



Leucemia Mieloide Aguda

Innovaciones en Diagnóstico y Clasificación Basada en la Genética

Angélica María, Jiménez Mejía. Bacterióloga, Especialista en Hematología y Banco de Sangre, Magíster en Ciencias Básicas Biomédicas énfasis Genética- Escuela de Microbiología.
Universidad de Antioquia

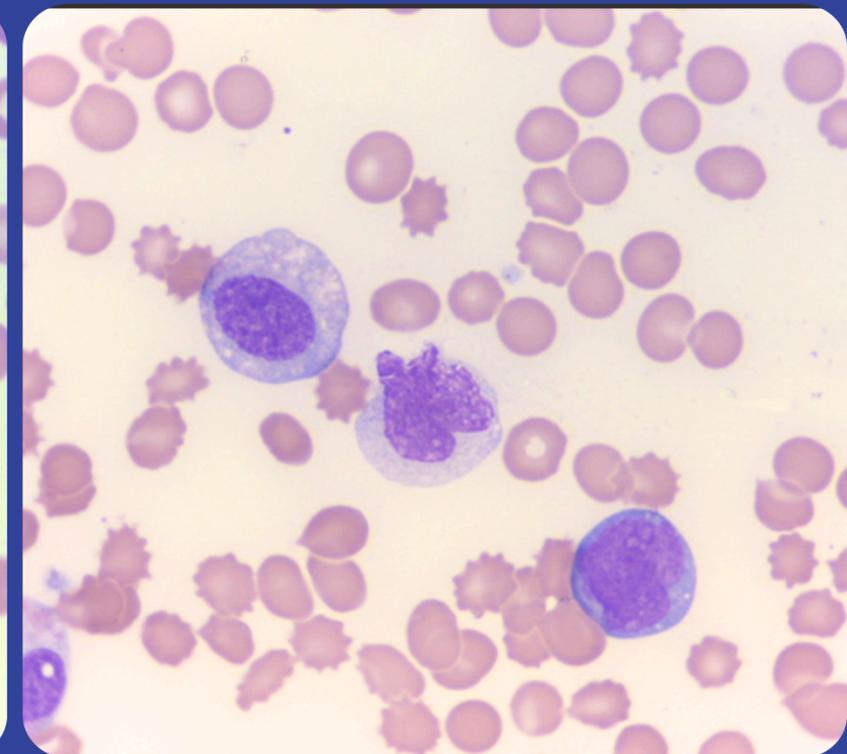
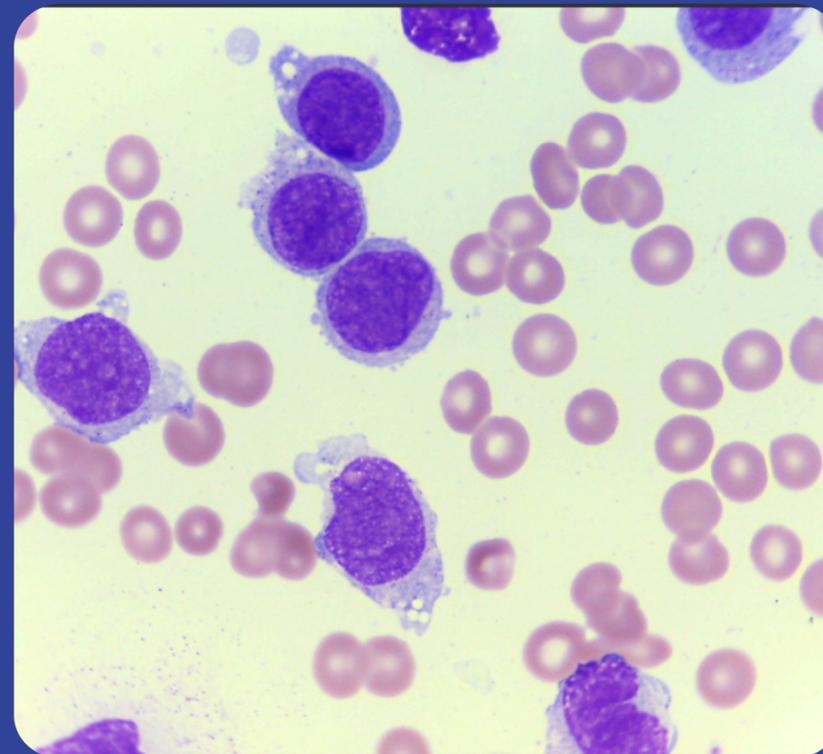
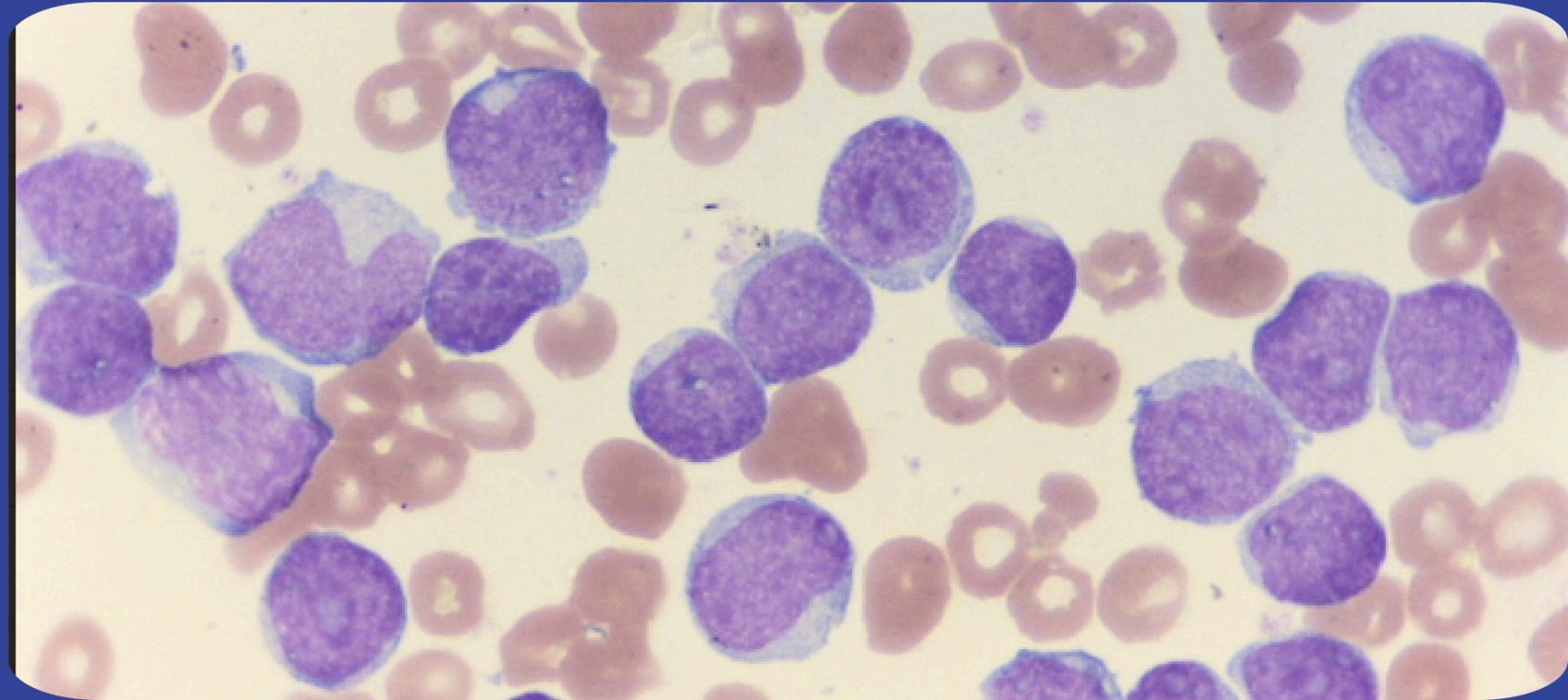


www.congresocolabiocli.com

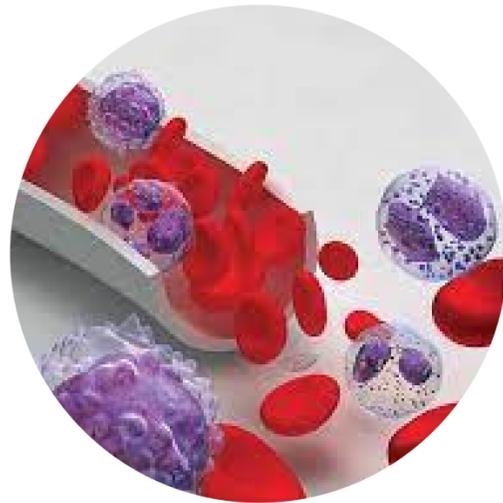


LMA

- Es una neoplasia caracterizada por la presencia de clones malignos de células mieloides con arresto de la maduración a nivel de los blastos.
- Se puede desarrollar luego de un síndrome mielodisplásico (SMD) o síndrome mieloproliferativo (SMP)
- Es heterogéneo en morfología, expresión de antígenos, cambios citogenéticos, mutaciones genéticas y activación de vías de señalización.



Generalidades



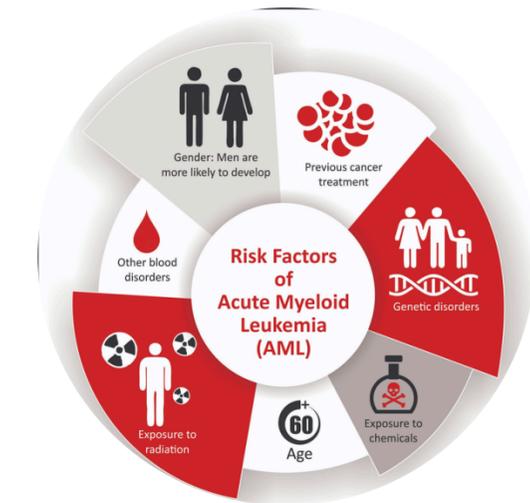
Cuadro Clínico - Falla Medular

Anemia, neutropenia y trombocitopenia
LPA: Alto Riesgo de **CID**



Epidemiología

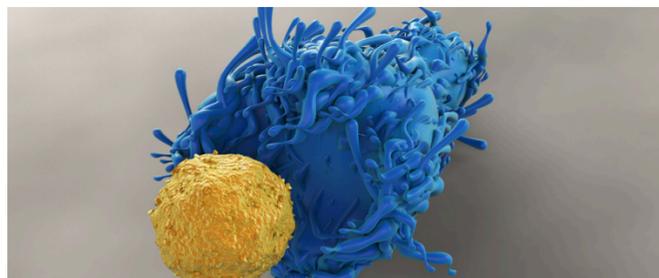
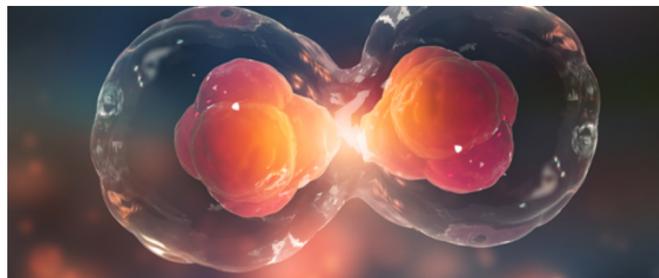
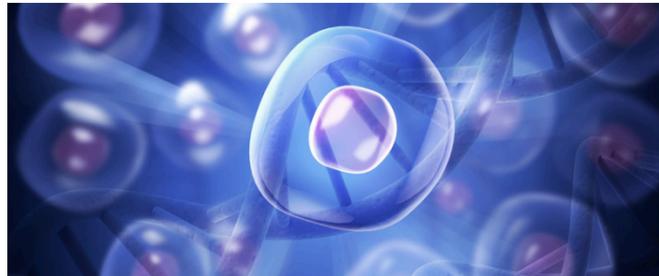
Prevalencia: 1.784
Incidencia 2022: 362
Mortalidad 2022: 307
65.5% Alto riesgo
Promedio de edad 62 años/49 años



Factores de Riesgo

Predisposición Genética
Secundario a NPM/SMD
Secundario a tto
Radiación
Exposición ocupacional
Tabaco

Fisiopatología



01

Defecto de maduración

02

Proliferación aumentada

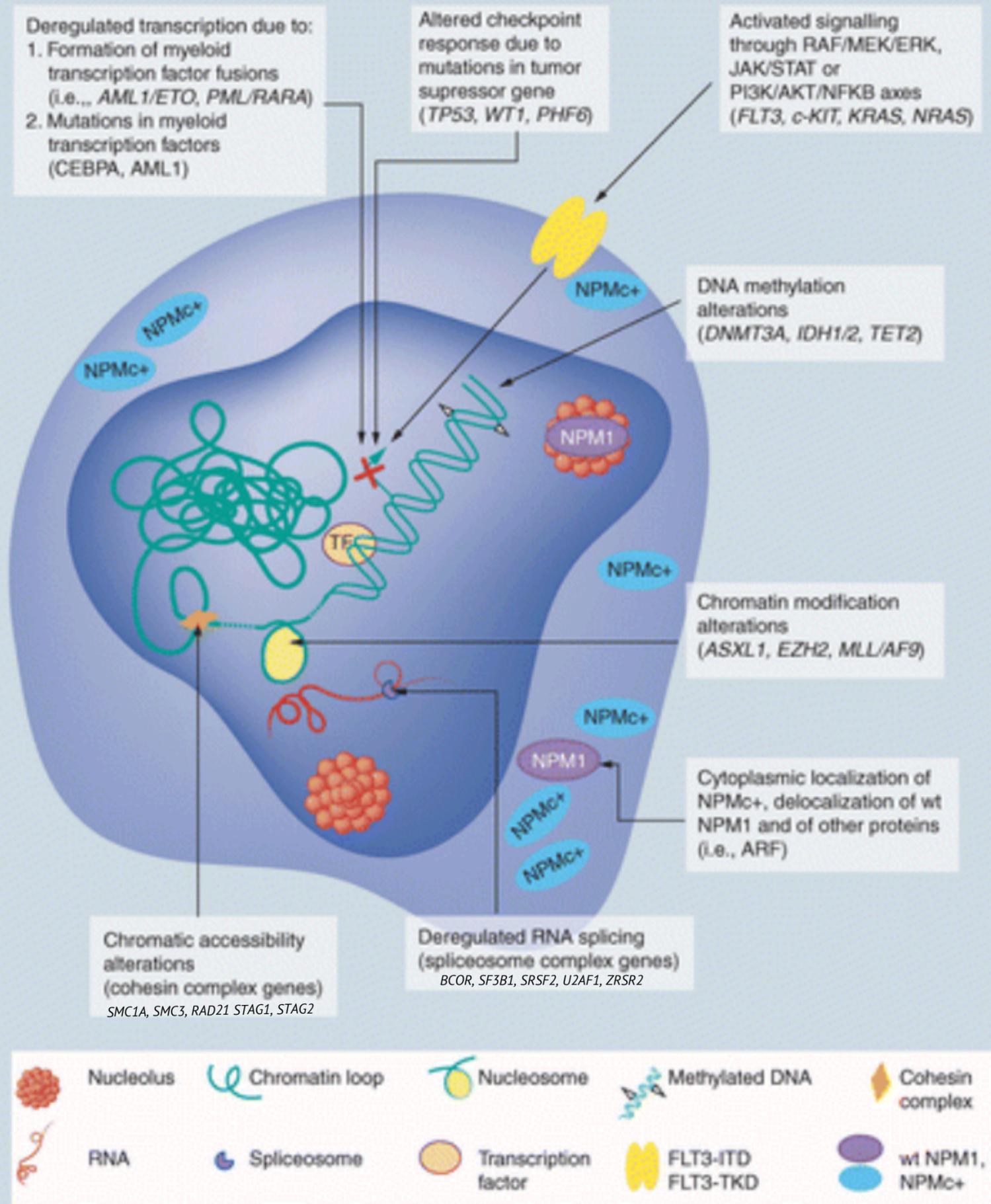
03

Exceso de supervivencia

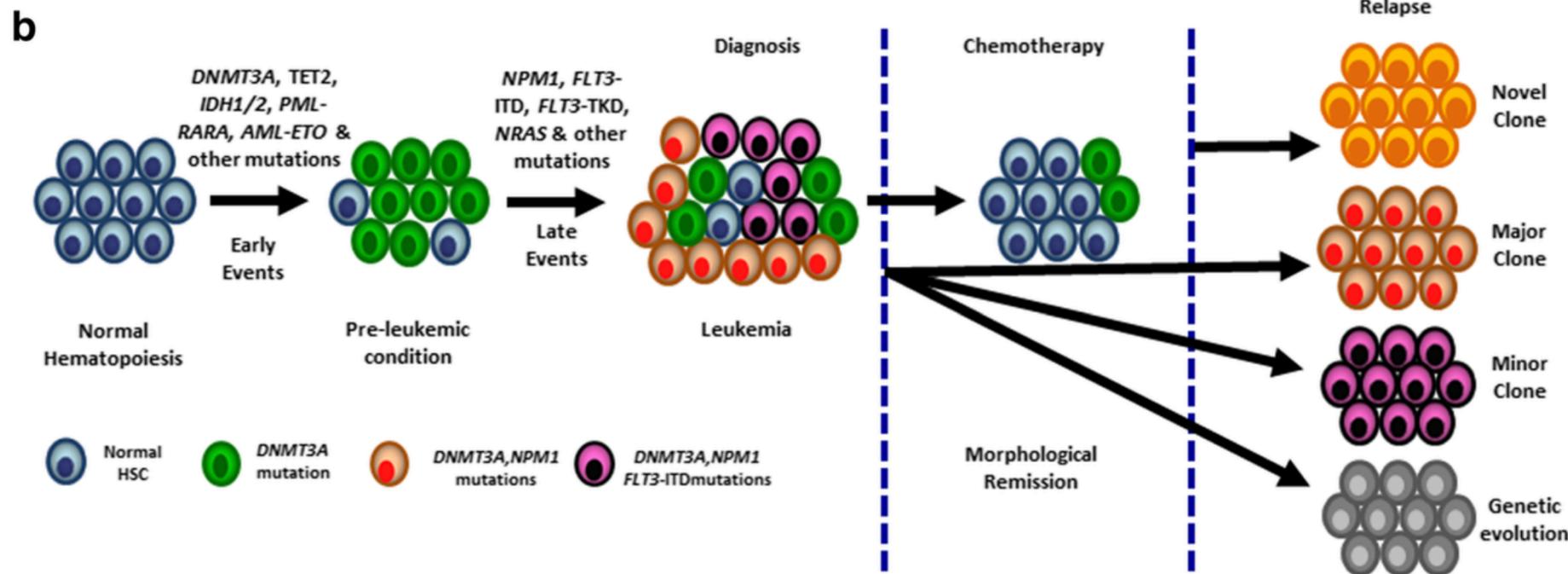
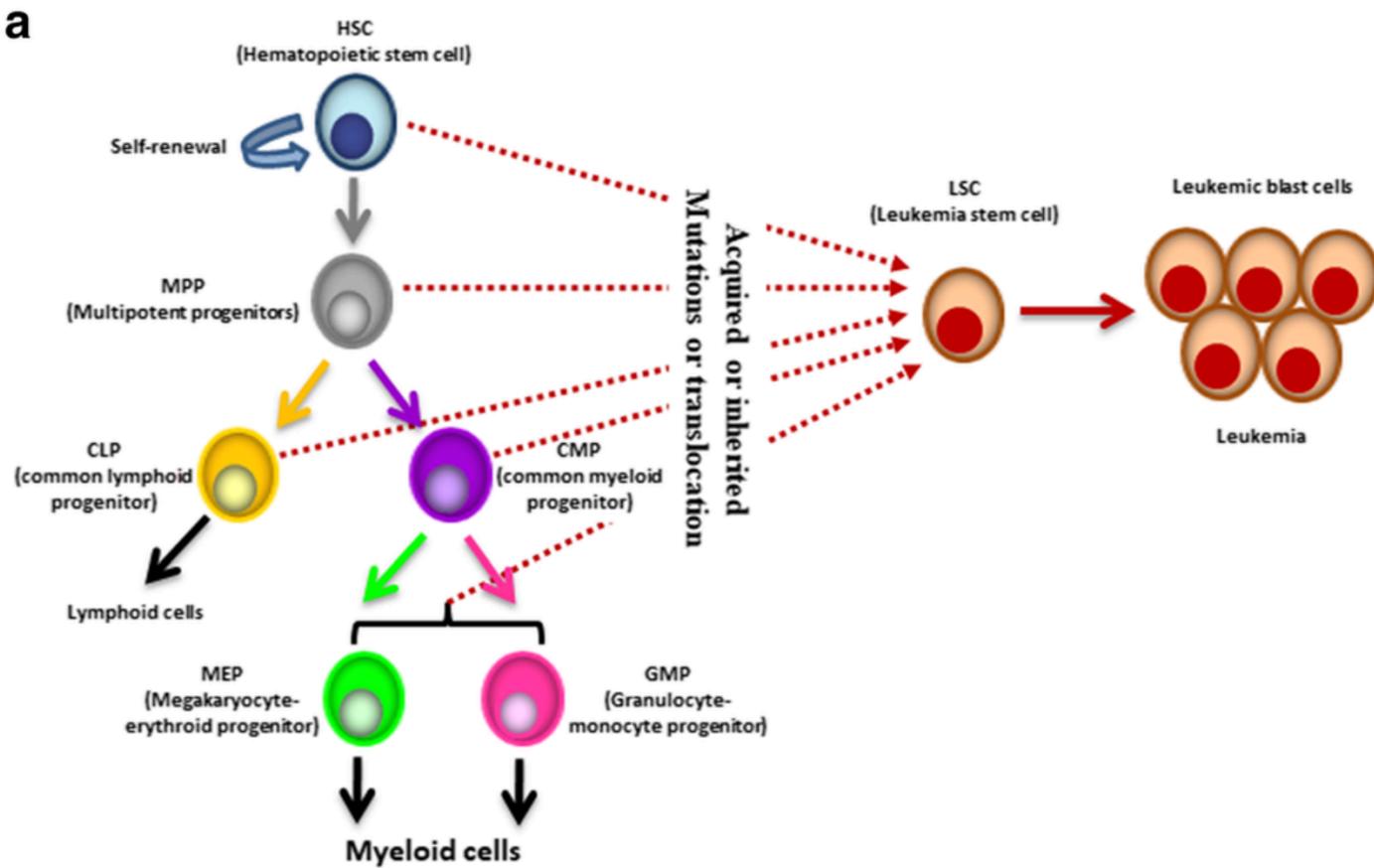
Fisiopatología Molecular

Mutaciones que alteran la señalización celular por una o más vías de la red que regula la hematopoyesis:

1. Factores de transcripción
2. Genes supresores de tumor
3. Metilación del ADN
4. Vías de señalización
5. Modificadores de la cromatina
6. Complejo cohesina
7. Espliciosoma
8. NPM1

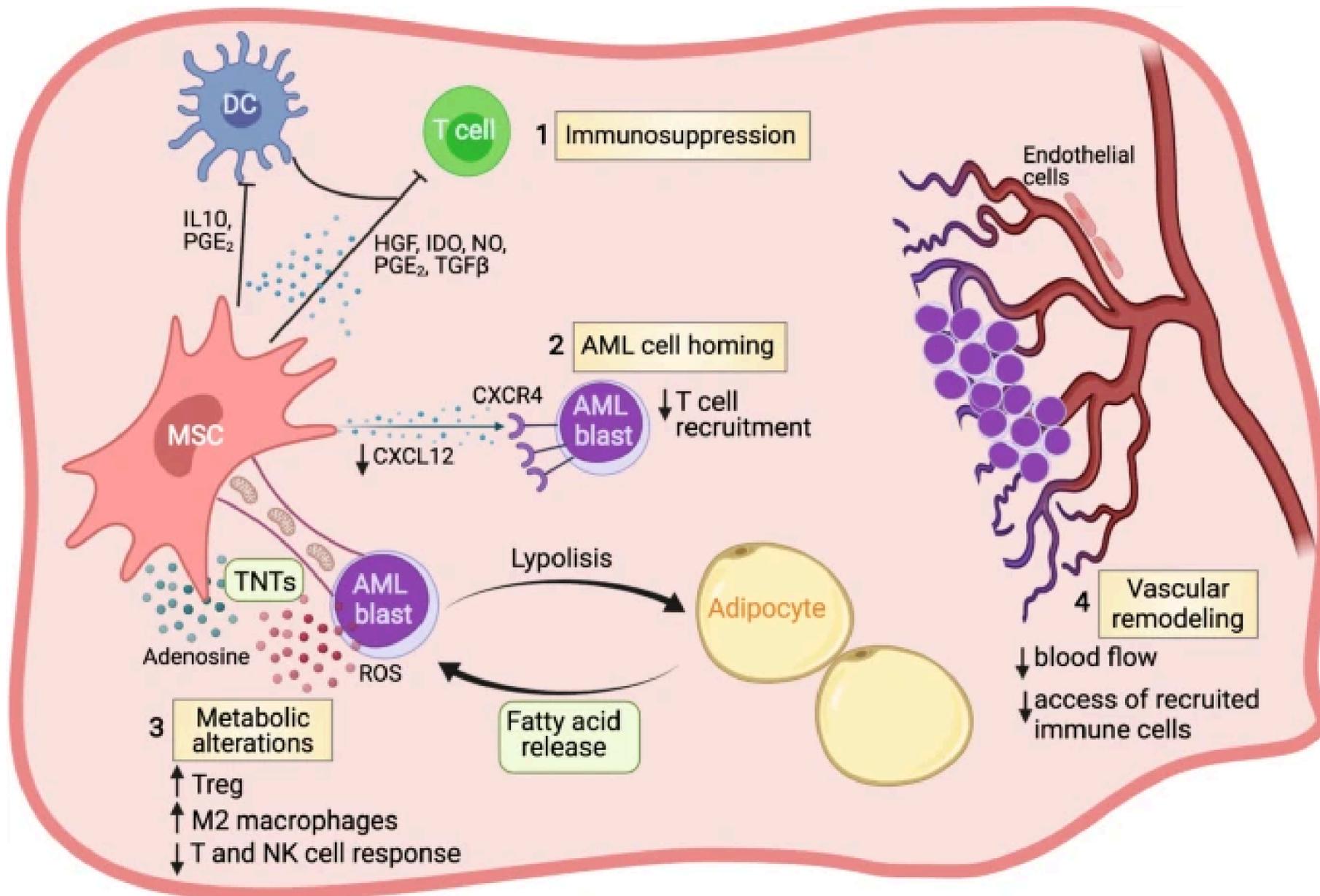


Evolución Clonal de LMA



- Las HSPC adquieren mutaciones y/o translocaciones.
- Los factores desencadenantes tempranos (Mutaciones clase I) activan las vías de señalización aumentando la proliferación y supervivencia. *FLT3* y *RAS*
- Mutaciones clase II que afectan los factores de transcripción o complejos coactivadores que afectan la diferenciación *t(8;21)*, *inv(16)/t(16;16)*, *t(15;17)*, *NPM1*
- Mutaciones que afectan los cambios epigenéticos *TET2*, *IDH1*, *IDH2*, y *DNMT3A*.

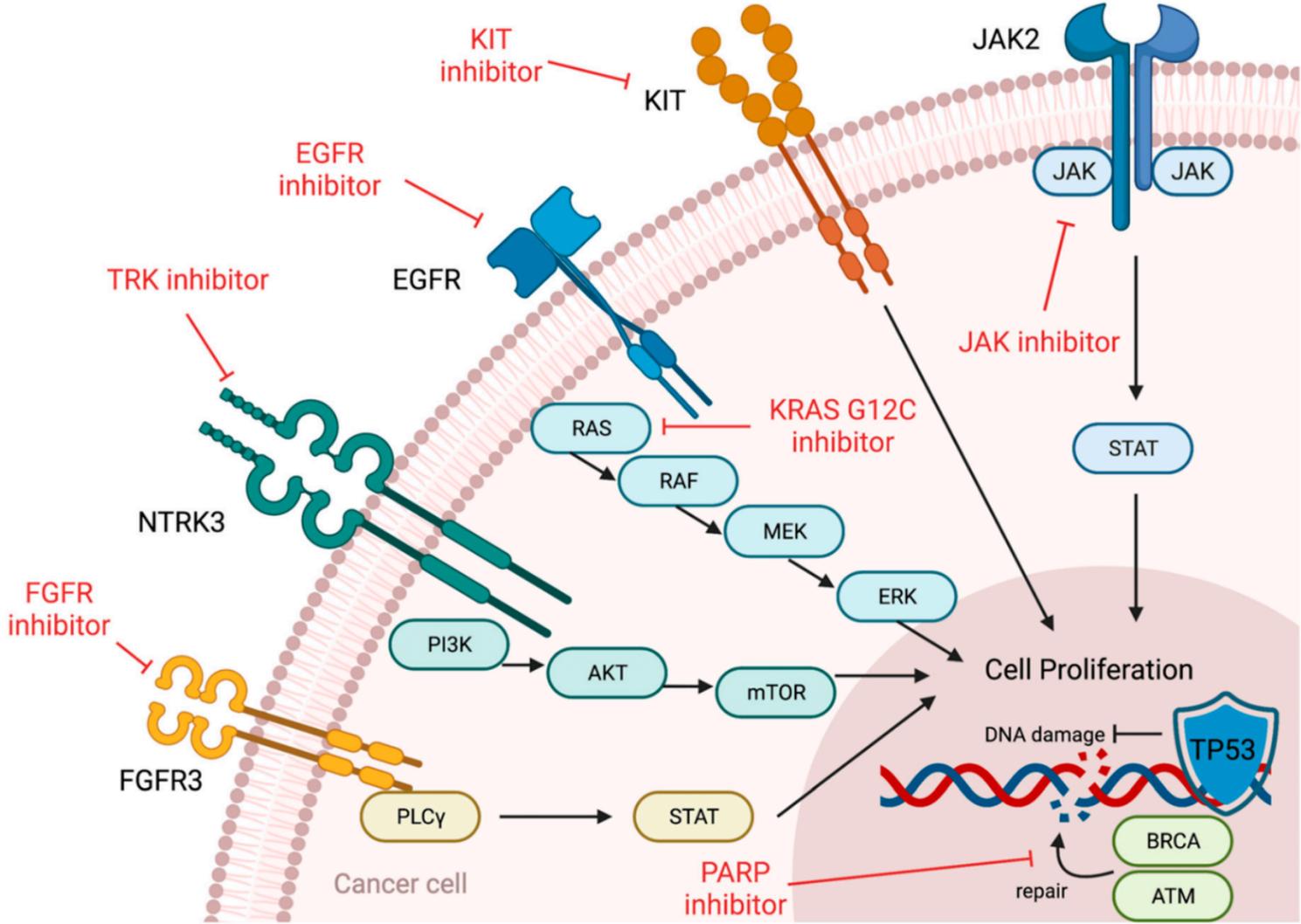
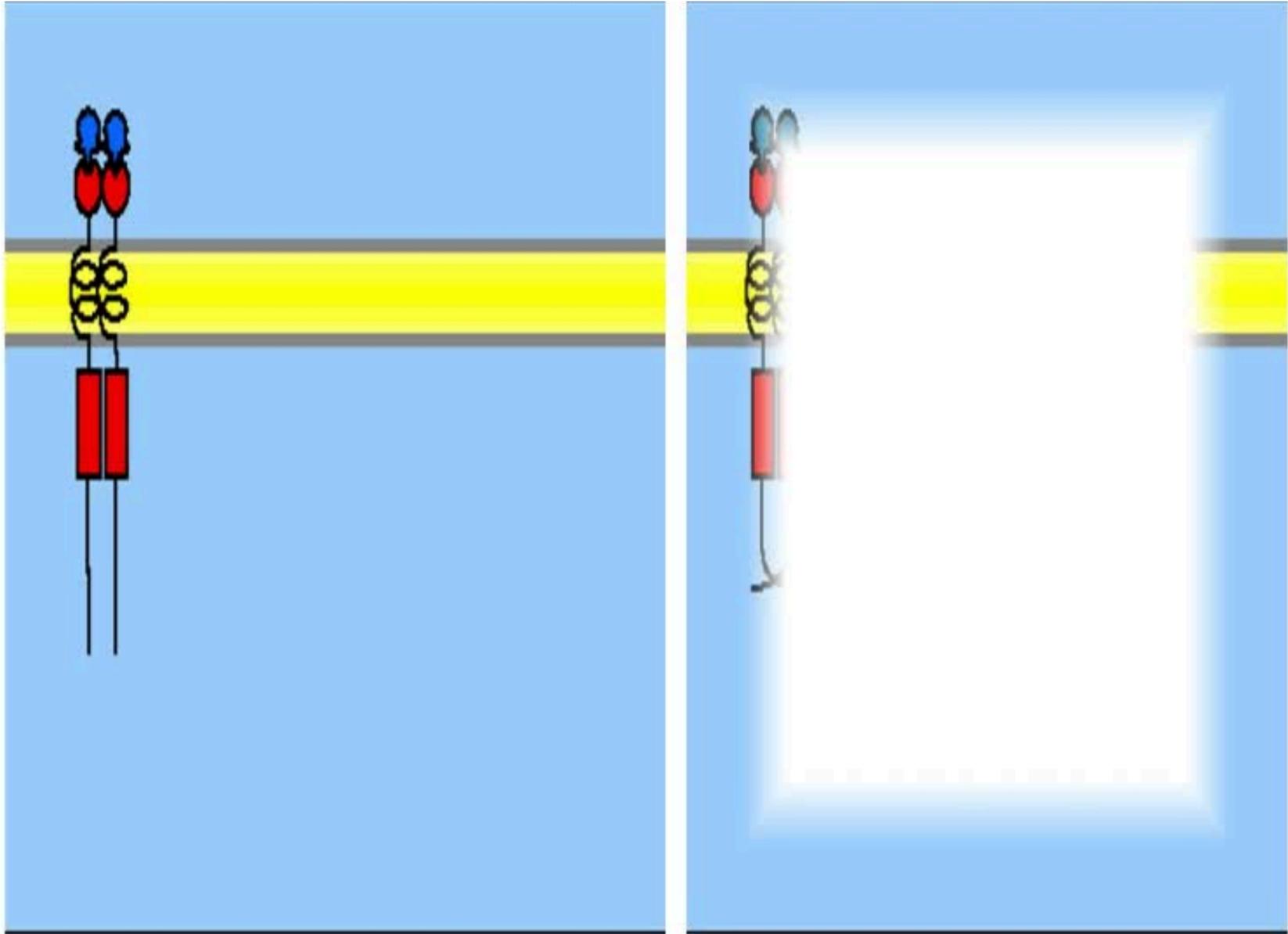
Propiedades biológicas del Nicho para LMA



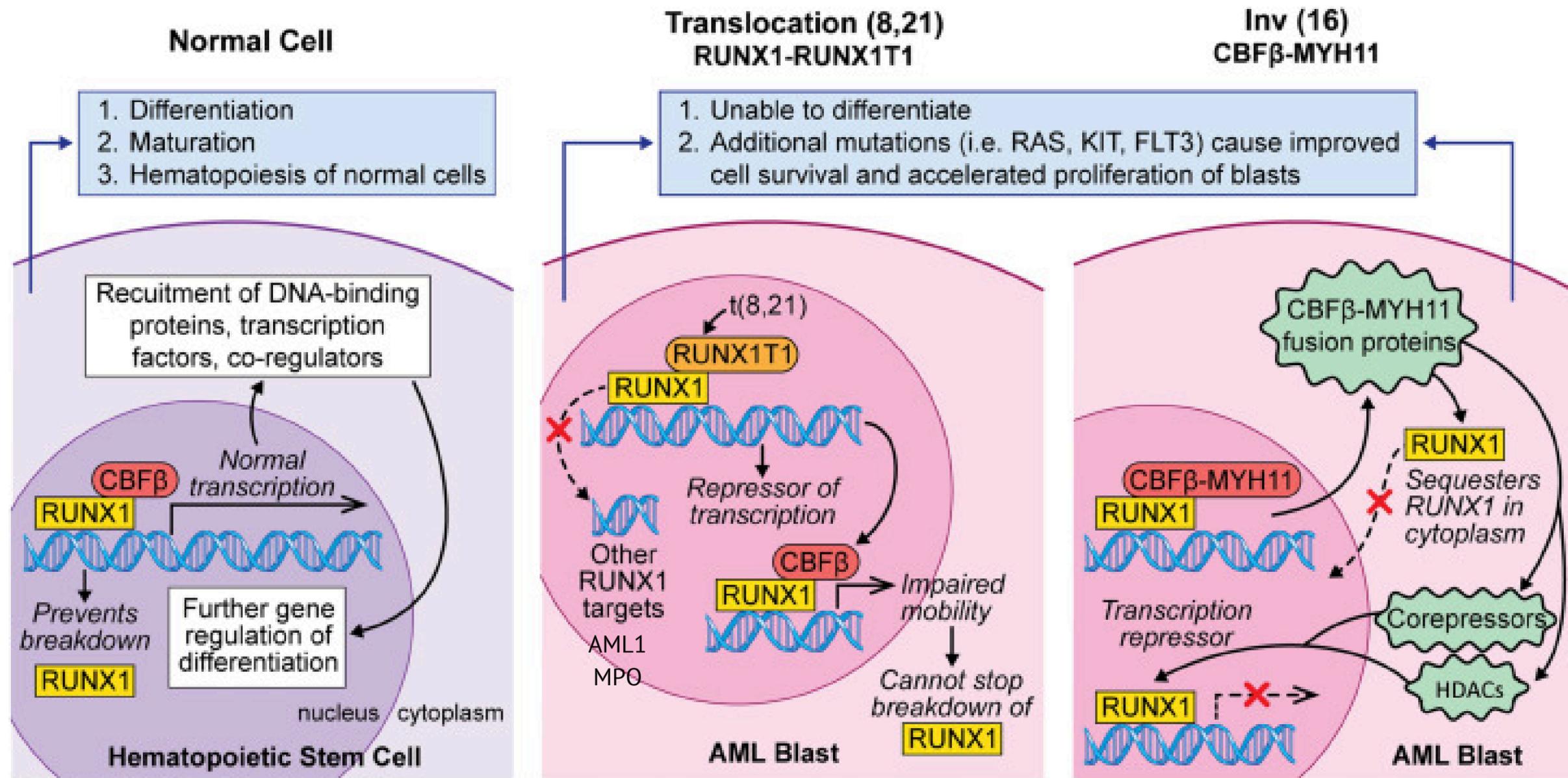
- Adhesión celular aberrante,
- Inmunosupresión
- Cambios en la señalización de citocinas
- Ambiente proinflamatorio
- El desarrollo vascular dependiente de la edad, con aumento de capilares y aumento de células perivasculares positivas para PDGFRB, formación de arteriolas y un aumento del factor de células madre



Fisiopatología Molecular



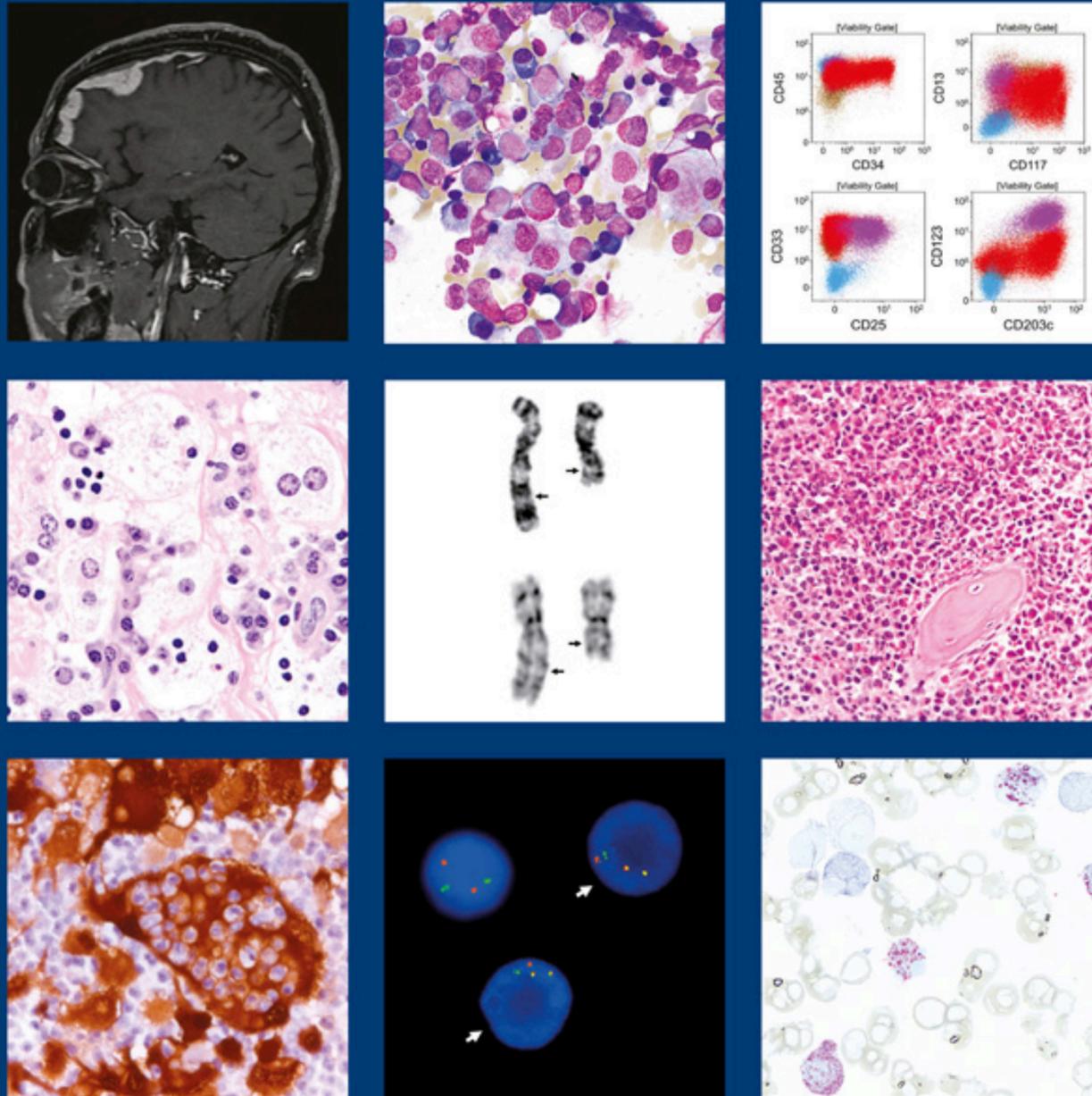
LMA - CBF



Haematolymphoid Tumours

Part A

Edited by the WHO Classification of Tumours Editorial Board

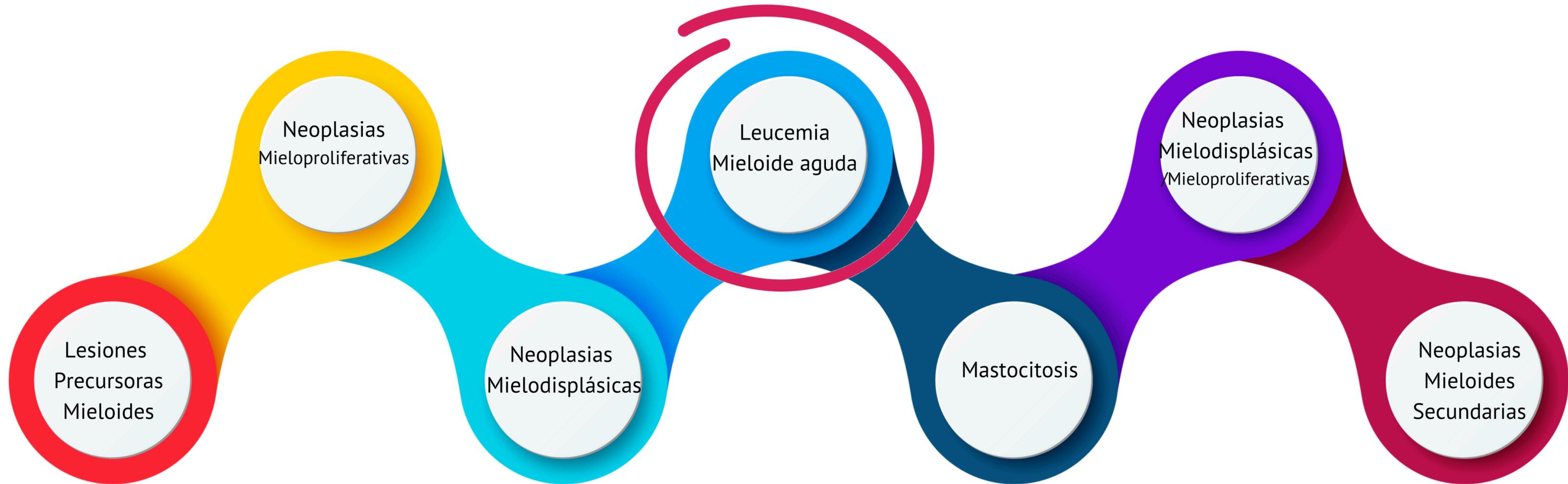


Clasificación OMS 2022

www.congresocolabiocli.com



Proliferaciones y Neoplasias mieloides



Clasificación OMS LMA

Recurrentes

t(15;17) / *PML::RARA*
t(8;21) / *RUNX1::RUNX1T1*
inv(16) o t(16;16) / *CBFB::MYH11*
t(6;9) / *DEK::NUP214*
t(1;22) / *RBM15::MRTFA*
t(9;22) / *BCR::ABL1*

Rearreglos *KMT2A*
Rearreglos *MECOM*
Rearreglos *NUP98*
Mutación *NPM1*
Mutación *CEBPA*

Neoplasias Mieloides Post terapia Citotóxica - MNpCT)

Predisposición germinal; (Lifraumeni, Noonan, NF I, Fanconi, NCS)

Proliferación mieloide asociada a S. Down
MPN previa

Definidas por Alteraciones Genéticas

Relacionadas a SMD (LMA-RM)

Historia previa de SMD o SMD/MPN
Alteraciones genéticas SMD
del(5q)/t(5q)/add(5q)
-7/del(7q), +8,
del(12p)/t(12p)/add(12p)
i(17q)/a<-17/dd(17p)/del(17p), del(20q) o idic(X)(q13)
Mutaciones:
SRSF2, SF3B1, U2AF1, ZRSR2, ASXL1, EZH2, BCOR, o STAG2

Definidas por Diferenciación

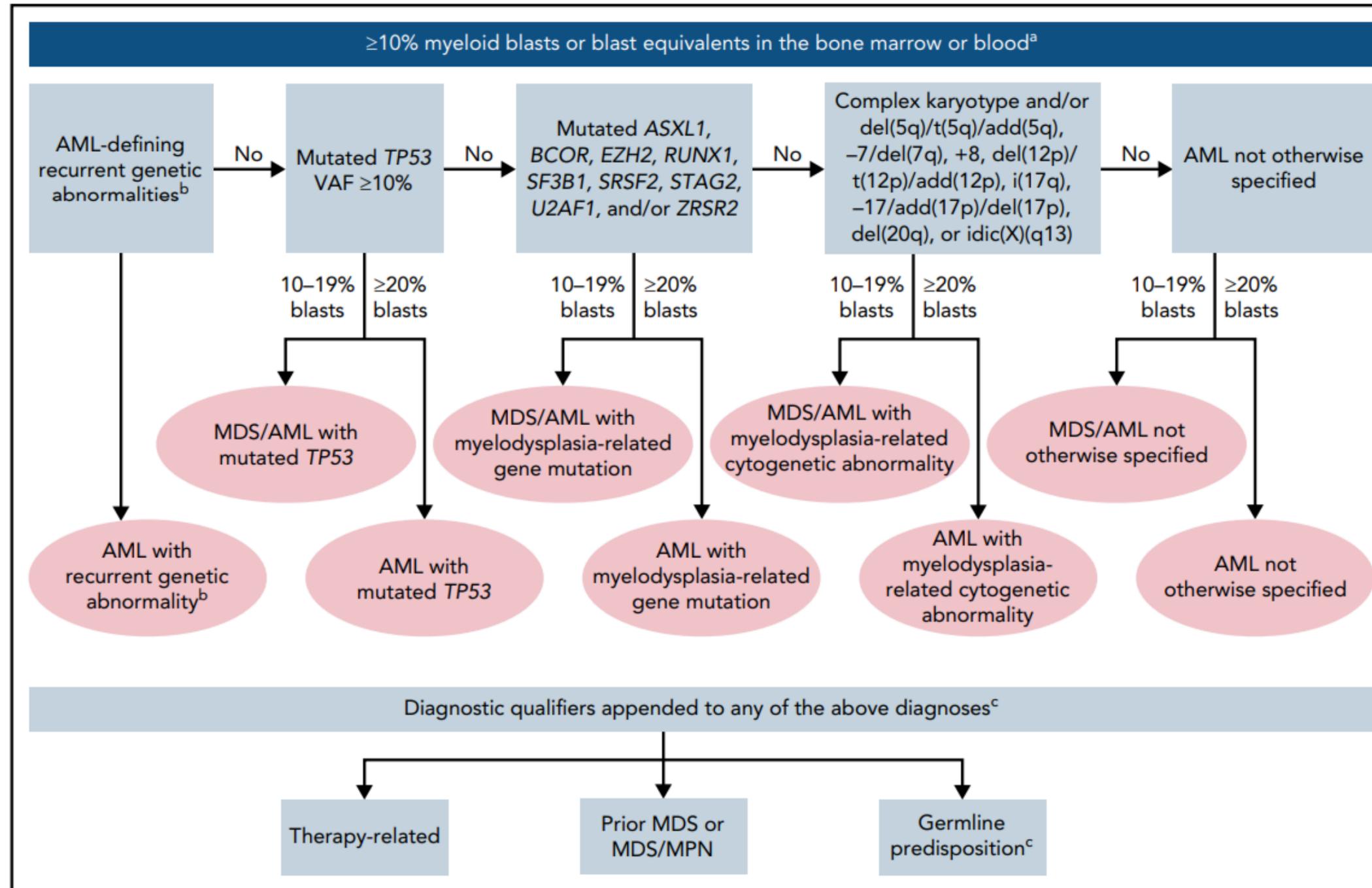
Con mínima diferenciación
Sin maduración
Con maduración
Basófilica
Mielomonocítica
Monocítica
Eritroide
Megacarioblástica

Otras alteraciones genéticas definadas

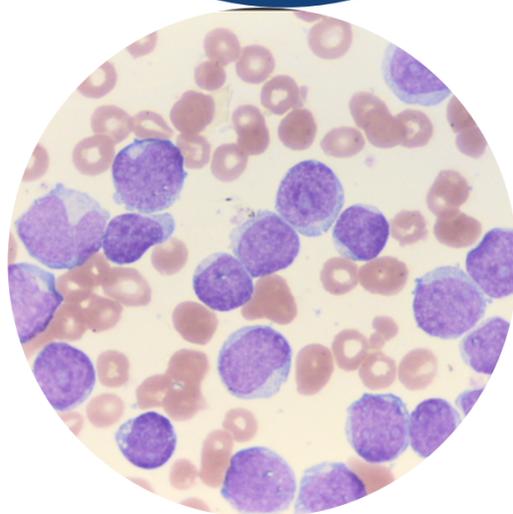
inv(16)(p13q24) / *RUNX1T3(CBFA2T3)::GLIS2*
t(8;16) / *KAT6A::CREBBP*
t(16;21) / *FUS::ERG*
t(7;12) / *MNX1::ETV6*
t(3;5) / *NPM1::MLF1*

20%
Blastos!

Clasificación ICC LMA

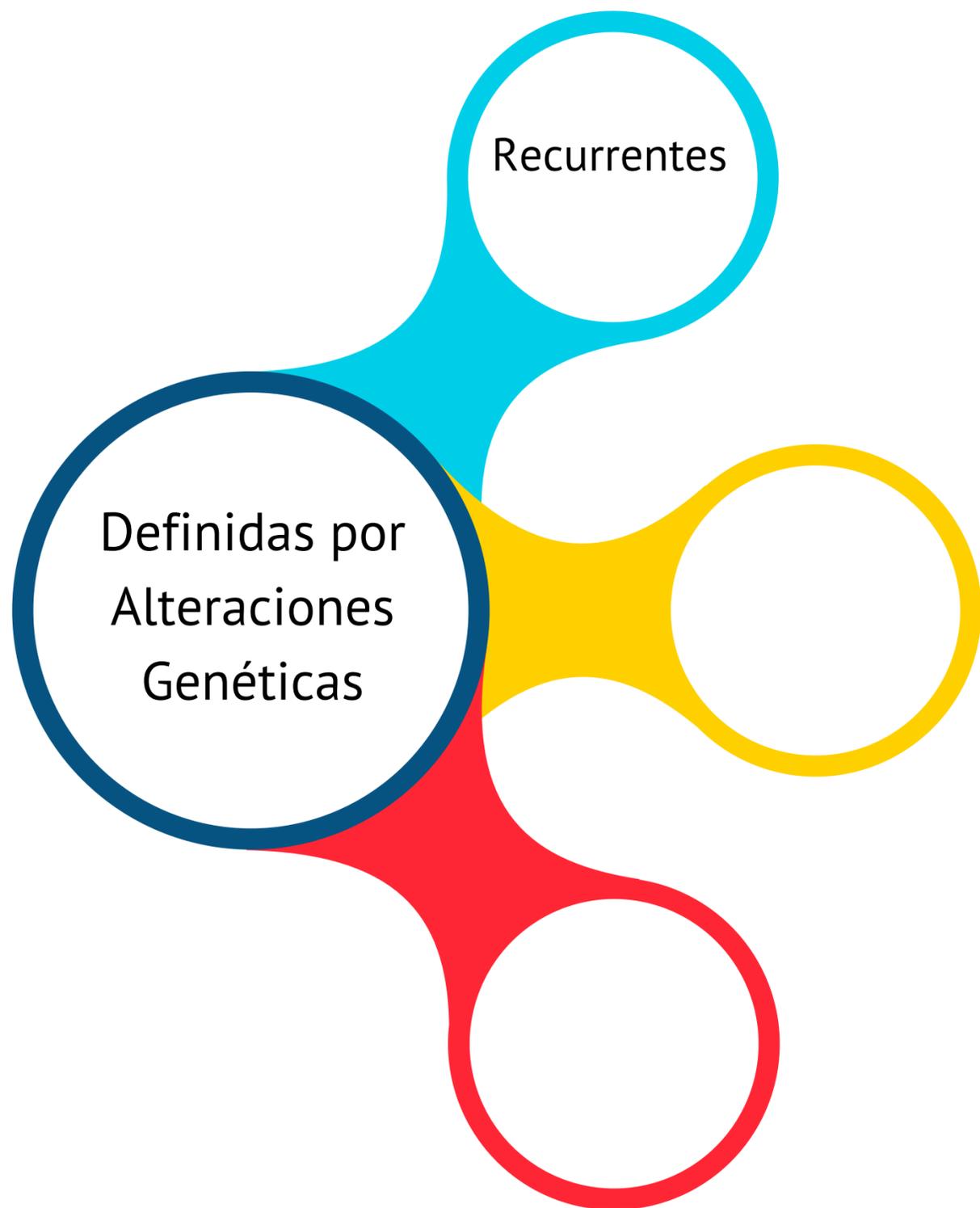


Definidas por
Diferenciación

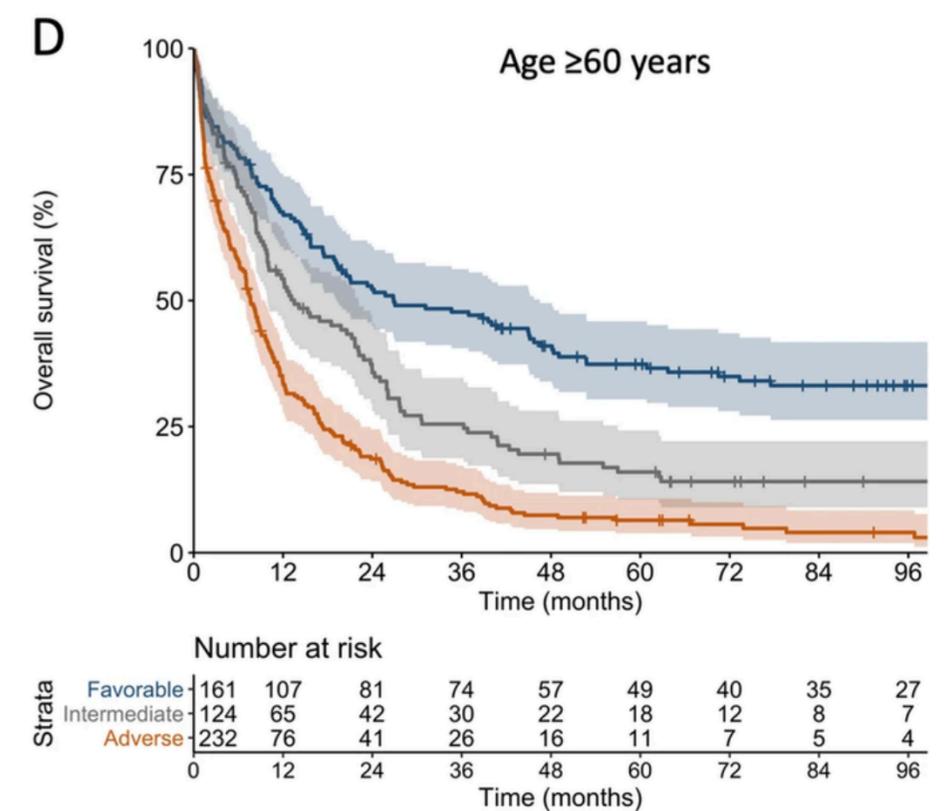
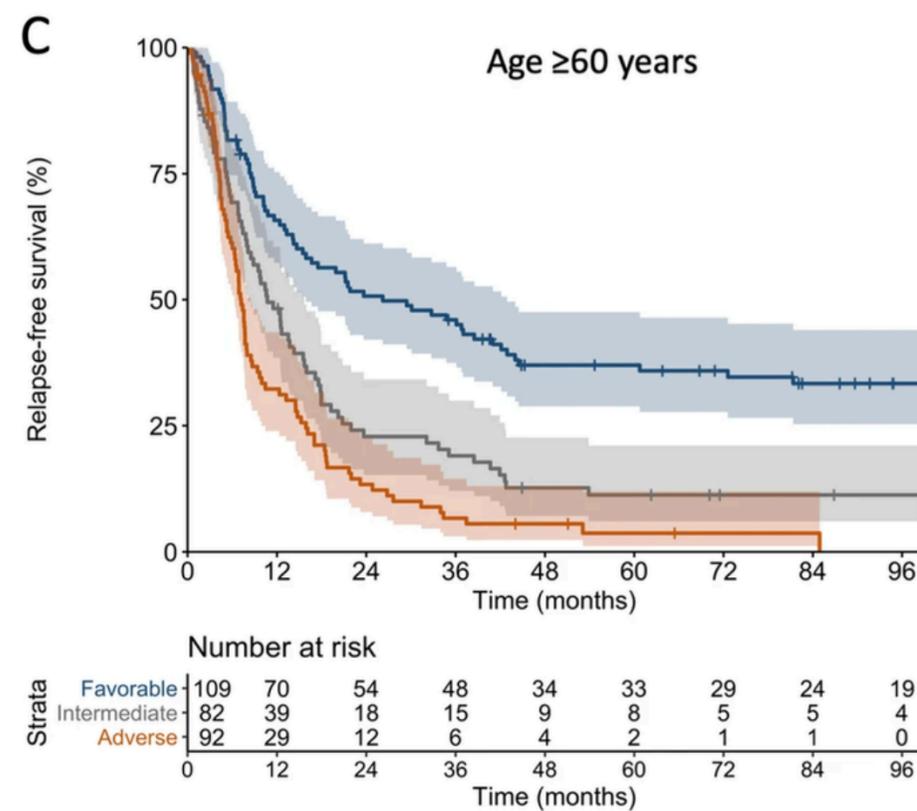
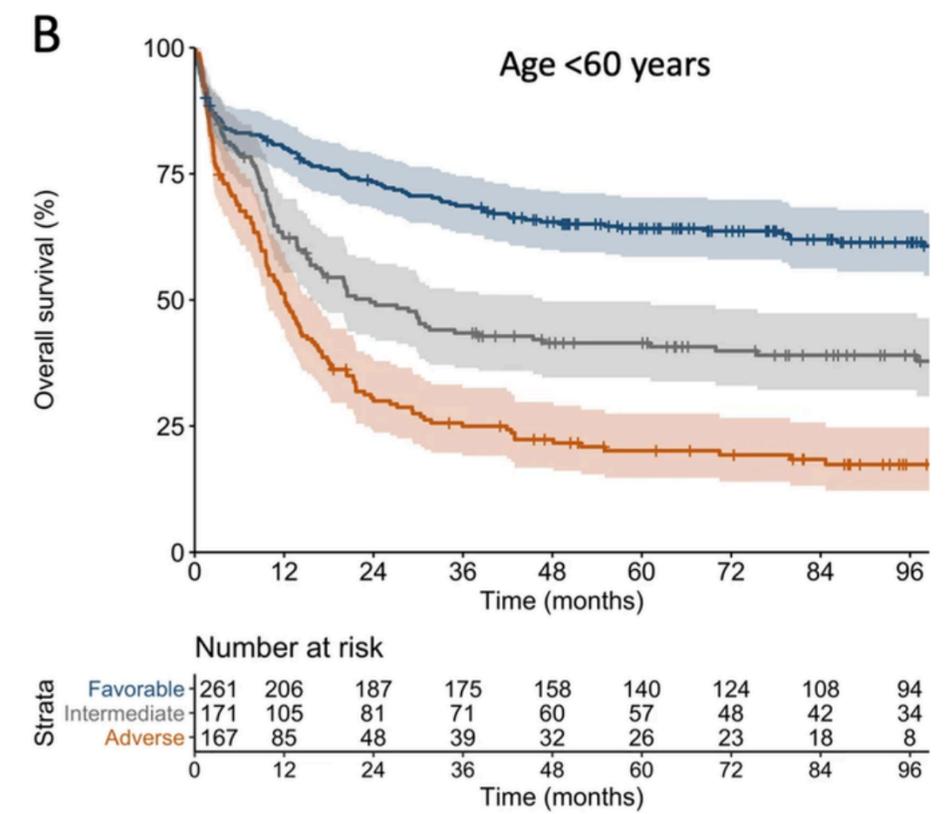
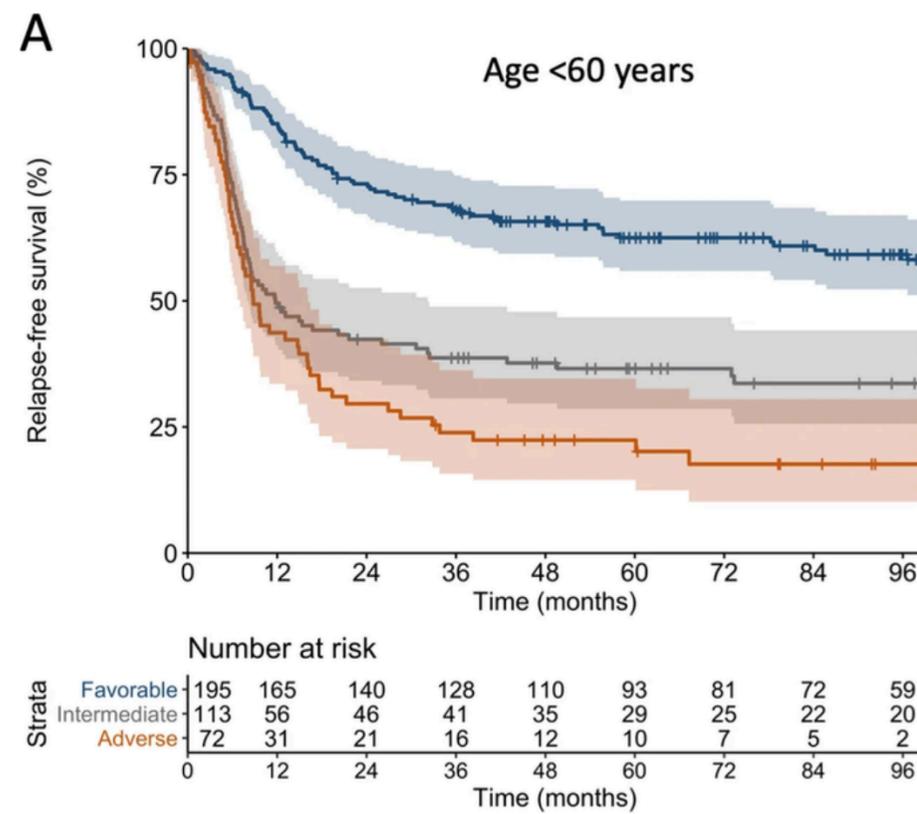
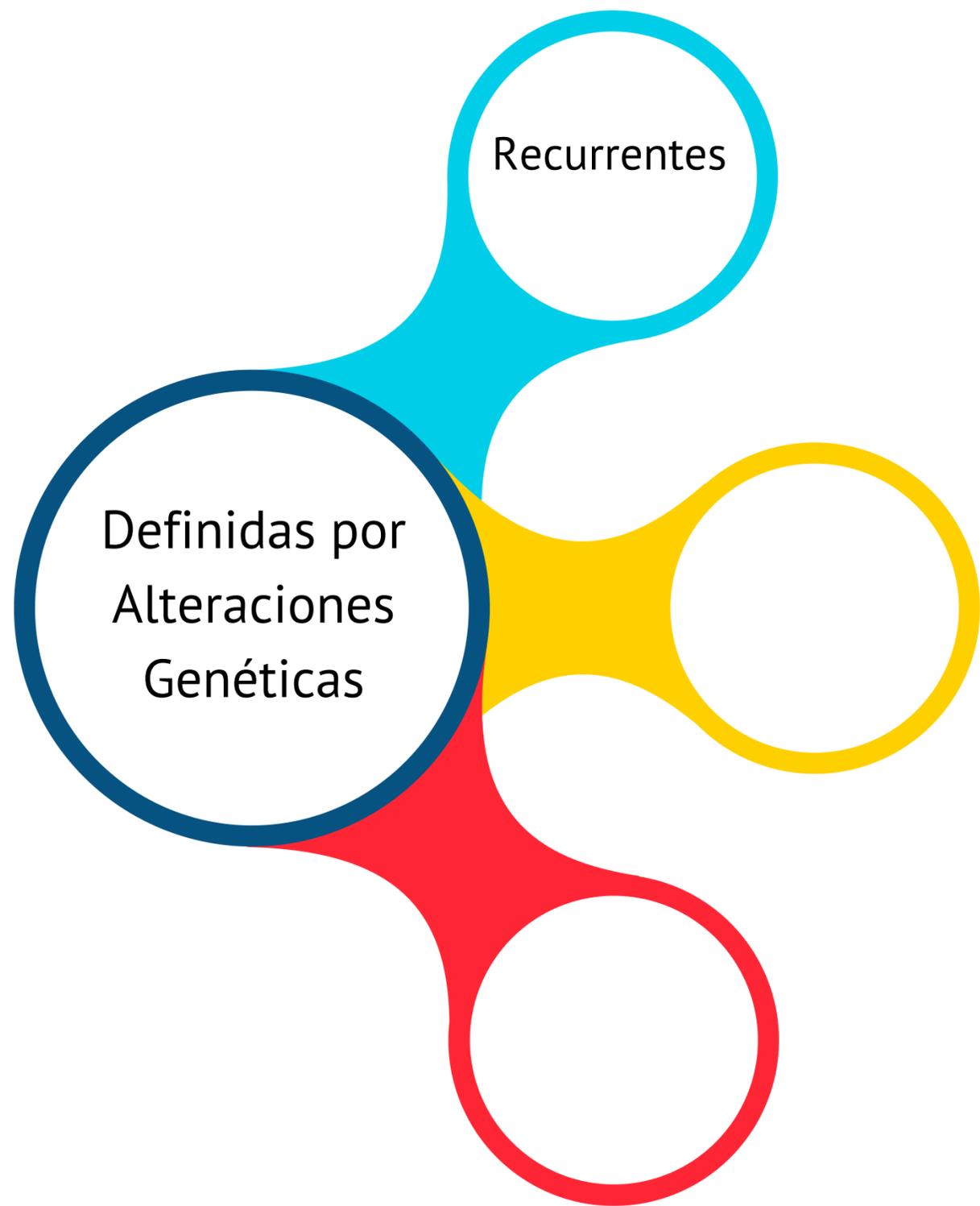


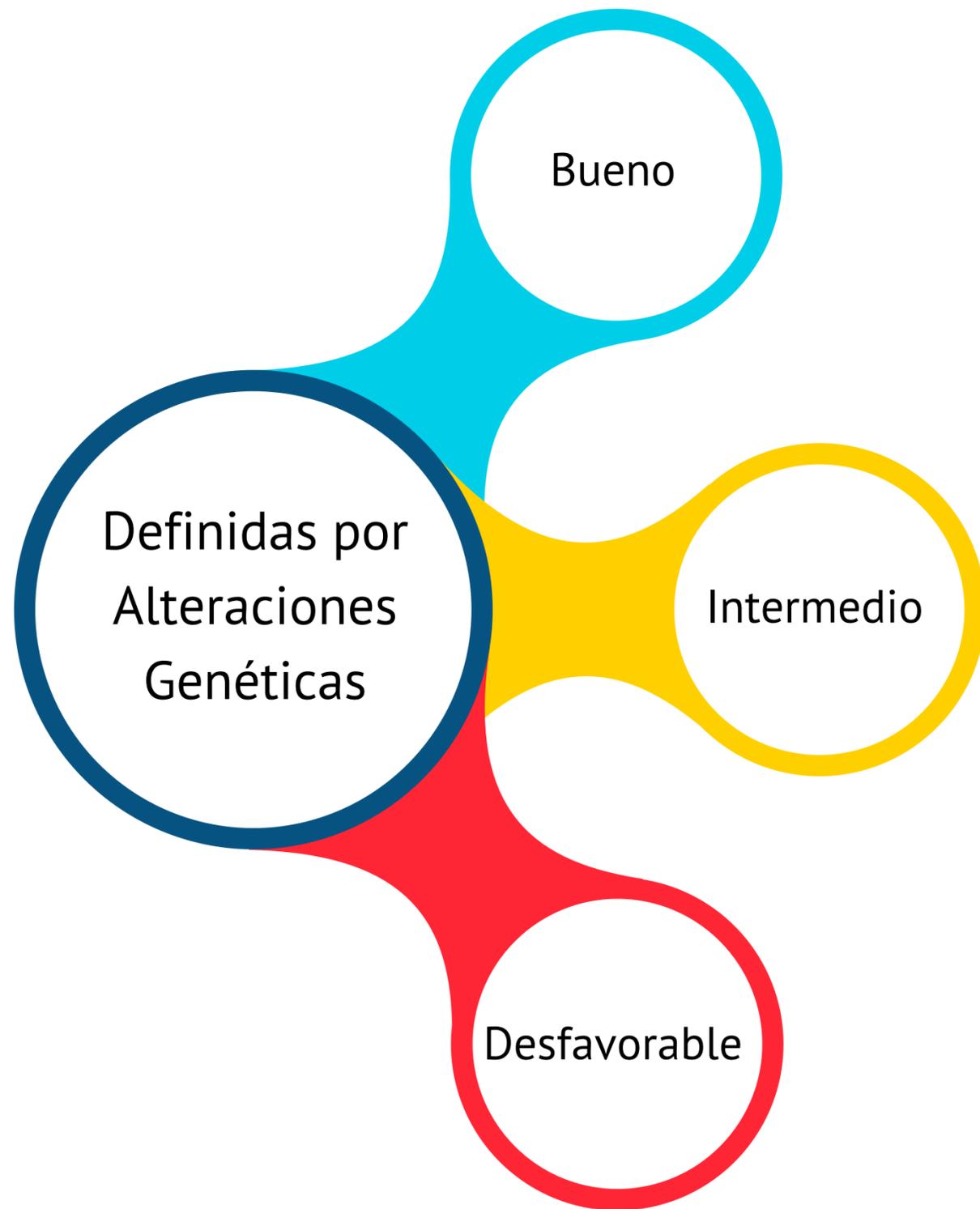
Stage/Lineage	Marker
Percursor	CD34, CD38, CD117, CD133, HLA-DR
Granulocytic	CD13, CD15, CD16, CD33, CD65, cMPO
Monocytic	NSE, CD11c, CD14, CD64, lysozyme, CD4, CD11b, CD36, NG2 homologue
Megakaryocytic Erythroid	CD41(gp IIb/IIIa), CD61(gp IIIa), CD42 (gp1b) CD235a (glycophorin A)

Tipo	Blastos mieloides	MPO	Cel Granulocíticas	Componente Monocítico	Inmunofenotipo
Con Mínima diferenciación	20%	-3%	-10%	NA	CD 34 , CD 117, HLA DR UN MARCADOR MIELOIDE CD 13 O CD 33
Sin Maduración	20%	+3%	-10%	NA	CD 13, 33, 117
Con Maduración	20%	+3%	+10%	-20%	CD 13, 33, 117 PRESENTES MONOCITICOS EN BAJA PROPORCIÓN
Mielomonocítica	20%	+3%	+20%	+20%	CD 13, 33, 117 + CD 64, 14, 4
Monocítica	20%	NA	-20%	+80%	CD 64, 14, 4
Eritroide EN M.O	30% PROERITROBLASTOS Y 80% DE COMP.ERITROIDE	NA	NA	NA	CD 71, 235
Megacarioblástica	20% de megacarioblastos se parecen a los linfoblastos	NA	NA	NA	CD 41, 61 42



Risk Category	Genetic Abnormality
Favorable	t (8;21) (q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv (16) (p13.1q22) or t (16;16) (p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> Mutated <i>NPM1</i> without <i>FLT3-ITD</i> bZIP in-frame mutated <i>CEBPA</i>
Intermediate	Mutated <i>NPM1</i> with <i>FLT3-ITD</i> Wild-type <i>NPM1</i> with <i>FLT3-ITD</i> t (9;11) (p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i> Cytogenetic abnormalities not classified as favorable or adverse
Adverse	t (6;9) (p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i> t (v;11q23.3); <i>KMT2A</i> rearranged t (9;22) (q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i> inv(3) (q21.3q26.2) or t (3;3) (q21.3;q26.2); <i>GATA2, MECOM(EVI1)</i> t (3q26.2;v); <i>MECOM (EVI1)</i> -rearranged -5 or del (5q); -7; -17/abn (17p) Complex karyotype, monosomal karyotype Mutated <i>ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, or ZRSR2</i> Mutated <i>TP53</i>



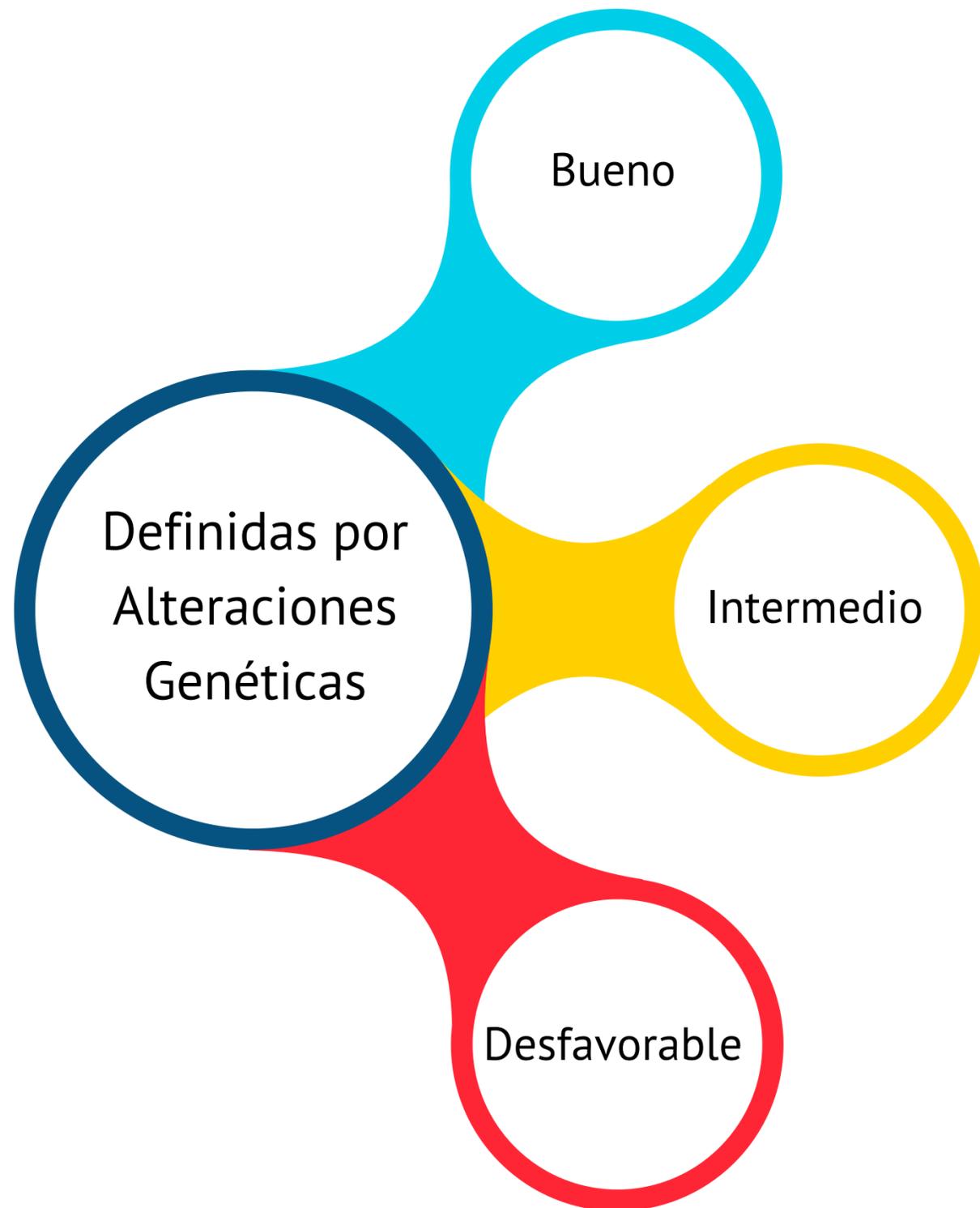


t(8;21) / *RUNX1::RUNX1T1*: LMA con maduración, Blastos grandes, con abundantes gránulos, cuerpos de Auer, con dispasias en los neutrófilos, Pseudo Chediack (gránulos gruesos como vacuolas pintadas de morado), hofs o zonas claras perinucleares. Expresión aberrante de CD19 y 79a Cy.

t(15;17) / *PML::RARA*: **LPA promielocitos 1. granulos gruesos (hipergranular)
2. núcleo bilobulado en forma de reloj de arena o alas de mariposa (microgranular).
En las dos versiones puede estar presente los cuerpos de Auer o Células de Fagot**

inv(16) o t(16;16) / *CBFB::MYH11*: Blastos con maduración mielomonocíticas, presencia de eosinófilos displásicos y de granulaciones mixtas

***NPM1* mut: LMMA o LMo, Blastos en forma de copa o boca de pescado**



Rearreglos *KMT2A*: Blastos con características monocíticas, mielomonocíticas y con diferenciación, blastos grandes con promonocitos

***t(6;9) / DEK::NUP214*: Blastos de aspecto mielomonocítico o con maduración, con presencia de displasia multilínea y a veces con aumento de basófilos**

Rearreglos *MECOM*: sin maduración, LMMA o L MK. En SP neutrófilos dispásicos con dacriocitos, macroplaquetas hipogranulares y núcleos de megacariocitos desnudos, en M.O. con displasia multilínea especialmente en megacariocitos

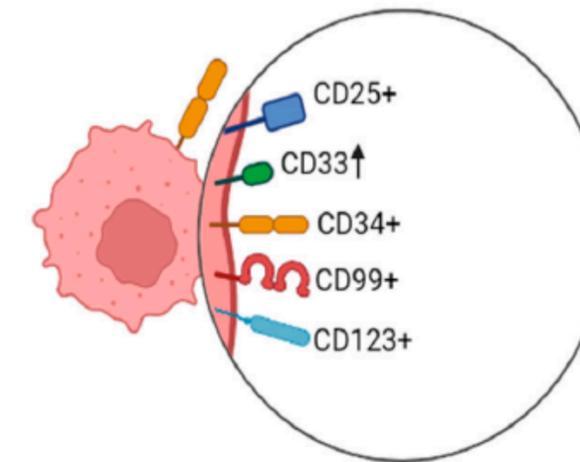
***t(1;22) / RBM15::MRTFA*: Asociada a leucemia megarioblástica en niños SIN Sind. Down y presencia de micromegacariocitos, sin displasias en las otras líneas**

Relación Inmunofenotipo - Alteración Molecular

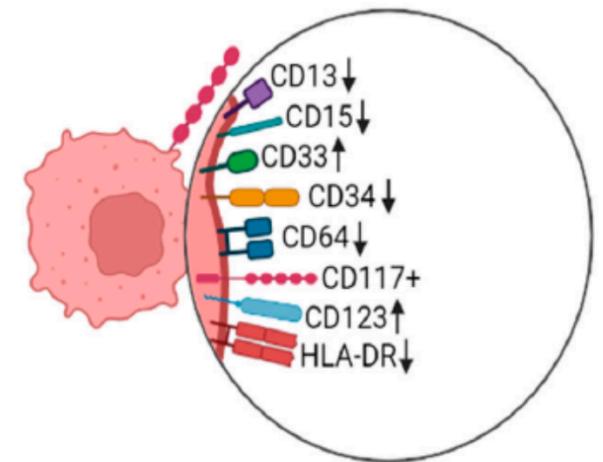
	<i>RUNX1-RUNX1T1</i>	<i>PML-RARA</i>	<i>CBFB-MYH11</i>	<i>FLT3</i>	<i>NPM1</i>	<i>DNMT3A</i>
CD34	Red	Red	Red	Red	Green	Green
CD117	Red	White	Red	White	Red	White
CD19	Red	Red	White	White	White	White
CD13	Red	Red	White	White	Green	White
CD33	Red	Red	Red	Red	Red	White
HLA-DR	Red	White	Red	White	White	Red
MPO	Red	White	White	White	White	White
CD7	White	Green	White	White	White	White
CD123	White	White	White	Red	Red	Red
CD64	White	White	Red	White	Green	White
CD38	Red	White	White	White	White	White
CD11b	White	Green	White	White	White	White
CD56	Red	White	White	White	White	White
CD14	White	Green	Red	White	White	White
CD2	White	Red	White	White	White	White
CD15	White	White	Red	White	Green	White
CD25	White	White	White	Red	White	White
CD99	White	White	White	Red	White	White

CD: cluster of differentiation; HLA-DR: human leukocyte antigens; MPO: myeloperoxidase; RUNX1: RUNX family transcription factor 1; RUNX1T1: RUNX1 partner transcriptional co-repressor 1; CBFB: core-binding factor subunit beta; MYH11: myosin heavy chain 11; NPM1: nucleophosmin 1; FLT3-ITD: fms-related receptor tyrosine kinase 3—internal tandem duplication; DNMT3A: DNA methyltransferase 3 alpha; Red: increased marker expression; Green: decreased marker expression.

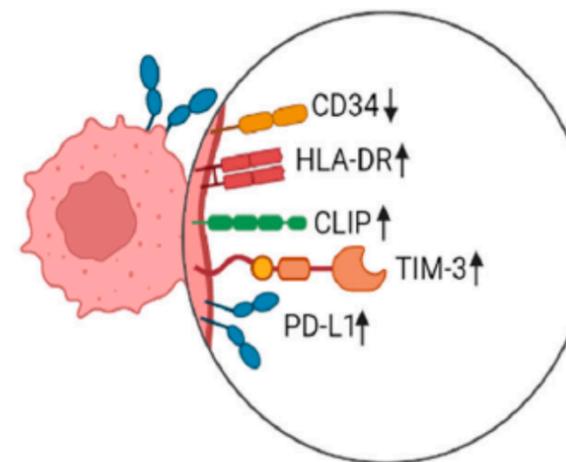
FLT3 mutation

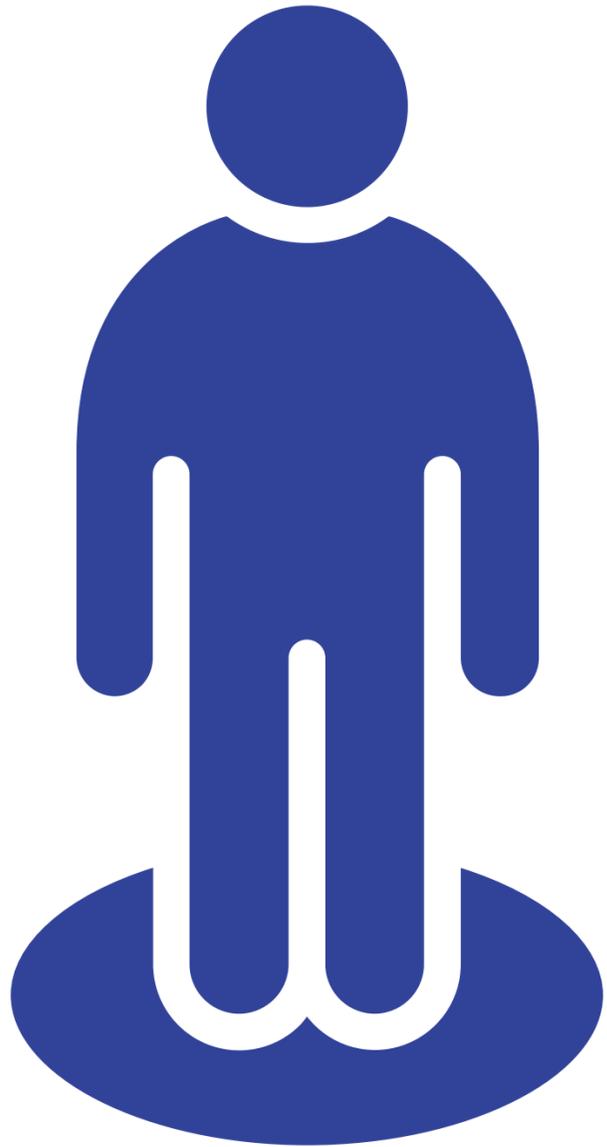


NPM1 mutation



DNMT3A mutation

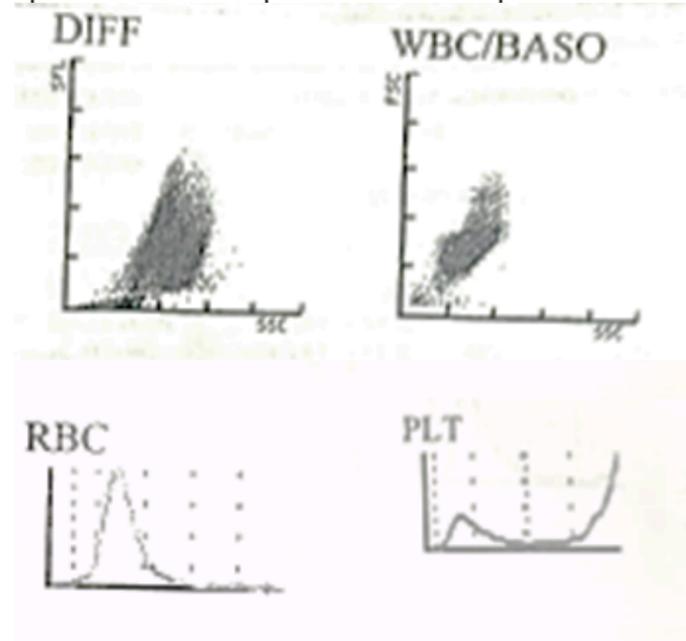


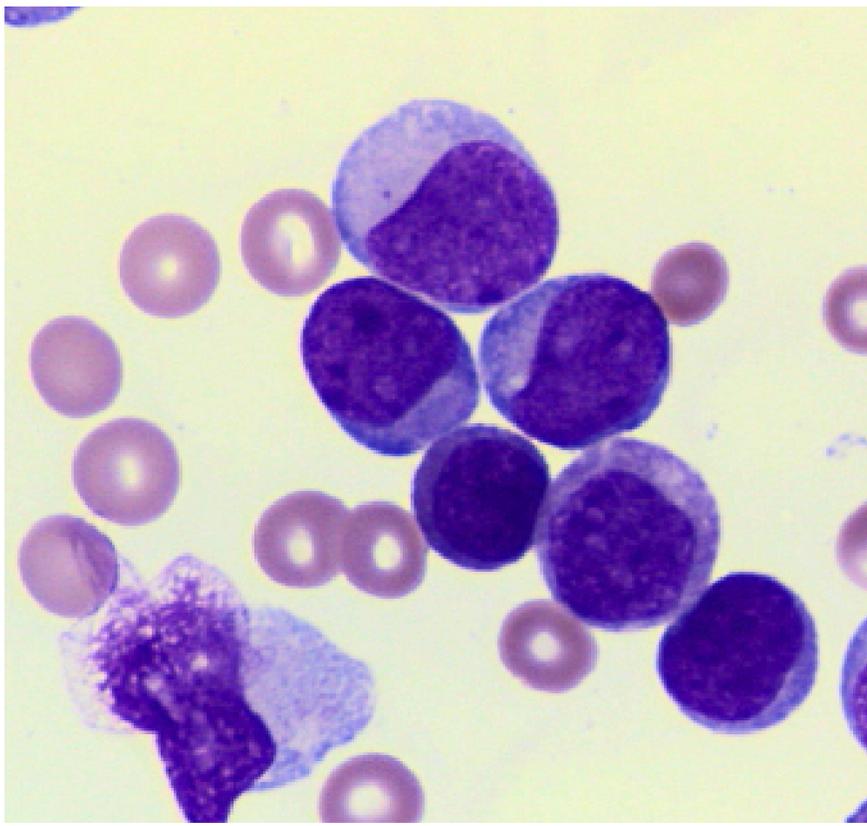
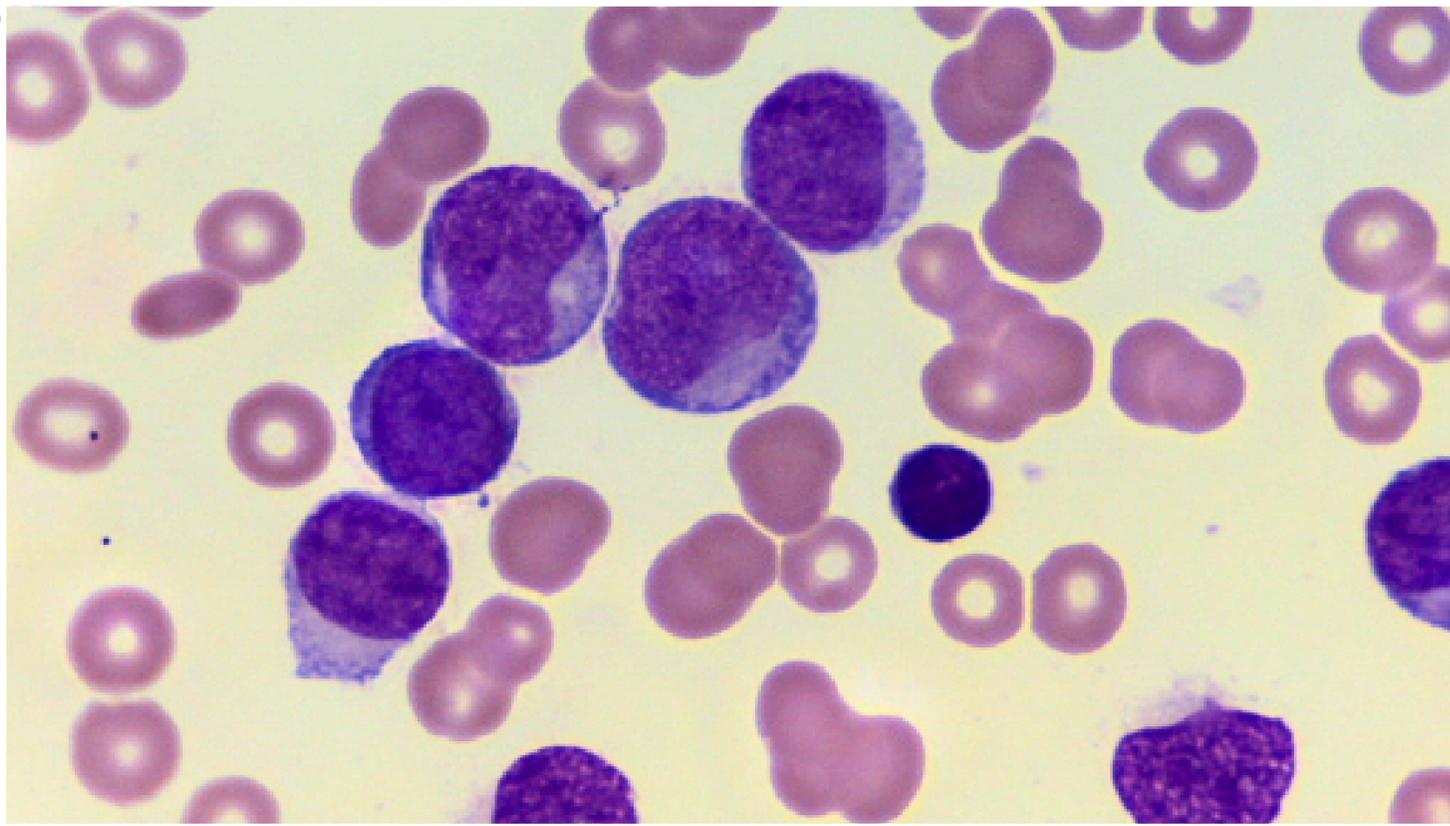
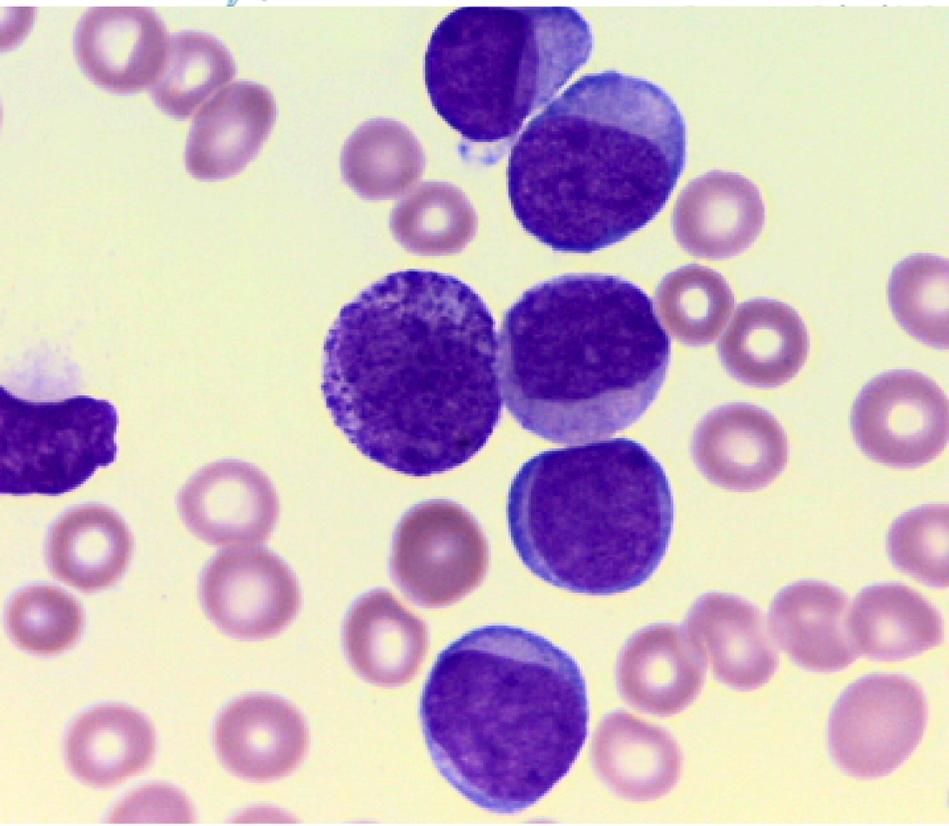


Caso 1

Varón de 24 años, de profesión estibador, procedente del Campo con síntomas de mareos, cefalea y disnea de esfuerzo progresiva, de tres semanas de evolución. Ingresa al Servicio de Urgencias, presentando palidez de piel y mucosas, aparición espontánea de equimosis en miembros y tronco, sangrado espontáneo de encías y hepato-esplenomegalia.

WBC	232	$10^3/uL$
RBC	3.28	$10^6/uL$
HGB	7.5	g/dL
HCT	25.8	%
MCV	78.7	fL
MCH	22.9	pg
MCHC	29.1	g/dL
PLT	41	$10^3/uL$
RDW-SD	57.6	fL
RDW-CV	21.5	%
MPV	-----	fL
NEUT	-----	$10^3/uL$
LYMPH	-----	$10^3/uL$
MONO	-----	$10^3/uL$
EO	0.19	$10^3/uL$
BASO	-----	$10^3/uL$



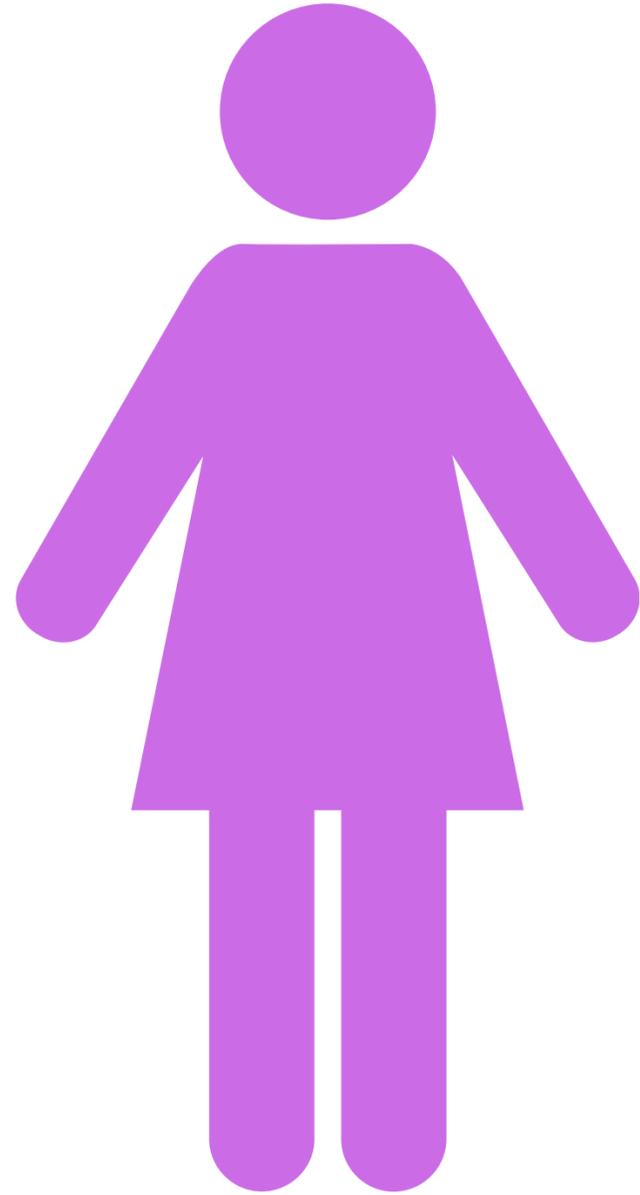


PNN	2 %
Bandas N	0 %
Linfocitos	3 %
Monocitos	1 %
PNB	0 %
Blastos	54 %
Promielocitos N	19 %
Mielocitos N	15 %
Metamielocitos N	3 %
Promonocitos	3 %

Morfología
Glóbulos Rojos: Se observan Promegaloblastos
Leucocitos: Se observan blastos medianos a grandes, relación núcleo citoplasma aumentada, cromatina laxa, 1 a 3 nucléolos visibles, con escaso citoplasma basófilo, presencia de bastones de Auer y Presencia de Pseudo Pelger-Hüet
Plaquetas: Presencia de Plaquetas hipogranulares
Observaciones
Hallazgos compatibles con LMA confirmar con inmunofenotipo y pruebas genéticas complementarias

Inmunofenotipo
Expresión aberrante de CD19
Genética
??????

RUNX1::RUNX1T1:
t(8;21)



Caso 2

Paciente de sexo femenino de 35 años, con antecedente de herida cortante producida cuando estaba cocinando, sin hemostasia. Refleja palidez generalizada, gingivorragia, cefalea, pérdida de peso (de aproximadamente 3 kg), mareo sin pérdida de la conciencia y náuseas.

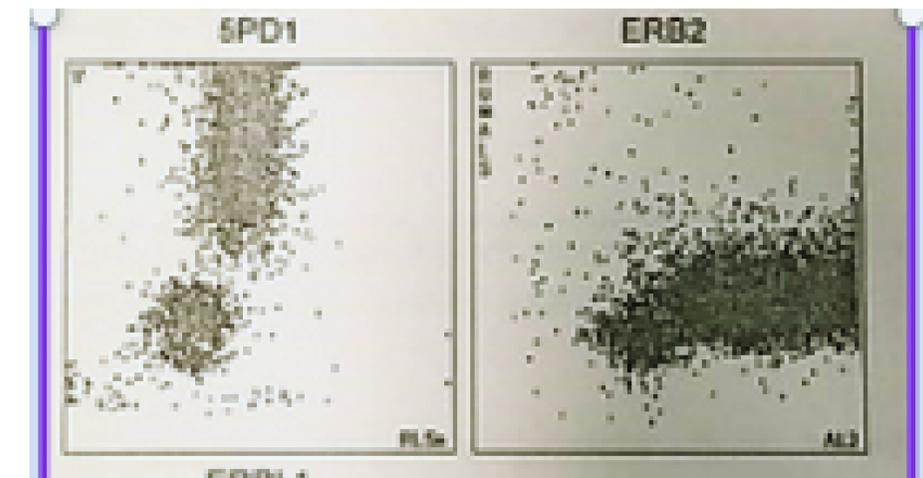
Examen físico: Cara: hemorragia gingival activa de escasa cantidad.

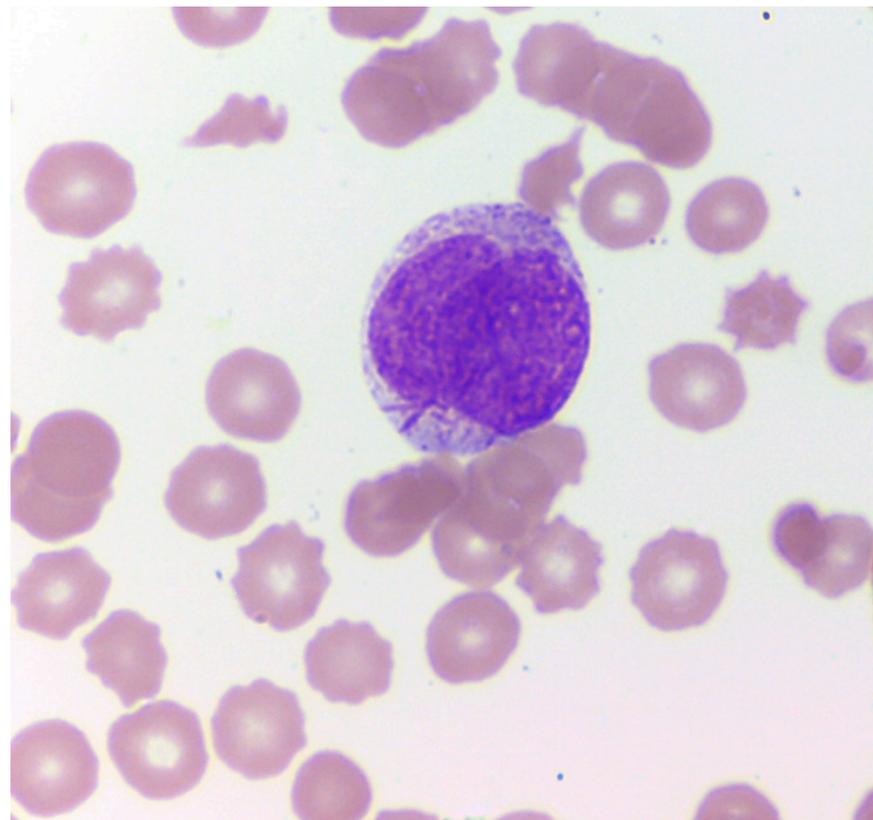
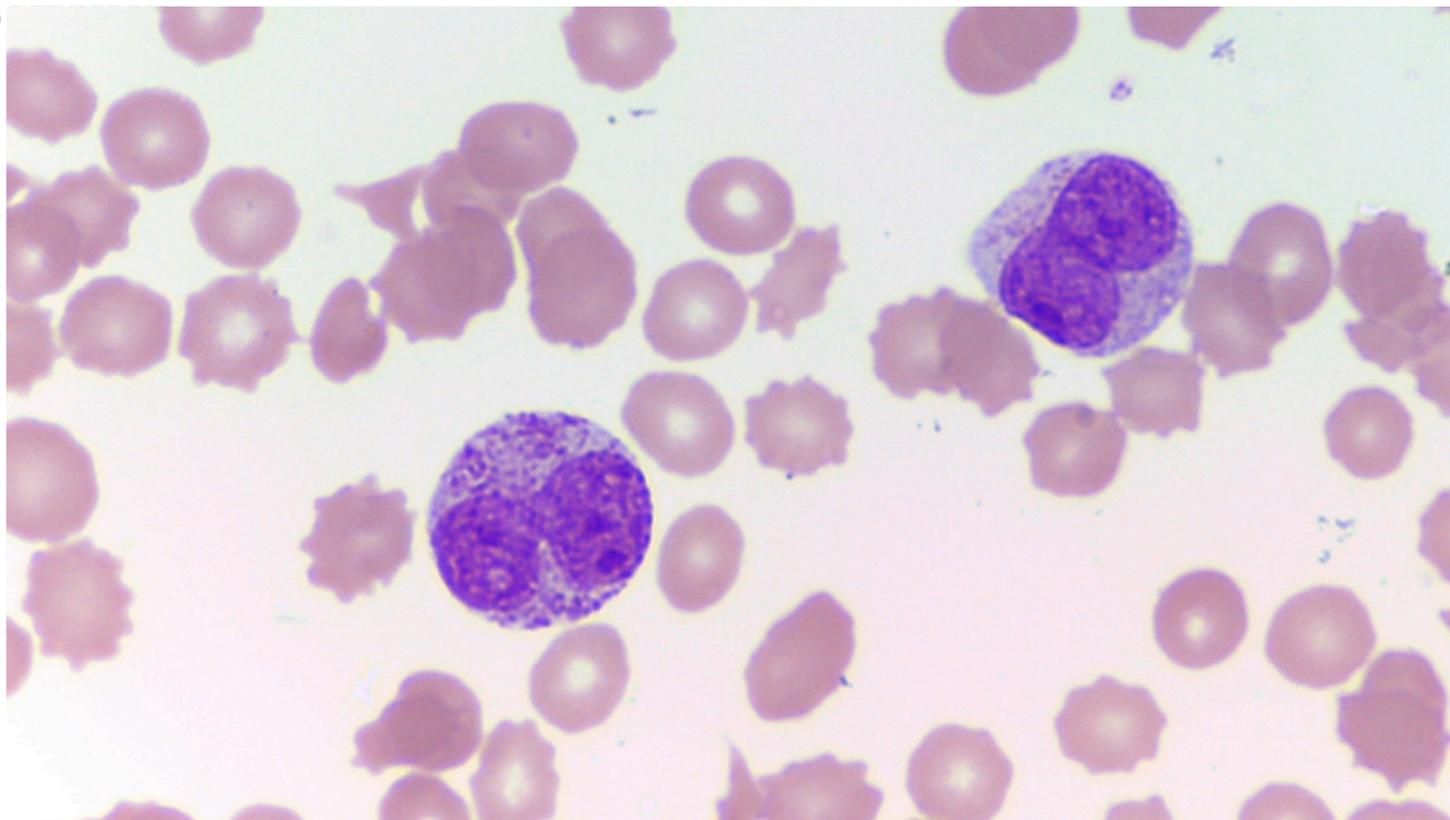
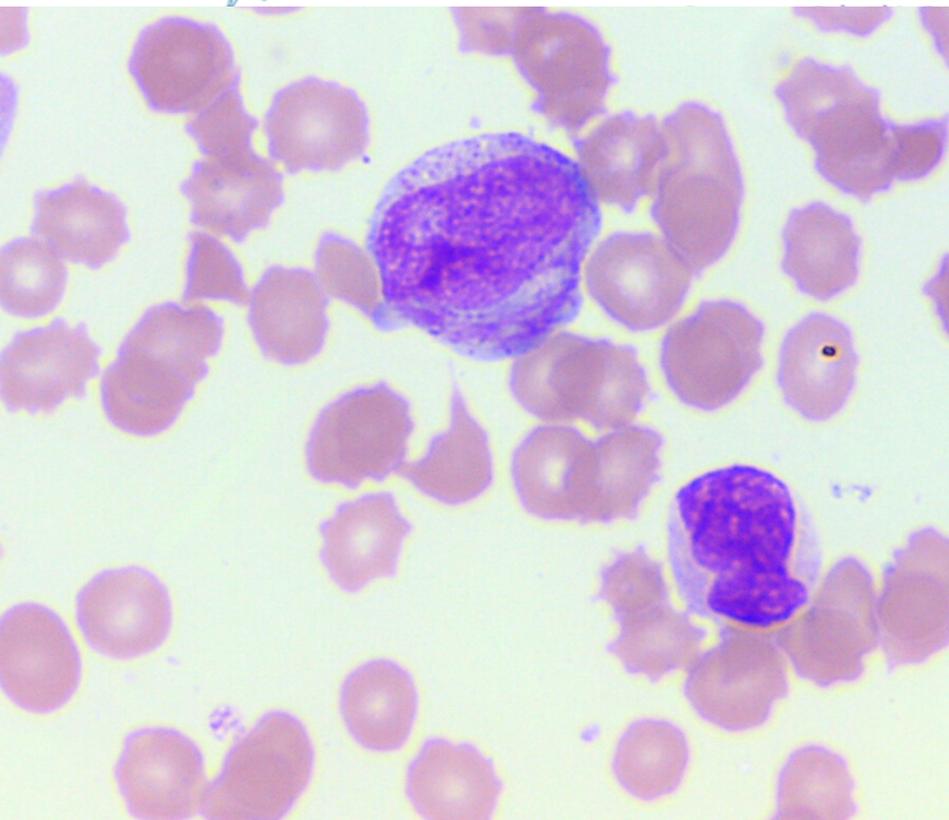
Cuello: presencia de adenomegalia submaxilar de 2cm, no dolorosa, móvil, de bordes regulares.

Abdomen: esplenomegalia.

Extremidades: presencia de equimosis y petequias en miembros inferiores de manera difusa.

WBC	27.7	$10^3/\mu\text{L}$
RBC	2.32	$10^6/\mu\text{L}$
HGB	7.3	g/dL
HCT	21.7	%
MCV	93.3	fL
MCH	32.7	pg
MCHC	35.1	g/dL
PLT	37	$10^3/\mu\text{L}$
RDW-SD	54.7	fL
RDW-CV	16.2	%
MPV	7.1	fL
NEUT	24.4	$10^3/\mu\text{L}$
LYMPH	3.1	$10^3/\mu\text{L}$
MONO	0.1	$10^3/\mu\text{L}$
EO	0.0	$10^3/\mu\text{L}$
BASO	0.1	$10^3/\mu\text{L}$
ERBL	0.13	$10^3/\mu\text{L}$



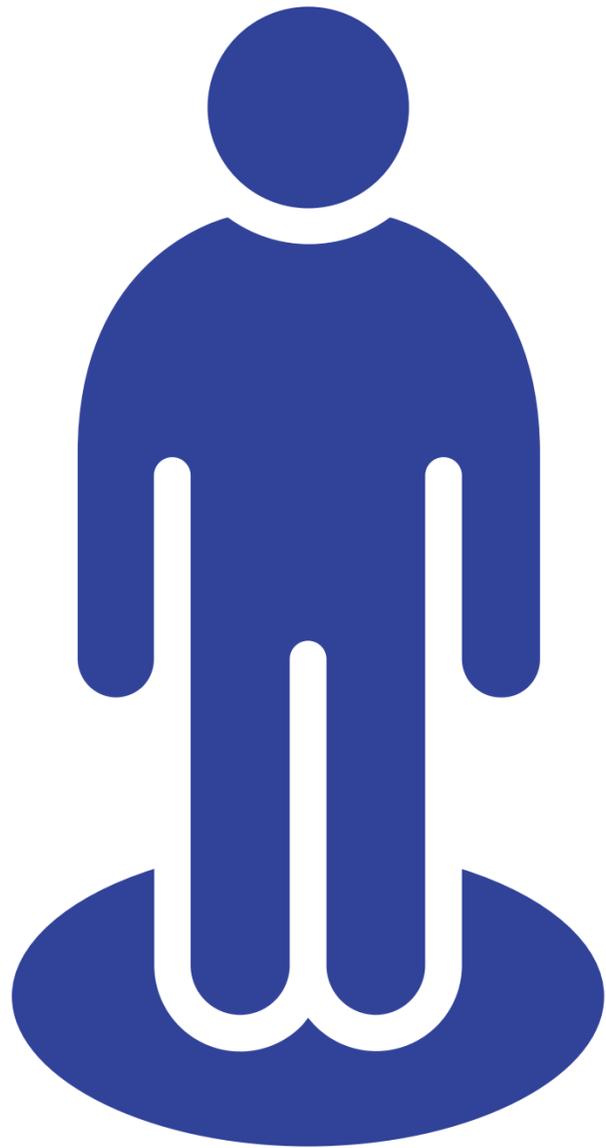


PNN	6 %
Bandas N	0 %
Linfocitos	2 %
Monocitos	0 %
PNB	0 %
Blastos	0 %
Promielocitos N	88 %
Mielocitos N	3 %
Metamielocitos N	1 %

Morfología
Glóbulos Rojos: Se observan 4 eritroblastos en 100 leucocitos
Leucocitos: Se observan promielocitos granulares e hipogranulares, con núcleo en forma de reloj de arena, presencia de bastones a Auer y células de Fagot
Plaquetas: Presencia de Plaquetas hipogranulares
Observaciones
Hallazgos compatibles con LPA confirmar con inmunofenotipo y pruebas genéticas complementarias

Inmunofenotipo
Expresión fuerte de CD13, 33 y CD117, con expresión disminuída de HLA DR, CD34
Genética
??????

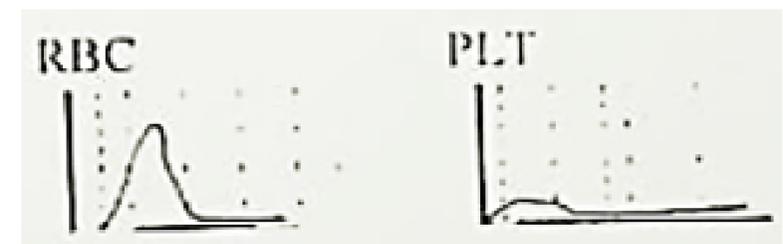
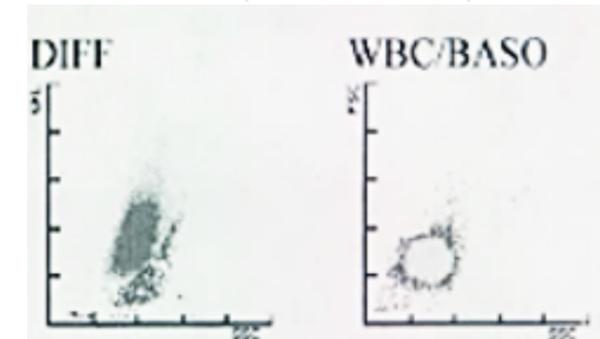
PML::RARA
t(15;17)

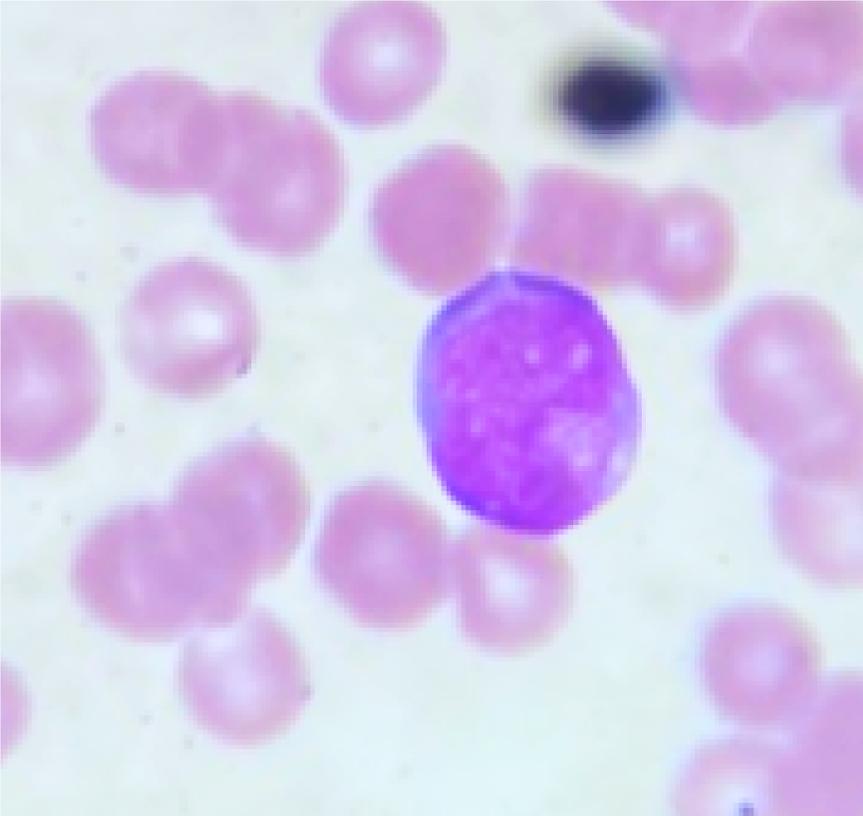
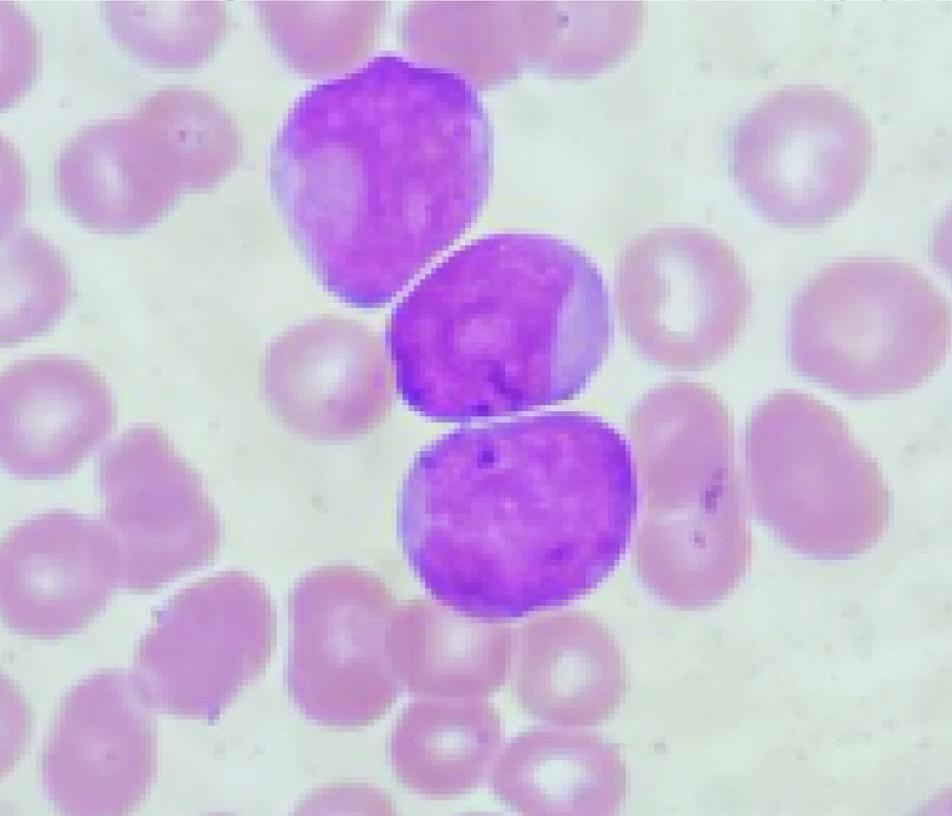


Caso 3

Varón de 62 años, que presenta un cuadro de evolución de hace 5 meses, con adinamia, astenia, afebril, cefalea, deposiciones diarreicas tipo melena y presencia de petequias en los miembros inferiores.

WBC	35.12	$10^3/uL$
RBC	2.96	$10^6/uL$
HGB	9.0	g/dL
HCT	27.2	%
MCV	91.3	fL
MCH	30.2	pg
MCHC	33.1	g/dL
PLT	5	$10^3/uL$
RDW-SD	49.2	fL
RDW-CV	15.2	%
MPV	-----	fL
NEUT	-----	$10^3/uL$
LYMPH	-----	$10^3/uL$
MONO	-----	$10^3/uL$
EO	0.0	$10^3/uL$
BASO	0.03	$10^3/uL$
ERBL		$10^3/uL$





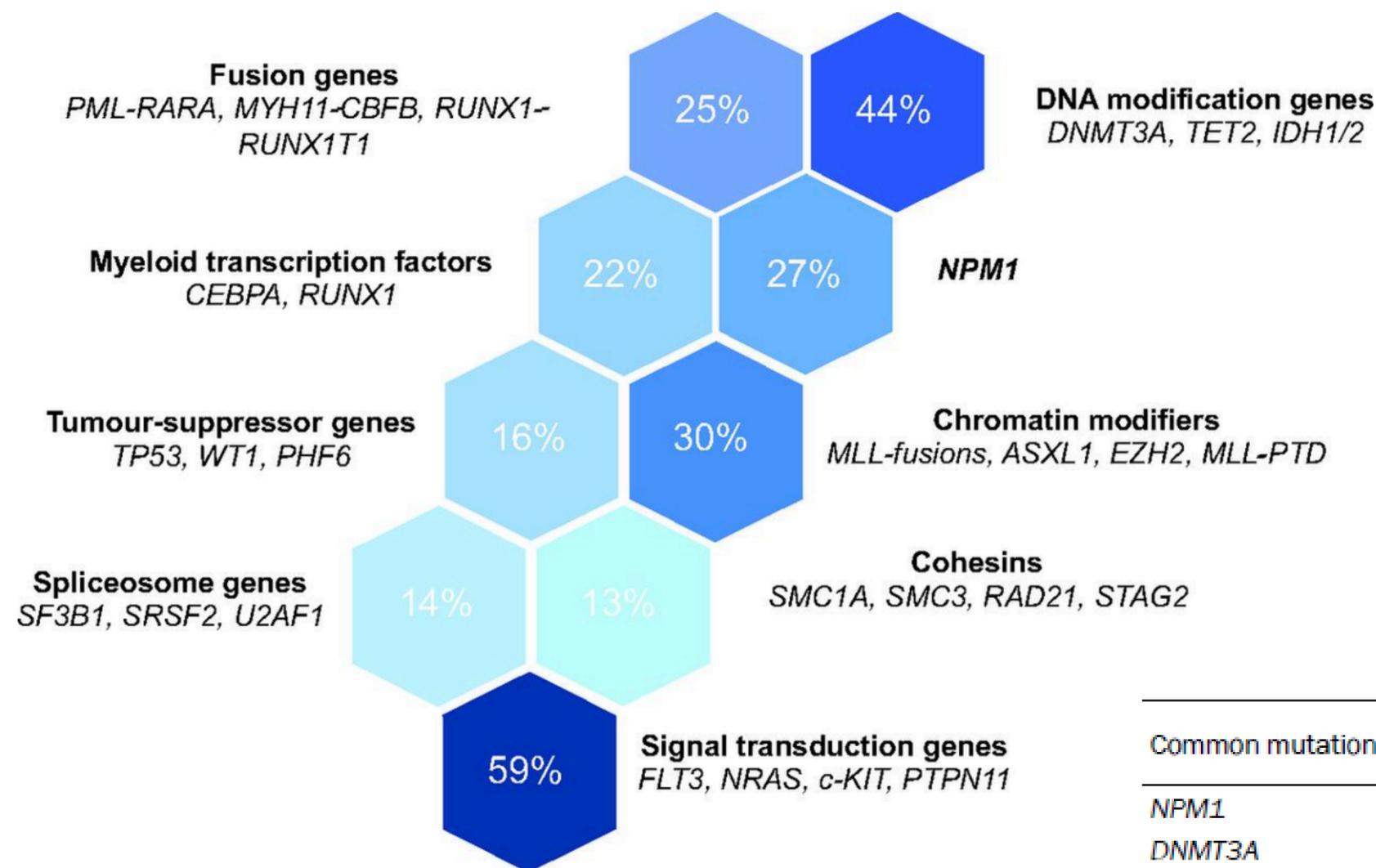
PNN	5 %
Bandas N	0 %
Linfocitos	3 %
Monocitos	1 %
PNB	0 %
Blastos	89 %
Promielocitos N	0 %
Mielocitos N	1 %
Metamielocitos N	1 %

Morfología
Glóbulos Rojos: Microcitos + Macrocitos ++ Punteado basófilo, se observan 2 eritroblastos en 100 células
Leucocitos: Blastos medianos, cromatina laxa, núcleo contorno irregular con forma de copa, con 1-3 nucléolos, citoplasma basófilo y con algunos gránulos. PMN con vacuolas ++
Plaquetas: Morfología Normal
Observaciones
Hallazgos compatibles con LMA confirmar con inmunofenotipo y pruebas genéticas complementarias

Inmunofenotipo
CD34-, CD117+, HLA-DR+, CD33+, CD 13+ Débil
Genética
???????

MUTACIÓN NPM1

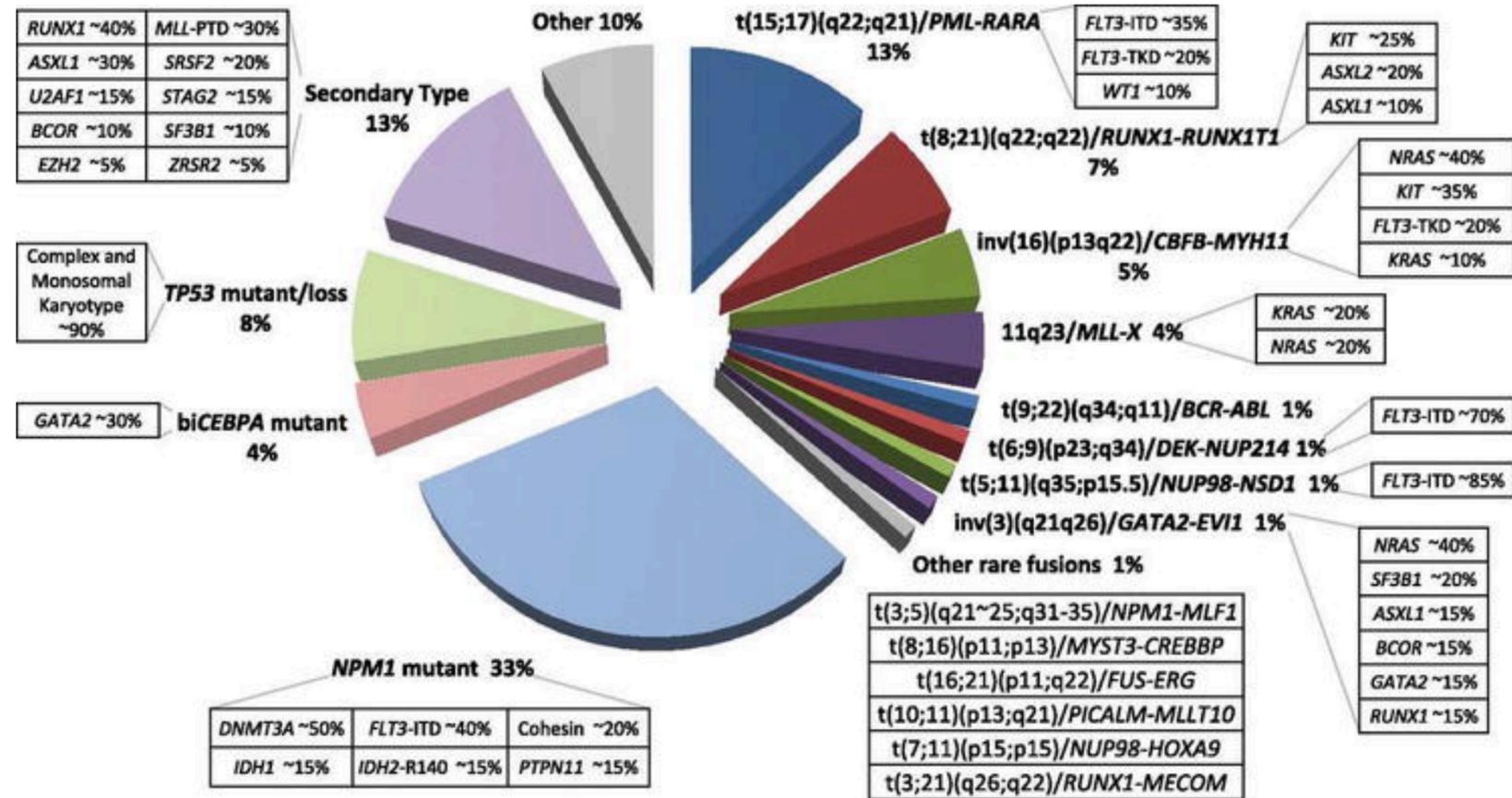
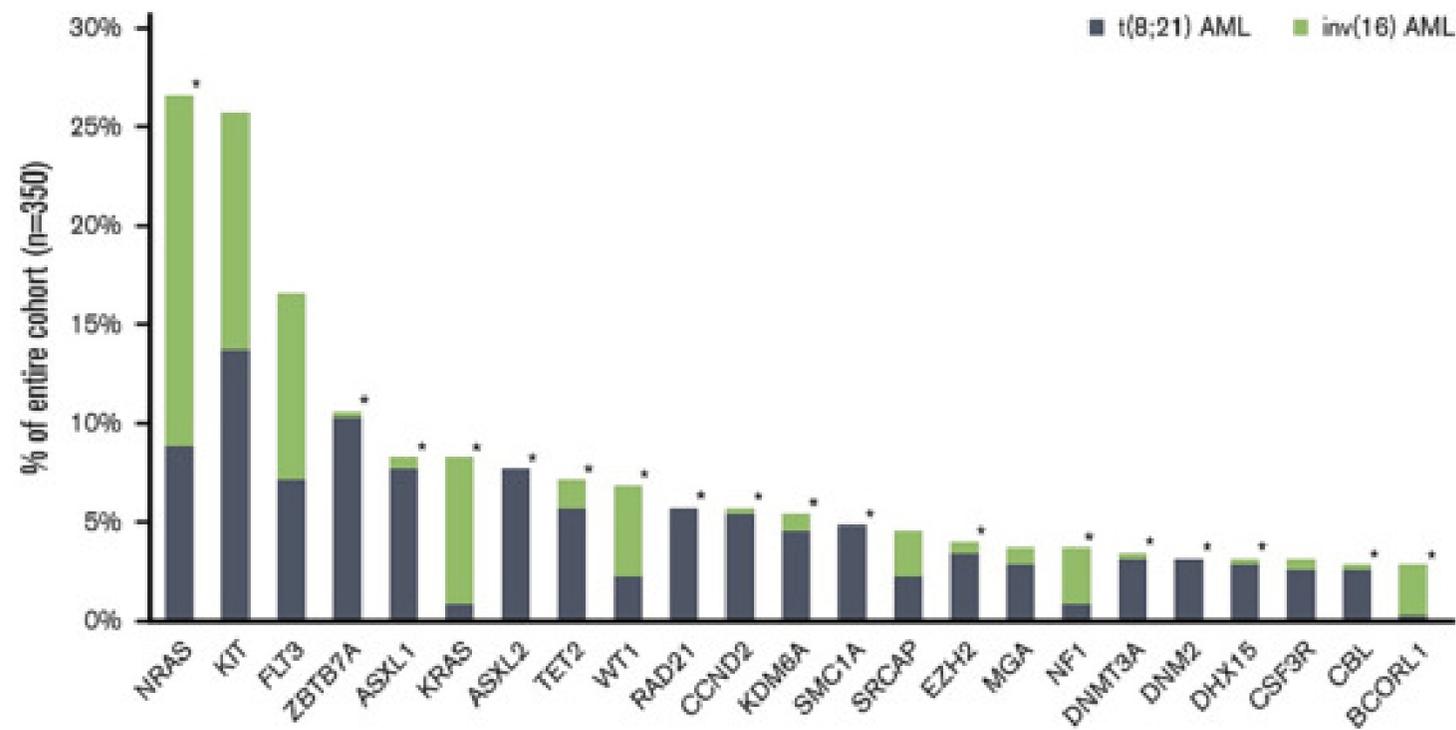
Frecuencia de las mutaciones en LMA



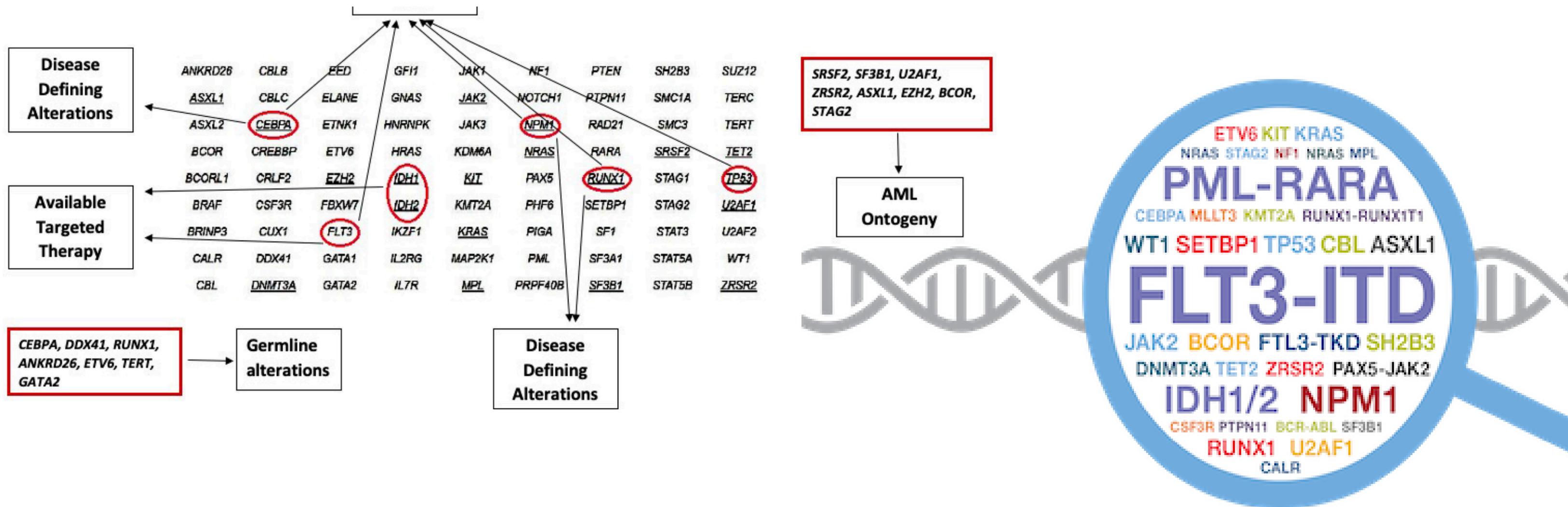
Genetic Mutation	Frequency in AML (%)	Refs
<i>ETV6</i>	1	19
<i>KIT</i>	2	20
<i>DDX41</i>	3	21
<i>TERT</i>	3	22
<i>IDH1</i>	4-9	23
Biallelic <i>CEBPA</i>	4-9	24
<i>FLT3-TKD</i>	7-10	25
<i>IDH2</i>	8-19	23
<i>TP53</i> in <i>de novo</i> AML	8-14	26-28
<i>TP53</i> in therapy related AML	60	
<i>GATA2</i>	9	29
<i>RUNX1</i> (somatic)	4-16	24
<i>NPM1</i>	27	4
<i>FLT3-ITD</i>	20-50	30

Common mutations	Incidence		References	Novel mutations	Incidence		References
	Adult	Pediatric			Adult	Pediatric	
<i>NPM1</i>	35%	8-10%	[13]	<i>CTNNB1</i>	22%	1.8%	[14, 15]
<i>DNMT3A</i>	20%	2.1%	[16, 17]	<i>SRSF2</i>	12.5%	<1%	[18], TARGET
<i>RUNX1</i>	10-15%	~2.8%	[5, 19]	<i>PTPN11</i>	4%	6.9%	[20, 21]
<i>CEBPA</i>	~10%	18%	[5, 22]	<i>PHF6</i>	3%	2%	[23, 18]
<i>TP53</i>	10%	2.1%	[24, 25]	<i>U2AF1</i>	3.4%	<1%	[26], TARGET
<i>GATA2</i>	~5%	2.6%	[5]	<i>ETV6</i>	1.35%	2.2%	[27, 28]

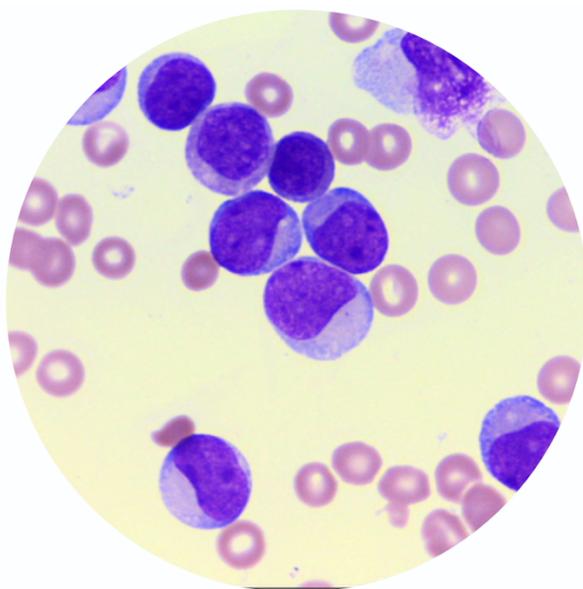
Coexistencia de mutaciones en LMA



IDT	Genes2me	Illumina	Thermofisher	Qiagen	Invitae/Archer	Agilent
xGEN AML Cancer Hyb Panel	Myeloid Leukaemia Panel	TruSight Myeloid Panel	Oncomine Myeloid Research Assay	Oncomine Myeloid V2 GX Assay	Human Myeloid Neoplasm Panel	Variant Plex Fusion Plex ClearSeq AML



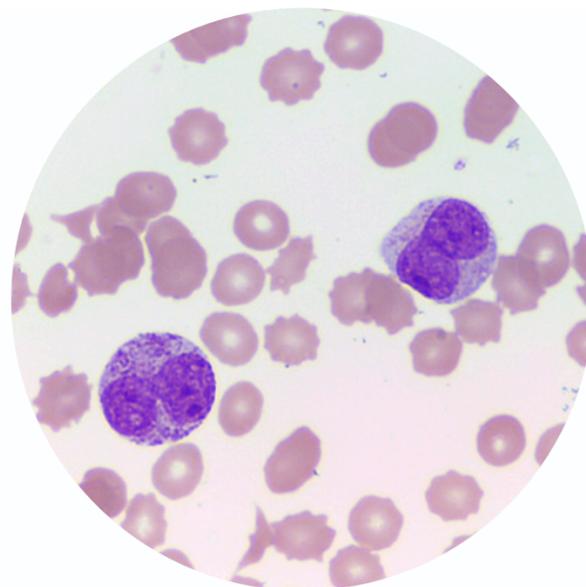
Hallazgos Moleculares



Caso 1

t(8;21) / RUNX1::RUNX1T1

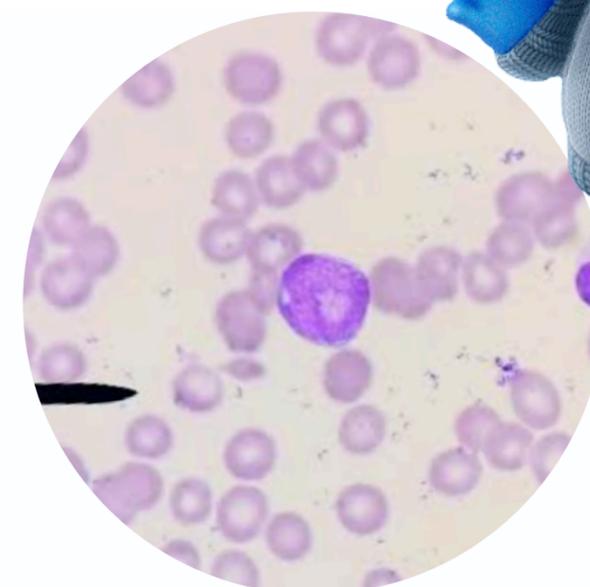
*Mutación en KIT
p.Asp816His*



Caso 2

t(15;17) / PML::RARA

*t(17;17)(q21;q21) / STAT5b-
RARA*

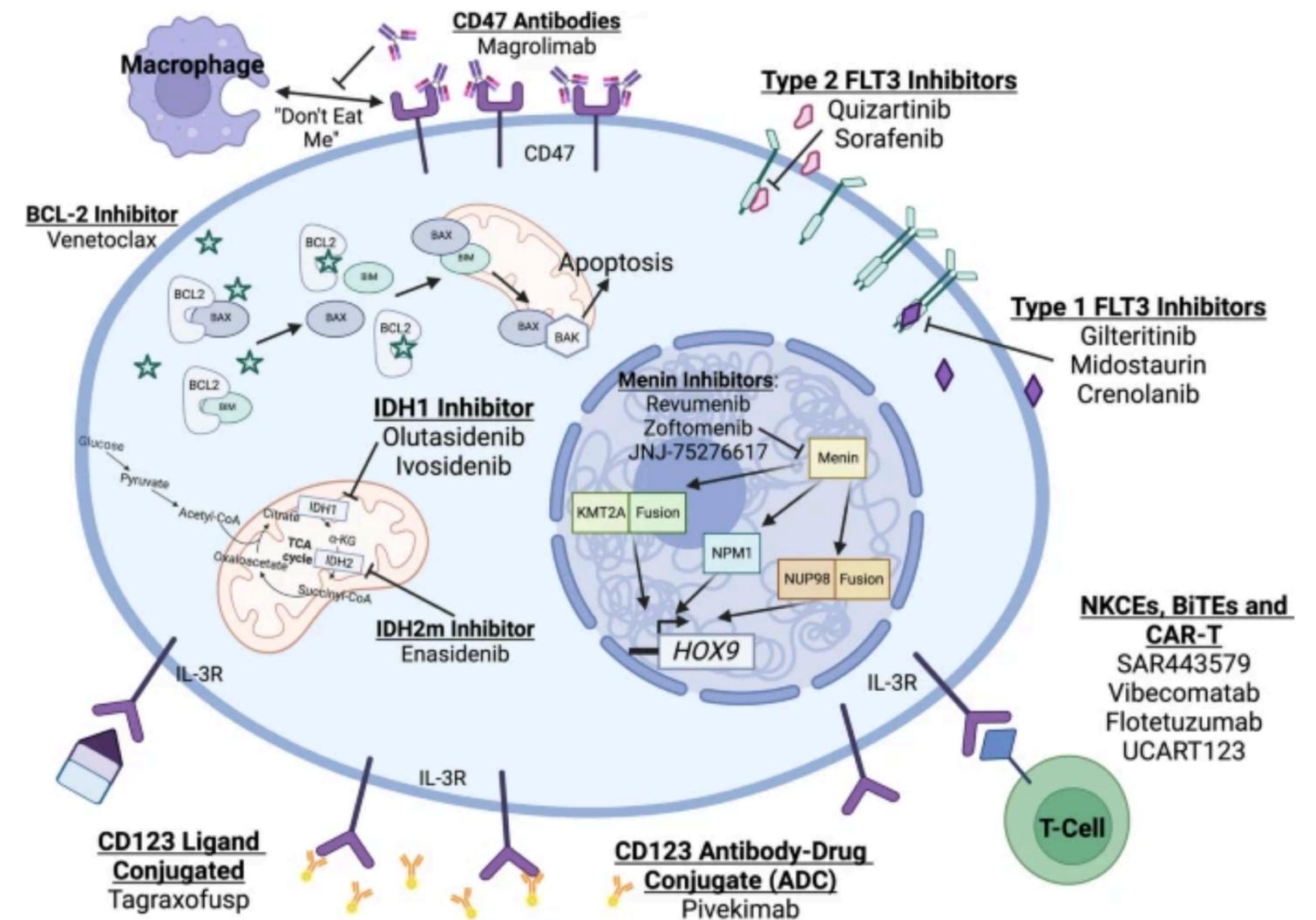
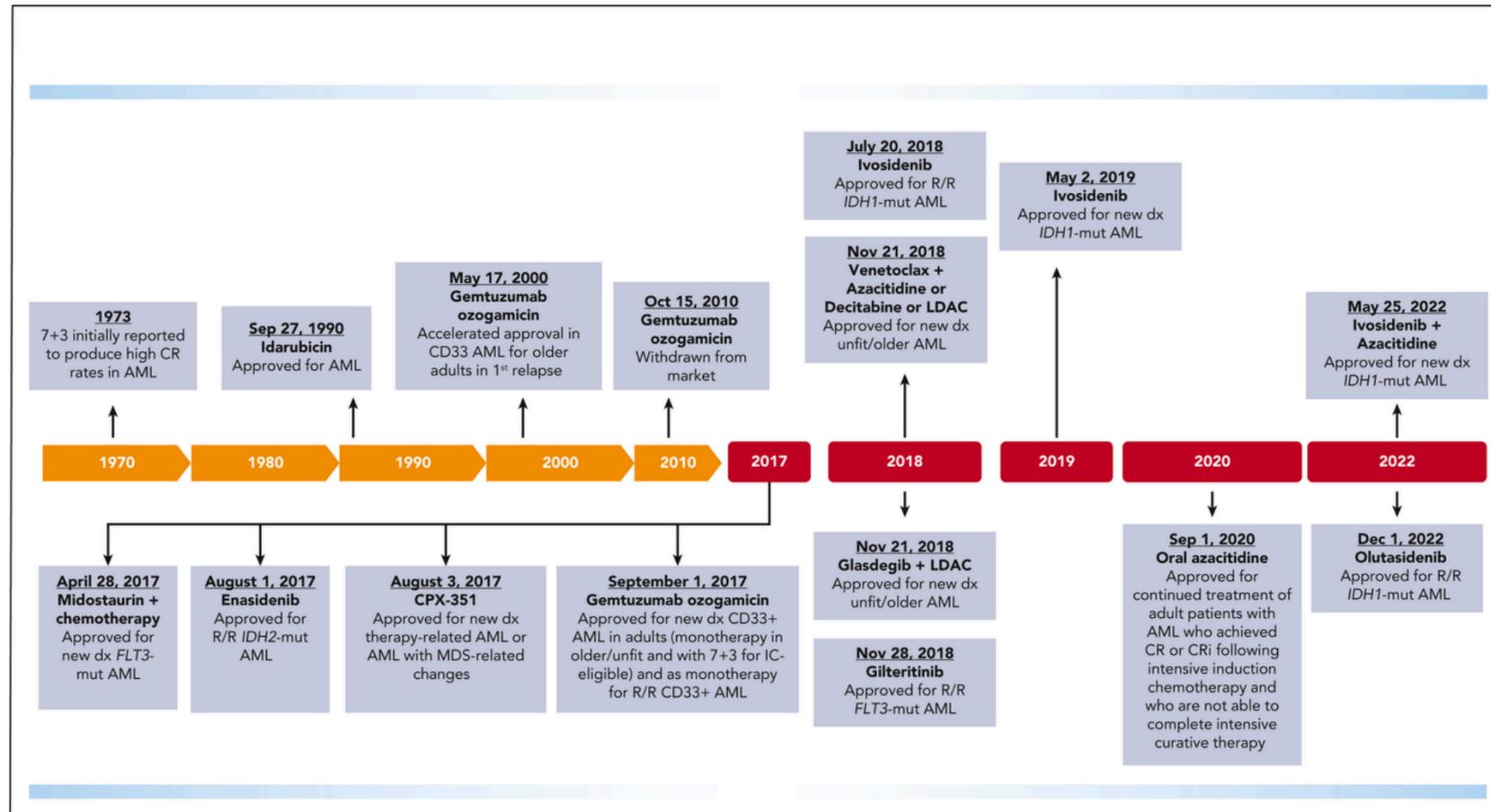


Caso 3

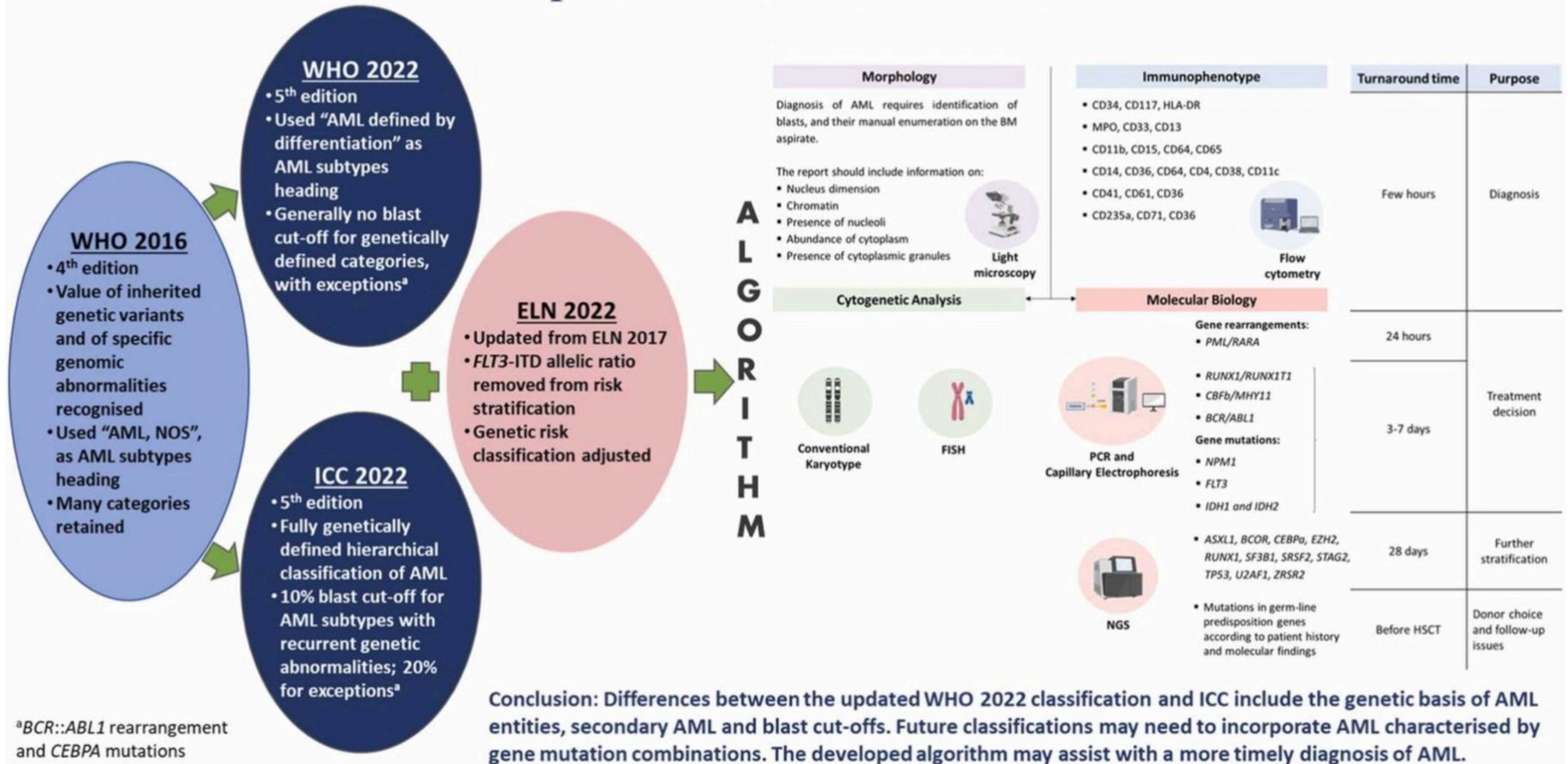
Mutación en NPM1

*Mutación
FLT3 ITD*

Tratamientos Blanco Moleculares

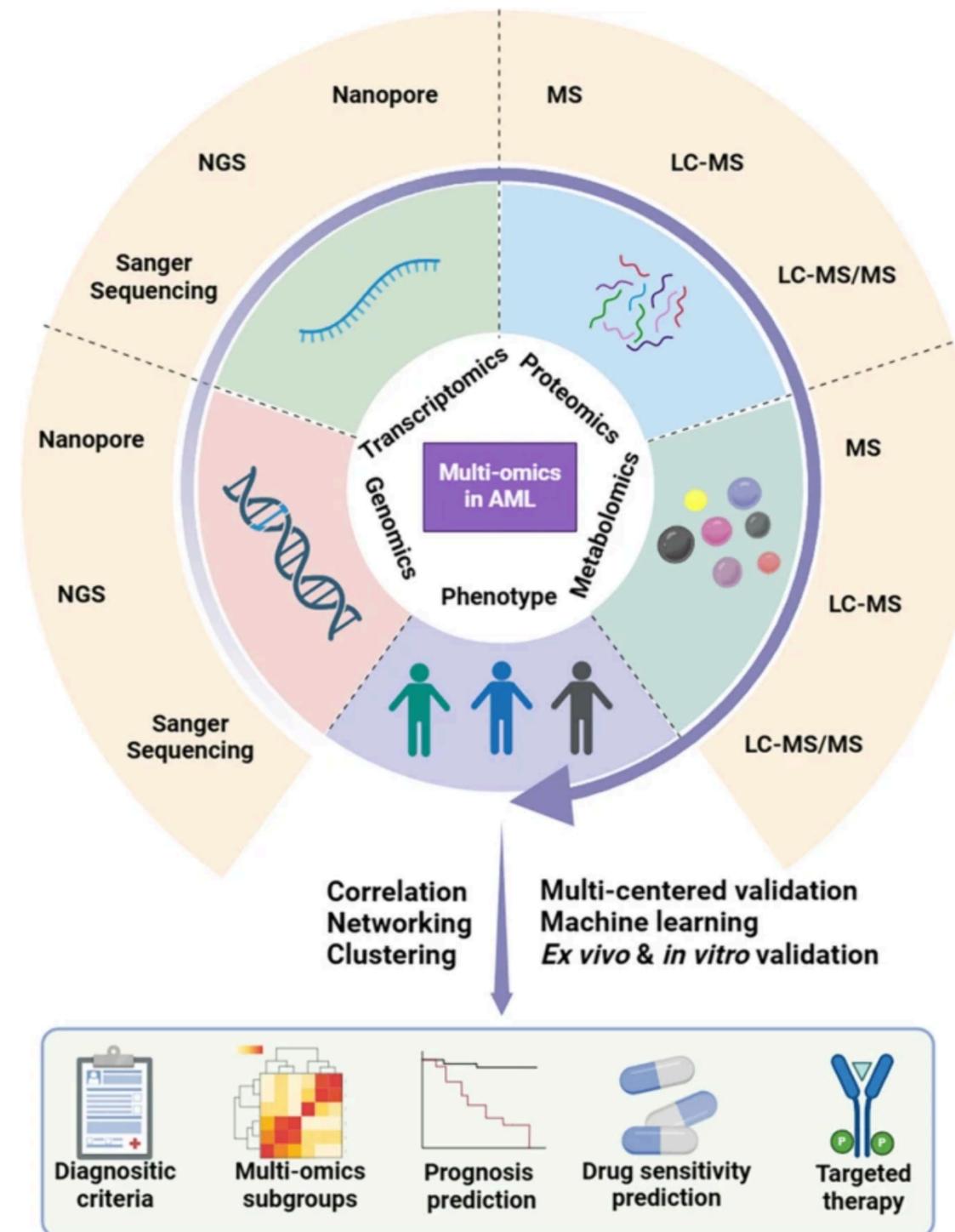


A practical algorithm for acute myeloid leukaemia diagnosis following the updated 2022 classifications



^a*BCR::ABL1* rearrangement and *CEBPA* mutations

En qué estamos?



LC-MS:

Liquid chromatography-mass spectrometry

Zhang, Z., et al. Application of omics in the diagnosis, prognosis, and treatment of acute myeloid leukemia. Biomark Res 2024