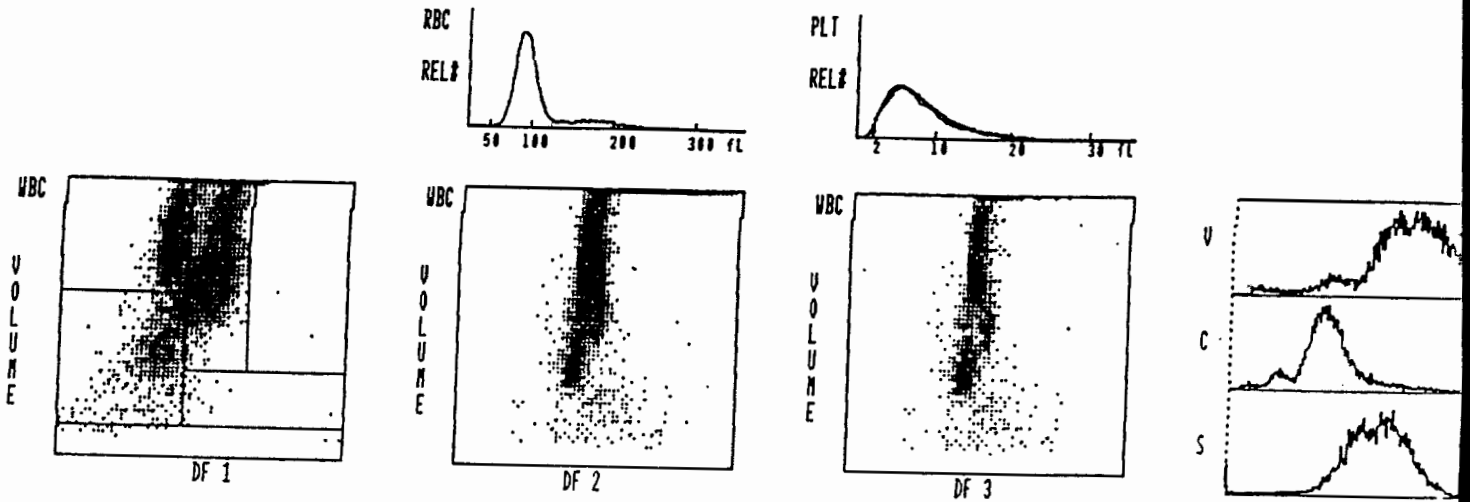
11º CASO: LEUCEMIA MONOBLÁSTICA:



CUADRO 21: RESULTADOS DEL EQUIPO COULTER STKS PARA EL CASO 11

FORMULA BLANCA					
	VALOR ABSOLUTO			PORCENTAJE	
LEUCOCITOS	12.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	100	%
NEUTRÓFILOS	0.6	$\times 10^3/\mu\text{L}$	BAJO	4.7	% BAJO
LINFOCITOS	0.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$	BAJO	0.8	% BAJO
MONOCITOS	10.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	82.6	% ALTO
EOSINÓFILOS	0.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.0	% BAJO
BASÓFILOS	1.4	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	11.9	% ALTO
SEÑALES DE ALARMA	VARIANTES DE LINFOCITOS NEUTROPENIA ABSOLUTA LINFOPENIA RELATIVA BASOFILIA ABSOLUTA		BLASTOS NEUTROPENIA RELATIVA MONOCITOSIS ABSOLUTA BASOFILIA RELATIVA	LEUCOCITOSIS LINFOPENIA ABSOLUTA MONOCITOSIS RELATIVA	
FÓRMULA ROJA					
	VALOR	UNIDADES			
ERITROCITOS	3.09	$\times 10^6/\mu\text{L}$		BAJO	
HÉMOGLOBINA	9.2	g/dL		BAJO	
HEMATOCRITO	28.2	%		BAJO	
VCM	91.2	fL		NORMAL	
HCM	29.9	pg		NORMAL	
CMHC	32.7	g/dL		BAJO	
ADE	14.1	%		ALTO	
SEÑALES DE ALARMA	ANEMIA				
PLAQUETAS					
	VALOR	UNIDADES			
PLAQUETAS	38	$\times 10^3/\mu\text{L}$		BAJO	
VPM	8.1	fL		NORMAL	
SEÑALES DE ALARMA	TROMBOCITOPENIA				

10° CASO: SINDROME MIELODISPLÁSICO:



CUADRO 20: RESULTADOS DEL EQUIPO COULTER STKS PARA EL CASO 10

FORMULA BLANCA					
VALOR ABSOLUTO			PORCENTAJE		
LEUCOCITOS	16.8	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	100	%
NEÚTRÓFILOS	11.9	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	71.2	% NORMAL
LINFOCITOS	1.5	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	8.7	% BAJO
MONOCITOS	3.2	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	19.2	% ALTO
EOSINÓFILOS	0.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.3	% BAJO
BASÓFILOS	0.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.6	% NORMAL
SEÑALES DE ALARMA	BANDAS LINFOPENIA RELATIVA MONOCITOSIS RELATIVA		BLASTOS NEUTROFILIA ABSOLUTA GRANULOCITOS INMADUROS	LEUCOCITOSIS MONOCITOSIS ABSOLUTA	
FÓRMULA ROJA					
VALOR			UNIDADES		
ERITROCITOS	3.51	$\times 10^6/\mu\text{L}$	BAJO		
HEMOGLOBINA	10.9	g/dL	BAJO		
HEMATOCRITO	31.9	%	BAJO		
VCM	90.9	fL	NORMAL		
HCM	31.2	pg	NORMAL		
CMHC	34.3	g/dL	NORMAL		
ADE	12.2	%	NORMAL		
SEÑALES DE ALARMA	ANEMIA				
PLAQUETAS					
VALOR			UNIDADES		
PLAQUETAS	116	$\times 10^3/\mu\text{L}$	BAJO		
VPM	8.3	fL	NORMAL		
SEÑALES DE ALARMA	TROMBOCITOPENIA				

DISCUSIÓN PARA EL CASO 11:

La fórmula roja del paciente muestra una moderada anemia normocítica normocrómica (VCM y CMHC normales) sin anisocitosis (ADE mayor de 14.5), la disminución de la cifra de plaquetas es severa y la leucocitosis es superior a la cuenta normal. La función DF1 muestra a la mayor población celular en la zona de monocitos, el histograma de tamaño (V) lo corrobora al mostrar la curva de mayor densidad celular en el extremo de mayor tamaño. Las funciones DF2 y DF3 son muy similares y muestran un patrón de distribución de células con una conductividad similar y con heterogeneidad en el tamaño similar al de los monocitos y aún mayores. El equipo señala una alarma de sospecha de blastos y variante de linfocitos que obliga a revisar las laminillas de sangre periférica. Por la cifra de leucocitos y la disminución de plaquetas, sabemos que se trata de una leucemia aguda probablemente de serie monocítica. La observación del frote coincide con los datos de los histogramas al presentar blastos de gran tamaño con cromatina plegada característica de la serie monocítica. La diferenciación entre LA-M4 y LA-M5 la dará la proporción de monoblastos en la cuenta diferencial. Será necesaria la tinción citoquímica y/o el inmunofenotipo para tener el diagnóstico definitivo.

DISCUSIÓN CASO 12:

El paciente manifiesta una anemia severa normocítica normocrómica (VCM y CMHC normales) con ligera anisocitosis (ADE mayor de 14.5), la trombocitopenia es marcada y la cifra de leucocitos está ligeramente elevada. La función DF1 muestra a la mayor densidad de población dispersa en la zona de neutrófilos lo que habla de la heterogeneidad en tamaño, esto se corrobora al observar el histograma V el cual se aprecia extendido hacia los tamaños grandes, una pequeña proporción está en la zona de linfocitos. La función DF2 muestra a las dos poblaciones resaltando la de polimorfonucleares por su extensión. En la función DF3 solo se observa a la población linfoide ya que discrimina a las células con alto grado de dispersión (ver histograma S) que poseen un gran contenido granular. Aunque la leucocitosis no es exagerada, la trombocitopenia obliga a pensar en una leucemia. El equipo señala alarmas de sospecha de la posible presencia de blastos y granulocitos inmaduros dada la heterogénea distribución de tamaños en esta región. Al observar los frotos de sangre periférica notamos la presencia de células inmaduras con una gran cantidad de gránulos azurófilos en su citoplasma y algunas con cuerpos de Auer múltiples. La entidad ante la que estamos es una LA-M3 hipergranular clásica, su imagen en estos equipos es similar a la de una LGC con plaquetas disminuidas o a la de una LA-M2 en las que resaltan la gran cantidad de células con alto grado de dispersión de luz (S) por su contenido granular. Es posible que las LA-M3 (promielocíticas) hipergranulares sean las que más dispersión (S) manifiesten.

DISCUSIÓN PARA EL CASO 13:

La biometría de este paciente no muestra síndrome anémico (hemoglobina e índices eritrocitarios normales), la cifra de plaquetas es normal, sin embargo, la leucocitosis es notoria. La función DF1 muestra a la mayor concentración de células en la zona de linfocitos con una distribución desplazada hacia los límites de la región de monocitos que nos habla de células grandes, esto se corrobora al observar el histograma de tamaño (V) en el que se aprecian traslapadas la población principal con la de monocitos y polimorfonucleares. La función DF2 separa a las tres poblaciones aunque las de monocitos y linfocitos se ven muy "pegadas". En la función DF3 desaparece la población de polimorfonucleares dejando solo a monocitos y linfocitos. Al conjuntar datos, lo único notorio es la leucocitosis a expensas de linfocitos, una leucemia aguda es poco probable por la ausencia de anemia y trombocitopenia. Esta imagen nos recuerda a la de los procesos linfoproliferativos crónicos, específicamente LLC para lo cual se requiere la observación de los extendidos de sangre periférica. El frote nos permite apreciar la presencia de linfocitos con cromatina madura pero de mayor tamaño que los normales y con contorno nuclear irregular (hendidura). Al dar seguimiento a este paciente, se corroboró que padecía un linfoma que se catalogó como de "células grandes con hendidura".

VIII. APÉNDICE

A continuación se presentan pruebas citoquímicas para el diagnóstico de leucemias debido a que con la observación microscópica del frote y con los histogramas aportados por el Coulter STKS sólo se obtiene un diagnóstico presuntivo y las pruebas citoquímicas son una herramienta más para proporcionar un resultado más confiable.

A. PRUEBAS CITOQUÍMICAS

Una reacción citoquímica es aquella que por el empleo de uno o más reactivos químicos; aplicados a la célula, en condiciones definidas, determina la formación de productos coloreados; insolubles, no difusibles que permiten el reconocimiento microscópico de sustancias o grupos definidos en su real ubicación citológica para lo cual no deben destruir la célula, y o si lo hacen deben reemplazar la sustancia identificada en su topografía, (Grignaschi VJ, Koziner BI & Larripa V, 1991; Heckner F. & Platt RJ, 1994).

Las finalidades primordiales de la citoquímica son: a) el reconocimiento y diagnóstico celular, b) el estudio de la fisiología y la fisiopatología celulares, y c) el diagnóstico de la patología.

Se necesita la práctica mínima de tres reacciones: a) la de peroxidasa; b) la de PAS; y c) la de alfa-naftil-acetato esterasa, (Grignaschi VJ, Koziner BI & Larripa V, 1991; Heckner F. & Platt RJ, 1994).

para el sudán negro, (Grignaschi VJ, Koziner BI & Larripa V, 1991; Heckner F. & Platt RJ, 1994).

A.3 REACCIÓN DE ESTERASAS

Las esterasas leucocitarias hidrolizan un éster que es un derivado del naftaleno. Se libera un compuesto naftol (o naftil) que rápidamente se conjuga con una sal de diazonio presente en la mezcla, con lo que se obtiene un precipitado de color brillante en la región o cerca de la región de la actividad enzimática. Las reacciones citoquímicas para las esterasas son positivas en muchos tipos de células. La reacción de cloroacetatoesterasa, utilizando naftol-ASD-cloroacetato como sustrato, es positiva en los neutrófilos y sus precursores, y débil o negativa en los monocitos, sus precursores y a otras células sanguíneas, (Grignaschi VJ, Koziner BI & Larripa V, 1991; Heckner F. & Platt RJ, 1994).

Las esterasas no específicas, utilizando α -naftilacetato o α -naftilbutirato como sustratos, son intensamente positivas en los monocitos, pero débiles o negativas en los granulocitos. La α -naftilacetato-esterasa y la α -naftilbutirato-esterasa son útiles para distinguir los precursores de los neutrófilos de los monocitos y sus precursores en las leucemias agudas. La reacción de la α -naftilacetato-esterasa es focalmente positiva en los blastos de una pequeña proporción de pacientes con leucemia linfoblástica. Además, también puede observarse una reacción positiva en las leucemias megacariocíticas, eosinófilas y basófilas, así como en los eritroblastos de la eritroleucemia, (Grignaschi VJ, Koziner BI & Larripa V, 1991; Heckner F. & Platt RJ, 1994).

A.5 REACCIÓN DE LA FOSFATASA ALCALINA

La enzima se localiza en los neutrófilos, desde el metamielocito hasta el estadio segmentado, probablemente en una fracción granular terciaria. Puede detectarse mediante exposición al sustrato (fosfato de naaftol) en presencia de una sal de diazonio (azul o violeta rápidos) con un pH alcalino de 9.5. El sustrato es hidrolizado por la enzima, liberando un fosfato y una arilnaftolamida. Esta se conjuga inmediatamente con la sal de diazonio, con formación de un colorante azo, (Bernard HJ, 1993).

Las células fosfatasa alcalina positivas contienen granulaciones discretamente rosa en el citoplasma que varía en color desde rosa muy pálido hasta rojo rubí brillante. Las granulaciones varían en tamaño desde puntos diminutos a gránulos grandes como estructuras en forma de varillas. Es llamativo el contraste del citoplasma rojo en los núcleos azul-negro. La actividad fosfatasa alcalina se encuentra sólo en metamielocitos neutrofilicos y en neutrófilos maduros. Todas las demás células de la sangre son negativas, (Cartwright EG, 1983).

CUADRO 24: DIAGNÓSTICO CITOQUÍMICO DE LEUCEMIAS

REACCIONES	MIELOIDE	LINFOIDE	MONOCÍTICA
PEROXIDASA	++++	NEGATIVA	++ EN GRÁNULOS DISPERSOS
PAS	LIG. POSITIVA EN FORMA DIFUSA O GRANULACIÓN	++++ EN PUNTOS Y BLOQUES GROSEROS	LIGERAMENTE POSITIVA DIFUSA O NEGATIVA
ALFA NAFTIL ACETO-ESTERASA	NEGATIVA O POSITIVA DEBIL	NEGATIVA O POSITIVA DEBIL	++++ EN FONDO GRUMOS Y PAJUELAS.

(Sánchez FJ, 1993).

CUADRO 25: VALORES DE REFERENCIA PARA BIOMETRÍA HEMÁTICA (CONTINUACIÓN)

PARAMETRO	UNIDADES CONVENCIONALES	UNIDADES SI
Reticulocitos	0.5 – 2.0 %	25 – 100 x 10 ⁹ /L
Leucocitos	5.0 – 10 x 10 ³ /μL	5.0 – 10 x 10 ⁹ /L
PMN	50 – 70 %	2.5 – 7.0 x 10 ⁹ /L
Linfocitos	22 – 40 %	1.2 – 4.0 x 10 ⁹ /L
Monocitos	2 – 8 %	0.2 – 0.8 x 10 ⁹ /L
Eosinófilos	1 – 3 %	0.05 – 0.3 x 10 ⁹ /L
Basófilos	0 – 1 %	0.0 – 0.1 x 10 ⁹ /L
Plaquetas	150 – 400 x 10 ³ /μL	150 – 400 x 10 ⁹ /L
VSG	Mujeres: 10 – 15 mm/hora Hombres: 4 – 7 mm/hora :	Mujeres: 10 – 15 mm/hora Hombres: 4 – 7 mm/hora

- Cartwright EG. 1983. Leucemias agudas y crónicas. En: *El Laboratorio en el Diagnóstico Hematológico*. Ed. Científica Americana. Barcelona, España: pp. 203-220.
- Casas MA, Salve MM, Amich OS y Prieto MS. 1994. Alteraciones de la serie blanca. En: *Hematología*. 1ª. Edición. Ed. Interamericana-McGraw-Hill. España: pp. 160-167.
- Combleet PJ, Hillman WH and Magner JA. 1993. Evaluation of the Coulter STKS five parts differential. *Am J. Clin. Pathol.* 99, 45-51.
- Fisher MH, Burrow GW and Morgan HL. 1990. The blood. *J. Am Soc. Hem.* 76,39-44.
- Franklin ZM, Richard WL and Green JT. 1988. Function and pathology of blood cells. In: *Atlas of blood cells*. Ed. Lea and Febiger. Londres, Inglaterra: pp. 221-236.
- Grignaschi VJ, Koziner BL y Larripa IJ. 1991. Pruebas citoquímicas. En: *Diagnóstico Citológico de las Hemopatías*. Ed. Médica Panamericana. Madrid, España: pp. 146-169.
- Heckner F. and Platt RJ. 1994. White Cells. In: *Practical Microscopy Hematology*. Ed. Lea and Febiger. Londres, Inglaterra: pp. 29-38.
- Henderson ES. Hull J. and Proctor SW. 1990. Definition and classification, Acute lymphocytic leukemia. In: *Leukemia*. 5ª. Edición. Ed. W.B. Saunders Company. Estados Unidos: pp. 13-16, 19-28, 291-303 y 325-335.

Ruiz AG. 1994. Leucemias agudas y leucemias crónicas. En: *Fundamentos de Hematología*. 1ª. Edición. Ed. Médica Panamericana. México, D.F: pp. 137-144 y 146-151.

Sánchez FJ. 1993. *Tratado de Medicina Práctica* Ed. Interamericana. México, D.F: pp.502-505, 540-547 y 571-576.

Shirlyn BM. 1996. Alteraciones de los leucocitos. En: *Hematología Clínica*. 2ª. Edición. Ed. El Manual Moderno. México, D.F: pp. 314-348.

Williams WH, Douglas AN, Beutler EJ, Lichtman MA, Collier BS, Kipps TJ and Greer RJ 1995. Leucemia granulocítica crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia linfoblástica y leucemia mieloblástica. En: *William Hematology*. Ed. McGraw-Hill. 5a. Edición. Estados Unidos: pp. 1120-1200, 1300-1450 y 1920-1978.

A.1 REACCIÓN DE PEROXIDASA

Se basa en el principio de que la presencia de peróxido de hidrógeno (mieloperoxidasa) en los gránulos leucocitarios oxida el dihidrocloruro de bencidina desde una forma incolora hasta un derivado azul o pardo que se localiza en la región de la enzima. La actividad mieloperoxidasa se encuentra en todos los estadios del desarrollo de los neutrófilos y se localiza en los gránulos azurófilos (no específicos). Los granulos en los promielocitos son pequeños y de color azul-verde. Los eosinófilos muestran una reacción intensa, sus granulos se tiñen de color pardo-negro o verde-negro. Los linfocitos, los basófilos maduros y las formas eritroides no se tiñen. Los monocitos se tiñen menos intensamente que los neutrófilos, y los precipitados granulares son más pequeños. Utilizando 3,3 diaminobencidina-HCl (DAB) como sustrato para la reacción de la peroxidasa en lugar de bencidina-HCl se obtiene una mayor proporción de células blásticas positivas en caso de leucemia mieloide aguda. La DAB demuestra tanto catalasa como mieloperoxidasa, y la reacción citoquímica se ha denominado hidroperoxidasa, (Grignaschi VJ, Koziner BI & Larripa V, 1991; Heckner F. & Platt RJ, 1994).

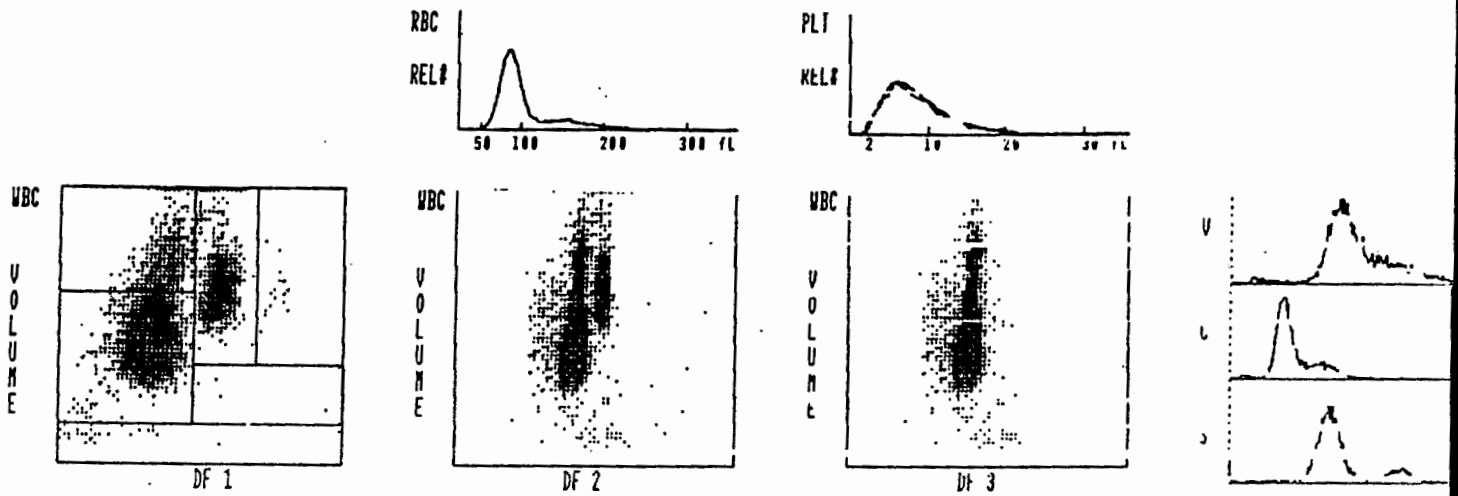
A.2 TINCIÓN DE SUDÁN NEGRO B

El Sudán negro B tiñe los fosfolípidos y los esteroides. Parece teñir tanto los gránulos azurófilos como los específicos en los neutrófilos. Los gránulos citoplásmicos se tiñen débilmente en los precursores neutrófilos, e intensamente en los neutrófilos maduros con Sudán negro B. Los gránulos eosinófilos también son positivos, pero a menudo muestran una palidez central. Los monocitos pueden permanecer sin teñir o bien contener algunos gránulos positivos. Los linfocitos y linfoblastos son negativos, pero algunos mieloblastos contienen gránulos positivos

VII. CONCLUSIONES

- 1) En el presente trabajo se ha remarcado la importancia de realizar un diagnóstico oportuno y una clasificación adecuada de los diferentes tipos de leucemias según la clasificación FAB ya que de ello depende en gran parte la calidad de vida de un paciente porque como ya hemos mencionado anteriormente, cada tipo de leucemia tiene un pronóstico y tratamiento diferente.
- 2) A pesar de que en la actualidad se tiene el apoyo de la citomorfología, la citoquímica, los marcadores inmunológicos y la citogenética; algunas veces no se cuenta con los recursos para hacer uso de ellos; sin embargo, en éste punto es donde reside la gran importancia de la observación del frote sanguíneo ya que los aspectos morfológicos celulares en muchas ocasiones nos pueden dar la clave para realizar un diagnóstico presuntivo, y posteriormente, ya utilizando otras metodologías emitir el diagnóstico definitivo.
- 3) Coulter Electronics presentó al mercado el analizador de citología hemática modelo STKS, un aparato de gran tecnología cuyos histogramas de distribución celular son de gran ayuda para el diagnóstico presuntivo de algunos tipos de leucemias, ya que definitivamente tiene algunas ventajas con respecto a la realización de una Citometría hemática en forma manual pues el equipo proporciona señales de alarma que indican la necesidad de la observación del frote sanguíneo, además de que por el número total de células contadas disminuye el error de la cuenta manual de 100 células.
- 4) Se comprobó que sí existe concordancia entre los histogramas de distribución leucocitaria y lo observado en un frote sanguíneo, por lo cual debemos asentar que para realizar un adecuado diagnóstico, no necesariamente el laboratorio debe tener un Coulter modelo STKS pero sí tomar en consideración que son útiles todas las herramientas posibles y tomarlas como complemento una de la otra.

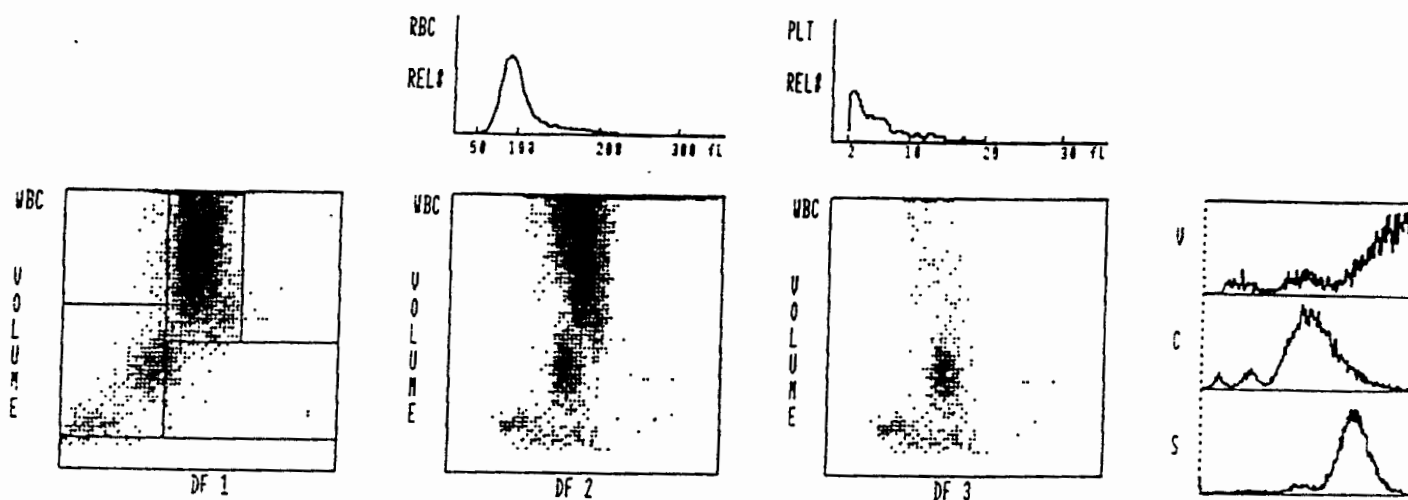
13° CASO: LINFOMA:



CUADRO 23: RESULTADOS DEL EQUIPO COULTER STKS PARA EL CASO 13

FORMULA BLANCA					
VALOR ABSOLUTO			PORCENTAJE		
LEUCOCITOS	17.7	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	100	%
NEÚTRÓFILOS	2.6	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	14.9	% BAJO
LINFOCITOS	14.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	78.4	% ALTO
MONOCITOS	1.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	6.3	% NORMAL
EOSINÓFILOS	0.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.2	% BAJO
BASÓFILOS	0.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.2	% NORMAL
SEÑALES DE ALARMA	VARIANTES DE LINFOCITOS NEUTROPENIA RELATIVA MONOCITOSIS ABSOLUTA		BLASTOS LINFOCITOSIS RELATIVA	LEUCOCITOSIS LINFOCITOSIS ABSOLUTA	
FÓRMULA ROJA					
VALOR		UNIDADES			
ERITROCITOS	5.14	$\times 10^6/\mu\text{L}$		NORMAL	
HÉMOGLOBINA	14.4	g/dL		NORMAL	
HEMATOCRITO	44.4	%		NORMAL	
VCM	86.3	fL		NORMAL	
HCM	28.1	pg		NORMAL	
CMHC	32.5	g/dL		BAJO	
ADE	13.7	%		NORMAL	
SEÑALES DE ALARMA	-		-		-
PLAQUETAS					
VALOR		UNIDADES			
PLAQUETAS	195	$\times 10^3/\mu\text{L}$		NORMAL	
VPM	8.8	fL		NORMAL	
SEÑALES DE ALARMA	-		-		-

12° CASO: LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA M3:



CUADRO 22: RESULTADOS DEL EQUIPO COULTER STKS PARA EL CASO 12

FORMULA BLANCA					
	VALOR ABSOLUTO			PORCENTAJE	
LEUCOCITOS	11.5	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	100	%
NEUTRÓFILOS	10.5	$\times 10^3/\mu\text{L}$	ALTO	91.5	% ALTO
LINFOCITOS	0.9	$\times 10^3/\mu\text{L}$	BAJO	7.7	% BAJO
MONOCITOS	0.1	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.6	% BAJO
EOSINÓFILOS	0.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.2	% BAJO
BASÓFILOS	0.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	NORMAL	0.0	% NORMAL
SEÑALES DE ALARMA	BANDAS NEUTROFILIA RELATIVA LINFOPENIA RELATIVA		BLASTOS LEUCOCITOSIS GRANULOCITOS INMADUROS	NEUTROFILIA ABSOLUTA LINFOPENIA ABSOLUTA	

FÓRMULA ROJA			
	VALOR	UNIDADES	
ERITROCITOS	1.93	$\times 10^6/\mu\text{L}$	BAJO
HEMOGLOBINA	6.6	g/dL	BAJO
HEMATOCRITO	18.2	%	BAJO
VCM	94.4	fL	NORMAL
HCM	34.1	pg	ALTO
CMHC	36.1	g/dL	ALTO
ADE	15.2	%	ALTO
SEÑALES DE ALARMA	ANEMIA		

PLAQUETAS			
	VALOR	UNIDADES	
PLAQUETAS	11	$\times 10^3/\mu\text{L}$	BAJO
VPM	7.9	fL	NORMAL
SEÑALES DE ALARMA	AGREGADOS PLAQUETARIOS	TROMBOCITOPENIA	

A.4 REACCIÓN DEL ÁCIDO PERIÓDICO DE SCHIFF (PAS)

La reacción PAS se basa en el principio de que el ácido peryódico es un agente oxidante que convierte los grupos hidroxilo de los átomos de carbono adyacentes en aldehídos. Los dialdehídos resultantes se combinan con el reactivo de Schiff para producir un producto de color rojo. Por lo tanto, se observa una reacción positiva con polisacáridos, mucopolisacáridos y glucoproteínas, (Grignaschi VJ, Koziner BI & Larripa V, 1991; Heckner F. & Platt RJ, 1994).

En las células sanguíneas, una reacción PAS-positiva suele indicar la presencia de glucógeno. Esto se demuestra mediante digestión con amilasa y la consiguiente pérdida de la tinción. Los neutrófilos reaccionan en todos los estadios de desarrollo y con más intensidad en el estadio maduro. Lo mismo ocurre en los eosinófilos. El glucógeno no se encuentra en los gránulos, sino en el citoplasma. El citoplasma puede tomar un color rosa difuso y asimismo presentarse grandes gránulos o masas rojas. Se observa material PAS-positivo en la mayoría de células mieloides, células linfoides, plaquetas y megacariocitos en la sangre y médula de individuos normales. A medida que las células de la serie mieloide maduran, la cantidad de material PAS-positivo aumenta intensamente con la tinción de los neutrófilos. Los eosinófilos y basófilos también se tiñen como los linfocitos, monocitos, plaquetas y megacariocitos, aunque en menor grado que los neutrófilos polimorfonucleares. Los eritroblastos se tiñen poco o nada. La tinción PAS es la más usada para la diferenciación de las anemias eritroleucémicas de las sideroblásticas, (Grignaschi VJ, Koziner BI & Larripa V, 1991; Heckner F. & Platt RJ, 1994).

B. VALORES DE REFERENCIA

CUADRO 25: VALORES DE REFERENCIA PARA BIOMETRÍA HEMÁTICA

PARAMETRO	UNIDADES CONVENCIONALES	UNIDADES SI	
Hemoglobina	Mujeres:	14.6 ± 1.9 g/dL	Mujeres: 1.86 – 2.48 mmol/L
	Hombres	16.4 ± 1.9 g/dL	Hombres: 2.09 – 2.79 mmol/L
	:		
Hematocrito	Mujeres:	44.0 ± 2.7 %	Mujeres: 0.44 ± 0.027 L/L
	Hombres	51.0 ± 2.6 %	Hombres: 0.51 ± 0.026 L/L
	:		
Eritrocitos	Mujeres:	4.3 – 5.0 × 10 ⁶ μL	Mujeres: 4.3 – 5.0 × 10 ¹² L
	Hombres	4.5 – 5.5 × 10 ⁶ μL	Hombres: 4.5 – 5.5 × 10 ¹² L
	:		
VCM	82 – 96 fL	82 – 96 fL	
HCM	29 ± 2.0 pg	29 ± 2.0 pg	
CMHG	32 – 36 g/dL	32 – 36 g/dL	
RDW	11.5 – 14.5 %	11.5 – 14.5 %	

Jones AR. 1995. The Coulter Counter iLeukocyte Differential Blood Cells. *Am J. Clin. Pathol.* 11, 5-33.

Kasten MB, Grady JW and Grisham WE. 1989. Leukemogenesis. *Am J: Ped. Hem.* 3, 22-24.

Lee RG and Thomas MW. 1993. Leukemias. In: *Wintrobe Clinical Hematology*. 9ª Edición. Ed. Lea and Febiger. Londres, Inglaterra: pp. 123-146.

Lukens NJ, Thomson LN and Jones RJ. 1994. The blood. *J: Am. Soc. Hem.* Ed. W.B. Saunders Company. 84,53-67.

Miescher PA: 1992. *Seminars in Hematology*. Ed. W.B. Saunders Company. Estados Unidos: pp. 68-82.

Nieto CR. 1991. *Manual de Prácticas de Hematología*. División de Bioquímica y Farmacia. Departamento de Biología. UNAM: México, D.F: pp. 32-43.

Pizzuto FJ. 1993. *Progresos recientes en Hematología*. IMSS. México, D.F: pp. 23-43.

Rapaport IS. 1985. Leucemias agudas y leucemias crónicas. En: *Introducción a la hematología*. 2ª. Reimpresión. Salvat Editores. México, D.F: pp. 155-188.

Ruiz AG. 1998. Utilidad del inmunofenotipo en el diagnóstico y clasificación de leucemias agudas, utilidad de la citogenética en el estudio de leucemias agudas y utilidad del inmunofenotipo en el diagnóstico y clasificación de leucemias crónicas. En: *Actualización en leucemias*. 1ª. Edición. Ed. Médica Panamericana. México.D.F: pp. 13-15, 25-30 y 33-40.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar LR, Reyes RA y Hernández PM. 1994. Leucemia mieloide. *Acta hematológica*. 93,56-61.
- Balcells GA. 1993. Hemogramas y exámenes hematológicos. En: *La clínica y el laboratorio*. 14ª. Edición. Masson Salvat. México,D.F: pp. 484-490.
- Bennington JL. 1991. *Diccionario enciclopédico del laboratorio clínico*. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina: pp. 820-823.
- Bernacer BM, Borja JL y Sánchez MN. 1991. Hematología clínica. En: *Tratado de medicina práctica*. 2ª. Edición. Ed. Interamericana. México,D.F: pp.75-83.
- Bernard HJ. 1993. Hematología. En: *Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio*. 9ª. Edición. Masson Salvat Medicina. México,D.F: pp.699-713.
- Bollinger PM y Evans MH. 1983. Evaluation of whole blood platelet analyzers. *Lab. Med.* 14,34-42.
- Braunwald EH, Bowyer RK and Minelli RH. 1987. Hematología clínica. En: *Harrison. Principios de Medicina Interna*. 11ª. Edición. Interamericana-McGraw-Hill. México,D.F: pp.1883-1890.
- Carrillo FJ. 1995. Las Leucemias Mieloides, las Leucemias Linfoides y otras neoplasias. En: *El Atlas de Hematología*. 1ª. Edición. Cybercell. México, D.F: pp.149-185.