



112183
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO 2EJ

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POST-GRADO
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MEDICO SIGLO XXI
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

ANORMALIDADES CITOGENETICAS EN LEUCEMIA
AGUDA NO LINFOBLASTICA, UTILIDAD PARA
DOCUMENTAR LA REMISION TEMPRANA, EN
POBLACION MESTIZA MEXICANA.

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALIDAD EN: HEMATOLOGIA
P R E S E N T A :
DRA. SUSANA GUERRERO RIVERA

DIRECTOR DE TESIS:
DR. ENRIQUE GOMEZ MORALES



IMSS

MEXICO, D. F.

1994

1995
FALLA DE ORIGEN

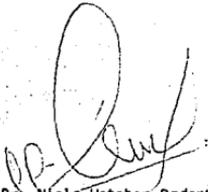


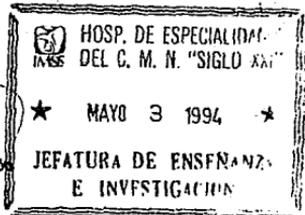
UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

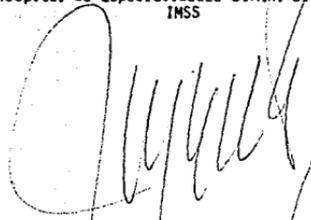
DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

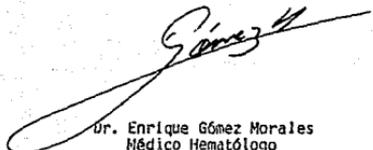
Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.


Dr. Niels Watcher Rodarte
Jefe del Departamento de Enseñanza e Investigación
Hospital de Especialidades C.M.N. Siglo XXI
IMSS




Dr. Javier Pizzuto Chávez
Jefe de Servicio de Hematología
Hospital de Especialidades C.M.N. Siglo XXI
IMSS


Dr. Enrique Gómez Morales
Médico Hematólogo
Hospital de Especialidades C.M.N. Siglo XXI
IMSS
Asesor de trabajo de tesis

FALLA DE ORIGEN

A Dios:

Por esta vida llena de bendiciones

A mis padres:

Julia y Luis Manuel por su esfuerzo y cariño

A mi esposo:

Mario A., por su amor y paciencia

A mi hija:

Mariana, porque con su presencia ha llenado
de alegría mi vida.

CON CARO Y ADMIRACION
AL DR. JAVIER PIZZUTO CHAVEZ
JEFE DEL SERVICIO DE HEMATOLOGIA

A MIS MAESTROS:

DR. MANUEL R. MORALES POLANCO
DR. ENRIQUE GOMEZ MORALES
DRA. ELIZABETH SANCHEZ VALLE
DR. LUIS ANTONIO MEILLON GARCIA
DRA. CECILIA GUILLEN MARISCAL
DR. GABRIEL CHAVEZ SANCHEZ
DR. GUILLERMO GUTIERREZ ESPINDOLA

MUY EN ESPECIAL:

DR. ENRIQUE GOMEZ MORALES

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS:

LAURA, ALBERTO Y JORGE

POR SU AMISTAD INCONDICIONAL Y SUS VALIOSAS
ENSEÑANZAS.

MIL GRACIAS.....

ANTECEDENTES

La leucemia aguda es una enfermedad maligna, progresiva y de los tejidos hematopoyéticos, caracterizada por leucocitos inmaduros anormales en sangre periférica, médula ósea y otros tejidos (1):

Descrita en 1827 por Velpeau y denominada "leucemia" en 1847 por Virchow, en 1900 Naegeli la dividió en dos categorías, denominadas mielocítica y linfocítica (2, 3).

En la patogenia de la leucemia aguda no linfoblástica (LANL) se ha postulado que el fenómeno leucemogénico se explica por aumento en la actividad proliferativa, o disminución de la muerte celular, acompañados de bloqueo de la maduración. La lesión tiene lugar en la célula tallo. Lo cual condiciona una expansión irrestringida de la clona originada de una célula rearrreglada genéticamente y comprometida, en relación a la diferenciación (4, 5).

Durante muchos años los clínicos han ideado clasificaciones para establecer el pronóstico y definir subgrupos de pacientes con leucemias, que puedan beneficiarse de un tratamiento en particular. Así surgió la clasificación franco - americano - británica (FAB) en 1974 - 1975, en la que un grupo de hematólogos de esas nacionalidades se reunió para revisar las características del frotis sanguíneo y de médula ósea de 200 casos de LANL y propusieron seis categorías de la enfermedad (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) con una concordancia de 70% entre observadores. En 1985, modifican algunos criterios para tener más precisión, definen la variedad M4 con eosinofilia, la variante hipogranular de M3 y la M7. Dicha clasificación se basa en criterios morfológicos, citoquímicos, inmunológicos y de microscopía

electrónica. A pesar de estos avances, la clasificación no tiene utilidad pronóstica y de respuesta al tratamiento, debido a lo heterogéneo de los diversos subgrupos de la enfermedad (6, 7, 8, 9).

En los dos últimos decenios, avances en genética y biología molecular han permitido un enfoque diferente y más prometedor en relación al pronóstico de estas enfermedades.

Los estudios en citogenética datan de 1840. Un patólogo alemán, David Von Hansemann (10) realiza una de las observaciones más trascendentes en el conocimiento de la biología molecular del cáncer. Durante el estudio de biopsias de carcinomas encontró frecuencia aumentada de irregularidades nucleares y mitóticas; sugirió que este fenómeno podría tener relación con el origen y desarrollo de la neoplasia.

Veinte años más tarde Theodor Boveri en su libro "Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren", menciona lo que se conocería como la hipótesis de Boveri: las anomalías cromosómicas son la causa de los cambios celulares entre la transición de proliferación normal a maligna.

Desafortunadamente hubo pocos avances al respecto durante la primera mitad del siglo, que se llamó la "edad oscura de la citogenética". En 1950 vuelve a cobrar fuerza el estudio citogenético, mediante técnicas de compresión y tinte se logran visualizar por vez primera los cromosomas de una neoplasia. Simultáneamente se intentaron cultivos celulares *in vitro* con gran éxito.

En 1956, Joe Hin Tjio y Levan describen por vez primera el número correcto de cromosomas en el ser humano.

En 1930, Winger define por primera vez el concepto de célula tallo

(temcell); describió el compartimiento de las células malignas con los siguientes términos: se conserva un equilibrio dinámico por presión selectiva, pero cualquier cambio en el ambiente puede romper el balance, lo que origina una mutación en el cariotipo de la célula tallo que es heredado a su progeñie. Esto trajo consigo el concepto de clonalidad, aun vigente.

Levan (1967), Koller (1972), Hsu (1979) y Sandberg (1980) recopilaron y analizaron los estudios cromosómicos de células malignas en mamíferos, incluso el ser humano. Los resultados indican fuertemente que los cambios cromosómicos forman parte integral de la evolución de la neoplasia.

En 1960, se realizó uno de los descubrimientos más trascendentales en la citogenética del cáncer. Nowell y Hungerford descubren en el cariotipo de los pacientes con leucemia mieloide crónica un pequeño marcador al que llamaron cromosoma Philadelphia (Ph').

Según la teoría de Boveri, era razonable creer que la alteración citogenética tiene repercusión directa sobre el estado neoplásico; sin embargo, las variadas alteraciones encontradas en los cariotipos sugieren que más que un factor patogénico, se trata de un epifenómeno durante la progresión de la neoplasia. Empero, hoy se han efectuado importantes estudios en los que el rearrreglo citogenético da origen a proteínas que pueden funcionar como oncogenes.

La introducción de la técnica de bandeó por Caspersson y col. en 1970, revolucionó por completo el análisis citogenético: fue posible caracterizar cada cromosoma en particular con base en su patrón de bandeó único, lo que permitió el descubrimiento de alteraciones no

descritas con anterioridad.

El estudio citogenético y los avances en biología molecular del cáncer, en especial de las leucemias, ha permitido entender mejor la patogenia y progresión de la enfermedad. La importancia del estudio citogenético no sólo radica en el conocimiento molecular de la enfermedad sino que ha tenido aplicación clínica directa en el diagnóstico y pronóstico.

La primera descripción de cambios en el cariotipo de pacientes con leucemia aguda no linfoblástica se publicó en 1950. Con el tiempo y el avance de las técnicas para el estudio cromosómico, ha sido posible identificar estos rearrregios en 70% a 80% de los enfermos, incremento de un 20 a 30 % respecto a hace 10 años, según lo informado en el Cuarto Congreso Internacional sobre Cromosomas en Leucemia, llevado a cabo en 1982.

La nomenclatura utilizada en citogenética se basa en acuerdos logrados en varias conferencias internacionales. El documento más reciente y autorizado al respecto es "An International System for Human Cytogenetic Nomenclature" (1985), ISCN, el cual incorpora las decisiones más trascendentales.

Los cromosomas se clasifican de acuerdo a su tamaño, localización del centromero (punto que separa el cromosoma en dos brazos), y el patrón de bandeo a lo largo de cada brazo. Los cromosomas autosómicos se numeran del 1 al 22, de mayor a menor tamaño; los cromosomas sexuales se denominan X y Y.

Cuando no se utilizan métodos de bandeo es posible distinguir siete grupos de cromosomas que van de la letra A a la G con base en el tamaño y la posición del centromero. Si se utiliza bandeo, todos los

membros del grupo A al G tienen características únicas; esto permite la identificación individual de los 24 tipos de cromosomas.

Cada brazo del cromosoma (brazo corto denominado por la letra p, brazo largo denominado por la letra q) puede contener una o más regiones. Cada región es delimitada por una marca específica y puede contener una o más bandas. Una banda se define como un área del cromosoma que es distinguible del segmento adyacente por su aspecto claro u oscuro de acuerdo a la técnica de bandeado. De esta manera, los cromosomas se visualizan como series continuas de bandas transversales claras y oscuras; por definición, no hay interbandas.

Las regiones y las bandas se numeran consecutivamente del centrómero a la periferia de cada brazo del cromosoma. Así, las dos regiones adyacentes al centrómero son 1 en cada brazo.

Para distinguir cualquier banda en particular se requieren cuatro datos: el número de cromosoma, el símbolo del brazo, el número de región y el número de la banda dentro de la región. Estos puntos se anotan en orden consecutivo sin espacios o puntuaciones. Por ejemplo, 9q34 significa cromosoma 9, brazo largo, región 3 y banda 4.

En la descripción del cariotipo, se menciona en primer lugar el número de cromosomas, seguido por una coma. A continuación se da el cromosoma sexual. Así, el cariotipo normal de un varón se escribe 46,XY y el de una mujer 46,XX.

Las alteraciones estructurales específicas de los cromosomas se mencionan con una o tres letras abreviadas. Los cromosomas afectados se agrupan dentro de un paréntesis inmediatamente después del símbolo que indica el rearrreglo. Si uno o más cromosomas están alterados, se utiliza un punto y coma para separar su designación. Si uno de los

cromosomas afectados corresponde a uno sexual, se menciona primero. Los puntos de rotura se anotan dentro del paréntesis, en el mismo orden que los cromosomas; el punto y coma se utilizan para separar los puntos de rotura. Según la ISCN (1985) las abreviaturas utilizadas con mayor frecuencia para describir rearrreglos citogenéticos son:

Translocación, abreviado *t* : Esto significa que un segmento del cromosoma ha pasado de un cromosoma a otro y viceversa.

Inserción, abreviado *ins*: Significa que un segmento del cromosoma ocupa una posición nueva, intersticial, en el mismo u otro cromosoma. Siempre se especifica primero el cromosoma en el cual está insertado el segmento. Por ejemplo *ins (5;2)(p14;q22q32)* significa que la rotura y la reunión han ocurrido en la banda 5p14 en el brazo corto del cromosoma 5 y en las bandas 2q22 y 2q32 en el brazo largo del cromosoma 2. El segmento desde 2q22 hasta 2q32 se ha insertado en 5p en la banda 5p14. De modo similar, *ins(2)(q13p13p23)* describe una inserción del segmento entre las bandas 2p13 y 2p23 en el brazo largo del cromosoma 2 en 2q13.

Inversión, abreviado *inv*: esta designa una rotación de 180° de un segmento de cromosoma. En el cariotipo 46,XY,inv(3)(q26q29), la rotura y la reunión han ocurrido en las bandas 3q26 y 3q29. El segmento entre estas bandas todavía está presente pero al revés.

Delección, abreviado *del*: Significa pérdida de un segmento de cromosoma. Sea que una delección esté interpretada como terminal o intersticial, es evidente a partir de las designaciones de rotura.

Duplicación, abreviado *dup*: Indica la presencia de una copia adicional de una parte de un cromosoma. Los puntos de rotura trazan el segmento duplicado.

el segmento duplicado.

Isocromosomas y cromosomas anulares, abreviado *i* y *r*, respectivamente. Los isocromosomas consisten de brazos homólogos que son imágenes reflejadas de uno a otro. Ellos resultan de una división errónea del centrómero (rotura transversa). Un ejemplo típico es el 11.9, un isocromosoma en el brazo largo del cromosoma 17. El significado del cromosoma anular es evidente a partir del nombre: Han ocurrido roturas en ambos brazos, los cortos y los largos, con fusión subsiguiente para formar una estructura anular.

Las aportaciones del estudio citogenético y biología molecular han tenido tal trascendencia que se ha sugerido una nueva clasificación complementaria a la del grupo FAB, en la que se incluyen aspectos morfológicos, inmunológicos y citogenéticos (MIC) (11).

Los resultados en el estudio de cariotipos han demostrado rearrreglos cromosómicos que se agrupan en tres tipos: 1) Rearreglos primarios, que suelen encontrarse como anomalía única en cáncer y se relacionan específicamente con un tipo de neoplasia (en este caso leucemia) con un posible vínculo fisiopatológico con la enfermedad; 2) Rearreglos secundarios en estrecha relación con el defecto primario, nunca se encuentran como cambios únicos. Aún así, cuando el cambio genético primario es submicroscópico, un rearrreglo secundario puede dar erróneamente la impresión de ser único. Tienen una posible participación en la progresión de la enfermedad, y 3) Ruidos cromosómicos, constituidos por cambios citogenéticos que son el último nivel de aberraciones no consecutivas, que no son trascendentales en la progresión tumoral (12, 13 y 14).

A diferencia de lo que sucede en leucemia linfoblástica aguda, los

rearrreglos estructurales cromosómicos predominan sobre los numéricos; con todo, se han descrito casos con trisomía 8, y algunos con hiperdiploidia (más de 50 cromosomas), relacionados con una supervivencia breve. Los rearrreglos citogenéticos, tanto estructurales como numéricos, pueden ser simples o complejos. Los primeros, se dan sólo en un cromosoma o en dos como máximo; en tanto los segundos se presentan en un número mayor (29)

El estudio citogenético ha permitido el diagnóstico en situaciones difíciles, e incluso tiene inferencias pronósticas como factor independiente para determinar la respuesta inicial al tratamiento, la duración de la remisión y la supervivencia a largo plazo (15 y 17). En la actualidad, ningún factor relacionado con el diagnóstico de LANL ha demostrado validez para establecer las posibilidades de remisión o supervivencia, a excepción de la edad y los rearrreglos citogenéticos, que día con día han logrado un lugar predominante (30).

Los rearrreglos cromosómicos en pacientes con LANL varían de un informe a otro; como quiera que sea, se han identificado 10 subtipos que si bien no son patogénicos se han encontrado con mayor frecuencia en los diferentes subgrupos del FAB: M2/t (8;21), M3v/t (15;17), M5a/t (11q;V), M4eo (inv 16), M1/t (9;22), M2/t(6;9), M1 (inv3); los siguientes tres subtipos restantes son poco frecuentes y están en proceso de aprobación de acuerdo a estudios prospectivos M5b t (8;16), M2 con basofilia t (12p;V); M4 t4., lo que ha permitido conocer mecanismos patogénicos y predecir la evolución clínica de la enfermedad (18). En el cuadro 1 se presentan los rearrreglos cromosómicos encontrados con mayor frecuencia en pacientes

CUADRO 1
 REARREGLOS CROMOSOMICOS ASOCIADOS A LEUCEMIA AGUDA NO
 LINFOBLASTICA

REARREGLOS	FRECUENCIA %
t(1;3)(p36;q21)	1
t(1;7)(p11;p11)	1
inv(3)(q21;q26)	1
t(3;5)(q21;q31)	1
t(8;15)(p11;p13)	1
+13	1
+4	1-2
t(6;9)(p23;q34)	1-2
t(9;22)(q34;q11)	1-2
del/t(11q13-14)	1-2
i(17q)	1-2
del(20)(q11)	1-2
+21	1-2
-Y	1-2
del(7q)	3-4
-7	3-4
del(9q)	3-4
del/t(12p)	3-4
del(5q)	5-6
+8	5-6
del/t(11q23)	5-6
inv(16)(p13q22)	8
t(8;21)(q22;q22)	12
t(15;17)(q22;q11)	12

Heim and Mitelman. Cancer Supplement 1992;70.

con LANL de novo (31).

Algunos rearrreglos, como las trisomias 8 y 21 pueden hallarse en todos los subtipos de la clasificación FAB, tanto en leucemia de novo como en leucemia secundaria; sin que se haya encontrado alguna relación con los datos morfológicos o clínicos. Otras alteraciones, entre ellas la t(15;17), t(8;21) y t o inv(16), muestran fuerte vínculo con tipos de la FAB, es decir, con aspectos morfológicos específicos, y rara vez se observan en leucemia secundaria, displasia eritroide o megacariocítica. Otras anomalías como la t(6;9), t(1;7), t(3;3) e inv(3) se presentan en múltiples subtipos de mielodisplasia y en leucemia tanto de novo como secundaria (relacionada con radiación o fármacos). Las alteraciones estructurales vinculadas con pérdida de material cromosómico se relacionan más a menudo con leucemia secundaria y mielodisplasia; como ejemplo podemos citar -5,5q-, -7, -7q. Las anomalías complejas también se observan en dichas enfermedades y en la leucemia eritroblástica (M6).

Las alteraciones citogenéticas se consideran un factor pronóstico independiente, pese a que los rangos pronósticos no han sido idénticos en las diferentes series de enfermos, relacionado a la ausencia de uniformidad en los tratamientos (16,27,28). Se ha notado buena respuesta en quienes presentan inv(16), y peor pronóstico ante delección o monosomía del cromosoma 5, o 7, o ambos, t(1;7), t(6;9), inv(3), t(3;3), así como en presencia de rearrreglos complejos. En un grado intermedio se encuentran la t(8;21), t(15;17) y translocación que incluye al 11q23, con buen índice de respuesta y supervivencia prolongada.

En la actualidad la supervivencia a cinco años en adultos, es de

10 a 20 %, y es mayor en niños. La necesidad de conocer factores pronósticos es imperiosa; su identificación permitirá al clínico elegir entre las estrategias terapéuticas disponibles, según lo propuesto por la Dra. Clara Bloomfield en el Congreso Americano de Hematología en Denver (1991). Se postula que el tratamiento debe adecuarse a la edad y a la alteración citogenética detectada (cuadros 2 y 3)(10,19,20,25).

El concepto de remisión clonal y su inferencia con la curación de la leucemia ha cobrado mayor importancia para establecer la estrategia terapéutica apropiada en cada categoría pronóstica, como lo demuestran los estudios al respecto (21-24).

En México, los estudios citogenéticos y su correlación con la evolución clínica de la LANL se encuentran en fase inicial. Las aportaciones han sido muy interesantes; se han identificado anomalías citogenéticas no informadas con anterioridad, y otras que no corresponden al tipo citomorfológico en el que se encuentran. En un estudio de Tesis realizado en el Hospital General de la Secretaría de Salud en la Ciudad de México (26) se identificaron rearrreglos cromosómicos, con técnicas estandar, en una proporción mayor a la señalada en la literatura (100 %). Lamentablemente, por dificultades en el suministro de esquemas de quimioterapia similares a los utilizados en otros estudios internacionales, no fue posible hacer una correlación pronóstica. Consideramos indispensable contar con estudios prospectivos, llevados a cabo en nuestra población, que incluyan un número mayor de pacientes, en los que sea posible utilizar esquemas de quimioterapia que han demostrado utilidad para lograr remisión completa posterior al primer ciclo. La importancia de contar con

CUADRO 2

Significancia clínica de la citogenética en adultos con LMA

LMA	
BAJA FRECUENCIA DE INDUCCION	12p-.5q-.,+13 .,+8,inv 3
ALTA FRECUENCIA DE INDUCCION	
RC y sobrevida corta	t(9;11)
RC y sobrevida media	16q22,t(15;17). cariotipo normal
Sobrevida larga	t(8;21)

CUADRO 3

USO DE FACTORES PRONOSTICOS PARA TERAPIA SELECTIVA EN LMA	
BAJA FRECUENCIA DE INDUCCION	
Edad avanzada	Factor de crecimiento + quimioterapia
Antecedentes de desordenes hematológicos	Quimioterapia nueva para LMA secundaria.
Citogenética adversa (12p-.5q-.,+13,+8,inv 3)	Ambas de arriba
ALTA FRECUENCIA DE INDUCCION	
RC y sobrevida corta t(9;11)	TMO en primera RC
RC media	
Anormalidades 16q22,t(15;17) cariotipo normal	Elegir entre TMO y quimioterapia intensa
RC larga t(8;21)	Intensificación con quimioterapia

estudios realizados en población mestiza, radica en el posible origen de estas enfermedades que puede estar relacionado con diversos factores, entre ellos ambientales, étnicos y hereditarios, que varían en las diversas poblaciones. La caracterización de la enfermedad en población mestiza, nos permitirá identificar nuestros propios rearrreglos cromosómicos y su relación con el pronóstico, y, así, buscar alternativas terapéuticas acordes a nuestras posibilidades con el fin de lograr remisión y con ello curación de la enfermedad.

La LANL es, con la leucemia aguda linfoblástica, la primera causa de atención en este hospital. Además, es la principal causa de internamiento, y cada año se identifican alrededor de 40 enfermos de primera vez.

estudios realizados en población mestiza, radica en el posible origen de estas enfermedades que puede estar relacionado con diversos factores, entre ellos ambientales, étnicos y hereditarios, que varían en las diversas poblaciones. La caracterización de la enfermedad en población mestiza, nos permitirá identificar nuestros propios rearrreglos cromosómicos y su relación con el pronóstico, y, así, buscar alternativas terapéuticas acordes a nuestras posibilidades con el fin de lograr remisión y con ello curación de la enfermedad.

La LANL es, con la leucemia aguda linfoblástica, la primera causa de atención en este hospital. Además, es la principal causa de internamiento, y cada año se identifican alrededor de 40 enfermos de primera vez.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con los antecedentes mencionados, nos planteamos el siguiente problema, motivo del estudio:

¿ Qué rearrreglos citogenéticos influyen para lograr la remisión completa en pacientes con leucemia aguda no linfoblástica, bajo quimioterapia mieloablativa de inducción a la remisión ?

OBJETIVO GENERAL.

1. Determinar si los rearrreglos citogenéticos son de utilidad para predecir la remisión temprana en pacientes con LANL, bajo quimioterapia mieloablativa de inducción a la remisión.

INTERMEDIO

Identificar los rearrreglos citogenéticos presentes en pacientes mestizos con LANL de novo y secundaria, en el momento de la enfermedad.

HIPOTESIS.

Ho.-Los rearrreglos cromosómicos identificados en pacientes con LANL no son de utilidad para predecir el logro de remisión temprana

HA.-Los rearrreglos citogenéticos son útiles para predecir el logro de remisión temprana en pacientes con LANL bajo a quimioterapia.

MATERIAL Y METODO

A. UNIVERSO DE TRABAJO

Todos los pacientes que ingresen de primera vez al Hospital de Especialidades CMN S XXI , Servicio de Hematología, sin tratamiento previo y con diagnóstico de leucemia aguda no linfoblástica, entre agosto de 1991 y julio de 1993.

Se trata de un Hospital de tercer nivel, al que se refieren los pacientes con sospecha de leucemia aguda procedentes de los Hospitales Generales de Zona del sur de la Ciudad de México y de los Estados de Morelos, Guerrero y Chiapas.

B. DISEÑO DEL ESTUDIO

Es un estudio prospectivo, longitudinal, observacional y descriptivo. Estudio de una cohorte.

C. DESCRIPCION DE LAS VARIABLES

1.- Metodología.

1.1.- Variables independientes

Rearreglos citogenéticos

1.2.- Variable dependiente

Lograr remisión temprana de la enfermedad

1.3.- Variables de confusión

Edad

Tipo de leucemia

Datos de alta masa tumoral

Esquema de quimioterapia

D. DESCRIPCION OPERATIVA DE LAS VARIABLES

1. Rearreglos citogenéticos: Se determinaron mediante el estudio cromosómico directo, con bandeo y, de ser necesario, cultivos. Estos se clasificaron como rearreglos de buen y mal pronóstico según lo informado en la literatura disponible hasta el momento. Se consideraron de buen pronóstico la t(15;17), t(8;21), inv 16,

alteraciones simples que no incluyan monosomía 5,7. De mal pronóstico fueron monosomías mencionadas, el cromosoma Philadelphia, alteraciones que incluían más de dos rearrreglos estructurales y/o numéricos (complejas).

2. Remisión temprana de la enfermedad: se valoró de acuerdo a el estudio de médula ósea que se obtuvo al iniciar cada uno de tres ciclos de quimioterapia. La persistencia de actividad leucémica posterior a los tres ciclos se consideraron fracasos.

3. Edad: se tomó en años cumplidos al momento del estudio, mediante interrogatorio directo del paciente. Se expresó en una escala cuantitativa discontinua y se clasificó en tres grupos: <30 años, 30-50 y > 50.

4. Leucemia aguda no linfoblástica: Síndrome clínico caracterizado por anemia, púrpura - hemorragia e infiltración tásular; en un paciente con más de 30% de blastos mieloides en médula ósea observados con microscopio de luz. Clasificado según los criterios del grupo FAB (Anexo A).

5. Se consideró alta masa tumoral a la presencia de leucocitosis mayor de $30 \times 10^9 / l$, infiltración extramedular, sarcoma granulocítico.

6. Todos los pacientes recibieron quimioterapia capaz de producir mielodepresión grave, con posibilidad de remisión de la enfermedad de 60 a 70%. El esquema de tratamiento empleado en la actualidad incluye arabinósido de citosina 100 mg/m² por siete días, más un antracíclico; Daunorrubicina 45 mg/m² por tres días (ANEXO C). En caso de que el enfermo tenga contraindicación para el empleo de antracíclicos, se empleó el esquema PAO.

FALLA DE ORIGEN

E EVALUACION DE LA EFICACIA:

a) Criterios de respuesta.

1. La médula ósea fue evaluada de acuerdo al porcentaje de blastos.

VALOR	% de blastos
M1	0.0 - 5.0
M2	5.1 - 25.0
M3	25.1 - 50.0
M4	>50.1

La calidad de médula ósea para un valor M1 debió tener celularidad acorde con la edad del paciente y maduración de las tres series (eritrocitos, granulocitos y megacariocitos) dentro de lo normal, excepto para cambios inducidos por fármacos, como macrocitos o hiperplasia eritroide reactiva, o ambas.

2. La celularidad medular se definió como:

0	Aplástica
1+	Hipo celular
2+	Normocelular
3+	Hiper celular
4+	Empaquetada (hipercelular intenso)

b) DEFINICIONES DE RESPUESTA

1. Remisión completa (RC).- evaluación en médula M1 y con recuento de leucocitos mayor a 1×10^9 /l, y de plaquetas mayor a 100×10^9 /l. Asintomático y exploración física dentro de lo normal.

2- Remisión parcial (RP).- Evaluación en médula M1, pero recuperación incompleta en sangre periférica con recuento de leucocitos menor de 1×10^9 /l y de plaquetas menor a 100×10^9 /l, ó evaluación de la médula ósea en M2, pero recuento de plaquetas y leucocitos dentro de lo normal y sin manifestaciones clínicas de la enfermedad.

3. Fracaso (F); imposibilidad de cubrir alguno de los criterios previos.

4. Falla al tratamiento de inducción a la remisión valorado según los criterios de Preisler (Anexo C).

F. CRITERIOS DE SELECCION

a) Inclusión

- Edad mayor de 16 años
- Ambos sexos
- Diagnóstico de LANL de novo, clasificada por los criterios del grupo FAB; o secundaria a mielodisplasia.
- Sin tratamiento específico previo

b) No inclusión

- Haber recibido tratamiento previo con quimioterapia.
- Aquellos que rechacen el tratamiento propuesto, capaz de lograr remisión

c) Exclusión

- Pérdida de seguimiento clínico del enfermo.
- Aquellos que no tengan aspirado de médula ósea para documentar remisión y estudio citogenético para correlación.

G. PROCEDIMIENTOS

A todo enfermo con diagnóstico de LANL se le tomó sangre periférica venosa y aspirado de médula ósea al inicio de la enfermedad. Se trabajó con tales muestras. Las médulas óseas se procesaron mediante la técnica de Hozier y Linquist (28) modificada. El cultivo de sangre periférica se realizó por la técnica habitual (29). Todos los casos fueron bandeados con la técnica sistemática de bandas G, y sólo algunos con técnicas de bandas C.

Se analizaron de 15 a 50 mitosis según lo permitiera la preparación o lo ameritara el caso. Las anormalidades cromosómicas se describieron de acuerdo a la nomenclatura de Paris. Una clona anormal fue definida por la presencia de al menos dos células "seudodiploides" o hiperdiploides, o de tres células hipodiploides que mostraban la misma alteración. Se consideró presente una clona normal si se observó al menos una mitosis normal.

CARIOTIPO EN MEDULA OSEA

1. Se Agregó 0.5 a 1.0 ml de médula ósea heparinizada a un frasco de vidrio o tubo cónico el cual tenía 10 ml de la siguiente solución: nueve partes de KCl 0.075 M más una parte de solución de tripsina-EDTA a 0.25%, más colchicina a una concentración final de 0.08 g/ml.

2. Esta suspensión de células se incubó a 37°C durante 30 min, se vació en tubos cónicos de centrifuga de 15 ml para centrifugar a 3000 rpm durante 5 min.

3. Se decantó el sobrenadante y se resuspendió el asiento; se fijó el metanol - ácido acético 3:1 fresco. Se Dejó reposar 30 min a temperatura ambiente.

4. Se centrifugó a 3000 rpm durante 5 min y se resuspendió otra vez en fijador. Se Repitió cuantos cambios fueron necesarios (10 aproximadamente).

5. Las preparaciones se hicieron al gotear las suspensión de células a una altura de 1.50 cm sobre portaobjetos, se obtuvieron mejores resultados a la flama. Se tificaron con Giemsa (3 ml de Giemsa + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8) durante 5 a 8 minutos.

6. Se observaron al microscopio de luz y se analizaron.

7. En parte de las laminillas se practicaron la técnica de bandas G para tener un análisis mas preciso.

CARIOTIPO EN LINFOCITOS DE SANGRE PERIFERICA.

1. Las muestras de sangre se tomaron en condiciones estériles con jeringa heparinizada aproximadamente 5 ml.

2. Se colocaron 0.5 ml de sangre en 4.5 ml de medio de cultivo (Mc Coy 5 a) suplementado con suero fetal de ternera (0.5 ml) y antibióticos (penicilina 2000 u/ml + estreptomocina 275 mg/ml). Las muestras se trabajaron por duplicado; sólo a uno de los frascos se agregó el nitrógeno (fitohemaglutina PHA).

3. Se incubó a 37°C durante 70.5 hrs, se agregó 0.5 ml de solución de colchicina a 0.02% (en agua destilada estéril) y se incubó a 37°C por 1.5 hrs.

4. El cultivo se transfirió a tubos cónicos de centrifuga de 15 ml para centrifugar a 3000 rpm durante 5 min.

5.- Se decantó el sobrenadante y se resuspendió el asiento. Se agregaron 5 ml de solución hipotónica (KCl 0.075 M) a 37°C agitando en el vortex. Se dejó reposar durante 37°C.

6. Se centrifugó a 3000 rpm durante 5 min, se decantó el sobrenadante y se agregó gota a gota agitando, en el vortex 5 ml de fijador recién preparado (metanol - ácido acético 3:1). Se dejó reposar 30 min a temperatura ambiente.

7. Se centrifugó a 3000 rpm durante 5 min, se decantó el sobrenadante y se resuspendió en 5 ml de fijador. Se repitió esta operación cuantas veces fue necesario para obtener un asiento blanco y un sobrenadante claro (cinco veces aproximadamente).

8. Para hacer las preparaciones, se decantó el sobrenadante y se agregaron 10 gotas de fijador para resuspender. Se tomó con la pipeta

Pasteur y se dejaron caer 2 - 3 gotas sobre cada laminilla perfectamente limpia y desengrasada desde una altura de 10 - 15 cm. Se dejó secar al aire.

9.- Se efectuó tinción con Giemsa durante 5 min (3 ml de Giemsa + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8). Se lavó con agua corriente y se dejó secar.

10.- Se observó al microscopio. Si las metafases estaban muy cerradas se abrieron al elaborar las laminillas desde una altura mayor o dar más cambios de fijador. En ocasiones fué necesario hacer las laminillas a la flama (sobre portaobjetos bañados en alcohol al 70% y pasando por la flama para secar). Si por el contrario las metafases estaban rotas, se refrigeró el asiento para que se cerraran las mitosis durante toda la noche y posteriormente se elaboraron las laminillas.

BANDAS G

Las bandas G se consideran como un tipo de bandeo positivo; son estructuras constituidas por heterocromatina intercalar, que comprenden cerca de 50% de las cromátides. Se reconocen por sus cualidades cromofílicas en especial para la solución Giemsa, Whright y otros colorantes básicos. Además son relativamente resistentes al tratamiento con calor y a la digestión con enzimas proteolíticas, urea y detergentes (26).

TECNICA:

Las preparaciones cromosómicas se secaron al aire y se dejaron envejecer durante una semana. Se colocaron las laminillas por aproximadamente 10 seg. o más, según cada caso, en una solución que contenían 3 ml de solución de tripsina al 1% + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8 en baño maria a 37°C.

Se lavaron con solución salina isotónica y posteriormente en agua corriente. Se tixeron durante un minuto en Giemsa (3 ml de Giemsa + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8), se lavaron nuevamente con agua corriente y se secaron al aire. Se analizaron al microscopio y se seleccionaron metafases bien bandeadas para fotografía.

BANDAS C

Las bandas C identifican heterocromatina constitutiva localizada en el centrómero y regiones pericentroméricas de los cromosomas 1, 9, 16 y Y. Estas bandas son muy resistentes a la extracción con ácidos y bases, tixen intensamente con Giemsa y otras combinaciones de colorantes.

TECNICA:

- 1.- Se colocaron las laminillas en HCl 0.2 N por 15 a 30 min.
- 2.- Se lavaron con agua destilada.
- 3.- Se colocar en Ba(OH)2 (0.065 M) a 37°C por 15 a 30 min.

- 4.- Se lavaron con agua destilada a 37°C.
- 5.- Se colocaron las laminillas en 2 x SSC (8.82g de citrato de sodio 17.53 g de NaCl en 1000 ml de agua destilada) a 60 durante 2 hs.
- 6.- Se lavaron con agua destilada a 60°C y con agua corriente.
- 7.- Se tifieron con Giemsa (5 ml de Giemsa + 45 ml de amortiguador de fosfatos, pH 6.8).
- 8.- Se observaron y analizaron al microscopio.

A todos los pacientes se les realizó aspirado de médula ósea y sangre periférica para el estudio de cariotipo, de acuerdo a lo descrito. Se tomaron además estudios de laboratorio con biometría hemática completa, química sanguínea, pruebas de función hepática y electrolitos séricos.

En los frotis de médula ósea y sangre periférica se efectuó tinción de Wright y citoquímica (PAS, peroxidasa, esterasa específica e inespecífica). El resultado con Wright se corroboró con biopsia de hueso.

Las muestras para cariotipo se enviaron al Hospital General de México (SS) para su procesamiento, acompañadas de un resumen clínico en el que se describieron las características clínicas de la enfermedad y el diagnóstico.

Después a la aplicación de la quimioterapia se dio tratamiento de apoyo transfusional con paquete globular y concentrado de plaquetas, según los requerimientos; en caso de presentar fiebre o documentarse infección se administraron antibióticos de amplio espectro.

Se administraron dos o tres ciclos de quimioterapia, con intervalo de 28 días entre cada uno (de acuerdo a recuperación medular). Antes de cada ciclo de obtuvo aspirado de médula ósea. En caso de continuar en RC se pasó al programa de consolidaciones bimestrales con esquema rotatorio o bien a base de dosis bajas subcutáneas de arabinósido de citosina e interferón alfa.

Se estableció una correlación entre la respuesta al tratamiento y el estudio citogenético.

H. ANALISIS ESTADISTICO

1. Se realizó el cálculo de muestra.
2. Se elaboró una matriz de correlación (Pearson) entre todas las variables.
3. Se dejaron las que tenían relación alta (más de 0.6)
4. Se realizó un análisis univariado de cada una de las variables contrastado con la presencia o ausencia de la variable dependiente y se excluyeron las de baja sensibilidad.
5. Las de sensibilidad más alta se incluyeron en una regresión log-lineal múltiple.
6. De la regresión se obtuvo un coeficiente para ponderar cada una de las variables.
7. Se elaboró una tabla agrupando en intervalos la suma de los coeficientes de cada paciente.
8. Se propuso un índice pronóstico a evaluar en el futuro.

I. RECURSOS MATERIALES

a) Fotográfico

- 1 Paquete de revelador Dektol (Kodak)
- 1 Paquete de fijador Dektol (Kodak)
- 2 Cajas de papel kodabromide 20.3 x 25.4 cm F2 (Kodak)
- 1 Lata de película kodalith Ortho 65156 35mm (Kodak)

b) Reactivos

- 1 Frasco 500 mg
- 5 Bromo
- 2 Desoxiuridina (Sigma B 5002)

c) De laboratorio

- 1 Caja de tubos cónicos p/centrifuga 15 ml (Uniparts 3216)

d) Para la toma de muestra:

- Equipo de aspirado de Médula ósea (aguja de Jamshidi)
- Jeringa de 10 y 20 cc desechables con aguja.
- Heparina
- Hojas impresas de resumen clínico.

J. RECURSOS HUMANOS

Colaboradores del Departamento de Genética del EC SS (grupo de 9 químicos farmacobiólogos).

Estudiantes de servicio social de QFB

Aseoría experta por la Dra. Koffman

Médicos de base y residentes del RE CMN S XMG

Coordinados por los encargados del proyecto

Aseoría del Dr. Javier Fitzato.

D) Becas

Apoyo económico para pasantes de QFB que realizan tesis en citogenética de leucemias con procesamiento y análisis los cariotipos de estos pacientes.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.

FECHA DE INICIO DEL ESTUDIO.....Agosto 1991
APROBACION DEL PROTOCOLO.....Enero-Febrero 1992
INCLUSION DE PACIENTES.....Agosto 1991-Julio 1993
EVALUACION DE DATOS.....Sesión bimensual
EVALUACION FINAL.....Febrero 1993
PUBLICACION.....1993-94

CONSIDERACIONES ETICAS

El estudio se llevo a cabo con las recomendaciones dirigidas a los médicos en investigación clínica (Declaración de Helsinki, 1964), en el apartado de investigación clínica no terapéutica.

1. En la aplicación científica de investigación clínica, en seres humanos es la función del médico mantener la protección de la vida y la salud, de aquellas personas en las que se lleva a cabo la investigación.

2. La naturaleza, el propósito y el riesgo de la investigación clínica, será explicada al sujeto por el médico.

3a. La investigación clínica en seres humanos no puede ser realizada sin su consentimiento, después de haber sido informado; si es legalmente incompetente, el consentimiento del responsable legal debe procurarse.

3b. El sujeto de investigación clínica deberá estar capacitado mental, física y legalmente, para poder ejercer su poder de elección.

3c. El consentimiento debe ser obtenido por escrito; sin embargo, la responsabilidad permanece con el investigador.

4a. El investigador deberá respetar los derechos de cada individuo para salvaguardar su integridad personal, especialmente si el sujeto depende del investigador.

4b. En cualquier momento durante el curso de la investigación el sujeto o su responsable, podrán evitar que la investigación continúe.

El investigador o los investigadores deberán suspender la investigación, si a su juicio, de continuarla será riesgoza al individuo.

La punción Venosa y el aspirado de médula ósea son procedimientos habituales para estos enfermos, requeridos para el diagnóstico de la enfermedad y evaluar su evolución, de manera que no es un daño agregado al paciente. Las complicaciones, como hematoma e infección, son poco frecuentes en la experiencia del Servicio de Hematología.

RESULTADOS

Se incluyeron 48 enfermos, de agosto de 1991 a julio de 1993, 25 varones y 23 mujeres. Todos reunían los criterios diagnóstico del grupo FAB para LANL; de ellos, 35 tenían leucemia de novo (Grupo A), y 13, leucemia secundaria a síndrome mielodisplásico (Grupo B). La edad promedio para el grupo A fué de 37 años y de 64 años para el grupo B.

En el cuadro 4 se muestran las características de los enfermos por grupo de edad, sin encontrar diferencia en ellos. Se describen las variedades de LANL según la clasificación del grupo FAB; llama la atención el predominio de la leucemia mielomonocítica (M4). Hubo necesidad de modificar el tratamiento en siete pacientes debido al riesgo cardiovascular que limitó el uso de antracíclicos. Se observó alta masa tumoral en seis enfermos; tres con leucocitosis y 3 con sarcoma granulocítico, en relación más a menudo con la variedad M4; de ellos sólo dos mostraron inv 16 y uno t(9:22).

En el cuadro 5 se presentan los rearrreglos citogenéticos observados, por grupos de frecuencia, y se comparan con lo observado en la literatura (30). Se encuentra gran predominio de rearrreglos complejos 16 (33%), cariotipo normal en 10 enfermos (21%), posteriormente la inv 16 en seis individuos (12%), la monosomía 7 en cuatro (8%), t(6:9) en tres (6%) y la t(15;17) en dos (4%). Otros rearrreglos como la t(8;21), del 11q, +8 y del 5 como rearrreglos simples, se observaron en un sólo paciente, a diferencia de lo observado en la literatura, en el presente estudio no se identificaron rearrreglos con frecuencia superior a 5%.

Llama la atención la afección de los cromosoma 11, 7, 2, 6 y 5 en

CUADRO 4

CARACTERISTICAS CLINICAS DEL GRUPO ESTUDIADO

Variable	Número
-EDAD (30 años	(15)
30-50	(16)
>50	(17)
-ALTA MASA TUMORAL	(6)
-SUBTIPO DE ACUERDO A LA FAB	
M0..(1)	M4 (20)
M1..(2)	M5 (3)
M2..(4)	M6 (0)
M3..(5)	M7 (0)
TIPO DE QUIMIOTERAPIA	
Arabinósido de Citosina Daunorrubicina.....	(41)
Prednisona Arac Vincristina.....	(07)

CUADRO 5

FRECUENCIA COMPARATIVA DE
REARREGLOS CITOGENETICOS

HALLAZGOS CITOGENETICOS	FUENTE %	HECMN 48 CASOS	
COMPLEJOS	10 ^{**}	16	33%
NORMAL	25 - 30 ^{**}	10	21%
t(15;17) (q22;q11)	12	4	4%
t(8;21) (q22;q22)	12	1	2%
Inv(16) (p13q22)	8	6	12%
del/t(11q23)	5 - 6	1	2%
+ 8	5 - 6	0	0%
del (5q)	5 - 6	1	2%
del/t(12p)	2 - 4	0	0%
- 7	3 - 4	8	16%
21q+	1 - 2	1	2%
del (20) (q11)	1 - 2	0	0%
1(17q)	1 - 2	0	0%
t (9;22) (q34;q11)	1 - 2	0	0%
t (6;9) (q34;q11)	1 - 2	3	6%

* Br J Haematol 1988; 68: 487 - 94

** Cancer 1992; 70 (suppl): 1701 - p. N = 3d12

los rearrreglos complejos, los cuales, conducen a un bajo índice de respuesta temprana al tratamiento en lo observado. Por el contrario el vínculo con rearrreglos de buen pronóstico como la $t(8;21)$, inv 16, $t(6;9)$ relacionados con alteraciones en el cromosoma 5 no afectó la respuesta temprana.

En el cuadro 6 y 7 se listan los rearrreglos citogenéticos de acuerdo a su valor pronóstico, relacionados con el grupo de edad y el subtipo de leucemia, así como con la respuesta durante la inducción a la remisión, que fueron las variables seleccionadas por la regresión logística lineal (Cuadro 8). Algunas de estas variables requieren de mayor muestra para ser representativas, como se observó en el subtipo de leucemia, específicamente en la variedad M4.

De los datos obtenidos, la edad menor de 30 años y los rearrreglos citogenéticos de buen pronóstico predicen una alta frecuencia de respuesta (87%) ($p < 0.00001$). Para la edad de 30-50 años con el mismo tipo de rearrreglos la probabilidad de respuesta se reduce a 64 % ($p < 0.04$), y en el caso de una edad mayor a 50 años aun con rearrreglos de buen pronóstico la probabilidad de respuesta se reduce al 33%. La ausencia de rearrreglos citogenéticos de buen pronóstico y edad mayor de 50 años mostraron 0.0 % de respuesta (Cuadro 9).

Resalta que en la leucemia aguda de novo predominaron los rearrreglos simples de buen pronóstico, y en el grupo de mielodisplásicos, los rearrreglos complejos, relacionados con mayor edad.

CUADRO 6

ACBP	FAB	EDAD (GRUPO)	RESPUESTA
1. 46XY	M 4	24 (1)	RC
2. 46XY	M 2	20 (1)	RC
3. 46XY	M 1	21 (1)	RC
4. 46XX	M 4	23 (1)	RC
5. 46XX	M 4	49 (2)	F
6. 46XY	M 4	42 (2)	F
7. 46XX	M 4	42 (2)	RC
8. 46XY	M 4	37 (2)	F
9. 46XY	M 4	25 (1)	RC
10. 46XY	M 4	58 (3)	RC
11. t(15;17)	M 4	54 (3)	F
12. 45XX 21q- (6;9)	M 4	56 (3)	RC
13. 46XX 21q-	M 4	50 (3)	RC
14. 46XY inv 16	M 4	32 (2)	RC
15. 46XX inv16q	M 4	18 (1)	RC
16. inv 16	M 4	19 (1)	F
17. inv 16	M 4	29 (1)	F
18. t(15;17)	M 3	46 (2)	RC
19. 46XX t(6;9)	M 4	21 (1)	RC
20. 46XX del 5q, t(8;21)	M 2	55 (3)	RC
21. 46XY del 5q inv 16	M 4	15 (1)	RC
22. t(2;5), t(3;9)	M 0	44 (2)	RC
23. 46XY inv 16 t(6;9) 0	M SMD	65 (3)	F
24. t(6;9)	M SMD	74 (3)	F

ACBP: Alteracion citogenetica de buen pronostico
RC: Remision completa

F: Fracaso

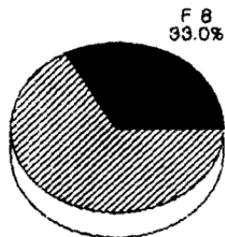
FALLA DE ORIGEN

CUADRO 7

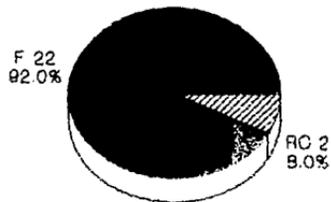
No. Paciente	ACHP	SEXO	EDAD	RESPUESTA
1.	46XY t(9;22),t(15;17) 47XY dr 22	M 3	17 (1)	F
2.	51 XX	M 2	43 (2)	F
3.	50XX 19-	M 2	26 (2)	F
4.	46XX del 7 48XX +4, del 7q	M 4	39 (2)	F
5.	del 1q	M 3	38 (2)	F
6.	46XY t(2;11)t(15;17)+8 47XY t(2;11)t(15;17)	M 3	70 (3)	F
7.	46XY t(6;11) el7q, 47XY t(6;11)7q-	M 4	20 (1)	F
8.	46XY del 5q 34 45XY -7 del 5q	M 4	24 (1)	RC
9.	45XY 2q+, t(9;22) 46XY t(9;22) -7 46XY 2Ph+ inv 16	M 4	40 (2)	F
10.	46XX del 6 t(1;18) t(3;11)	M 5	37 (2)	F
11.	t(2;12)t(3;7) del 6q	M 5	25 (1)	F
12.	t(11;17) t(2;5)	M 1	44 (2)	F
13.	del 11 t(1;18) 7q-	M 5	37 (2)	RC
14.	46XY -7	SMD	46 (2)	F
15.	46XY t(2;7) del 11q	SMD	69 (3)	F
16.	46XY 5-	M	65 (3)	F
17.	47XX t(2;17)	F	63 (3)	F
18.	-7	F	73 (3)	F
19.	-7	F	70 (3)	F
20.	-7	M	60 (3)	F
21.	del 11	M	57 (3)	F
22.	inv 3 del 5	F	78 (3)	F
23.	inv 3	F	60 (3)	F
24.	del 7q t(9;22) t(11;17)	F	69 (3)	F

ACHP: Alteración citogenética de mal pronóstico
 F: FRACASO RC: Remisión completa.

REARREGLOS CITOGENETICOS CON REMISION



BUEN PRONOSTICO



MAL PRONOSTICO

RC - REMISION COMPLETA
F - FRACASO

CUADRO 8

Var. Indep.	Coficiente	Riesgo rel.
ACBP	3.4706644	32.158102
> 30 AÑOS	12.882580	395398.96
30 - 50 AÑOS	10.87774	53985.497

ACBP: Alteración Citogenética de Buen Pronóstico

CUADRO 9

VARIABLE	% DE RESPUESTA
<30 años + ACBP	87%
30 a 50 años + ACBP	64%
> 50 años	33 %
No ACBP + >50 años	0 %

ACBP: Alteración Citogenética de Buen Pronóstico

DISCUSION

Se encontraron rearrreglos citogenéticos en 80% de los pacientes con LANL, no se encontró diferencia en la distribución de pacientes por edad y sexo; a diferencia de otros grupos predomina la variedad M4 sin eosinofilia y sólo 5 /20 presentaron la inv 16 q. (30).

En 10 pacientes con leucemia de novo el cariotipo fue normal. Este dato se ha informado como de buen pronóstico (18); sin embargo, en tres de los pacientes no fue posible lograr remisión. Esto puede explicarse por tres factores: 1) que la leucemia tenga rearrreglos citogenéticos pero que las células estudiadas no esten afectadas, 2) que la alteración sea tan pequeña que no sea posible detectarla por las técnicas empleadas y 3) que las células leucémicas sean citogenéticamente normales, pero molecularmente dañadas (25,32). En la actualidad ha sido posible identificar rearrreglos citogenéticos, mediante biología molecular, que antes eran imposibles de detectar con las técnicas habituales; ejemplo de ello es la presencia del rearrreglo bcr-abl en sujetos con LGC cromosoma Ph (-) o del PML-RAR alfa en LANL M3.

Bloomfield y De la Chapelle (18) han encontrado cierta relación entre parámetros hematológicos y los rearrreglos citogenéticos. En pacientes con hiperleucocitosis se han observado con mayor frecuencia anomalías de los cromosomas 16 y 22, así como monosomía 7. Los enfermos con del(5q) y t(15;17). Evolucionan por lo regular con cifras bajas de leucocitos. En el estudio realizado no se encuentra relación alguna, por el contrario, pacientes con rearrreglos

citogenéticos considerados de buen pronóstico, como la inv 16 se manifestaron con alta masa tumoral e hiperleucocitosis. De los enfermos con -7 ninguno presentó leucocitosis; por el contrario, se acompañaron de pancitopenia.

Los pacientes con rearrreglos citogenéticos simples que lograron remisión, coinciden con lo informado por la literatura; aunque la frecuencia de los mismos varía en esta población, llama la atención la relación con rearrreglos de buen pronóstico y las alteraciones en el cromosoma 5, lo cual podría sugerir que estos enfermos pasaron por un periodo de SMD, (32) o bien que sea parte de la biología de la enfermedad en esta población o que existiera un origen- causa tóxico (33); a pesar de ello no se modificó la respuesta al tratamiento.

Resalta la alta frecuencia de rearrreglos complejos (33%) vinculada con alteraciones en los cromosomas 11, 7, 2, 6, lo cual puede sugerir que provengan de una evolución clonal con resistencia primaria a la quimioterapia (34), en especial los asociados a la monosomía 7.

Se observa relación de alteraciones simples de mal pronóstico (-7) y complejas con edades mayores de 50 años, lo cual debe considerarse para establecer el tratamiento específico que podría incluir quimioterapia intensivas alternas o Autotransporte de Médula Osea.

En el análisis estadístico se demostró la alta sensibilidad de los rearrreglos citogenéticos considerados de buen pronóstico en relación a las edades menores de 30 años se obtienen mayores posibilidades de remisión, en tanto que en mayores de 50 años, independientemente del cariotipo normal a rearrreglos citogenéticos de buen pronóstico, se demuestran pocas posibilidades de remisión (0%).

Son escasos los informes sobre el estudio citogenético secuencial para demostrar remisión clonal y evolución de la enfermedad; dicho estudio aún está en tela de juicio. Sin embargo, en 62% de los pacientes con recaída se han encontrado rearrreglos no presentes al momento del diagnóstico y que no se consideran como ruidos cromosómicos (35). En el estudio se encontró que tres pacientes con cariotipo normal en el momento del diagnóstico evolucionaron a monosomía 7, lo cual coincidió con recaída clínica de la enfermedad, así como refractariedad al tratamiento de rescate.

Hasta el momento no hay algún estudio en población mestiza que valore los rearrreglos cromosómicos como factor pronóstico de respuesta temprana. Llama la atención la alta frecuencia de rearrreglos complejos que incluyen monosomías y extrañamente cromosoma Ph +, con exclusión clínica del antecedente de Leucemia granulocítica crónica.

Con los datos mencionados es de vital importancia considerar índices que combinen la edad, y el rearrreglo citogenético para seleccionar el tratamiento, una muestra mayor determinará el significado de otras variables para lograr la respuesta.

CONCLUSIONES:

1. El análisis citogenético es un útil factor pronóstico en pacientes con leucemia aguda no linfoblástica.
2. La frecuencia de rearrreglos complejos es muy alta y se asoció con baja respuesta al tratamiento.
3. Los rearrreglos citogenéticos de buen pronóstico así como la edad menor de 50 años se relacionó con una alta frecuencia de remisión.
4. Los pacientes con alteraciones simples muestran mayores posibilidades de respuesta a quimioterapia de inducción.
5. Los rearrreglos citogenéticos considerados de buen pronóstico, como la inv.16 pueden relacionarse con otros factores que influyan sobre la respuesta.
6. Más experiencia es necesaria en este campo.

ANEXO A

CRITERIOS DEL GRUPO FAB

Para la clasificación de la leucemia aguda no linfoblástica (1985).

1. Cuenta a 500 células con más de 30% de blastos en médula ósea
 - M1. La suma de blastos tipo I y tipo II es mayor al 90%, y menos del 3% son peroxidasa o sudán negro positivos. El 10 % restante de células deben ser granulocíticas maduras o monocitos.
 - M2. La suma de blastos tipo I y tipo II es de 30 a 89 %, células monocíticas menor al 20% y los granulocitos de promielocitos a polimorfonucleares son mayores al 10 %.
 - M3. La mayoría de los blastos con promielocitos, con cambios en la granulación. Aumento de los gránulos azurófilos anormales o numerosos cuerpos de Auer, con alteraciones nucleares. Existe una variante hipogranular y una hipergranular.
 - M4. La suma de mieloblastos, promielocitos y granulocitos tardíos es mayor del 30%, pero menor al 80%. Más del 20 % son células de línea monocítica (promonocitos y monocitos)

M4 con eosinofilia. Eosinófilos en médula ósea en más del 5 % con gránulos específicos, grandes, inmaduros y con núcleo único, no segmentado. Además de los criterios de M4.

M5. Más del 80% son monoblastos, promonocitos o monocitos.

M5a. Más del 80% de monoblastos.

M5b. Menos del 80% de monoblastos, el resto de monocitos y promonocitos.

M6. Más del 50% son eritroblastos y más del 30% de blastos mieloides tipo I y II.

M7. Blastos pequeños o grandes, alta relación núcleo citoplasma, cromatina densa, nucléolo distintivo, semejan linfoblastos. Hay mielofibrosis en el 30%. El citoplasma es agranular, con proyecciones y estructuras aglomeradas parecidas a las plaquetas.

Blastos tipo I. Células con pocos o sin gránulos azurófilos.

Blastos tipo II. Citoplasma abundante y con gránulos azurófilos.

ANEXO B

CITOQUIMICAS EN LEUCEMIA AGUDA NO LINFOBLASTICA

TIPO	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
CG							
Peroxidasa	+/++	++	+++	+/++	-/+	+	+
Sudán Negro	+/++	++	+++	+/++	-/++	+	+
ESTERASAS							
Cloracetato	+	++	+++	+/++	-/+	+	-
NASDA	+	+	++	+/++	+++	+	-/+
ANAE	-	-	-	+/++	+++	-/+	-/+
Fosfatasa	-/+	+	+/++	+/++	+++	+/-	-/+
Lisozima	-	-	-/+	+/++	+/+++	-	-
PAS	+	+	++	+/++	+/++	+	-

ANEXO C
ESQUEMA DE QUIMIOTERAPIA
DE INDUCCION A LA REMISION

MEDICAMENTO	CICLO 1	CICLO 2	CICLO 3
	1 2 3 4 5 6 7	28 29 30 1 2 3 4	25 26..

Arabinósido

de Citosina 100 mg/m ² SC*	X X X X X X X	X X X X X X X	X X X
--	---------------	---------------	-------

Daunorru-

bicina 45 mg/m ² SC**	X X X	X X X	X X X
-------------------------------------	-------	-------	-------

* Se administró en infusión de 24 horas

** Se administró en 1 hora en solución salina.

PAO	CICLO I
	1 2 3 4 5
PREDNISONA 50 mg/m ²	X X X X X
ARA C 100 mg/m ²	X X X X X
ONCOVIN 1.4 mg/m ²	X

* Se administró en bolo cada 12 hs.

ANEXO D

CRITERIOS DE FRACASO AL TRATAMIENTO DE INDUCCION

Tipo I.- Resistencia absoluta a la droga, no hay evidencia de hipocelularidad en ningún momento después de la terapia.

Tipo II.- Resistencia relativa a la droga, logro de hipocelularidad medular (+), durante o después de un curso de quimioterapia, con recrecimiento de las células leucémicas, dentro de las 4 semanas de terminada la quimioterapia.

Tipo III.- Falla de regeneración, desaparición de las células leucémicas de la médula ósea, con falla de estas para regenerarse, de tal manera que la remisión nunca se alcanza.

Tipo IV.- Muerte durante el período de hipoplasia medular severa.

Tipo V.- Ensayo terapéutico inadecuado, el paciente muere antes de 7 días, después de finalizar un curso de tratamiento.

Tipo VI.- Persistencia extramedular, evidencia de leucemia extramedular, en ausencia de leucemia en la médula ósea.

ANEXO E
ALGORITMO

Síndrome anémico

Síndrome infiltrativo

Síndrome hemorrágico

LEUCEMIA AGUDA
Morfología
Citoquímica
Cariotipo

LINFOIDE

Protocolo LLA

NO LINFOIDE

QUIMIOTERAPIA DE
INDUCCION DE REMISION
TRES CICLOS

BIBLIOGRAFIA

1. Wintrobe, MM Clinal Haematology. 1078
2. Gunz, F Baikle AG. Leukemia in the past. Leukemia 3 ed. pp 3-12; NY,grune y Straton, 1974.
3. Vincent. PC. Pathophysiology in Leukemia. Henderson MD. 5th Ed 1990 pp 19-27.
4. Fialkow PJ, Singer JW, Adamson JW, et al. Acute nonlymphocytic leukemia: expression in cells restricted to granulocytic and monocytic differentiation. N Engl J Med .1979;301: 1-5.
5. Fialkow PJ, Singer JW, et al. Acute nonlymphocytic leukemia: heterogeneity of stem cell origin. Blood 1981;57:1068-73.
6. Gralnick HR, Galton DAG, Catovsky D, et al. Classification of acute leukemia . Ann Intern Med 1977;87:740-53.
7. French American British (FAB) Co-operative group: Bennett JM, Catovsky D et al. Proposals for the classification of the acute Leukemias
8. Bennett JM, Catovsky et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. Ann Intern Med. 1985; 103 :626-29.
9. Bennett JM, Catovsky et al. Criteria for the diagnosis of acute leukemia of megacaryocyte lineage (M7). Ann Intern Med.1985; 103: 460-62.
10. Fourth International Workshop on chromosomes in leukemia 1982: A prospective study of acute nonlymphocytic leukemia Cancer Genet Cytogenet 1984;11: 249-360.

FALLA DE ORIGEN

11. Second MIC Cooperative Study Group; morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification of the acute myeloid leukemias. Br J Haematol 1988;68:487-94.
12. Hein - Mitelman. Cancer Cytogenetics 1987, pp 65-110. Alan R. Liss Inc. NY
13. Bitter MA, LeBeau MM, Rowley JD, et al. Associations between morphology karyotype, and clinical features in myeloid leukemias. Hum Pathol 1987; 18:211-25.
14. Prigogina EL, Fleischman EW. Chromosomes in acute nonlymphocytic leukemias. Hum Genet 1986;73: 137-46.
15. Rowley JD, Alimena G. A collaborative study of the relationship of the morphological type of acute nonlymphocytic leukemia with patient age and karyotype. Blood 1982;59: 1013-22.
16. Yunnis JJ. Recurrent chromosomal defects are found in most patients with acute nonlymphocytic leukemia. Cancer Genet Cytogenet 1984;11:125-37.
17. Rowley JD. chromosome abnormalities in leukemia. J Clin Oncol 1988;6 (2):194-202
18. Koefler HP. Syndromes of acute nonlymphocytic leukemia. Ann Intern Med 1987;107:748-753.
19. Bloomfield CD, De la Chapelle A. Chromosome abnormalities in acute nonlymphocytic leukemia: Clinical and Biologic Significance. Sem Oncol 1987;14 (4): 372-83.
20. Sakurai M, Sandberg AA. Prognosis in acute myeloblastic leukemia: chromosomal correlations. Blood 1973;41:93-104.

21. Singer JW, Fialkow PJ. Clonal remissions in acute nonlymphocytic leukemia: Implications for curability. *See Hematol* 1991;28 (3) Supp. 4: 1-4.
22. Turhan AG, Eaves CJ et al. Reversing clonality in leukemia. *See Hematol* 1991;28 (3) Supp 4: 5-9
23. Larson RA, Wernli M, LeBeau M. Short remission durations in therapy-related leukemia despite cytogenetic complete responses to high-dose cytarabine. *Blood* 1988;72:1333-36.
24. Gale RP, Butturini A, Horowitz M. Dose More intensive therapy increase cures in acute leukemia. *See Hematol* 1991; 28 (3) Supp 4: 93-95.
25. Bloomfield CD, Hoeltzer DF, Schiffer CA. Acute Leukemia: Recent advances in management. Education program American Society of Hematology. Denver Dec. 6-10, 1991: 15-21.
26. Arana Trejo RM. Estudio Citogenético en pacientes con leucemia aguda. TESIS. UNAM. 1990.
27. Schiffer CA, Lee E, Tomiyasu T, Wiernik PH and Testa JR. Prognostic impact of cytogenetic abnormalities in patients with de novo acute nonlymphocytic leukemia. *Blood* 1989;73: 263-270
28. Hozier, J.C., Linquist, L.L. (1980). Banded kariotypes from bone marrow: a clinical useful aproach. *Human Genet* 53:205-209.
29. Moorhead, P.S. Nowwell, P.C., Mellman W.J., Battips, D.M., Hungrford, D.A. (1960). Chromosome preparations of leukocytes cultures of normal human peripheral blood. *Exp Cell Res.* 20:2613-616

30. Tashiro S, Kyo T, Tamaka K. The Prognostic Value of Cytogenetic Analyses in Patients with Acute Non Lymphocytic Leukemia Treated with the same Intensive Chemotherapy. Cancer 1992;70: 2809-2815.
31. Heim S., Mitelman F. Cytogenetic Analysis in the Diagnosis of Acute Leukemia. Cancer 1992;70:1701-1709.
32. Noel P., Tefferi A. Pierre R. Karyotypic Analysis in primary Myelodysplastic Syndromes. Blood Rev 1993, p 10 -18.
33. Fagioli F. Cuneo A. Piva N. Distinct Cytogenetic and clinicopathologic Features in Acute Myeloid Leukemia After Occupational Exposure to Pesticides and Organic Solvents. Cancer 1992; 70: 77 - 85.
34. Preisler H., Larson R., Raza A. The treatment of patients with newly diagnosed poor prognosis acute myelogenous leukemia: response to treatment and treatment failure. B.J. Haematol. 1991; 79: 390 -397.
35. Heim S., Sorensen A., Christensen B. Re - emergence in remission of primary clone in acute myelogenous of leukaemias with multiple chromosomal aberrations at diagnosis. Br. J. Haematol. 1992; 82: 332 - 336.

COLABORADORES.

QFB. ROSA MARIA ARANA TREJO *
DRA. SUSANA KOFFMAN DE ALFARO *
DR. JAVIER PIZZUTO CHAVEZ
DR. MANUEL ROBERTO MORALES POLANCO
DRA. ELIZABETH SANCHEZ VALLE
QFB. ALICIA CERVANTES *

INDICE

ANTECEDENTES	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
OBJETIVO GENERAL.	15
INTERMEDIO	15
HIPOTESIS.	16
MATERIAL Y METODO	
A. UNIVERSO DE TRABAJO	17
B. DISEÑO DEL ESTUDIO	18
C. DESCRIPCION DE LAS VARIABLES	18
D. DESCRIPCION OPERATIVA DE LAS VARIABLES	18
E EVALUACION DE LA EFICACIA:	20
F. CRITERIOS DE SELECCION	21
C. PROCEDIMIENTOS	22
CARIOTIPO EN MEDULA OSEA	23
CARIOTIPO EN LINFOCITOS DE SANGRE PERIFERICA.	24
H. ANALISIS ESTADISTICO	29
I. RECURSOS MATERIALES	29
J. RECURSOS HUMANOS	30
CROMOGRAMA DE ACTIVIDADES.	31
CONSIDERACIONES ETICAS	32
RESULTADOS	34
DISCUSION	42
CONCLUSIONES:	45
ANEXO A	46
ANEXO B	48
ANEXO C	49
ANEXO D	50
ANEXO E	51
BIBLIOGRAFIA	52