

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a knight on horseback, holding a sword. Above the knight is a crown. To the left and right are two pillars with the words 'PLUS' and 'ULTRA' respectively. The outer ring of the seal contains the Latin motto 'SICUT ERAS OUIS CONSPICUA CAROLINA AC ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER'.

**DETERMINACIÓN DE CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, DEMOGRÁFICAS Y
MOLECULARES DE PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA EN
GUATEMALA: ESTUDIO RETROSPECTIVO**

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

Presentado por

Lilian Noemi Granados Alegría

Estuardo Faustino Alvarado Liberato

**Para optar al título de
QUÍMICOS BIÓLOGOS**

Guatemala, noviembre 2013

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Manuel Cobar Pinto, Ph. D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Rodrigo José Vargas Rosales	Vocal III
Br. Fayver Manuel de León Mayorga	Vocal IV
Br. Maily Graciela Córdova Audón	Vocal V

ACTO QUE DEDICO

A DIOS, TODOPODEROSO: Ser Supremo que me dio mucha sabiduría y paciencia para poder culminar mis estudios.

A MI MADRE CELESTIAL: Gracias por escuchar mis oraciones, por tu intercesión ante Dios Padre me permitiste llegar a cumplir una de las metas más importantes de mi vida.

A SAN AGUSTÍN: Por enseñarme a tener siempre presente la Oración, Estudio y Humildad en mi vida.

A MIS PADRES, FERNANDO Y GLORIA DE GRANADOS: Gracias por darme el don de la vida, por ser esos dos ángeles del cielo que envió Dios para cuidarme y guiarme, gracias por todo el sacrificio que realizaron para brindarme la educación y formación de la profesional que ahora soy, este triunfo va dedicado a ustedes, los amo.

A MI HERMANA JEANETH Y MI CUÑADO BORIS: Gracias por su cariño y apoyo incondicional, por brindarme su ayuda y estar allí siempre, cuando más los necesitaba, los quiero mucho, los quiero mucho, Dios les bendiga siempre.

A MI HERMANO RUBÉN: Gracias porque sé que puedo contar con vos en las buenas y en las malas, gracias por ser ante todo mi amigo, te quiero mucho.

A MI SOBRINO ISMAEL: Desde el día que veniste a esta tierra, supe que serías una bendición, gracias por iluminar mis días con tu alegría y tus ocurrencias, deseo que este triunfo sea un ejemplo para ti, te quiero!

A TODA MI FAMILIA: Gracias por el cariño y la confianza depositada en mí.

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA: Alma máter donde aprendí a conocer que la vida está llena de éxitos y fracasos, y depende de nosotros mismos salir adelante y luchar por nuestros sueños para llegar a ser profesionales de éxito.

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA: Por brindar excelentes catedráticos que ayudaron en el transcurso de formación de mi carrera profesional.

AL LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL GENERAL SAN JUAN DE DIOS: Por las enseñanzas aprendidas y el apoyo recibido durante el tiempo que realicé mi EPS.

AL INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN Y EDUCACIÓN EN ENFERMEDADES GENÉTICAS Y METABÓLICAS – INVEGEM-: Por las instalaciones prestadas para la realización de esta investigación. Por abrirme las puertas de trabajo y contribuir con la ciencia al servicio de los demás.

A LA DRA. CLAUDIA CARRANZA: Por darme la oportunidad de desarrollarme como investigadora científica, agradezco la confianza depositada en mí.

A MIS ASESORAS CLAUDIA CARRANZA Y ROSARIO HERNANDEZ: Por su apoyo y valiosa ayuda durante la realización de esta investigación.

A LA FAMILIA MONTENEGRO: Agradezco todo el apoyo brindado durante mis años de estudio de nivel medio, Dios les bendiga siempre.

A MI AMIGA VERA VELASQUEZ: Gracias por toda la ayuda que me diste siempre en el transcurso de la carrera, por estar en las buenas y en las malas, por tu amistad incondicional, Dios te bendiga a vos y a tu familia.

A MIS AMIGOS: Evelyn, Cinthia, Jorge, Mariale, Anita, Vero, Sofia, Wendy, Andrea Alvarado, Johana, Andrea Solares, por su cariño, y todos los momentos compartidos, agradezco su amistad.

ACTO QUE DEDICO

A DIOS: Que me dio la oportunidad de vivir y regalarme una vida maravillosa, quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades.

A MIS PADRES, FAUSTINO Y MARÍA CONSUELO DE ALVARADO: Con mucho cariño que me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento. Gracias por todo papá y mamá por darme una carrera para mi futuro y por creer en mí, siempre han estado apoyándome y brindándome todo su amor, por todo esto les agradezco de todo corazón el que estén conmigo a mi lado. Los quiero con todo mi corazón.

A MI ESPOSA LOIDA OMERI: Por su apoyo y ánimo que me brinda día con día para alcanzar nuevas metas, tanto profesionales como personales y ser el amor de mi vida. Te amo.

A MI HIJA DANNA JIMENA: A quien siempre cuidaré, amaré y velaré para que no le haga falta nada, gracias por ser parte de mi vida.

A MI HERMANA HEYDI: Gracias por estar conmigo y apoyarme siempre, te quiero mucho.

A MI TIA VERONICA: Por su gran apoyo cuando mas lo necesitaba, a su esposo Germán y a mi prima Jazmín,

A TODOS MIS AMIGOS: Muchas gracias por estar conmigo en todo este tiempo gracias por ser mis amigos y recuerden que siempre los llevaré en mi corazón

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA: Que me brindo la oportunidad de estudiar y alcanzar los conocimientos y experiencias que serán la base de mi profesión

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA: Por ser el lugar donde he aprendido los mejores conocimientos y pasado buenos momentos.

AL INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN Y EDUCACIÓN EN ENFERMEDADES GENÉTICAS Y METABÓLICAS – INVEGEM-: Por las instalaciones prestadas para la realización de esta investigación.

A MIS ASESORAS: Licda. Rosario Hernández y Dra. Claudia Carranza por su amistad, ayuda, por sus amplias y tan acertadas observaciones en este trabajo.

AL ÁREA DE SALUD DE JUTIAPA: Por brindarme la oportunidad de trabajar y superarme en mi vida profesional y personal, especialmente al Dr. Genard Mendez, Lic. Mario Hernández, Lic. Donerick Marroquin, Dra. Berganza, Ranfery Trampe y demás compañeros.

Y a todas las personas que fueron y son parte de mi vida, gracias por compartir los buenos y malos momentos, las alegrías y tristezas, Dios los bendiga a todos

INDICE

	Página
I) Ámbito de la Investigación	1
II) Resumen	3
III) Antecedentes	5
A. Generalidades de la Leucemia Linfoblástica Aguda	4
B. Epidemiología	6
C. Etiología	7
1. Oncogenesis y factores genéticos	7
a. Oncogenesis	8
b. Factores genéticos	10
i. Enfermedades hereditarias	10
• Enfermedades hereditarias recesivas	10
• Enfermedades cromosómicas	10
2. Factores inmunológicos	11
3. Factores medioambientales	13
D. Patogénesis	13
1. Clonalidad	13
2. Patobiología molecular	14
E. Características clínicas y de laboratorio	15
1. Signos y síntomas	15
2. Hallazgos de laboratorio	16
3. LLA extramedular	18
a. Leucemia del Sistema Nervioso Central	18
b. Leucemia testicular	19
F. Diagnostico	20
1. Clasificación morfológica	20
2. Clasificación inmunológica	20
3. Citogenética convencional y genética molecular	23
a. Ploidia	24
b. Anormalidades cromosómicas estructurales en LLA	25
i. Translocación clonal t (9;22)	25
ii. Translocación clonal t(12;21)	26
iii. Translocación clonal t(1;19)	27
iv. Translocación clonal t(4;11)	27
c. Análisis genético y la Enfermedad Residual Mínima	27

G. Factores pronostico	29
1. Edad en el diagnostico	29
2. Recuento de leucocitos y edad en el diagnostico	31
3. Factor de riesgo BFM	31
4. Sexo	31
5. Inmunofenotipo	31
6. Raza	32
7. Clasificación FAB	32
8. Enfermedad del Sistema Nervioso Central en el Diagnostico	33
9. Compromiso testicular en el momento del diagnostico	33
10. Respuesta al tratamiento	34
a. Respuesta de la médula ósea en el día 7 y el día 14	34
b. Respuesta de la sangre periférica a la profase esteroide	34
c. Respuesta de la sangre periférica a la terapia multifarmacológica de inducción	35
d. Fracaso de la inducción	35
e. Determinación de la Enfermedad Residual Mínima	35
11. Estado nutricional	36
H. Tratamiento de la Leucemia Linfoblástica Aguda	37
1. Quimioterapia de inducción	39
2. LLA infantil en remisión	40
IV) Justificación	42
V) Objetivos	43
VI) Materiales y métodos	44
VII) Resultados	48
VIII) Discusión de resultados	54
IX) Conclusiones	59
X) Recomendaciones	60
XI) Referencias	61
XII) Anexos	68

I. AMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

Según la Constitución Política de la República de Guatemala, se reconoce la salud como un bien público y un derecho fundamental del ser humano, sin ninguna discriminación, y define la obligación que tiene el Estado de velar por la misma de toda la población. Es por ello que las instituciones en Salud deben desarrollar acciones de prevención, promoción, recuperación y rehabilitación a fin de procurar a los habitantes del país el más completo bienestar físico, mental y social; sin embargo, en Guatemala estos servicios son deficientes.

Para el año 2004, datos proporcionados por UNICEF, señalaron que Guatemala ocupaba el primer lugar en mortalidad infantil con una tasa mayor al 32%, en comparación con el resto de países centroamericanos y República Dominicana, mientras que Costa Rica posee la menor tasa con un 11%. Si relacionamos esto con enfermedades más específicas, como la leucemia linfoblástica aguda (LLA), esta cifra va en aumento; según estadísticas de la Unidad de Oncología Pediátrica de Guatemala (UNOP), cada año se reportan aproximadamente 500 nuevos casos de LLA en todo el país.

Estos datos ponen de manifiesto la necesidad de que existan en nuestro país instituciones dedicadas a la investigación científica que puedan proporcionar opciones de diagnóstico y tratamiento de distintas enfermedades, no solo infecciosas sino también enfermedades de origen genético.

El Instituto de Investigación de Enfermedades Genéticas y Metabólicas (INVEGEM) es una Institución de ciencia médica humana, de carácter no lucrativo, que realiza investigación científica para apoyar a los sectores más vulnerables de Guatemala y Centroamérica, uno de sus principales objetivos es generar información científica que ayude a comprender las enfermedades de origen hereditario y con base genético, dentro de sus instalaciones cuenta con laboratorios de Biología Molecular, Citogenética, Enfermedades Metabólicas y Laboratorio Clínico, así mismo, brinda oportunidad a estudiantes universitarios promoviendo el desarrollo de la educación en genética médica. Actualmente el instituto trabaja en las áreas de investigación de Cardiogenética, Neurogenética, Errores Congénitos del Metabolismo, Cáncer, Farmacogenética, Enfermedades infectocontagiosas como Virus del Papiloma Humano y VIH/SIDA.

Los datos de pacientes utilizados en el presente estudio fueron tomados del proyecto FODECYT 48-2009 denominado “Detección por –PCR MULTIPLEX- de los transcritos quiméricos BCR-ABL, E2A-PBX1, MLL-AF4, ETV6-AML1; y su utilidad como factor pronóstico en pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda”; desarrollado por INVEGEM. Los resultados ofrecidos por la presente investigación podrán servir de referencia a pacientes con LLA, favoreciendo en el diagnóstico y seguimiento de los mismos.

II. RESUMEN

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es un trastorno maligno de la médula ósea y de la sangre periférica, caracterizado por aumento en la producción de células linfoides inmaduras o blastos. En Guatemala la LLA es más frecuente en niños y constituye la tercera parte de todos los casos de cáncer infantil según datos de la Unidad de Oncología Pediátrica de Guatemala UNOP. El objetivo principal del estudio fue determinar las características clínicas, demográficas y moleculares de pacientes pediátricos diagnosticados con LLA en Guatemala. En el estudio se recolectaron los datos de 100 pacientes con diagnóstico de LLA obteniéndose sus características demográficas (edad, género y lugar de procedencia), y características moleculares como la presencia o ausencia de marcadores moleculares de LLA (BRC-ABL, PBX-E2A y ETV6-AML1).

No se encontró diferencia significativa entre las variables de género y edad con respecto a marcador molecular. Se encontró una relación de 3:1 de mujeres con respecto a hombres en el marcador molecular PBX-E2A.

De acuerdo a hallazgos hematológicos el 32% de pacientes poseían un recuento de glóbulos blancos mayor de $50,000 \text{ cel/mm}^3$, 88% presentaron recuentos de plaquetas menores de $140,000 \text{ cel/mm}^3$ y el 91% presentaron un valor de hemoglobina menor de 11.5 g/dL. Estos datos demuestran que la anemia y la trombocitopenia son un tipo de hallazgo común en pacientes recientemente diagnosticados con grave afección de la médula ósea por las células leucémicas.

Se establecieron comparaciones pareadas y cálculo de *p value* con la prueba de Mann Whitney entre pacientes con ausencia y presencia de los diferentes marcadores moleculares BCR/ABL, ETV6-AML y E2A/PBX en relación a los diferentes parámetros: género, edad, recuento de glóbulos blancos, hemoglobina y plaquetas, y así mismo entre los diferentes marcadores moleculares, no encontrando diferencias significativas, a excepción de las comparaciones entre los marcadores moleculares BCR/ABL y ETV6-AML ($p = 0.048$) y ETV6-AML y E2A-PBX1 ($p = 0.050$) en relación a las plaquetas.

Datos demográficos predominantes en el estudio como la edad comprendida entre uno y diez años, sexo masculino, y características clínicas como el recuento de glóbulos blancos

mayores a $10,000/\text{mm}^3$ fueron similares comparados a estudios realizados en poblaciones pediátricas de España, Estados Unidos y China.

III. ANTECEDENTES

A. GENERALIDADES DE LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es una enfermedad maligna caracterizada por la proliferación clonal anormal de las células progenitoras linfoides, lo que conlleva a falla en la función medular e infiltración local y a distancia de sangre periférica, meninges, hígado, riñones, bazo, testículos y ganglios, entre otros sitios (Castro, Orozco, Rueda & Suárez, 2007, p. 117).

La mayoría de los casos se produce entre los 2 y 10 años de edad, si bien es rara en adultos, el pico de incidencia se produce en pacientes ancianos. Solo la mitad de los pacientes con LLA presenta leucocitosis y puede no tener linfoblastos circulantes. Suele haber neutropenia, trombocitopenia y anemia, a consecuencia de la pancitopenia, los pacientes suelen presentar fatiga, fiebre y hemorragia. A menudo es acompañada de linfadenopatía; se puede encontrar esplenomegalia y hepatomegalia. El dolor óseo se presenta como consecuencia de la infiltración de células leucémicas en la capa que recubre el hueso (periostio). En la LLA es común la infiltración de linfoblastos en los testículos y ovarios (Rodak, 2004, p.463-465).

El tratamiento de LLA ha progresado significativamente en los últimos años, el aumento en la tasa de supervivencia en niños menores de 15 años es admirable, de un 10% en los principios de los años 60 a un 75% aproximadamente a finales de los años noventa (Sierrasesúmaga, Antillón, Bernaola, Patiño & San, 2006, p. 252).

La LLA de buen pronóstico tiene una tasa de remisión completa del 90% y se cura en el 60% de los pacientes, lamentablemente los adultos con esta enfermedad tienen una evolución más tórpida: la tasa de remisión completa es de 68 a 91%, mientras que la tasa de curación es de 25 a 41%. La asignación de tratamiento de acuerdo con el grado de riesgo exige que se disponga de factores pronósticos confiables para predecir el resultado (Rodak, 2004, p. 464).

B. EPIDEMIOLOGÍA

En los últimos años, los países en vías de desarrollo están experimentando el denominado fenómeno de la “transición epidemiológica”; donde el cáncer ocupa las primeras causas de muerte después de las enfermedades infectocontagiosas y cardiovasculares (Hernández, 2005, p. 1).

En Guatemala la LLA es más frecuente en niños y constituye la tercera parte de todos los casos de cáncer infantil según datos de la Unidad de Oncología Pediátrica de Guatemala UNOP (Sitio web UNOP www.ayuvi.org.gt/cancerpediatrico).

Según la Sociedad de Leucemias y Linfomas de Estados Unidos - Leukemia & Lymphoma Society®, para el año 2010 en Estados Unidos se reportaron 5,330 pacientes que desarrollaron LLA; de los cuales 3,150 eran del sexo masculino y 2,180 del sexo femenino, representando la tercera parte de muertes en niños menores de 15 años en ese país (facts 2010-2011 about leukemia: www.leukemiaandlymphomasociety.com/).

La LLA representa 12% de todas las leucemias diagnosticadas en Estados Unidos, y 60% de todos los casos ocurre en personas menores de 20 años. Tiene dos picos de frecuencia por edad, el primero de dos a cinco años y el segundo en la sexta década de la vida. La LLA es la neoplasia más común diagnosticada en pacientes menores de 15 años, constituye la cuarta parte de las neoplasias diagnosticadas en este grupo de edad y 76% de todas las leucemias (Beutler, Lichtman, Coller, Kipps, 2001, p. 1141).

Cabe resaltar que la incidencia mundial de LLA es de 1/100,000 habitantes al año siendo más frecuente en varones que en mujeres, así como en personas de raza caucásica que en personas de raza negra. Respecto de las zonas geográficas, hay prueba de mayor incidencia de LLA en la población del norte y occidente de Europa, norte de África y Oceanía (Fauci, Braunwald, Isselbacher, Wilson, 1998, p. 781).

No hay cifras concretas de la incidencia de LLA en algunos países latinoamericanos puesto que existen pocos registros de cáncer basados en la población total. Se han observado diferencias regionales en la proporcionalidad de subgrupos de LLA que certifican la variación

geográfica en su biología. Al parecer existe una incidencia más baja del tipo LLA común y una proporción mayor de casos de fenotipos de células T en algunos países con recursos limitados. Se ha planteado que algunos pacientes que presentan LLA común pueden morir debido a complicaciones antes de que se haya establecido un diagnóstico correcto, puesto que presenta afecciones en la función medular, incluyendo anemia, hematomas e infecciones (Sierrasesúmaga y otros, 2006, p. 253-254).

C. ETIOLOGÍA

En enfermedades multifactoriales, como lo es la LLA, las causas diversas que intervienen en su etiopatogenia deben considerarse como factores de riesgo (FR) (Sierrasesúmaga y otros, 2006, p. 18).

Los FR son aquellas características y atributos que se presentan asociados diversamente con la enfermedad o el evento estudiado, no son necesariamente las causas, sólo sucede que están asociadas con el evento. Como constituyen una probabilidad medible, tienen valor predictivo y pueden usarse con ventajas tanto en prevención individual como en la comunidad (García, 1998, p.3-4).

Todavía no se conoce la causa que origina el desarrollo de LLA. Los factores genéticos tienen cada vez un papel más importante en su etiología. Se han identificado múltiples traslocaciones cromosómicas en las LLA. Además de que existe un mayor riesgo de desarrollar leucemia aguda en pacientes con los siguientes síndromes: Síndrome de Down (hasta 15 veces más que en la población normal), de Schwachman, de Klinefelter, neurofibromatosis y en síndromes caracterizados por fragilidad cromosómica como la ataxia-telangiectasia, síndrome de Bloom o la anemia de Fanconi. La frecuencia de LLA es mayor entre familiares de pacientes afectados. Los factores que se han asociado claramente a un mayor riesgo de presentar LLA son el sexo masculino, la edad entre 2 y 5 años, la raza caucásica, un nivel socioeconómico alto, la exposición intraútero a radiaciones ionizantes y la exposición posnatal a la radiación causada por bombas atómicas o tratamientos con radioterapia. Menos concluyentes son la edad materna avanzada, el peso elevado al nacimiento y la historia de abortos de repetición en la madre. No se ha comprobado asociación clara entre el riesgo de desarrollar LLA y los campos electromagnéticos de baja frecuencia o la exposición al radón (Ruiz, 1998. p. 750; Mustafa, Winick & Margraf. 1997. p. 77-81).

A continuación se detallan algunos de los posibles factores de riesgo que pueden desencadenar una LLA, entre éstos se encuentran los factores genéticos, inmunológicos y medioambientales.

1. Oncogénesis y Factores genéticos

Previamente a detallar los factores genéticos como posibles factores de riesgo de LLA, es necesario definir algunos conceptos importantes:

a. Oncogénesis

Es un proceso mediante el cual las células normales se transforman en células cancerosas. Está caracterizado por una progresión de los cambios en el nivel celular y genético que en última instancia provoca una reprogramación de la célula de someterse a incontrolada división celular, formando una masa maligna (www.definicionesdemedicina.org/oncogen).

El inicio y progreso de una leucemia aguda conlleva a múltiples pasos, que durante períodos de latencia de los carcinógenos acumulan cambios epigenéticos y genéticos en las células somáticas. Los oncogenes son las versiones mutadas de los protooncogenes. Los protooncogenes son genes involucrados directa o indirectamente en la proliferación celular que al alterarse, convirtiéndose en oncogenes, pueden provocar la transformación de una célula normal en célula cancerosa. Las alteraciones genéticas que se producen en las células cancerosas dotan a estas células de una capacidad de división incontrolada e ilimitada y de la capacidad de vivir y colonizar tejidos diferentes del original. Para que una célula se convierta en cancerosa se necesita la acumulación de varias mutaciones y su transmisión a las células hijas. No basta con la activación de un solo oncogén. Los oncogenes estimulan la proliferación celular evitando los mecanismos de control de la división celular. Otro grupo de genes que se alteran en el desarrollo del cáncer son los genes supresores de tumores que codifican proteínas inhibidoras del ciclo celular. La pérdida de la función supresora de este tipo de genes suele requerir la alteración de los dos alelos que codifican la proteína inhibidora. Distintos factores pueden favorecer la formación de células tumorales actuando bien sobre los oncogenes o sobre los genes supresores de tumores alterando el mecanismo molecular de la célula normal (www.medmol.es/glosario/98/).

Existen tres factores importantes que producen la proliferación incontrolada de blastos los cuales son: (www.epigenetica.org)

- Susceptibilidad genética,
- Factores de riesgo externos y/o internos.
- Existencia de un patrón epigenético de expresión de genes que permiten que la proliferación de blastos.

La información epigenética modula la expresión de los genes sin alterar la secuencia de ADN. Los mecanismos más estudiados son: (www.epigenetica.org)

- Los patrones de metilación de ADN en los cuales la metilación de la citosina del ADN es una modificación del ADN, en la que un grupo metilo es transferido desde S-adenosilmetionina a una posición C-5 de citosina por una ADN-5 metiltransferasa. La metilación del ADN ocurre, casi exclusivamente, en dinucleótidos CpG, teniendo un importante papel en la regulación de la expresión del gen.

- La Impronta Genómica es un proceso biológico por el cual un gen o dominio genómico se encuentra marcado bioquímicamente indicando su origen parental. Las improntas genómicas pueden ser covalentes (por metilación de ADN) o no covalentes (por interacciones proteína-ADN, ADN-ARN o localización genómica en el espacio nuclear).

- Modificación de histonas: incluyendo acetilación, metilación y fosforilación.

Durante el periodo postnatal el paciente es más susceptible a la acción de los carcinógenos debido a sus características anatómicas, fisiológicas y conductuales, dado que hay mayor frecuencia de división celular generada por la hiperplasia celular que dan lugar a mutaciones que se incrementan de forma exponencial por el menor tiempo para reparar el DNA y mayor probabilidad células mutadas con mayor expansión. Otra razón importante es debido a que existe una inmadurez fisiológica de sistemas enzimáticos de metabolización/detoxificación/eliminación de carcinógenos. Esto conlleva a una alta vulnerabilidad y una mayor predisposición que conlleva al inicio del proceso de la carcinogénesis (Sierrasesúmaga y otros, 2006, p. 18-20).

b. Factores genéticos

La LLA se produce por acumulaciones de mutaciones o bien por alteraciones epigenéticas que generan selección celular clonal que conllevan a un comportamiento biológico agresivo. Estas alteraciones genéticas aparecen en las células somáticas en la mayoría de veces, dándose raramente en células germinales, por esta razón, las células neoplásicas aparecen en todo el organismo (Sierrasesúmaga y otros, 2006, p. 18; Teitell & Pandolfi, 2009, p.176-177).

i. Enfermedades hereditarias

Las enfermedades hereditarias se deben a la presencia de genes patológicos en los cromosomas (enfermedades hereditarias verdaderas, enfermedades genéticas o genotípicas, enfermedades transmisibles), o bien a una anomalía de los cromosomas (enfermedad por aberración cromosómica, raramente transmisibles) (www.portalesmedicos.com/diccionario_medico/).

- **Enfermedades hereditarias recesivas**

Algunas enfermedades hereditarias pueden estar relacionadas con la proliferación de células neoplásicas en la LLA, mencionando la ataxia telangetasia y la anemia de Fanconi (Sierrasesúmaga y otros, 2006, p.20-24).

- **Enfermedades cromosómicas**

Se ha observado a la LLA como proceso neoplásico relacionado en pacientes con anormalidades cromosómicas, entre las más comunes se encuentra el Síndrome de Down (Rabin & Whitlock, 2009, p.165-171).

La LLA constituye el 60% de malignidades para el Síndrome de Down en su totalidad y corresponde al 97% de malignidades en pacientes menores de 15 años (Sierrasesúmaga y otros, 2006, p.24; Rabin & Whitlock, 2009, p.165).

Las madres de niños con Síndrome de Down tienen una alta incidencia de polimorfismos asociados con una actividad reducida de la enzima metiltetrahidrofolato reductasa (MTHFR), la deficiencia de folato en el útero durante el embarazo puede ser un riesgo tanto para desarrollar leucemia como Síndrome de Down. Otra posible explicación del desarrollo de LLA incluye un incremento de inestabilidad genética causado por la trisomía 21 facilitando el

suceso de mutaciones leucemogénicas, y la homocigosidad disómica de un supresor tumoral mutado en el cromosoma (Rabin & Whitlock, 2009, p.165-171).

2. Factores inmunológicos

El Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH), puede ser otro factor de riesgo que influya en la expresión de LLA, tiene un papel fundamental en la inducción y regulación de la respuesta inmunológica, así como en la vigilancia inmunológica contra antígenos virales y tumorales. (Mejía, Ortega & Fajardo, 2005, p. 401-409)

La mayoría de los sujetos portadores de los alelos asociados a enfermedades no desarrolla enfermedad, lo cual indica que el modo de herencia es complejo y que hay otros factores involucrados en el proceso patológico, entre ellos se han propuesto los virus, algunas bacterias intestinales y factores ambientales como los ocupacionales, alimentarios o medicamentosos (Mejía, Ortega & Fajardo, 2005, p. 401-409).

Algunos mecanismos moleculares señalados para explicar la asociación entre MHC y LLA son:

- La ruptura de la tolerancia a lo propio conduce a la autoinmunidad e involucra elementos genéticos y ambientales. Ésta se alcanza en condiciones normales por mecanismos complejos que incluyen la anergia y la delección clonal o selección negativa de linfocitos B, Células T ayudadoras (Th) y Linfocitos T citotóxicos (CTLs). Por otro lado, las toxinas, patógenos y otros factores pueden desencadenar la autoinmunidad, dando acceso al sistema inmunológico a antígenos normalmente “secuestrados” que en presencia del alelo adecuado inician un ataque autoinmune. Aún no se sabe si en la LLA existe un mecanismo de autoinmunidad, pero puede que exista una interacción entre los alelos HLA y algún agente cancerígeno, la cual conduce al cáncer (Mejía, Ortega & Fajardo, 2005, p. 401-409).

- Los distintos alelos HLA tienen diferente capacidad de presentación de antígenos extraños. Estas diferencias pueden resultar en la inducción de una respuesta inmunológica alterada. Según algunos estudios la LLA pudiera ser el resultado de una respuesta muy agresiva a una infección provocada por un agente común (Mejía, Ortega & Fajardo, 2005, p. 401-409).

- El mimetismo molecular de secuencias homólogas entre alelos HLA y antígenos propios o extraños puede inducir la síntesis de anticuerpos o de CTLs contra lo propio. Existe una hipótesis la cual se basa en la premisa de que los extraños difieren lo suficiente de HLA para que la tolerancia no se establezca, pero son lo bastante similares para provocar la reactividad cruzada. Un ejemplo de esto es el antígeno HLA-DR53 que tiene un epítotope similar al de ciertos virus oncogénicos. Se han demostrado similitudes en cinco a seis aminoácidos de proteínas provenientes del virus del papiloma humano, citomegalovirus, virus linfotrópico-T humano y otros retrovirus (Mejía, Ortega & Fajardo, 2005, p. 401-409).

Estos mecanismos podrían estar involucrados en el desarrollo de la leucemia aguda, aunque la mayoría de los mecanismos a través de los cuales los alelos HLA se asocian a la leucemia convergen principalmente en que uno o más genes del MHC pueden controlar la carcinogénesis bajo la acción de algún factor químico, virus o radiación. No se ha demostrado que pueda actuar como un factor único, sino que necesita actuar junto con otros genes o que está en desequilibrio de ligamento con el o los genes principales de susceptibilidad (Mejía, Ortega & Fajardo, 2005, p. 401-409).

En cuanto a la etiología de la leucemia linfoblástica aguda, científicos como Kinlen y Greaves, proponen que una infección puede tener un papel importante en el desarrollo de la LLA. Greaves señala que la infección actúa como un promotor más que un iniciador de la mutación leucemiogénica. Los niños que desarrollan leucemia pueden tener un sistema inmunológico defectuoso para reconocer una infección viral. Las moléculas de clase I del MHC unen y presentan el péptido viral a las células T citotóxicas cuando el procesamiento ocurre por vía clásica endosomal. Por su parte, el receptor de la célula T se encarga de reconocer e inducir a la célula T para destruir cualquier célula que porte el virus. Sin embargo, la efectividad de esta respuesta depende de la secuencia de un determinado alelo del MHC y podría resultar, en el contexto de los niños expuestos a virus potencialmente leucemiogénicos, que el virus escapara a la inmunidad protectora. Los más vulnerables a infecciones son los niños con síndrome de Down, tienen alterada la función de las células T y sus células NK tienen baja actividad. Esto junto con algún alelo del MHC podría aumentar la susceptibilidad a la leucemia aguda. Si la leucemia linfoblástica aguda es una respuesta extraña a una infección, el niño con mayor riesgo de desarrollarla es un niño que inherentemente tiene mayor susceptibilidad a sufrir infecciones. Sin embargo, no hay evidencias al respecto. Esto enfatiza la importancia de evaluar el MHC y su asociación con la

leucemia linfoblástica aguda y en general con la leucemia aguda (Mejía, Ortega & Fajardo, 2005, p. 401-409).

3. Factores medioambientales

Se desconocen las causas que pueden provocar la LLA, sin embargo, hay evidencias que sugieren que los factores de origen medioambiental interfieren con su etiopatogenia. Entre los factores de origen medioambiental que pueden asociarse al desarrollo de LLA se puede mencionar a los agentes carcinógenos (agentes físico, químico o biológicos que pueden actuar sobre los tejidos vivos ocasionando cáncer), como por ejemplo el benceno, tabaco, radiación ionizante, polvo de madera, manufacturas y reparación de calzado, pinturas; así como los virus Epstein Barr y VIH tipo 1 (Sierrasesúmaga y otros, 2006, p.25-30; www.definicionesdemedicina.org/factormedioambiental).

Se ha asociado un riesgo mayor de desarrollar LLA en niños cuyos padres han estado expuestos a caucho, benceno, pesticidas, sustancias agroquímicas y metales pesados (exposición ocupacional), esto también incluye exposición ambiental doméstica postnatal a pesticidas durante la época pediátrica (Mejía y otros, 2005, p. 404).

D. PATOGÉNESIS

La transformación de un protooncogen en oncogen o la pérdida de un gen supresor determinan la transformación de una célula precursora hemopoyética en célula leucémica (Hernández, 2005, p.8-9).

A continuación se detallan dos mecanismos importantes de la patogénesis de la LLA:

1. Clonalidad

Por medio de estudios citogenéticos se han obtenido pruebas de la evolución clonal de células malignas. El 50% de pacientes con leucemia muestran un cariotipo anormal adquirido en sus células hemopoyéticas en tanto que otras células somáticas presentan cariotipo normal (Hernández, 2005, p.8-19).

La fusión de genes que codifican quinasas activas y alteran factores de transcripción origina la expresión aberrante de protooncogenes. Dichas modificaciones contribuyen a que las células madre hematopoyéticas se transformen, o bien, sus progenitores se alteren y ocurra un cambio de las funciones celulares; por ejemplo, modificación de los controles de la proliferación normal, mantenimiento o aumento de la capacidad para la autorregeneración, o bien, impedir la apoptosis (Hernández, 2005, p.8-19).

Translocaciones específicas activan oncogénicamente a los factores de transcripción, por medio de dos factores: (Hernández, 2005, p.8-19)

- Algunas translocaciones facilitan la unión de pequeñas porciones de dos diferentes genes creando factores de transcripción quiméricos que poseen características oncogénicas, esto sucede en la LLA de células B.

- La desregulación de genes de factores de transcripción ocurrido por un mecanismo de yuxtaposición con el receptor activo de células T (TCR) para la transcripción o bien con genes de inmunoglobina (Ig), ocurriendo tanto en leucemias agudas de células B o T .

Se ha descrito que estos acontecimientos ocurren en precursores linfoides comprometidos o bien, en una etapa temprana donde ocurre la diferenciación celular. Este tipo de suceso clonal puede ocurrir años antes que se haga presente el cuadro clínico de la LLA (Hernández, 2005, p.8-19).

2. Patobiología molecular

Se han ido identificando defectos genéticos como posibles causantes de producir la LLA, tales como: translocaciones cromosómicas, que desregulan la expresión o crean una nueva fusión del gen; hiperdiploidía y mutaciones de genes específicos (Teitell & Pandolfi, 2009, p176).

Los defectos genéticos pueden ser de dos tipos: activación de proto-oncogenes (que promoverán la proliferación celular) e inactivación de genes supresores de tumores (cuya pérdida de función lleva a la pérdida de control de la proliferación), y pueden surgir por

mecanismos tales como: reordenaciones de material genético, mutaciones puntuales y/o pérdidas de todo o gran parte del gen (Look, A, 1997, p. 1059-1054).

Las reordenaciones cromosómicas presentan consecuencias de dos tipos: cualitativas y cuantitativas. Consecuencias cualitativas son debidas a la formación de un gen de fusión híbrido con segmentos pertenecientes a dos genes diferentes y que, dependiendo de los dominios que conserve de cada uno, podría mantener propiedades de ambos. Este nuevo gen dará lugar a una proteína quimérica con posibles propiedades oncogénicas o a la pérdida de su función reguladora. Uno de los mecanismos más conocidos son las proteínas formadas por la $t(9;22)(q34;q11)$, se produce cuando una parte del gen ABL localizado en el cromosoma 9 es transferida e insertada dentro del gen BCR del cromosoma 22, originando el transcrito de fusión BCR/ABL presente en el 5 y 20 % de las LLA infantiles, y la $t(12;21)(p13;q22)$ que resulta de la translocación entre el gen TEL (ETV6) del cromosoma 12 y el gen AML1 (CBFA2 core-binding factor) del cromosoma 21, originando el transcrito de fusión TEL/AML1 (Look, A, 1997, p. 1059-1054).

Las consecuencias cuantitativas son debidas a la activación génica en los que un gen de presumible actividad oncogénica se pone bajo el control de los promotores de ciertos loci, dando como resultado un cambio importante en su nivel de expresión. Suelen estar involucrados los promotores de los loci IG/TCR (muy activos en los tipos celulares afectados) llevando a cabo un proceso de reordenación fisiológica, podría contribuir a las alteraciones genéticas causantes de la transformación maligna puesto que requiere de la rotura física y posterior reparación del ADN (Look, A, 1997, p. 1059-1054).

E. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DE LABORATORIO

1. Signos y síntomas

La LLA se caracteriza porque los signos clínicos comienzan de una forma abrupta, por ejemplo, infección, hemorragia y palidez; y síntomas tales como fatiga, debilidad, dolor óseo y articular; y la muerte se produce en el transcurso de meses si no se trata con medicamento (Rodak, 2004, p. 456).

La fiebre es uno de los hallazgos más comunes, ocurriendo en el 50 a 60% de los casos. Debido a la anemia se manifiestan signos tales como fatiga y somnolencia. El dolor óseo y articular es producido por la infiltración de los blastos en el periostio, el hueso o la articulación o al propio desarrollo de células leucémicas dentro de la médula ósea. Entre los síntomas y signos menos frecuentes encontramos vómitos, dolor de cabeza, distrés respiratorio, anuria y oliguria. Durante la exploración física se puede observar palidez, petequias y equimosis, también puede haber dilatación de riñón e hígado que es normalmente asintomático con órganos palpables con más de 2 cm bajo el margen costal. Debido a la infiltración leucémica pueden existir linfadenopatías que por lo general son indoloras y pueden ser localizadas o bien generalizadas (Sierrasesúmaga y otros, 2005, p. 255).

En pacientes de sexo masculino no puede dejar de incluirse en el examen físico los testículos, ya que el compromiso inicial de los mismos consiste en un agrandamiento uni o bilateral indoloro, el subgrupo de LLA de células T es predominante en varones, otros síntomas predominantes en varones es la presencia de masa mediastínica, de los cuales aproximadamente la mitad de los pacientes lo presentan (Sierrasesúmaga y otros, 2005, p.257; Maltez, 2009, p.16).

2. Hallazgos de laboratorio

El sistema de clasificación para leucemias Franco Americano Británico (FAB) requiere para la LLA que los blastos constituyan el 30% de todas las células nucleadas de la médula ósea, posteriormente la Organización Mundial de la Salud (OMS) redujo este porcentaje a un 20% de blastos ya sea en sangre periférica o médula ósea. En Guatemala, se usan ambos criterios, aunque el más utilizado es el de la OMS (Rodak, 2004, p.457).

Desde el punto de vista hematológico los glóbulos blancos periféricos pueden estar aumentados, disminuidos o dentro de los límites de referencia, aunque en los casos típicos se ven aumentados. La neutropenia, anemia normocítica y la trombocitopenia son características muy importantes. La neutropenia es un fenómeno común y está asociado al aumento de riesgo de padecer una infección grave. Ocasionalmente puede haber hipereosinofilia. En cuanto a la trombocitopenia, se diferencia de la trombocitopenia inmune puesto que la trombocitopenia aislada es poco común en la LLA (Rodak, 2004, p.457).

Un porcentaje no mayor al 75% de pacientes presenta anemia normocrómica y normocítica asociado al recuento de reticulocitos bajo. Puede existir un tipo de hemorragia severa aunque no es frecuente, incluso si los recuentos de plaquetas son muy bajos siempre que no haya fiebre ni infección (Rodak, 2004, p.457).

Es de vital importancia realizar un aspirado de médula ósea para un diagnóstico definitivo, generalmente la médula se encuentra completamente infiltrada de blastos leucémicos, es normalmente hipercelular caracterizada con una población de células homogéneas (linfoblastos en su mayoría). El aspirado debe dividirse en cantidades suficientes para poder realizar la coloración basada en la técnica de Romanowski de rutina, estudios citoquímicos y estudios inmunológicos tales como la citometría de flujo y citogenética (Rodak, 2004, p.456-459; Sierrasesúmaga y otros, 2005, p. 252-253).

Se han identificado tres subtipos morfológicos de blastos según el sistema de clasificación franco/americano/británico (FAB), se distinguen entre sí por el tamaño de la célula, la forma nuclear, la presencia de nucleólos y la calidad de citoplasma (Rodak, 2004, p.456-459).

En la LLA tipo 1, los blastos son más pequeños a diferencia de los otros dos, el tamaño de éstos es dos veces mayor a los de un linfocito normal, su núcleo tiende a ser plano redondo u ovalado con cromatina homogénea, a veces puede observarse el nucleólo, por lo general no se encuentra definido (Rodak, 2004, p.456-459).

En la LLA tipo 2, los blastos son más grandes y poseen un núcleo con forma más irregular, pueden haber más de dos nucleólos que suelen observarse fácilmente (Rodak, 2004, p.456-459).

En la LLA tipo 3, los blastos son grandes con núcleos redondos u ovalados con nucleólos muy visibles y citoplasma basófilo oscuro y muy abundante. Los blastos de esta última se parecen al linfocito maligno observado en el linfoma de Burkitt, aunque este tipo de leucemia se encuentra en un número pequeño de blastos (Rodak, 2004, p. 457-460).

Los pacientes con LLA presentan niveles elevados de ácido úrico debido al aumento del catabolismo de purinas, además la lactato deshidrogenasa se encuentra elevada de manera

frecuente y se relaciona estrechamente con la carga de células leucémicas. Puede haber un aumento en los niveles de creatinina, urea, ácido úrico y fósforo, el 0.5 % de pacientes presentan hipercalcemia, la cual se atribuye a la liberación de una proteína que es similar a la hormona paratiroidea desde los linfoblastos y la infiltración leucémica del hueso. Pueden producirse cálculos renales, ya sea de fosfato de calcio o precipitados de ácido úrico, estas características son frecuentes en pacientes con recuentos iniciales altos de leucocitos. El análisis de orina refleja hematuria microscópica con presencia de cristales con ácido úrico. Los cambios ecográficos suelen ser difíciles de detectar, puede observarse aumento renal difuso bilateral, algunos de los pacientes muestran aumento renal sin presentar infiltración leucémica, el parénquima renal puede tener una ecogenicidad grosera con distorsión del complejo ecogénico central del seno, en otros casos se ve una disminución difusa de la ecogenicidad del parénquima renal, pueden haber masas focales únicas o múltiples y como estos pacientes son propensos a sangrar pueden ocurrir hemorragia renales subcapulares y perirrenales (Sierrasesúmaga y otros, 2005, p. 255-256; Maltez, 2009, p. 13-17).

3. LLA Extramedular

Muchos síndromes son presentados debido a la infiltración blástica, cualquier órgano o tejido puede ser afectado por blastos, entre los cuales los más importantes son el Sistema Nervioso Central y los testículos (Sierrasesúmaga y otros, 2005, p. 256-257).

a. Leucemia linfoblástica aguda del sistema nervioso central (SNC)

Entre los síntomas y signos más comunes se encuentran: aumento de la presión intracraneal manifestándose con vómitos, dolor de cabeza, papiledemas, rigidez de nuca y somnolencia; parálisis de nervios craneales, afectando principalmente el nervio facial, pueden aparecer signos tales como hemiparálisis, pérdidas hemisensoriales y convulsiones (Sierrasesúmaga y otros, 2005, p. 256-257).

Por lo general se da en pacientes con LLA asintomáticos, por lo que se requiere de una punción lumbar para diagnosticarla. La LLA del SNC es caracterizada por la presencia de más de 5 leucocitos por microlitro de fluido cerebroespinal que presentan células blásticas. Este tipo de células blásticas encontradas en el fluido cerebroespinal son citogenéticamente idénticas a las presentadas en la médula ósea (Sierrasesúmaga y otros, 2005, p. 256-257).

Se pueden diagnosticar tres grados diferentes de estado del SNC:

- SNC 1, definido como la no evidencia de linfoblastos leucémicos en el líquido cefalorraquídeo (LCR) (Sierrasesúmaga y otros, 2005, p. 256-257).
- SNC 2, definidos como menor o igual a 5 leucocitos por microlitro con blastos (Sierrasesúmaga y otros, 2005, p. 256-257).
- SNC 3, definidos como mayor a 5 microlitros con blastos en el líquido cefalorraquídeo (Sierrasesúmaga y otros, 2005, p. 256-257).

b. Leucemia testicular

Previo a los años 60, el compromiso testicular en la LLA era bastante excepcional. Sin embargo, se ha observado un aumento en el porcentaje de recurrencia testicular. Numerosas investigaciones han aportado evidencia respecto al rol del SNC y los testículos como lugares santuarios, en los cuales las células leucémicas se encuentran a salvo de los agentes quimioterápicos, y desde los cuales pueden volver a infiltrar la médula ósea (Willat, Villanueva, Vega & Truan, 2006, p. 8-10).

Sin embargo, estudios recientes utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para identificar las secuencias específicas de la leucemia han demostrado que las células malignas pueden estar presentes en la médula ósea al momento de la recurrencia extramedular, aunque a la microscopia se observe remisión medular de la enfermedad (Willat y otros, 2006, p. 8-10).

Se ha visto que niños con recurrencia testicular tratados en forma local con radioterapia desarrollan recurrencia medular dentro de los siguientes meses, y pacientes con leucemia testicular aislada mostraban metástasis a los linfonodos abdominales (Willat y otros, 2006, p. 8-10).

La leucemia testicular puede aparecer como un aumento indoloro de uno o varios testículos mostrándose raramente, la infiltración leucémica puede presentarse en los espacios intersticiales, aunque puede invadir y acumularse bajo la capa de células de Sertoli. Puede haber destrucción de los túbulos debido a la infiltración, pero solo sucede en casos avanzados (Sierrasesúmaga y otros, 2005, p. 257).

F. DIAGNOSTICO

Para establecer un diagnóstico y para clasificar los subtipos de LLA es necesario realizar un estudio genético, morfológico, inmunológico, citogenético, bioquímico y molecular de los linfoblastos leucémicos (Bennett, Catovsky & Daniel 1981, p. 553).

1. Clasificación morfológica

El sistema FAB permite clasificar morfológicamente la mayoría de los casos de la LLA (Bennett y otros, 1981, p. 556).

La LLA se divide habitualmente en tres formas (L1 a L3), según el tamaño de los blastos, la cantidad de citoplasma, la variabilidad del tamaño y formas celulares, así como por la forma del núcleo y el número de nucleolos presentes. En la variedad L 1, la más frecuente en el niño, los linfoblastos son pequeños, con escaso citoplasma, nucleolos no visibles o de difícil visualización, aspecto monomorfo de la médula ósea (Bennett y otros, 1981, p. 556).

Por su parte, la L2 es la variante más frecuente en el adulto y está constituida por blastos grandes, con abundante citoplasma y nucleolos visibles. Hay una doble población celular en médula ósea, pudiendo encontrar linfoblastos pequeños, del tipo L1. Finalmente, la variedad L3, es citomorfológicamente idéntica a las células del linfoma de Burkitt. Se trata de una variante de LLA de células B, con translocación t(8;14) (Bennett y otros, 1981, p. 561).

Aproximadamente el 85% de los niños con LLA tiene una morfología predominante de L1, el 14% de L2 y 1% de L3 (Navid, Mosijczuk & Head, 1999, p. 137).

2. Clasificación inmunológica

La OMS clasifica todas las LLA como "leucemia linfoblástica de células B" o "leucemia linfoblástica de células T". La leucemia linfoblástica de células B se subdivide por la presencia o ausencia de anomalías genéticas específicas recidivantes (t[9;22]), reordenamiento del gen MLL t(12;21)], hiperdiploidia, hipodiploidia, t(5;14) y t(1;19) (Swerdlow, Campo & Harris, 2008, p. 78).

Debido a que se trata de una enfermedad heterogénea en la cual la transformación y expresión clonal puede ocurrir a diferentes etapas de la diferenciación linfoide, y se ha demostrado que existen diferentes subtipos inmunológicos, por tal motivo la clasificación anterior está muy simplificada (Swerdlow y otros, 2008, p. 80).

El desarrollo de anticuerpos monoclonales y policlonales a partir de antígenos celulares relacionados con la diferenciación celular (CD) permite hacer una clasificación inmunológica de las leucemias. Los antígenos de diferenciación celular (CD), asociados con el linaje celular, expresados en los blastos linfoides de la LLA de la infancia, caracterizan el inmunofenotipo de la LLA de linaje T (CD7+, CD3+), del linaje B (CD19+, CD22+, CD79+). Las LLA de linaje B representan el 80-85% de las leucemias de la infancia, mientras que las LLA de linaje T constituye el restante 15-20% de las leucemias agudas de la infancia. En este último grupo no hay subtipos, mientras que las de linaje B en realidad son un grupo heterogéneo de leucemias linfoblásticas formado por varios subgrupos con características clínicas y etiológicas, y pronóstico diferente (Swerdlow y otros, 2008, p. 82).

Dentro de la serie B se distinguen básicamente cuatro variedades: Pre B temprana (pre pre B), Pre B, Pre B transicional ó Pre B tardía y B. En el estadio Pre pre B o pre B temprana, los blastos leucémicos se asemejan al precursor B normal pero con pérdida de inmunoglobulinas, expresan los antígenos de superficie CD19, CD72, CD79, HLA DR y todas presentan CD22 citoplasmático, el 90% tienen TDT y CD10, CD20 aparece en los blastos que producen cadenas pesadas, mientras que el 83% expresa CD34 (López, 1992, p. 348).

El 25 % de las LLA son de estirpe fenotípica Pre B, expresando CD19, CD22, CD72, CD79 y HLA DR; más del 95% expresan CD10 y TDT, el 61% expresa CD34, sólo el 40% tiene CD20 de superficie. Comparada con la pre B, esta variante tiene tendencia a presentar un recuento celular más alto, mayor concentración sérica de ácido láctico y de hemoglobina, las translocaciones cromosómicas son mayores. Este inmunofenotipo es de peor pronóstico que el Pre B, sobre todo si se detecta t(1;9). La LLA transicional ó Pre B tardía podría ser un estadio de transición del Pre B al B. Los blastos de la Pre B tardía tienen una morfología L1 ó L2 y t(8;14), t(8;22) ó t(2;8) y presenta CD10 y TDT. Esta variante se presenta en el 1% de LLA de la infancia, la LDH y el recuento de leucocitos es bajo. Tiene una excelente respuesta al tratamiento (López, 1992, p. 350).

La LLA B, consiste en dos tipos clínicos y fenotípicos distintos. La más común se caracteriza por blastos FAB L3, masa tumoral extramedular principalmente en cuello y abdomen, translocación t(8;14), t(8;22) ó t(2;8) y blastos que carecen de gránulos PAS positivos, de TDT y CD34. Muchos niños con LLA B, son considerados como una fase leucémica de un linfoma de Burkitt. Otra variante es una LLA B sin masa extramedular, y sin translocaciones t(8;14), t(8;22) ó t(2;8) y con reagrupamiento c-Myc, con blastos FAB L1-2, con gránulos citoplasmáticos PAS positivo, con expresión frecuente de TDT y CD34. Esta segunda variante de LLA B es de mejor pronóstico (López, 1992, p. 357).

La LLA T no tiene subtipos. Todos los blastos expresan el antígeno de superficie CD7 y los citoplasmáticos CD3, CD2, CD5, CD6, CD45 y TDT. Entre el 40 y 45% de los blastos T pueden expresar CD10 y CD21. En paciente de sexo masculino, la avanzada edad, altas cifras de leucocitos y la invasión del SNC, masa mediastinal, linfadenopatías y esplenomegalia son características de LLA T. Esta variante es de mal pronóstico y mala respuesta al tratamiento, siendo la morfología FAB L 2 la más común (López, 1992, p. 359).

En relación con los hallazgos fenotípicos, toma vital importancia el uso de anticuerpos monoclonales (AcMo) permitiéndose determinar el antígeno expresado en las células leucémicas de LLA (Guañabens, Soler, Pujol- Moix, Torras, Aventin, Grau y Badell, 1989, p. 93).

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 (Guañabens, Soler, Pujol- Moix, Torras, Aventin, Grau y Badell, 1989, p. 93).

El análisis inmunofenotípico, por su sencillez y rapidez, puede ser una metodología óptima para la investigación de la enfermedad mínima residual (EMR) la cual se refiere a la persistencia de una cantidad pequeña de células malignas luego del tratamiento con intención curativa del cáncer; sin embargo, tiene el inconveniente de la ausencia de antígenos específicos de la célula leucémica, lo que dificulta su distinción de las células normales la posibilidad de artefactos técnicos, o la inconsistente expresión de algunos marcadores (San Miguel, Macedo, Ciudad, Taberero, González y Orfao, 1992, p.127).

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. Los marcadores antigénicos son importantes para determinar el inmunofenotipo leucémico, y el valor clínico y pronóstico (San Miguel y otros, 1992, p.130).

3. Citogenética convencional y genética molecular

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 (Pui, Crist & Look, 1990, p. 1449).

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. Se presume que muchas leucemias se derivan de múltiples alteraciones cromosómicas que causan la transformación neoplásica (Pui y otros, 1990, p. 1455).

Se pueden utilizar varias técnicas para la detección de aberraciones cromosómicas que incluyen métodos citogenéticos convencionales (Southern Blot, PCR, RT-PCR la cual es una variante de la PCR en la que se usa ARN como molde inicial en vez de ADN, y emplea una transcriptasa inversa (como Tth) para realizar la síntesis de un ADN complementario al ARN ADNc) y métodos citogenéticos no convencionales (FISH, hibridación fluorescente in situ). Gracias a la biología molecular se han clonado los puntos de ruptura de las translocaciones, inversiones y deleciones, además de caracterizar algunos de los genes involucrados en estos rearrreglos (Kearney, 1999, p. 104).

Las sondas de DNA se derivan de los puntos de ruptura clonados y constituyen una herramienta muy útil para el diagnóstico, dado que, en muestras problema, pueden identificar a los genes involucrados sin los requerimientos de la citogenética clásica.

Así, por medio de la hibridación in situ con fluorescencia (FISH), las sondas marcadas con diversos fluorocromos pueden detectar distintos rearrreglos cromosómicos tanto en núcleos interfásicos como en metafases. Como resultado, la cantidad de muestra del paciente que puede ser analizada para su diagnóstico, se incrementa sustancialmente (Kearney, 1991, p. 104)

Existen varios métodos de uniones cromosómicas, FISH, técnicas genéticas moleculares de cariotipo espectral (SKY) y la hibridación genómica comparativa (CGH) permiten reconocer anormalidades cromosómicas en células leucémicas, en prácticamente el 100% de los casos de LLA pediátrica. En algunos protocolos las decisiones del tratamiento están basadas en el cariotipo de células malignas, por lo que la identificación en el laboratorio de citogenética o por análisis moleculares es considerada crucial tanto para el diagnóstico como para tomar decisiones terapéuticas (Raimondi, 1999, p. 2040).

a. Ploidia

Se puede determinar directamente por el método clásico de recuento de cromosomas en una preparación de cariotipos de metafase, o, indirectamente midiendo el contenido de ADN por una citometría de flujo. Los estudios citogenéticos en pacientes con leucemia han permitido identificar anormalidades cromosómicas numéricas y estructurales relacionadas con las características patofisiológicas de este cáncer. Las alteraciones numéricas, pueden clasificarse en tres grandes grupos: (Rowley, 2000, p. 315)

- Pseudodiploidía, anormalidad en la que el número total de cromosomas que conforman cada metafase es de 46, pero con alteraciones, ya sea numéricas (ausencia y duplicación de cromosomas de diferente par, por ejemplo), o bien, alteraciones estructurales en alrededor del 40% de los casos.

- Hiperdiploidía, caracterizada por presentar 47 cromosomas o más, en el 35-45% de los casos.

- Hipodiploidía, determinada por poseer 45 cromosomas o menos, se presenta en al menos del 8% de los casos.

La frecuencia de estas alteraciones varía de acuerdo con la región geográfica en la que se realice el estudio. Entre los niños americanos la pseudodiploidía es la anormalidad numérica más frecuente seguida por la hiperdiploidía y la hipodiploidía, mientras que entre los niños de la India la hipodiploidía registra una mayor incidencia que la hiperdiploidía (Look, Roberson & Williams, 1985, p. 1080).

b. Anormalidades cromosómicas estructurales en LLA

El factor más frecuentemente relacionado con la LLA es la existencia de anomalías cromosómicas, presentes en más del 70% de los casos. Se trata mayoritariamente de translocaciones, es decir, “intercambios” de una parte de un cromosoma con la de otro cromosoma. Son diversos los genes potencialmente implicados, aunque todos ellos están, de una u otra manera, relacionados con la regulación del crecimiento celular (Bentz, Cabot, Moos, Speicher, Ganser, Lichter & Döhner 1994, p. 1922).

Las translocaciones cromosómicas más frecuentes en la LLA infantil son: (Pui, Crist, & Look, 1990, p.1449-1463)

- t(9;22)(q34;q11)
- t(12;21)(p12;q22)
- t(1;19) (q23;p13)
- t(4;11)(q21;q23)

Los genes de fusión comprometidos en estas alteraciones pueden ser detectados mediante reacción de polimerasa en cadena, previa transcripción reversa (RT-PCR), tanto para el diagnóstico como para el estudio de la enfermedad residual durante el tratamiento, ya que la sensibilidad de esta técnica permite identificar una célula leucémica entre 10^{-4} a 10^{-6} células normales (Arico, Valsecchi & Camitta, 2000, p. 342, p. 998).

i. Translocación t(9;22)(q34;q11)

Conocida como cromosoma Philadelphia, fue la primera anormalidad citogenética identificada en leucemia. Se produce cuando una parte del gen ABL localizado en el cromosoma 9 es transferida e insertada dentro del gen BCR del cromosoma 22, originando el transcrito de fusión BCR/ABL. En la LLA generalmente el punto de ruptura de los genes origina el reordenamiento e1a2, que lleva a la producción de la proteína de fusión p190^{BCR-}

^{ABL}, presentando una frecuencia de 2 a 5 % en la LLA del niño. Además, en la LLA, aunque con menor frecuencia, puede presentarse el mismo reordenamiento descrito en la leucemia mieloide crónica, que genera la proteína de fusión p210^{BCR-ABL} (Arico y otros, 2000, p. 342, p. 998).

El cromosoma Philadelphia no es una alteración exclusiva de la LLA, sino que se observa en otras formas de leucemia y, muy particularmente, en la leucemia linfocítica crónica (Arico y otros, 2000, p. 342, p. 998).

La presencia del gen de fusión BCR/ABL en la LLA está asociado a un pronóstico adverso, es un factor de riesgo independiente y los pacientes presentan una remisión de corta duración (Arico y otros, 2000, p. 342, p. 998).

ii. Translocación t(12;21)(p12;q22)

Resulta de la translocación entre el gen TEL (ETV6) del cromosoma 12 y el gen AML1 (CBFA2 core-binding factor) del cromosoma 21, originando el transcrito de fusión TEL/AML1. Esta anomalía genética, que comúnmente aparece in útero, probablemente es el evento inicial en la génesis de la LLA de estirpe B en niños. El gen de fusión TEL/AML1 se ha detectado con una frecuencia de 18 a 33%, en diferentes poblaciones como Brasil, Estados Unidos, Europa, República Checa, Turquía, Australia y Japón. Este gen de fusión identifica a un subgrupo de niños con LLA con características definidas al diagnóstico tales como: edad entre 2 y 10 años, bajo recuento de leucocitos, inmunofenotipo de estirpe B e índice de ADN no hiperdiploide. Dentro de este grupo etareo, la mayor frecuencia de pacientes TEL/AML 1(+) se ubica en el rango de 2 a 5 años (Loh & Rubnitz, 2002, p. 345, p. 348).

La LLA TEL/AML 1(+) está biológicamente caracterizada por una prolongada remisión completa y una excelente sobrevida libre de evento (SLE) a largo plazo. La mayoría de las publicaciones asocian esta alteración con un pronóstico favorable. Sin embargo, varios estudios han demostrado que éste no parece ser un factor independiente de buen pronóstico y, por lo tanto, la buena respuesta de estos pacientes puede estar relacionada con otros factores como edad, sexo, recuento de leucocitos, inmunofenotipo, hiperploidad y respuesta a la terapia. Por otra parte, existe evidencia que la presencia de anomalías cromosómicas

secundarias, tales como delección del alelo TEL no translocado o duplicación del cromosoma 21, influirían adversamente en el curso clínico de los pacientes TEL/AML 1(+) (Loh y otros, 2002, p. 349).

iii. Translocación t(1;19)(q23;p13)

Resulta de la translocación entre los cromosomas 1 y el 19 permite el rearrreglo de los genes PBX y E2A respectivamente, que codifican factores de transcripción, sugiriendo un mecanismo de transformación a través de la desregulación transcripcional. Esta translocación pertenece al grupo de translocaciones de mal pronóstico en las LLA-B y su frecuencia es muy variada en diferentes poblaciones alcanzando desde el 1 a un 25%, en promedio se informa entre un 5 a 6% de los casos con LLA (Loh y otros, 2002, p. 350).

iv. Translocación t(4;11)(q21;q23)

Esta translocación pertenece a un grupo bien documentado de translocaciones cromosómicas que involucra el rearrreglo del gen MLL (ALL1 o HRX) ubicado en la banda 11q23. Este gen MLL es el oncogén más "promiscuo" informado en la leucemia humana. La detección de esta translocación de mal pronóstico es sumamente importante para tomar medidas en el manejo terapéutico del paciente, además es una de las anormalidades más comunes en la leucemia del infante informada en un 85% de los casos. A nivel molecular esta fusión da un producto de transcripción quimérico. Su frecuencia en LLA-B pediátrica se informa desde un 2 a un 6%. Otras anomalías genéticas presentes en pacientes con determinadas formas LLA son la t(9;11) y la t(8;14) (Loh y otros, 2002, p. 351).

c. Análisis genético y la enfermedad mínima residual (EMR)

La EMR puede ser definida como el más bajo nivel de enfermedad detectable por los métodos disponibles en pacientes en remisión clínica continuada. Su determinación es útil tanto para valorar la respuesta al tratamiento como para la prevención de recaídas ya que permite actuaciones terapéuticas rápidas (Feroni, Harrison, Hoffbrand & Potter 1999, p. 7).

Tradicionalmente la técnica utilizada para su detección ha sido el análisis de la morfología celular, definiendo en este caso la EMR como la presencia de 5% de células blásticas en la médula ósea (Feroni y otros, 1999, p. 8).

Esto ha hecho que en los últimos años se hayan desarrollado técnicas complementarias con sensibilidades muy superiores (de 100 a 10.000 veces más) disponiéndose en la actualidad de otras tres: 1) la citometría de flujo, que permite detectar células con inmunofenotipo específico de leucemia; 2) la detección mediante PCR (y mediante FISH) de los genes de fusión consecuencia de translocaciones cromosómicas específicas presentes en las células neoplásicas; y 3) el análisis mediante PCR de las reordenaciones de los loci IG/TCR. Todas estas técnicas han cambiado tanto el concepto como el valor de esta determinación, ya que permiten la detección de una célula leucémica entre 104 a 106 células normales (Foroni y otros, 1999, p. 11).

El caso de las LLA es uno de los más estudiados y en ella los análisis multivariantes han puesto de manifiesto que la presencia o ausencia de EMR es un factor pronóstico independiente. Como se ha señalado, en las neoplasias linfoides la determinación genética de la EMR se puede realizar a través de la determinación de translocaciones cromosómicas recurrentes o mediante el análisis de las reordenaciones IG/TCR. La primera es relativamente sencilla pero no es factible en los casos que no presenten este tipo de marcadores genéticos en el momento del diagnóstico. El segundo, basado en el origen clonal del proceso tumoral, permite el seguimiento del clon maligno de manera específica en la mayoría de los casos. Esta especificidad es la causante de la complejidad técnica y su elevado costo, ya que será indispensable el conocimiento exacto de la secuencia de ADN de la zona reordenada del clon maligno en el momento del diagnóstico para su detección en fases más avanzadas. Además, en la mayor parte de los casos existe un solo clon maligno y predominante, pero en otros casos hay varios y el seguimiento se deberá realizar utilizando sondas o cebadores específicos para cada una de ellos, minimizando la posibilidad de falsos negativos y estableciendo cuál de las poblaciones clonales es la causante de la posible resistencia al tratamiento y posterior recaída (Foroni y otros, 1999, p. 14).

A pesar de estas dificultades, el problema principal de la aplicación de la PCR en la determinación de la EMR es que, como se ha señalado anteriormente, esta técnica sólo muestra la existencia de la alteración pero no su magnitud o la cantidad aproximada de células afectadas. Esta cuantificación es, sin embargo, de gran utilidad pronóstica. Por ello, los esfuerzos actuales se dirigen hacia la PCR con seguimiento en tiempo real, en la que la

cinética de amplificación en las primeras fases permite una cierta estimación cuantitativa (Foroni y otros, 1999, p. 16).

Aproximadamente el 50% de niños con LLA presentan EMR positiva mediante análisis cualitativos al final de la terapia de inducción, pero sólo el 45% de ellos sufrirán recaída. La remisión clínica continuada es mayor entre los pacientes con EMR negativa post-inducción, pero en este caso también se produce un pequeño número de recaídas. En general, la asociación entre una EMR negativa al final de la inducción y el mantenimiento de remisión clínica es mayor que la asociación entre EMR positiva y recaída. Varios estudios sugieren que el nivel de EMR es un importante indicador de riesgo de recaídas y han intentado establecer grupos en función de éste (Radich, 2000, p. 36).

En pacientes en edad adulta hay menos estudios y las series analizadas son menores. En general, y con independencia de la edad del paciente, se observa un consistente y continuo descenso en el número de individuos con EMR detectable entre los 2 y 24 meses. Parece que la reducción por debajo de los límites de detección por PCR (remisión molecular) a distintos tiempos durante 2 años sería el mejor indicador de remisión clínica continuada y parece también que este análisis es importante al final del tratamiento, ya que la presencia de EMR en este punto estaría asociada con un alto riesgo de recaída (Radich, 2000, p. 38).

G. FACTORES PRONÓSTICO

El resultado del tratamiento ha mejorado en los últimos años, pero no solo depende de la terapia aplicada, sino de los factores biológicos del huésped. Las características pronósticas de la LLA infantil han incluido lo siguiente: edad, recuento de leucocitos (WBC) en el diagnóstico, sexo, inmunofenotipo, raza, clasificación morfológica FAB, ploidia, alteraciones cromosómicas y genética molecular, enfermedad del SNC en el diagnóstico, respuesta temprana al tratamiento, EMR y estado nutricional (Vrooman & Silverman, 2009, p. 6).

1. Edad en el diagnóstico

La edad en el momento del diagnóstico tiene una fuerte importancia pronóstica que refleja las diferentes características biológicas subyacentes de la LLA en los distintos grupos de edad. Los niños pequeños (1 a 9 años) tienen una mejor supervivencia sin enfermedad (SSE)

que los niños mayores, los adolescentes o los lactantes (Möricke, Zimmermann & Reiter 2005, p. 310).

La mejora del pronóstico en niños menores se explica, por lo menos parcialmente, por la presentación más frecuente de características citogenéticas favorables en los blastos leucémicos, incluso la hiperdiploidia con 51 o más cromosomas o trisomías cromosómicas favorables, o el ETV6-RUNX1 (t[12;21] también conocido como la traslocación TEL-AML1). El desenlace para los adolescentes mejoró significativamente con el transcurso del tiempo debido a que en diversos estudios retrospectivos se menciona que los adolescentes de 16 a 21 años tienen un desenlace mejor cuando se los trata con protocolos pediátricos en vez de protocolos de adultos. Los lactantes con LLA tienen un riesgo particularmente alto de fracaso del tratamiento. El fracaso del tratamiento es más común en lactantes menores de 6 meses y en aquellos que presentan recuentos de leucocitos extremadamente altos o una respuesta deficiente a la profase de prednisona. Los lactantes con LLA se pueden dividir en dos subgrupos de acuerdo con la presencia o ausencia de traslocaciones que comprometen el gen MLL localizado en el cromosoma 11q23 (Möricke y otros, 2005, p. 315).

Aproximadamente 80% de los lactantes con LLA tienen reordenamiento del gen MLL. La tasa de translocaciones genéticas del MLL es extremadamente alta en lactantes menores de 6 meses; de 6 meses a un año, la incidencia de la translocación del MLL disminuye, pero se mantiene más alta de lo que se observa en niños mayores. Los lactantes con leucemia y translocaciones del gen MLL tienen WBC muy altos, aumento de la incidencia de compromiso del SNC y un desenlace precario. Los blastos de los lactantes con translocaciones en el MLL son por lo general negativos al CD10 y expresan índices altos de FLT3 (Möricke y otros, 2005, p. 318).

A la inversa, los lactantes cuyas células leucémicas tienen una configuración de la línea germinal del gen MLL presentan con frecuencia un inmunofenotipo CD10-positivo de células B precursoras. Estos lactantes tienen un desenlace significativamente mejor que los lactantes con LLA caracterizada por translocaciones del MLL. Los lactantes diagnosticados en el primer mes de vida tienen WBC más altos, mayor incidencia de translocaciones del MLL, tasa de recaída significativamente más alta y supervivencia general más precaria en comparación con los lactantes mayores de 1 mes en el momento del diagnóstico (Möricke y otros, 2005, p. 319).

2. Recuento de leucocitos en el diagnóstico

Los pacientes con LLA de células B precursoras y WBC altos en el momento del diagnóstico tienen un aumento del riesgo de fracaso del tratamiento que los pacientes con recuentos iniciales bajos de WBC. Generalmente se usa un recuento de WBC de 50.000/ μ l como punto operativo de corte entre un mejor pronóstico y un pronóstico más precario, aunque la relación entre WBC y pronóstico es más una función continua que un paso funcional. Hay datos conflictivos con respecto a la importancia pronóstica de presentar recuentos de leucocitos en LLA de células T (Pullen, Shuster & Link 1999, p. 1696).

3. Factor de riesgo BFM

El factor de riesgo BFM (Berlín-Frankfurt-Munster) está basado en la carga de células leucémicas, recuento de leucocitos, hepatomegalia y esplenomegalia y se calcula por medio de la ecuación: FR (factor de riesgo) = $0.2 \times \log(\text{numero de blastos en sangre/microlitro} + 1) + 0.06 \times \text{tamaño del bazo}$ (tamaño del órgano en cm., bajo el margen costal. Este índice muestra tener un valor pronóstico importante y ha sido utilizado ampliamente (Langermann, Henze, Wulf, & Riehm, 1982, p. 210).

4. Sexo

En algunos estudios, el pronóstico de las niñas con LLA es ligeramente mejor que el de los niños con LLA. Una de las razones del mejor pronóstico para las niñas es la presentación de recaídas testiculares en los niños, pero los niños también parecen tener un riesgo mayor de recaída de médula ósea y de SNC debido a factores que todavía no se entienden bien (Pui, Boyett & Relling, 1999, p. 820).

5. Inmunofenotipo

Se ha demostrado que el inmunofenotipo de blastos también tiene un significado pronóstico. Hay algunas diferencias de pronóstico entre los diferentes subgrupos precursores de linaje de B. Las células de precursores B o LLA (de linaje B) definidas mediante la expresión citoplásmica CD79a, CD19, HLA-DR, antígeno CD10 (cALLa) y otros antígenos relacionados con las células B representan del 80 al 85% de la LLA Infantil (Cabrera, Labra, Ugarte, Matutes, y Greaves 1996 p. 124).

Aproximadamente tres cuartos de los pacientes con LLA de precursores B, tienen el inmunofenotipo pre B y cuentan con el mejor pronóstico. Aproximadamente 5% de los pacientes tienen el inmunofenotipo de precursor B temprano (también conocido como LLA proB). Este es el inmunofenotipo más común que se ve en niños jóvenes y con frecuencia se relaciona con un desplazamiento t(4;11). Las células leucémicas de pacientes con LLA pre-B, contienen inmunoglobulina citoplásmica (cIg), una etapa intermedia de células B diferenciadas y el 25% por ciento de los pacientes de LLA pre-B, tienen el desplazamiento t(1;19) (Cabrera y otros, 1996 p. 293).

La LLA de células T está relacionada a los antígenos (CD3 citoplasmático, CD 7 y CD2 o CD5) relacionados con características clínicas como por ejemplo, la leucocitosis y la masa mediastina. Los niños con LLA de células T, tienen resultados similares al de los niños con LLA de precursores B con terapia intensiva apropiada (Cabrera y otros, 1996 p. 295).

6. Raza

Según estudios realizados, las tasas de supervivencia de niños negros e hispanos con LLA han sido ligeramente más bajas en relación con los niños blancos con LLA. En otro informe no se encontró diferencia en los desenlaces por grupos raciales. A los niños asiáticos con LLA les va un poco mejor que a los niños blancos. La razón por la que los niños blancos y asiáticos tienen un mejor desenlace que los niños negros e hispanos, se puede explicar de manera parcial por los diferentes espectros de los subtipos de LLA. Por ejemplo, los negros tienen una mayor incidencia de LLA de células T y tasas menores de subtipos genéticos favorables de LLA. Sin embargo, estas diferencias no explican en su totalidad las diferencias raciales que se observan en los desenlaces (Kadan-Lottick, Ness & Bhatia, 2003, p. 2010).

7. Clasificación FAB

Se han presentado estudios en que los pacientes con morfología L1 presentaban una duración significativamente mayor en la primera remisión y en la supervivencia si se compara con los subgrupos morfológicos L2 y L3 y que los niños con más del 25% de linfoblastos L2 tenía una tasa de recaída más alta y una supervivencia menor (Wagner & Baehner, 1979, p. 104).

8. Enfermedad del SNC en el Diagnóstico

La presencia o ausencia de leucemia del SNC en el momento del diagnóstico tiene significado pronóstico. Los pacientes se pueden ubicar en una de las tres categorías siguientes de acuerdo con la cantidad de WBC y la presencia o ausencia de blastos en la citospina (Bürger, Zimmermann & Mann, 2003, p. 186).

SNC1: líquido cefalorraquídeo (LCR) que resulta negativo para la presencia de blastos en la citospina, independientemente del WBC (Bürger y otros 2003, p. 186).

SNC2: LCR con menos de 5 GB/ μ l y citospina positiva para blastos (Bürger y otros 2003, p. 186).

SNC3 (enfermedad del SNC): LCR con 5 GB/ μ l o más y citospina positiva para blastos (Bürger y otros 2003, p. 186).

En comparación con los pacientes clasificados como SNC1 o SNC2, los niños con LLA que presentan enfermedad del SNC3 en el momento del diagnóstico, corren un mayor riesgo de fracasar ante el tratamiento (tanto dentro del SNC como sistémicamente). La importancia pronóstica adversa relacionada con el estado SNC2, si lo hubiera, se puede superar mediante la aplicación de terapia intratecal más intensiva, especialmente durante la fase de inducción. Una punción lumbar traumática realizada por un médico con habilidad y bien realizada (≥ 10 eritrocitos/ μ l) que incluya blastos en el momento del diagnóstico parece relacionarse con un aumento del riesgo de recaída en el SNC e indica un desenlace de mal pronóstico. Para determinar si un paciente con punción lumbar traumática (con blastos) se debería tratar como SNC3, el Children Oncology Group (COG) utiliza un algoritmo en que se relaciona el recuento de glóbulos blancos y glóbulos rojos en el líquido cefalorraquídeo y la sangre periférica (Bürger, Zimmermann & Mann, 2003, p. 186).

9. Compromiso testicular en el momento del diagnóstico

El compromiso testicular manifiesto en el momento del diagnóstico se presenta en aproximadamente 2% de los varones, generalmente en la LLA de células T. En los ensayos de LLA tempranos, el compromiso testicular en el momento del diagnóstico era un factor pronóstico adverso. Sin embargo, con la terapia inicial más enérgica, no parece que el compromiso testicular en el momento del diagnóstico tenga importancia pronóstica. El COG considera que los pacientes con compromiso testicular corren un mayor riesgo

independientemente de la presentación de otras características, pero la mayoría de los otros grupos de ensayos clínicos grandes en los Estados Unidos y Europa, no consideran la enfermedad testicular como una característica de riesgo alto (Hijiya, Liu & Sandlund, 2005, p. 1399).

10. Respuesta temprana al tratamiento

La rapidez con que se eliminan las células leucémicas después de iniciado el tratamiento se relaciona con el desenlace a largo plazo, al igual que el índice de enfermedad residual al final de la inducción. Esta medida tiene un fuerte significado pronóstico debido a que la sensibilidad de las células leucémicas a los fármacos, y la farmacodinamia y farmacogenómica del huésped influyen en la respuesta al tratamiento (Relling & Dervieux, 2001, p. 99).

Se han utilizado varias maneras de evaluar la respuesta de las células leucémicas al tratamiento, entre ellas las siguientes:

a. Respuesta de la médula ósea en el día 7 y el día 14

Los pacientes con una reducción rápida de células leucémicas a menos de 5% en su médula ósea en un plazo de 7 o 14 días después de iniciarse una quimioterapia multifarmacológica, tienen un pronóstico más favorable que los pacientes que eliminan las células leucémicas de la médula ósea más lentamente (Gaynon, Desai & Bostrom, 1997, p. 1719).

b. Respuesta de la sangre periférica a la profase esteroide

Los pacientes con una reducción del recuento de blastos periféricos a menos de 1.000/ μ l después de una profase de inducción de siete días con prednisona y una dosis de metotrexato intratecal (buena respuesta a la prednisona) tienen un pronóstico más favorable que los pacientes cuyo recuento de blastos periféricos permanece por encima de 1.000/ μ l (respuesta precaria a la prednisona). Una respuesta precaria de la prednisona se observa en menos de 10% de los pacientes. La estratificación de tratamientos para los protocolos del grupo alemán de ensayos clínicos Berlin-Frankfurt-Münster (BFM) se basa parcialmente en la respuesta temprana a la profase de inducción de siete días con prednisona (administrada inmediatamente antes de iniciar la inducción multifarmacológica de la remisión). Los

pacientes sin blastos circulantes el día 7 tienen un desenlace mejor que aquellos pacientes cuyas concentraciones de blastos oscilan entre 1 y 999/ μ l (Aricò, Basso & Mandelli, 1995, p. 1687).

c. Respuesta de la sangre periférica a la terapia multifarmacológica de inducción

Los pacientes con circulación persistente de células leucémicas después de 7 a 10 días de iniciada la quimioterapia multifarmacológica tienen un aumento del riesgo de recaída en comparación con los pacientes que eliminan los blastos periféricos en la semana inicial de la terapia. Se halló que la tasa de eliminación de los blastos periféricos tiene importancia pronóstica para las LLA, tanto de linaje T como de linaje B (Griffin, Shuster & Buchanan, 2000, p. 794).

d. Fracaso de la inducción

La vasta mayoría de niños con LLA logran una remisión morfológica completa al final del primer mes de tratamiento. La presencia de más de 5% de linfoblastos al final de la fase de inducción se observa hasta en 5% de los niños con LLA. Los pacientes con riesgo alto de fracaso son aquellos con el fenotipo de células T (especialmente sin una masa mediastínica) y los pacientes que padecen de LLA de células B precursoras con un recuento muy alto de leucocitos o cromosoma Filadelfia. El fracaso de la inducción presagia un desenlace muy precario. En el estudio francés FRALLE 93, la tasa de SG a cinco años de los pacientes cuya inducción fracasó fue de 30% (Oudot, Auclerc & Levy, 2008, p 1498).

e. Determinación de la enfermedad residual mínima

La evaluación morfológica de la leucemia residual en la sangre o la médula ósea es a menudo difícil y es relativamente insensible. Tradicionalmente, se usó un límite de 5% de blastos en la médula ósea (detectados por microscopía óptica) para determinar el estado de la remisión. Esto corresponde a una concentración de 1 en 20 células malignas. Si se desea detectar concentraciones más bajas de células leucémicas en la sangre o la médula ósea, es necesario utilizar técnicas especializadas tales como los ensayos de RCP , que determinan reordenamientos únicos de genes Ig/TCR, transcripción de fusiones producida mediante translocaciones cromosómicas o ensayos de citometría de flujo, que detectan inmunofenotipos específicos de leucemia. Con estas técnicas, es posible detectar tan poco como una sola célula leucémica en 100.000 células normales, y ERM en concentraciones de una en 10,000 células

de forma rutinaria. En múltiples estudios se demostró que la ERM al final de la inducción es un factor pronóstico importante e independiente del desenlace en niños y adolescentes con LLA. La respuesta de la ERM discrimina el desenlace en subgrupos de pacientes definidos por edad, recuento de leucocitos y anomalías citogenéticas (Yvan, Seriu & Panzer-Grümayer, 1998, p. 1733).

Los pacientes con índices más altos de ERM al final de la inducción tienen pronósticos más precarios que aquellos con índices más bajos o indetectables. Casi todos los grupos utilizan la ERM al final de la inducción como factor determinante de la intensidad del tratamiento de postinducción: los pacientes con índices más altos se asignan a terapias más intensivas. Los índices tempranos de ERM (por ejemplo en los días 8 y 15 de la inducción) y posteriores (por ejemplo, en la semana 12 de la terapia) también predicen el desenlace (Yvan y otros, 1998, p. 1733).

También se usaron las mediciones de ERM junto con otras características presentes para identificar subgrupos de pacientes con un riesgo de recaída extremadamente bajo. El COG notificó un pronóstico muy favorable (SSC a cinco años de $97\% \pm 1\%$) para pacientes con fenotipo de células B precursoras, categoría de riesgo estándar de edad y recuento de leucocitos del NCI, estado SNC 1 y anomalías citogenéticas favorables (hiperdiploidia alta con trisomías favorables o fusión del ETV6-RUNX1) que tenían índices de ERM de menos de 0,01% tanto en el día 8 (en la sangre periférica) como al final de la inducción (en la médula ósea). Aunque la ERM es el factor pronóstico más importante para determinar el desenlace, no hay datos que muestren de modo concluyente que la terapia sustentada en la determinación de la ERM mejore significativamente el desenlace en la LLA recién diagnosticada (Yvan y otros, 1998, p. 1733).

11. Estado nutricional

La predominancia de la desnutrición en niños con LLA en el diagnóstico no está bien establecida debido a varios factores de confusión, como definiciones del estado nutricional, la amplia variedad de medidas para su valoración, la selección, las preferencias de selección por edad y periodo. Por lo tanto son necesarios más estudios que definan el impacto del estado nutricional en el pronóstico (Andrassy & Chwals 1998. p. 124-129).

H. TRATAMIENTO DE LA LLA

Un subconjunto de los factores de pronósticos conocidos (por ejemplo, edad, WBC al momento del diagnóstico, presencia de anormalidades citogenéticas específicas) se usan en la estratificación inicial de los niños con LLA (Relling & Dervieux, 2001, p. 101).

La aplicación de factores biológicos como (por ejemplo, desplazamientos cromosómicos específicos y hipodiploide) puede identificar grupos de pacientes con una tasa de supervivencia de resultados esperados que varía de menos del 40% a más del 85%. Generalmente existen ensayos clínicos disponibles para niños con LLA, con protocolos específicos diseñados tanto para niños con un riesgo de fracasar al tratamiento considerado estándar o (bajo) como para aquellos con riesgo alto de fracasar al tratamiento. Los ensayos clínicos para niños con LLA están generalmente diseñados para comparar la terapia que en ese momento se considera estándar para un grupo de riesgo particular, con un enfoque de tratamiento potencialmente mejor que podría mejorar los resultados en cuanto a supervivencia o disminuir la toxicidad relacionada con el régimen de tratamiento estándar. Muchos de los avances terapéuticos que han dado como resultado un aumento en la tasa de supervivencia de niños con LLA, han sido logrados a través de ensayos clínicos a nivel nacional, y resulta apropiado el ofrecerle tanto a niños como adolescentes con LLA, que participen en estos ensayos. Además, se requiere planificar un tratamiento que conste de un equipo multidisciplinario de especialistas en cáncer pediátrico con experiencia y habilidad en el tratamiento de las leucemias pediátricas para determinar e implementar el mejor tratamiento. El mejor lugar para llevar a cabo este tratamiento es en un centro oncológico pediátrico (Relling y otros, 2001, p. 102).

El éxito en el tratamiento de la LLA requiere el control de la enfermedad sistémica (de la médula, el hígado y el bazo, los nódulos linfáticos, etc.) así como el tratamiento (o prevención) de la enfermedad extramedular, particularmente en el SNC. Sólo el 3% de los pacientes tienen comprometido el SNC mediante el criterio aceptado al momento del diagnóstico (≥ 5 GB/mm³ con presencia de células de linfoblastos), sin embargo, a menos que se administre una terapia dirigida específicamente al SNC (administración intratecal de medicamentos, irradiación craneal, quimioterapia sistémica de dosis elevada con metotrexate o citarabina), de un 50 a un 70% o más de los niños padecerá tarde o temprano leucemia

manifiesta del SNC. Por lo tanto, todos los niños con LLA deberían recibir quimioterapia de combinación sistémica y profilaxis del SNC. Los pacientes con leucemia establecida en el SNC en el momento del diagnóstico requieren la administración de terapia intratecal seguida de irradiación craneal con o sin radiación espinal (Veerman, Hählen & Kamps, 1996, p. 911).

El tratamiento de los niños con LLA se divide en etapas: (Veerman y otros, 1996, p. 911)

- Inducción a la remisión,
- Tratamiento post-remisión o consolidación
- Terapia de mantenimiento ó continuación.

Cada una de estas etapas del tratamiento son esenciales para un resultado exitoso. En todos los pacientes se lleva a cabo una fase de intensificación de la terapia después de una inducción a la remisión. La intensidad, tanto de la terapia de inducción como postinducción se determina mediante factores de pronósticos clínicos y biológicos que se utilizan para las asignaciones de tratamiento basadas en el riesgo. La duración media de la terapia de mantenimiento en los niños con LLA, varía entre 2 y 3 años (Veerman, y otros, 1996, p. 911).

Los regímenes actuales para niños menores de dos años de edad con LLA, emplean enfoques de tratamientos intensificados y podrían ofrecer control de la enfermedad, comparados con los enfoques menos intensivos utilizados previamente, pero se desconocen los resultados a largo plazo así como su toxicidad. Ciertos niños con LLA mayores de un año de edad, también tienen menos del 50% de probabilidades de remisión a largo plazo con la terapia actual por ejemplo t(9;22), LLA positivo al cromosoma Filadelfia y pacientes con linfoblastos hipodiploides) (Veerman y otros, 1996, p. 912).

En estos pacientes se podría tomar en cuenta el llevar a cabo un trasplante de médula ósea alogénica de un hermano con el mismo antígeno de histocompatibilidad a la primera remisión. Sin embargo, los trasplantes entre donantes hermanos con el mismo antígeno de histocompatibilidad, no han demostrado ser beneficiosos en pacientes que han sido catalogados como de alto riesgo solamente por su conteo de WBC, género y edad. Ya que la mielosupresión y la inmunosupresión generalizada es una consecuencia prevista tanto de la leucemia como de su tratamiento con quimioterapia, es imperativo que los pacientes sean vigilados cuidadosamente durante el tratamiento. Debe haber instalaciones adecuadas

inmediatamente disponibles tanto para apoyo hematológico como para el tratamiento de complicaciones infecciosas en todas las fases del tratamiento a la leucemia (Veerman y otros, 1996, p. 912).

1. Quimioterapia de inducción

El régimen de inducción con tres fármacos (vincristina, prednisona/dexametasona y L-asparaginasa) además de terapia intratecal (IT), ha dado resultados en las tasas de remisión completa de más del 95%. En pacientes considerados de alto riesgo, un régimen de inducción más intenso (con 4 ó 5 agentes) da un mejor resultado de supervivencia libre de eventos; y los pacientes de "alto riesgo" generalmente reciben terapia de inducción que incluye una antraciclina por ejemplo daunomicina, además de la vincristina, prednisona/dexametasona y L-asparaginasa. Para los pacientes que tienen un bajo riesgo o un riesgo promedio de no responder a la terapia, el añadir una antraciclina a una terapia de inducción de 3 fármacos no parece ser necesario para obtener unos resultados favorables, siempre y cuando se administre una terapia intensificada postremisión adecuada. Debido a las probabilidades de que ocurra un incremento en la toxicidad cuando se añade una antraciclina a una terapia de inducción de 3 fármacos, la mayoría de los centros tratan a sus pacientes promedios o de bajo riesgo con prednisona/dexametasona, vincristina and L-asparaginasa y reservan el uso de los regímenes de inducción que usan 4 o más agentes para paciente de mayor riesgo. Se prefiere la dexametasona sobre la prednisona en pacientes más jóvenes con LLA esto, según datos obtenidos en un estudio del Children's Cancer Group (CCG, por sus siglas en inglés), en el cual se comparó la dexametasona con la prednisona en niños de 1 a 9 años de edad con LLA de bajo riesgo (Veerman y otros, 1996, p. 913).

Si existe algún beneficio en usar dexametasona en la terapia de inducción entre adolescentes es algo que requiere investigación, debido a un aumento en el riesgo de una necrosis aséptica inducida por esteroides en el grupo comprendido en esta edad. La dexametasona debe emplearse con cuidado en aquellos pacientes que reciben terapia de inducción intensiva (de más de 3 fármacos) ya que su uso parece aumentar la frecuencia y severidad de complicaciones infecciosas (Veerman y otros, 1996, p. 915).

Existen varias formas de L-asparaginasa disponibles para usarse en el tratamiento de los niños con LLA, la L-asparaginasa *E. coli* es la más usada. La pegaspargasa representa una

forma alternativa de la L-asparaginasa en la que la enzima *E. coli* está modificada por el adjunto covalente glicol polietileno. La pegaspargasa tiene una vida media sérica mucho más larga que la L-asparaginasa *E. coli* nativa, lo cual le permite propiciar una reducción de la asparagina con una administración menos frecuente. Una dosis única intramuscular de pegaspargase administrada conjuntamente con vincristina y prednisona durante la terapia de inducción, parece tener una actividad y toxicidad similar a la de 9 dosis de L- asparaginasa *E. coli* intramuscular (3 veces a la semana por 3 semanas). En general, los pacientes lograrán una remisión completa en las primeras 4 semanas. Los pacientes que requieren más de 4 semanas para lograr una remisión tienen un pronóstico precario (Veerman y otros, 1996, p. 917).

El resultado también es menos favorable para los pacientes que muestran más del 25% de blastos en la médula ósea o blastos persistentes en la sangre periférica después de 1 semana de terapia de inducción intensiva, los protocolos del Children's Cancer Group (CCG) basan su decisión de tratamiento en la respuesta de la médula ósea en el 7mo día (para protocolos de alto riesgo) o en la respuesta de la médula ósea en el 14avo día (para protocolos de riesgo promedio) (Veerman y otros, 1996, p. 918).

2. Leucemia linfoblástica aguda infantil en remisión

Una vez lograda una remisión, le sigue un período de tratamiento sistémico en conjunción con el SNC. La intensidad de la quimioterapia postinducción inmediata varía de manera considerable, pero todos los pacientes reciben cierta forma de "intensificación" después de lograda la remisión y antes de comenzar la terapia de mantenimiento continua. La intensificación podría constar con el uso de metotrexato intermedio o de alta dosis, el uso de fármacos similares a los usados para lograr la remisión, el uso de combinaciones diferentes de fármacos de resistencia cruzada poco conocida hacia la combinación de fármacos utilizada en la terapia de inducción, el uso extendido de altas dosis de L- asparaginasa, o combinaciones de las arriba mencionadas. En los niños con enfermedad de riesgo promedio, se ha hecho un intento de limitar la exposición a fármacos, tales como la antraciclinas y agentes alquilantes, los cuales están relacionados con un aumento en el riesgo de desarrollar efectos tóxicos tardíos. Por ejemplo, se han usado regímenes con un número limitado de cursos de metotrexato intermedio o de alta dosis en niños con LLA con buenos resultados. Otro enfoque de tratamiento para reducir los efectos tardíos de la terapia, utiliza antraciclinas y agentes alquilantes, pero limita la dosis cumulativa a una cantidad no relacionada con una toxicidad

substantial a largo plazo. Un ejemplo de este enfoque es el uso de la "intensificación tardía," en la que los pacientes reciben un régimen de reinducción basado en la antraciclina y una reconsolidación que contiene ciclofosfamida, aproximadamente 3 meses después de lograda la remisión (Gaynon, Desai & Bostrom, 1997, p. 1717).

El uso de intensificación tardía mejora los resultados en niños con LLA de riesgo promedio, en comparación con la lograda sin la fase de intensificación. Dos bloques de intensificación retardada podrían mejorar el resultado para algunos pacientes con un ALL de riesgo estándar, aunque se necesita llevar a cabo más estudios para determinar cuáles son los pacientes que se benefician de una terapia adicional. En los pacientes de alto riesgo, se ha usado un sin número de enfoques de eficacia comparable. El tratamiento de pacientes de alto riesgo, generalmente incluye bloques de terapia intensificada, tales como los de bloques de intensificación tardía (reinducción/reconsolidación) usada por el Children's Cancer Group (CCG) y por el grupo alemán Berlín-Frankfurt-Munster (BFM). Para los pacientes de alto riesgo, con una respuesta lenta a la terapia temprana (M3 medular al séptimo día de la terapia de inducción), la terapia BFM aumentada parece mejorar los resultados (Gaynon y otros, 1997, p. 1718).

IV. JUSTIFICACIÓN

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es una enfermedad maligna que es caracterizada por una proliferación descontrolada de células linfoides inmaduras, que invaden la médula ósea bloqueando la hematopoyesis normal.

Su expresión clínica es variable ya que se reconocen diferentes subtipos de acuerdo a las características biológicas y marcadores moleculares. Nuestro país no cuenta con cifras en cuanto a la incidencia.

El proyecto Fodecyt 48-2009, el cual se realizó en el Instituto de Investigación de Enfermedades Genéticas y Metabólicas (INVEGEM) durante el periodo comprendido de agosto de 2010 a agosto de 2011, permitió diagnosticar un promedio de 177 casos de LLA en un grupo de niños de la Unidad Nacional de Oncología Pediátrica (UNOP), tanto del área rural como urbana del país. Dicho estudio permitió la creación de una base de datos sólida la cual reúne información clínica, demográfica y genética de los pacientes.

Se estima que en Guatemala son diagnosticados anualmente 600 nuevos casos de niños con leucemia, y que hay indicios de un aumento en el número de casos. Con base en esa investigación, la intención principal del presente estudio es realizar un análisis comparativo con la información existente, estableciendo relaciones entre los datos hematológicos, genéticos y demográficos. Además tiene por objetivo reconocer si existen patrones específicos de asociación entre los mismos, que pueden ser utilizados como una herramienta valiosa para estudios posteriores sobre LLA en la población infantil guatemalteca.

V. OBJETIVOS

A. GENERAL

1. Determinar las características clínicas, demográficas y moleculares de pacientes pediátricos diagnosticados con leucemia linfoblástica aguda en Guatemala.

B. ESPECÍFICOS

1. Establecer las relaciones entre características clínicas, demográficas y moleculares en pacientes que fueron diagnosticados con leucemia linfoblástica aguda en diferentes instituciones públicas de Guatemala.

2. Determinar la frecuencia de leucemia linfoblástica aguda según el área demográfica en Guatemala.

3. Identificar las características clínicas, moleculares y de laboratorio de pacientes diagnosticados con leucemia linfoblástica aguda según edad y sexo.

4. Relacionar los resultados de la presente investigación, con las características de pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda publicadas en otras regiones del mundo.

VI. MATERIALES Y METODOS

A. UNIVERSO

Registro de datos, demográficos, hematológicos y genéticos de los pacientes que fueron diagnosticados con leucemia linfoblástica aguda (LLA), que asistieron a la Unidad de Oncología Pediátrica de Guatemala (UNOP), Hospital Roosevelt y Hospital San Juan de Dios, durante el período de agosto de 2010 y agosto de 2011.

1. Población

Pacientes diagnosticados con LLA en Guatemala.

2. Muestra

Registro de 100 pacientes que fueron diagnosticados con LLA del proyecto FODECYT 48-2009* "Detección por PCR MULTIPLEX- de los transcritos quiméricos BCR-ABL, E2A-PBX1, MLL-AF4, ETV6-AML1; y su utilidad como factor pronóstico en pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda", durante el período de agosto de 2010 y agosto de 2011.

B. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

1. Criterios de Inclusión

a. Registro de los resultados de los pacientes diagnosticados con LLA comprendidos entre las edades de 0 a 25 años, previamente identificadas presentando la boleta de recolección de datos (datos clínicos, nombre, edad, sexo y lugar de procedencia), así como la firma de consentimiento informado para participar en el estudio por parte de los padres o tutores del paciente.

b. Registro de los resultados del estudio molecular realizado a los pacientes diagnosticados con LLA obtenidos del proyecto FODECYT 48-2009.

c. Registros de resultados de pacientes del Proyecto FODECYT 48-2009 comprendidos entre el periodo de agosto 2010 a agosto 2011.

2. Criterios de Exclusión

a. Registros de resultados de pacientes con otro tipo de leucemias (leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica crónica, entre otras), enfermedades como linfoma de Hodkin, mielomas, etc.

b. Pacientes que fueron diagnosticados con LLA fuera del período del estudio del Proyecto FODECYT 48-2009.

c. Pacientes diagnosticados durante el período del estudio FODECYT 48-2009 para los cuales el expediente no cuenta con todos los datos que serán analizados en el presente estudio.

*Para la recolección de datos se tomaron en cuenta algunos pacientes en edad no pediátrica que fueron aceptados en el estudio del proyecto FODECYT 48-2009.

C. RECURSOS

1. Humanos

Estudiantes:

Lilian Granados y Estuardo Alvarado.

Asesoras:

Dra. Claudia Carranza y MSc. Rosario Hernández.

2. Institucionales

Instituto de Investigación de Enfermedades Genéticas y Metabólicas (INVEGEM) y la Unidad de Oncología Pediátrica de Guatemala (UNOP).

3. Físicos

Computadora con software para tabular los datos, memoria USB, escritorio de mesa, hojas bond tamaño carta, lapiceros, folders, impresora.

D. METODOLOGÍA

1. Tamaño de muestra

Se tomaron todos los casos que cumplieron con los criterios de inclusión, durante el periodo comprendido entre agosto 2010 y agosto 2011.

2. Tipo de estudio

Se realizó un estudio descriptivo de carácter retrospectivo.

3. Análisis estadístico

VARIABLES DE INTERÉS.

a. Cualitativas:

Género, procedencia, presencia/ ausencia de los transcritos BCR-ABL, PBX-E2A, ETV6-AML1 y MLL-AF4.

b. Cuantitativas:

Edad, recuento de glóbulos blancos, plaquetas, hemoglobina, hematocrito de cada paciente.

4. Análisis de datos

a. Se elaboró una base de datos con la información obtenida (recuentos hematológicos, demográficos y moleculares) utilizando el programa EPI-INFO 2000, en la cual se midieron las variables estadísticas media, mediana, moda, rango, desviación estándar, además se realizó la determinación de frecuencias absolutas, porcentajes y tablas de contingencia.

Para el análisis de tablas de contingencia, se compararon variables cualitativas (género, procedencia y presencia / ausencia de transcritos moleculares), y variables cuantitativas (edad, recuento de glóbulos blancos, plaquetas y hemoglobina) para determinar si existe cierta asociación entre las mismas.

b. Se elaboraron tablas y gráficas para su respectiva visualización e interpretación.

5. Técnicas, procedimientos utilizados en la recolección de datos

a. Técnicas

i. Se realizó una revisión sistemática de los libros de registros utilizados en el Laboratorio de Biología Molecular del INVEGEM durante el período de agosto 2010 a agosto 2011.

ii. Se realizó una revisión sistemática de los expedientes clínicos (hematología, resultados pruebas moleculares) de los pacientes con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda.

b. Procedimiento

i. Se elaboró una boleta de recolección de los datos con la información de cada paciente, incluyendo datos hematológicos, moleculares y demográficos (Anexo No 1).

ii. A los pacientes que presentaron falta de algún tipo de información, se procedió a ir a recolectar la misma a la Institución correspondiente, ya sea UNOP, Hospital Roosevelt y Hospital San Juan de Dios.

c. Aspectos éticos de la investigación

En el estudio se recolectaron los datos de los expedientes clínicos de los pacientes y toda la información fue manejada confidencialmente.

VII. RESULTADOS

En el presente estudio se recolectaron datos de 100 pacientes con diagnóstico de LLA. Los datos incluyen: características demográficas (edad, género y lugar de procedencia), características a nivel molecular como la presencia o ausencia de marcadores moleculares de LLA (BRC-ABL, PBX-E2A, ETV6-AML1 y MLL-AF4), y características clínicas como los parámetros hematológicos básicos (recuento de glóbulos blancos, hemoglobina, plaquetas).

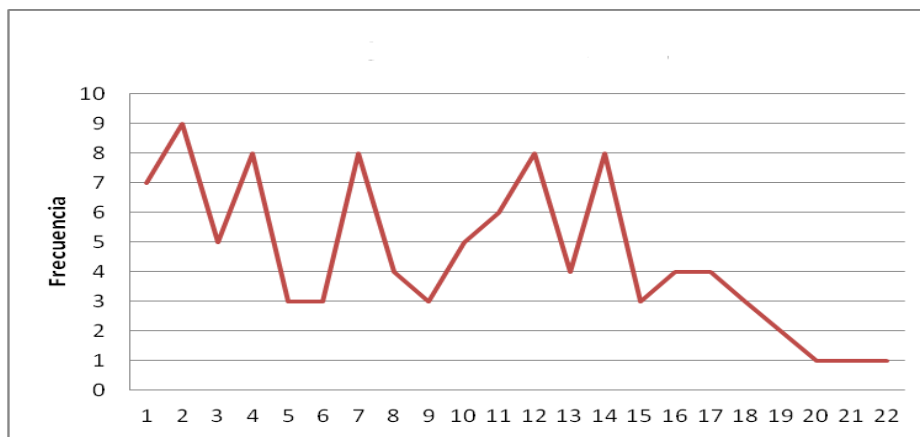
La edad media de los pacientes fue de 9 años con una tasa de 1.5 hombres por cada mujer (60:40), siendo la edad mínima registrada de 1 año y la máxima de 23 años, el rango edad en que se observó mayor cantidad de casos de LLA fue de 1 a 10 años (55%). (Tabla No. 1, Gráfica No. 1).

Tabla No. 1. Características demográficas y clínicas en pacientes diagnosticados con LLA

	Total de pacientes	Pacientes en los que no se detectó translocación
Número de pacientes	100	83
Género		
Masculino	60	51
Femenino	40	32
Edad		
< 1	0	0
1-10	55	44
> 10	45	39
Media ± SD	9.3 ± 5.71	9.27 ± 5.85
Mediana (rango)	9.5 (1-23)	10 (1-22)
Coefficiente de variación	0.61	0.63
Recuento de glóbulos blancos		
< 5,000/mm ³	31	29
5,000-10,000/mm ³	17	11
10,001-50,000 /mm ³	20	20
>50,000/mm ³	32	23
Media ± SD	50,847 ± 83,095	45,128 ± 83,363
Mediana (rango)	10,575 (440-543,560)	10,530 (440-543,560)
Coefficiente de variación	1.63	1.85
Hemoglobina		
<11.5 g/dL	91	77
11.51-16.0 g/dL	9	6
>16.1 g/dL	0	0
Media ± SD	8.25 ± 2.39	8.19 ± 2.33
Mediana (rango)	8.51 (2.10-13.30)	8.40 (2.10-13.30)
Coefficiente de variación	0.29	0.28
Recuento de plaquetas		
< 140,000 / mm ³	88	73
140,001- 550,000 / mm ³	11	9
>550,000 /mm ³	1	1
Media ± SD	66,986 ± 91,757	68,646 ± 95,919
Mediana (rango)	34,500 (1,000-711,000)	36,000 (1,000-711,000)
Coefficiente de variación	1.37	1.40

Fuente: Datos experimentales

Gráfica No.1 Frecuencia de edad en pacientes con LLA

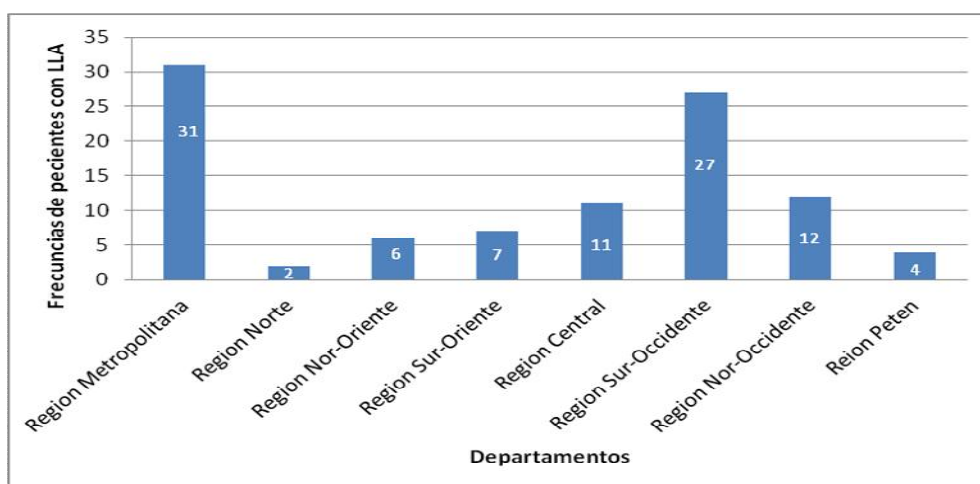


Fuente: Datos experimentales

EDAD

Según la procedencia geográfica de los pacientes, se dividió el país en ocho regiones, de las cuales se observó que la zona metropolitana presentó la mayor frecuencia de los casos con 31%, seguida de la región suroccidente con una frecuencia de 27%, en menor frecuencia se encuentra la región norte con 2 casos de LLA. En lo que respecta a los pacientes con marcador molecular positivo, se identificaron 3 pacientes del área Metropolitana con ETV6-AML1 y 3 pacientes del área Suroccidente con BCR-ABL. Los demás casos positivos incluyendo el marcador molecular PBX-E2A se encontraron distribuidos en menor frecuencia en las regiones Sur Oriente, Central, Nor-Occidente y Petén (Gráfica No. 2).

Gráfica No.2 Distribución de frecuencias de pacientes con LLA, según su lugar de procedencia



Fuente: Datos experimentales

Fuente: datos experimentales. Datos INE: **Región Metropolitana:** Guatemala. **Región Norte:** Alta Verapaz, Baja Verapaz. **Región Nor-Oriente:** El Progreso, Izabal, Zacapa, Chiquimula. **Región Sur-Oriente:** Santa Rosa, Jalapa, Jutiapa. **Región Central:** Sacatepéquez, Chimaltenango, Escuintla. **Región Sur-Occidente:** Sololá, Totonicapán, Quetzaltenango, Suchitepéquez, Retalhuleu, San Marcos. **Región Nor-Occidente:** Huehuetenango, Quiché. **Región Peten:** Peten.

Características hematológicas como anemia, recuentos anormales de glóbulos blancos y trombocitopenia se presentan normalmente en el diagnóstico clínico de la LLA. El 32% de los pacientes presentaron un recuento mayor de 50,000 glóbulos blancos/mm³, con una media de 50,847 glóbulos blancos/mm³, desviación estándar de $\pm 83,095$ glóbulos blancos/mm³, y una mediana de 10,575 glóbulos blancos/mm³ (Tabla No. 1).

En relación a la hemoglobina el 91% del total de pacientes tenían un recuento menor de 11.5 gramos por decilitro (g/dL) con valores de media y desviación estándar de 8.25 ± 2.39 g/dL y una mediana de 8.51 g/dL; en cuanto a las plaquetas, el 88% tenían un recuento menor de 140,000 células por mililitro cubico (cel/mm³), con una media $66,986 \pm 91,757$ cel/mm³ (Tabla No. 1).

El análisis molecular de las alteraciones genéticas presentes en las células leucémicas contribuye al entendimiento de la patogénesis de la LLA. En el estudio se determinó la presencia de los marcadores moleculares BCR/ABL, ETV6-AML1, E2A-PBX y MLL-AF4, los cuales pueden estar asociados a diferentes grados de severidad de la enfermedad, cabe resaltar que no se encontró ningún caso positivo para el transcrito MLL-AF4 por lo cual no se incluyó en la tabla de resultados.

De los pacientes diagnosticados con la presencia del marcador molecular BCR/ABL, el sexo masculino predominaba en 5 pacientes (62%), contrario a los que presentaban el marcador molecular E2A-PBX, en el cual se evidenció una relación de 3:1 de mujeres con respecto a hombres (75%). En cuanto a la edad, el rango predominante fue de 1 a 10 años en los pacientes que presentaban los marcadores moleculares BCR/ABL y ETV6-AML con 6 (75%) y 3 (60%) casos respectivamente. La edad media de los pacientes con la presencia del marcador molecular ETV6-AML1 fue de 11 ± 7.18 años siendo superior a los pacientes con los demás transcritos positivos (Tabla No. 2).

En el caso de los glóbulos blancos, 5 (63%) pacientes que presentaban el marcador BCR/ABL y 3 (75%) con el marcador E2A-PBX tenían valores superiores a las 10,000 glóbulos blancos/mm³ y una media superior a los $91,427 \pm 85,010$ glóbulos blancos/mm³, contrario a los pacientes que presentaban el marcador ETV6-AML de los cuales 4 (80%)

mostraban recuentos de 5,000 a 10,000 glóbulos blancos/mm³ y una media de 31,950 ± 50,901 glóbulos blancos/mm³ (Tabla No. 2).

Tabla No. 2. Distribución de los pacientes según las características demográficas y clínicas y su relación a la presencia de marcador molecular

	Marcador molecular		
	BCR/ABL	ETV6-AML	E2A-PBX1
Número de pacientes	8	5	4
Genero			
Masculino	5	3	1
Femenino	3	2	3
Edad			
< 1	0	0	0
1-10	6	3	2
> 10	2	2	2
Media ± SD	8.38 ± 4.69	11 ± 7.18	9.50 ± 3.70
Mediana (rango)	7 (4-17)	8 (5-23)	9 (6-14)
Coefficiente de variación	0.56	0.65	0.39
Recuento de glóbulos blancos			
< 5,000/mm ³	2	0	0
5,000-10,000/mm ³	1	4	1
10,001-50,000 /mm ³	0	0	0
>50,000/mm ³	5	1	3
Media ± SD	91,427 ± 85,010	31,950 ± 50,901	111,965 ± 81,959
Mediana (rango)	90,305 (1,005-214,390)	9,520 (8,360-123,000)	122,080 (7,280-196,420)
Coefficiente de variación	0.93	1.59	0.73
Hemoglobina			
<11.5 g/dL	6	4	4
11.51-16.0 g/dL	2	1	0
>16.1 g/dL	0	0	0
Media ± SD	8.32 ± 3.32	9.88 ± 1.85	7.43 ± 2.31
Mediana (rango)	8.95 (2.70-12.20)	8.90 (8.0-12.20)	7.50 (4.90-9.80)
Coefficiente de variación	0.40	0.19	0.31
Recuento de plaquetas			
< 140,000 / mm ³	8	3	4
140,001- 550,000 / mm ³	0	2	0
>550,000 /mm ³	0	0	0
Media ± SD	38,745 ± 49,686	120,800 ± 89,578	21,750 ± 11,871
Mediana (rango)	14,000 (2,000-125,020)	95,000 (28,000-225,000)	21,500 (11,000-33,000)
Coefficiente de variación	1.28	0.74	0.55

Fuente: Datos experimentales

En lo que respecta a la hemoglobina, 14 de los 17 pacientes con translocaciones positivas tenían valores menores a 11.5 g/dL. En el recuento de plaquetas se observó que el 100% de los pacientes que presentan los marcadores moleculares BCR/ABL y E2A/PBX1 tuvieron un recuento por debajo del valor normal (140,000 a 550,000 cel/mm³) con media de $38,745 \pm 49,686$ cel/mm³ y $21,750 \pm 11,871$ cel/mm³, respectivamente. Por el contrario se observó que dos pacientes con marcador molecular ETV6-AML, presentaron un recuento de plaquetas entre 140,001 y 550,000 cel/mm³ (40%), el promedio de recuento de plaquetas para los pacientes con este marcador positivo fue de $120,800 \pm 89,578$ cel/mm³ (Tabla No. 2).

Por otro lado, se establecieron comparaciones pareadas y cálculo de *p value* con la prueba de Mann Whitney entre pacientes con ausencia y presencia de los diferentes marcadores moleculares BCR/ABL, ETV6-AML y E2A/PBX en relación a los diferentes parámetros: género, edad, recuento de glóbulos blancos, hemoglobina y plaquetas, y así mismo entre los diferentes marcadores moleculares. El único valor significativo de $p = 0.048$ fue determinado entre los marcadores moleculares BCR/ABL y ETV6-AML en relación al recuento de plaquetas, lo que demuestra asociación entre un marcador molecular de buen pronóstico (ETV6-AML) y el recuento normal de plaquetas (recuento mayor de 140,000 cél/mm³), y un marcador molecular de mal pronóstico (BCR-ABL) con el recuento anormal de plaquetas (recuentos menores de 140,000 cél/mm³).

Se realizó el análisis de regresión logística multinomial empleando el modelo de razón de verosimilitud (-2logRV) para encontrar asociación entre las variables clínicas (recuento de glóbulos blancos, plaquetas y hemoglobina) y demográficas (sexo) en función con la presencia de marcadores moleculares. Se consideró que existía asociación entre las variables si la razón de verosimilitud era de 1.0, y ausencia de asociación (no asociación), si la razón de verosimilitud era 0.0. Todos los valores encontrados fueron menores a 0, lo que indicó que en conjunto esas variables no representaron ninguna asociación con la presencia de marcadores moleculares. (Tabla No. 3).

Tabla No. 3. Análisis razón de verosimilitud (RV) entre diferentes características clínicas y la presencia de marcadores moleculares.

Variables analizadas en presencia de los marcadores moleculares BCR-ABL, PBX-E2A, ETV6-AML1	Análisis RV (-2logRV)	p value	Resultado significativo si RV =1 y p value <0.05
Glóbulos blancos	33.802 (-3.057)	0.061	No significativo
Plaquetas	28.706 (-2.916)	0.785	No significativo
Hemoglobina	28.238 (-2.902)	0.897	No significativo
Sexo	28.518 (-2.910)	0.586	No significativo

Fuente: Datos experimentales

VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

De los 100 casos de pacientes analizados en el presente estudio se determinó que el 60% pertenecen al sexo masculino, y aunque no ha sido determinada la causa de la predominancia, estas frecuencias son similares a otros países como España y Estados Unidos (Sierrasesúmaga, 2006; The Leukemia and Lymphoma Society, 2011).

En lo que respecta al lugar de procedencia, existe una mayor frecuencia de casos de LLA en el área metropolitana, Sur y Nor-Occidente del país. El 52% de la población que se encuentra en la región Sur y Nor-Occidente se dedica a la agricultura, teniendo contacto con agroquímicos que pudieran resultar carcinógenos, probablemente debido al uso inadecuado de ropa protectora, o bien, en estas regiones los niños probablemente tienden a ser más vulnerables a sufrir enfermedades de tipo infeccioso, sin descartar las enfermedades hematológicas (Censo Nacionales XI de población y VI de habitación 2002, Instituto Nacional de Estadística, INE, Granados, 2013, p. 52-58).

En el área metropolitana pueden estar implicados otros factores de riesgo tales como: radiación no ionizante (antenas de teléfono y de energía eléctrica cerca de las casas de los pacientes), estilo de vida de los padres de familia (fumar, bebidas alcohólicas durante la gestación, medicamentos considerados carcinógenos si se utilizan a largo plazo, entre otros). Debido a que en la ciudad existe una mayor actividad industrial, y una mayor afluencia de vehículos, esto puede contribuir el riesgo a una mayor exposición a contaminantes ambientales que pueden estar cercanos a las viviendas y/o escuelas a donde asisten los pacientes (Sierrasesúmaga, 2006; The Leukemia and Lymphoma Society, 2011).

Los niños con LLA por lo general se tratan según grupos de riesgo definidos tanto por características clínicas como de laboratorio. La intensidad del tratamiento necesario para obtener un desenlace favorable varía de manera sustancial, es por ello que existe un pronóstico de predicción en base a tratamiento, lo cual puede estar ligado a algunos factores demográficos y biológicos como la edad, el recuento de glóbulos blancos, plaquetas y marcadores moleculares los cuales están en posibilidad de predecir si el paciente responderá de forma positiva al tratamiento (buen pronóstico) mejorando su calidad de vida, disminuyendo la recurrencia del cáncer y el riesgo a recaídas, con esto se pueden librar de un tratamiento más intensivo y tóxico; al mismo tiempo, se puede proporcionar un tratamiento

más radical y potencialmente más tóxico a los pacientes que tienen probabilidades más bajas de supervivencia a largo plazo, aumentando el riesgo a recaídas (mal pronóstico) (Smith M, Arthur D, Camitta B, et al., 1996).

Según el Instituto Nacional de Cáncer (National Cancer Institute, NCI), el Grupo De Cáncer Infantil (Children's Cancer Group, CCG) y el Grupo de Oncología Pediátrica (Pediatric Oncology Group, POG) en Estados Unidos, concluyeron que en la clasificación de un buen pronóstico están asociadas características demográficas como la edad, y características clínicas como el recuento de glóbulos blancos y la presencia de marcadores moleculares (translocaciones cromosómicas). En lo que respecta a la edad, se debe incluir a los niños de 1 a 10 años de edad con un recuento de glóbulos blancos menores de 50,000 glóbulos blancos/mm³ al momento del diagnóstico, mientras que un mal pronóstico incluye a los niños menores de 1 año o mayores de 10 años con un recuento de glóbulos blancos mayor de 50,000 glóbulos blancos/mm³ al momento del mismo (Smith y otros, 1996).

Según la Sociedad Americana del Cáncer (American Cancer Society, ACS), la LLA es la leucemia más común que afecta a niños, detectándose con mayor frecuencia entre los 2 y 3 años de edad, en España, el rango de edad oscila entre los 2 y 10 años (Smith MA, Ries LA, Gurney JG, et al. 1999). En el presente estudio, 55 pacientes estaban comprendidos entre las edades de 1 a 10 años (55%), 38 de éstos tenían un recuento de glóbulos blancos menor a 50,000 glóbulos blancos/mm³, asociándolos a un buen pronóstico.

Según la literatura, en España, los niños menores de 12 meses constituyen el 2.5 al 5% de las LLA, sin embargo, en el estudio no se encontró ningún paciente menor a 1 año diagnosticado con la enfermedad. Debido a que la frecuencia es baja en otros países, es probable que en este estudio, con un número tan pequeño de muestra, no se haya podido encontrar ningún paciente en este rango de edad.

La anemia y la trombocitopenia son otro tipo de hallazgos comunes en pacientes recientemente diagnosticados, que muestran grave afección de la médula ósea por las células leucémicas (Sierrasesúmaga. et al., 2006). El 91% de los pacientes analizados presentaron una concentración de hemoglobina menor de 11.5 g/dL y el 88% tenían un recuento de plaquetas menor de 140,000 cel/mm³. La trombocitopenia (recuentos de plaquetas menores de 30,000 cel/mm³) se ha considerado como una situación desfavorable y condiciona un factor

predisponente en la infiltración al sistema nervioso central, ocasionando problemas neurológicos en el paciente de manera irreversible (Cabrera, et.al; 1996). En el estudio el 64% presentaban un recuento de plaquetas menores a $30,000 \text{ cel/mm}^3$ los cuales podrían presentar alguna situación que les afecte el sistema nervioso central.

Según la literatura, las translocaciones cromosómicas se detectan entre el 60 % y 75% de los casos de pacientes con LLA, algunas de estas ayudan a establecer las características pronósticas en pacientes pediátricos, entre las translocaciones más comunes se pueden mencionar: BCR-ABL con una frecuencia del 3 al 5%, PBX-E2A con frecuencia del 5 al 6%, ETV6-AML1 con frecuencia del 5 al 20% y MLL-AF4 con frecuencia del 6 al 10% (Ramos, et.al; 2001). En el estudio, estas translocaciones fueron identificadas en el 17% de los pacientes diagnosticados con LLA, siendo una frecuencia menor a la reportada en la literatura, probablemente porque el tamaño de la muestra utilizada fue muy pequeño.

La translocación más frecuentemente encontrada fue $t(9;22) (q34;q11)$ o expresión BCR-ABL la cual se observó en un 8% del total de los pacientes, la frecuencia se presenta ligeramente mayor comparada con datos de países como España y Estados Unidos donde la frecuencia oscila entre el 3 al 5% de los niños. Este tipo de translocación le confiere un mal pronóstico en cuanto a la respuesta al tratamiento. En lo que respecta a la edad, 6 de los pacientes estaban dentro del rango de 1 a 10 años, la edad no es un factor que oriente a un buen pronóstico en este tipo de marcador molecular, es independiente, esto se puede comparar con características clínicas como el recuento de glóbulos blancos donde la media oscilaba en los $91,427 \text{ glóbulos blancos/mm}^3$, sumado a esto más del 50% de los pacientes presentaron anemia (recuentos de hemoglobina menores de 11.5 g/dL) y el 100% presentaron plaquetas por debajo del valor normal (recuentos de plaquetas menores de $140,000 \text{ cel/mm}^3$), por lo que se necesita un seguimiento más prolongado para determinar si el tratamiento mejora la tasa de curación o solo prolonga la supervivencia.

Por otro lado, según reporta la literatura, la anormalidad cromosómica más común en LLA en niños es la $t(12;21) (p13;q22)$ o expresión ETV6-AML1, es una alteración considerada de buen pronóstico, ya que los pacientes con este transcrito responden muy bien al tratamiento. Existe una variedad de países (Continente Asiático y algunos de Europa) en los cuales se ha reportado una frecuencia del 18 al 30% del total de los casos, sin embargo, en este estudio, este tipo de reordenación cromosómica resultó como la segunda más frecuente con un 5% del

total de pacientes. No obstante, en países como España se ha encontrado con una frecuencia del 2%, y en países como India, Pakistán y Sudan con una baja incidencia del 8%; esto sugiere la posibilidad de compartir polimorfismos genéticos con estos países que presentaron baja frecuencia del marcador molecular.

El rango de edad promedio en los pacientes que presentan el marcador molecular ETV6-AML1 es de 2 a 9 años de edad según varios autores, lo que concuerda con el estudio (60% de los casos se encontraban entre 1-10 años), prevaleciendo en pacientes de género masculino (60% de los pacientes) (Artigas, 2006; Siddiqui, 2010). En lo que respecta a las características clínicas, 4 de los 5 pacientes presentaron un recuento de glóbulos blancos menor a 10,000 glóbulos blancos/mm³, una hemoglobina promedio de 9.88 g/dL y un recuento de plaquetas con una media de 120,800 células/mm³. La evaluación del marcador molecular y características clínicas como el recuento de glóbulos blancos y plaquetas, que se encuentran en rangos relativamente normales, pueden orientar al médico a dar un pronóstico favorable al paciente.

La translocación PBX-E2A t(1;19) se encuentra asociada a un mal pronóstico, no es tan agresivo como el BCR/ABL, pero sí orienta a quimioterapias agresivas. En el estudio se encontró en el 4 % de los pacientes, siendo una frecuencia similar a la reportada en la literatura. En lo que respecta a la edad, el 50% de los pacientes eran mayores de 10 años, además los pacientes con el transcrito PBX-E2A presentaban valores muy altos de recuento de glóbulos blancos con un promedio de 111,965 glóbulos blancos/mm³, además de esto el 100% mostraron valores de hemoglobina y recuento de plaquetas menores a 11.5g/dL y 140,000 cel/mm³ respectivamente, esto se observó asociado a la presencia del marcador molecular positivo, lo que demuestra un pronóstico desfavorable para el paciente como se mencionó anteriormente (Sierrasesúmaga, 2006).

Cada marcador molecular presenta características clínicas que conllevan a un buen o mal pronóstico. Para establecer si existía o no asociación entre variables clínicas y demográficas entre los diferentes marcadores moleculares, se realizó un análisis estadístico con la prueba de Mann Whitney, que permitió establecer un parámetro (*valor p*) significativo o no, entre las variables estudiadas.

A pesar de la baja frecuencia de marcadores moleculares encontrados en el estudio, se logró realizar una comparación entre el marcador molecular BCR-ABL y el recuento de plaquetas, así mismo, entre el marcador molecular ETV6-AML1 y el recuento de plaquetas, encontrando una asociación significativa *p value* 0.048 entre ambas comparaciones. En el estudio, el marcador BCR-ABL, orientado a mal pronóstico, presentó un recuento de plaquetas con una media de 38,745 cel/mm³, así mismo, el marcador molecular ETV6-AML1, orientado a un buen pronóstico, presentó un recuento de plaquetas de 120,800 células/mm³, demostrando que pacientes con el marcador BCR-ABL tienden a tener cuadros clínicos desfavorables en comparación con los pacientes que presentan el marcador molecular ETV6-AML1.

IX. CONCLUSIONES

1. En el grupo de pacientes evaluados en el presente estudio se observó predominancia de pacientes del sexo masculino (60%).
2. La mayoría de pacientes (32%) provenía de la región metropolitana, seguido de la región Sur Occidente con un 27%.
3. La mayor parte de casos analizados correspondieron a pacientes comprendidos entre las edades de 1 a 10 años (55%), frecuencia similar encontrada en España y Estados Unidos.
4. Se encontró anemia en 95% de los pacientes y trombocitopenia en 88% de los pacientes.
5. Solamente el 17% de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda presentaron uno de los cuatro marcadores moleculares estudiados, siendo 8 pacientes positivos para el marcador molecular BCR/ABL, 5 para el ETV6-AML1 y 4 para el PBX-E2A.
6. Ningún paciente evaluado en el estudio presentó el marcador molecular MLL-AF4.
7. La incidencia de los transcritos BCR/ABL y PBX-E2A encontrada fue similar a lo reportado por otros países.
8. Se encontró una asociación significativa entre el recuento de plaquetas y los marcadores moleculares BCR-ABL y ETV6-ABL1 (p value = 0.048), demostrando que pacientes que presentan el marcador BCR-ABL presentan cuadros clínicos más desfavorables en comparación con los pacientes que presentan el marcador molecular ETV6-AML1.

X. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios que permitan establecer la existencia de factores de riesgo específicos para el desarrollo de LLA en población pediátrica de la región Central y Nor-Occidental del país.
2. Ampliar la investigación planteada en el presente estudio a una población mayor para establecer si las tendencias observadas en el presente estudio representan a los pacientes pediátricos con LLA en Guatemala.
3. Realizar un seguimiento clínico de los pacientes incluidos en el estudio para que se tenga una idea real del valor pronóstico de los datos evaluados y así, establecer si los factores pronósticos indicados para otras poblaciones también ofrecen las mismas características para la población guatemalteca.

XI. REFERENCIAS

1. Andrassy R, & Chwals W. (1998). Nutritional support of the pediatric oncology patient. *Nutrition* 124-129.
2. Aricò, M., Basso, G. & Mandelli, F. (1995). Good steroid response in vivo predicts a favorable outcome in children with T-cell acute lymphoblastic leukemia. The Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediátrica (AIEOP). *Cancer* 75 (7): 1684-93.
3. Aricò, M., Valsecchi, M & Camitta, B. (2000). Outcome of treatment in children with Philadelphia chromosome–positive acute lymphoblastic leukemia. 342, 998.
4. Artigas C. (2006). Frecuencia de los genes de fusión TEL/AML 1 y BCR/ABL en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda. *Blood*, 134, 1367-1376.
5. Bennett, J., Catovsky, D. & Daniel, M. (1981). The morphological classification of acute lymphoblastic leukaemia: concordance among observers and clinical correlations. 553-561.
6. Bentz, M., Cabot G., Moos, M., Speicher, M., Ganser, A., Lichter P. & Döhner H. (1994). Detection of Chimeric BCR-ABL Genes on Bone Marrow Samples and Blood Smears in Chronic Myeloid and Acute Lymphoblastic Leukemia by In Situ Hybridization. *Blood*. 1922.
7. Beutler E, Lichtman M, Coller B & Kipps T. (2001) Williams Hematology. 6th ed. New York: McGraw-Hill. 1141-61.
8. Bürger, B., Zimmermann, M. & Mann, G. (2003). Diagnostic cerebrospinal fluid examination in children with acute lymphoblastic leukemia: significance of low leukocyte counts with blasts or traumatic lumbar puncture. *Journal Clin Oncol* 21 (2): 184-188.

9. Cabrera ME, Labra S, Ugarte S, Matutes E, y Greaves M. (1996) Inmunofenotipo, características clínicas y de laboratorio de la leucemia linfoblástica aguda en Chile. *Rev Med Chile*; 124:293-9.

10. Castro, M., Orozco, L., Rueda, E. & Suárez, A. (2007). Epidemiología de la Leucemia Linfoblástica Aguda en pediatría: incidencia, mortalidad y asociaciones causales. *Salud UIS*, 39, 116-123.

11. Concepto *Oncogénesis y Factor medioambiental*, consultado en www.medmol.es/glosario/98/ y www.definicionesdemedicina.org/oncogen

12. Concepto *Enfermedades Hereditarias*, consultado en: www.portalesmedicos.com/diccionario_medico/

13. El ABC de la epigenética, recuperado de: http://www.epigenetica.org/?page_id=150

14. Fauci A, Braunwald E, Isselbacher K, Wilson J & Harrison. (1998) Principios de medicina interna. 4ªed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 781-92.

15. Foroni, L., Harrison, C., Hoffbrand, A. & Potter M. (1999). Investigation of minimal residual disease in childhood and adult acute lymphoblastic leukemia by molecular analysis. 7-24.

16. García, F. (1998). Factores de riesgo: una nada inocente ambigüedad en el corazón de la medicina actual. *Aten Primaria*, 22, 585-595.

17. Gaynon, P., Desai, A. & Bostrom, B. (1997). Early response to therapy and outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia: a review. *Cancer* 80 (9): 1717-1726.

18. Granados, L. (2013). Evaluación de los Factores de Riesgo Medio-Ambientales asociados a la presencia de Leucemia Linfoblástica Aguda y Leucemia Mieloide Crónica en pacientes con Mayor Número de casos positivos para los transcritos BCR-ABL y ETV6-

AML1 en los departamentos de Huehuetenango, Quiché, San Marcos, Quetzaltenango y Guatemala. FODECYT 54-2011, p. 52-58)

19. Griffin, T., Shuster, J. & Buchanan, G. (2000). Slow disappearance of peripheral blood blasts is an adverse prognostic factor in childhood T cell acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group study. *Leukemia* 14 (5): 792-795.

20. Guañabens, C., Soler, J., Pujol- Moix, N., Torras, A., Aventin, A., Grau, E y Badell, I. (1989). Leucemia aguda híbrida. Estudios inmunocitoquímicos e inmunogenotípicos de un caso. *Biol. Clin. Hematol.* 11, 93- 97.

21. Hernández, M. (2005) *Comportamiento Clínico-Epidemiológico de la Leucemia Linfocítica Aguda tratada con el protocolo de Leucemia Linfocítica Aguda 2000, en el Hospital "Manuel de Jesús Rivera", Marzo 2000- Diciembre 2002* (Proyecto de Investigación para optar el título de Médico y Cirujano) Managua: Facultad de Ciencias Médicas, Managua, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua –UNAN-.

22. Hijiya, N., Liu, W. & Sandlund J. (2005). Overt testicular disease at diagnosis of childhood acute lymphoblastic leukemia: lack of therapeutic role of local irradiation. *Leukemia* 19 (8): 1399-1403.

23. Kadan-Lottick, N., Ness, K. & Bhatia, S, (2003). Survival variability by race and ethnicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *JAMA* 290 (15): 2008-2014.

24. Kearney, L. (1999) The impact of the new FISH technologies on the cytogenetics of haematological malignancies.104.

25. Koehler, M., Behm, F. & Shuster J, (1993). Transitional pre-B-cell acute lymphoblastic leukemia of childhood is associated with favorable prognostic clinical features and an excellent outcome: a Pediatric Oncology Group study. *Leukemia* 7 (12): 2064-2068.

26. Langermann, H. J.; Henze, G.; Wulf, M., & Riehm, H. (1982). Assessment of tumor cell load in acute lymphoblastiv leukaemia: *Prognostic significance and practical use.* 209-213.

27. Loh, M. & Rubnitz J. (2002) TEL/AML1-positive pediatric leukemia: prognostic significance and therapeutic approaches. *Curr Opin Hematol.* 345-352.
28. Look, A. (1997). Oncogenic transcription factors in the human acute leukemias. *Science*, 278. 1059-1054.
29. Look, A., Roberson, P. & Williams, D. (1985). Prognostic importance of blast cell DNA content childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 65: 1079-1086.
30. López, B. (1992). Leucemia Linfoblástica. *Enciclopedia Iberoamericana Hematología*, Vol. II España, Ediciones Universidad de Salamanca. 348-361.
31. Maltez, M. (2010). *Hallazgos ecográficos renales en pacientes con diagnóstico reciente de leucemia linfocítica aguda del servicio de Hemato oncología del Hospital Infantil Manuel de Jesús Rivera en el período comprendido de enero a noviembre de 2009* (Proyecto de Investigación para optar el título de Especialista en Radiología General) Managua: Facultad de Ciencias Médicas, Managua, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-UNAN-.
32. Mejia, J., Ortega, M. & Fajardo, A. (2005). Epidemiología de las leucemias agudas en niños. *Revista Médica del IMSS.* 43(5), 401-409.
33. Möricke, A., Zimmermann, M. & Reiter, A., (2005). Prognostic impact of age in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia: data from the trials ALL-BFM 86, 90, and 95. *Klin Padiatr* 217 (6): 310-320.
34. Mustafa M, Winick M, Margraf L. (1997). Epstein-Barr virus lymphoproliferative disorder in children with leukemia: case report and review of the literature. *J Pediatr Hematol Oncol* 19(1): 77-81.

35. Navid, F., Mosijczuk, A. & Head, D. (1999). Acute lymphoblastic leukemia with the (8;14) (q24;q32) translocation and FAB L3 morphology associated with a B-precursor immunophenotype: the Pediatric Oncology Group experience. 135-141.
36. Oudot, C., Auclerc, M & Levy, V. (2008). Prognostic factors for leukemic induction failure in children with acute lymphoblastic leukemia and outcome after salvage therapy: the FRALLE 93 study. *Journal Clin Oncol* 26 (9): 1496-1503.
37. Pui, C., Boyett, J. & Relling, M. (1999). Sex differences in prognosis for children with acute lymphoblastic leukemia. *Journal Clin Oncol* 17 (3): 818-824
38. Pui, C., Crist, W., & Look, A. (1990). Biology and clinical significance of cytogenetic abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 76,1449-1463.
39. Pullen, J., Shuster, J. & Link, M. (1999). Significance of commonly used prognostic factors differs for children with T cell acute lymphocytic leukemia (ALL), as compared to those with B-precursor ALL. *A Pediatric Oncology Group (POG) study. Leukemia* 13 (11), 1696-1707.
40. Rabin, K., Whitlock, J.(2009). Malignancy in children with Trisomy 21. *The Oncologist*, 14,164-173.
41. Radich, J. (2000). Clinical applicability of the evaluation of minimal residual disease in acute leukemia. *Curr Opin Oncol*. 36-40.
42. Raimondi, S. (1999). Current status of cytogenetic research in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2038-2042.
43. Ramos, et.al. (2001). Alteraciones cromosómicas en la leucemia Linfoblástica aguda. *Anales Españoles de Pediatría* 55 (1): 45-47.
44. Relling, M. & Dervieux, T. (2001). Pharmacogenetics and cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 1 (2): 99-108.

45. Rodak, B., (2004). *Hematología, Fundamentos y Aplicaciones Clínicas*. Buenos Aires: Médica Panamericana.
46. Rowley, J. (2000). Cytogenetic Analysis in Leukemia and Lymphoma: An Introduction. *Semin Hematol.* 37, 315.
47. Ruiz Argüelles G. (1998). Fundamentos de hematología. 2.ed. México: Panamericana. 75.
48. San Miguel, J., Macedo, A., Ciudad, J., Tabernero, M., González, M. y Orfao, A. (1992). Estrategias en detección de enfermedad mínima residual en leucemias agudas. *Sangre.* 127-132.
49. Siddiqui, R. (2010). Distribution of common genetic subgroups in childhood acute lymphoblastic leukaemia in four developing countries. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 200, 149-153.
50. Sierrasesúмага, L., Antillón, F., Bernaola, E., Patiño, A., San, M. (2006). *Tratado de Oncología Pediátrica*. Madrid: Prentice Hall.
51. Smith M, Arthur D, Camitta B, et al.: Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 14 (1): 18-24, 1996.
52. Smith MA, Ries LA, Gurney JG, et al.: Leukemia. In: Ries LA, Smith MA, Gurney JG, et al., eds.: *Cancer incidence and survival among children and adolescents: United States SEER Program 1975-1995*. Bethesda, Md: National Cancer Institute, SEER Program, 1999. NIH Pub.No. 99-4649., pp 17-34
53. Swerdlow, S. Campo, E. & Harris N. (2008). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. *International Agency for Research on Cancer.* 78-82.

54. Teitell, M., Pandolfi, P. (2009). Molecular Genetics of Acute Lymphoblastic Leukemia. *The Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*.4, 175-198.

55. Veerman, A., Hähnen, K. & Kamps, W. (1996). High cure rate with a moderately intensive treatment regimen in non-high-risk childhood acute lymphoblastic leukemia. Results of protocol ALL VI from the Dutch Childhood Leukemia Study Group. *Journal Clin Oncol* 14 (3): 911-918.

56. Vrooman, L. & Silverman, L. (2009). Childhood acute lymphoblastic leukemia: update on prognostic factors. *Curr Opin Pediatr*. 1-8.

57. Wagner, V. & Baehner, R. (1979). Correlation of the FAB morphologic criteria and prognosis in acute lymphoblastic leukemia of childhood.103-106.

58. Willatt, J., Villanueva, J., Vega, O., Truan, D., Schonstedt, V. & Rostion, C. (2006). Aumento de volume testicular en pacientes con leucemia linfoblástica aguda. *Revista Pediatría Electrónica*, 3(1), 8-11.

59. Yvan Dongen, J., Seriu, T. & Panzer-Grümayer, E. (1998). Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia in childhood. *Lancet* 352 (9142): 1731-1738.

XII. ANEXOS

ANEXO No. 1

BOLETA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Código paciente: _____

Hospital de donde procede: _____

DATOS GENERALES Y DEMOGRÁFICOS

Edad _____

Sexo _____

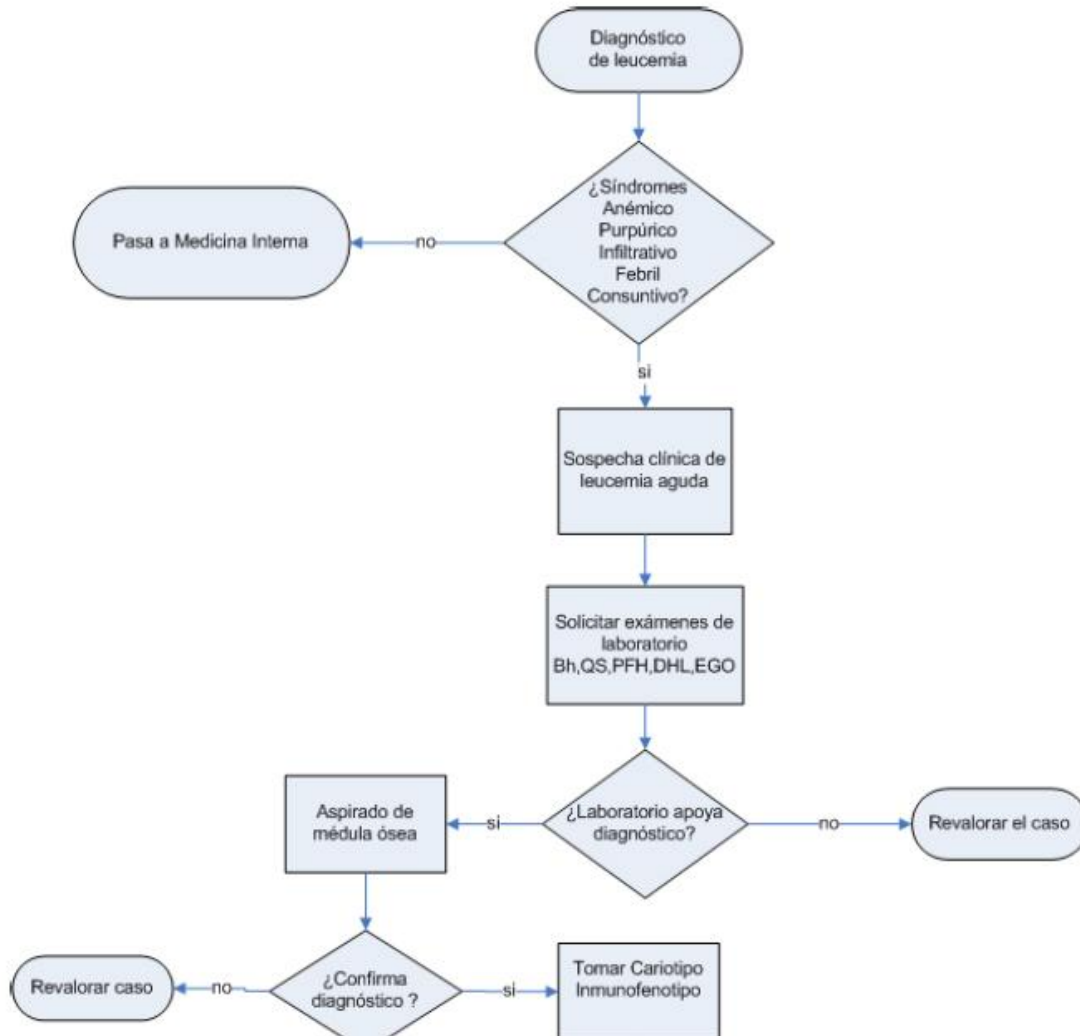
Lugar de procedencia _____

DATOS DE LABORATORIO

Fecha del resultado del examen				
		Paciente en tratamiento	Si	No
Hemoglobina				
Recuento de Plaquetas				
Recuento de Glóbulos blancos				
Imunofenotipo				
Análisis molecular Ausencia o presencia	BCR-ABL	PBX-E2A	ETV6 -AML1	MLL-AF4

ANEXO No. 2

ALGORITMO DIAGNOSTICO DE LLEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA



ANEXO No. 3

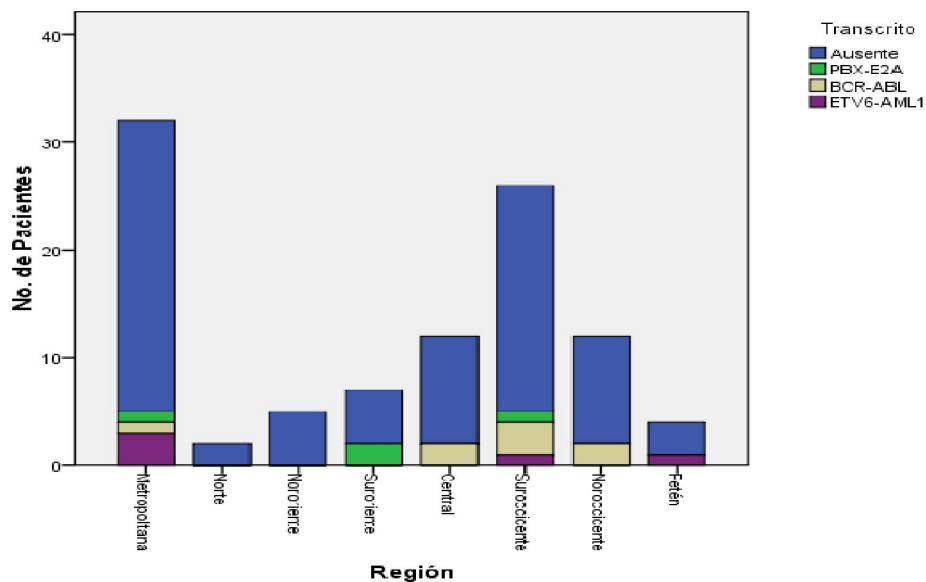
FACTORES PRONOSTICOS DE LA LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA

Factores pronósticos

Factor	Pronóstico favorable	Pronóstico desfavorable
Conteo de leucocitos	< 30,000/mm ³	≥ 30,000/mm ³
Edad	< 35 años	≥ 35 años
FAB	L1,L2	L3
Sexo	Femenino	Masculino
Estudios citogenéticos (*) y de biología molecular	Hiperdiploidia Trisomia 4 y 10 t(12,21)	Hipodiploidia t(9;22), t(8;14), t(1;19), t(4;11) r11q23; - 7, + 8 reordenamiento MLL/AF4 reordenamiento BCR/ABL
Inmunofenotipaje	LLA T (tímica madura)	LLA pro T
Estudio del LCR	Ausencia de blastos	Presencia de blastos
Tiempo en alcanzar RC1	< 4 semanas	> 4 semanas
Enfermedad residual mínima		Valores elevados de ERM tras inducción o consolidación

ANEXO No. 4


FRECUENCIA DE LA PROCEDENCIA GEOGRÁFICA DE PACIENTES CON LLA EN RELACIÓN AL TIPO DE MARCADOR MOLECULAR ENCONTRADO



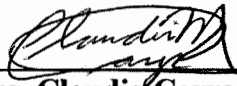
Fuente: datos experimentales. Datos INE: **Región Metropolitana:** Guatemala. **Región Norte:** Alta Verapaz, Baja Verapaz. **Región Nor-Oriente:** El Progreso, Izabal, Zacapa, Chiquimula. **Región Sur-Oriente:** Santa Rosa, Jalapa, Jutiapa. **Región Central:** Sacatepéquez, Chimaltenango, Escuintla. **Región Sur-Occidente:** Sololá, Totonicapán, Quetzaltenango, Suchitepéquez, Retalhuleu, San Marcos. **Región Nor-Occidente:** Huehuetenango, Quiché. **Región Peten:** Peten.



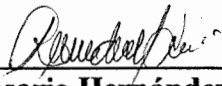
Br. Lilian Noemi Granados Alegria
Autora



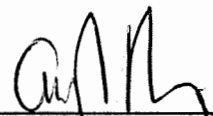
Br. Estuardo Faustino Alvarado Liberato
Autor



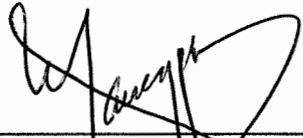
Dra. Claudia Carranza
Asesor INVEGEM



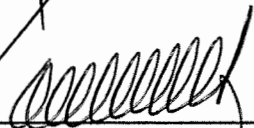
Rosario Hernández, MSc
Asesor Facultad de CC QQ y Farmacia
USAC



Licda. Margarita Paz
Revisora



Licda. Maria Eugenia Paredes
Directora
Escuela de Química Biológica



Oscar Cobar, PhD
Decano
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia