

**HOSPITAL DE ALTA ESPECIALIDAD DEL NIÑO
"DR. RODOLFO NIETO PADRÓN"
INSTITUCIÓN DE ASISTENCIA, ENSEÑANZA
E INVESTIGACIÓN
SECRETARIA DE SALUD EN EL ESTADO
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**



**TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO ESPECIALISTA
EN
PEDIATRÍA**

TÍTULO:

**ALTERACIONES CITOGENÉTICAS EN NIÑOS CON
LEUCEMIA AGUDA QUE ACUDEN AL SERVICIO DE
ONCOLOGIA DE UN HOSPITAL PEDIATRICO**

ALUMNA: DRA. DANIELA COVARRUBIAS ZAPATA

ASESORES

**DRA. MARCELA DEL P. VARGAS VALLEJO
DR. LUIS GÓMEZ VALENCIA
DRA. LEOVA PACHECO GIL
DR. MANUEL BORBOLLA SALA**



Villahermosa, Tabasco. Agosto de 2009



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.



**HOSPITAL DE ALTA ESPECIALIDAD DEL NIÑO
"DR. RODOLFO NIETO PADRÓN"
INSTITUCIÓN DE ASISTENCIA, ENSEÑANZA
E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD EN EL ESTADO
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO ESPECIALISTA
EN
PEDIATRÍA**

TÍTULO:

**ALTERACIONES CITOGÉNÉTICAS EN NIÑOS CON
LEUCEMIA AGUDA QUE ACUDEN AL SERVICIO DE
ONCOLOGÍA DE UN HOSPITAL PEDIÁTRICO**

ALUMNA: DRA. DANIELA COVARRUBIAS ZAPATA

ASESORES

**DRA. MARCELA DEL P. VARGAS VALLEJO
DR. LUIS GÓMEZ VALENCIA
DRA. LEOVA PACHECO GIL
DR. MANUEL BORBOLLA SALA**



Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Dra Daniela Covarrubias Zapata
FECHA: AGOSTO DE 2009

Villahermosa, Tabasco. Agosto de 2009

Dedicada a la memoria de
Mamá Ali



“A menudo los héroes anónimos dejan las marcas más profundas”
Paulo Coelho

Agradecimientos:

A mi madre. . . mi brújula, mi orgullo, mi ejemplo
Te quiero.

A toda mi familia. . . mi cimiento, mi fortaleza
espiritual, especialmente

A Rich Zapata y todas mis princesas y
campeones: Vicky, Pepito, Marianna,
Omarcito, Cristi, José María, Caro y Santi. . .
su existencia me inspira a ser mejor
Pediatra.

A mis amigos, de hoy y de siempre, con los que
he compartido alegrías, lágrimas, cansancio,
frustraciones y éxitos. Gracias por la sonrisa, por
el hombro, el abrazo, el consejo.

A todos mis asesores, partícipes y guías de
este trabajo... Dr Borbolla que la luz que
brinda ilumine muchas más generaciones.

Al Laboratorio de Genética, especialmente, a la
Química Tachi y las Biólogas Miriam y María
y

A la Clínica del Dolor, Dr. Sergio Gómez
Tronco, Enfermera Adelita y Emita

cuya contribución a este trabajo fue invaluable
Muchas gracias

“Yo soy un peregrino que sabe que existe un
tesoro. Son el camino y la búsqueda los que te forjan y te cambian. Y yo sigo
buscando.”
Paulo Coelho.

ÍNDICE

I. RESUMEN	2
II. ANTECEDENTES	3
III. MARCO TEÓRICO	7
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
V. JUSTIFICACION	32
VI. OBJETIVOS	33
a). Objetivo general	33
b). Objetivos específicos	33
vii. METODOLOGÍA	34
a). Tipo de estudio	34
b). Unidad de observación	34
c). Universo de trabajo	34
d). Cálculo de la muestra	34
e). Criterios y estrategias de trabajo	34
f). Criterios de inclusión	35
g). Criterios de eliminación	36
h). Definición de Variables	36
i). Operacionalización de las variables	37
j). Recolección de datos	39
k). Análisis estadístico	39
l). Consideraciones éticas	39
VII. RESULTADOS	41
IX. DISCUSIÓN	52
X. CONCLUSIONES	58
XI. PROPUESTA	59
XII. BIBLIOGRAFIA	60
XIII. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	64
XIV. EXTENSION	65
XV. ANEXOS	66

I. RESUMEN

Título. Alteraciones citogenéticas en niños con Leucemia Aguda que acuden al servicio de Oncología de un hospital pediátrico.

Introducción. La Leucemia se caracteriza por la proliferación desordenada de una clona de células hematopoyéticas. La de tipo agudo es la más común en los niños. Es una enfermedad heterogénea que se clasifica desde los puntos de vista morfológico, inmunológico y citogenético. En este último aspecto, ciertas alteraciones cromosómicas tienen un valor pronóstico. En el Hospital del Niño sólo se realiza la clasificación citomorfológica e inmunológica.

Objetivo. Establecer cuáles son las alteraciones citogenéticas de la población pediátrica con Leucemia Aguda que ingresa al Hospital del Niño.

Material y métodos. Estudio descriptivo, prospectivo, transversal que incluyó 34 muestras de médula ósea o sangre periférica de pacientes menores de 15 años con Leucemia aguda *de novo*, ingresados entre octubre de 2008 y junio de 2009 en el Hospital del Niño, se procesaron de manera directa y cultivos de 72 horas, se analizaron las metafases por técnica de bandas GTG.

Resultados. Se incluyeron 15 niños (44.1%) y 19 niñas (55.9%) con promedio de edad de 6.9 años. La linfoblástica fue la más frecuente en un 88.2% de los pacientes y de éstas el subtipo L1 en el 44.1%. Considerando los inmunofenipos, la de precursores B predominó en un 79.41%. Según el cariotipo, se obtuvieron 24 (70.6%) de los 34 cultivos, encontrándose en un 12.5% alteraciones cromosómicas del tipo de deleciones y una translocación.

Conclusiones. Las alteraciones cromosómicas halladas se encontraron en pacientes con Leucemia Aguda Linfoblástica de precursores B. No hubo asociación con el subtipo L1, pero sí con el género masculino y el lugar de procedencia.

Palabras clave: Leucemia aguda, citogenética, alteraciones citogenéticas.

II. ANTECEDENTES

Los avances en el campo de la Genética han permitido el estudio más a fondo de la estructura de la información genética a nivel de cromosomas y genes. El estudio cromosómico es una parte importante del estudio de cualquier hemopatía maligna, ya que no sólo contribuye al diagnóstico de las mismas sino que la información que aporta suele constituir un factor pronóstico de primer nivel¹.

Los estudios cromosómicos de las leucemias humanas durante las últimas tres décadas, han dado un gran aporte al conocimiento de los cambios genéticos que ocurren en estas enfermedades. El análisis citogenético de las células tumorales ha revelado la presencia de alteraciones cromosómicas clonales en más de 30.000 neoplasias humanas².

En el caso de las leucemias agudas, se estima que hasta en el 60% existe una alteración cromosómica, principalmente translocaciones, inversiones, deleciones, monosomías y trisomías³. Estas alteraciones, se ha reportado, influyen directamente en el pronóstico del paciente, ya que, se relaciona con la respuesta al tratamiento.

Existen diversos estudios realizados en varias partes del mundo durante la última década, que se han enfocado a analizar la frecuencia y los tipos de alteraciones a nivel de genes y cromosomas de los pacientes con neoplasias.

Vázquez y Ramírez realizaron un estudio en el Hospital Universitario San Vicente de Pául de Medellín entre 1998 y 2001 donde se analizaron las alteraciones cromosómicas en la médula ósea de 44 niños (entre un mes y 14 años) con LLA. El estudio reveló que 17 pacientes (41.5%) presentaban cariotipo normal y 24 (58.5%) lo tenían anormal; de estos últimos 18 (75%) tenían un mosaicismo cromosómico, 4 (16.7%) exhibían cariotipos hiperploides y 2 (8.3%) presentaban otras alteraciones genéticas⁴.

En estudios previos de otros autores, Guevara (1992-1996) reportó que de 191 pacientes 54 (28.2%) tenían cariotipo normal, siendo anormal en 71 (37.1%) y el restante 34.5% se reportó cariotipo negativo. Los hallazgos fueron 22 pacientes con hiperdiploidia, 15 con translocación y 34 de ellos con otras alteraciones⁵. Rowley en 1999, estudió 15 pacientes resultando que 5 de ellos (33.3%) tenían cariotipo normal y 10 (66.6%) con cariotipo anormal siendo la translocación el hallazgo encontrado en el 100% de éstos últimos⁶.

En el año 2000, Schneider estudio 153 pacientes, encontrando 36% de su población cariotipo normal y en 47% anormal⁷; en el 2001, Forestier reportó de su población 29% con cariotipo normal y 39% anormal. Las alteraciones encontradas, no difieren de los otros estudios siendo las más comunes la las translocaciones⁸.

En Costa Rica se realizó estudio citogenético a 166 pacientes con leucemia o trastornos relacionados, referidos a dos hospitales costarricenses. Uno de ellos era el Hospital Nacional de Niños e incluyó a 107 pacientes menores de 14 años.

Las Leucemias agudas constituyeron el 98% de los casos, 70% LAL y 26% LANL. En el primer caso, el subtipo L1 fue el más frecuente con 84%; y en el segundo el M5. Los hallazgos citogenéticos encontrados fueron principalmente alteraciones numéricas (trisomías 8,19, 20, 21 y 22), así como deleciones (cromosomas 5 y 6), translocaciones (t 8:14) e inversiones (cromosoma 11)⁹.

En otro estudio llevado a cabo en el mismo hospital en 177 niños con Leucemia Aguda Linfocítica de precursores B se observó una distribución entre cariotipos normales y aquellos con anormalidades cromosómicas de 29% y 71% respectivamente. Las aberraciones encontradas fueron: t (4; 11) 3%, t (9; 22) 3%, t (1:19) 5%, hiperdiploides (39%) y otras aberraciones cromosómicas (21%)¹⁰.

Diversos estudios también se han realizado en territorio mexicano en relación a estudios citogenéticos de pacientes con leucemia. En el Hospital Juárez de México, se publicó un estudio sobre la frecuencia de los hallazgos citogenéticos en pacientes con enfermedades hematológicas. Se estudiaron 64 pacientes con enfermedades hematológicas que acudieron al servicio de Hematología de enero de 1999 a Junio del 2000, se tomaron muestras de médula ósea y/o sangre periférica, se procesaron de manera directa y se realizaron cultivos de 24, 48 o 72 hrs., las metafases se analizaron por técnica de bandas GTG, los resultados se reportaron según los criterios del ISCN (1995).

El rango de edad de esta población fue de 1 a 77 años; de acuerdo con la clasificación del grupo FAB, 22 pacientes correspondieron al tipo de Leucemia

Linfoblástica Aguda (LLA), 14 a Leucemia Mieloide Aguda (LMA), 16 a Leucemia Granulocítica Crónica (LGC), 7 a Síndrome Mielodisplásico (SMD) y 3 fueron sin diagnóstico confirmado. Se obtuvo el estudio citogenético de los pacientes en el 58% (37), el cariotipo no fue informativo en el 26.5%(17) y en el 15.6%(10) presentó hipocelularidad. De los resultados obtenidos el 28%(10) fue cariotipo normal, 21%(8) presentaron alteraciones numéricas y el 51%(19) estructurales¹¹.

En el Hospital del Niño, se cuenta con la unidad de Oncología, la cual constituye el centro de atención de los pacientes oncológicos pediátricos no sólo del estado de Tabasco, sino de Estados cercanos, principalmente de Chiapas. Sin embargo, y a pesar de contar con la presencia del servicio de Genética en el Hospital, no se realiza la clasificación citogenética de las leucemias siendo las clasificaciones de la FAB y la de inmunofenotipos las que se efectúan hasta el momento. Por lo tanto, no se cuenta con estudios citogenéticos que nos reporten la presencia de alteraciones a nivel de cromosomas en esta población pediátrica.

III. MARCO TEORICO

Definición de Leucemia

Las Leucemias agudas son un grupo heterogéneo de padecimientos que suponen la proliferación desordenada de una clona de células hematopoyéticas. Desde un punto de vista morfológico se han dividido en Leucemia Aguda Linfoblástica (LAL) y Leucemia Aguda Mieloblástica (LAM)¹².

Constituyen la entidad neoplásica maligna más frecuente de la edad pediátrica. La LAL representa cerca del 75% de las leucemias agudas pediátricas. La incidencia de LAL en Estados Unidos es de aproximadamente 3.4 casos por 100,000 individuos menores de 15 años. El pico de incidencia ocurre entre las edades de 3 y 4 años, con un ligero predominio de los niños sobre las niñas¹³.

Factores de riesgo

La exposición a radiación ionizante se ha establecido como un factor ambiental que predispone al desarrollo de leucemia, en especial LAM. Entre las sustancias químicas que se han relacionado con un mayor riesgo de Leucemia son el benceno y los pesticidas.

En revisiones de estudios epidemiológicos, se ha reportado asociación entre la ocupación del padre y la Leucemia aguda; las exposiciones a pinturas y pigmentos sintéticos tienen los resultados positivos más convincentes. Las ocupaciones más relacionadas con un incremento del riesgo para Leucemia incluyen: pintores, mecánicos y obreros.

Se ha demostrado un incremento del riesgo de LAM, particularmente entre niños pequeños, asociado al consumo de alcohol por parte de la madre durante el embarazo.

Un gemelo idéntico tiene dos veces más riesgo de desarrollar Leucemia que la población general si su gemelo desarrolla la enfermedad antes de la edad de 7 años. Por otro lado, ciertas enfermedades están asociadas con un mayor riesgo de desarrollar leucemia. Ejemplos incluyen: la anemia de Fanconi, Síndrome de Bloom, ataxia telangiectásica, Síndrome de Down, Síndrome de Shwachman y neurofibromatosis. La LAM tiene una mayor incidencia durante el período neonatal que la LAL entre los niños con anemia de Fanconi, Síndrome de Bloom y Síndrome de Down.

El riesgo de LAL es significativamente más alto entre niños cuyos padres tienen mayor edad (madres mayores de 35 años, padres mayores de 40 años). El rol de un factor infeccioso también se ha estudiado dando origen a hipótesis como la “infección retrasada” que sugiere que la LAL es causada por una falta de exposición a infecciones y una falla de la modulación del sistema inmunológico. Más tarde, una respuesta inmunológica anormal ocurre hacia una o más infecciones virales o bacterianas comunes la cual desencadena los eventos que conducen al desarrollo de LAL¹⁴.

Conceptos generales de epidemiología

La incidencia de las Leucemias depende del área del mundo donde son estudiadas. Se ha reportado una elevada frecuencia en los países

hispanoamericanos. En México, las Leucemias agudas representan alrededor de 40% de todas las neoplasias, mientras que en otros países constituyen entre 30 y 34%. La LAL es la más común en los niños entre 2 y 15 años y representa cerca de 85% de los casos. La LAM constituye poco más de 14% y la leucemia no diferenciada ocupa 0.8%¹⁵.

Como factores asociados en niños residentes de la ciudad de México se han identificado los antecedentes familiares de cáncer, abortos previos al nacimiento del niño, peso del niño al nacimiento superior a 3500g, exposición a fertilizantes, exposición a insecticidas y vivir cerca de cables de distribución eléctrica de alta tensión¹⁵.

En nuestro país, se ha observado un aumento importante en la incidencia de la LAL en las últimas fechas: de 7.75 por millón de niños menores de 15 años en 1982 a 63.7 durante el periodo de 1996 a 2000¹⁶.

Fisiopatología

El desarrollo de LAL, al igual que otras hemopatías malignas, involucra la transformación de una sola célula progenitora que tiene capacidad para la expansión monoclonal indefinida. El evento leucemógeno puede ocurrir en células linfoides con linaje de precursores B o T, o bien, en precursores más tempranos, lo que da origen a los diferentes subtipos de LAL basado en la etapa de diferenciación de las células linfoides en las que ocurre el evento.

Cerca de 80% de todos los casos de LAL expresan marcadores de superficie indicativos de un precursor de linaje B. Sólo de 1 a 2% de los casos expresan un fenotipo típico de una célula B madura. La LAL de precursores T representa entre el 15 a 20% de los casos y se asocia comúnmente con ciertas características como edad mayor, predominancia del sexo masculino, cuenta leucocitaria elevada, enfermedad extramedular, lo cual indica la necesidad de incrementar la intensidad de la quimioterapia¹³.

Las manifestaciones clínicas se relacionan con la infiltración de los blastos en la médula ósea, el sistema linfático y/o sitios extramedulares, como el sistema nervioso central. Estas manifestaciones dependen no solo de la naturaleza del clon leucémico sino del crecimiento que ha tenido hasta el momento en que los síntomas son reconocidos, se hace el diagnóstico correcto y se inicia el tratamiento¹².

Diagnóstico

El diagnóstico definitivo de Leucemia se basa en la demostración de una blastosis medular que iguale o supere el 25% de la totalidad celular¹³; el estudio morfológico óptico, citoquímico, inmunológico y citogenética detallada es fundamental para etiquetar el tipo de Leucemia aguda.

Factores pronósticos

El porcentaje de curación de la LAL en niños y adolescentes alcanza hasta el 80%, lo cual se ha debido no sólo a tratamientos más racionales sino a la

identificación de factores pronósticos biológicos y clínicos que permiten asignar a los pacientes a uno de 3 grupos (grupo de riesgo habitual, de alto y muy alto riesgo). Se define como riesgo habitual cuando la cuenta de leucocitos al momento del diagnóstico está por abajo de 50 000/mm³ y con edad por arriba de un año y por abajo de diez años. De esta manera, los pacientes con muy alto riesgo son considerados de primera instancia candidatos al trasplante de células madres hematopoyéticas¹⁷.

Otros factores pronósticos incluyen: presencia de masa mediastinal, la médula ósea al día 14 del inicio de tratamiento, el inmunofenotipo, el estudio de citogenética (cariotipo), la morfología de acuerdo a la clasificación FAB, la presencia de visceromegalia, la hemoglobina, cuenta plaquetaria, índice de ADN, la presencia de antígeno mielóide, las inmunoglobulinas, el sexo del paciente (el sexo masculino se asocia con mal pronóstico) y la presencia de infiltración en el SNC¹⁸.

Clasificación morfológica

La clasificación Franco-Americana-Británica (FAB) propuesta en 1976, es una clasificación citomorfológica de los blastos en médula ósea que se correlaciona en términos generales con ciertos parámetros clínicos. El empleo de técnicas histoquímicas permite asignar los casos con 3% o más de células blásticas peroxidasa positivo a la categoría mieloblástica y los peroxidasa negativo a la categoría linfoblástica. El análisis morfológico encierra las características citadas

en la Tabla 1. Describiéndose 3 subtipos: L1, L2 y L3 para la LAL. Mientras que para la LAM los subtipos son: M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6 y M7 ¹⁹.

TABLA 1.- CARACTERÍSTICAS CITOMORFOLOGICAS DEL LINFOBLASTO SEGÚN CRITERIOS DEL GRUPO FRANCO-AMERICANO-BRITÁNICO PARA LAL			
Característica	LAL – 1	LAL - 2	LAL– 3
Frecuencia en niños	80%	17%	3%
Mieloperoxidasa	Negativa	Negativa	Negativa
Tdt*	Positiva	Positiva	Negativa
Tamaño Celular	Pequeño	Grande, heterogéneo	Grande, homogéneo
Núcleo	Regular	irregular	Regular
Nucléolos	No visibles	= ó >1, prominente	= ó >1, prominentes
Citoplasma	Escaso	variable	abundante
Basofilia Citoplasma	Ligera	variable	intensa
Vacuolas	Ausentes	ausentes	abundantes

*Tdt: desoxinucleotidil transferasa terminal

Fuente: tomado de PAC - Cáncer en niños, parte C, Libro 1

Clasificación inmunológica

Se basa en la tipificación inmunológica mediante la identificación del linaje celular específico, a través de anticuerpos monoclonales, así como el estadio de diferenciación. De acuerdo a la clasificación según los inmunofenotipos se consideran los siguientes tipo: pre B temprana, la más frecuente (60.4%), pre B transicional y pre B (estas 3 variedades se describen como “común”), B, T y cuando es nulo²⁰.

Evaluación citogenética

Por tanto, es indispensable efectuar estudios de citogenética en médula ósea para determinar sobre todo las translocaciones. Dentro de éstas las más importantes sobre todo desde el punto de vista de tratamiento lo constituyen las de estirpe B (19) como t(8;22), t(8;14) y t(2;8). O bien translocaciones que se han documentado en leucemias pre B como la t(1;19) y t(9;22) y las de la estirpe T (19) como t(11;14), t(10;14), t(7;14), t(8;14), t(7;9) o la t(1;7). La translocación t(12;21) al parecer ofrece buen pronóstico en las leucemias de estirpe B temprana (Tabla 2).

21

Translocaciones	Alteración molecular	Características clínicas
t(1;19)	fusión E2A/PBX1	Mal pronóstico (más en adultos), hiperleucocitosis en niños, afección del SNC, pre-B.
t(9;22)	fusión BCR/ABL	Muy mal pronóstico (más en adultos), hiperleucocitosis, mayor edad, pre-B.
t(4;11)	fusión MLL/AF4	Muy mal pronóstico, hiperleucocitosis, predominio en lactante y niño pequeño, pre-preB.
t(8;14)	fusión MYC/IgH	Mejor pronóstico con tratamiento intensivo (menos en adulto), predominio masculino, afección extramedular, LLA-3 B
t(1;14)	fusión TIG2/TCR	Pronóstico intermedio (poca experiencia en adultos), predominio masculino, hiperleucocitosis, afección extramedular, T
T(12;21)	fusión TEL/LMA1	Pronóstico favorable (poca experiencia en adultos).

Análisis citogenético

Desde la observación en los años 60 por Nowell y Hungerford de la aparición de un pequeño cromosoma, al que denominaron Philadelphia (Ph), en pacientes con leucemia mieloide crónica, y la posterior descripción en los 70 por Caspersson de técnicas de bandeado cromosómico, el análisis citogenético ha sido en los últimos 30 años, una de las áreas de la genética que se ha desarrollado con más rapidez. Proporciona información muy valiosa no sólo clínica, sino también básica en la investigación de las neoplasias²².

La descripción de alteraciones cromosómicas asociadas específicamente a un tipo de leucemia, y su posterior seguimiento, ha permitido conocer la significación clínica de muchos marcadores citogenéticos y, más importante todavía, se ha constituido como un paso previo a la detección y localización de los genes implicados en la génesis tumoral.

Algunos investigadores consideraron que estas alteraciones cromosómicas eran más bien un epifenómeno del proceso oncogénico sin relación con su causa. Sin embargo, este criterio cambió completamente, cuando mediante las técnicas de biología molecular se puso en evidencia la existencia de genes específicos comprometidos en las translocaciones cromosómicas presentes en la mayor parte de las leucemias y que son activados por la translocación²³.

Estos avances científicos han permitido profundizar en el estudio de las células malignas hasta el nivel de genes individuales y el establecimiento de los conceptos de proto-oncogenes y de oncogenes. Los proto-oncogenes son genes

normales que controlan el crecimiento, desarrollo y diferenciación celular, y que por algún motivo alteran su función y se convierten en oncogenes en la célula neoplásica.

Conjuntamente con los nuevos conocimientos sobre la oncogénesis se han desarrollado los relacionados con los distintos intermediarios que transmiten la información intracelular necesaria para la activación genética y que son de gran importancia para el funcionamiento normal de la célula y en su transformación maligna.

Para facilitar la comprensión de la nomenclatura citogenética es necesario recordar que la mayoría de los cromosomas humanos tienen dos brazos, uno largo (q) y otro corto (p). Las alteraciones que pueden encontrarse son de dos clases: *primarias*, cuando están ligadas específicamente a cada tipo de tumor, y *secundarias*, cuando se añaden a las anteriores.

Dos son también los tipos de alteraciones: *numéricas* y *estructurales*. La valoración de una clona anormal exige analizar e interpretar un número suficiente de metafases. Los cromosomas y sus alteraciones se identifican de acuerdo con las sucesivas recomendaciones del Sistema Internacional para la Nomenclatura de la Citogenética Humana (ISNC, 1995)²⁴. Se considera una alteración clonal cuando se detectan dos o más metafases con la misma anomalía estructural o con ganancia de algún cromosoma, pero si es una pérdida ha de aparecer en al menos 3 mitosis.

Alteraciones cromosómicas numéricas

La LAL puede clasificarse en cuatro subgrupos basándose en el número modal de cromosomas en las células leucémicas: hiperdiploidía (cariotipos con más de 46 cromosomas);seudodiploidía (46 cromosomas con alteraciones estructurales); diploidía normal (46 cromosomas normales) e hipodiploidía (menos de 46 cromosomas).

Hiperdiploidía

El 25-30 % de los niños con LAL presentan hiperdiploidía de más de 50 cromosomas. Aunque la mayoría de los cromosomas están implicados, ciertos cariotipos parecen ser prevalentes, desconociendo el significado de los mecanismos para la ganancia preferencial de ciertos cromosomas. El cromosoma 21 es el más frecuente involucrado seguido de los cromosomas 6, 4, 8, 10 y 14²⁵.

Los pacientes con hiperdiploidía de más de 50 cromosomas presentan factores de buen pronóstico: edad entre 2 y 10 años, recuento leucocitario menor $10 \times 10^9/l$, morfología L1 y un fenotipo inmaduro pre-B (CD10 +). Más de la mitad de los casos presentan además alteraciones estructurales. El porcentaje de curación para estos pacientes oscila entre el 75 y el 80 %, aunque el pronóstico es menos favorable para los que presentan alteraciones estructurales. Harris et al describieron un mejor pronóstico en aquellos pacientes con trisomías 4 y 10 con una supervivencia libre de enfermedad a los 4 años del 96 frente al 80 % del resto de los pacientes²⁶.

El grupo de 47-50 cromosomas representa el 13 % de los casos; la mayoría tienen 47 cromosomas. Este grupo se asocia con mayor frecuencia a alteraciones estructurales (1q, 6q, 12p, 19p). Clínicamente presentan leucocitosis, altos valores de deshidrogenasa láctica (DHL) y edad alta. El pronóstico para este grupo es diferente según las series, lo que refleja una naturaleza heterogénea del grupo²⁷.

Hipodiploidía

Los cariotipos con más de 46 cromosomas son poco frecuentes detectándose en el 7-9 % de los casos; la mayoría presentan 45 cromosomas con una alta incidencia de alteraciones estructurales. La hipodiploidía puede deberse a la pérdida completa de cromosomas, translocaciones desequilibradas o cromosomas dicéntricos. La pérdida del cromosoma 20 es lo más frecuente. Se asocia a una supervivencia corta pese a tratamientos intensivos. Los raros casos de hipodiploidías de menos de 30 cromosomas tienen una media de supervivencia de 11 meses²⁸.

Seudodiploidía

En todas las series es el grupo mayoritario con una incidencia del 30-40 %, caracterizado por 46 cromosomas/célula con alteraciones estructurales. Se le define como un subgrupo de alto riesgo con una edad superior a los 10 años, mayor incidencia de subtipos morfológicos L2 y L3, alto recuento de leucocitos y DHL. El peor pronóstico de este grupo es probablemente un reflejo de las alteraciones cromosómicas estructurales²⁹.

Diploidía normal

El porcentaje de pacientes con cariotipo normal ha variado desde los primeros estudios en 1978 (40 % de los casos) a la actualidad (26 %), y es dependiente de las técnicas utilizadas y del número de células analizadas^{30 31}. Los cariotipos normales se detectan más entre pacientes con LAL-T. El pronóstico para este grupo parece ser intermedio entre la hiperdiploidía de más de 50 cromosomas y la pseudodiploidía.

Alteraciones cromosómicas estructurales

Las alteraciones estructurales se detectan en más del 60 % de los casos y prácticamente en todos ellos se trata de alteraciones primarias, es decir, alteraciones que no tienen lugar al azar sino que afectan regiones cromosómicas donde, en la mayoría de los casos se localizan oncogenes celulares o genes supresores de tumores.

Cromosoma Filadelfia

El cromosoma Filadelfia (Ph) es el nombre dado al diminuto cromosoma 22 resultado de la $t(9;22)(q34;q11)$. Lo presentan más del 95 % de las leucemias mieloides crónicas, el 1-2 % de los casos con leucemias mieloblásticas agudas, entre el 15 y el 30 % de las LAL del adulto y en el 5 % de las LAL pediátricas. Más del 40 % de los niños con cromosoma Ph presentan cambios adicionales, cambios que no parecen tener implicaciones en el pronóstico.

Clínicamente, el cromosoma Ph identifica un importante subgrupo caracterizado por una edad alta (> 10 años), hiperleucocitosis, alta incidencia de morfología L2 y cariotipos preferentemente pseudodiploides. La mayoría de los blastos Ph + presentan un fenotipo pre-B (inmunoglobulinas citoplásmicas negativas) aunque se han descrito casos con fenotipo T y leucemias bifenotípicas³². El pronóstico para los pacientes con Ph + es malo, aun con tratamientos de quimioterapia intensiva, por lo que el trasplante alogénico de medula ósea o el trasplante de células progenitoras de sangre periférica está indicado en todos los casos³³.

La t(9;22) determina la formación del gen híbrido BCR/ABL . El punto de rotura del cromosoma 9 se encuentra en el extremo 5' del exón 2 del gen ABL, el punto de rotura del gen BCR en 22q11 es variable. En la mayoría de los pacientes pediátricos se halla en el exón e2 (e1a2). Esto origina la formación de una proteína de 190 kDa (p190) con actividad tirosincinasa superior a la p145 del gen ABL normal. Se ha descrito que el gen híbrido p190^{BCR-ABL} actúa básicamente durante la diferenciación linfoide y monocitoide.

La aplicación de técnicas citomoleculares (hibridación in situ fluorescente, FISH) para la detección de clones con Ph + ha sido de gran ayuda preferentemente en casos con Ph variantes que implican translocaciones complejas con tres o más cromosomas. La FISH demuestra una alta sensibilidad en la detección del gen de fusión BCR/ABL con una especificidad entre el 95 y el 100 %, permitiendo visualizar la fusión del gen tanto en metafase como en interfase, cuantificar el clon Ph + y, por lo tanto, conocer la respuesta al tratamiento. Las técnicas moleculares (reacción en cadena de la polimerasa-transcripción inversa, RT-PCR) son más

sensibles en la detección de enfermedad mínima residual (EMR), pudiendo detectar la fusión del gen con una sensibilidad de 10. La persistencia del clon Ph + durante más de 6 meses después del trasplante es indicativo de un mal pronóstico.

Alteraciones en 11q23/LAL inmadura pre-B

Los reordenamientos del brazo largo del cromosoma 11 son mayoritariamente translocaciones recíprocas y se identifican mediante citogenética convencional (bandas G o R) en el 8-10 % de los niños con LAL. La alteración más frecuente es la $t(4;11)(q21;q23)$ seguida de la $t(11;19)(q23;p13)$. Se han descrito translocaciones con otros muchos cromosomas (1p, 7p, 19p, etc.) confirmadas como variantes recurrentes. El denominador común en todas las translocaciones es la interrupción o pérdida de función del gen localizado en 11q23 identificado en 1991 como MLL (gen de leucemia linfocítica-mieloide)³⁴.

$t(4;11)(q21;q23)$. Asociada a un alto recuento de células blancas $> 100 * 10^9/l$, organomegalias e implicación del sistema nervioso central (SNC). Es más frecuente en niños con menos de 2 años y sexo femenino. Las células leucémicas tienen morfología L2 y fenotipo inmaduro pre-B (CD10) con expresión frecuente de marcadores mieloides, lo cual sugiere que la translocación podría ocurrir en una célula pluripotencial con capacidad de diferenciación en ambos linajes, linfocítico y mielocítico. El pronóstico de los pacientes es malo y únicamente el 75 % consiguen la remisión completa. Las recaídas son precoces y la supervivencia es menor de 2 años por lo que el trasplante alogénico es el tratamiento de elección³⁵.

t(11;19)(q23;p13) y variantes. Tienen semejanzas clínicas y pronósticas con la t(4,11). Van asociadas a una edad joven, hiperleucocitosis y células blancas que coexpresan antígenos mieloides y linfoides.

Las translocaciones que afectan a 11q23 son difíciles de detectar con bandeo cromosómico, pero su frecuencia puede incrementarse con la utilización de la FISH gracias a una sonda de ADN que reconoce esta región. Mediante RT-PCR puede también detectarse la fusión de los genes MLL/AF-4 y MLL/ENL correspondientes a los transcritos de fusión originados como consecuencia de las t(4,11) y t(11;19), respectivamente, técnica que se usa para monitorizar la enfermedad residual.

Alteraciones en 19p13/LLA pre-B

Las dos translocaciones conocidas que implican la banda p13 del cromosoma 19 son la t(1;19)(q23;p13) y la t(17;19)(q21;p13). La t(1;19) se halla en el 25 % de los niños con LLA pre-B y expresión de inmunoglobulinas citoplásmicas. Existen dos formas de la translocación: la balanceada t(1;19)(q23;p13) y la desbalanceada, der(19)t(1;19), que resulta en una trisomía del brazo largo del cromosoma 1 y monosomía de la región distal del cromosoma 19p. La consecuencia molecular en ambas es la fusión del gen E2A localizado en 19p13 con el gen PBX1 en 1q23, originando un gen quimérico cuyo producto es una proteína aberrante que actúa como un potente activador de la transcripción. Las características clínicas de LLA pre-B con t(1;19) incluyen una edad media de 5 años, un recuento de células blancas de $21-28 \times 10^9/l$, altos valores de LDH y un índice de ADN $< 1,6$. Se asocia

preferentemente con cariotipos pseudodiploides y una mala respuesta a tratamientos estándares³⁶.

Las técnicas moleculares pueden detectar el producto de fusión PBX1/E2A y pueden ser utilizados en la detección y monitorización de la t(1;19).

La t(17;19) supone la fusión del gen E2A en 19p13 con el gen HLF en 17q22. Se han descrito muy pocos casos, con una edad media alta (14 años) y una supervivencia baja.

t(8;14) y variantes/LLA-B madura

La t(8;14)(q24;q32) y variantes están asociadas específicamente con LLA-B madura. Representan algo menos del 5 % de todos los casos de LLA infantil. La mayoría de los pacientes presentan enfermedad extramedular, con frecuente implicación del SNC y un curso clínico progresivo. Las células malignas se caracterizan por la expresión de inmunoglobulinas de superficie (IgS) y morfología L3³⁷.

Alrededor del 65 % de los pacientes presentan la t(8;14)(q24;q32). Son menos frecuentes las variantes t(8;22)(q24;q11) con una prevalencia del 12 % y la t(2;8)(p12;q24) con un 8 % de incidencia. Las tres translocaciones tienen en común el punto de rotura 8q24 lugar de localización del oncogén c-myc y un segundo punto de rotura en un gen de inmunoglobulinas, cadenas pesadas en 14q32 o cadenas ligeras lambda (22q11) o kappa (2p12). Como consecuencia de las translocaciones el oncogén c-myc queda bajo la influencia de secuencias

transcripcionalmente muy activas en los genes de las Ig, por lo que se transcribe de forma constitucional a valores elevados. Como el oncogén c-myc interviene en los controles de la proliferación celular, su elevada expresión condiciona una mayor proliferación de las células portadoras de la translocación, originando finalmente el crecimiento neoplasias.

Los reordenamientos del oncogén c-myc pueden ser identificados por FISH con una sonda de ADN de secuencia única que hibrida con la región cromosómica 8q24. El análisis molecular también es posible y muy útil para monitorización de la enfermedad. El pronóstico de esta leucemia fue malo mientras se trató como otras formas de LAL, pero la introducción de regímenes de quimioterapia intensiva usados en pacientes con linfomas B ha mejorado de manera espectacular la supervivencia de los niños.

LAL de linaje T

La mayoría de las anomalías cromosómicas vistas en LAL-T implican regiones cromosómicas donde están ubicados genes de los receptores de linfocitos T (TCR), 14q11-q13 (cadenas alfa y delta), 7q32-36 y 7p15 (cadenas beta y gamma). De modo paralelo a lo que ocurre en la sobreexpresión de c-myc (LAL-B madura), en LAL-T una variedad de diferentes oncogenes, situados en los puntos de rotura recíprocos en cada translocación, quedarían bajo la influencia de secuencias transcripcionalmente muy activas, originándose la sobreexpresión oncogénica. Las anomalías más comunes en linaje T son las t(1;14)(p32;q11), t(10;14)(q24;q11), t(11;14)(p13;q11) y t(7;9)(q34;q32) que originan la

sobreexpresión de los oncogenes TAL1 , HOX11 , RHOM2 , y TAL2 , respectivamente. Sin embargo, sólo el 30 % de los pacientes con LAL-T tienen alteraciones en genes del TCR, incidencia menor que la encontrada en pacientes con LAL-B madura e implicación de inmunoglobulinas, calculada en un 85 % ³⁸.

Las características clínicas de los pacientes con LAL-T son semejantes a las del linfoma linfoblástico; el 50 % de los casos presentan masa mediastínica, alto recuento de leucocitos (valor medio de $50 * 10^9/l$), frecuente afectación del SNC y mayor incidencia en varones menores de 9 años. La respuesta a la terapia y la supervivencia es menor que en pacientes con LAL-B atribuible en parte a la hiperleucocitosis y la falta de clones hiperdiploides. No obstante, la aplicación de las nuevas terapias ha mejorado el pronóstico de este grupo.

La incidencia de cariotipos normales en LAL-T oscila entre el 30 y el 40 % mucho más que en LAL-B. Las células citogenéticamente normales se describen en blastos leucémicos de timocitos inmaduros con mejor pronóstico que los que presentan alteraciones clonales.

Linaje inespecífico del(6q)

En 1977, Oshimura et al³⁹ describieron las deleciones del brazo largo del cromosoma 6 como una anomalía recurrente en leucemias. Las deleciones 6q se detectan en el 4-6 % de los niños con LAL, y se acompañan con frecuencia de otras alteraciones cariotípicas. No se asocian a un inmunofenotipo específico, aunque revisiones de grandes series indican que estas alteraciones se presentan con mayor incidencia en LAL-T. Las deleciones pueden ser intersticiales (6q13-

q21) o terminales (6q21-q23) pero siempre implican a la región 6q21. En la región 6q21 está localizado el oncogén c-myb; sin embargo, no está deletado ni reordenado en neoplasias linfoides. Esto suscita la posibilidad de que en esta área se encuentre un gen supresor de tumores. El receptor de estrógenos (RE) localizado en 6q25 tiene actividad supresora en el crecimiento y metástasis en distintas líneas celulares, receptor que está metilado en la mayoría de las neoplasias linfoides y que se asocia con una baja o ausencia expresión del gen RE contribuyendo a la leucemogénesis. El significado pronóstico de esta alteración parece ser relativamente bueno o no tener impacto en el pronóstico.

Las deleciones en 6q pueden ser detectadas por citogenética convencional, al menos que la región deletada sea muy pequeña. La técnica FISH con sondas apropiadas se usa tanto para el diagnóstico como en el seguimiento de enfermedad. El estudio molecular no es posible por la variabilidad de los puntos de rotura implicados.

Alteraciones en 9p

Las alteraciones del brazo corto del cromosoma 9 se identifican en el 7-12 % de los casos infantiles con LAL. Los niños afectados por esta anomalía presentan mayoritariamente blastos de estirpe T, linfadenopatías, esplenomegalia, hiperleucocitosis, edad de más de 10 años e implicación del sistema nervioso. Las alteraciones en 9p incluyen deleciones, translocaciones desbalanceadas o pérdida de todo un cromosoma. La región cromosómicamente implicada es 9p21-p22 donde están ubicados los genes de interferón (IFNA e IFNB1) y los genes p16^{INK4A}

y p15^{INK4B} que codifican proteínas que inhiben el ciclo de las cinasas desempeñando un papel crucial en la progresión del ciclo celular, siendo candidatos ideales como genes supresores de tumor.⁴⁰

Se han descrito casos con t/dic(9;20)(p11-12)(p11-13) e i(9p) en pacientes con inmunofenotipo de LLA inmadura pre-B, pero con un tiempo de seguimiento corto para determinar el significado pronóstico de estas alteraciones citogenéticas.

Alteraciones del brazo corto del cromosoma 12

Las alteraciones cromosómicas del brazo corto del cromosoma 12 incluyen deleciones y translocaciones con distintos cromosomas donadores 1, 3, 9, 10, 17. La mayoría de los casos son pre-B con morfología L1 y un recuento medio de leucocitos de $3 \times 10^9/l$. El denominador común de estos reordenamientos es el punto de rotura 12p13, región cromosómica donde se encuentra ubicado el gen TEL. Se han identificado distintos transcritos quiméricos de TEL tanto en LMA como en LLA; por ejemplo TEL/MEN1 en t(12;22)(p13;q11), y TEL/ABL en t(9;12)(q34;p13).

Recientemente se ha identificado el reordenamiento TEL/AML1 originado por la t(12;21). En un principio, la t(12;21) se consideró como una alteración rara con una incidencia menor del 0,05 % en todos los pacientes; sin embargo, la utilización de la FISH ha permitido detectar esta anomalía en un porcentaje de enfermos que puede oscilar entre el 23 y el 27 % siendo la alteración cariotípica más común en pacientes pediátricos. Esta discrepancia se debe a que el estudio cromosómico con bandas G define esta región como una región pálida difícil para su detección.

Es posible además que muchos casos descritos como del(12p) sean realmente translocaciones. El significado clínico de estas alteraciones es todavía confuso por la baja incidencia de casos descritos y por el corto período de seguimiento. Si bien los resultados, en su conjunto, apoyan la idea de que las alteraciones en 12p determinan un mejor pronóstico que el resto de las anomalías.⁴¹

Cambios cromosómicos no establecidos

Heim y Mitelman⁴²(38) encontraron que el 82 % de los niños presentan cambios estructurales, de los cuales el 40 % son cambios cromosómicos muy heterogéneos que constituyen alteraciones citogenéticas secundarias, no específicas de LAL. Su valor pronóstico no está bien definido. Estos cambios secundarios pueden implicar cualquier autosoma. La mayoría son desequilibrados, conduciendo a pérdidas de material genético, adiciones, isocromosomas y translocaciones complejas que determinan la presencia de cromosomas marcadores. Esta heterogeneidad demuestra que existen distintas configuraciones citogenéticas que confieren ventajas proliferativas secundarias a las células tumorales o son el resultado de un fracaso en la apoptosis. Parece claro, por lo tanto, que genes con potencial oncogénico se encuentran por todo el genoma y la formación de proteínas aberrantes puedan resultar de reordenamientos cromosómicos en muy diversas localizaciones.

Técnicas de análisis genético

Citogenética convencional (cariotipo de bandas G)

El análisis citogenético convencional consiste en el estudio de las alteraciones cromosómicas en las metafases de las células de médula ósea, sangre periférica, ganglios, biopsias, etc. obtenidas tras el cultivo *in vitro* y la adición de un mitógeno específico para los linfocitos T, la fitohemaglutinina. En las células obtenidas se pueden estudiar la morfología de los cromosomas pudiendo detectar tanto las alteraciones numéricas como las estructurales presentes en todo el genoma después de teñir con tripsina-giemsá (bandas G) ⁴³

En neoplasias hematológicas, debido a la facilidad de obtener metafases de calidad a partir de cultivos de médula ósea, el análisis citogenético convencional se ha incorporado en los laboratorios de Genética como una técnica de rutina, que complementa al diagnóstico morfológico e inmunofenotípico.

A los estudios citogenéticos convencionales desarrollados en la década de los sesenta se han añadido en los últimos años otras metodologías que han permitido mejorar la sensibilidad y la especificidad de los hallazgos citogenéticos. Estas técnicas son derivadas de la hibridación *in situ* fluorescente (FISH). Las más usadas han sido la hibridación genómica comparada (CGH), la FISH multicolor o SKY y la FISH de bandeado multicolor (Rx FISH) ⁴⁴.

Citogenética molecular (hibridación *in situ* con fluorescente)

Las técnicas de hidridación *in situ* con fluorescencia (FISH) se basan en la hibridación de una sonda de ADN marcada con una sustancia fluorescente sobre su secuencia complementaria del genoma, bien en la metafase cromosómica o en el núcleo de la interfase. Pueden utilizarse para identificar los reordenamientos cromosómicos particulares o bien para diagnosticar la existencia de aneuploidías con rapidez. Solamente detecta aquella alteración para la cual está diseñada la sonda de ADN marcada con fluorescencia⁴⁴.

Existen sondas de ADN de distintos tipos: centroméricas (maracan únicamente las zonas centroméricas), de secuencias específicas de locus (marcan regiones cromosómicas de secuencia única) o de pintado cromosómico (marcan todo un cromosoma)⁴⁴.

CGH (hidridación genómica comparada)

Se desarrolló a principios de los noventa. No es necesario obtener células en crecimiento porque esta técnica emplea ADN tumoral. Se basa en la hidridación competitiva de dos ADNs, (tumoral y control normal) marcados con distintos fluorocromos, sobre cromosomas normales y permite, por tanto, la detección de ganancias y pérdidas de regiones cromosómicas en todo el genoma del tumor por la comparación de las intensidades de las señales de hibridación. En un tumor sin alteraciones cromosómicas, el resultado da lugar a cromosomas amarillos debido

a que la cantidad de ADN marcado en rojo (ADN no patológico) y verde (ADN tumoral) es la misma (mezcla 1:1 de rojo y verde). Si el tumor tiene una deleción o pérdida, aparece en rojo debido a que hay más cantidad de ADN normal para hibridar en esa región cromosómica. Si el tumor contiene alguna ganancia cromosómica, la cantidad de ADN tumoral para hibridar es mayor, y esa zona se hibridará en una mayor proporción de fluorocromo verde del tumor.⁴⁴

Cariotipo multicolor (SKY-FISH)

El cariotipo multicolor SKY es una técnica de citogenética molecular, y de momento sólo se utiliza en el campo de la investigación. Este método se basa en la utilización de 24 sondas de ADN (una para cada cromosoma humano) marcadas con una combinación de diferentes fluorocromos y en la aplicación de complejos sistemas de análisis de imagen. La técnica de SKY, mediante la tecnología espectral, analiza el espectro de emisión de cada uno de los pixeles de la imagen y asigna un color artificial a cada pixel dependiendo de su espectro para lograr la imagen multicolor. Se utiliza para caracterizar correctamente translocaciones complejas, y también para detectar alteraciones cromosómicas crípticas en cariotipos aparentemente normales⁴⁴.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el Hospital del Niño “Dr. Rodolfo Nieto Padrón” existe el servicio de Oncología, donde se realiza diagnóstico y tratamiento de pacientes con Leucemia, contando hasta la actualidad solamente con la realización de la clasificación citomorfológica y por inmunofenotipos. Sin embargo, como unidad de tercer nivel cuenta dentro de sus especialidades con el servicio de Genética siendo menester y factible, la realización del estudio de cariotipo en estos pacientes en búsqueda de alteraciones citogenéticas que, como ya se ha comentado permita una clasificación más completa. Quedando el siguiente cuestionamiento:

¿Cuáles son las alteraciones citogenéticas en niños con diagnóstico de Leucemia Agudas del Hospital de Alta Especialidad del Niño “Dr. Rodolfo Nieto Padrón”?

V. JUSTIFICACION

En el Estado de Tabasco, durante el año 2007 egresaron 38 pacientes con el diagnóstico de Leucemia en el Hospital de Alta Especialidad “Dr. Rodolfo Nieto Padrón”, con una tasa de 4.38 casos por 100,000 egresos hospitalarios⁴⁵. De estos, el 7.89% correspondieron a pacientes menores de 1 año, 42.11% en el grupo de edad de 1 a 4 años, 34.21% en el de 5 a 9 años y finalmente, el 15.79% en el grupo de 10 a 14 años.

Los avances tecnológicos en el campo de la Genética y Biología molecular, en las últimas décadas, han permitido hacer clasificaciones de los pacientes con Leucemia más allá de la citomorfología (por inmunofenotipos, por presencia de alteraciones genéticas). La importancia fundamental de dichas clasificaciones es el impacto en el tratamiento de pacientes con Leucemia Aguda al demostrar que la citogenética es un indicador pronóstico independiente de otras variables clínicas, ya que, determinados cariotipos se asocian con un buen pronóstico, mientras que otros indican un peor resultado, lo cual ha llevado a la administración de terapias alternativas en función del riesgo.

El conocimiento de la presencia de cariotipos con asociaciones ya conocidas en cuanto a pronóstico, daría oportunidad de adaptar la terapia de acuerdo a la predicción prevista, lo cual, podría repercutir en la morbilidad y quizá mortalidad de estos pacientes.

VI. OBJETIVOS

a).- Objetivo General

Determinar las alteraciones citogenéticas en niños con diagnóstico de Leucemia Aguda que ingresan al servicio de Oncología del Hospital de Alta Especialidad del Niño “Dr. Rodolfo Nieto Padrón” durante el período comprendido del 1º octubre de 2008 hasta el 30 de junio de 2009.

b).- Objetivos Específicos

- a) Determinar cuales son las alteraciones citogenéticas en el grupo de pacientes con Leucemia.
- b) Determinar cuál es el grupo de pacientes con Leucemia que de acuerdo a la clasificación FAB presenta alteraciones citogenéticas.
- c) Determinar cuál es el grupo de pacientes con Leucemia que de acuerdo a la clasificación inmunológica presenta alteraciones citogenéticas.
- d) Determinar cuál es el grupo etario, género y lugar de procedencia de los pacientes con Leucemia aguda que presenta alteraciones citogenéticas.

VII. METODOLOGÍA

a).- Tipo de estudio

Estudio prospectivo, transversal y descriptivo.

b).- Unidad de observación

Pacientes de 0 a 15 años con diagnóstico reciente de Leucemias Agudas.

c).- Universo de trabajo

Pacientes atendidos en el servicio de Oncología Pediátrica del Hospital de Alta Especialidad del Niño “Dr. Rodolfo Nieto Padrón” durante el período comprendido entre el 1º de octubre de 2008 al 30 de junio de 2009.

d).- Cálculo de la muestra

No se requirió cálculo de la muestra, debido a que ésta se constituyó por todos aquellos casos nuevos de Leucemias Agudas que de forma acumulativa fueron diagnosticados durante el período arriba mencionado en el Hospital de Alta Especialidad del Niño “Dr. Rodolfo Nieto Padrón”.

e).- Criterios y estrategias de trabajo

Se les tomó una muestra de biometría hemática en búsqueda de blastos en el diferencial citológico y, posteriormente, aspirado de médula ósea para toma de frotis, como método diagnóstico definitivo. Durante este procedimiento, se tomaron dos especímenes, uno para inmunofenotipos y otro, en jeringa heparinizada, para

determinación de cariotipo por método convencional (cariotipo por bandas GTG). Se pudo obtener la muestra de sangre periférica para la determinación del cariotipo mediante punción venosa, cuando el paciente no había sido trasfundido.

Para la realización del aspirado de médula ósea se solicitó al responsable del menor su autorización de consentimiento informado para dicho procedimiento (Anexo iv)

El procedimiento se hizo aspirando de 1 ml de médula ósea. También para las muestras de sangre periférica se requirió 1 ml de espécimen. Ambos tipos de muestras se enviaron para su procesamiento al Servicio de Genética del Hospital de Alta Especialidad del Niño “Dr. Rodolfo Nieto Padrón” según el Manual y Protocolos de Procedimientos de dicho laboratorio.

El análisis citogenético de cada muestra se realizó en 25 células de dos cultivos primarios con la Técnica de bandas GTG con resolución de 1360 x 1024 pixeles y cariotipificado con el Sistema de Análisis Imagen para Cariotipo Automatizado (Microscopio Axio Imager. A1 F2 y Software Ikaros Isis Karl Zeiss MetaSystems V 5.3).

f).- Criterios de inclusión

- ❖ Pacientes diagnosticados con Leucemia Aguda confirmados mediante una muestra de aspirado de médula ósea o de sangre periférica.

- ❖ Ambos sexos
- ❖ Edad menor a 15 años
- ❖ Que no haya recibido tratamiento quimioterapéutico.

g).- Criterios de eliminación

- ❖ Pacientes que, a pesar de cumplir con los criterios de inclusión, su expediente clínico no estuviese completo, o bien, no se le hubiese realizado diagnóstico inmunológico y/o cariotipo.

h).- Definición de variables

Leucemia linfoblástica aguda: Grupo heterogéneo de padecimientos que suponen la proliferación desordenada de una clona de células de la serie linfoide.

Leucemia mieloblástica aguda: Grupo heterogéneo de padecimientos que suponen la proliferación desordenada de una clona de células de la serie mieloide.

Alteración citogenética: Cambios cromosómicos estructurales o numéricos encontrados en el cariotipo de pacientes con Leucemias agudas.

Clasificación FAB: Se basa en las características morfológicas de las células leucémicas. Propuesta por un grupo cooperativo franco- americano-británico.

Clasificación inmunológica: Basada en la identificación de antígenos de membrana o intracelulares, únicos o múltiples, y su expresión de características de fluorescencia y absorción de la luz.

Edad: Se mide en años, y para los menores de 1 año, en meses. Se incluyen todos los niños de 15 años o menores.

Género: Femenino y masculino.

Lugar de procedencia: Municipio del Estado de Tabasco o Estado circunvecino en el que habitualmente reside el paciente.

i).- Operacionalización de las variables

Nombre	Definición operacional	Tipo de variable	Indicador	Instrumento de medición y/o fuente
Leucemia linfoblástica aguda	Clasificación en base a la FAB, al inmunofenotipo y a la citogenética	Cualitativa	L1, L2, L3 De precursores B y de precursores T Translocaciones, deleciones, inversiones, hiperdiploidías, aneuploidías, etc.	Lectura de aspirado de médula ósea. Resultado de citometría de flujo Resultado del cariotipo.
Leucemia mieloblástica aguda	Clasificación en base a la FAB, al inmunofenotipo y a la citogenética	Cualitativa	M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7. Mieloide. Translocaciones, deleciones, inversiones, hiperdiploidías, aneuploidías, etc.	Lectura de aspirado de médula ósea. Resultado de citometría de flujo Resultado del cariotipo.

Alteraciones citogenéticas	Cambios estructurales Cambios numéricos	Cualitativa	Estructurales: Traslocaciones, deleciones, inversiones. Numéricas: diploidias, hiperdiploidias, hipodiploidias, monosomias, trisomias, etc	Reporte de cariotipo
Clasificación FAB	Linfoblástica en base al tamaño celular, morfología nuclear, nucléolos, basofilia citoplasmática y vacuolas citoplasmáticas. Mieloblástica dependiendo de la diferenciación	Cualitativa	L1: células pequeñas L2: células pequeñas y grandes L3: tipo Burkitt M0: mínimamente diferenciada M1: sin maduración M2: Con maduración M3: promielocítica M4: mielomonocítica M5: monoblástica M6: eritroleucemia M7: megacarioblástica	Lecturas de aspirados de médula ósea
Clasificación inmunofenotípica	Linfoide Mieloide Bifenotípica	Cualitativa	De precursores B De precursores T Mieloide Bifenotípica	Reporte de citometría de flujo
Grupo etario	Rangos de 4 años abarcando de 0 a 14 años	Cuantitativa dicotómica	0-4 años 5-9 años 10-14 años	Expediente clínico
Género	División de acuerdo a características sexuales	Cualitativa	Femenino Masculino	Expediente clínico
Lugar de procedencia	Municipios de Tabasco Otro Estado perteneciente a la República Mexicana	Cualitativa	Balancán, Cárdenas, Centla, Centro, Comacalco, Cunduacán, Emiliano Zapata, Huimanguillo, Jalapa, Jalpa de Mendez, Macuspana, Nacajuca, Paraíso, Tacotalpa, Teapa, Tenosique. Chiapas, Veracruz, Campeche, Yucatán, Quintana Roo, etc	Expediente clínico

j).- Recolección de datos

Se recolectaron los datos de los informes de los laboratorios clínico, los análisis citomorfológicos y los resultados de los estudios inmunológicos consignados en los expedientes clínicos de los pacientes con Leucemia, así como los reportes de cariotipo del laboratorio de Genética. Todos estos resultados se recopilaron en la hoja de recolección de datos elaborada en el programa EXCEL.

k).- Análisis estadístico

El análisis estadístico de las variables se realizó mediante el procesamiento de los datos recolectados y la obtención de porcentajes, proporciones y promedios los cuales se representaron en gráficas y tablas mediante la utilización del programa EXCEL y SPS.

l).- Consideraciones éticas

Esta investigación se ajustó a las normas de éticas internacionales, a la Ley General de Salud en materia de investigación en seres humanos y a la declaración de Helsinki, en la que se considera la beneficencia y no maleficencia de los pacientes.

Los aspectos éticos se encuentran cubiertos al no realizarse una intervención con medicamentos no aprobados, que pongan en riesgo la integridad o salud del sujeto.

Para el aspirado de médula ósea, se solicitó su consentimiento escrito previamente a la aplicación del instrumento de medición autorizado por lo padres o tutores.

VIII. RESULTADOS

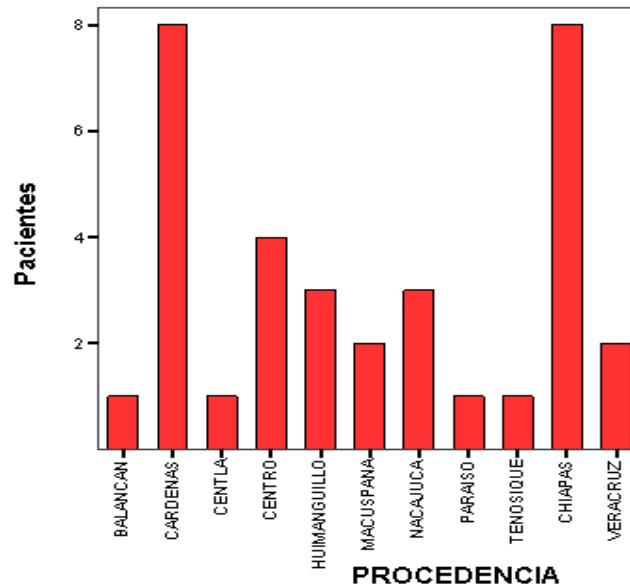
Se estudiaron un total de 34 pacientes, ingresados en el servicio de Oncología del Hospital de Alta Especialidad del Niño “Dr Rodolfo Nieto Padrón” con diagnóstico de Leucemia aguda *de novo* y sin tratamiento previo, durante el período comprendido entre el 1º octubre de 2008 y el 30 de junio de 2009. El grupo lo formaron 15 niños (44.1%) y 19 niñas (55.9%) con edades entre 9 meses y 14 años de edad (Tabla 3). El promedio de edad fue de 3 años.

Tabla 3. Distribución por sexo de los pacientes con Leucemia		
Sexo	Frecuencia	Porcentaje
F	19	55.9
M	15	44.1
Total	34	100.0

Fuente: Expedientes clínicos de los 34 pacientes con Leucemia

Veinticuatro pacientes (70.5%) fueron procedentes del Estado de Tabasco; los 10 restantes (29.4%), procedía de los Estados de Veracruz y de Chiapas. Este último Estado y el municipio de Cárdenas en Tabasco fueron los lugares de procedencia más frecuentes con 47% del total de pacientes (Gráfica 1).

Gráfica 1. Lugar de procedencia de los pacientes con Leucemia



Fuente: Expedientes clínicos de los 34 pacientes con Leucemia

A todos estos pacientes se les hizo diagnóstico clínico de Leucemia Aguda y se confirmó mediante el análisis citomorfológico. De acuerdo al tipo de Leucemia y tomando los criterios de diagnóstico citomorfológico de la FAB, se clasificaron de la siguiente manera: 30 pacientes (88.2%) fueron linfoblásticas y 4 de ellos (11.8%) como mieloblásticas (Tabla 4).

Tabla 4. Distribución del tipo de Leucemia Aguda		
Tipo	Frecuencia	Porcentaje
Linfoblástica	30	88.2
Mieloblástica	4	11.8
Total	34	100.0

Fuente: Expedientes clínicos de los 34 pacientes con Leucemia.

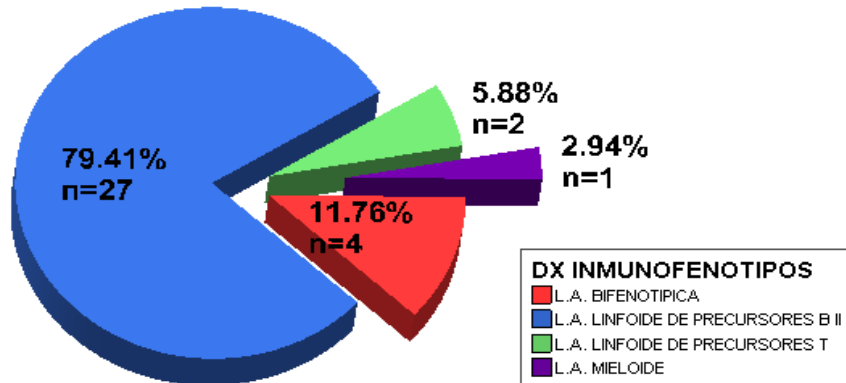
Dentro de las leucemias agudas linfoblásticas, los subtipos morfológicos fueron los siguientes: 17 pacientes (50% del total de la muestra) fueron subtipo L1, 11 pacientes (32.4%) L2 y sólo 2 de tipo L3 (5.9%). Por su parte, de las Leucemias Agudas Mieloblásticas: 2 pacientes resultaron ser subtipo M1 (5.9%). Los 2 pacientes restantes fueron 1 de M3 y 1 de M4 (Tabla 5).

Tabla 5.- Subtipo de Leucemia Linfoblástica y Mieloblástica		
Subtipo	Frecuencia	Porcentaje
L1	17	50.0
L2	11	32.4
L3	2	5.9
M1	2	5.9
M3	1	2.9
M4	1	2.9
Total	34	100.0

Fuente: Expedientes clínicos de los 34 pacientes con Leucemia Aguda.

Considerando la clasificación por inmunofenotipos, la distribución de la muestra estudiada fue la siguiente en orden decreciente: de precursores B en 79.41% de la muestra, bifenotípica en 11.76%, de precursores T en 5.88% y un 2.94% como mieloide (Gráfica 2).

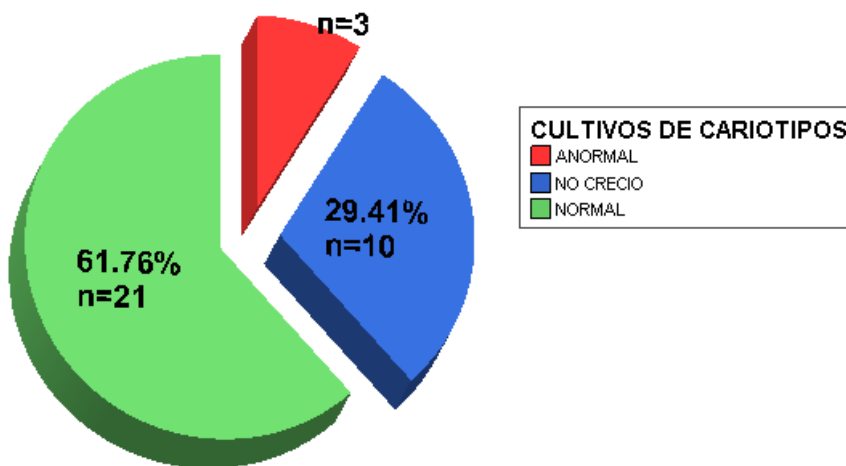
Gráfica 2. Distribución de las Leucemias de acuerdo al inmunofenotipo



Fuente: Expedientes clínicos de los 34 pacientes con Leucemia.

En cuanto al cariotipo, sólo se obtuvieron resultados en 24 de los 34 cultivos de los pacientes, (70.6%), debido a que el 29.4% se reportó sin crecimiento (Gráfica 3).

Gráfica 3. Distribución de los resultados de los cultivos de cariotipos de los pacientes con Leucemia.



Fuente: Reportes de cariotipo de los 34 pacientes con Leucemia.

En 3 pacientes (12.6%) de esos 24, se encontraron alteraciones cromosómicas mediante citogenética convencional, lo que corresponde a 8.8% del total de pacientes. Éstas fueron: deleciones y una translocación. En la tabla 6, se detallan las alteraciones de los esos 3 pacientes y más abajo (tabla 7) se puede observar la asociación entre el subtipo de Leucemia de acuerdo a la clasificación citomorfológica de la FAB, al inmunofenotipo y su dotación cromosómica.

Tabla 6.- Distribución de resultados de los cariotipos de los pacientes con cultivos exitosos		
Cariotipo	Frecuencia	Porcentaje
Femenino, 46 XX, Normal	12	50.0
Masculino, 46 XY, Normal	9	37.5
Masculino, 46 XY, del (18) (21q; 23q)	1	4.2
Masculino, 46 XY, +del (12)(q23;q24.3), del (19)(q13)	1	4.2
Masculino, 46 XY, t (9;15)(q11.2; p24), +del (12)(q13)	1	4.2
Total	24	100.0

Fuente: Reporte de cariotipo de los 34 pacientes con Leucemia

Todos los pacientes con alguna alteración citogenética (ver figuras de la 1 a la 4) eran portadores de Leucemia Linfoblástica, pero variaban en los subtipos, correspondiendo un paciente al subtipo L1, 1 al L2 y el último al L3. El 100% de los pacientes tenían precursores B, de acuerdo al inmunofenotipo (Tabla 7). Es de resaltar el hecho de que en 2 de estos pacientes se presentaba más de una alteración, compartiendo 2 deleciones uno de ellos, y el otro, una deleción con una translocación.

Tabla 7. Clasificación FAB e inmunofenotipo en niños con alteraciones cromosómicas.			
Tipo	Subtipo	Inmunofenotipo	Alteración citogenética
Linfoblástica	L1	Precursores B	t (9;15)(q 11.2; p24) , +del (12)(q13)
Linfoblástica	L2	Precursores B	del (18) (21q; 23q)
Linfoblástica	L3	Precursores B	+del(12)(q23;q24.3), del (19)(q13)

Fuente: Expedientes clínicos de los 34 pacientes con Leucemia

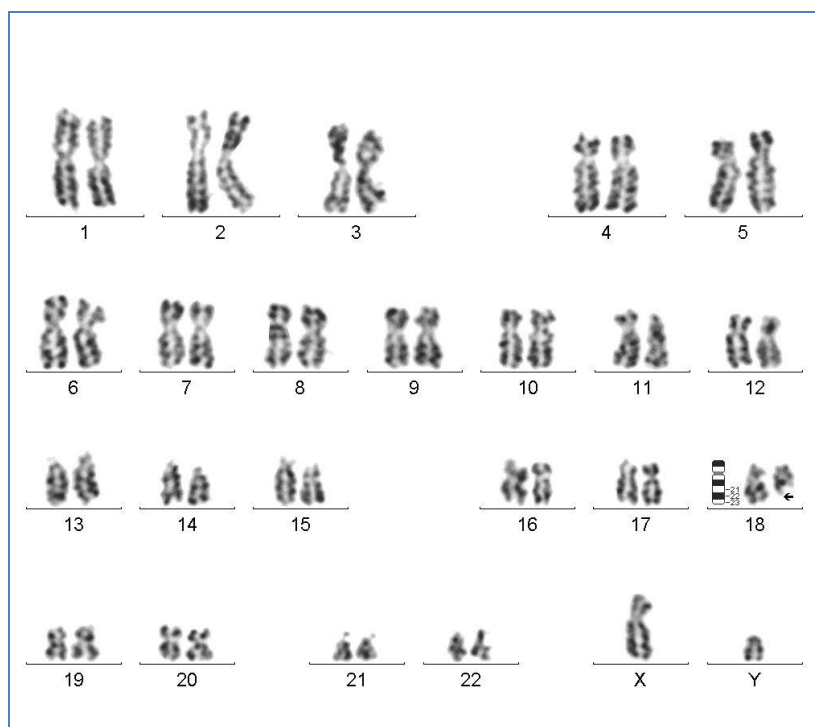


Figura 1. Paciente con cariotipo Masculino, 46 XY, del (18)(q21;q23)

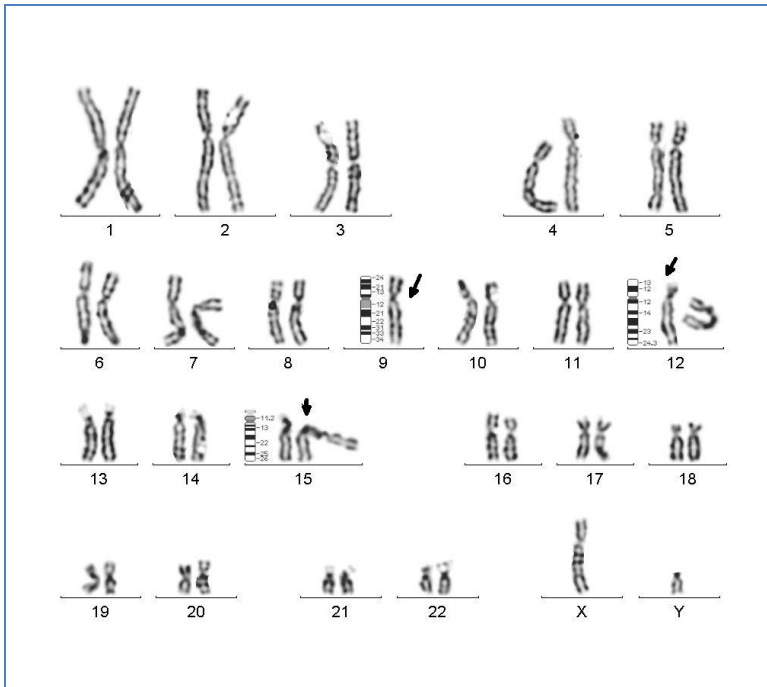
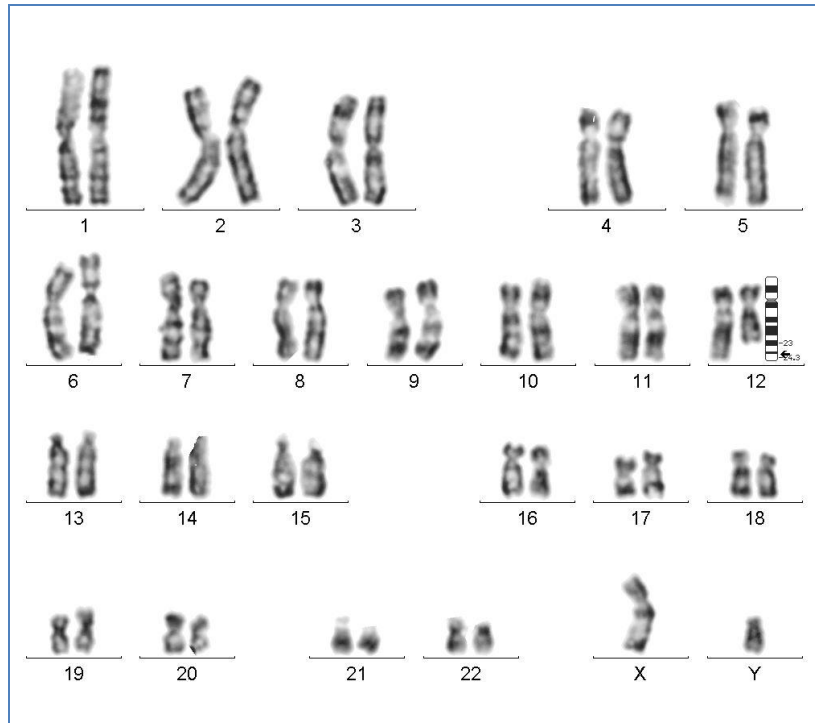
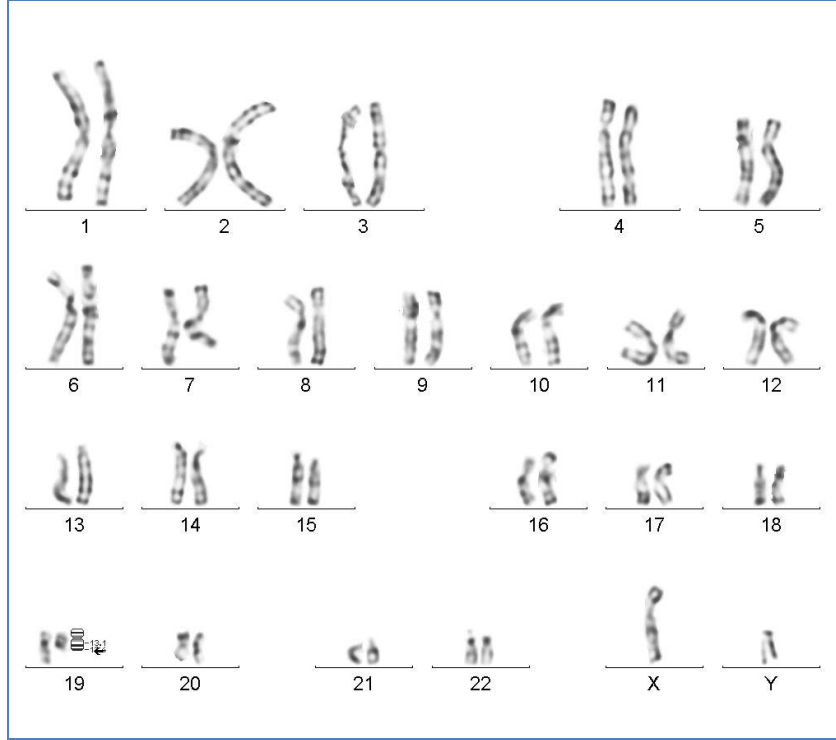


Figura 2.- Paciente con cariotipo Masculino, 46 XY, t (9; 15) (q11.2; p24), +del (12)(q13)



Figuras 3a. Paciente con cariotipo Masculino, 46 XY, a) +del (12)(q23;q24.3) del (19)(q13) en dos metafases distintas.



Figuras 3b. Paciente con cariotipo Masculino, 46 XY, a) +del (12)(q23;q24.3) y b) del (19)(q13) en dos metafases distintas.

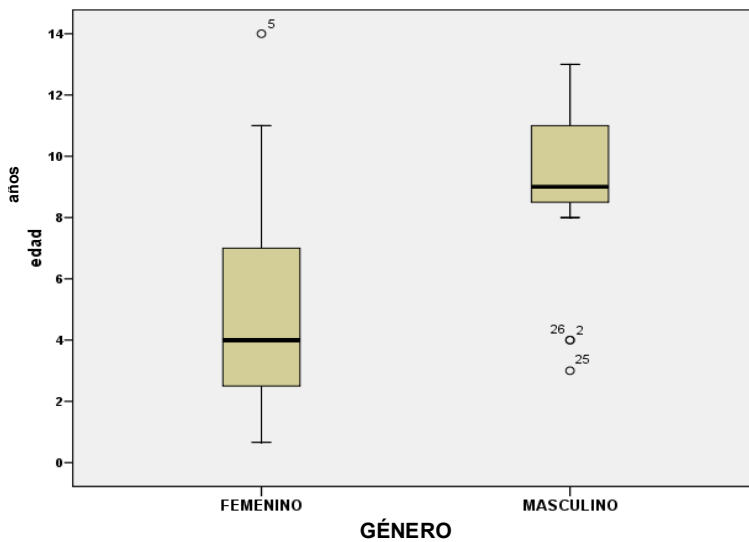
Por otra parte, todos los pacientes que presentaron alteraciones citogenéticas pertenecían al sexo masculino. El municipio de origen más frecuente de estos niños fue Cárdenas. El promedio de edad fue de 9.3 años para los pacientes con dichas alteraciones. (Tabla 8).

Tabla 8. Distribución de cariotipo patológico de acuerdo a edad, sexo y procedencia			
Edad	Sexo	Procedencia	Cariotipo
4 a	M	Cárdenas	Masculino, 46 XY, del (18) (21q; 23q)
13 a	M	Centro	Masculino, 46 XY, t (9;15)(q 11.2; p24), +del (12) (q13)
11 a	M	Cárdenas	Masculino, 46 XY, +del(12)(q23;q24.3), del (19)(q13)

Fuente: Expedientes clínicos de los 34 pacientes con Leucemia.

Cabe mencionar que dentro del análisis estadístico, se observó que la mediana de la edad de los pacientes fue de 4 años para el género femenino y de 9 años para el masculino. Cuando relacionamos el género de los pacientes con su edad, el grupo de las niñas tiende a ser más joven que el de los niños (Gráfica 4).

Gráfica 4. Distribución de género de acuerdo a la edad de los pacientes con Leucemia.

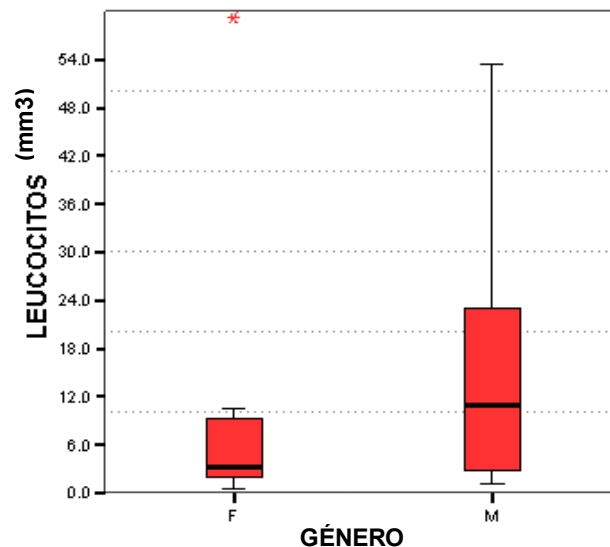


Fuente: Expedientes clínicos de los 34 pacientes con Leucemia.

En relación a la distribución de leucocitos de acuerdo al género, los varones presentaron rangos de cuenta leucocitaria más amplia que la de las niñas, con una mediana aproximada de 9000 leucocitos x mm³ en contraste con los 3000 leucocitos x mm³ para el género femenino (Gráfica 5).

Los datos dispersos extremos que se salen de la tercera desviación estándar (ver gráfica 4), no aparecen la gráfica, ya que, la escala llega hasta 54,000 mm³ (54 x 10³).

Gráfica 5. Relación entre el género y el número de leucocitos en sangre periférica de los pacientes con Leucemia



Fuente: Expedientes clínicos de los pacientes con Leucemia

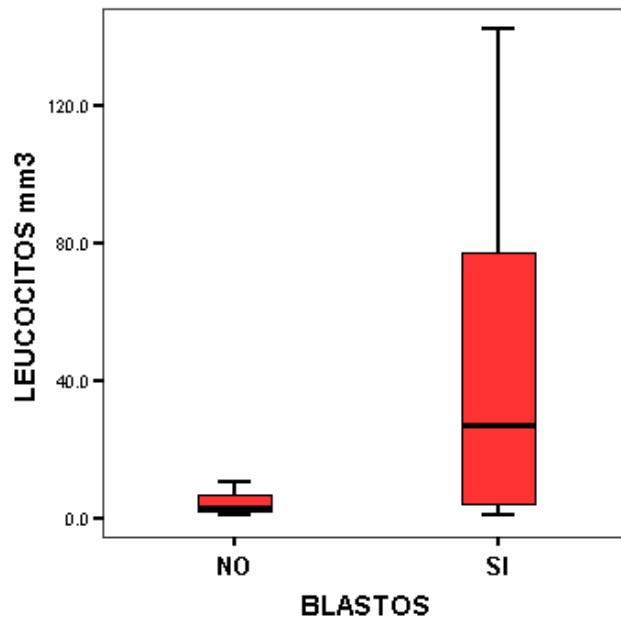
Cuando se analizó la presencia de blastos en sangre periférica de los pacientes con sospecha clínica de Leucemia Aguda, el 37.5% sí presentaba dichas células, mientras que en 40% no se encontraron y otros 9 pacientes (22.5%) no tenía reporte de diferencial debido a la leucopenia tan marcada con la que cursaban (Tabla 9).

Tabla 9- Presencia de blastos en sangre periférica al momento del diagnóstico		
Blastos	Frecuencia	Porcentaje
No	16	47%
Sí	15	44.10%
Sin diferencial	3	8.80%
Total	34	100.00%

Fuente: Expediente clínicos de los 34 pacientes con Leucemia.

La distribución de los blastos comparado con las cifras de leucocitos encontradas en los pacientes refleja que cuentas leucocitarias altas suelen asociarse más con la presencia de blastos en sangre periférica que los valores normales o bajos de aquéllos. (Gráfica 6).

Gráfica 6. Relación de la presencia de blastos con el número de leucocitos en sangre periférica.



Fuente: Expedientes clínicos de los pacientes con Leucemia

IX. DISCUSION

En la tabla 10 se resumen los resultados de los reportes de cariotipo realizados a los pacientes incluidos en este estudio, mientras que la tabla 11, expone las frecuencias de alteraciones citogenéticas de otros estudios similares realizados.

Total	Cariotipo normal	Cariotipo anormal	Cariotipo negativo	Translocación	Deleciones
34	21 (87.5%)	3 (12.5%)	10 (29.4%)	1 (2.4%)	17 (41.4%)

Fuente: Reportes de cariotipos de pacientes con Leucemia aguda

Total	Cariotipo normal	Cariotipo anormal	Cariotipo negativo	Hipodiploidía	Pseudodiploidía	Hiperdiploidía	Translocación	Otras	Autor
44	17 (41.4%)	24 (58.5%)	3 (6.8%)	1 (2.4%)		5 (12.1%)	1 (2.4%)	17 (41.4%)	Vásquez ⁴
191	54 (43.2%)	71 (56.8%)	66 (34.5%)			22 (17.6%)	15 (12%)	34 (27.2%)	Guevara ⁵
15	5 (33.3%)	10 (66.6%)	0				10 (66.6%)		Rowley ⁶
424	153 (43.2%)	201 (56.7%)	70 (16.5%)	16 (4.5%)	124 (35%)	61 (17.2%)	180/201* (50.8%)		Schneider ⁷
1965	571 (42.6%)	768 (57.3%)	626 (31.8%)	230 (17.1%)		470 (35.1%)	90/768* (6.7%)	58 (4.3%)	Forestier ⁸
177	43 (29.2%)	104 (70.7%)	30 (16.9%)			57 (38.7%)	16 (10.8%)	21 (14.2%)	Venegas ¹⁰

* Las translocaciones están incluidas en las diploidías.

Fuente: Artículos de investigación.

Desde hace varios años, a la par de los avances tecnológicos, se van realizando más estudios citogenéticos en pacientes con Leucemia Aguda en diferentes partes del mundo⁴⁻¹¹. Estos estudios han permitido conocer que existen diversas alteraciones cromosómicas en estos pacientes e, incluso, establecer un pronóstico en algunos casos, dependiendo del tipo de las mismas¹⁷.

En México han sido pocos los estudios de alteraciones citogenéticas efectuados en pacientes con Leucemia Aguda y, generalmente, abarcan tanto población pediátrica como adulta¹¹. En el Estado de Tabasco no existen reportes a este respecto.

En el grupo de estudio predominó el sexo femenino sobre el masculino, aunque en la literatura se comenta lo contrario¹³. No obstante, todos los pacientes en quienes se detectaron las anomalías correspondieron al sexo masculino (100%) y de estos, 66.6% procedía de Cárdenas, siendo la edad promedio 9.3 años.

Resaltando el hecho de que los pacientes del género femenino de nuestra muestra tienen una tendencia a ser más jóvenes al momento del diagnóstico si se les compara con los del sexo masculino. Hay que comentar también que el género masculino se ha identificado como un factor pronóstico desfavorable y que su predominancia se da después del primer año de vida, ya que, antes de esta edad el predominio es del sexo femenino^{4, 17}.

Se incluyeron únicamente pacientes en edad pediátrica donde el porcentaje de Leucemia Linfoblástica aguda (LAL) es mayor con 88.2%, lo cual coincide con los reportes mundiales de la predominancia de la LAL a esta edad¹³. Por otra parte, la mayor parte de los estudios analizados incluían a niños con reporte de LAL^{4,8,10}, mientras que en el presente también introdujo a aquellos niños con diagnóstico citomorfológico e inmunológico de Leucemia Mieloblástica Aguda.

El análisis de las 34 muestras analizadas, mostró cultivos exitosos en el 70.6%, mientras que el 29.4% se reportaron sin crecimiento. Éste porcentaje se encuentra dentro del rango de cultivos no exitosos reportados por otros autores^{4,5,7-10}, los cuales oscilan entre 6.8%⁴ y 34.5%⁵. Un estudio no reportó cariotipos negativos⁶, sin embargo, no se utilizó la citogenética convencional sino un análisis espectral.

El porcentaje de cariotipos normales fue de 87.5%, lo cual resulta mayor a lo publicado en otras literaturas⁴⁻¹¹. Los estudios revisados mencionan porcentajes menores que van desde 29%⁴ hasta 43.2%^{5,7}. En contraparte, el porcentaje de cariotipos anormales es menor en nuestro estudio comparado con otras series que reportaron hasta 71%¹⁰. En dicha muestra sólo se incluyó a pacientes con LAL de precursores B.

Ahora bien, el número de pacientes incluidos en el presente trabajo fue menor a lo que otros autores reportaron^{4,5,7,8,10}, no obstante, el tiempo de estudio de esos grupos también fue mayor, llegándose a incluir hasta 1965 pacientes en el realizado en países nórdicos durante el transcurso de 11 años⁸.

Se identificó la presencia de deleciones como alteración más frecuente, lo que no coincide con otros estudios similares donde las alteraciones más comunes correspondieron a translocaciones^{6,7} e hiperdiploidías^{4,5,10}.

De hecho, en nuestra muestra sólo se observó una translocación la cual involucraba a los cromosomas 9 y 15; no se encontró en la literatura analizada reporte previo de dicha translocación. Asimismo, ninguna de las deleciones había sido reportada en otras series, aunque sí se han encontrado anomalías en otras regiones de los cromosomas involucrados (12, 18 y 19).

Lo descrito en párrafos previos nos permite notar una gran diferencia respecto a la frecuencia y tipo de alteraciones cromosómicas entre pacientes originarios de Tabasco y Estados circunvecinos y poblaciones de otros Estados y países, y considerar que la participación de estas alteraciones como factor predisponente en el desarrollo de Leucemia no sería tan evidente en nuestra población como en aquellas, lo que pondría en la mira el análisis de los factores de índole ambiental, o bien, considerar la existencia de alteraciones más sutiles a nivel de genes, que requeriría la realización de estudios con técnicas más vanguardistas y a las que no tenemos accesibilidad por el momento. Lo cual, en ambos casos, queda fuera de los objetivos de este estudio.

Es importante comentar que a dos de los tres pacientes con cariotipos anormales (66.6%) se les encontraron 2 alteraciones en distintas o en la misma metafase. Uno de ellos compartía la translocación arriba mencionada y una deleción, el otro compartía dos deleciones en metafases distintas. Esto no es algo nuevo y ya son varios los reportes de casos con más de una alteración encontrada.

Cabe mencionar que nuestro grupo incluyó a un paciente clínicamente con Síndrome de Down y portador de Leucemia catalogada inmunofenotípicamente como bifenotípica, cuyo cultivo de muestra para cariotipo no creció imposibilitándose su repetición debido a su fallecimiento.

Todos los pacientes que presentaron alteraciones citogenéticas correspondían a Leucemias Linfoblásticas de precursores B (clasificación inmunológica), el cual es el grupo más numeroso de pacientes (79.41%) en este estudio, coincidiendo con lo reportado mundialmente donde la LAL de precursores B predomina y, por tanto, es más común encontrar alteraciones cromosómicas en ellos¹⁰.

Sin embargo, no hubo asociación con el subtipo morfológico de Leucemia de acuerdo a la clasificación FAB, ya que, la distribución fue equitativa para los subtipos L1, L2 y L3 con un paciente en cada caso. Lo anterior a pesar de que el subtipo L1 predomina abarcando un 44.1% de los pacientes con Leucemia Aguda. Lo mismo se había reportado previamente en otra serie⁴, donde 79.5% de los pacientes correspondían al subtipo L1.

Otro hallazgo encontrado fue la asociación entre el número de leucocitos al momento del ingreso y la presencia de blastos; en general fue más común hallarlos en pacientes con cifras leucocitarias más altas y del sexo masculino. En este punto hay que argumentar que la cuenta leucocitaria al momento del diagnóstico es un factor pronóstico ya reconocido¹⁸, al igual que el sexo, y la presencia de los blastos estaría en relación a la mayor carga leucémica del paciente.

X. CONCLUSIONES

La Leucemia Aguda Linfoblástica subtipo L1, para la clasificación citomorfológica de la FAB, y de precursores B, para la clasificación inmunológica, fue la más común tanto en el grupo de estudio como en el resto de la bibliografía consultada.

Las alteraciones citogenéticas detectadas se asociaron a pacientes con Leucemia Linfoblástica de precursores B.

No se existió relación entre el subtipo de Leucemia más común , L1, y las alteraciones cromosómicas reportadas..

Se observó una relación entre el género masculino y el desarrollo de alguna anomalía cromosómica en los pacientes con Leucemia, de manera que el 100% eran del género masculino.

El lugar de procedencia más frecuente de los pacientes con alteración citogenética fue el municipio de Cárdenas Tabasco.

La frecuencia de alteraciones cromosómicas en las Leucemias Agudas difiere entre los laboratorios de citogenética, entre países y regiones geográficas, siendo amplia la variabilidad encontrada en los diferentes estudios consultados.

En este estudio, las alteraciones citogenéticas encontradas no coincidieron con las reportadas en la literatura mundial y se observaron con menor frecuencia que en otros estudios.

XI. PROPUESTA

El diagnóstico de Leucemia conlleva el lograr una clasificación lo más integral posible que abarque aspectos morfológicos, inmunológicos y cromosómicos con la finalidad de aportar una mejor orientación del pronóstico de un determinado paciente cuando se inicia la quimioterapia. Tener todas las herramientas posibles que nos permitan prever una buena o mala respuesta permitirá adelantarnos a resultados destinados a ser desalentadores y modificarlos quizá mediante un tratamiento más selectivo. Tendría entonces una acepción interesante y válida que el reporte de cariotipo sea parte del protocolo de clasificación de los pacientes con Leucemia Aguda, sobre todo, la Linfoblástica de precursores B que ingresen a nuestra institución.

XII. BIBLIOGRAFIA

- 1 García JL, Hernández JM, Gutiérrez NC, Fernández P, Ríos A. *La citogenética en el estudio de las hemopatías malignas*. Blood 1996; 41: 289-296.
- 2 Mitelman F. *Catalog of Chromosome Aberrations in Cancer*. New York, NY:Wiley-Liss Inc 1998.
- 3 Glassman, A:B., *Chromosomal abnormalities in acute leukemias*.- Clinics in Laboratory Medicina, 2000.- 20 (1): 39-39.
- 4 Vásquez Palacio G, Ramírez Castro, JL, et. al.- *Leucemia linfoide aguda: estudio citogenético en niños atendidos en el Hospital Universitario San Vicente de Paúl Medellín en el período 1998-2001*.- IATREIA, 2002.-15 (4):217-225.
- 5 Guevara GP, Medina VV, Flores AL, Martin NN, Fraile HS. *Valor diagnóstico y pronóstico de las alteraciones cromosómicas: análisis de 479 casos*. Revista Colombiana de Cancerología 1998; 1:22-38
- 6 Rowley JD, Reshmi S, Carlson K, Roulston D. *Spectral karyotype analysis of T-cell acute leukemia*. Blood 1999; 93: 2038-2042.
- 7 Schneider NR, carroll AJ, Shuster JJ, Pullen DJ, Link MP, Borowitz BM, et al. *New recurring cytogenetic abnormalities and association of blast cell karyotypes with prognosis in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group report of 343 cases*. Blood 2000, 96 (7): 2543-49.
- 8 Forestier E, Johansson B, Gustafsson G, Borgström G, Kerndrup G, Jhannson J, et al. *Prognostic acute lymphoblastic leukemia: a Nordic series comparing two treatment periods*. Brit J Haematology 2000; 110: 147-153.
- 9 Solis, MV; de los Angeles M; Ruiz, E; et al. *Citogenética y citoquímica de pacientes con leucemia en dos hospitales neotropicales*. Rev. Biol. Trop, 2000, 48 (2-3): 707-718.
- 10 Venegas, P; Rivera, J.- *Estudios citogenéticos en niños con Leucemia Linfocítica Aguda B en Costa Rica*.- Rev biol. Trop, 2004, 52 (3): 551-558.
- 11 Sierra Martínez M, Aguilar M, Cruz RJ, et. al.- *Frecuencia de los hallazgos citogenéticos en pacientes con enfermedades hematológicas que acuden al Hospital Juárez de México*.- Rev Sal Pub y Nut, 2000; 2
- 12 Greaves, MF. - *Childhood leukaemia*.- BMJ, 2002.- 324 (7332): 283-287.

-
- 13 Esparza, SD; Sakamoto KM.- *Topics in Pediatric Leukemia: Acute Lymphoblastic Leukemia*.- Men Gen Med, 2005; 7 (1): 23.
 - 14 Belson M; Kingsley B; Holmes A.- *Risk factors for Acute Leukemia in children: a review*.- Environ Health Perspect, 2007; 115: 138-145.
 - 15 Mejía-Aranguré, JM; Ortega, MC; Fajardo, A.- *Epidemiología de las leucemias agudas en niños*.- Rev Med IMSS, 2005; 43 (4): 323-333.
 - 16 Mejía-Aranguré, JM; Bonilla, M; Lorenzana, R; et. al.- *Incidence of leukemias in children from El Salvador and Mexico City between 1996 and 2000: Population-based data*.- BMC Cancer, 2005, 5: 33-42.
 - 17 Pui CH; Schrappe, M; Ribeiro, RC; Niemeyer, CM.- *Childhood and adolescent lymphoid and myeloid leukemia*.- Hematology, 2004: 118-145.
 - 18 Rivera, R.- *La importancia de los factores pronósticos en leucemia aguda linfoblástica de la población pediátrica en un país en vías de desarrollo*.- Rev Inst Nal Cancerol Mex, 2000; 46 (4): 260-266.
 - 19 Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, Sultan C. *Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) Cooperative Group*. Br J Haematol 1976; 33 (4): 451-458.
 - 20 Margolin JF, Steuber CP, Poplack DG. *Acute lymphoblastic leukemia*. In: *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. 15th ed. 2006:538-90.
 - 21 Raimondi SC. *Current status of cytogenetic research in childhood acute lymphoblastic leukemia*. Blood 1993; 81: 2237-2250.
 - 22 Caspersson T, Zech L, Johansson C. *Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes*. Exp Cell Res 1970; 60: 315-319.
 - 23 Cheek MH, Evans WE. *Acute lymphoblastic leukaemia: a model for the pharmacogenomics of cancer therapy*. Nat Rev Cancer. 2006;6(2):117-29.
 - 24 Mitelman F. *ISCN. Guidelines for Cancer Cytogenetics. Supplement to An International System for Human Genetics Nomenclature*, ed. Basel: S. Karger, 1995.
 - 25 Pui CH. *Childhood leukemias*. N Engl J Med 1995; 332: 1618-1630.
 - 26 Harris MB, Shuster JJ, Carroll A, Look AT, Borowitz WM, Crist WM et al. *Trisomy of leukemic cell chromosomes 4 and 10 identifies children with B-*

-
- progenitor cell acute lymphoblastic leukemia with a very low risk of treatment failure.* Blood 1992; 79: 3316-3320.
- 27 Raimondi SC, Roberson PK, Pui CH, Behm FG, Rivera GK. *Hyperdiploid (47-50) acute lymphoblastic leukemia in children.* Blood 1992; 79: 3245-3247.
 - 28 Pui Ch, Carroll AJ, Raimondi SC, Land VJ, Crist WM, Shuster JJ et al. *Clinical presentation, karyotypic characterization, and treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia with a near-haploid or hypodiploid < 45 line.* Blood 1990; 75: 1170-1177.
 - 29 Pui CH, Crist WM. *Cytogenetic abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia correlates with clinical features and treatment outcome.* Leukemia and Lymphoma 1992; 7: 259-275.
 - 30 Secker-Walker LM, Lawler SD, Hardisty RM. *Prognostic implications of chromosomal findings in acute lymphoblastic leukemia at diagnosis.* Br Med J 1978; 2: 1529-1530.
 - 31 Crist WM, Carroll ALJ, Shuster JJ. *Philadelphia chromosome positive childhood acute lymphoblastic leukemia: Clinical and cytogenetic characteristics and treatment outcome: A Pediatric Oncology Group Study.* Blood 1990; 76: 489-494
 - 32 Fletcher JA, Lynch EA, Kimbal VM, Donely M, Tantravahi R, Sallan D. *Translocation t(9;22) is associated with extremely poor prognosis in intensively treated children with acute lymphoblastic leukemia.* Blood 1991; 77: 435-439.
 - 33 Harrison CJ. *The management of patients with leukemia: The role of cytogenetics in this molecular era.* Br J Haematol 2000; 108: 19-30.
 - 34 Ziemin-Van der Poel S, Mc Cabe NR, Gill HJ, Espinosa R, Patel Y, Handen A et al. *Identification of a gene, MLL, that spans the breakpoint in 11q23 translocations associated with human leukemias.* Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88: 10735- 10737.
 - 35 Smith M, Arthur D, Camitta B, Carroll AJ, Crist WM, Gaynon P. *Unifirm approach to risk classification and treatment assignment to children with acute lymphoblastic leukemia.* J Clin Oncol 1996; 14: 18-24.
 - 36 Crist WM, Carroll AJ, Shuster JJ, Behm FG, Whitehead M, Vietti TJ et al. *Poor prognosis of children with pre-B acute lymphoblastic leukemia is associated with the t(1;19)(q23,p13). A Pediatric Oncology Group Study.* Blood 1990; 8: 1380-1384.

-
- 37 Croce CM, Nowel PC. *Molecular basis of human B cell neoplasia*. Blood 1985;65:1-9.
- 38 Marco Buades J, Vizcarra Rabadán E, Sánchez Izquierdo D, Martines Climent J. *Aplicaciones de la fluorescencia con hibridación in situ (FISH) en la leucemia linfoblástica aguda*. Blood, 1999; 44: 273-281.
- 39 Oshimura M, Freeman AI, Sandberg AA. *Chromosomes and causation of human cancer and leukemia XXVI, Berding studies in acute lymphoblastic leukemia*. Cancer 1977; 40: 1161-1172
- 40 Hebert J, Cayuela JM, Berkeley J, Sigaux F. *Candidate tumor-supresor genes MTS1 (p16INK4B) and MTS2 (p15INK4B) display frequent homozygous deletions in primary cells from T-but not from B-cell lineage acute lymphoblastic leukemias*. Blood 1994; 84: 4038-4045.
- 41 Romana SP, Le Coniat M, Berger R. *t(12;21): a new recurrent translocation in acute lymphoblastic leukemia*. Genes Chromosom Cancer 1994; 9: 186-191.
- 42 Heim S, Mitelman F. *Cancer Cytogenetics*, 2.^a ed. New York: Wiley-Liss, 1995.
- 43 Rowley JD. *The role of chromosome translocations in leukemogenesis*. Semin Hematol 1999;36 Suppl. 7:59-72.
- 44 Hernández JM, Tabernero MD, García JL. *Aplicaciones de la hibridación in situ fluorescente al estudio de las neoplasias hematológicas*. Sangre 1996; 41: 305-310.
- 45 Reporte del Sistema Automatizado de Egresos Hospitalarios (SAEH) 2007.- Archivos epidemiológicos del Hospital de Alta Especialidad del Niño "Dr Rodolfo Nieto Padrón", México, 2007.

XIII. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDADES	Sep/ 2008	Oct	Nov	Dic	Ene/ 2009	Feb	Mar	Abril	May	Jun	Jul	Ago/ 2009
Elaboración de protocolo												
Revisión y Correcciones del Protocolo												
Presentación del protocolo					/							
Recolección de datos												
Procesamiento de resultados											/	
Análisis de resultados y Conclusiones											/	
Presentación del reporte final												

XIV. EXTENSION

Publicación en revistas de circulación nacional

XV. ANEXOS

i- ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
del	Delección
DHL	Deshidrogenasa láctica
EMR	Enfermedad Mínima Residual
FAB	Franco-Americana-Británica
FISH	Hibridación <i>in situ</i> fluorescente (siglas en inglés)
GTG	Bandas G Tripsina Giemsa
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
ISCN	Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenética Humana (siglas en inglés)
KCl	Cloruro de Potasio
LAL	Leucemia Aguda Linfoblástica
LAM	Leucemia Aguda Mieloblástica
p	Brazo corto de un cromosoma
Ph	Cromosoma Filadelfia
q	Brazo largo de un cromosoma
t	Translocación

ii- GLOSARIO

Aneuploidía: Estado de las células aneuploides. (Del griego an-, privación, y euploos, favorable). Dícese de las células cuyas mitosis se efectúan de manera atípica o que comportan un número anormal de cromosomas.

Blasto:(Del griego blastos, germen). Sufijo que indica una célula joven, que no ha llegado al estado de madurez: mieloblasto, linfoblasto, normoblasto.

Cariotipo: (Del griego karyon, núcleo y tipos, huella). Dotación cromosómica característica de una especie determinada.

Clona: Grupo de células o individuos pluricelulares nacidos de una misma célula o estirpe celular, absolutamente homogéneos desde el punto de vista genético.

Delección: (Del latín, deletio, destrucción). Anomalía de la meiosis consistente en la desaparición de un segmento de cromosoma. Ciertas enfermedades por aberración cromosómica son debidas a una delección.

De Novo: Expresión latina que significa desde el principio, recién,nuevo, comenzando.

Diploidía: Condición de una célula o de un organismo viviente, que consiste en poseer un juego completo de cromosomas por duplicado.

Inmunofenotipo: Es un marcador celular de superficie en médula ósea que permite identificar los antígenos de la membrana y citoplasma de los blastos.

Monosomía: En genética, monosomía es la eliminación de un cromosoma de una pareja de homólogos ($2n-1$ cromosoma).

Reacción leucemoide: Aumento considerable y transitorio del número de leucocitos sanguíneos, asociado a la presencia de células inmaduras, sin las restantes características hematológicas o clínicas propias de la Leucemia.

Translocación: Fusiones o fisiones cromosómicas, es decir, a las variaciones en el número de cromosomas que surgen por unión de dos cromosomas acrocéntricos (los de un solo brazo) en un solo cromosoma de dos brazos (metacéntrico), lo que determina una disminución del número haploide. O, por el contrario, a las que surgen por fisión o rotura de un cromosoma metacéntrico en dos cromosomas acrocéntricos, en este caso aumentando el número haploide.

Trisomía: En genética, una trisomía es la existencia de un cromosoma extra en un organismo diploide: en vez de un par homólogo de cromosomas es un triplete ($2n + 1$ cromosomas).

iii- HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

FICHA DE IDENTIFICACION

1.Nombre: _____

2.Edad: _____ 3.Fecha de nacimiento: _____

4.Género: _____ 5. Lugar de Procedencia: _____

6.Fecha de Ingreso: _____ 7.Fecha de egreso: _____

8.Fecha de toma de muestra: _____

RESULTADOS DE LABORATORIO

Biometría de ingreso:

9. Leucocitos: _____ 10. Basofilos: _____ 11. Hemoglobina: _____

12. Neutrófilos: _____ 13. Eosinófilos: _____ 14. Hematocrito: _____

15. Linfocitos: _____ 16. Monocitos: _____ 17. Eritrocitos : _____

18. Blastos: _____ 19. Bandas: _____ 20. Plaquetas: _____

Diagnóstico citomorfológico:

21. Tipo: Linfoblástica _____ Mieloblástica _____

22. Subtipo: L1 ___ L2 ___ L3 ___

M0 ___ M1 ___ M2 ___ M3 ___ M4 ___ M5 ___ M6 ___ M7 ___

Diagnóstico por inmunofenotipos:

23. Tipo: _____

Cariotipo:

iv- CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



HOSPITAL DEL NIÑO "DR. RODOLFO NIETO PADRON"

INSTITUCIÓN DE SERVICIOS MÉDICOS, ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
GOBIERNO DEL ESTADO DE TABASCO
Av. Gregorio Méndez Miguila No. 2832 Col. Temalte CP. 86150
Tel. 351-10-90 351-10-55 y fax 3 51 10 78

CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN DE PROCEDIMIENTOS DIAGNÓSTICOS Y TERAPÉUTICOS DE ALTO RIESGO

Lugar y Fecha: _____
Hora: _____
Nombre: _____ No. De Expediente: _____ Edad: _____
Identificado con: _____
Nombre del familiar responsable: _____
Identificado con: _____
Representante Legal: _____
Identificado con: _____

Por medio de la presente manifiesto haber sido informado sobre el tipo de procedimientos que se realizarán en mi persona, de sus beneficios, riesgos y complicaciones y autorizo al personal de salud de este hospital para efectuar:

Así como, para la atención de contingencias y/o urgencias, Lo anterior con fundamento en la Norma Oficial Mexicana NOM 168-SSA1- 1998 del Expediente Clínico.

Nombre y firma del paciente

Nombre y Firma del Médico Tratante
Quien se identifica con:

Nombre y Firma del Familiar Responsable

Nombre y Firma del Médico Tratante

Nombre y Firma del Testigo
Quien se identifica con:

Nombre y Firma del Testigo
Quien se identifica con:

Nota: la presente Carta será modificada de acuerdo a las Reformas de la Ley Correspondiente.

4

Dra. Daniela Covarrubias Zapata
Residente de Tercer año de Pediatría
Hospital de Alta Especialidad del Niño “Dr. Rodolfo Nieto Padrón”
Dirección: Calle Arista s/n, San Francisco, Campeche, Campeche.
Tel: 01981 8162565 Cel: 9931452876
Correo: justaboutmeow@hotmail.com