



Fundación JL Castaño
SEQC

SEQC^{ML}
Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

2021-2022

CURSO DE EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO

Ed. Cont. Lab. Clin 58: 115 - 132

DIAGNÓSTICO INTEGRADO DE LAS LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS

Laura Boldú Nebot

Anna Merino González

*Servicio de Bioquímica y Genética Molecular. Laboratorio Core. CDB.
Hospital Clínic de Barcelona. Barcelona*

1. INTRODUCCIÓN

Las leucemias mieloides agudas (LMA) son el resultado de la proliferación de una clona de blastos mieloides que son incapaces de progresar a etapas propias de su maduración. Aunque este tipo de enfermedades hematológicas pueden aparecer en todas las edades de la vida, presentan una mayor incidencia en adultos, con un aumento de incidencia entre los 80 y 84 años. La proliferación de células inmaduras o blastos en la médula ósea tiene como consecuencia un fallo medular, junto a citopenias en sangre periférica, provocando anemia, neutropenia (tendencia a las infecciones) y trombocitopenia (tendencia al sangrado). Son frecuentes los trastornos hemorrágicos, muy especialmente en la leucemia promielocítica aguda, en la que dichos trastornos suelen ser más graves y manifestarse en forma de hemorragias o una coagulación intravascular diseminada (CID). Es posible además que ocurra una infiltración de las células blásticas proliferantes en tejidos y/o órganos extramedulares, como la piel, las encías y el sistema nervioso central. La cifra de leucocitos es variable con un pronóstico más desfavorable asociado a una mayor leucocitosis. Los parámetros bioquímicos destacables por su frecuencia en estas enfermedades son la hiperuricemia y la elevación de lactato deshidrogenasa.

Las LMA constituyen un grupo heterogéneo de hemopatías malignas con diferente etiología, patogenia, historia natural y pronóstico. Con la clasificación de las LMA se ha intentado reducir dicha heterogeneidad e identificar subgrupos biológicamente diferentes y con distintas opciones terapéuticas, permitiendo así mejorar el pronóstico de los pacientes.

Inicialmente el diagnóstico de las LMA se basaba solamente en la evaluación morfológica (clasificación FAB). Con los años, se ha hecho un considerable progreso no solamente en entender la patogénesis de la enfermedad, sino también en el desarrollo de nuevos tratamientos. Es por eso que se han incorporado cada vez más disciplinas y, actualmente, el diagnóstico de las LMA recae en un conjunto de pruebas diagnósticas complementarias tales como la morfología (primer eslabón de las pruebas diagnósticas), citoquímica, inmunofenotipo, citogenética y análisis molecular. La integración de los resultados de todos estos métodos permite una caracterización completa de cada caso, que es un prerrequisito para un correcto diagnóstico y manejo de las LMA.

En 2001, la Organización Mundial de la Salud (OMS) introdujo un nuevo sistema de clasificación que integraba los avances hechos hasta el momento sobre el diagnóstico de las LMA. Posteriormente, con la clasificación del 2008 y la última revisión del 2016 se incorporaron nuevos datos clínicos, pronósticos, morfológicos, inmunofenotípicos y genéticos, demostrando el valor añadido de la combinación de múltiples herramientas para un diagnóstico integrado de las LMA. La última clasificación de las LMA según la revisión de la OMS del 2016 se resume en la Tabla 1.

LMA con anomalías genéticas recurrentes	<p>LMA con t(8;21)(q22;q22.1); RUNX1-RUNX1T1</p> <p>Leucemia aguda promielocítica con t(15;17)(q24.1;q21.2); PML-RARA</p> <p>LMA con inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11</p> <p>LMA con t(9;11)(p21.3;q23.3); KMT2A-MLLT3</p> <p>LMA con t(6;9)(p23;q34.1); DEK-NUP214</p> <p>LMA con inv(3)(q21.3q26.2) o t(3;3)(q21.3;q26.2); GATA2, MECOM</p> <p>Leucemia aguda megacarioblástica con t(1;22)(p13.3;q13.1); RBM15-MKL1</p> <p>LMA con t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR-ABL1</p> <p>LMA con mutación del gen NPM1</p> <p>LMA con mutación bialélica del gen CEBPA</p> <p>LMA con mutación del gen RUNX1</p>
LMA con cambios relacionados con mielodisplasia	
LMA relacionadas con tratamientos previos	
LMA-NOS (no categorizada previamente)	<p>LMA mínimamente diferenciada</p> <p>LMA sin maduración</p> <p>LMA con maduración</p> <p>LMA mielomonocítica</p> <p>LMA monoblástica y LMA monocítica</p> <p>Leucemia aguda eritroide</p> <p>Leucemia aguda megacarioblástica</p> <p>Leucemia aguda basofílica</p> <p>Panmielosis aguda con mielofibrosis</p>
Sarcoma mioeloides	
LMA relacionadas con el síndrome de Down	<p>Mielopoyesis anormal transitoria</p> <p>LMA asociada al síndrome de Down</p>
Neoplasias de células blásticas dendríticas plasmocitoides	

Tabla 1. Clasificación de la OMS de 2016 de las leucemias agudas mieloides (LMA).

2. TÉCNICAS ACTUALES PARA EL DIAGNÓSTICO INTEGRADO DE LAS LMA

2.1. Morfología

La morfología ha sido, es y será el punto de partida indispensable para el diagnóstico de las enfermedades hematológicas. Ofrece la posibilidad de realizar una evaluación rápida y fiable combinando los parámetros hematológicos básicos y la observación al microscopio.

Para la evaluación de las LMA se deben contar al menos 200 leucocitos en sangre periférica y 500 células nucleadas en médula ósea. Para su diagnóstico se requiere un porcentaje de blastos en sangre periférica o médula ósea del 20 % o mayor, incluyendo los promonocitos como blastos a efectos del recuento. La clasificación de la OMS considera LMA a entidades con alteraciones genéticas como t(8;21), inv(16), t(16;16), t(15;17) o anomalías en 11q23 aunque el número de blastos no alcance el 20 %. La clasificación morfológica del grupo FAB (French-American-British) se mantiene en la revisión del 2016 de la OMS como la categoría de LMA no categorizada previamente. Además, la leucemia eritroide pura se mantiene en esta categoría, siendo el único tipo de leucemia aguda eritroide incluida en la última clasificación de la OMS.

Los blastos mieloides o mieloblastos son células inmaduras de tamaño mediano-grande (entre 15 y 25 μm) y con una elevada relación núcleo-citoplasma. El núcleo es de perfil redondeado o angular, de cromatina laxa e inmadura y con presencia de uno o varios nucléolos visibles. El citoplasma es escaso y basófilo, y suele contener una escasa y fina granulación azurófila. Ocasionalmente, los blastos mieloides pueden mostrar algún bastón en forma de aguja (bastón de Auer) (ver Figura 1A), o bien grandes gránulos sugestivos de una fusión anormal (pseudo-Chédiak-Higashi). Los promielocitos anormales presentan una granulación intensamente azurófila y muy abundante. El núcleo suele ser de aspecto monocitoide (reniforme) y con un perfil bilobulado o "en hachazo" con la presencia de una hendidura amplia, o bien de perfil irregular. Algunos promielocitos anormales contienen inclusiones citoplasmáticas cristalinas alargadas o "astillas", características de este tipo de leucemia, que suelen disponerse en cúmulos y diferir de los bastones de Auer por la detección de una subestructura tubular cuando se estudian mediante microscopía electrónica de transmisión (ver Figura 1B). Los monoblastos son de tamaño grande, de moderada relación núcleo-citoplasma, núcleo de perfil redondo de cromatina laxa e inmadura, con 1 o varios nucléolos prominentes y citoplasma intensamente basófilo que puede contener una muy fina granulación azurófila y con presencia de vacuolas y/o mamelones o pseudópodos (ver Figura 1C).

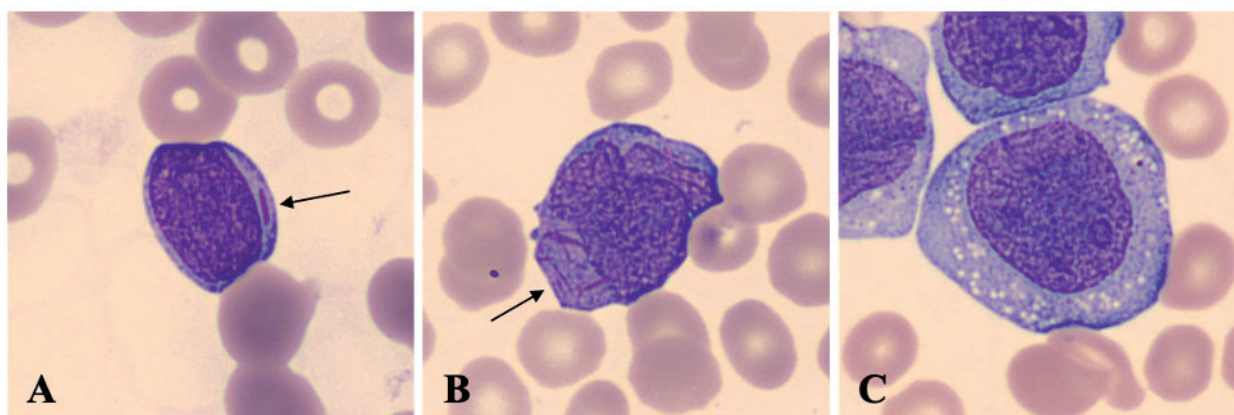


Figura 1. Blastos mieloides. (A) Mieloblasto con un bastón de Auer (flecha); (B) Promielocito anormal con prominentes astillas (flecha); (C) Monoblastos con vacuolas citoplasmáticas.

La variabilidad morfológica de los blastos mieloides se debe a las mutaciones genéticas y alteraciones citogenéticas que éstos presentan. Se ha reconocido una correlación entre la genética y la morfología para ciertos casos de LMA.

2.2. Inmunofenotipo

La presencia y expresión de proteínas de membrana constituye el inmunofenotipo de una célula, el cual es indicativo de su linaje, así como también de su grado de maduración. Es por eso que la citometría de flujo es una herramienta crucial para la detección, caracterización y cuantificación de las poblaciones celulares, tanto normales como malignas.

Debido a los cambios en la expresión de distintas proteínas durante la proliferación y la maduración de las células hematopoyéticas, se pueden caracterizar los diferentes estadios celulares a través de anticuerpos monoclonales dirigidos contra antígenos extra e intracelulares. El inmunofenotipo de las LMA muestra marcadores de la serie granulocítica (CD13, CD33, CD15, CD65) o monocítica (CD14, CD4, CD11b, CD11c, CD64, CD36, positividad para la lisozima) o indicadores de inmadurez como el CD34 y CD117. Sin embargo, muchos casos de LMA muestran aberraciones en su inmunofenotipo como, por ejemplo: 1) la expresión de antígenos de linaje cruzado, como el CD7, CD19 o CD56; 2) la expresión asincrónica de antígenos de madurez, como la expresión concomitante de CD34 y CD11b; 3) la ausencia o disminución de la expresión de marcadores típicos como el HLA-DR, y 4) la sobreexpresión de antígenos como CD33++ y CD34++. Estos tipos de alteraciones del inmunofenotipo de las LMA a menudo puede estar relacionado con un genotipo específico.

Las muestras más usadas en hematología son de sangre periférica y médula ósea. La citometría de flujo, además, también permite el análisis de muestras de tejidos linfoides, como ganglios linfáticos o líquidos biológicos (líquido cefalorraquídeo, pleural y ascítico).

Mediante la citometría de flujo se mide la presencia e intensidad de expresión de los diferentes antígenos de superficie y citoplasmáticos, así como las características físico-químicas de las distintas poblaciones celulares. Debido a la elevada velocidad de esta técnica, es posible analizar un gran número de células, desde 10.000 células por muestra hasta más de 1 millón en estudios de enfermedad mínima residual. La sensibilidad de esta tecnología es superior a 1×10^4 , es decir que la citometría de flujo es capaz de detectar una célula leucémica de entre 10.000 células normales. Además, esta técnica puede usarse para la detección de enfermedad mínima residual, o método utilizado para la detección de células malignas en pacientes morfológicamente en remisión completa, especialmente en casos de LMA con expresión aberrante de antígenos. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el análisis de los datos es complicado y requiere mucha experiencia por parte de los facultativos del laboratorio.

2.3. Citogenética

La citogenética es una parte esencial del proceso diagnóstico de las enfermedades hematológicas, ya que: 1) ayuda a definir entidades específicas; 2) proporciona información importante sobre el pronóstico y la predicción; 3) permite establecer las bases para opciones terapéuticas individuales dirigidas a alteraciones genéticas concretas, y 4) ayuda a evaluar la eficacia del tratamiento con la indicación de la remisión o progresión genética. Por lo tanto, la citogenética nos proporciona información diagnóstica en el momento de presentación de la enfermedad y también de su pronóstico. La detección de t(8;21), inv(16), t(16;16) o t(15;17) ya es diagnóstico de sus respectivos tipos de LMA indistintamente si el recuento de blastos es inferior al 20 %.

Los genes implicados en la patogénesis de las LMA son genes normales que tienen alterada su función debido a mutaciones, reordenamientos o fusiones con otros genes. Alrededor del 50 % de los casos de LMA presentan alteraciones citogenéticas. A menudo éstas pueden ser reconocidas a nivel microscópico con cambios en la estructura y/o número de cromosomas. Las alteraciones en el número de cromosomas incluyen la pérdida o duplicación de un cromosoma y, generalmente representan la pérdida o la inactivación de genes supresores de tumores. Las alteraciones cromosómicas estructurales implican translocaciones, inserciones, duplicaciones, inversiones o supresiones, con partes de cromosomas intercambiados, revertidos o eliminados. Mientras que las alteraciones balanceadas están relacionadas con la etiología de las LMA, las translocaciones desbalanceadas son frecuentemente reconocidas como indicadores de progresiones secundarias.

Las técnicas citogenéticas más comunes son: **el cariotipo o análisis de patrones de bandas** y la **hibridación in situ por fluorescencia (FISH)**.

La tinción microscópica de las metafases permite la observación del patrón de bandas cromosómicas. Se basa en la variación en los cromosomas de áreas ricas en GC, de modo que cuando hay muchos genes se observa una banda tenue, mientras que áreas ricas en AT (pocos genes) muestran bandas más oscuras. De este modo, cada cromosoma puede ser identificado según su tamaño, localización del centrómero y patrón de bandas, permitiendo así caracterizar con gran detalle la presencia de alteraciones estructurales.

Sin embargo, a veces utilizando las técnicas citogenéticas convencionales no se obtienen suficientes metafases para su valoración, o bien se requiere un resultado rápido, como sucede en los casos de leucemia promielocítica aguda. En estos casos se recurre a estudios mediante *FISH (fluorescent in situ hybridization)*, que usa sondas fluorescentes dirigidas contra locus cromosómicos específicos. Esta técnica es más rápida y se puede realizar tanto en la interfase como en la metafase celular. Las sondas pueden usarse para buscar alteraciones citogenéticas conocidas y/o que se sospechan, o bien si se dirigen contra los centrómeros, para detectar varias alteraciones a la vez. Esta técnica es también útil para la detección de eliminaciones como por ejemplo 5q y 17p, reordenamientos específicos como

RUNX1-RUNX1T1 y reordenamientos de genes que no son fácilmente identificables como *PDGRA* y *CBFB-MYH11*.

2.4. Análisis molecular

Aunque la citogenética juega un papel importante en el diagnóstico de las LMA, presenta una sensibilidad limitada. Por ejemplo, con la citogenética clásica no se pueden observar defectos menores, como microdeleciones, pequeñas duplicaciones o mutaciones puntuales. Aproximadamente el 50 % de los pacientes con LMA no presentan anomalías citogenéticas, sin embargo, pueden presentar mutaciones en *FLT3*, *NPM1*, *RUNX1* y/o *CEBPA*. Analizar y detectar este tipo de mutaciones es importante desde el punto de vista pronóstico, por lo que el análisis molecular es esencial en el diagnóstico integrado de las LMA.

Las variaciones observadas en la secuencia de DNA pueden ser las siguientes: 1) mutaciones puntuales (cambio de un par de bases); 2) eliminación de una base, múltiples bases, parte de un gen o hasta un gen completo; 3) inserciones de una o más bases; 4) duplicaciones de secciones de genes o genes completos; y 5) translocaciones balanceadas con un intercambio de partes de cromosomas (con o sin fusión de genes que generan un nuevo producto génico). Cambios observados en la secuencia codificadora de genes pueden resultar en cambios estructurales de proteínas. Variaciones en partes reguladoras de genes, como la región promotora, no alteran la estructura de la proteína, pero sí pueden influir en su síntesis. Deleciones e inserciones a menudo pueden resultar en una composición completamente diferente de codón, que puede concluir en la síntesis de una proteína aberrante.

La **reacción en cadena de la polimerasa (PCR)** y las **técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS)** representan el *“gold standard”* de las técnicas de análisis molecular. La PCR permite la amplificación específica de secuencias diana conocidas. Una vez se tiene el máximo número de copias del gen de interés, se recurre a técnicas de análisis para determinar la secuencia exacta de nucleótidos y así determinar la mutación existente. El inconveniente de esta técnica es su limitada sensibilidad para detectar una mutación, ya que necesita una mínima frecuencia de la variante del 10-20 %, además de ser un proceso laborioso. El método de la PCR cuantitativa (RT-qPCR), no solamente permite detectar mutaciones si no que también pueden ser monitorizadas. La RT-qPCR ha demostrado ser una herramienta útil para la detección de varios transcritos de genes de fusión como *CBFB-MYH11* y *RUNX1-RUNX1T1*.

Con el uso de las NGS, la secuenciación del DNA ha mejorado mucho en estos últimos años. Actualmente, uno puede analizar la presencia de múltiples mutaciones específicas en un gran número de genes con elevada sensibilidad en una sola medición. Además, las NGS permiten investigar nuevas mutaciones en el genoma o exoma completo. El panorama molecular de las LMA está cambiando rápidamente debido a estas nuevas técnicas de secuenciación masiva. Las LMA son un grupo de enfermedades complejo con coexistentes clones compitiendo a lo largo de la evolución de la enfermedad. Estudios recientes mues-

tran que la patogénesis de las LMA frecuentemente requiere al menos tres mutaciones en diferentes vías celulares que, en muchos casos, están implicadas en vías responsables de mecanismos de proliferación/supervivencia y diferenciación celular. Se estima que cada caso de LMA contiene una media de 13 mutaciones. Recientemente se ha propuesto una clasificación genómica para las LMA usando mutaciones de un panel de 111 genes característicos de neoplasias mieloides. Futuros estudios deben demostrar si estas nuevas clasificaciones mejoran el resultado clínico de las LMA.

En resumen, el análisis molecular tiene las siguientes indicaciones: 1) el diagnóstico de enfermedades hematológicas malignas, 2) la selección del tratamiento basándose en mutaciones específicas, 3) la supervisión de la efectividad de la terapia y la enfermedad mínima residual y, 4) la predicción de la progresión de la enfermedad.

La Figura 2 muestra un algoritmo de clasificación donde se combina información relevante de las distintas técnicas para establecer un diagnóstico adecuado de las LMA. La actual clasificación de la OMS (2016) es jerárquica, siendo los casos relacionados con tratamientos previos los primeros en ser asignados, seguidos de las LMA con anomalías genéticas recurrentes y, después los casos relacionados con cambios relacionados con mielodisplasia. Finalmente, cuando un caso de LMA no puede asignarse a ninguna categoría anterior, la clasificación se basa en las características morfológicas (subtipos de LMA no categorizada previamente). Tanto las neoplasias mieloides asociadas a síndrome de Down como las neoplasias de células blásticas dendríticas plasmocitoides se asignan a dos entidades específicas separadas.

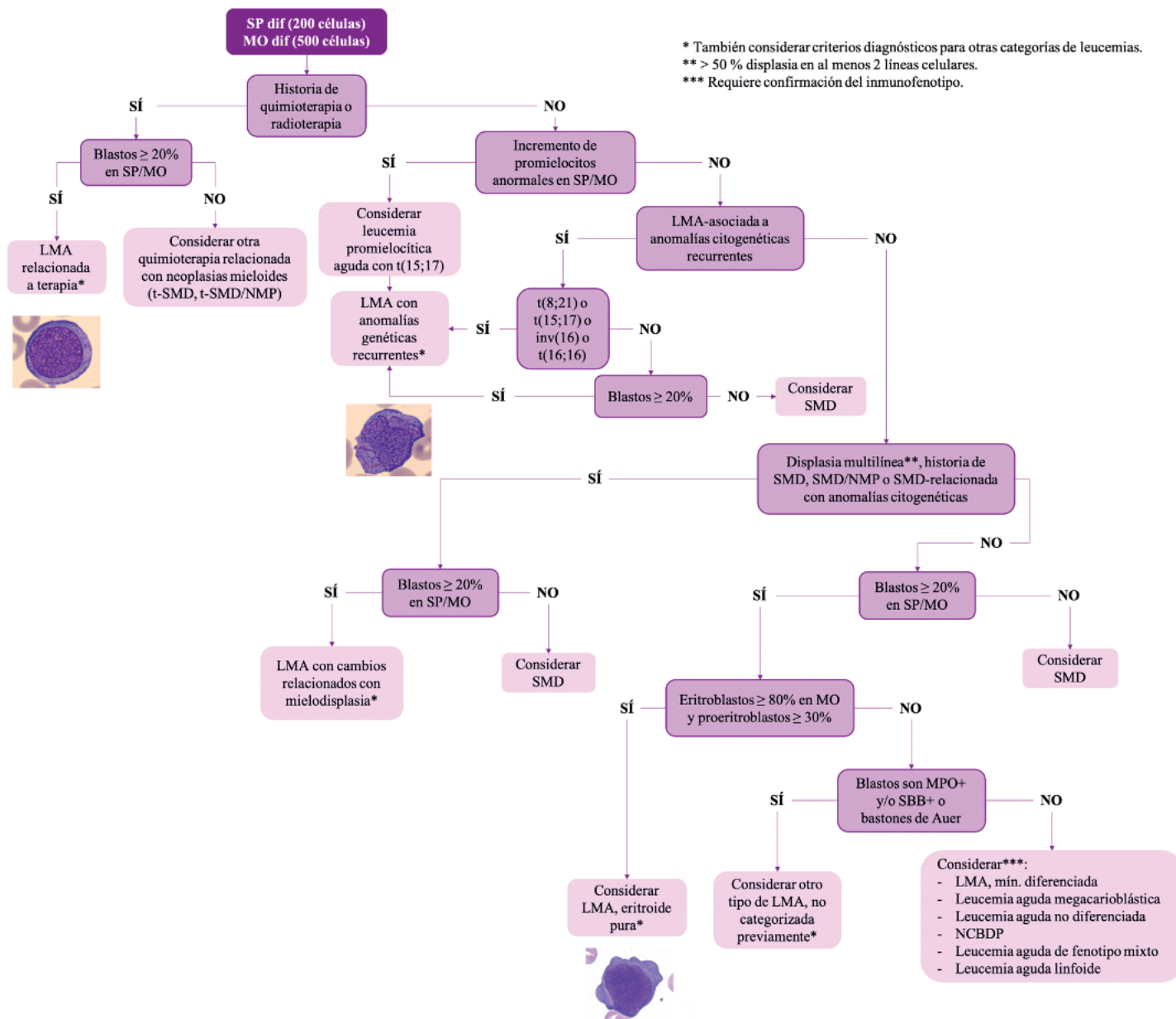


Figura 2. Algoritmo de clasificación que combina la información de distintas técnicas diagnósticas para establecer el diagnóstico de las leucemias agudas mieloides (LMA) según la clasificación de la OMS de 2016. Las neoplasias mieloides asociadas a síndrome de Down y el sarcoma mieloides no se incluyen en este esquema. SP, sangre periférica; MO, médula ósea; SMD, síndromes mielodisplásicos; NMP, neoplasias mieloproliferativas; NCBDP, neoplasias de células blásticas dendríticas plasmocitoides. Adaptado de Merino A *et al.* 2018.

3. NUEVAS MODALIDADES TERAPÉUTICAS

Las LMA son un importante campo para la investigación de nuevos fármacos. Normalmente, las nuevas opciones terapéuticas son primero evaluadas en pacientes en recaída de la enfermedad, o en pacientes de edad avanzada que no son considerados candidatos para la quimioterapia intensiva estándar. De entre estas nuevas terapias se encuentran las siguientes: inhibidores de quinasas, moduladores epigenéticos, nuevos agentes citotóxicos, inhibidores mitocondriales (incluyendo terapias apoptóticas), terapias dirigidas contra proteínas oncogénicas, inmunoterapia celular, y terapias contra el microambiente de las LMA.

Algunos ejemplos de estos nuevos tratamientos, los cuales están bajo evaluación en ensayos clínicos, son los inhibidores de *FLT3*. La primera generación de inhibidores de *FLT3* abarca el tandutinib, sunitinib, lestaurtinib, sorafenib y midostaurin, y la segunda generación el quizartinib, crenolanib y gilteritinib. Ambas generaciones difieren no solamente en su habilidad para inhibir *FLT3* o el dominio de la tirosina quinasa, si no también en su especificidad para *FLT3*, así como también en sus perfiles de toxicidad.

Con respecto a las nuevas terapias epigenéticas, una novedosa aproximación es la inhibición dirigida contra enzimas metabólicas como la IDH1 y la IDH2, que frecuentemente se encuentran mutadas en las LMA. Resultados de estudios clínicos recientes muestran respuestas duraderas con AG-221, un potente inhibidor del mutante de IDH2, y AG-120, un potente inhibidor del mutante de IDH1. Otro ejemplo es la terapia dirigida contra BRD4 usando un inhibidor del dominio de bromo, como el OTX015.

Últimamente, la inmunoterapia dirigida está teniendo un papel cada vez más importante y no solamente en el campo de las LMA. Actualmente, en fases tempranas de ensayos clínicos ya se están usando distintos anticuerpos terapéuticos dirigidos contra antígenos específicos de las LMA (CD33, CD123, CLEC12A) o, también, receptores de antígenos quiméricos de células T (CAR-T) dirigidos contra CD33 y CD123.

A Para un paciente con LMA

Estudios para establecer el diagnóstico	Procedimientos adicionales al diagnóstico
Recuento celular completo y diferencial Aspirado de médula ósea Biopsia de médula ósea Inmunofenotipo	Análisis de comorbilidades Bioquímica, test de coagulación, análisis de orina Serología de test de embarazo Información del ovocito y criopreservación del esperma Elegibilidad para el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (incluyendo tipificación del HLA) Hepatitis A, B, C; VIH-1 test Radiografía de tórax, 12-lead electrocardiograma, y ecocardiografía o MUGA (según indicación) Punción lumbar Biobanco
Análisis genéticos	Evaluación de la sensibilidad de respuesta por RT-qPCR o MFC
Citogenética Screening de mutaciones de genes incluyendo <i>NPM1</i> , <i>CEBPA</i> , <i>RUNX1</i> , <i>FLT3</i> , <i>TP53</i> , <i>ASXL1</i> Screening de reordenamientos de genes <i>PML-RARA</i> , <i>CBFB-MYH11</i> , <i>RUNX1-RUNX1T1</i> , <i>BCR-ABL1</i> , otros genes de fusión (si están disponibles)	RT-qPCR para la mutación de <i>NPM1</i> , <i>CBFB-MYH11</i> , <i>RUNX1-RUNX1T1</i> , <i>BCR-ABL1</i> , otros genes de fusión (si están disponibles) MFC
Procedimientos adicionales al diagnóstico	
Demografía y historia clínica Historia familiar detallada Antecedentes de sangrado del paciente Estado funcional (ECOG/WHO score)	

B Expresión de marcadores de superficie celular y citoplasmáticos

Diagnóstico de Leucemia mieloide aguda	
Precusores	CD34, CD117, CD33, CD13, HLA-DR
Marcadores granulocíticos	CD65, MPO citoplasmática
Marcadores monocíticos	CD14, CD36, CD64
Marcadores megacariocíticos	CD41 (glucoproteína IIb/IIIa), CD61 (glucoproteína IIIa)
Marcadores eritroides	CD235a (glicoforina A), CD36
Diagnóstico de Leucemia aguda de fenotipo mixto	
Linaje mieloide	MPO (citometría de flujo, inmunohistoquímica o citoquímica) o diferenciación monocítica (al menos 2 de los siguientes: esterasa no específica por citoquímica, CD11c, CD14, CD64, lisoenzima)
Linaje T	Fuerte expresión CD3 citoplasmático (con anticuerpos de la cadena ϵ de CD3) o CD3 de superficie
Linaje B	Fuerte expresión CD19 con al menos 1 de los siguientes con expresión fuerte: CD79a citoplasmático, cCD22, o CD10 o CD19 débil con al menos 2 de los siguientes con expresión fuerte: CD79a, cCD22, o CD10

C	Categoría de riesgo	Alteración genética
	Favorable	t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> Mutación de <i>NPM1</i> sin <i>FLT3-ITD</i> o con <i>FLT3-ITD</i> Mutación bialélica de <i>CEBPA</i>
	Intermedio	Mutación de <i>NPM1</i> y <i>FLT3-ITD</i> Wild-type <i>NPM1</i> sin <i>FLT3-ITD</i> o con <i>FLT3-ITD</i> (sin lesiones genéticas de riesgo adverso) t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i> Alteraciones citogenéticas no clasificadas como favorables o adversas
	Adverso	t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i> t(v;11q23.3); reordenamiento de <i>KMT2A</i> t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i> inv(3)(q21.3q26.2) o t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2</i> , <i>MECOM(EVI1)</i> -5 o del(5q); -7; -17/anormal(17p) Cariotipo complejo, cariotipo monosómico Wild-type <i>NPM1</i> y <i>FLT3-ITD</i> Mutación de <i>RUNX1</i> Mutación de <i>ASXL1</i> Mutación de <i>TP53</i>

Figura 3. (A) Principales test para el diagnóstico de las LMA. (B) Lista de marcadores útiles para establecer el diagnóstico de las LMA y los marcadores específicos de linaje para definir las leucemias agudas de fenotipo mixto. (C) Las diferentes categorías de riesgo de las alteraciones genéticas según la publicación de la European Leukaemia Net.

4. FUTURAS DIRECCIONES DEL DIAGNÓSTICO INTEGRADO DE LAS LMA

Hace tan solo 15 años, el diagnóstico de las LMA incluía solamente la morfología, el inmunofenotipo y el análisis de patrones de bandas. Desde entonces hemos experimentado un cambio de paradigma de fenotipo a genotipo, ganando cada vez más importancia el hecho de proporcionar un diagnóstico multidisciplinar. Actualmente, tanto el *FISH* como las técnicas moleculares son indispensables. Todas las disciplinas diagnósticas son necesarias para contribuir en la clasificación, el pronóstico, la decisión terapéutica y la monitorización de la enfermedad residual.

Es muy posible que, en un futuro, el diagnóstico incluya datos de todo el genoma y transcriptoma, en vez de centrarse solamente en alteraciones puntuales. Métodos hacia la secuenciación de todo el genoma/exoma y la transcriptómica supondrán un verdadero reto al "gold standard" actual, no solo con respecto a la reproducibilidad y sensibilidad, sino también con respecto a los tiempos de respuesta y los costes de las técnicas.

Para dirigirnos hacia esta medicina de precisión, tanto clínicos como facultativos de laboratorio deberán trabajar en equipo para darle sentido a todo este gran número de datos de los que dispondremos, así como para identificar patrones relevantes en la clínica, posibles nuevos inductores de leucemia o definir nuevas guías para futuras decisiones terapéuticas. Todo esto no será posible sin la automatización de los procesos, el almacenamiento de las

bases de datos y herramientas de software disponibles para su posterior interpretación. Debido a ello, la inteligencia artificial está ganando terreno en el campo de la hematopatología. Las aplicaciones de la inteligencia artificial con el uso de algoritmos basados en modelos deep learning son múltiples, como por ejemplo, para el reconocimiento de imágenes digitales de diferentes tipos de células en sangre periférica o médula ósea como herramientas de soporte al diagnóstico. También se ha trabajado en la digitalización de mapas citogenéticos basándose en la captura de las metafases cromosómicas, con la segmentación y la posterior clasificación de los cromosomas, para generar informes de perfiles citogenéticos de manera automática. La inteligencia artificial bajo la supervisión de los facultativos de laboratorio permitirá en el futuro encontrar el mejor algoritmo para guiar un tratamiento específico para cada paciente. Además, estos nuevos algoritmos pueden también ayudar en la detección de la enfermedad mínima residual y la predisposición de los pacientes a la recaída.

Todos estos objetivos solamente serán posibles con la integración de todas las herramientas tecnológicas y diagnósticas actuales, junto con la implementación de la inteligencia artificial y la automatización hacia los futuros procesos dentro del laboratorio clínico. Nunca antes las opciones diagnósticas de las LMA habían estado tan cerca de las necesidades reales para cada paciente.

Para concluir, las LMA son entidades clínicas y biológicas heterogéneas. Su clasificación más reciente según la OMS utiliza la morfología, el inmunofenotipo, la citogenética, el análisis molecular y la información clínica y patológica para definir las diferentes entidades ya existentes, así como también nuevas entidades. En la última década ha habido una gran contribución del análisis molecular para entender las LMA, demostrándose con el papel dominante del análisis de mutaciones en la actual clasificación de las LMA. Dada esta diversidad molecular de las LMA, el nuevo conocimiento de estas enfermedades es esencial para desarrollar nuevos tratamientos, que junto con el perfil genético mejorado y la estratificación del riesgo puede mejorar la remisión y supervivencia de la enfermedad. Por el momento, las herramientas de laboratorio "más clásicas" junto con los datos clínicos siguen siendo indispensables para una detección rápida ante la sospecha de un nuevo caso de LMA.

5. BIBLIOGRAFIA

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391–405.
2. Bain BJ. Leukaemia Diagnosis. 4ª Ed. Chichester, UK: Wiley-Blackwell; 2010. p. 68–73.
3. Boldú L, Merino A, Alférez S, Molina A, Acevedo A, Rodellar J. Automatic recognition of different types of acute leukaemia in peripheral blood by image analysis. *J Clin Pathol*. 2019;72(11):755–61.
4. De Kouchkovsky I, Abdul-Hay M. Acute myeloid leukaemia: a comprehensive review and 2016 update. *Blood Cancer J*. 2016;6:e441.
5. Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017;129:424447.
6. Haferlach T, Schmidts I. The power and potential of integrated diagnostics in acute myeloid leukaemia. *British Journal of Haematology*. 2020; 188:36-48.
7. Ley TJ, Miller C, Ding L, Raphael BJ, et al. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukaemia. *N Engl J Med*. 2013; 368:2059-2074.
8. Merino A, Boldú L, Ermens A. Acute myeloid leukaemia: How to combine multiple tools. *Int J Lab Hematol*. 2018;00:1–11. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12831>.
9. Merino A. Diagnóstico diferencial de las leucemias agudas. En: Manual de Citología de Sangre Periférica y Líquidos Biológicos. 2ª Ed. Madrid: Panamericana 2019. p. 155-184.
10. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, et al. Genomic classification and prognosis in acute myeloid leukaemia. *N Engl J Med*. 2016; 374:2209-2221.

EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells Rosselló, F. Calvo Boyero, A. Dayaldasani Khialani, A. Fabregat Bolufer, N. Giménez Gómez, A. Merino González, N. Rico Santana (*Presidenta*), M. Rodríguez Espinosa, T. Rodríguez Nieto, P. Rodríguez Vázquez, M. Serrando Querol, M.C. Villà Blasco, J. Alexander Wong Arteta.

ISBN 978-84-09-29253-0 Abril 2022 (Recibido para publicación Junio 2021)