

## LAS LEUCEMIAS BIFENOTÍPICAS

Mario A. Vargas Montero<sup>1</sup>

### RESUMEN

Las leucemias bifenotípicas son aquellas en que existe una sola población blástica, la cual coexpresa simultáneamente marcadores antigénicos mieloides y linfoides. Es conocida también como Leucemia de Línea Mixta Aguda (LIMA), representándose como: LLA-My+, LMA-Ly+. Su clasificación se basa en criterios cariotípicos, citoquímicos, inmunofenotípicos y moleculares.

Se han establecido varias hipótesis que tratan de explicar su etiopatogenia:

1. Disregulación genética de población tumoral.
2. Expansión leucémica de poblaciones minoritarias con fenotipos mixtos.
3. Proliferación de precursores hematopoyéticos con capacidad de expresar fenotipos mixtos.

El uso de anticuerpos monoclonales ha permitido definir el grado de promiscuidad en la expresión de ciertos antígenos sobre los blastos de LLMA, como por ejemplo: TdT, HLA-Dr, CD14, CD19, CD20, CD10, CD5, CD13, CD33, CD14 y otros más.

El hallazgo de ciertos marcadores antigénicos puede permitir la correlación con una morfología determinada, así como con remisiones completas tardías o con mayores índices de recaídas.

La utilidad de los marcadores antigénicos es el determinar el inmunofenotipo leucémico, teniendo también importancia en el campo clínico, pronóstico y terapéutico. (Rev. Cost. Cienc. Méd. 1995, 16 (1,2): (23-31)

### INTRODUCCION

Los conceptos clásicos definen a las leucemias agudas como expansiones clonales de precursores hematopoyéticos, que han sufrido un bloqueo en su diferenciación, reteniendo el fenotipo correspondiente al nivel de diferenciación en el que esta detención se ha producido. De manera que en el caso de la Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA), las células proliferantes son fenotípicamente similares a los precursores mieloides; mientras que en el caso de Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA), la población proliferante se asemeja a los progenitores linfoides B o T (1). Sin embargo, esta idea tradicional se ha modificado parcialmente, al demostrarse en algunos casos la infidelidad lineal de la expresión genética (2).

La infidelidad lineal es definida como una mala programación en la diferenciación de leucemias, con la consecuente coexpresión, sobre células individuales, de marcadores normalmente encontrados en células que tienen linajes diferentes pero relacionados entre sí(2).

Con el uso de los anticuerpos monoclonales (AcMo) la mayoría de las leucemias agudas se pueden clasificar como mieloides y linfoides, según su

---

1 Laboratorio Clínico, Hospital México, C.C S.S., Costa Rica.

fenotipo, pero estos mismos AcMo han permitido revelar el grado promiscuidad, en la expresión de marcadores antigénicos mieloides y linfoides, en los blastos de ciertas leucemias (3).

Esta heterogeneidad lineal ha sido explicada en primer término como reflejo de la expresión de un gene aberrante; en segundo lugar, por la transformación maligna de células progenitoras pluripotenciales capaces de diferenciarse en serie mieloides o linfoides, o finalmente, a la inmortalización de células progenitoras que coexpresan características de ambas líneas.

Entonces es posible encontrar casos de leucemias que presentan características diferentes a las tradicionales, que se clasifican como Leucemias Híbridas Agudas. Este término se utiliza para denominar aquellas leucemias en que sus blastos expresan características mieloides y linfoides (4). Agrupa o comprende dos entidades:

a) Leucemia mixta o bilineal: son aquellos casos de pacientes con leucemia aguda que presentan una población de blastos con características mieloides y otra de blastos con características linfoides (1,4).

b) Leucemia bifenotípica o Leucemia Mixta Aguda (LLMA): comprende las leucemias en que sólo existe una población blástica, que expresa simultáneamente marcadores antigénicos mieloides y linfoides (1,4,5). Se representan como LMA-Ly+ (Leucemia Mieloblástica Aguda con marcador linfoides), y LLA-My+ (Leucemia Linfoblástica Aguda con marcador mieloides) (6).

Se han establecido varias hipótesis que tratan de explicar el desarrollo de las leucemias híbridas, por ejemplo:

1) disregulación genética de una población tumoral. (Infidelidad de estirpe).

2) expansión leucémica de poblaciones minoritarias con fenotipos mixtos.

3) proliferación de precursores hematopoyéticos con capacidad, aunque sea transitoria, de expresar fenotipos mixtos (Promiscuidad de estirpe) (3).

### CLASIFICACION

Para la clasificación de estas leucemias se utilizan ciertos criterios que incluyen características cariotípicas, citoquímicas, moleculares e inmunofenotípicas. A éstas se les asignan valores relativos de 1 .0 a 0.5 basados en su especificidad lineal relativa; de manera que una leucemia podría expresar marcadores con un valor total igual o mayor a 1.0 en cada línea para ser considerada bifenotípica. Por ejemplo, una LMA típica que presente únicamente un reordenamiento de genes de inmunoglobulinas (característica linfoides con valor de 0.5 no podría ser considerada como bifenotípica; pero si ésta expresa también el marcador TdT (marcador linfoides con valor 0.5), entonces sí se definiría como Leucemia bifenotípica, ya que el total de la suma de ambos marcadores sería de 1 .0 (7).

Se menciona en algunos estudios una incidencia de aproximadamente 5% de LLA-My+ de casos LLA estudiados, y que entre 15%-20% de los LMA corresponden a LMA-Ly+ (4). Los LLMA han sido reportados en 19% de casos LLA en niños con otros estudios y 25% de leucemias no linfoblásticas agudas en niños (8,9). En otros estudios realizados en población infantil, las LLMA se han reportado en un 19% de casos de LLA y en el 25% de leucemias no linfoblásticas. Sin embargo estos porcentajes pueden variar dependiendo de la calidad y número de AcMo utilizados, como también del número de casos estudiados.

## **HALLAZGOS CLINICOS, DE LABORATORIO Y MORFOLOGICOS**

Los hallazgos clínicos, de laboratorio y morfológicos más importantes y frecuentes se encuentran en los cuadros I, II, III y en la literatura consultada (10,11,12,13,14,15,16,17). Es importante mencionar que en el caso del hallazgo de granulación azurofílica prominente en LLA, se incluyen formas que

mimetizan cuerpos de Auer que podrían inducir al diagnóstico erróneo de LMA (10). En algunos de estos casos, la presencia de los cuerpos de Auer parecen corresponder a estructuras lisosómicas fetales y su aparición en una población leucémica; más que un marcador de estirpe, podría reflejar un retorno a la hemopoyesis fetal del clon leucémico (1,13,18).

---

### **CUADRO I**

#### **HALLAZGOS CLINICOS EN LLMA**

- Fiebre, palidez, fatiga.
  - Dolor óseo.
  - Hepatomegalia, esplenomegalia.
  - Linfadenopatías: cervicales, axilares, inguinales.
  - Infiltración SNC (cefalea, náuseas, vómitos, disturbios visuales, hemorragias subaracnoideas, etc.)
- 
- 

### **CUADRO II**

#### **HALLAZGOS DE LABORATORIO EN LLMA**

- Anemia
  - Trombocitopenia.
  - Leucocitosis.
  - % blastos aumentados en sangre periférica.
  - médula ósea hipercecular, con % blastos aumentados.
- 
- 

### **CUADRO III**

#### **HALLAZGOS MORFOLOGICOS EN LLMA**

##### **LLA-M<sub>y</sub><sup>+</sup>:**

- Predominio de linfoblasto tipo L2. (menos frecuente el tipo L3).
- Presencia de granulación azurofílica prominente.
- Presencia de cuerpos de Auer.
- Forma de espejo de mano.
- Tamaño variado.

##### **LMA - L<sub>y</sub><sup>+</sup>:**

- Presencia de blastos tipo M1, M2, M4, M5.
  - Tamaño variado
  - Forma de espejo de mano.
-

### **HALLAZGOS CITOQUIMICOS**

Las pruebas citoquímicas esenciales para el diagnóstico y clasificación de LMA y LLa son: Mieloperoxidasa (MPO), Sudán Negro B (SNB), Acido peryódico (PAS), Fosfatasa ácida (F.Ac), y esterases como la Alfa naftil acetato esterasa (ANAE), Naftol acetato esterasa (NASA), y la Alfa naftilbutirato esterasa (ANBE) (19,20).

La MPO y SNB contribuyen al diagnóstico de LMA. tipos Mi, M2, M3 y M4 (FAB); mientras que las reacciones con ANAE, ANBE, NASA dan reacción difusa fuerte en M4 y M5, y la ANAE puede manifestarse como reacción fuerte y localizada en M6 y M7 (1920).

La reacción de PAS da un patrón granular usualmente en bloque único en LLa (19,20).

La clasificación inmunológica de LLa ha hecho del uso de la reacción de PAS y FAc, reacciones menos esenciales para el diagnóstico de LLa y para algunos tipos de LMA (MO).

En el caso de las LLMA o bifenotípicas se han descrito casos de LLa-My+ con reacción PAS (-), MPO (11), o bien, casos que presentan reacción MPO (+) a nivel ultraestructural (14,15). Algunos pacientes con leucemias bifenotípicas presentan una LLa con elementos Sudán Negro positivos marcador considerado específico, aunque insuficiente por sí solo, de serie mieloide. Como contraparte las LMALy+ pueden presentar baja actividad de MPO (1).

### **HALLAZGOS CITOGENETICOS**

Mediante la investigación citogenética se puede determinar el cariotipo de las células afectadas permitiendo el hallazgo de cromosomas anómalos, importantes en la clasificación y diagnóstico de las leucemias agudas (19).

El cariotipo podría ser un factor pronóstico importante e independiente en la predicción del alcance de la remisión, del tiempo de remisión, en distinguir los sobrevivientes a largo término de aquellos que fallan en la terapia; además, durante el curso de una leucemia indolente, podría ser utilizado para predecir la transformación a una fase más agresiva (19).

Se presume que muchas leucemias se derivan de múltiples alteraciones cromosómicas que causan la transformación neoplásica (19).

Un patrón distintivo de anomalías cariotípicas en LLMA es difícil de definir. Sin embargo, se ha observado hiperdiploidías. Hipodiploidías, y diploidías, y otros a nivel estructural como translocaciones, deleciones, inversiones, etc.

Ejemplo de lo anterior es el hallazgo en el cariotipo de células leucémicas de algunos casos de LLa-My+ y LMA-Ly+. de alteraciones numéricas como: 52, 51, 47 cromosomas, etc, y de tipo estructural como: t(4;11), t(7;14) del (15), t(9;11), etc... (4,21,22,23,24).

Es importante añadir que el análisis cariotípico convencional no es útil para el diagnóstico de Enfermedad Mínima Residual por su baja sensibilidad (5%). Además, las alteraciones citogenéticas pueden persistir por largos períodos después de alcanzar la remisión completa. Lo que sí tiene alto valor predictivo es la reaparición de una anomalía cromosómica después de haberse negativizado (25).

### **HALLAZGOS INMUNOFENOTIPICOS**

En relación con los hallazgos fenotípicos. toma vital importancia el uso de AcMo, permitiéndose determinar el antígeno expresado en las células leucémicas de LLa o LMA, así como también el grado de promiscuidad en la expresión de ciertos antígenos sobre

los blastos de LLMA (3).

La clasificación inmunológica de LLA ha permitido que los linfoblastos pobremente diferenciados (con poca evidencia de heterogeneidad morfológica y de características de maduración) se identifiquen en subpoblaciones de línea T, o B (Tabla I) (19).

Igual función cumplen estos AcMo en la LMA (Tabla II) (19).

Se conoce una serie de marcadores antigénicos útiles en la determinación del patrón inmunofenotípico linfoide. Los más importantes son: CD 19, CD20, CD22, Ig citoplasmática (de línea B); CD7, CD5, CD2 (de líneaT), Tdt, HLA-DR, CD10. En el caso del patrón inmunofenotípico mieloide se utilizan el CD33, CD13, CD15, CD11b, CD14, CD36 ( 19, 4, 26, 27, 20, 25, 28, 23, 17).

En la Tabla III se presentan algunos patrones inmunofenotípicos encontrados en casos de LLMA (4). El análisis inmunofenotípico, por su sencillez y rapidez, puede ser una metodología óptima para la investigación de la enfermedad mínima residual (EMR); sin embargo, tiene el inconveniente de la ausencia de antígenos específicos de la célula leucémica, lo que dificulta su distinción de las células normales (25) la posibilidad de artefactos técnicos, o la inconsistente expresión de algunos marcadores.

Actualmente se enfoca el estudio del empleo de AcMo frente a las proteínas de los productos de fusión de algunos genes involucrados en translocaciones cromosómicas, como por ejemplo: t(9;22)-bcr/abl; estos AcMo son marcadores específicos leucémicos, ausentes en células normales. Esto los convierte en el método ideal para el estudio de EMR (25).

Los marcadores antigénicos son importantes para determinar el inmunofenotipo leucémico, y el valor clínico y pronóstico. En diferentes estudios, se

han obtenido diversas correlaciones que se citan a continuación:

- que las LLA-My+ presentan menos remisiones completas (6).
- que pacientes LLA-My+ y LLA-Mycon expresión de antígenos T no presentan diferencia aparente en la respuesta al tratamiento o a la supervivencia (6),
- que los pacientes LLA-My+/AgB+ presentan menos remisiones completas y supervivencia más corta que los pacientes LLA-My- (6),
- que pacientes LLA-My+ (B-, T-) (fenotipo puro) presentan remisión completa con supervivencia corta (6),
- que pacientes LLA-My- (adultos/niños) presentan mejor pronóstico que LLA-My+ (6,29,30),
- que la presencia de marcador CD 13 (Ag mieloide) en LLA se relaciona con mayor índice de recaídas (31),
- que la presencia del marcador, CD33 (Ag mieloide) se relaciona con mayor número de hepatomegalias (31),
- que la presencia de CD 13, CD33. se relaciona con una mayor frecuencia de LLA-L2 (31).
- que la presencia del marcador Tdt (Ag linfoide) en LMA se relaciona con remisiones completas tardías, valores bajos de plaquetas y hemoglobina, siendo factores de mal pronóstico (32),
- y que la presencia de CD2, Col 9 en LLMA se ha asociado en algunos estudios con evolución desfavorable, debiéndose probablemente a la presencia del marcador mieloide de mal pronóstico en adultos, así como a las anomalías en cariotipo. Sin embargo, se han reportado casos con evolución favorable (12).

## CONCLUSION

Un mejor conocimiento y entendimiento de la leucemogénesis y de la

diferenciación hematopoyética de LLMA, puede permitir la identificación de estos casos, que de otra manera estarían destinados a fracasar en la respuesta clínica a terapias estándar. Esto hacía necesario el uso de tratamientos selectivos e intensivos, inclusive la posibilidad del trasplante de médula ósea.

Toma vital importancia el uso de los datos clínicos anamnésticos y de exámen físico en la orientación del diagnóstico de los procesos oncohematológicos en general.

El paso inicial y fundamental lo constituye el exámen histológico o citológico con las tinciones convencionales; sin embargo tiene poca precisión en aquellos procesos que presentan un menor grado de diferenciación celular.

Los métodos citoquímicos son un buen complemento de la morfología convencional ya que pueden proporcionar en forma rápida, económica, sencilla y objetiva la información suficiente para el diagnóstico final de leucemia aguda con patrones bien diferenciados. En el caso de LLMA, los resultados inesperados no son la excepción.

Las técnicas mieloperoxidasa, Sudán Negro B, PAS, esterasas inespecíficas y fosfatasa ácida, deben ser utilizadas rutinariamente en el diagnóstico de las leucemias agudas.

El desarrollo y el uso de los anticuerpos monoclonales con especialidad para antígenos de diferenciación leucocitaria a nivel de membrana celular o citoplasmática ha sido útil en la confirmación de diagnósticos para resolver problemas de mimetización morfológica, entre dos procesos malignos en la identificación de los casos de leucemias bifenotípicas agudas.

En el caso de LLMA, los marcadores que coexpresan diferentes líneas celulares sobre las mismas células blásticas, son puestos en evidencia

por la utilización de los anticuerpos monoclonales mediante la inmunocitoquímica y la citometría de flujo.

La importancia de las alteraciones cromosómicas consiste en la clasificación y pronóstico de estos procesos malignos; además su papel es fundamental en la identificación de genes localizados en regiones de ruptura, importantes en la patogénesis de la enfermedad.

Se ha introducido el uso de técnicas moleculares para el análisis del ADN mediante métodos como SOUTHERN y PCR, que pueden ser aplicados en la detección de alteraciones cromosómicas concretas.

El desarrollo de estas técnicas de genética molecular aumenta la posibilidad de detectar células portadoras de marcadores genéticos del proceso tumoral, planteándose la significatividad biológica y clínica de la detección de pocas células portadoras del marcador tumoral en los diversos procesos malignos.

La motivación primordial es proporcionar el alivio al enfermo y eliminar el proceso patológico, aunque aún no se encuentre a nuestro alcance en muchos casos, pero la identificación y caracterización de los genes alterados (oncógenes) en leucemias y linfomas va a permitir conocer los mecanismos moleculares que conducen a la neoplasia, fundamentando las bases para la acción terapéutica.

Actualmente, es decisiva la influencia de los oncógenes en la conducta diagnóstica y terapéutica en leucemias y linfomas, como resultado de la aceptación de la idea de que la transformación maligna se origina de diversas alteraciones genéticas.

#### **ABSTRACT**

The biphenotypic leukemias are defined as those that simultaneously

coexpress myeloid and lymphoid antigens, also known as Acute Mixed Lineage Leukemias (AMLL) and referred to as ALL-My+, AML-Ly+. Their classification follows karyotypic, cytochemical, immunophenotypic and molecular criteria. Three hypotheses attempt to explain their origin:

1. Blast cells genetic dysregulation.
2. Clonal expansion of minor populations with mixed phenotype.
3. Hematopoietic precursor proliferation with mixed phenotype expression.

The use of monoclonal antibodies classified the promiscuity degree upon some antigens on AMLL blasts: TdT, HLA-Dr, CD14, CD19, CD20, CD10, CD5, CD13, CD33, CD14 and others.

The detection of some particular antigenic markers can be related to a specific cell morphology, and late complete remissions or relapses. The major utility of these markers is to determine the leukemic immunophenotype, with clinical, prognostic and therapeutic implications.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1- Guañabens, C., BOSCH M. A., Soler, J. Leucemias agudas, mixtas, bifenotípicas. *Biología Clínica Hematológica*. 1986; 8:133-138.
- 2- Greaves, M. F., Chan, L. C., Furley, A. J. W. Watt, S. M., Molgaard, H. Lineage promiscuity in hemopoietic differentiation and leukemia. *Blood*. 1986; 67: 1-11.
- 3- Guañabens, C., Soler, J., Pujol-Moix, N., Torras, A., Aventin, A., Grau, E., Badell, I. Leucemia aguda híbrida. Estudios inmunocitoquímicos e inmunogenotípicos de un caso. *Biol. Clin. Hematol.* 1989,11:93-97.
- 4- Pui, Ch., Raimondi, S., Head, D., Schell, M. J. Rivera, G., Mirro, J., Crist, W., Behm, F. Characterization of childhood acute leukemia with multiple myeloid and lymphoid markers and diagnosis at relapse. *Blood*. 1991; 78: 1327-1337.
- 5- Hurwitz, C. A., Mirro, J. Jr. Mixed lineage leukemia and asynchronous antigen expression. *Hemat Oncol Clin North Am.* 1990; 4:767 - 794.
- 6- Sobol, R. E. Mick, R., Royston, I., *et al.* Clinical importance of myeloid antigen expression in adult acute lymphoblastic leukemia. *New England Journal Med.* 1987; 316: 1111-1117.
- 7- Kitchingham, G. R., Mirro, J., Stass, S. A. The molecular biology of mixed-lineage leukemia. *Molecular genetics in Cancer Diagnosis*. Cossman J. ed. New York. Elsevier, 1990; 223-247.
- 8- Mirro, J., Zipf, T. F., Pui, Ch. *et al.* Acute mixed lineage leukemia: clinicopathologic correlations and prognostic significance. *Blood*. 1985; 66:1115-1123.
- 9- Pui, Ch., Dahi, G. V., Melvin, S. *et al.* Acute leukemia with mixed lymphoid and myeloid phenotype. *Br. J. Haematol* 1984; 29:214.
- 10- Grogan, T. M., Insalaco, S. J.,

- Savage, R. A., Vail, M. L. Acute lymphocytic leukemia with prominent azurophilic granulation and punctate acidic nonspecific esterase and phosphatase activity. *American Journal Clin. Pathology*. 1981; 71:717-722.
- 11- Perentesis, J., Ramasay, N. K. C., Brunning, R. *et al.* Biphenotypic leukemia: immunologic and morphologic evidence for a common lymphoid-myeloid progenitor in humans. *The Journal Pediatric*. 1983; 102:63- 67.
- 12- Fanjul, E., Coma, A., Tricas, L., González Rooces, S., Lyño, E., Fernández Fuertes, F., Rosón, C., Jonte, F., Soto, I., Medina, J. Leucemia aguda bifenotípica CD2+,CD19+ ¿un subtipo distinto? *Sangre*. 1992; 37:90.
- 13- Stass, S. A., Veach, S., Pasquale, S. M., Schumacher, H. R., Keneklis, T. P., Bollum, F. J. Terminal deoxynucleotidyltransferase positive in acute lymphoblastic leukemia with Auer rods. *Lancet*, 1978; 5: 1042- 1043.
- 14- Marie, J. P., Perrot, J.Y. Boucheix, C., *et al.* Determination of ultrastructural peroxidases and immunologic membrane markers in the diagnosis of acute leukemias. *Blood*. 1982; 59: 270-276.
- 15- Kantarjian, H. M., Hirsch-ginsberg, C., Tee, G., Huh, Y., Friereich, E. J., Stass, S. Mixed lineage leukemia revisited: acute lymphocytic leukemia with mieloperoxidase-positive blasts by electron microscopy. *Blood*. 1990; 76: 808-813.
- 16- Endo, M., Kanemaru, M., Kubo, Y., Sakurai, T., Iizuka, Y., Takeuchi, J., Horicoshi, A., Ohshima, T. DBMP-85 was effective at diagnosis and LVP was effective at relapse in a case of acute mixed leukemia. *Rinsho Ketsueki*. 1990; 31: 320-324.
- 17- Pui, Ch., Head, D. R., Raimondi, SC., Mirrko, J., Rivera, G. K., Crist, M., Behm, F. G. Childhood acute mixed lineage leukemia. *Proc. Ann. Meet. Am. Society Clinical Oncology*. 1991; 10: A789.
- 18- Jehn, U., Thiel, E., Baugast, R. Auer bodies in acute lymphocytic leukemia. *Blood*. 1980; 8: 167, 168.
- 19- Hoffbrand, A. V., Lewis S. M. *Postgraduate Haematology*. Third ed., Heinemann Books, London, 1989; 326 - 393.
- 20- Catovsky, D. Caracterización fenotípica de los procesos oncohematológicos..*Sangre*. 1992; 37: 85-89.
- 21- Hayashi, Y., Sugita, K., Nakasawa S., Abe, T., Kojima, S., Inaba, H., Hanada, R., Yamamoto, K. Karyotypic patterns in acute mixed lineage leukemia. *Leukemia*. 1990; 4:121-126.
- 22- Childs, C.C., Hirsch-Ginsberg, C., Culbert, S.J., Ahearn, M., Rueben, J., Trujillo, J. M., Cork, A., Walters, R. R., Freireich E. J., Stass S. Lineage heterogeneity in acute leukemia with the t (4;11) abnormality: implications for acute mixed lineage leukemia. *Hematology Pathol*. 1988; 2: 145-157.

- 23- Kawakami, K., Kitahara, T., Nakazono, S., Takezaki, T. An autopsy case of acute mixed lineage leukemia with Monosomy 7 in a child. *Rinsho Ketsueki*. 1991; 32: 862-867.
- 24- Penchonsky, L., Kaplan, S., Stolc, V., Krause, J. R. Down's Syndrome and mixed leukemia in infants. *Cancer*. 1991; 68: 414-417.
- 25- San Miguel, J. F., Macedo, A., Ciudad, J., Tabernero, M. D., González, M., Orfao, A. Estrategias en detección de enfermedad mínima residual en leucemias agudas. *Sangre*. 1992; 37: 127-132.
- 26- Ciudad, J., San Miguel, J., González, M., López-Berges, M., Vidriales, B., Orfao, a. Enfermedad mínima residual en LLA: análisis multiparamétrico mediante citometría de flujo. *Sangre*. 1992; 37: 136-1 39.
- 27- Dinndorf, P. A., Andrews, R. G., Benjamin D., *et al.* Expresion of normal myeloid-associated antigens by acute leukemia alls. *Blood*. 1986; 67: 1048-1053.
- 28- Katz, F., Simpson, E., Lam, G., Gibbons, B. Rearrangement of T cell receptor and immunoglobulin heavy chain genes in childhood acute mixed lineage leukemi. *Leuk. Res*. 1988; 12: 955-960.
- 29- Lwdwig, W. D., Dahl, D. V., Melvin, S., *et al.* Acute leukemia with mixed lymphoid and myeloid phenotype. *Br. J. Haematol*. 1984; 56: 121-130.
- 30- Wiersma, S., Ortega, J., Bedros, A., *et al.* Poor prognosis of children with acute leukemia expressing mixed lineage markers. *The American Society of Pediatric Hemato/ogy/Oncology*. First Annual Meeting. 1988.
- 31- Molero, T., Campo, C., Castro, E., Balda, E., Suárez, A., Parra, A., Bolaños, B., Malcorra, J. J. Relevancia clínica de la presencia de antígenos mieloides en las leucemias agudas linfoblásticas (LAL). *Sangre*, 1992; 37, 4:88.
- 32- Molero, E., Lodos, J. C., Campo, C., Sánchez, F., Pérez Aciego, P., Parra, A., Bolaños, B., Negrín, M., Malcorra, J. J. Valor pronóstico de marcadores linfocitarios en las leucemias agudas mieloblásticas. *Sangre*. 1992; 37:88.