



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

11237
237

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS SUPERIORES

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL GENERAL "DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA"
CENTRO MÉDICO NACIONAL "LA RAZA"
HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

TESIS

ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL EN NIÑOS PORTADORES DE
LEUCEMIA AGUDA SOMETIDOS A TRASPLANTE AUTÓLOGO
DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS DE SANGRE
PERIFÉRICA.

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO ESPECIALISTA EN PEDIATRÍA

P R E S E N T A

DRA. IRMA ROCHA NIETO

TUTOR

M. EN C. MARÍA TERESA DUEÑAS GONZÁLEZ

ASESOR

DRA. ELVA JIMÉNEZ HERNÁNDEZ

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

HOJA DE AUTORIZACIÓN

JEFE DE LA DIVISIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD DEL HOSPITAL GENERAL "DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA"
CENTRO MÉDICO NACIONAL "LA RAZA"

DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA
C.M.N. LA RAZA

[Signature]
DR. JOSÉ LUIS MATAMOROS TAPIA

JEFE DE LA DIVISIÓN DE PEDIATRÍA DEL HOSPITAL GENERAL "DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA"
CENTRO MÉDICO NACIONAL "LA RAZA"

[Signature]
DR. JORGE MENA BRITO

COORDINADOR DEL CURSO DE PEDIATRÍA MÉDICA

[Signature]
DR. MARIO GONZÁLEZ VITE

TUTOR
MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA
HOSPITAL GENERAL "DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA"
CENTRO MÉDICO NACIONAL "LA RAZA"

[Signature]
M. EN C. MARIA TERESA DUEÑAS GONZÁLEZ

ASESOR
MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA
DEL H.G.G.G "LA RAZA"
HEMATÓLOGA CON ADIESTRAMIENTO EN TRASPLANTE DE CELULAS
PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS.

[Signature]
DRA. ELVA JIMÉNEZ HERNÁNDEZ

MÉDICO RESIDENTE DE PEDIATRÍA MÉDICA
DRA. IRIS BROCHA NIETO

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
SECRETARÍA DE SALUD PÚBLICA
DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO TECNOLÓGICO
UNAM

AGRADECIMIENTOS

Mi reconocimiento a la Dra. María Teresa Dueñas González por la dirección de esta tesis. Su orientación y acertadas sugerencias permitieron el buen desarrollo de este trabajo.

Agradezco también a la Dra. Elva Jiménez Hernández y el Dr. Enrique Miranda Peralta por la asesoría y el apoyo brindado para la realización de este trabajo.

Muchas gracias al personal del Laboratorio de Biología Molecular por su cooperación durante la recopilación de la información requerida para este estudio.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE

1. RESUMEN	4
2. ANTECEDENTES CIENTÍFICOS	5
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
4. OBJETIVO DEL ESTUDIO	11
5. PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS	12
6. RESULTADOS	13
6.1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA	13
6.2. MARCADORES DE ABERRACIÓN CROMOSÓMICA POR PCR	14
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	17
8. CONCLUSIONES	21
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1. RESUMEN

Objetivo

Conocer si existe enfermedad mínima residual pre y postrasplante en niños portadores de leucemia aguda, sometidos a trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica, del Departamento de Hematología Pediátrica del Hospital G.G.G. del C.M.N. "La Raza".

Pacientes y métodos

Se realizó un estudio retrospectivo en el Servicio de Hematología Pediátrica del Hospital G.G.G. del C.M.N. "La Raza", entre diciembre de 1998 y marzo de 2003. Posterior a la aprobación del Comité local de Investigación se inició la recolección de la información. Se incluyeron en el estudio pacientes menores de 17 años de edad portadores de leucemia aguda que recibieron tratamiento con trasplante autólogo de células progenitoras de sangre periférica, y que contaron con determinación de marcador para aberración cromosómica por PCR. Todos los pacientes se encontraron en remisión clínica y hematológica y se les administró factor estimulante de colonias granulocitos para movilizar células precursoras hematopoyéticas al torrente circulatorio. Previo al trasplante recibieron terapia de acondicionamiento con Busulfán más Ciclofosfamida.

Resultados

Durante el periodo de estudio se incluyeron a 16 pacientes entre 3 y 15 años de edad, de los cuales 15 tuvieron LAM y sólo 1 LAL. Once pacientes contaron con marcador por PCR antes y después del trasplante, lo cual permitió diferenciar 3 grupos: Grupo A, con marcador PCR positivo antes y después del trasplante (dos pacientes) En el caso de este grupo, hasta el momento sobrevive un paciente en remisión completa; Grupo B, con marcador PCR positivo antes del trasplante y negativo después del trasplante (3 pacientes), todos los pacientes sobreviven en remisión completa; Grupo C, con marcador PCR negativo antes y después del trasplante (6 pacientes) cuatro pacientes sobreviven en remisión completa; dos pacientes recayeron, falleciendo con actividad leucémica uno de ellos.

Conclusiones

El conocimiento de las aberraciones genéticas moleculares por medio de la reacción de la cadena de la polimerasa permitió detectar la enfermedad mínima residual en éste grupo de pacientes, con la limitante de que los pacientes con marcador para aberración cromosómica negativa pudiera corresponder a falsos negativos al poseer otro marcador no identificado por la técnica utilizada o no buscado en forma específica. Los resultados de este estudio permite visualizar su utilidad para evaluar la efectividad del autotrasplante y dar un pronóstico del paciente, lo cual se sustentará con un mayor tamaño de muestra.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2. ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

Las leucemias agudas son un grupo de padecimientos, que resultan de una alteración clonal y que se caracterizan por la proliferación incontrolada de células inmaduras de la línea linfoide o mioelide denominados blastos, las cuales sustituyen a la hematopoyesis normal (1.2.3). Las leucemias agudas se clasifican en linfoblásticas y mieloblásticas, que a su vez se subdividen en diferentes subtipos de acuerdo a criterios morfológicos, inmunofenotípicos, citogénicos y más recientemente por biología molecular (4).

La clasificación morfológica se realiza según los criterios del grupo Franco-Americano-Británico (FAB). Las leucemias linfoblásticas agudas (LAL) se subdividen en: L1, L2 y L3 y las leucemias mieloblásticas agudas (LAM) en: M0-M7 (4).

La clasificación de las leucemias con base al inmunofenotipo considera el uso de anticuerpos contra inmunoglobulinas de superficie o de citoplasma (5,6). En cambio, la citogenética permite detectar alteraciones cromosómicas numéricas o estructurales (7,8). Por su parte, la biología molecular identifica alteraciones moleculares que resultan de las alteraciones cromosómicas, empleando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las alteraciones más comunes en la LAL son la: Tel-AML₁ que resulta de la fusión del gen (12:21) (p13 q22) t(12:21) translocación asociada a un buen pronóstico; el BCR-ABL de la t(9:22) (q34-p11) que es la de peor pronóstico (9); la E₂A-PBX₁ fusión del gen t(1:19)(q23-p13.3) es de alto riesgo y el MLL re-arreglo del gen en la banda del cromosoma 8q24 que es de alto riesgo y se encuentra frecuentemente en lactantes. En cuanto a las leucemias mieloblásticas los arreglos más frecuentes son: AML₁-ETO t(8:21): CBFB-MYH11 inversión 16: PML-RAR α de la t(15:17) que se encuentra en la

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

LAM-M₃ en uno 80% de los casos: MLL-AF9 (9;11) que se encuentra en la LAM M₁ o LAM M₃ (6,10,11). Estas alteraciones cromosómicas, que se encuentran al diagnóstico, sirven como factor pronóstico y en algunos casos para la decisión terapéutica, además pueden facilitar la monitorización de la respuesta al tratamiento (12,13), a través de la detección de la enfermedad mínima residual (EMR), la cual se entiende como la persistencia de células leucémicas después de la remisión completa, clínica y hematológica, y en ocasiones puede servir como una factor predictivo de recaída de la enfermedad (10,14,15). Actualmente el método más empleado para la detección de la enfermedad mínima residual es la PCR, la cual es capaz de detectar 1×10^9 células neoplásicas resistentes a la quimioterapia empleada (16), siendo las responsables de la reaparición de la leucemia, y que por otros métodos como el cariotipo no se detectan (17,18).

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH), ya sea de médula ósea o sangre periférica, movilizadas con citocinas, representa una alternativa terapéutica para pacientes con leucemias agudas y crónicas (19). En las leucemias agudas se ha logrado tasas de supervivencia libres de enfermedad significativamente mejores que las que se obtienen por quimioterapia. Los TCPH más utilizados son el alogénico y el autólogo. Sin embargo, presentan varias desventajas: en el trasplante alogénico la principal es la enfermedad injerto contra huésped (20,21), y en el trasplante autólogo es el riesgo de recaída, debido a la presencia de EMR (21,22). En el caso del trasplante autólogo, la EMR y recaída se intenta evitar con el uso de purgas a base de quimioterapia purificadora, anticuerpos monoclonales o linfocinas que tienen selectividad sobre las células neoplásicas CD34 (23,24,25).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Knechtli *et al* (1998), evaluaron en forma retrospectiva la enfermedad mínima residual por medio del PCR, antes del trasplante de médula ósea alogénico, en 64 niños con leucemia linfoblástica; 19 pacientes se trasplantaron en primera remisión completa y 45 en la segunda o subsiguiente remisión. Se encontró altos niveles de EMR en 12, bajos en 11 e indetectables en 33 pacientes, con una supervivencia libre de enfermedad a dos años de 0%, 36% y 73% respectivamente (26).

Vervoordeldonk *et al* (1997) realizaron purgados de médula ósea para trasplante autólogo en 28 niños con leucemia linfoblástica de precursor B en segunda remisión, inicialmente mediante lisis celular mediada por complemento y posteriormente a través de una depleción de inmuno-roseta antes de la lisis con complemento. El objetivo del estudio fue estimar la presencia de células leucémicas residuales en médula ósea autóloga trasplantada con el uso de PCR antes y después de la purga. En 8 de los 13 pacientes (62%) en los que se analizó la médula ósea antes del purgado y se detectaron células leucémicas, todos experimentaron recaída, independientemente del éxito en el procedimiento de purgado (definido como resultado de PCR negativo posterior a la purga). En contraste, ninguno de los 5 pacientes con trasplante de médula PCR negativa antes del purgado recayeron. De los 23 pacientes restantes, los 9 pacientes que recibieron un trasplante de médula ósea autóloga con PCR positivo después del purgado presentaron recaída a diferencia de 6 de 14 pacientes que tuvieron trasplante medular autólogo con PCR negativa después del purgado (25).

El trasplante autólogo de CPH movilizadas a sangre periférica es el más utilizado. Cuando se encuentra el paciente en remisión completa, se realiza la cosecha o extracción de células progenitoras ya sea de médula o sangre periférica, enseguida se criopreservan o refrigeran. Posteriormente estas células se reinfunden al paciente sometido previamente a un esquema

de acondicionamiento con quimioterapia mieloablativa. El trasplante en pacientes en la primera remisión. resulta ser más efectivo (20,27).

La carga de células leucémicas progenitoras residuales en la médula ósea de pacientes con leucemia es un elemento que predice del riesgo de recaída postrasplante. Fatih *et al* (1993) usando citometría de flujo, determinaron el número de células leucémicas progenitoras antes del trasplante autólogo en 83 pacientes portadores de leucemia linfoblástica de alto riesgo en remisión: encontraron rangos entre 0 a 12.546 células progenitoras leucémicas por millón de células mononucleares o de 0 a 1.2% (mediana = 51, o 0.005%). Los pacientes que excedieron la media tuvieron alta posibilidad de recaída a un año, en comparación con aquellos con valores por debajo de la media (100% vs 41%, $p < 0.001$), encontrando una relación inversa entre la cantidad de células leucémicas y progenitoras de la médula antes del trasplante y la duración de la remisión ($P < 0.001$); el riesgo estimado de recaída para pacientes con ≥ 51 células progenitoras leucémicas por millón de células mononucleares fue > 3.5 veces que en pacientes con cuentas menores (28).

Kühr *et al* (1999) consideran que la detección de enfermedad residual por PCR se encuentra limitada a una minoría de grupos debido a que algunos marcadores clon-específicos se encuentran ausentes o bien hasta el momento no son conocidos (29). Algunos autores plantean que la cuantificación alta de enfermedad mínima residual en células progenitoras de pacientes en remisión presentan un alto riesgo para recaída postrasplante.

Mortuza *et al* (2002) realizaron un estudio de EMR antes y después de trasplante autólogo en 16 pacientes con leucemia mieloblástica (entre 15-55 años de edad): 9

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

pacientes fueron negativos antes y después del trasplante, un paciente con EMR positiva antes del trasplante se volvió negativo después del trasplante, pero presentó recaída a los 15 meses postrasplante; los 6 pacientes con EMR positiva previa al trasplante tuvieron recaída. Estos resultados apoyan que la EMR es un factor predictivo de recaída, por lo que sugieren, que los pacientes sometidos a quimioterapia o trasplante autólogo se monitoricen periódicamente, sobre todo durante el primer año, para detectar la EMR (15).

1981b CC
FALLA DE ORIGEN

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Muchos de los pacientes con leucemia en remisión, sometidos a trasplante autólogo tienen el riesgo de presentar recaída. El estudio de la enfermedad mínima residual a través del uso de técnicas de alta sensibilidad como la PCR, permite identificar la enfermedad en pacientes con remisión clínica y hematológica; nos ayuda a valorar la eficacia del purgado en trasplantes autólogos, y posiblemente, a predecir la efectividad del autotrasplante y la curación hematológica. En este sentido nos planteamos el siguiente cuestionamiento a resolver:

¿Existe enfermedad mínima residual pre y postrasplante en niños portadores de leucemia aguda, sometidos a trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica, del Departamento de Hematología Pediátrica del Hosp. GGG del CMN "La Raza"?

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4. OBJETIVO DEL ESTUDIO.

Conocer si existe enfermedad mínima residual pre y postrasplante en niños portadores de leucemia aguda, sometidos a trasplante autólogo de células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica, del Departamento de Hematología Pediátrica del Hospital G.G.G. del C.M.N. "La Raza".

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5. PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo en el Servicio de Hematología Pediátrica del H.G.G.G. "La Raza" entre diciembre de 1998 y marzo de 2003. Posterior a la aprobación del Comité local de Investigación, se inició la recolección de la información. Se incluyeron en el estudio pacientes menores de 17 años de edad portadores de leucemia aguda que recibieron tratamiento mediante trasplante autólogo de células progenitoras de sangre periférica, y que contaron con resultado de estudio de marcador de aberración cromosómica detectado mediante técnica de PCR.

Todos los pacientes que recibieron tratamiento con trasplante autólogo se encontraron en remisión hematológica y clínica: se les administró factor estimulante de colonias para movilización de células precursoras hematopoyéticas al torrente sanguíneo. Las células progenitoras hematopoyéticas se obtuvieron de sangre periférica mediante aféresis en dos cosechas, posteriormente se guardaron en refrigeración a -4°C y en menos de una semana reinfundidas al paciente considerándose ese día como el día cero del trasplante. Como acondicionamiento pretrasplante recibieron quimioterapia con Busulfán 1 mg/kg/dosis , VO, 12 dosis (3 pacientes recibieron 16 dosis) más Ciclofosfámido 60 mg/kg/día IV (2 dosis). A los pacientes se les determinaron pre y postrasplante los marcadores de aberración molecular por PCR: para las LAL se determinó el marcador BCR/ABL y para las LAM el marcador ALM/MTG 8.

6. RESULTADOS

6.1. Características de la población estudiada

Durante el período de estudio se incluyeron 16 pacientes, los cuales presentaron edades entre 3 y 15 años (mediana de 10 años), de los cuales 10 fueron mujeres (62.5%) y 6 hombres (37.5%). Como puede apreciarse en la Figura 1, la mayoría de los pacientes fueron adolescentes.

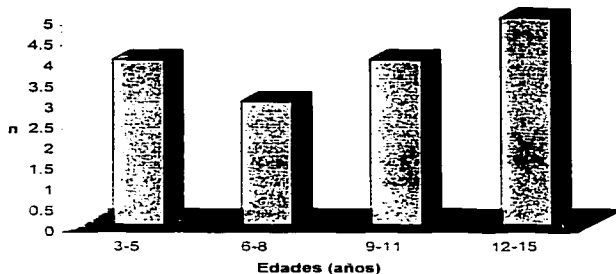


Fig.1. Distribución por grupos de edad.

La mayoría de los pacientes estudiados presentaron LAM, y sólo uno de ellos LAL (LAL L1). La frecuencia de los diferentes tipos de LAM fue la siguiente: 1 paciente presentó LAM M0, 2 pacientes LAM M2, 5 LAM M4, 5 LAM M5, 1 LAM M6 y finalmente 1 LAM M7.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.2. Marcadores de aberración cromosómica por PCR

De los 16 pacientes trasplantados a los cuales se les realizó determinación de marcador para aberración cromosómica por PCR, 11 pacientes tuvieron control por PCR antes y después del trasplante, 4 tuvieron control por PCR pretrasplante únicamente y 1 de ellos tuvo solamente control postrasplante.

De los 11 pacientes con control pre y pos trasplante, se diferenciaron tres grupos:

- o **Grupo A.** con marcador PCR positivo antes y después del trasplante (2 pacientes). En este caso sobrevive hasta el momento sólo un paciente, el cual se encuentra en remisión clínica y hematológica .
- o **Grupo B.** con marcador PCR positivo antes del trasplante y negativo después del trasplante (3 pacientes). Todos los pacientes hasta el momento sobreviven. se encuentran en remisión completa. una paciente solicitó su alta por cambio de domicilio.
- o **Grupo C.** con marcador PCR negativo antes y después del trasplante (6 pacientes).. Cinco pacientes hasta el momento sobreviven. el paciente fallecido se encontraba en recaída. De los 5 pacientes sobrevivientes uno está en recaída con quimioterapia paliativa y el resto se encuentra en remisión.

En la Figura 2 se aprecia la distribución de los pacientes según el resultado de la determinación por PCR del marcador para aberración molecular pre y postrasplante.

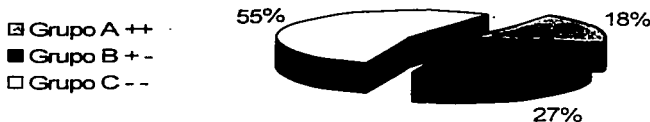


Fig. 2. Presencia de marcador molecular por PCR.

Se determinó el cariotipo pre y pos-trasplante a algunos de los pacientes. Uno de ellos del sexo femenino presentó alteración en su cariotipo con reporte de 47XX+21 con reporte pre y postrasplante de AML/MTG positivo, aparentemente en remisión clínica y hematológica hasta el momento.

Tomando en cuenta los pacientes valorados con PCR antes y después del trasplante, se encontró que en el Grupo A (PCR+ -), sólo sobrevive el 50% de los pacientes; en el Grupo B (PCR - -), el 100 % de los pacientes permanecen vivos y además en remisión; finalmente para el Grupo C (PCR - -), aún sobrevive el 83 % de los pacientes, de los cuales 4 se encuentran en remisión. En la Figura 3 se muestra la sobrevida de cada uno de los grupos referidos.

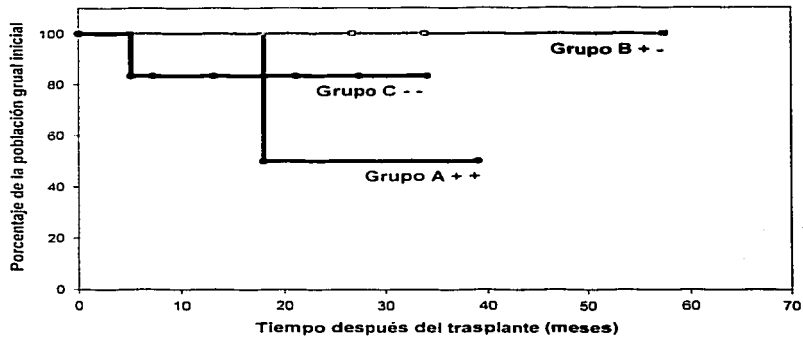


Fig. 3. Sobrevida de pacientes por grupo de marcadores moleculares.

7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A pesar de que en la literatura mundial se reporta que para LAL y LAM se tienen identificados varios marcadores genéticos específicos (6,10,11), en el caso de este estudio no fue posible la determinación de todos los marcadores moleculares reportados para cada tipo de leucemia aguda, debido a limitaciones económicas. A los pacientes se les determinó únicamente los marcadores moleculares que con más frecuencia se relacionan a cada variedad de leucemia que, como ya se comentó, para las leucemias linfoblásticas agudas es el marcador BCR/ABL y para las leucemias mieloblásticas agudas, el marcador AML/MTG8. Esta situación provoca un sesgo en la determinación de la EMR en los pacientes antes y después del trasplante. En este sentido, el sesgo se amplía más si consideramos que existen marcadores, según refiere la literatura (14), aún no determinados. Esto significa que algunos pacientes pueden ser falsos negativos para EMR.

En nuestro estudio, dos pacientes pueden corresponder al grupo de falsos negativos para EMR por PCR, ya que presentaron recaída. Uno de ellos portador de LAM M5 ya fallecido; el otro aún vivo, portador de LAM M4, en recaída; este paciente presentó marcador AML/MTG8 negativo antes del trasplante, y, a los 11 meses postrasplante presenta recaída, continuando con marcador AML/MTG8 negativo a los 21 meses después del trasplante. Esta situación sugiere que los pacientes falsos negativos por PCR pudieron presentar positividad para otro marcador de LAM no evaluado en el presente estudio y persistir con células leucémicas remanentes, es decir, presencia de EMR antes del trasplante. La causa de la persistencia de la EMR no detectada (PCR negativo postrasplante) puede deberse a que no se realizó una purga con quimioterapia de las células

progenitoras *in vitro* o a un acondicionamiento pretrasplante insuficiente.

En el caso de contar con todos los marcadores hasta la fecha disponibles, se ha reportado (14) que los falsos negativos pueden deberse a la continua actividad de rearrreglos, que lleva a una recombinación de genes intensa, situación que eleva el número de subclonas con un estado de rearrreglos variables. La otra posibilidad de la evolución clonal se debe a la inestabilidad genómica afectando también estos locus. Otros factores que podrían complicar la detección de la EMR son la elevada evolución clonal, con aparición de nuevas clonas y su resistencia al tratamiento selectivo de erradicación tumoral, situación que dificulta la selección apropiada de marcadores para usar en la evaluación tardía de la EMR. Los resultados falsos negativos pueden, por lo tanto, deberse a: 1) evolución clonal, 2) mutaciones somáticas, 3) elevación de las deleciones genéticas en el momento de la recombinación, 4) traslocaciones cromosomales ó 5) un error de muestreo durante la determinación del PCR. Esto explicaría la no detección de la EMR y la persistencia de la leucemia en el paciente pese a el reporte negativo por PCR. Esta situación también nos puede indicar que la terapia de acondicionamiento no fue suficiente para eliminar la presencia de células leucémicas, por lo que es necesario implementar un sistema adecuado de purificación en el trasplante autólogo de células madres obtenidas por aféresis (25), situación que podría contribuir al éxito del trasplante.

El caso de la paciente con LAM M5 del Grupo A, con marcador PCR positivo antes y después del trasplante, en remisión clínica y hematológica hasta el momento (38 meses de sobrevida postrasplante), debe ser sometida a una vigilancia estrecha, pues al persistir postrasplante con marcador por PCR positivo para AML/MTG 8 y por ende persistencia de EMR, tiene riesgo de presentar recaída; sin embargo, la carga de células leucémicas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

progenitoras residuales es un elemento que predice el riesgo de recaída postrasplante: Fatih *et al.* en 1993 (28) encontraron que existe una relación inversa entre la cantidad de células leucémicas progenitoras y la duración de la remisión. Considerando lo anterior, se infiere que probablemente en el caso del paciente con LAM M5. y marcador positivo antes y después del trasplante fallecido a los 12 meses postrasplante, presentó una elevada cantidad de células leucémicas progenitoras. Por lo anterior se hace necesario la cuantificación de dichas células en este tipo de pacientes como elemento predictivo de remisión.

Los pacientes del grupo B, aquellos que pasaron de marcador de aberración molecular positivo pretrasplante a negativo después del trasplante, se encuentran con 36, 33 y 26 meses en remisión postrasplante. Lo cual es indicativo de un trasplante exitoso, sobre todo si se considera que la literatura reporta casos de recaída a 15 meses postrasplante para este tipo de pacientes (15).

Por otro lado, de los 10 pacientes vivos, 9 se encuentran en remisión clínica y hematológica y con PCR postrasplante negativo para el marcador de aberración: esto se puede interpretar como ausencia de EMR hasta el momento y por consiguiente la cura de la leucemia con el trasplante.

De los dos pacientes a los que se les realizó trasplante con EMR, con PCR postrasplante positivo, uno presentó recaída al año del trasplante, existiendo la posibilidad de que con el trasplante se hayan reinfundido células leucémicas; sin embargo la otra paciente con EMR pre y postrasplante ha permanecido en remisión completa durante 30 meses lo que podría indicar ya sea que la cantidad de células leucémicas reinfundidas se insuficiente para provocar la recaída, o que esta se presente a corto plazo, la respuesta solo la dará la

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

evolución.

De acuerdo a los resultados de nuestro estudio es importante considerar el aumentar el número de marcadores de aberración cromosómica que se busquen en los pacientes para intentar disminuir la posibilidad de falsos negativos y poder documentar con mayor certeza el papel pronóstico de la detección de EMR detectada mediante la técnica de PCR.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

8. CONCLUSIONES

- 1) El estudio de las aberraciones genéticas moleculares por medio de la reacción de la cadena de la polimerasa antes y después del trasplante permitió diferenciar tres grupos de pacientes. El grupo positivo antes y después del trasplante incluyó al 18.2% de los casos; mientras que el grupo de los pacientes positivos que se volvieron negativos después del trasplante comprendieron un 27.3%; por su parte el grupo de los negativos en pre y postrasplante abarcaron el 54.5 % de los casos.
- 2) Es posible que la tercera parte del grupo C, PCR negativo antes y después del trasplante, pudieron ser falsos negativos, situación atribuida a la limitada detección de los diferentes tipos de marcadores para aberraciones moleculares empleadas en el estudio.
- 3) La persistencia de marcadores genéticos aberrantes después del trasplante es un factor de riesgo para la recaída.
- 4) Los pacientes del grupo B, que pasaron de marcadores positivos previos al trasplante a negativos postrasplante, sobrepasan los 26 meses libres de recaída, lo cual es indicativo de un buen pronóstico.
- 5) De manera general, el 78 % de los pacientes con PCR negativo postrasplante se encuentran en remisión clínica y hematológica, lo cual apoya la sensibilidad de esta técnica para la detección de la EMR.
- 6) El conocimiento de las aberraciones genéticas moleculares por medio de la reacción de la cadena de la polimerasa además de detectar la enfermedad mínima residual, evalúa la efectividad del autotrasplante y el pronóstico del paciente; sin embargo, esta última afirmación se estudiará aumentando el tamaño de la muestra.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. San Miguel JF, Orfao A y Ruiz-Argüelles A. Identificación y vigilancia de la enfermedad residual mínima en leucemia aguda. En Ruiz-Argüelles GJ y San-Miguel JF (Eds.) Actualización en leucemias. Primera edición. Editorial Médica Panamericana. México. 1996. 65-69.
2. Morschhauser F, Cayuela JM, Martini S, Baruchel A, Rousselot P, Socié G, Berthou P, Jouet J, Straetmans N, Sigaux F, Fenaux P and Preudhomme C. Evaluation of minimal residual disease using reverse-transcription polymerase chain reaction in t(8:21) acute myeloid leukemia: a multicenter study of 51 patients. *Journal of Clinical Oncology*. 2000; 18(4): 788-794.
3. Pui CH. Acute lymphoblastic leukemia in children. *Current Opinión in Oncology*. 2000; 12: 3-12.
4. Lanzkowsky P. *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*. Third Edition. Academic Press. United States of America. 1999: 359-411.
5. Blessing JJH and Fleisher TA. Immunophenotyping. *Seminars in Hematology*. 2001; 38(2): 100-110.
6. Haas V, Oosten L, Dee R, Verhagen OJHM, Kroes W, van den Berg H and van der Schoot CE. Minimal residual disease studies are beneficial in the follow-up of TEL/AML1 patients with B-precursor acute lymphoblastic leukaemia. *British Journal of Haematology*. 2000; 111: 1080-1086.
7. Rowley JD. Cytogenetic analysis in leukemia and lymphoma: an introduction.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Seminars in Hematology. 2000; 37(4): 315-319.
8. Marti GE, Stetler-Stevenson M, Bleesing JJH and Fleisher TA. Introduction to flow cytometry. *Seminars in Hematology*. 2001; 38(2): 93-99.
 9. Radich J, Gehlyt G, Lee A, Avery R, Bryant E, Edmands S, Gooley T, Kessler P, Kirk J, Ladne P, Thomas ED, Appelbaum FR. Detection of *bcr-abl* transcripts in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia after marrow transplantation. *Blood*. 1997; 89(7): 2602-2609.
 10. Formánková R, Honzátková L, Moravcová J, Siegllová Z, Dvoráková R, Nádvořníková S, Vitek A, Lukášová M, Starý J and Brdická R. Prediction and reversion post-transplant relapse in patients with chronic myeloid leukemia using mixed chimerism and residual disease detection and adoptive immunotherapy. *Leukemia Research*. 2000; 24: 339-347.
 11. Codrington R, O'Connor HE, Jalali GR, Carrara P, Papaioannou M, Hart SH, Hoffbrand AV, Potter M, Prentice HG, Harrison CJ and Feroni L. Analysis of ETV6/AML1 abnormalities in acute lymphoblastic leukaemia: incidence, alternative spliced forms and minimal residual disease value. *British Journal of Haematology*. 2000; 111:1071-1079.
 12. Rubnitz JE, Look AT. Molecular genetics of childhood leukemias. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. 1998; 20(1):1-11.
 13. Cave H, van der Werff ten Bosch J, Suciú S, Guidal C, Waterkeyn C, Otten J, Bakkus M, Thielemans K, Grandchamp B, Vilmer E, Nelken B, Fournier M, Boutard P, Lebrun E, Mechinaud F, Garand R, Robert A, Dastugue N, Plouvier E.

- Racadot E, Ferster A, Gyselinck J, Fenneteau O, Duval M, Solbu G and Manel A.M. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 1998; 339(9): 591-598.
14. Li AH, Rosenquist R, Forestier E, Holmberg D, Lindh J, Lövenberg E and Roos G. Clonal rearrangements in childhood and adult precursor B acute lymphoblastic leukemia: a comparative polymerase chain reaction study using multiple sets of primers. *European Journal of Hematology*. 1999; 63(4): 211-218.
15. Mortuza FY, Papaioannou M, Moreira IM, Coyle LA, Gameiro P, Gandini D, Prentice HG, Goldstone A, Hoffbrand A and Foroni L. Minimal residual disease tests provide an independent predictor of clinical outcome in adult acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology*. 2002; 20(4): 1094-1104.
16. Lal A, Kawn E, Al Mahar M, Zhou L, Ferrera D, Tobias V, Hughes DO, G. Haber M, Norris M and Marshall GM. Molecular detection of acute lymphoblastic leukaemia in boys with testicular relapse. *British Medical Journal*. 1998; 31(5): 277-281.
17. Radich JP. Clinical applicability of the evaluation of minimal residual disease in acute leukemia. *Current Opinion in Oncology*. 2000; 12: 36-40.
18. Elsworth AM, Evans P, Morgan GJ, Kinsey SE and Shiach CR. Quantitative PCR of the immunoglobulin heavy chain gene using genomic DNA. *British Journal of Haematology*. 1996; 95(4-II): 700-703.
19. Eapen M, Davies SM and Ramsay NKC. Late graft rejection and second infusion

- of bone marrow in children with aplastic anaemia. *British Journal of Haematology*. 1999; 104(1): 186-188.
20. Vose JM, Sharp G, Chan WC, Nichols C, Loh K, Inwards D, Rifkin R, Bierman PJ, Lynch JC, Weisenburger DD, Kessinger A and Armitage JO. Autologous transplantation for aggressive Non-Hodgkin's lymphoma: results of randomized trial evaluating graft source and minimal residual disease. *Journal of clinical oncology*. 2002; 20(9): 2344-2352.
21. Kalwak K, Gorczynska E, Toporski J, Turkiewicz D, Slociak M, Ussowicz M, Latos-Grazyndka E, Król M, Boguslawska-Jaworska J and Chybicka A. Immune reconstitution after haematopoietic cell transplantation in children: immunophenotype analysis with regard to factors affecting the speed of recovery. *British Journal of Haematology*. 2002; 118(1): 74-89.
22. Dicke KA and Keating A. Autologous marrow and blood transplantation. *Proceedings of the Eighth International Symposium*. Arlington, Texas. Carden Jennings Publishing Co. 1997: 744p.
23. Grimwade D, Walker H, Olivier F, Wheatley K, Clack R, Burnett A and Goldstone A. What happens subsequently in AML when cytogenetic abnormalities persist at bone marrow harvest? Results of the 10th UK MRC AML trial. *Bone Marrow Transplantation*. 1997; 19: 1117-1123.
24. Mitterbauer G, Födinger M, Scherrer R, Knöbl P, Jäger U, Laczika K, Schwarzinger I, Gairger A, Geissler K, Greinix H, Kalhs P, Linkesch W, Lechner K and Mannhalter C. PCR-monitoring of minimal residual leukaemia after conventional

- chemotherapy and bone marrow transplantation in BCR-ABL-positive acute lymphoblastic leukemia. *British Journal of Hematology*. 1995; 89: 937-941.
25. Vervoordeldonk SF, Merle PA, Behrendt H, Steenbergen EJ, van der Berg H, van Wering ER, van der Borne AEGK, van der Schoot C, van Leeuwen EF and Slaper-Cortenbach ICM. PCR-positivity in harvested bone marrow predicts relapse after transplantation with autologous purged bone marrow in children in second remission of precursor B-cell acute leukaemia. *British Journal of Haematology*. 1997; 96: 395-402.
26. Knechtli CJC, Goulden NJ, Hancock JP, Grandage VLG, Harris EL, Garland RJ, Jones GCG, Rowbottom AW, Hunt LP, Green AF, Clarke E, Lankester AW, Cornish JM, Pamphilon DH, Steward CG and Oakhill A. Minimal residual disease status before allogeneic bone marrow transplantation is an important determinant of successful outcome for children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1998; 92 (11): 4072-4079.
27. Chesselles JM. Recent advances in management of acute leukemia. *Archives of Disease in Childhood*. 2000; 82(6):438-442.
28. Uckun F, Kersey JH, Haake R, Weisdorf D, Nesbit ME and Ramsay NKC. Pretransplantation burden of leukemic progenitor cell as a predictor of relapse after bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia. *The New England Journal of medicine*. 1993; 329(18):1296-1301.
29. Kühr T, Bechter O, Geley S, Eisterer W, Lukas P, Url M, Dietrich H, Hilbe W, Kofler R and Thaler J. Detection and quantification of genetically marked acute

myeloid leukemia by competitive polimerase chain reaction after autologous bone marrow transplantation: a preclinical model for minimal residual disease. *Experimental Hematology*. 1999; 27: 266-271.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN