Rev Cubana Pediatr 61 (2): 298-308, marzo-abril, 1989

GUIA PARA LA PRACTICA

CLASIFICACION DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS

INSTITUTO DE HEMATOLOGIA, INMUNOLOGIA Y HEMOTERAPIA

*Dra. Eva Svarch**

RESUMEN

En la actualidad, para un diagnóstico exacto de las leucemias agudas, es necesario emplear varios métodos. El morfológico es el más antiguo y el más importante, pues destaca las 2 variedades principales de leucemia aguda: la linfoide y la no linfoide. Existen, además, métodos citoquímicos, con los que se agrega un margen mayor de seguridad al diagnóstico morfológico y las técnicas inmunológicas que permiten estudiar el fenotipo de las células leucémicas. El reordenamiento de los genes de las inmunoglobulinas y del receptor T ayuda a definir el fenotipo de estas células. El estudio cromosómico con las técnicas de banda demuestra la alta incidencia de alteraciones citogenéticas. La importancia de una clasificación exacta de los diferentes tipos de leucemia aguda radica fundamentalmente en que los tratamientos y el pronóstico no son los mismos en cada una de las variedades.

INTRODUCCION

Hasta hace algunos años la clasificación de las leucemias agudas tenia poco interés práctico porque la mayoria de los pacientes morian en un plazo corto. Cuando comenzaron a aparecer las drogas antileucémicas se hizo evidente que en la leucemia linfoide aguda (LLA) era más fácil obtener una remisión inicial que en la leucemia aguda no linfoide (LANL) y que su sobrevida era mayor.

Con la aparición de nuevas drogas y su combinación, y el empleo de la profilaxis de la leucemia meningea se han logrado remisiones cada vez más prolongadas[1,2] hasta conseguir más del 50 % de curaciones en la LLA del niño.[3]

---

* Especialista de II Grado en Hematologia. Investigadora Titular. Profesora Auxiliar de Pediatria. Jefa del Departamento Clinica de Niños.

Durante mucho tiempo la clasificación de las leucemias se basó sólo en datos clínicos y en el estudio morfológico y citoquímico. En la última década se han desarrollado nuevas técnicas que han permitido demostrar que tanto en la LLA como en la LANL existen varios subgrupos.

Esto es importante porque el pronóstico y el tratamiento de cada uno de ellos es diferente.

En este trabajo describiremos los métodos más utilizados en la actualidad en la clasificación de las leucemias agudas.

METODO MORFOLOGICO

Es el más importante porque permite distinguir entre la LLA y la LANL. La primera representa el 85 % de las leucemias en el niño y en ella es posible obtener la curación en el 50 % de los enfermos. La frecuencia de la LANL en el paciente menor de 15 años de edad es del 15 % y su pronóstico es más sombrío.

Hasta 1975, la clasificación morfológica se realizaba de manera muy subjetiva. Este año el grupo franco-americano-británico (FAB) estableció criterios más objetivos.[4] De acuerdo con estos criterios, la LLA se subdividió en 3 grupos L_1, L_2 y L_3. La subvariedad L_1 de aspecto monomorfo con blastos de pequeño tamaño, al L_2 en la que existen 2 poblaciones de células blásticas, pequeñas y grandes, y la L_3 con blastos grandes semejantes a las células de Burkitt. La frecuencia de estas formas de LLA en el niño es: L_1: 85 %, L_2: 14 % y L_3: 1 %. La LANL se subdividió inicialmente en 6 tipos.[5] Posteriormente se agregó la variedad M_7 (tabla 1).

TABLA 1. Subtipos Morfológicos de la leucemia aguda no linfoide

Subgrupo	Características morfológicas
M1	Mieloblástica sin diferenciación
M2	Mieloblástica con alguna diferenciación
M3	Promielocítica
M4	Mielomonocítica
M5a	Monocítica sin maduración
M5b	Monocítica con alguna maduración
M6	Eritroleucemia
M7	Megacarioblástica

La frecuencia de los diferentes tipos en el niño es: M_1: 10 %, M_2: 26 %, M_3: 6 %, M_4: 22 %, M_5: 24 % y M_6: 9 %.[6] Existe una frecuencia relativamente alta de M_5 en lactantes y niños pequeños.

En alrededor del 1 % de los pacientes de menos de 15 años de edad no es posible clasificar la leucemia por métodos morfológicos.[7]

La microscopia electrónica no se emplea como un método de rutina pero puede ayudar a la clasificación cuando existen dudas.

CITOQUIMICA

Las coloraciones más utilizadas son: la peroxidasa, el sudan, el PAS, las estearasas y la fosfatasa ácida.

En la LLA, la peroxidasa, el sudan y las estearasas son negativas. El PAS suele ser positivo o de gránulos gruesos y la fosfatasa ácida es positiva en el 90 % de la LLA, en la variedad T y en el 10 % de la variedad no T. En la primera se dispone en la zona perinuclear que corresponde al aparato de Golgi.[8] En esta forma la coloración de PAS suele ser negativa.

La peroxidasa positiva descarta prácticamente la posibilidad de LLA.

En la LANL, las tinciones de peroxidasa y sudan son positivas en más del 3 % de los blastos y su positividad aumenta progresivamente desde la variedad M_1 hasta la M_3. Las estearasas no especificas son importantes para el diagnóstico de las variedades M_4 y M_5 porque aunque son positivas también en la serie mieloide, en la monocitica su positividad es mayor y se inhiben con el fluoruro de sodio.

Si existen dudas entre las variedades L_2 y M_1 con microscopia óptica, la presencia de gránulos peroxidasa positivos en el estudio con microscopio electrónico define el tipo M_1

CUADRO CLINICO

En ocasiones puede orientar el diagnóstico de estas subvariedades clasificadas por métodos morfológicos y citoquimicos. El dato clinico más importante es la edad, pues la LLA es mucho más frecuente en el niño y la LANL en el adulto. La presencia de LLA en un varón de alrededor de 10 años de edad con adenopatias mediastinicas es muy caracteristica de la variedad T. En cualquier edad y sexo la existencia de tumor abdominal es muy sugestiva de LLA, tipo B.

La infiltración tumoral de la órbita (cloroma) se ha encontrado casi siempre en niños con la variedad M_2[6]

En la leucemia promielocitica (M_3) un número alto de pacientes muere por hemorragias debidas a coagulación intravascular diseminada.[9]

El patrón de infiltración extramedular es caracteristico en las subvariedades M_4 y M_5; incidencia alta de infiltración inicial del sistema nervioso central y renal, derrame articular y pericárdico, hipertrofia gingival y lesiones cutaneomucosas.

MARCADORES INMUNOLOGICOS

En 1975 se demostró que, en un grupo pequeño de pacientes con LLA, los blastos formaban roseta espontánea con eritrocitos de carnero[10] Posteriormente se comunicó que la formación de la roseta se debe a la presencia en

la superficie de las células T de una glicoproteina de PM 40 000.[11] Este grupo de leucemias se denominó a células T. Al mismo tiempo se describió una LLA muy rara en la que los blastos expresaban en su superficie una inmunoglobulina M monomérica que poseia un solo tipo de cadenas ligeras: kappa (k) o lambda (λ), lo que indicaba su monoclonalidad y que se llamó a células B. Simultáneamente Greaves[12] preparó un anticuerpo por medio de la inmunización de conejos con células leucémicas que no tenian el receptor de la roseta espontánea ni inmunoglobulinas de superficie. Este anticuerpo reconocia un antigeno en la superficie de los linfoblastos (antigeno común leucémico) y recibió el nombre de CALLA.

En 1978 se detectó un grupo de LLA con las pruebas de la roseta espontánea y de las inmunoglobulinas de superficie negativas pero con cadenas mu (μ) en el citoplasma de los blastos. Este tipo de leucemia se denominó pre B.[9] La frecuencia de estas diferentes variedades inmunológicas de LLA se muestra en la tabla 2.

TABLA 2.

	CALLA + : 62 %
NO T NO B : 85 %	PRE B CALLA + : 26 %
	CALLA - 12 %
T : 15 %	
B : 1 %	

El desarrollo de la inmunologia en los últimos años y sobre todo el desarrollo de la técnica del hibridoma, ha permitido obtener anticuerpos monoclonales (AM) altamente especificos que reconocen diferentes antigenos en la superficie de las células leucémicas y permiten establecer con más exactitud su fenotipo.

Es interesante señalar que aunque existen fenotipos aberrantes, el fenotipo de la célula leucémica corresponde al de la célula normal en el mismo estadio de maduración en el que tuvo lugar la transformación leucémica.[12] En las figuras 1 y 2 se observa que la población de linfocitos normales es heterogénea. Hoy se reconocen numerosos estadios de diferenciación en el desarrollo de las células B y T. Ellos se definen por la presencia o ausencia de ciertos marcadores y la posibilidad de determinar el fenotipo depende del número y la confiabilidad de las técnicas empleadas.

De acuerdo con estos procedimientos, la LLA tipo B se divide en 3 estadios: pre-B temprano, pre B y B y la variedad T en I, II y III de acuerdo con que las células blásticas correspondan al protimocito o a timocitos de la corteza o de la médula del timo.

La enzima desoxinucleotidil transferasa terminal (Tdt) está presente en todos los tipos menos el B y T maduros y el antigeno de diferenciación Ia en todas las LLA B y sólo en las T maduras.

Una clasificación más reciente divide a la LLA B en 6 subgrupos[13] (tabla 3). No todos los autores consideran al grupo I como perteneciente a la línea B, pues sólo tiene positivo el antígeno de diferenciación Ia. Para algunos, este grupo pertenece a la variedad indiferenciada; como se mostró en la figura 1; sin embargo, estas células que expresan el antígeno Ia, pero no el B4, al igual que las otras de la clasificación expuesta, se pueden encontrar en el hígado y la médula ósea fetales normales y en la médula ósea del adulto normal, por lo que probablemente representan un estadio temprano en la diferenciación de las células B.

Los tipos II, III y IV de la clasificación se adscriben a la línea B porque presentan reordenamiento de los genes de las inmunoglobulinas lo que será analizado posteriormente. Con estos criterios alrededor del 80 % de las LLA corresponden a la variedad B.

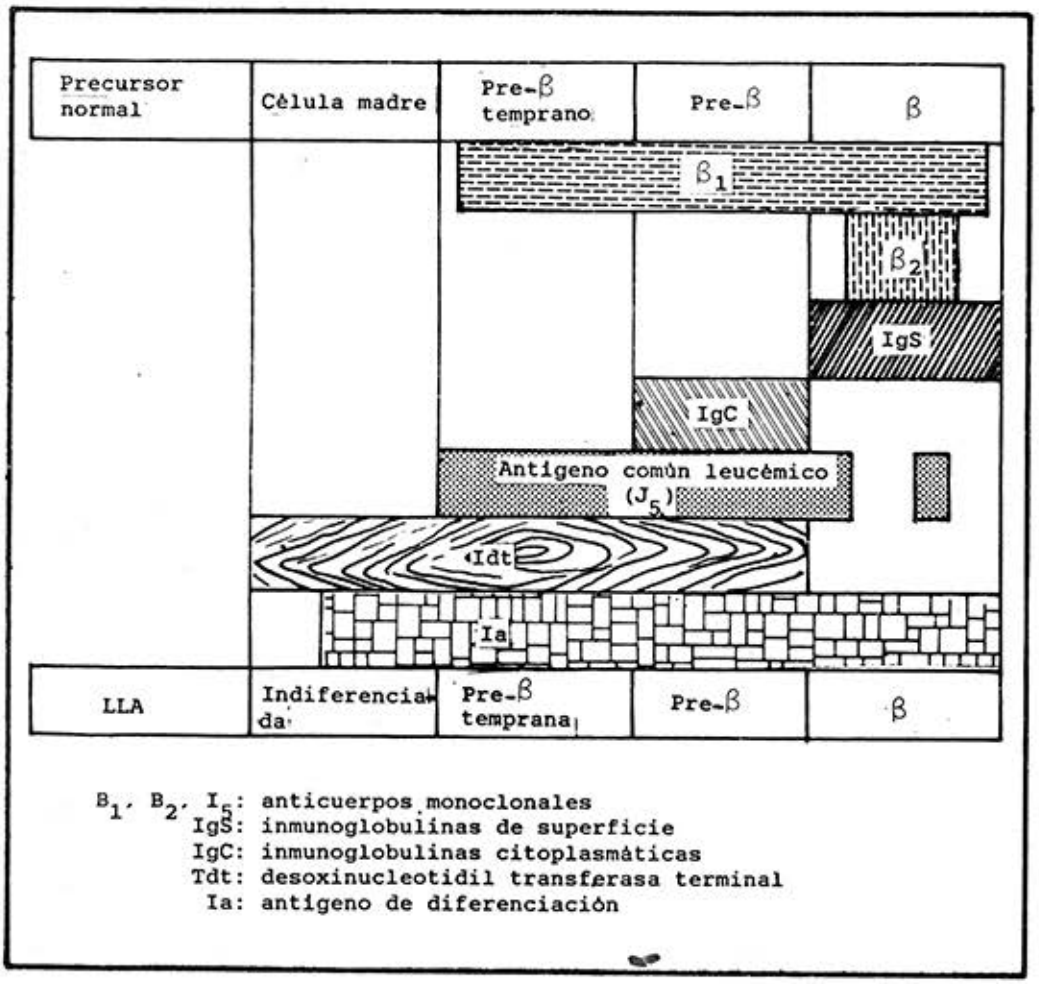

FIGURA 1. Expresión antigénica durante el desarrollo de la célula B normal y en la LLA-B.

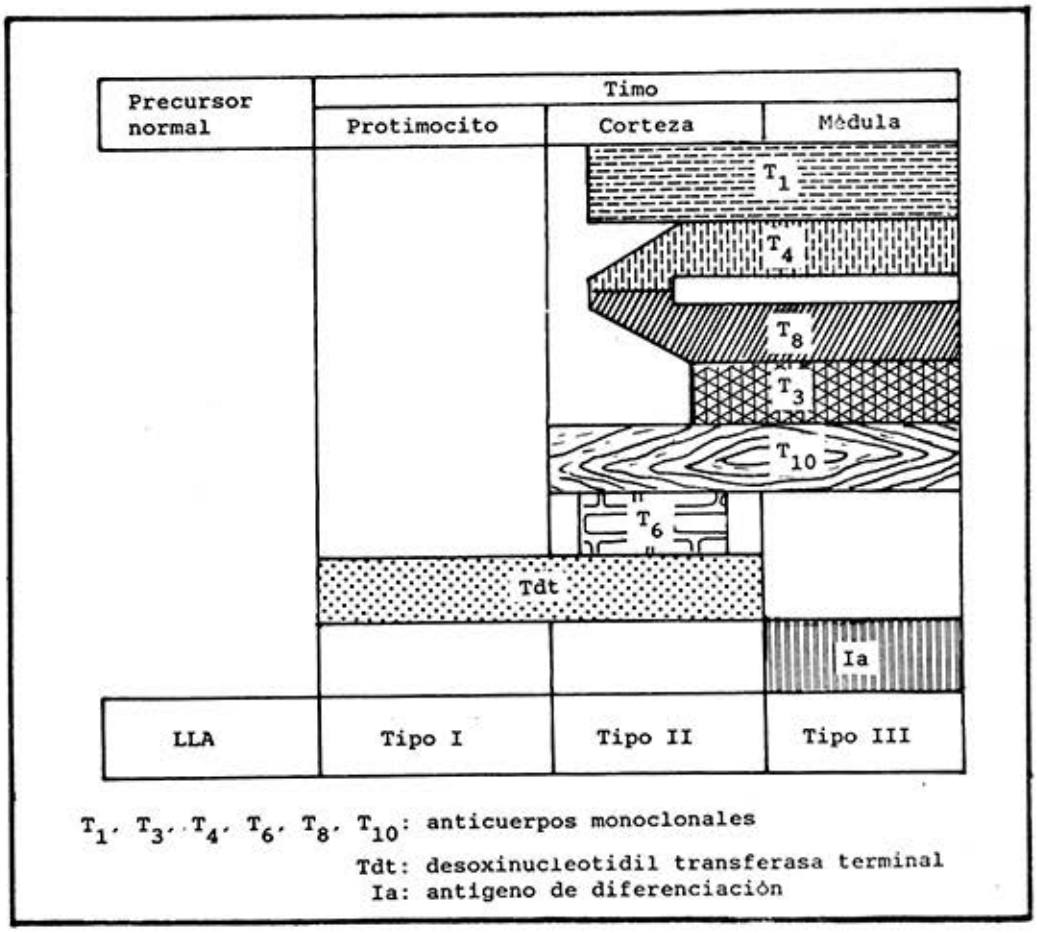

FIGURA 2. Expresión antigénica durante el desarrollo de la célula T normal y en la LLA tipo T.

TABLA 3. Subtipos inmunológicos de la LLA - B

Subtipo	Ia	B4	CALLA	B1	Ig C	Ig S	Pacientes %
I	+	-	-	-	-	-	-
II	+	+	-	-	-	-	15
III	+	+	+	-	-	-	30
IV	+	+	+	+	-	-	50
V	+	+	+	+	+	-	
VI	+	+	+/-	+	-	+	< 1

Leyenda: Ia: antigeno de diferenciación. B4 y B1: anticuerpos monoclonales. CALLA: antigeno común leucémico. Ig S: inmunoglobulina de superficie. Ig C: inmunoglobulina citoplasmática.

La correlación entre el fenotipo inmunológico de la célula leucémica y la clasificación morfológica según el FAB, muestra que la mayor parte de las leucemias B corresponden a la variedad L_3, la pre B a la L_1 y las restantes a la L_1 y L_2

La LLA T se puede dividir en 3 grupos[13] (tabla 4). No se ha estudiado la correlación entre la clasificación del FAB y los 3 grupos de LLA tipo T.

TABLA 4. Subtipos inmunológicos de la LLA - T

Subtipo	LEU 9*	LEU 1	T11/LEU 5	T3/LEU 4	T4/LEU 3	T8/LEU 2	T6
I	+	+	+	-	-	-	-
II	+	+	+	+	+	+	+
III	+	+	+	+	+/-**	+/-**	-

Nota: LEU y T: anticuerpos monoclonales.

* Se encuentra en todas las LLA T.

** No se encuentra la expresión simultánea de T4 y T8 como en el grupo II.

Ninguno de los AM mieloides reconocen un antigeno especifico de la leucemia sino que identifican determinantes antigénicos progenitores normales en la médula ósea. Ellos están menos desarrollados que los linfoides y sólo complementan al estudio morfológico y citoquimico de las LANL pero son, sin embargo, muy útiles para diferenciar la variedad mieloide de la linfoide.[13]

REORDENAMIENTO DE LOS GENES DE LAS INMUNOGLOBULINAS Y DEL RECEPTOR T

Las inmunoglobulinas están formadas por cadenas pesadas cuyos genes se encuentran en el cromosoma 14 y por 2 tipos de cadenas ligeras kappa (k) y lambda (λ), que están en los cromosomas 2 y 22 respectivamente.

Los genes de las inmunoglobulinas son codificados por segmentos discontinuos de ADN. En un punto del desarrollo de una célula potencialmente productora de anticuerpos se puede producir un reordenamiento de los genes variables (v), de diversidad (D) y de unión (J) que se unen al locus constante. El reordenamiento tiene lugar según una secuencia. Primero se reordenan los genes de las cadenas pesadas, luego los de las cadenas ligeras k y por último los de las cadenas ligeras λ. En las células de estirpe no B puede haber un reordenamiento de los genes de las cadenas pesadas pero el de los genes de las cadenas ligeras sólo se produce en las células B, por lo que es importante para el diagnóstico de las enfermedades malignas de esta linea.

El receptor especifico de las células T tiene 2 subunidades α y β.[14]

El receptor T se encuentra en el cromosoma 7[15] y el T_α en el 14.[16]

Los genes de los receptores T sufren un reordenamiento semejante al de los genes de las inmunoglobulinas.

Ya se mencionó que en la clasificación de las LLA de linea B, los grupos II, III y IV[13] se pueden adscribir a esa linea, porque presentan un reordenamiento de los genes de las inmunoglobulinas.

En las LLA, tipo T se ha encontrado reordenamiento del gen T_β.[17]

En un pequeño porcentaje de las LLA T existe reordenamiento de los genes de las inmunoglobulinas[18] y también en el 25 % de las LLA B se puede encontrar reordenamiento del receptor T.[17]

Estos datos indican que el estudio del ADN para el diagnóstico de las LLA T o B no debe utilizarse como una prueba aislada sino para complementar las pruebas morfológicas, citoquímicas e inmunológicas.

VALOR PRONOSTICO DE LA CLASIFICACION DE LA LEUCEMIA AGUDA

El fenotipo inmunológico de la célula leucémica en las LLA parece tener valor pronóstico.[19]

Los pacientes con el CALLA positivo tienen mejor pronóstico que aquellos con el CALLA negativo.[20]

Las leucemias de tipo T tienen mala evolución.[20] El pronóstico de la variedad B madura es el peor de todos, posiblemente porque representa la fase leucémica de un linfoma no Hodgkin o de un tumor de Burkitt.[21]

Los niños con la variedad pre B evolucionan peor que aquéllos con la variedad pre B temprana (que no presentan inmunoglobulinas citoplasmáticas).[22]

La significación clínica de los diferentes tipos de LLA T no se conoce aún.[19]

Todas las LANL tienen peor pronóstico que las LLA. Las de evolución más grave son las M_4 y M_5. En las M_3 cuando se logra obtener la remisión la sobrevida es más prolongada.

Recientemente se han descrito leucemias agudas que tienen algunas características de las linfoides y otras de las mieloides. Se las denomina híbridas, bifenotípicas, biclonales, bilineales. En la actualidad hay confusión en relación con las definiciones precisas y las implicaciones biológicas de estos términos. Para algunos autores, este tipo de leucemia es frecuente, para otros es raro. Se acepta, en general, que tienen mal pronóstico.[23]

ESTUDIOS CROMOSOMICOS

Las alteraciones cromosómicas en las leucemias pueden ser numéricas o estructurales; de estas últimas las más importantes son las translocaciones.

Hoy en dia se conoce que la mayor parte de las LLA y de las LANL están asociadas con cambios cromosómicos en las células leucémicas.[24]

En la LLA pueden existir solamente alteraciones numéricas. La hiperdiploidia, sobre todo cuando existen más de 50 cromosomas, tiene mejor pronóstico que la hipodiploidia, la pseudodiploidia y las alteraciones estructurales.[25]

Las translocaciones ocurren en un tercio de los pacientes cuya evolución es desfavorable.[25] Algunas tienen un pronóstico particularmente malo, como la t (4;11) y la t (9;22) y en otras no es tan desfavorable como en la t (1;19)[24]

La LLA con t (4;11) puede desarrollar en el curso de su evolución infidelidad hacia la línea celular original y asumir características mieloides o monocitoides.[26]

Otras alteraciones citogenéticas en la LLA son las que involucran al cromosoma 8 con los 14, 2 y 22 donde residen los genes de las cadenas pesadas y ligeras k y λ de las inmunoglobulinas respectivamente. Estas translocaciones t (8;14), t (8;2) y t (8,22) se detectan en la LLA-B y tienen mal pronóstico. Es importante señalar que involucran un oncogen, el c-myc en el cromosoma 8 y los genes de las inmunoglobulinas.

En algunas LLA se demuestra el cromosoma Filadelfia (Ph). Es posible que existan 2 tipos de LLA Ph^+, uno que representa la crisis blástica de la leucemia mieloide crónica y otro en el que los sucesos moleculares que llevan a la formación del cromosoma Ph son diferentes.[27] En la leucemia mieloide crónica el oncogen abl en el cromosoma 9 se transloca a un gen abreviado, el bcr, en el cromosoma 22, lo que lleva a la creación de un nuevo oncogen, el bcr/c abl que produce un ARN y una proteína anormales.[27]

En la LANL el número de pacientes con alteraciones cromosómicas numéricas es menor que en la LLA por lo que es difícil probar que la hiperdiploidia, como plantean algunos autores es un signo de buen pronóstico.[24] Las translocaciones son muy frecuentes y ayudan a caracterizar los subtipos morfológicos.

En la variedad M_2 por ejemplo, es característica la t (8;21) que se asocia con la presencia de bastones de Auer y tiene un buen pronóstico.[28] La t (15;17) es casi constante en la variedad M_3.[9]

La presencia en una leucemia aguda de un don celular citogenéticamente normal implica una mejor evolución, sin embargo esto no es siempre así, pues pueden existir alteraciones genéticas submicroscópicas.[29]

SUMMARY

In the present time, to reach an exact diagnosis of acute leukemias is necessary to use several methods. The morphologic method is the oldest and most important one, since it determine the two main varieties of acute leukemia: lymphoid and non-lymphoid leukemia. Besides, there are cytochemical methods, which provided a higher safety possibility to morphologic diagnosis, and immunologic techniques, which allow to study the phenotype of leukemia-producing cells. The rearrangement of immunoglobulin genes and T-receptor helps to define the phenotype of such cells. The chromosomic study with band techniques demonstrates the high incidence of cytogenetic alterations. Importance of an exact classification of the different type of acute leukemia is mainly established by the fact that treatments and prognosis are not the same for each one of the varieties.

RESUME

De nos jours, le diagnostic exact des leucémies aigues impose l'emploi de plusieurs méthodes. La méthode morphologique est la plus ancienne et la plus importance, car elle distingue les deux variétés principales de la leucémie aiguë: la lymphoïde et la non lymphoïde. Il existe, en outre, les méthodes cytochimiques, qui ajoutent de la sécurité au diagnostic morphologique, et les techniques immunologiques, qui permettent d'étudier le phénotype des cellules leucémiques. Le réarrangement génique des immunoglobulines et du récepteur T aido à définir le phénotype de ces cellules. L'étude chromosomique avec les techniques de bande, montre la haute incidence d'altérations cytogénétiques. L'importance d'une classification exacte des différents types de leucémie aiguë consiste notamment dans la différence de traitement et de pronostic pour chacune des variétés.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. SVARCH, E. ET AL.: Tratamiento de la leucemia linfocitica aguda. Rev Cubana Invest Biomed 1:138, 1982.
2. _____: Evolución a largo plazo del tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda (LLA). Protocolo 10-LA-72. Sangre 27:368, 1982.
3. RIEHM, H. ET AL.: Acute lymphoblastic leukemia: Treatment results in three BFM studies (1976-1981). In: Leukemia Research. Ed. Elsevier Science Public Co. 1983, p. 251.
4. BENNETT, J. M. ET AL.: Proposals for the classification of the acute leukaemias. Br J Haematol 33: 451, 1976.
5. _____: Criteria for the diagnosis of acute leukemia of megakaryocyte lineage (M7). Ann Intern Med 103: 460, 1985.
6. CHESSELS, J. M.; V. O'CALLAGHAN; R. M. HARDISTY: Acute myeloid leukaemia in chilhood: clinical features and prognosis. Br J Haematol 63:555, 1986.
7. BENNETT, J. M. ET AL.: Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. Ann Intern Med 103-626, 1985.
8. CATOVSKY, D.; B. FRISCH; S. VAN NOORDEN: B, T and null cell leukemias Electron cytochemistry and surface morphology. Blood Cells 1:115, 1975.
9. LARSON, R. A. ET AL.: Evidence for a 15:17 translocation in every patient with acute promyelocytic leukemia. Am J Med 76: 827, 1984.
10. SEN, L.; L. BORELLA: Clinical importance of lymphoblasts eith T. markers in childhood acute leukemia. N Engl J Med 292:828, 1978.
11. HAYNES, B. F.; G. S. EISENBARTH; A. S. FAUCI: Human lymphocytes antigens: Production of a monoclonal antibody that defines functional thymus-derived lymphocytes subsets. Proc Natl Acad Sc (USA) 76: 5829, 1979.
12. GREAVES, M. F.; G. JANOSSY: Patterns fo gene expression and the cellular origins of human leukaemias. Biochem Biophys Acta 516: 193, 1978.
13. FOON, K. A.; R. E. TODD: Immunological classification of leukemia and lymphoma. Boll 68: 1, 1986.
14. ACUTO, O.; E. L. REINHERZ: The human T-Cell receptor structure and function. N Engl J Med 312:1100, 1985.
15. ISOBE, M. ET AL.: Location of gene for B subunit of human T-Cell receptor et band 7g 35, a region prone to rearrangements of T cells. Science 228:580, 1985.
16. JONES, C. ET AL.: Human T-Cell receptor -chain genes: Location on chromosome 14. Science 228:83, 1985.
17. WALDMANN, T. A. ET AL.: Rearrangements of genes for the antigen receptor on T cells as markers of lineage and clonality in human lymphoid neoplasms. N Engl J Med 313: 776, 1985.

18. KITCHINCHAM, G. R. ET AL.: Rearrangements of immunoglobulin chain genes in T Cell acute lymphoblastic leukemia. Blood 65:725, 1985.
19. CRIST, W. M. ET AL.: Ummunoligical markers in childhood acute lymphoblastic leukemia. Sem Oncol 12:105, 1985.
20. CHESSELS, J. M. ET AL.: Acute lymphoblastic leukemia in children: Classification and prognosis. Lancet 2:1307, 1977.
21. FLANDRIN, G.: Acute leukemia with Burkitt's tumor cells: A study of six cases with special reference to lymphocyte surface markers. Blood 45:813, 1975.
22. CRIST, W. M. ET AL.: Pre-B cell leukemia respond poorly to treatment A Pediatric Oncology Group Study. Blood 63: 407, 1984.
23. GALE, R. P.; I. B. BASSAT: Hybrid acute leukaemia. Br J Haematol 65:261, 1987.
24. SANDBERG, A. A.: The chromosomes in human leukemia. Sem Hematol 23: 201, 1986.
25. Third International workshop on chromosomes in leukemia Clinical significance of chromosomal abnormalities in acute lymphoblastic leukemia. Cancer Genet Cytogenet 4: 111, 1981.
26. KOCOVA, M.; J. R. KOWALCZYK; A. A. SANDBERG: Translocation 4; 11 acute leukemia Three reports and review of the literature. Cancer Cytogenet 16:21, 1985.
27. SANDBERG, A. A. ET AL.: The Philadelphia chromosome. A model of cancer and molecular cytogenetics. Cancer Genet Cytogenet 21: 129, 1986.
28. SANDBERG, A. A.: Chromosomes in human cancer and leukemia. New York-Elsevier, North Holland, 1980.
29. SAKURAI, M.; A. A. SANDBERG: Chromosomes and causation of human cancer and leukemia XI Correlation of karyotypes with clinical features of acute myeloblastic leukemia. Cancer 37:285, 1976.

Recibido: 5 de enero de 1988. Aprobado: 7 de marzo de 1988.
Dra. Eva Svarch. Instituto de Hematologia, Inmunologia y Hemoterapia. Apartado 8070, Ciudad de La Habana 10800, Cuba.