



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL PARA EL NIÑO POBLANO



**“INMUNOFENOTIPOS CON MAYOR PREDISPOSICIÓN A RECAÍDA EN
LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA ATENDIDOS EN UN HOSPITAL
PEDIÁTRICO DE TERCER NIVEL”**

TESIS PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALIDAD EN:
PEDIATRÍA.

PRESENTA:

DRA. ANDREA HUERTA MORENO

ASESOR EXPERTO:

DRA. RAQUEL HERNÁNDEZ RAMOS

HEMATÓLOGA PEDIATRA

ASESOR METODOLÓGICO:

M.C. FROYLÁN EDUARDO HERNÁNDEZ LARA GONZALEZ

PUEBLA, PUEBLA FEBRERO 2016

DEDICATORIA

Esta tesis y todos mis logros se los dedico a mis padres Tony y Federico los cuales siempre han sido mi fortaleza, apoyándome en los momentos más difíciles e impulsándome a luchar para alcanzar mis metas.

A Dios quien me ayudó a seguir adelante a pesar de las adversidades.

A mi abuelita Lupita quien me ha enseñado a ser una mujer fuerte y a nunca olvidar que la familia es lo más importante.

A mi hermana Tania por ser un ejemplo para perseguir mis ideales y ayudarme a creer que un mundo mejor es posible.

A mis tíos, primos, sobrinos por ayudarme a poner en práctica mis conocimientos y celebrar con ellos mis logros.

Al Dr. Arturo Moreno por mostrarme lo maravilloso que es ser pediatra e infundirme el amor a los niños de oncología.

A mis tutores: Dra. Raquel Hernández y al Dr. Froylán Hernández Lara por confiar en mí, permanecer al pendiente de éste trabajo y favorecer a culminarlo.

A mis amigos de toda la vida y a los nuevos por entender las veces que no estuve presente en momentos importantes y por respaldarme en mis proyectos.

A mis compañeros de pediatría por compartir su conocimiento y reafirmar que el trabajo en equipo y el respeto es fundamental.

A los pacientes de pediatría por permitirme aprender tanto de ellos, mostrarme lo valientes y fuertes que pueden llegar a ser y por motivarme a superarme cada día para ser de utilidad para ellos.

ÍNDICE

	Pág.
1.- ANTECEDENTES GENERALES	4
2.- ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	8
3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
4.- JUSTIFICACIÓN	14
5.- OBJETIVOS	15
6.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
7.- PROCEDIMIENTOS	18
8.- CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	19
9.- RESULTADOS	20
10.- DISCUSIÓN	28
11.- CONCLUSIÓN	29
12.- PRESUPUESTO	30
13.- BIOÉTICA	31
14.- BIBLIOGRAFÍA	32

MARCO TEÓRICO

ANTECEDENTES GENERALES

La leucemia aguda linfoblástica es la malignidad más común de la infancia. Representa una cuarta parte de todos los cánceres en niños y 75% de todos los casos de leucemia en niños. Aproximadamente 4,900 niños son diagnosticados cada año en los Estados Unidos, con una incidencia de 3-4 casos por 100,000 niños blancos. El pico de incidencia ocurre entre los 2 y 5 años de edad.

La incidencia es más alta en niños que en niñas. Existen diferencias geográficas en la frecuencia y distribución, por ejemplo es relativamente rara en el norte de África y medio Oeste. Esta variación geográfica quizá refleje en parte las diferencias inmunológicas y citogenéticas; parece haber una menor incidencia de precursores B en países en desarrollo y una alta incidencia de LAL T en países industrializados. □ Múltiples estudios han sugerido una relación entre la historia reproductiva materna, peso al nacer alto y factor de crecimiento dependiente de insulina y el desarrollo de LAL, la pérdida fetal es asociada con un mayor riesgo en niños subsecuentes. La exposición a químicos de los padres, la historia de alcoholismo y tabaquismo también han sido implicadas, asociado a daño directo al DNA. ¹

En los países poco desarrollados y en pobreza, la leucemia aguda ocurre en tres casos por 100,000 por año, mientras que en algunas naciones en vías de desarrollo, como México, la incidencia es de 5 casos por cada 100,000 por año. ²

Se ha observado un marcado aumento en la tasa de incidencia de LAL en niños entre los 2 y los 5 años de edad en las sociedades industrializadas, la falta de una edad pico en países con bajos recursos y la agrupación ocasional de los casos de LAL en la infancia; especialmente en las nuevas ciudades; ha alimentado 2 teorías paralelas de leucemogénesis: la hipótesis de infección retrasada y la hipótesis de la mezcla de población. Ambas hipótesis atribuyen el pico de incidencia en los países industrializados a principios del aislamiento infeccioso que predispone el sistema inmunológico de las personas susceptibles a la respuesta patológica o aberrante para infecciones comunes en una edad compatible con el aumento de la proliferación de células linfoides. ³

Etiología

Se han identificado diversos factores de riesgo. Un aumento en el riesgo de LAL se ha asociado con peso alto al nacer (Odds ratio aumenta en aproximadamente un 20 por ciento por kilogramo), ciertos síndrome congénitos y anomalías cromosómicas (por ejemplo, una razón de probabilidad 15 veces mayor para los pacientes con Síndrome de Down), la inestabilidad genética (Ataxia telangiectasia, anemia de Fanconi y el Síndrome de Bloom), la exposición a la radiación ionizante y ciertas inmunodeficiencias (Síndrome de Wiskott Aldrich). ⁴ Se observó además una

relación entre la edad materna y paterna con el riesgo de presentar leucemia aguda linfoblástica.⁵

Síndromes hereditarios de cáncer.

Las mutaciones genéticas heredadas tienen una función principal en casi 5 a 10% de todos los cánceres. Han identificado una relación entre genes específicos y más de 50 síndromes hereditarios de cáncer.

Las pruebas genéticas pueden detectar si una persona dentro de una familia con signos de ese tipo de síndrome tiene una de esas mutaciones. Estas pruebas también pueden mostrar si los miembros de la familia, sin signos obvios de la enfermedad, han heredado la misma mutación que los miembros de la familia portadores de la mutación relacionada con el cáncer.

Se considera que las pruebas genéticas pueden utilizarse como forma para detectar el riesgo de cáncer cuando una persona tiene antecedentes familiares o individuales que indican la presencia de una enfermedad heredada con riesgo de cáncer, siempre y cuando los resultados de la prueba puedan interpretarse de manera adecuada y cuando los resultados proporcionan información que guiará la atención médica futura de la persona.

Existen varios factores que influyen en las consecuencias que puede tener la mutación en una persona en particular, como el patrón hereditario del síndrome de cáncer. A continuación se presentan algunos ejemplos de genes que pueden cumplir una función en los síndromes hereditarios de cáncer.

El gen mutado más común en todos los cánceres es P53, el cual produce una proteína que inhibe el crecimiento de los tumores. Además, las mutaciones de la línea germinal en este gen pueden causar el síndrome de Li-Fraumeni, una enfermedad heredada muy poco común que causa un mayor riesgo de padecer ciertos cánceres.

Las mutaciones heredadas en los genes BRCA1 y BRCA2 están asociadas con el síndrome hereditario de cáncer de seno y ovario. Se han asociado otros tipos de cáncer con este síndrome, entre ellos, los cánceres de páncreas y de próstata, así como el cáncer de seno masculino.

Otro gen que produce una proteína inhibidora de tumores es el gen PTEN. Las mutaciones en este gen están relacionadas con el síndrome de Cowden, una enfermedad heredada que aumenta el riesgo de cánceres de seno, tiroides, endometrio, y de otros tipos.⁶

En estudios de asociación del genoma completo, se observó que algunos polimorfismos genéticos de la línea germinal se relacionan con la presentación de LLA infantil. Por ejemplo, los alelos de riesgo de ARID5B tienen una relación estrecha con la presentación de LLA de células B precursoras hiperdiploides. El ARID5B es un

gen que codifica un factor de transcripción importante para el desarrollo embrionario, la expresión génica específica del tipo de célula y la regulación del crecimiento celular.

En otro estudio de asociación del genoma completo en la población de adolescentes y adultos jóvenes, se identificaron polimorfismos distintivos de GATA3 que influyen fuertemente en la susceptibilidad a la leucemia de esta población.

Clasificación morfológica

Las leucemias agudas (LA) se han clasificado según su línea celular en LAL y LA no L, en base a las características morfológicas y citoquímicas de las células leucémicas que permiten identificarlas como derivados de precursores linfoides o de células indiferenciadas, o como derivadas de los precursores de granulocitos y monocitos. El sistema de clasificación del grupo por colaboración franco-americano-británico (FAB) divide los linfoblastos en tres categorías.

- Los linfoblastos L1 son células de menor tamaño, tiene escaso citoplasma y nucléolos poco visibles.
- Los linfoblastos L2 son de mayor tamaño, muestran gran heterogeneidad en sus dimensiones, citoplasma más abundante y con frecuencia presentan uno o dos nucléolos prominentes
- Los rasgos distintivos de los linfoblastos L3 son su gran tamaño, la cromatina fina de aspecto reticular del núcleo, la presencia de uno o más nucléolos vesiculares prominentes, la intensa basofilia y la notable vacuolización citoplasmática.

Se han establecido seis variantes de LA no L, desde el punto de vista morfológico, en función de la línea celular predominante y el grado de diferenciación; tres de ellas (M1, M2 y M3) se caracterizan por su diferenciación granulocítica y difieren entre sí por el grado de maduración. Otras dos se caracterizan por presentar un componente monocítico (M4 y M5) y la eritroleucemia (M6) que se caracteriza por la presencia de precursores eritroides >50% de los elementos nucleados totales de la MO y >30% de mieloblastos. Posteriormente, se reconoció una nueva variedad, la LA megacarioblástica (M7) y, en 1991, se rescribió la LAM con diferenciación mínima (M0), caracterizadas ambas por la negatividad para las distintas técnicas citoquímicas y que requieren para su identificación de la tecnología de marcadores con anticuerpos monoclonales (AcMo), usando anticuerpos contra moléculas de superficie.⁷

Manifestaciones clínicas

Son muy variables y dependen de la edad del paciente, del sitio de origen y del ritmo de crecimiento de las células leucémicas, del grado de infiltración de la médula ósea, de la magnitud de diseminación y de la extensión de participación extramedular.

Los síntomas y signos clínicos más comunes se deben a la anemia, neutropenia y trombocitopenia subyacentes que son la consecuencia del grado de infiltración de la médula ósea y de los trastornos en la hematopoyesis normal.

Son frecuentes la palidez, fatiga, petequias, púrpura, hemorragia y fiebre. Puede predominar el dolor óseo y artralgias provocadas por la infiltración. En niños pequeños como un presunto estado reumático, dolor en extremidades, claudicación y dificultad a la deambulación.

Los enfermos con LAL tipo T por lo regular son varones en edad escolar o adolescentes, tienen una carga tumoral alta al momento del diagnóstico y a menudo una tumoración mediastínica.⁸

La infiltración de piel, SNC, encías y testículos son compatibles con LAM M4 y M5, siendo particularmente frecuentes la infiltración cutánea y del SNC en los lactantes. También se ha informado infiltración gingival en la LAM M3 variante. La diátesis hemorrágica grave vinculada con coagulación intravascular diseminada puede surgir en cualquier forma de LAM, pero es particularmente común en la LAM M3 y M5.

Factores pronósticos

Los pacientes de LAL están clasificados en riesgo estándar y riesgo alto al momento del diagnóstico. Los niños de 1 a 9 años de edad con leucocitos totales menor de 50,000 y sin factores citogenéticos adversos son tratados con protocolos de riesgo estándar. La tasa de curación en éstos niños es del 80%. Los pacientes con recuento leucocitario mayor de 50,000 y mayores de 10 años de edad son clasificados como riesgo alto. El tratamiento para los pacientes con riesgo alto esta determinado de acuerdo a la velocidad de respuesta de medula ósea a los 7 y 14 días.⁹

Pacientes menores de 1 año de edad y mayores de 10 años tienen peor pronóstico. Los pacientes con inmunofenotipo pre B temprana tienen el mejor pronóstico. Cuando cuentan con el diagnóstico de LAL de células T maduras tienen peor pronóstico con riesgo de recaída temprana e infiltración al SNC, sin embargo la terapia agresiva ha mejorado el pronóstico.

La presencia de hiperdiploidia con más de 50 cromosomas esta asociado con buena evolución debido a la apoptosis incrementada y mayor sensibilidad a la quimioterapia.

ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.

Inmunofenotipo de las leucemias agudas

Clasificación inmunitaria

Los primeros estudios de inmunofenotipificación con técnicas relativamente estándar para la caracterización de marcadores de superficie de las células, permitieron la identificación de 3 subgrupos inmunitarios de LAL. En promedio, se observó que 20% de los enfermos tenía linfoblastos tipo T; 1 a 2% tenían marcadores de tipo B, y 80% no expresaba marcadores ni T ni B, lo que se llamo leucemia no-T, no-B (diferente de las células T y B). Con el uso de heteroantisueros se demostró que los blastos de este tipo de leucemia poseían un antígeno común propio de la LAL humana (CALLA por sus siglas en inglés, common acute lymphoblastic leukemia antigen) y estudios posteriores con la predisposición de genes de inmunoglobulina y el uso de diversos AcMo específicos para diferentes etapas de la diferenciación de los linfocitos B, confirmaron que la mayor parte de los linfoblastos de este subtipo de LAL eran precursores de la línea celular B (PCB). En la actualidad, las LAL de estirpe B se clasifican en PCB-CD10-, PCB-CD10+, pre B caracterizada por la demostración de inmunoglobulina de superficie en algunos de los linfoblastos. De manera similar, con el uso de AcMo, que corresponde a las diferentes etapas de diferenciación intratímica, ha sido posible identificar leucemias de linfocitos T que derivan de cada una de las tres fases de diferenciación normal de las células T, etapa I, etapa II y etapa III.

Durante el decenio de 1970, se hizo aparente que las LAL T y B tenían un peor pronóstico que las LAL no-T, no-B, hallazgos que tuvieron un impacto considerable sobre el pensamiento clínico y sirvieron como punto de partida para el diseño de protocolos específicos para estirpe.

El diagnóstico de LAM M0 y M7 se basa principalmente en el inmunofenotipo, debido a que sus rasgos morfológicos y citoquímicos no son específicos. Los blastos M0 se caracterizan porque expresan por lo menos un Ag mieloide CD13 o CD33, expresan casi siempre HLA-DR, y son generalmente positivos a marcadores de inmadurez como CD34, TdT y CD117. Algunos autores han descrito expresión aberrante de CD57 Y CD7. Los megarioblastos se identifican por la expresión incrementada o intensa de los antígenos CD61, CD41 y CD42. ¹¹

Utilidad del inmunofenotipo en el diagnóstico y la clasificación de las LAL

En términos generales, la utilidad de los estudios inmunofenotípicos en el diagnóstico y la clasificación de las LAL abarca la asignación de línea y el estadio madurativo de las células leucémicas y la identificación de las correspondientes aberraciones fenotípicas. ¹²

Asignación de la línea de las células leucémicas

Históricamente, las LAL fueron el primer grupo de neoplasias hematológicas en las que el inmunofenotipo demostró ser de gran utilidad clínica. Así, a principios de los años 1980, las LAL se clasificaban ya de acuerdo a su línea en LAL-B, LAL-T o nulas (no B, no T) dependiendo de si las células leucémicas expresaban inmunoglobulinas (Ig) de superficie (sIg) en su membrana, formaban rosetas con eritrocitos de carnero (rosetas EAET) o carecían de ambos marcadores, respectivamente.

El incremento durante la década de 1980 del número y el tipo de anticuerpos policlonales y, sobre todo, de anticuerpos monoclonales (AcMc) disponibles frente a antígenos (Ag) presentes en células linfoides y sus precursores, unido al desarrollo y uso cada vez más extendido de la citometría de flujo, han permitido establecer la secuencia exacta de adquisición y la pérdida de expresión de Ag durante las primeras etapas de la maduración de las células hematopoyéticas normales hacia las series linfoides B y T8,25-29. ⁵

Como la leucemia linfoblástica aguda carece de hallazgos morfológicos y citoquímicos específicos, para la evaluación diagnóstica es esencial llevar a cabo el inmunofenotipo. Mediante los métodos inmunológicos es posible reconocer antígenos en la membrana celular o en su citoplasma, y algunos son específicos para diferentes poblaciones celulares. Los anticuerpos que distinguen los conjuntos de diferenciación, mejor conocidos como CD (clúster of differentiation), reconocen al mismo antígeno celular. La mayor parte de los antígenos leucocitarios carece de especificidad, por tanto se requiere panel de anticuerpos para establecer el diagnóstico y distinguir entre las diferentes subclases inmunológicas de las células leucémicas. ⁶

El panel que se recomienda, y que se utiliza en el Hospital Infantil de Investigaciones St. Jude, incluye marcador sensible para CD19: linaje de células B; CD7: linaje de células T; CD13 y CD33: células mieloides, y marcador citoplasmático específico para CD79: linaje de células B; CD3: células T, y mieloperoxidasa para células mieloides. Mediante este método se puede confirmar el diagnóstico en 99% de los casos. Alrededor de 80% de las leucemias linfoblásticas procede de las células B, así como 90% de los linfomas no Hodgkin. La mayor parte de las LAL son pre-B que expresan CD19 y CD10, y 50% expresa CD20. Las LAL-L3 con Ig (+) de superficie son morfológica y fenotípicamente iguales a las células del linfoma de Burkitt. ⁶

Los factores utilizados para clasificar las LLA pediátricas de acuerdo al riesgo de recaída incluyen: edad, recuento leucocitario al momento del diagnóstico, infiltración a otros sitios, respuesta temprana al tratamiento, inmunofenotipo, índice de ADN, cariotipo, rearrreglos moleculares y determinación de Enfermedad Mínima Residual (EMR). Los rearrreglos moleculares más importantes para LAL por su valor pronóstico y frecuencia son los correspondientes a los genes de fusión BCR/ ABL, MLL/AF4, E2A/PBX1 y TEL/AML1, que corresponden respectivamente a las siguientes

translocaciones: t(9;22)(q34;q11), t(4;11)(q21;q23), t(1;19) (q23;p13) y t(12;21)(p13;q22). La mayor sensibilidad de las técnicas de biología molecular permite detectar un mayor número de casos que por citogenética convencional (CC), optimizando así la estratificación en grupos de riesgo y la consiguiente adecuación del tratamiento.

Dependiendo del modelo de reactividad y expresión de Ag intracelulares y de superficie o expresión, los casos de LAL se clasifican en:

Estirpe B: PCB-CD10- (CD79ac+, CD22c+, CD 19+, CD 10-).

PCB-CD10+ (CD79ac+, CD22c+, CD19+, CD10+)

Pre B: (CD79ac+, CD 22c+, CD19+, CD10+, Cn)

B (CD 19+, IgSk o IgS gamma) ⁷

Valor pronóstico del inmunofenotipo

El análisis inmunofenotípico tiene como objetivo asignar el linaje a la proliferación blástica una vez definido el diagnóstico morfológico y es útil para predecir el comportamiento de las poblaciones linfocitarias. ¹³

Fisiopatología de la recaída

La mayoría de las recaídas se producen durante el tratamiento o dentro de los dos primeros años después de la finalización del mismo, aunque se han reportado recaídas después de 10 años, estos casos resultan anecdóticos. ⁶

La mayor parte de las recaídas se producen en la medula ósea, ya sea en forma aislada o combinada con la participación de otro sitio, más frecuentemente en SNC o testículos, siendo raras en otros sitios extra medulares.

La leucemia recaída puede representar la consecuencia de una proliferación clonar de una célula que no fue eliminada con el tratamiento, por lo tanto se trata de un clon resistente. Análisis sofisticados sobre reordenamientos de inmunoglobulina o receptor de células T(TCR) pueden ayudar a aclarar el origen de la recurrencia de leucemia. En efecto, en cada leucemia existen células con un reordenamiento único de inmunoglobulina o genes del TCR. Se han detectado cambios fenotípicos entre las células del diagnóstico y las de la recaída, pero varios estudios han demostrado, especialmente en leucemias que recurren tempranamente, que el clon recidivante ya se encontraba presente en la leucemia inicial con un menor número de copias, lo que indica la selección de un clon preexistente resistente a la terapia administrada.

Un enfoque reciente, para clarificar el origen de las recaídas de la LLA se basa en el uso de copias de ADN en todo el genoma de la leucemia de origen que se aparea con copias de ADN de la leucemia recaída.

Se distinguen así dos categorías de recaídas definidas genéticamente: las recaídas tempranas (chequear tiempo en las recaídas tempranas antes de los 30 meses del diagnóstico) y las recaídas tardías. Se demostró que la mayoría de las células de las recaídas tempranas tenían características clonales presentes en la leucemia del diagnóstico y solo en un pequeño número de casos (6%), el clon de la recaída representaba la aparición de una segunda leucemia genéticamente distinta. En la mayoría de los casos la recaída temprana representa la evolución clonal de una célula leucémica presente en el diagnóstico, pudiendo incluso adquirir nuevas lesiones como genes implicados en la resistencia a drogas, por ejemplo el CDKN2A / B y IKZF1.

Los factores pronósticos para la estratificación de los pacientes incluye el momento de la recaída y el sitio que involucra la misma. Esto permitió la adecuación de las terapéuticas a las posibilidades de supervivencia, implementando terapias agresivas como el TCPH en el grupo de pacientes de alto riesgo.¹⁴

Papel de la enfermedad mínima residual

La persistencia de la EMR, evaluado con técnicas moleculares o citometría de flujo, después de la inducción a la segunda remisión, también influye en el pronóstico en niños con recaída.¹⁵

Si la EMR se puede detectar en un nivel $>0,01\%$, las posibilidades de reaparición de la enfermedad son altas aún en los riesgos bajos. Si ésta es $<0,01\%$ en el alto riesgo, parece significar una mejor evolución del TCPH pero no es indicio de que el paciente podrá curarse sin el trasplante.^{8,11}

Grupos de riesgo pronóstico

Múltiples estudios han demostrado que en LAL B en niños y adolescentes el determinar la enfermedad mínima residual al final de la inducción es un factor predictivo importante.

Existen menos estudios documentando el valor predictivo pronóstico de la enfermedad mínima residual en estirpe T.

La asociación italiana de onco-hematología en el protocolo de estudio realizada en el 2000, la enfermedad mínima residual al día 78 (semana 12) fue el factor predictor de recaída más importante en LAL– T. Los pacientes con enfermedad mínima residual al final de la inducción que resulto negativa, tuvieron similar pronóstico que los paciente con EMR negativa al final de la inducción.

Aunque la enfermedad mínima residual es un factor pronóstico importante en determinar la evolución del paciente, no hay información concluyente que demuestre que el modificar la terapia basada en EMR determine mejoría en la evolución de los pacientes con diagnóstico reciente.

Sin embargo los estudios del 2003 de la asociación de Reino Unido de LLA demostró que la reducción de la terapia (p/e 1 en lugar de 2 cursos en intensificación tardía) no afectó de manera significativa la evolución en pacientes de bajo riesgo al final de la inducción con EMR. ¹⁶

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La leucemia linfoblástica aguda es el tipo de cáncer más frecuente en pediatría, siendo una proliferación anormal clonal de líneas celulares de linfocitos pre-B, B maduros o T y que cuenta con una supervivencia general del 80% con tratamiento oportuno. Existen factores pronósticos favorables y desfavorables que condicionan al diagnóstico si se trata de una LA de riesgo alto o riesgo habitual, independientemente del inmunofenotipo. Sin embargo aunque se sabe en algunas series pediátricas que

con ciertos fenotipos, existe peor pronóstico, falla al tratamiento y riesgo de recaídas, no hay suficiente evidencia para confirmarlo. Por otro lado, en nuestro centro que atiende población infantil con este tipo de padecimientos desconocemos hasta este momento la incidencia de recaída de acuerdo al resultado de inmunofenotipo por lo que es importante dar un tratamiento estirpe específico para mejorar el pronóstico y sobrevida global del paciente.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son los inmunofenotipos con mayor predisposición a recaída en pacientes con leucemia linfoblástica aguda atendidos en el Hospital para el Niño Poblano de enero del 2009 a diciembre del 2013?

JUSTIFICACIÓN

Este estudio es de importancia médica, ya que permitirá que de acuerdo al fenotipo se pueda dar un riesgo de recaída y un tratamiento estirpe específico.

El estudio se realizó para establecer indicadores que lleven a identificar la relación que existe en el hospital con la literatura internacional.

Por otro lado, podría demostrarse su utilidad como prueba que pueda dar consejería a la familia sobre el pronóstico del paciente.

Así mismo, se plantean líneas de investigación al respecto, como por ejemplo, identificar en qué zonas geográficas encontramos más un cierto inmunofenotipo, entre otras.

OBJETIVOS

A.- OBJETIVO GENERAL

Determinar la variante inmunofenotípica de leucemia aguda linfoblástica con mayor frecuencia de recaída en el Hospital para el Niño poblano en el periodo de enero del 2009 a diciembre del 2013.

B.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el fenotipo de los pacientes pediátricos con LAL atendidos en el Hospital para el Niño Poblano en el periodo de Enero 2009 a Diciembre 2013.
- Determinar la frecuencia de recaídas en pacientes con LAL atendidos en el Hospital para el Niño Poblano en el período establecido.
- Describir la fase de tratamiento en la cual se presenta recaída en el inmunofenotipo más frecuente.
- Describir la distribución de sujetos por género, edad, lugar de procedencia y nivel socioeconómico.
- Describir la etapa de quimioterapia administrada al momento de la recaída.

MATERIAL Y METODOS

METODOLOGÍA UTILIZADA

Diseño del estudio:

Se realizó un estudio descriptivo, correlacional, transversal, homodémico, unicéntrico y ambispectivo.

Muestra y universo:

Muestreo no aleatorio por conveniencia, con un universo que engloba a los paciente pediátricos con diagnóstico de Leucemia aguda linfoblástica tipo B, pre B y T atendidos en el Hospital para el niño poblano en el periodo determinado.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

Expedientes de niños con diagnóstico confirmatorio de leucemia aguda linfoblastica, con recaída registrados en la base de datos del Hospital para el niño poblano de enero del 2009 a diciembre del 2013.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Expedientes de niños diagnosticados con leucemia aguda linfoblastica con diagnóstico o tratamiento extra HNP.
- Expedientes que no tengan al menos el 80% de la información suficiente para su análisis para esta investigación

ANALISIS ESTADISTICO

Se emplearon medidas de tendencia central para el análisis descriptivo, principalmente de las variables sociodemográficas, entre otras. Se utilizó promedio, desviación estándar, porcentajes.

Se utilizarán tablas de contingencia 2x2, que permite calcular la magnitud del efecto a través de riesgo relativo (RR) con intervalos de confianza del 95%. Se realizará el modelaje estadístico, y las variables que tuvieron una p significativa (≤ 0.05) se incluirán en el modelo para ver qué variables están asociadas a recaídas en Leucemias agudas linfoblásticas.

VARIABLES

VARIABLE	TIPO	ESCALA	MEDICIÓN
Inmunofenotipo	Cualitativa	Nominal	Pre B/ B / T
Edad	Cuantitativa	Discreta	Años
Recaída	Cualitativa	Dicotómica	Sí No
Etapas de quimioterapia	Cualitativa	Nominal	Inducción, Consolidación y mantenimiento.
Género	Cualitativa	Dicotómica	Masculino Femenino
Lugar de procedencia	Cualitativa	Nominal	Nombre de la comunidad de procedencia

PROCEDIMIENTOS

Se revisó la plataforma de base de datos del Hospital Para el niño poblano para analizar los niños diagnosticados con LA en el periodo que incluye Enero 2009 a Diciembre del 2013 en el HNP.

Se utilizaron fuentes de información oficiales, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) y revisión bibliográfica. Se recabó información procedente de las distintas plataformas, revistas médicas y artículos de revisión para obtener la incidencia, frecuencia y tendencias de recaídas en leucemias linfoblástica agudas en pediatría.

Se continuó con la recolección y reunión de información preliminar con el fin de conocer el estado actual así como las variables para el manejo de las estadísticas y su clasificación. Los datos se recopilaron utilizando las fuentes disponibles en la base de datos del sistema del Hospital Para el Niño Poblano.

Se agruparon los datos obtenidos y se establecieron los contactos necesarios para la recopilación y sistematización de la información obtenida

Se hizo el análisis y correlación de la información obtenida que nos permita identificar el inmunofenotipo con mayor incidencia de recaída en las leucemias linfoblástica agudas en el HNP.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES GRÁFICA DE GANTT

MES	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO	MARZO
Selección del tema										
Revisión bibliográfica										
Elaboración del protocolo										
Autorización del Protocolo										
Recolección de Datos										
Aplicación estadística										
Análisis de resultados										
Reporte de resultados										
Publicación										

RESULTADOS

Se revisaron 262 expedientes de pacientes con el diagnóstico confirmado de Leucemia Aguda Linfoblástica en el periodo comprendido de Enero del 2009 a

Diciembre del 2013. No se encontró predominio en el género en el total de pacientes con diagnóstico de LAL. (Ver Figura 1) La edad al diagnóstico predominante fue la etapa escolar, con un promedio de 7.6 años ($\chi^2 = 3.65$, $p=0.05$, $OR= 1.84$), con una desviación estándar de 4.47. (Ver Figura 2) No se eliminaron expedientes en éste estudio ya que todos contaban con al menos el 80% de la información necesaria dentro de los criterios de inclusión.

Se encontraron 82 eventos de recaída (31% del total de expedientes de pacientes revisados) (Ver Figura 3). Los cuales engloban recaída aislada a médula ósea 57 pacientes, recaída aislada a sistema nervioso central en 11 pacientes y recaída aislada a otro nivel (testículo) en 1 paciente. Se presentaron casos de recaída simultánea a médula ósea y SNC en 9 pacientes, médula ósea y otros en 1 paciente, SNC y otros en 1 paciente y simultánea tanto en médula ósea, SNC y otros en 2 pacientes (nervio óptico) (Ver Cuadro 1). La edad promedio en pacientes con recaída fue de 7 años, desviación estándar de 4.45. (Ver Figura 4)

En cuanto al riesgo al diagnóstico se clasificó como riesgo alto 45 de los 82 pacientes que presentaron recaída, en riesgo habitual 29 pacientes y en riesgo extremadamente alto 8. Se observó una relación significativa del riesgo extremadamente alto con recaída ($\chi^2 = 8.41$, $p= 0.04$, $OR= 0.47$). (Ver figura 5)

La estirpe de los casos de leucemia aguda linfoblástica tuvieron un predominio de estirpe Pre B en 76 casos, T en 5 y bifenotípica en 1 caso. (Ver figura 6)

Se observó que en los pacientes con recaída existía un predominio de inmunofenotipo **CD3 +/-, CD3C +/-, CD5 +, CD 10 +/-, CD19 +, CD19 +/-, CD20-, CD20 +/-, CD33 +/-, CD33-, CD34 +/-, CD45 +/-, CD79 +/-, CD 117-**, comparado con los pacientes que no presentaron recaída. El predominante fue **CD19 + en un 82.95%**. A diferencia de los pacientes los cuales no presentaron recaída en el cual predominó el **CD10+** en un **81.7%**. (Ver Cuadro 2)

La evolución de los pacientes que presentaron recaída a cualquier nivel fue la siguiente: defunción en 34 pacientes, en cuidados paliativos 16, reportando abandono de tratamiento en 3 pacientes, se realizó trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en 3 pacientes, intensificación con el esquema de quimioterapia FLAG-IDA en 3, consolidación 5 pacientes, en etapa de mantenimiento en 7, intensificación en 2 pacientes, se encuentran en vigilancia 4 pacientes y con esquema de inducción a la remisión 5 pacientes. (Ver figura 5)

Del total de los expedientes revisados ($n=262$), 76 pacientes fallecieron durante el tratamiento y en 34 pacientes se contaba con el antecedente de recaída a cualquier nivel, constituyendo entonces el 44.7% de los finados. Tuvo significancia estadística el antecedente de recaída con la defunción de los pacientes ($\chi^2 = 3.9$, $p=0.04$, $OR 1.9$). (Ver Figura 7)

Ubicación geográfica de los sujetos de investigación:

Se encontró predominio de diagnóstico de Leucemia aguda linfoblástica, por obvias razones, en el estado de Puebla, en el municipio de Puebla, reportando 53 casos, seguido del municipio de Tehuacán 17 casos y en tercer lugar Acatzingo con 10 casos. En pacientes con antecedente de recaída predominó el municipio de Puebla con 16 casos, Tehuacán 5 casos, Quecholac 4 casos, Izúcar de Matamoros 4 casos, Acatzingo 3 casos y el municipio de Tepeaca 3 casos. (Ver Figura 8)

Fig 1. Género todos los pacientes con LAL.

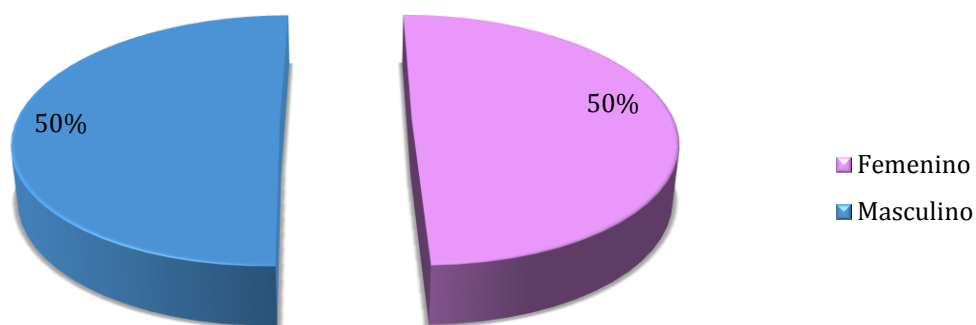


Fig 2. Edad al diagnóstico en pacientes con LAL

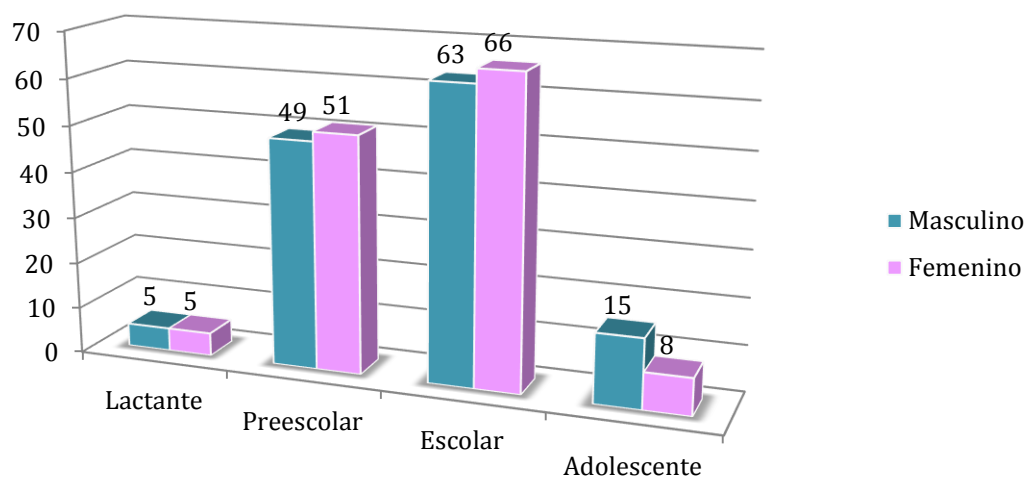
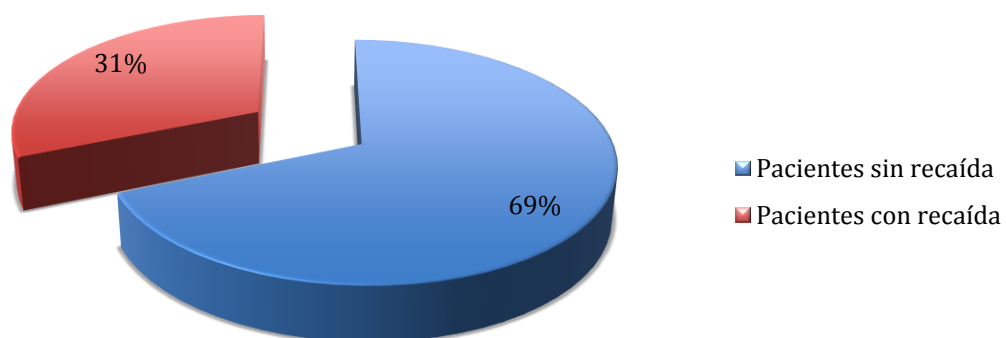


Fig 3. Proporción de pacientes con y sin recaída N=262



Cuadro 1. Localización de recaída.

Localización de recaída	Número de pacientes (%)
Aislada a MO	57 (69.5%)
Aislada a SNC	11 (13.4%)
Aislada a otro nivel (Testículo)	1 (1.2%)
Simultánea a MO y SNC	9 (10.9%)
Simultánea a MO y a otro nivel (N. Óptico)	1 (1.2%)
Simultánea a SNC y a otro nivel (N. Óptico)	1 (1.2%)
Simultánea a SNC, MO y otro nivel (N. Óptico)	2 (2.4%)

Fig 4. Edad al diagnóstico en pacientes con recaída

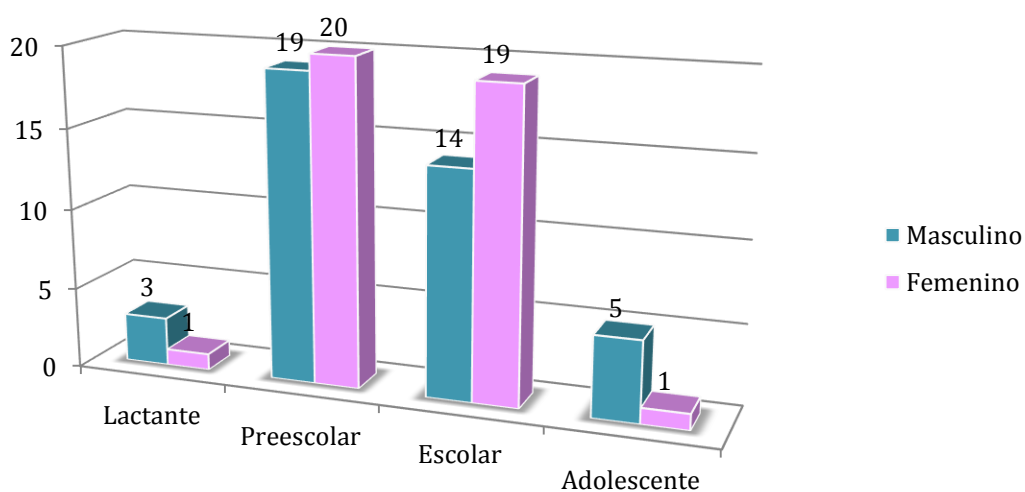


Fig. 5 Estadificación de pacientes que presentaron recaída.

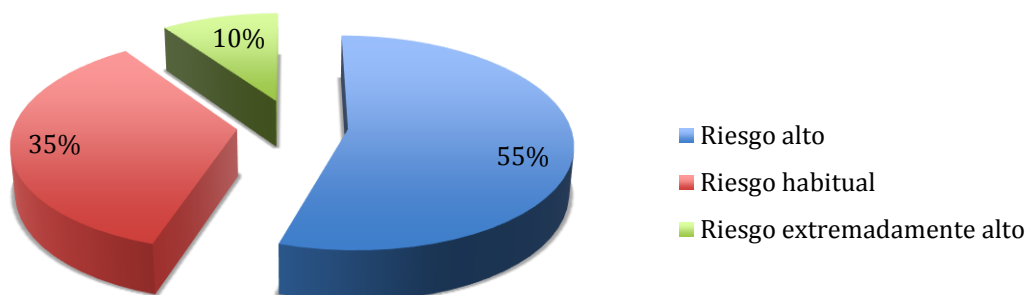
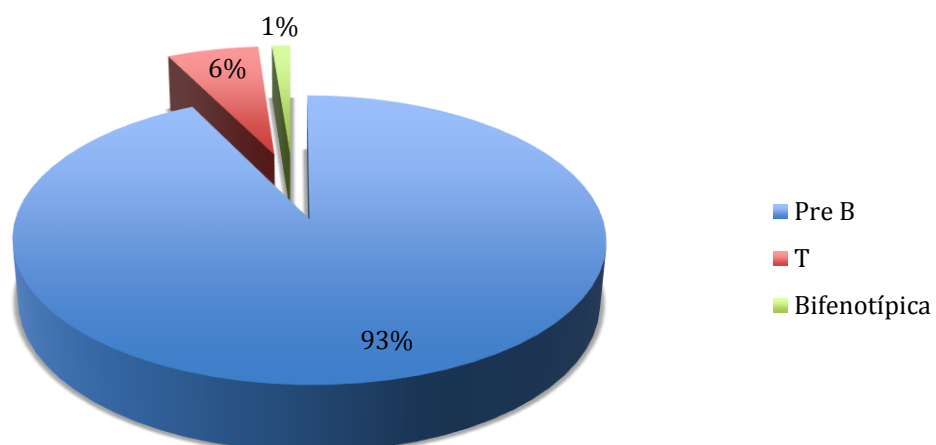


Fig. 6 Estirpe en pacientes con recaída



Cuadro 2. Inmunofenotipo presente en pacientes con recaída

Inmunofenotipo	Número (%)
CD45-	1 (1.2%)
CD3+/-	4 (4.8%)
CD3c+/-	5 (6%)
CD10-	3 (3.6%)
CD5+/-	1 (1.2%)
CD5+	4 (4.8%)
CD13+/-	1 (1.2%)
CD7+	5 (6%)
CD7+/-	2 (2.4%)
CD10+	66 (0.8%)
CD+/-	2 (2.4%)
CD19+	68 (82.9%)
CD19+/-	8 (9.7%)
CD20+	2 (2.4%)
CD20-	30 (36.5%)
CD20+/-	44 (53.6%)
CD33+/-	8 (9.7%)
CD33-	3 (3.6%)
CD34+	29 (35.3%)
CD34-	19 (23.1%)
CD34+/-	25 (30.4%)
CD45+/-	80 (97.5%)
CD79a+	39 (47.5%)
CD79a+/-	35 (42.6%)
CD117-	1 (1.2%)
HLA-DR+	23 (28%)
HLA-DR+/-	9 (10.9%)
HLA-DR-	1 (1.2%)

Fig. 6 Evolución de pacientes con recaída *****

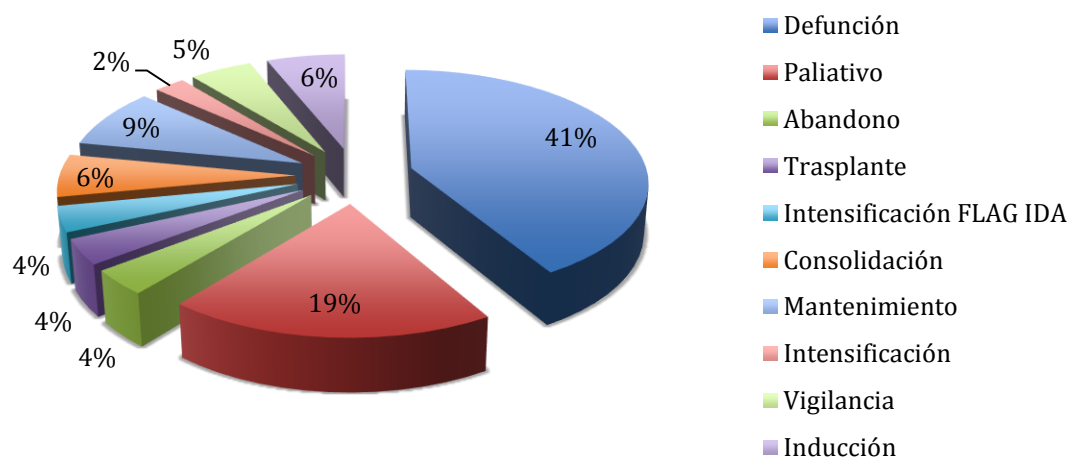


Fig. 7 Defunción

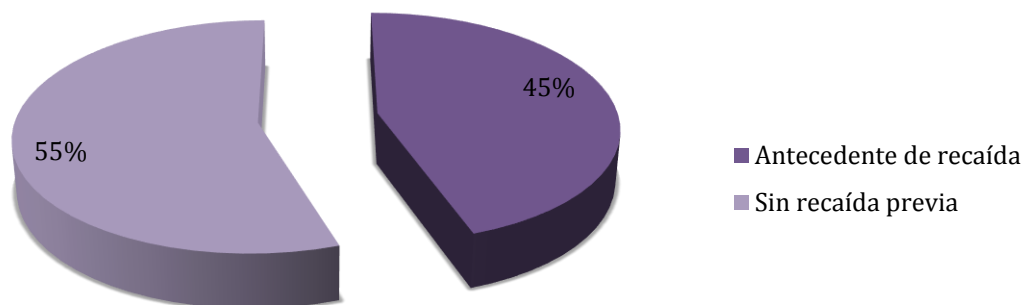
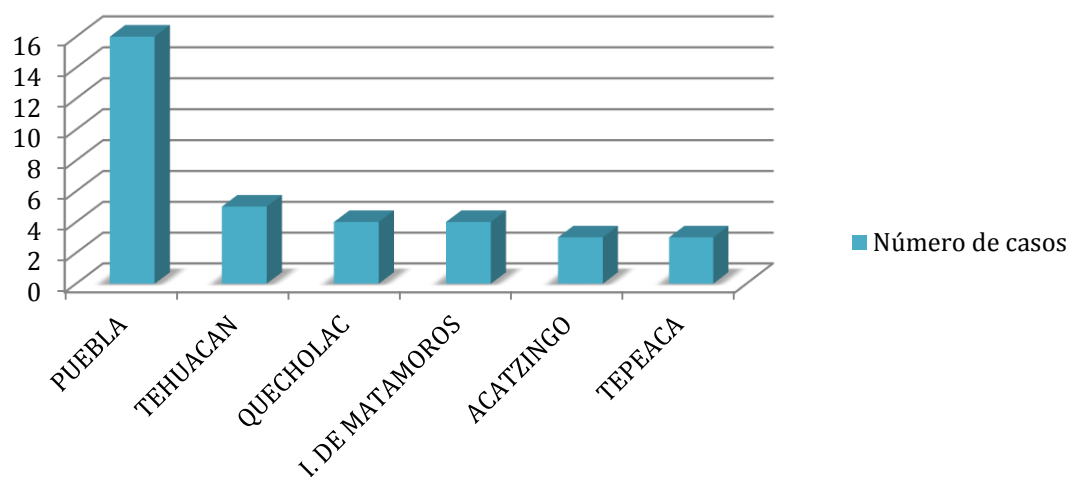


Fig. 8 Predominio de distribución de casos de recaída.



DISCUSIÓN

En éste estudio se registraron un total de 262 expedientes de pacientes con diagnóstico de Leucemia Aguda Linfoblástica, en el cual se documentaron 82 casos de recaída a diversos niveles. No se encontró predominio de algún género en los casos reportados, en comparación con lo reportado por Pizzo et al, en la cual se observa predominio del sexo masculino. Sin embargo en los casos de recaída se observó discreto predominio del sexo femenino en la etapa escolar, donde también se encontraron clasificados la mayor parte de casos, siendo de mayor riesgo en los lactantes.

Se observó alta frecuencia de recaídas que pueden estar relacionadas a diversos factores. Dentro del grupo de pacientes con recaída, el 55% fueron clasificados al diagnóstico con riesgo alto y de riesgo extremadamente alto en un 35%. La estirpe de dichos casos fue el estirpe Pre B lo cual coincide con lo publicado por Lanzkowsky P et al. Con predominio de inmunofenotipo CD19+ en un 82.9 % en pacientes con recaída y de CD10+ en 81.7% de pacientes sin recaída. Los eventos de recaída fueron predominantemente de manera aislada a médula ósea, seguido de recaída aislada a Sistema Nervioso Central y en tercer lugar de manera simultánea en ambas localizaciones. La localización extramedular y extra SNC más frecuente fue a nervio óptico, presentándolo de manera aislada o incluso de manera simultánea coincidiendo con lo presentado por Pizzo et al.

El porcentaje de defunción en los pacientes con reporte de recaída fue del 41%, predominando en pacientes que habían presentado recaída aislada a médula ósea. Del resto de los pacientes únicamente en 3 casos se realizó trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, 22 pacientes se encuentran en diversas fases del esquema de quimioterapia, 16 pacientes se encuentran en cuidados paliativos y se reportó en 3 casos abandono al tratamiento. El resto de los pacientes se mantiene en vigilancia aparentemente con adecuada evolución.

En éste estudio se encontró como ciudad de origen de los pacientes la capital del Estado de Puebla, seguido de Tehuacán, el cual de acuerdo al conteo de población del INEGI 2010 es el segundo municipio más poblado del estado. Resto de municipios sin predominio significativo.

CONCLUSIONES

La leucemia aguda linfoblástica es la malignidad más común de la infancia.

Se encontró un predominio del sexo femenino en los pacientes con recaída sin encontrar una causa específica. La edad al diagnóstico predominante fue la etapa escolar.

Fue más común la recaída a medula ósea como menciona la literatura mundial hasta en el 80% de los casos, presentando una mortalidad del 41%.

El inmunofenotipo predominante en los pacientes con recaída fue CD19+ en un 82.95% asociándose a otros factores de alto riesgo como edad, carga tumoral y enfermedad residual mínima al final de la IR. El inmunofenotipo en pacientes que no presentaron recaída predominó el CD10+ en un 81.7%.

Esta investigación deberá ser considerada para estudios de mayor profundidad en búsqueda de causalidad, tratamiento y pronóstico en los niños con padecimientos hematológicos, ya sea estudios de campo, de cohortes o casos y controles.

PRESUPUESTO

- Recursos materiales: Sistemas de cómputo, Software (Word, Excel, Power Point)
- Recursos financieros: Sistemas de cómputo, Software (Word, Excel, Poder Point) y papelería.
- Recursos humanos
- Gastos sensibles: Sistemas de cómputo, Software (Word, Excel, Power Point), papelería y transporte.
- Gastos insensibles: Tiempo invertido durante una semana

BIOÉTICA

Se conducirá esta investigación bajo lineamientos nacionales, tales como la Norma Oficial Mexicana NOM-168. Se respetará lo señalado en la Ley General de Salud para la Investigación Clínica.

Por el diseño del estudio, no se necesita de la realización de consentimientos informados puesto que no se realizarán maniobras de experimentación en los pacientes.

Se salvaguardarán tanto el anonimato de los sujetos para evitar su identificación, como los principios éticos básicos en la conducción de esta investigación.

Se conducirá el estudio considerando Documentos Internacionales y nacionales que regulan la Ética de la Investigación, tales como la Declaración de Helsinki, el Informe Belmont, la Conferencia Internacional de Armonización (CH6), la Ley General de Salud en materia de Investigación en seres humanos, y documentos regulatorios de la Comisión Nacional de Bioética.

BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Margolin JF, Steuber CP, Poplack DG. Acute Lymphoblastic Leukemia. En: Pizzo PA, Poplack DG (eds). Principles and practice of pediatric oncology 5th ed. Philadelphia: JB Lippincott, 2006: 539.
- ² Rivera-Luna R. Conceptos epidemiológicos del cáncer infantil en México. En: Rivera R. Hemato-oncología pediátrica, Principios generales. 1ª ed. México: Editores de textos mexicanos, 2006: 5.
- ³ Howard S, Metzger M, Riberio R, et al. Childhood cancer epidemiology in low-income countries. En: Cancer. 2008; 112, (Issue 3): 461-472.
- ⁴ Schmiegelow K, Gustafsson Ginran. Acute lymphoblastic leukemia. En: Voûte PA, Barrett A, Stevens MCG, et al. Cancer in children: Clinical Management, 5th ed. SIOP. Oxford University Press. 2005: 139.
- ⁵ Sergentanis, TN, Thomopoulos TP, et al. Risk for childhood leukemia associated with maternal and paternal age. En: European Journal of Epidemiology. Vol. 30. Nro 13. Enero 2015. Págs: 1229-61.
- ⁶ Genética del cáncer. Instituto Nacional del Cáncer 2015. Disponible: <http://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/genetica>
- ⁷ Paredes R. Leucemias agudas. En: Rivera-Luna R. El niño con cáncer, los padecimientos más comunes para el médico no especialista. 1ª ed. México. Editores de textos mexicanos, 2007: 49.
- ⁸ Smith O, Hann I. Clinical features and therapy of lymphoblastic leukemia. En: Arceci R, Hann I, Smith O. Pediatric hematology. 3rd ed. Blackwell Publishing Ltd. 2006: 450-455.
- ⁹ Rytting M, Choroszy M, Petropoulos D, et al. Acute leukemia. En: Wah Chan, Beverly R. Pediatric Oncology. M.D. Anderson. Cancer Care Series. 2005: 1-17.
- ¹⁰ Lanzkowsky P. Leukemia. En: Lanzkowsky P. Manual of pediatric hematology and oncology. Fourth Edition. 2005: 415-452.
- ¹¹ Rivera-Luna R. Inmunofenotipo de las leucemias agudas. En: Rivera R. Hemato-oncología pediátrica, Principios generales. 1ª ed. México: Editores de textos mexicanos, 2006: 157-175.
- ¹² Quero-Hernández A, Estrada R, Pacheco I, et al. Características clínicas e inmunofenotípicas en un grupo de niños con leucemia aguda linfoblastica. En: Pediatría de México, 2012; 14 (Issue 4): 166-171.
- ¹³ Correa L, Mandeville P, Manrique-Dueñas J, et al. Valor pronóstico del inmunofenotipo en la respuesta temprana de la leucemia aguda linfoblastica pre-B en niños. En: Gac Méd. Méx. 2005: 141 (Issue 6): 477-482.

¹⁴ Fajardo A. Cancer mortality in children. En: Bol. Med. hosp. Infant. Mex. 2005; 62 (Issue 1):1-3

¹⁵ Krentz S, Hof J, Mendioroz A, et al. Prognostic value of genetic alterations in children with first bone marrow relapse of childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. En: Leukemia. 2013; 27: 295-304.

¹⁶ Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. Risk based treatment assignment. National cancer institute 2013. Disponible en:
http://www.cancer.gov/types/leukemia/patient/child-all-treatment-pdq#section/_76.
Revisado el 30.01.2013.