



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO O. D.

SERVICIO DE HEMATOLOGIA

Asociación entre la punción lumbar traumática durante el tratamiento de los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda y el riesgo con infiltración al Sistema Nervioso Central

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN HEMATOLOGÍA

PRESENTA:

Gilberto Israel Barranco Lampón

ASESOR:

Dr Christian Omar Ramos Peñafiel

México, Distrito Federal, Agosto del 2014.



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.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a mis padres Gil y Blanquita, que con su trabajo y ejemplo me han impulsado a cumplir mis sueños, a mi hermana Adriana que siempre me ha escuchado y dado aliento en momentos difíciles, a mis abuelos que me inspiran paz, a mis tíos y primos por compartir mis alegrías y tristezas.

A mis amigos, que han sido como una familia escogida por mi y con los cuáles he compartido momentos trascendentes en mi vida, dentro y fuera de las aulas o pasillos del hospital, Cruz, Chucho, Crispin, Atziri, Chipi, Trisha, Nalle, Andres, Yorch y especialmente a Tony y Hugo que estoy seguro que siguen aquí.

Agradezco a los primeros médicos que me enseñaron las bases de la Medicina y el respeto al paciente, especialmente a los Doctores Manuel Cano, Juan Olvera y Jaime Camacho.

A los Doctores Mario Gutiérrez y Juan Collazo por aceptarme en las filas de la Hematología, a todos los médicos del servicio, Dr. Carlos Martínez, Dr. Efreem Montaña, Dr. Humberto C. Sinco, Dra Silvia Rivas, Dra. Guadalupe León, Dra. Rozen, Dr. Kassack, Dra Gallardo, Dra. Aguilar. por sus enseñanzas y apoyo profesional.

Agradezco a mi tutor y amigo el Dr. Christian Ramos que contagia su entusiasmo, entrega y dedicación con el servicio, a todos sus residentes.

Al Hospital General de México, el Servicio de Medicina Interna y el Servicio de Hematología por ser un segundo hogar para mi.

A la Hematología y sus pacientes, que me enseñan día a día de la vida y de la muerte.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	2
1 INTRODUCCIÓN.....	4
2 MARCO DE REFERENCIA Y ANTECEDENTES.....	5
2.1 ONTOGENIA DEL LINFOCITO B	
2.2 ONTOGENIA DEL LINFOCITO T	
2.3 RELACIÓN ENTRE LAS CÉLULAS NEOPLASIAS DE CÉLULLAS B Y EL DESA- ROLLO DE LOS SUBTIPOS Y ETAPAS DE DIFERENCIACIÓN B.	
2.4 CLASIFICACIÓN DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA	
2.5 FACTORES PRONÓSTICOS	
2.6 ¿CÓMO ES QUE LLEGAN LOS BLASTOS AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL?	
3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	28
4 JUSTIFICACIÓN.....	29
5 OBJETIVO GENERAL.....	29
6 OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	29
7 HIPÓTESIS.....	29
8 METODOLOGÍA.....	30
8.1 TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO	
8.2 POBLACIÓN Y TAMAÑO DE LA MUESTRA	
8.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN	
8.4 VARIABLES	
8.5 PROCEDIMIENTO	
8.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	
9 RESULTADOS.....	33
10 CONCLUSIONES.....	36
11 DISCUSIÓN.....	37
12 ANEXOS.....	38
13 REFERENCIAS.....	39

"Asociación entre la punción lumbar traumática durante el tratamiento de los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda y el riesgo con infiltración al Sistema Nervioso Central"

1 INTRODUCCIÓN

La Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) se refiere a un grupo de enfermedades resultantes de la proliferación monoclonal de blastos linfoides en médula ósea, sangre y otros órganos.

La recaída al Sistema Nervioso Central (SNC) continua siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad y puede ocurrir entre el 3 -6% de los pacientes con LLA.

Se han asociado algunos factores de riesgo con una mayor incidencia de infiltración al SNC ya sea al inicio de la enfermedad o en una recaída; las anomalías genéticas de mal pronóstico (t(9;22) y los rearrreglos MLL), una leucemia con linaje T, cuenta celular alta, presencia de blastos en el líquido cefalorraquídeo (LCR) que pueden aparecer de manera espontánea o secundaria a punciones lumbares traumáticas. En algunos estudios se ha observado una correlación entre una punción lumbar traumática el riesgo de infiltración leucémica al sistema Nervioso Central, por lo tanto es importante realizar estudios que esclarezcan esta relación. El objetivo principal de este estudio es correlacionar la presencia de una o más punciones lumbares traumáticas durante el tratamiento de los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda y su riesgo con infiltración leucémica al Sistema Nervioso Central. La hipótesis es que aquellos pacientes en los que identifique en su historial una o más punciones lumbares traumáticas tuvieron un mayor riesgo de infiltración leucémica al Sistema Nervioso Central. Dentro de la metodología se revisaron archivos históricos de pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda tratados en el Hospital General de México y a los cuales como parte de su protocolo de tratamiento, se les haya realizado punción lumbar con aplicación de quimioterapia intratecal como profilaxis para disminuir el riesgo de infiltración leucémica al Sistema Nervioso Central. Posteriormente se realizó el análisis retrospectivo para evaluar si aquellos pacientes que tuvieron al menos una punción lumbar traumática tuvieron mayor riesgo de infiltración leucémica a Sistema Nervioso Central.

Palabras clave: Leucemia Linfoblástica, Sistema Nervioso Central.

2 MARCO DE REFERENCIA Y ANTECEDENTES

La Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) se refiere a un grupo de enfermedades resultantes de la proliferación monoclonal de blastos linfoides en médula ósea, sangre y otros órganos.

Las células neoplásicas típicamente son de pequeño a mediano tamaño con escaso citoplasma, cromatina diversa con algunos nucléolos. Cuando la enfermedad envuelve alguna región ganglionar, sin o con mínima invasión de la médula ósea se usa el término de linfoma. Para muchos protocolos de tratamiento, el punto de corte para definir la entidad como leucemia es de 25% de blastos en médula ósea. En contraste con las leucemias mieloides, no existe un límite menor de porcentaje de blastos en médula ósea para establecer el diagnóstico, sin embargo éste debe ser evitado cuando el porcentaje de blastos es menor a 20%⁽¹⁾.

En estados Unidos un estimado de 6000 casos nuevos son diagnosticados anualmente, con una relación hombre: mujer de 1.3:1⁽²⁾. La mayoría de los casos de LLA ocurren en niños, con una incidencia de 3 a 4 casos por 100 000 habitantes en pacientes de 0 a 14 años y de menos de 1 caso por 100 000 habitantes en personas mayores de 15 años con un pico de incidencia a las edades de 2 a 5 años ⁽³⁾ y también puede producirse un pequeño pico después de los 50 años de edad ⁽⁴⁾. La incidencia en México es de 5 casos por 100 000 habitantes ⁽⁵⁾.

Los eventos patológicos precisos que conllevan al desarrollo de la LLA son hasta el momento desconocidos. En algunos casos (<5%) se asocian con síndromes genéticos hereditarios como Síndrome de Down, Síndrome de Bloom, ataxia-telangiectasia, por mencionar algunos ⁽⁶⁾. Sin embargo se puede considerar a la LLA como una enfermedad genética, ya que la mayoría de los pacientes adquieren alteraciones genéticas (mutaciones somáticas) que contribuyen a incrementar la proliferación, supervivencia prolongada o alteración de la diferenciación de los progenitores hematopoyéticos linfoides ⁽⁷⁾. Se ha reportado también relación entre la exposición a ciertos factores como radiación ionizante, pesticidas y solventes y el riesgo mayor a desarrollar LLA⁽⁸⁾.

Para entender mejor la enfermedad es necesario conocer las principales características del tejido linfoide.

Se han identificado dos principales formas de tejido linfoide: central (primario) y periférico (secundario). El tejido linfoide primario se compone de la médula ósea y el timo. La médula ósea es el sitio donde las células B emergen de manera primaria y se diferencian en células B maduras; el Timo es donde las células T prematuras se diferencian en células T maduras. Estas células B o T maduras migran a los tejidos linfoides periféricos, sangre, bazo, linfonodos y el tejido linfoide asociado a mucosas (MALT). ⁽⁹⁾

2.1 ONTOGENIA LINFOCITO B

Las células pluripotenciales dan origen a linajes hematopoyéticos incluyendo linfocitos B y T. Estas células sufren una división asimétrica, como resultado una célula hija sigue una vía de diferenciación mientras la otra permanece como una célula progenitora que se autorrenueva. Las células progenitoras localizadas en el microambiente tímico, desarrollan células T, mientras que aquellas en contacto con la médula ósea desarrollan linfocitos B o células mieloides.

El desarrollo de la célula B puede ser dividido en dos periodos; el primero, de célula progenitora inmadura a célula B inmadura Ig M+ antígeno independiente; el segundo, de célula B inmadura a célula plasmática, antígeno dependiente. El primer periodo a su vez puede subdividirse en 2 etapas, de célula progenitora a progenitora B (pro-B), y de pro-B a célula B Ig+. ⁽⁹⁾

EL desarrollo normal de la linfopoyesis depende de la familia de factores de transcripción IKAROS, la cual regula selectivamente el desarrollo de los linfocitos. IKAROS es un factor de transcripción de tipo dedos de zinc expresado en las células B y T en diferentes estados de diferenciación (excepto células plasmáticas). IKAROS genera 8 diferentes isoformas de una proteína por splicing alternativo y algunas de ellas se ligan a través de un dedo de zinc N- terminal a una secuencia de DNA que contiene núcleos de GGGA. Los ratones Ikaros -/- tienen una carencia de desarrollo de células B, con pérdida de las células pro-B y pre-B. IKAROS se localiza en el núcleo de las stem cells más primitivas, particularmente en dos etapas: a) long-term self-renewing stem cells y b) non-self renewing multipotent progenitors, capaces de diferenciarse en progenitores confinados a linaje linfóide. Ikaros regula la expresión genética reclutando complejos represores, o lo que se conoce como máquinas remodeladoras de cromatina. Ikaros también se necesita para el mantenimiento de las células B regulando la señalización del BCR. LE factor de transcripción PU.1 actúa al nivel multipotente de progenitores mieloides/linfoides. La expresión de PU.1 mantiene un pool de progenitores hematopoyéticos apoyando la generación de los progenitores linfoides y mieloides más tempranos. Regula el desarrollo de la célula B temprana por la activación del gen IL7-Ra conduciéndolas a la diferenciación adecuada hacia el estadio pro-B. Entre las 3 principales poblaciones de células B: B1, B2 (folicular) y células B de la zona marginal, PV-1 dirige la diferenciación a través de la subpoblación B2. PV-1 favorece la actividad de otros factores de transcripción por ejemplo el factor regulador del interferón. El gen E2A es altamente importante para la diferenciación del linfocito. Codifica dos proteínas, E12 y E47. Las proteínas codificadas por E2A se unen al DNA como homodímero únicamente en las células B y son esenciales para la coordinación de los rearrreglos del gen de la Ig, por lo tanto, en su ausencia, la diferenciación de la célula B se bloquea antes de entrar al estado pro-B.

La región básica media la unión al DNA, mientras que el dominio HLH se requiere para la dimerización de proteínas. Los genes blanco para E12 son el Factor de Célula B temprana (EBF) y Pax-5. E 12 actúa sobre las células progenitoras dirigiendo la diferenciación entre el linaje B, bloqueando la diferenciación mieloide. ⁽⁹⁾

Otro gen importante para el desarrollo linfoide es PAX-5, el cual tiene múltiples isoformas generadas por splicing alternativo, una de ellas conocida como la proteína activadora específica de linaje B (BSAP). Pax-5 es expresada exclusivamente desde el estado pro-B al estado de célula B madura, pero no en las células plasmáticas. Los genes blanco para BSAP son C19, VpreB1, lambda5, y varios sitios de intrones del gen CH. Pax-5 se necesita para el rearreglo del gen de la V(D)J de la cadena pesada de Inmunoglobulina y el preciso bloqueo después del primer rearreglo DJH. Como resultado, la mutación de Pax-5, no bloquea la inducción a la recombinación per se, y permite que se forme una población significativa de población de células pro-B. El blanco de BSAP, es la proteína adaptadora BLNK (B-cell linker protein (SLP-65) la cual actúa como un andamio en la unión de la cinasa de tirosina SYK con la proteínas reguladoras (ej PLCgamma2, cinasa de tirosina de Bruton, etc.). BSAP regula la expresión de los genes BLNK como checkpoint en la transición pro-B a pre-B y media las señales constitutivas de el receptor de célula pre-B (pre-BCR) en la proliferación celular, respuesta a los factores de crecimiento y la recombinación V(D)J. BSAP también tiene la capacidad de suprimir la respuesta de los progenitores a los factores de crecimiento mieloides. ⁽⁹⁾

El factor temprano de célula B (EBF) es un factor de transcripción esencial para el desarrollo temprano del linfocito B en la regulación de la expresión de los correceptores Iga (mb-1) e IgBeta (B29). EBF activa la transcripción de genes específicos de célula B e inicia eventos necesarios como activación de genes y otros reguladores de transcripción (ej Pax-5) que dirigen los estadios tempranos de la linfopoyesis de la célula B. Las mutaciones en E2A y EBF combinadas arrestan el desarrollo de la célula B en un estadio más temprano que el de PAX-5 porque la expresión de la recombinación está bloqueada, no hay expresión de los genes pre-BCR, lambda5 y VpreB y por lo tanto no hay formación de pre-BCR. Los factores de transcripción Pax5, E2A y EBF forman una red de regulación cruzada: E2A es esencial para la expresión de Pax-5 y la expresión normal de EBF, mientras que EBF se necesita para la expresión de Pax-5 y E47, el cual es un producto del gen E2A, el regulador más potente de la célula B. ⁽⁹⁾

De manera conjunta los blancos de IKAROS son los genes de los factores de transcripción E2A, PU.1, EBF y Pax-5, los cuales regulan etapas de la diferenciación de la célula B antes de la expresión de los genes de Ig. E2A juega otro papel importante en otras etapas del desarrollo subsecuentes, por ejemplo, las proteínas E2A se requieren para la expansión de células pro-B dependiente de IL-7 y su

progresión al estadio pre-B, en incluso después, para la regulación de los rearrreglos de los genes Ig kappa y el cambio de isotipo de la cadena pesada. (9)

Diferenciación de la célula B.

Las células B se desarrollan de las células progenitoras hematopoyéticas usualmente localizadas en la médula ósea. El primer precursor de la célula B identificado es el progenitor de célula B o pro-B. La célula pro-B expresa algunos antígenos característicos (CD19, Cd79a, BSAP, CD34, CD10, TdT) e inicia el rearrreglo del locus del gen de la Inmunoglobulina. El siguiente precursor de célula B es la célula pre-B, en la cual, la recombinación de los genes VDJ de la cadena pesada están completados, resultando en la expresión citoplasmática de la cadena pesada mu (u). El rearrreglo subsecuente del gen de la cadena ligera de Ig(IgL) lleva a la expresión de una molécula IgM completa formada de dos cadenas u (mu) y dos cadenas ligeras, la cual se expresa en la superficie celular y sirve como su receptor para antígenos, este tercer precursor se denomina célula B inmadura, la cual da lugar a una célula B madura virgen, que como resultado de un splicing alternativo del mRNA IgH expresa tanto IgD como IgM. En contraste con las células B inmaduras, la célula B madura virgen, tiene la capacidad de responder a la unión a un antígeno externo proliferando y diferenciándose en células B de memoria y células plasmáticas. Los marcadores específicos para los estadios de desarrollo temprano son Cd34 y TdT (desoxirribonucleotidil transferasa terminal). Debido a que no son específicos de linaje, se pueden aplicar en conjunto con los marcadores de linaje B o T para determinar el origen de la célula enferma. TdT tiene una función importante al insertar N-segmentos entre la región variable (V), la región de Diversidad (D) y la región de unión (J) durante la recombinación de estos genes. Cuando el proceso de recombinación está completo, el gen TdT se apaga por lo tanto es negativo en todas aquellas células B post-precursoras (periféricas o maduras).⁽¹⁰⁾

Células B maduras periféricas.

Las células B maduras vírgenes circulan en sangre periférica y los órganos linfoides periféricos como células B pequeñas IgM+D+, donde forman folículos primarios de células B en asociación con las FDC (células dendríticas foliculares). Existe evidencia que sugiere que estas maduras (post-médula ósea) células B vírgenes no son homogéneas y probablemente se componen de tres subclases:

- Subclase recirculante que expresa CD23 y no receptores de Ig no auto-antígeno-reactivos.
- Subclase recirculante que expresa CD23 y poca afinidad autorreactiva a los receptores Ig, también conocidas como células B1.
- Células B vírgenes sésiles carentes de CD23 y que expresan no auto-antígeno- reactividad a receptores Ig.

Después de encontrarse con un antígeno, las células vírgenes B maduras parecen moverse dentro de la zona de células T de los tejidos linfoides, donde se transforman en grandes blastos B y proliferan. Las células hijas entonces se diferencian en células de vida corta, células plasmáticas productoras de IgM, o células B que adquieren la capacidad de iniciar una reacción en el centro germinal. Estas células B se mueven dentro de los folículos primarios donde proliferan y se diferencian en centroblastos para formar un centro germinal temprano. Las células B vírgenes no estimuladas por un antígeno del folículo primario, son empujadas hacia afuera en consecuencia hacia la zona del manto. Este folículo que contiene un centro germinal y un manto, se conoce como folículo secundario. ⁽¹⁰⁾

La reacción del centro germinal.

Las células B tempranas del centro germinal, rápidamente proliferan en blastos B, que usualmente son llamados centroblastos, éstos se diferencian posteriormente en centrocitos, los cuales se reúnen en uno de los extremos del folículo. Esto lleva a la formación de dos zonas dentro del centro germinal: una “zona oscura”, compuesta de centroblastos, y una “zona clara” que contiene principalmente centrocitos. Los centroblastos y los centrocitos difieren de las células B maduras vírgenes en su inmunofenotipo y sensibilidad a apoptosis:

- (1) Expresan CD10 y BCL6.
- (2) Favorecen la expresión de factores de transcripción Oct2 y BOB.1.
- (3) Disminuyen o inhiben la expresión de receptores Ig de membrana.
- (4) Inhiben la expresión de la proteína anti-apoptosis BCL2.

La apoptosis de las células B del centro germinal puede prevenirse sólo por señales de supervivencia otorgadas por las FDC y las células T.

Células Dendríticas foliculares (FDC). La formación de los centros germinales está ligada a un incremento en las FDC las cuales extienden procesos celulares desde una densa red que es particularmente alta en la zona clara. Los procesos celulares de las FDC no pueden identificarse con tinciones convencionales y su visualización requiere inmunohistoquímica con CD21 o CD35; la FDC de la zona clara también expresa CD23.

Una función principal de las FDC es la presentación de antígenos no procesados, lo cual sirve en la selección de las células B del centro germinal por antígeno. El antígeno que provoca la respuesta inmune, primero favorece la generación de células plasmáticas de vida corta que producen anticuerpos de baja afinidad tipo IgM. Estos anticuerpos IgM se unen a el antígeno y forman complejos antígeno-anticuerpo que activan el complemento y fijan C3b y C3d. Los complejos antígeno-anticuerpo-complemento son capturados por las FDC vía sus receptores C3b y C3d y posteriormente son presentados a las células B del centro germinal. ⁽¹⁰⁾

Selección por antígeno e hipermutación.

La meta principal de la reacción del centro germinal es la generación de células B productoras de inmunoglobulinas con gran afinidad por los antígenos que provocarán una respuesta inmune.

Para incrementar la afinidad a los receptores de Ig sobre las células B que se multiplican en el centro germinal, se insertan mutaciones en el gen de IgV. Debido a que este proceso es parcialmente aleatorizado, la mayoría de estas mutaciones no incrementan o disminuyen la afinidad de los receptores de Ig o incluso causan un cese en la expresión de Ig a través de codones de stop. Los centrocitos con estas desfavorables mutaciones, no se unen con gran afinidad a los antígenos presentados por las FDC y por lo tanto no reciben señales de supervivencia. De hecho más del 90% de los centrocitos mueren como resultado de apoptosis. Estas células son fagocitadas por los ahora llamados macrófagos en cielo estrellado.

Este proceso de selección se hace más eficiente por la disminución del receptor de Ig expresada en la superficie de las células B del centro germinal. Los pocos centrocitos cuya mutación resultó en un receptor Ig de membrana con alta afinidad para el antígeno presentado por las FDC se unirá al antígeno y recibirá señales de supervivencia de la FDC (SELECCIÓN POSITIVA).

La presencia de mutaciones en la región IgV es actualmente considerada como marcador de que las células se han expuesto al centro germinal. La presencia de mutaciones en curso (ongoing mutations), variaciones en el patrón de mutación entre las clonas de células B del centro germinal es característica de células que permanecen en estado de centro germinal. ⁽¹⁰⁾

Edición del receptor.

La especificidad del receptor Ig de las células B del centro germinal, puede ser modificad por un proceso llamado "Edición del receptor". En este proceso el rearreglo original del segmento del gen Ig, usualmente IgL, se reemplaza por otro segmento VL.⁽¹⁰⁾

Cambio de clase.

El proceso de maduración de la afinidad se asocia con el cambio de clase de cadena pesada de IgM a IgG, IgA o menos comúnmente a IgE. Las células que tienen un cambio de clase de Ig son aquellas que preferentemente maduran a células plasmáticas. ⁽¹⁰⁾

Células B post-centro germinal.

Los centrocitos que sobreviven al centro germinal maduran en células plasmáticas de vida larga o en células B de memoria. ⁽¹⁰⁾

Células plasmáticas.

La diferenciación de las células plasmáticas comienza en la zona clara del centro germinal. Esto puede ser evidenciado por inmuno-tinciones para el marcador VS38c y el factor de transcripción nuclear MUM1/IRF4. Esta diferenciación plasmocelular se completa con la migración de las células B fuera del centro germinal. Las células plasmáticas de vida larga habitan predominantemente médula ósea y órganos que están expuestos directamente a antígenos extraños, por ejemplo el tracto gastrointestinal y el pulmón.

La diferenciación plasmocelular se asocia con pérdida y ganancia de moléculas. Las moléculas que se pierden son los antígenos de células B (ej. CD19, CD20, CD22, BSAP) y la Ig de superficie. Las moléculas que se ganan son el factor de transcripción MUM1/IRF4, el antígeno asociado al retículo endoplásmico rugoso VS38c, la molécula de adhesión CD 138 y CD38. La síntesis de Ig de superficie disminuye mientras que la producción de Ig destinada a secretarse aumenta, esta Ig se acumula en grandes cantidades en el citoplasma donde es fácilmente detectable por inmunohistoquímica. ⁽¹⁰⁾

Células B de memoria (células B de la zona marginal).

No está muy claro aún si la diferenciación de las células B de memoria comienza también dentro del centro germinal, esto se debe a la falta de disponibilidad de marcadores moleculares que tiñan de manera selectiva esta subpoblación celular. El conocimiento actual de las células B de memoria que ayuda a distinguirlas de otras poblaciones de células B son:

- Fuerte expresión de IgM.
- Nada o muy pequeña expresión de IgD.
- Expresión de CD27.
- Mutaciones somáticas dentro del gen IgV sin signos de mutaciones en curso (ongoing).
- Localización preferente en la zona marginal. ⁽¹⁰⁾

2.2 ONTOGENIA DEL LINFOCITO T

Las células T provienen de una célula progenitora hematopoyética. Las células progenitoras de los linfocitos T migran desde la médula ósea hacia el timo, donde tiene lugar todo el proceso de maduración, generando células que expresan TCR y CD4 o CD8. Varias etapas definen esa diferenciación.

Reorganización de los genes TCR

-Pro-T. La célula pro-T es el primer precursor de la línea de linfocitos T. Estas células proliferan por efecto de la interleuquina IL-7 producida por las células del timo. En el núcleo de algunas de estas células, se reordenan los genes que codifican la cadena β del TCR, por recombinación mediada por la V(D)J recombinasa. El TCR no se expresa aún en la superficie del pro-T. Tampoco se expresan en la membrana celular las moléculas accesorias CD4 ni CD8. Por esa razón las células pro-T se denominan $CD4^-/CD8^-$ *dobles negativas*.

El reordenamiento de la cadena β ocurre al activarse uno de los dos alelos que codifican la cadena β . El otro alelo es inhibido durante el reordenamiento del alelo activado (esto se denomina "exclusión alélica"). Si no se produce una cadena β completa en una célula pro-T, esa célula muere.

-Pre-T. Si la recombinación VDJ tiene lugar con éxito y se sintetiza una cadena β , ésta se expresa en la superficie celular, unida a una proteína invariante denominada pre-T α , para formar el complejo pre-TCR. Por tanto, la célula pre-T es la misma célula pro-T a partir del momento en que la cadena β del TCR se expresa en la superficie celular. La expresión de la cadena β marca el estadio pre-T y al mismo tiempo comienza el reordenamiento de la cadena α . En las pre-T, aún siguen sin expresarse en la membrana celular las moléculas accesorias CD4 ni CD8, así que las células pre-T son $CD4^-/CD8^-$ o *dobles negativas*.

La expresión en microdominios de la membrana celular de la cadena β unida a la proteína pre-T α se conoce como pre-TCR y estimula el reordenamiento de uno de los alelos que codifican la cadena α . Si una célula no es capaz de sintetizar una cadena α y el TCR completo, esa célula muere.

-Timocito doble-positivo. Estas son las células supervivientes, que expresan tanto la cadena α como β , es decir un TCR completo, CD3 y tanto CD4 como CD8. Por ello se denominan *dobles positivas*. Ello da paso a los mecanismos de selección positiva y negativa.

Selección positiva de los timocitos

En esta fase tiene lugar la puesta en marcha del mecanismo de restricción CMH: los linfocitos T de un individuo concreto sólo pueden detectar un antígeno si éste viene presentado por una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) del mismo individuo. Los diferentes clones de timocitos dobles positivos expresan diferentes tipos de TCR $\alpha\beta$. Si el TCR de una célula T reconoce una molécula CMH en el timo (que por definición es una molécula CMH presentando un péptido propio del individuo), esa célula T es seleccionada para sobrevivir: por eso se habla de selección positiva.

Para asegurarse de que el linfocito T durante su maduración será expuesto a todo tipo de péptido propio, las células epiteliales medulares del timo expresan numerosos genes, que codifican la mayor parte de las proteínas presentes en los tejidos periféricos.

Las células que no son capaces de reconocer un complejo "péptido propio-CMH" en el timo mueren por apoptosis. Estas células no serían útiles al individuo, porque serían incapaces de ver los péptidos presentados por las moléculas de CMH en los tejidos periféricos.

Elección entre las líneas T CD4+ y CD8+

Durante el proceso de selección positiva, las células T que reconocen complejos péptido-CMH clase-I preservan la expresión de CD8, el coreceptor que se une a la molécula CMH-I, y pierden la expresión de las moléculas de CD4. A la inversa, las células que reconocen complejos péptido-CMH clase-II preservan la expresión de CD4 y pierden la de CD8.

Así, lo que se obtiene al final del proceso de selección positiva son timocitos simples positivos, que son o bien CD8+, restringidos para ver CMH-I, o bien CD4+, restringidos para CMH-II.

Además, durante este proceso, las células T también devienen segregadas funcionalmente: las células T CD8+ pueden convertirse en linfocitos T citotóxicos cuando se activan, mientras que las células T CD4+ serán linfocitos T cooperadores. Se desconoce cómo la selección de co-receptores está asociada a la segregación funcional.

Selección negativa de los linfocitos

Los linfocitos dobles positivos inmaduros cuyos receptores reconocen fuertemente los complejos "péptido:CMH" en el timo también sufren apoptosis. Este es el proceso de selección negativa, que sirve para eliminar linfocitos que podrían reaccionar de forma dañina contra proteínas propias que se expresan en el timo. Por ello, se dice que este mecanismo permite el establecimiento de la tolerancia central, al asegurar que las proteínas propias no serán atacadas por los linfocitos T.

Las células T que han pasado los procesos de selección positiva y negativa son linfocitos maduros, que presentan las siguientes características:

- son simples positivos CD4+ o CD8+;
- están restringidos para las moléculas CMH propias (CD4+:CMH-II, CD8+:CMH-I);
- son tolerantes para las proteínas propias;
- son vírgenes (*naives*): no han encontrado nunca un antígeno extraño.

Los linfocitos maduros salen del timo y se distribuyen por la periferia a través del sistema circulatorio, donde pueden encontrar una célula que presente un complejo "péptido extraño:CMH", capaz de activar el linfocito y desencadenar una respuesta inmune.

Es interesante destacar que la capacidad de reconocer los antígenos extraños por parte de los linfocitos T no está sometida a selección, sino que es el producto del azar: las células T que reconocen los complejos "péptido propio:CMH propio" de forma débil puede que reconozcan fuertemente antígenos extraños, procedentes de microorganismos, en la periferia del organismo.

2.3 RELACIÓN ENTRE LAS CÉLULAS NEOPLASIAS DE CÉLULAS B Y EL DESARROLLO DE LOS SUBTIPOS Y ETAPAS DE DIFERENCIACIÓN B.

La mayoría de las neoplasias de células B reflejan las características de las células B en sus diferentes estados de maduración, esto es especialmente cierto para los linfomas de células B de pequeño y mediano tamaño:

- Leucemia/Linfoma linfoblástico recuerda en morfología e inmunofenotipo (TdT+, CD34+, CD10+) a los precursores de células B.
- Alrededor del 50% de las células B de leucemia linfocítica crónica (B-CLL) tienen características de las células maduras vírgenes (no mutadas) y otro 50% muestran características de células B de memoria (mutadas). La LLC-B no mutada puede relacionarse con la célula B virgen recirculante conocida también como subpoblación B1, las cuáles expresan CD23 y baja afinidad a los receptores de membrana Ig autorreactivos.
- El linfoma de células del manto recuerda a células del folículo primario o células del manto del folículo en inmunofenotipo, homing y la presencia de una red de FDC en la zona del manto que carecen de CD23 y probablemente corresponden a células B vírgenes sésiles. También pueden recordar a células del manto en su patrón de mutación del gen IgV en cuanto a que el 90% no están mutados o poseen una muy pequeña cantidad de mutaciones.
- Los linfomas foliculares son similares a los folículos secundarios reactivos en su composición celular (centroblastos y centrocitos) con la formación de una densa red de FDC, la expresión de CD 10 y BCL6 y la expresión incrementada de Oct2 y BOB.1. Genéticamente cargan mutaciones en el gen de IgV y muestran signos de mutaciones en curso (ongoing) características de las células B del centro germinal.
- Los linfomas de la zona marginal recuerdan fisiológicamente a las células de la zona marginal en cuanto a que preferencialmente se expanden en zonas marginales y tejidos que contienen

células epiteliales como MALT, pulmón, glándulas salivales, etc. Expresan IgM en la completa o parcial ausencia de IgD, típicamente tienen mutado el gen IgV sin mutaciones en curso (ongoing).

- Los plasmocitomas o las células de mieloma múltiple son usualmente muy similares en morfología e inmunofenotipo a las células plasmáticas no neoplásicas. Usualmente pierden CD45, CD20, Ig de membrana y expresan MUM1/IRF4, VS38c, CD138, CD38 en Ig secretora en el citoplasma. Plasmocitomas inmaduros o anaplásicos pueden perder algunos de estos marcadores.
- El Linfoma de Hodgkin con predominio linfocítico es una neoplasia de células B con características de célula del centro germinal. Las células neoplásicas expresan CD45 y la mayoría de los antígenos B, tienen rearrreglos en los genes de Ig y muestran mutaciones somáticas características de las células del centro germinal.
- El linfoma de Hodgkin clásico por el contrario, es una neoplasia de células B que ha perdido casi todas las características morfológicas y de inmunofenotipo de la célula que la originó. Su origen del centro germinal sólo ha podido demostrarse por estudios genéticos que muestran rearrreglos en los genes Ig, por exposición al centro germinal. A pesar de su origen derivado de la célula B, las células tumorales del linfoma de Hodgkin pierden la mayoría de las moléculas que son características de las células B y las células del centro germinal, y adquieren moléculas típicamente ausentes en las células del centro germinal, incluyendo CD30, CD15, TARC y TARF1.
- El linfoma no Hodgkin difuso de células grandes permanece entre los linfomas B de células pequeñas y el linfoma de Hodgkin clásico. Presenta características inmunofenotípicas y genéticas de las células B pero muchas veces de manera tan incompleta que no es posible identificar su origen preciso. ⁽¹⁰⁾

2.4 CLASIFICACIÓN DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.

En 1976, el grupo cooperativo de la FAB (French-American and British) propuso una clasificación de las leucemias linfoblásticas agudas, describiendo tres variantes: L1, L2 y L3⁽¹¹⁾.

Clasificación FAB	Características
L1	Población homogénea de blastos con nucléolos pequeños, membrana nuclear regular y un radio núcleo/citoplasma alto.
L2	Población heterogénea de blastos con nucléolos prominentes, membrana nuclear irregular y un radio núcleo/citoplasma bajo.
L3	Población homogénea con nucléolos prominentes, citoplasma basófilo vacuolado.

Tabla 1. Clasificación de la FAB

Actualmente la clasificación vigente es la de la Organización Mundial de la Salud del año 2008.

Tipo de Neoplasia	
Leucemia/linfoma linfobástico B NOS (No especificado de otra manera)	
Leucemia/Linfoma linfoblástico B con anomalías citogenéticas recurrentes.	<ul style="list-style-type: none"> - t(9;22)(q34;q11.2) BCR-ABL1 - t(v;11q23) rearrreglos MLL - t(12;21)(p13;q22); TEL-AML1 (ETV6-RUNX1) - Hiperdiploidía - Hipodiploidía - t(5;14)(q31;q32): IL3-IGH - t(1;19)(q23;p13.3) E2A-PBX1 (TCF3-PBX1)
Leucemia Linfoma Linfoblástico T	

Tabla2. Clasificación de la OMS 2008

Leucemia linfoblástica B

-Leucemia/linfoma linfoblástico B nos (*not otherwise specified*).

Es una neoplasia de precursores linfoides B, típicamente compuesta de células de pequeño a mediano tamaño, con escaso citoplasma, cromatina condensada a moderadamente dispersa y nucléolos, que envuelve la médula ósea, sangre periférica y ocasionalmente se presenta con infiltración primaria a sitios nodales y extranodales. Por convención el término linfoma, se usa cuando el proceso está

confinado a una tumoración sin evidencia de infiltración a médula ósea o sangre periférica. Para muchos protocolos una cuanta mayor a 25% de blastos en MO se usa para definir a la leucemia.

En cuanto a epidemiología, 75% de los casos ocurren en los niños menores a 6 años. La incidencia mundial se estima a 1-4.75/100 000 personas por año.

Al realizar estudios de citoquímica, los linfoblastos son negativos para mieloperoxidasa, si presentan gránulos, pueden teñirse de gris con Sudan Negro pero son menos intensos que en los mieloblastos. Los linfoblastos pueden mostrar positividad para PAS, también son reactivos con esterasa no específica con un patrón punteado multifocal o patrón en la Zona Golgi que muestra una inhibición variable con fluoruro de sodio.

-Leucemia linfoma linfoblástico B con t(9;22) (q34;q11.2); BCR-ABL1.

Envuelve a ABL1 en el cromosoma 9q34 y BCR en el cromosoma 22q11.2. Dicha translocación resulta en la unión de la porción 5' de BCR a la porción 3' de ABL1 para formar el gen BCR-ABL1. La proteína BCR-ABL1 tiene una localización subcelular anormal y constituye una actividad de cinasa ABL1. BCR-ABL1 es suficiente para causar transformación maligna en los precursores B del ratón, este proceso requiere de la cinasa Src. La inhibición de la cinasa Src afecta la proliferación de las células B que expresan BCR-ABL1.

La LLA BCR-ABL1 es rara en los niños (3%) pero es la alteración genética más común en adultos (25%).

Dependiendo la localización del punto de rompimiento de BCR, se forman proteínas BCR-ABL1 con diferente peso molecular. BCR-ABL1 p210 es característica de la LMC y puede ser encontrada en 24 a 50% de los adultos Ph+ B-LLA. Una forma más corta de p190 predomina en la forma pediátrica y en el 50 a 76% de los adultos con Ph+ B-LLA. BCR-ABL1 p230 no se observa usualmente en la B-LLA. La comparación entre los adultos con B-LLA p190 y p210 raramente muestra diferencias en la presencia de alteraciones citogenéticas adicionales, cuenta leucocitaria, edad y pronóstico.

B-LLA muestra un inmunofenotipo común con CD34+, CD10+ y CD19+; los marcadores mieloides son positivos hasta en el 71% de los casos. Tiene un muy mal pronóstico con una sobrevida global a 5 años menor al 10%.

-Leucemia linfoma linfoblástico B con t(v;11q23); rearrreglos MLL.

El gen de la leucemia de linaje mixto (MLL) en el cromosoma 11q23 está envuelto en más de 70 translocaciones asociadas a leucemia. La más común en B-LLA es t(4;11) (q21;q23), que resulta en MLL-AF4. Puede ser detectada por citogenética convencional. Otros rearrreglos de MLL son mejor detectados por FISH o por RT-PCR.

En modelos murinos, la quimera MLL-AF4 resulta en un linfoma B maduro con baja penetrancia y latencia larga. La expresión ectópica de MLL-AF4 en las células CD34+ de cordón umbilical humano mejora el injerto hematopoyético y el potencial clonogénico en un modelo xenograft sin bloquear o sesgar el desarrollo hematopoyético normal, lo que sugiere que MLL-AF4 por sí mismo es insuficiente para causar leucemia.

Los rearrreglos MLL están más comúnmente asociados a leucemia aguda en la infancia y se encuentra en la mayoría de los casos de leucemia mieloide aguda relacionada a la terapia con inhibidores de la topoisomerasa II. Los rearrreglos en el gen MLL ocurren aproximadamente en 2/3 partes de los casos de LLA infantil y MLL-AF4 constituye más el 50% de estos rearrreglos. En los adultos MLL-AF4 ocurre en el 4-8%, pero es más frecuente (24%) en los pacientes que han recibido quimioterapia para otras enfermedades malignas. La B-LLA asociada a rearrreglos MLL es CD19 +, característicamente CD10 negativa, frecuentemente CD24 negativa y CD 15 positiva. Los pacientes con B-LLA tienen alto riesgo de recaer. Al momento de la recaída, la enfermedad puede tener un inmunofenotipo monocítico consistente con una leucemia monocítica aguda.

-Leucemia /linfoma linfoblástico B con t(12;21)(p13;q22); TEL-AML1 (ETV6-RUNX1)

RUNX1 se localiza en el cromosoma 21q22, previamente conocido como AML1, es un factor de transcripción que se requiere para el desarrollo hematopoyético en un estadio embrionario temprano, tanto en la diferenciación de la célula B como de la T. ETV6-RUNX1 involucra a ETV6, previamente conocido como TEL, en el cromosoma 12p13. t(12;21) (p13;q22) resulta en la proteína quimérica ETV6-RUNX1 compuesta de la región N-terminal no fijadora de DNA de ETV6, combinada con RUNX1. La expresión de ETV6-RUNX1 en las células progenitoras hematopoyéticas resulta en la expansión de progenitores multipotentes y un arresto parcial del desarrollo de la célula B en el estadio pro-B, lo último se acompaña de la expresión reducida del componente subrogado de la cadena ligera lambda 5 y el receptor de IL-7.

La fusión ETV6-RUNX1 es frecuentemente crítica y por lo tanto se detecta mejor por FISH o por RT-PCR. Es la alteración molecular más frecuente en los niños (más del 30%), por sí mismo es insuficiente para producir leucemia; alteraciones genéticas secundarias como la pérdida del alelo de ETV6 y otros genes en la vía del desarrollo de la célula B se observan frecuentemente al momento del diagnóstico de B-LLA. El inmunofenotipo usualmente es CD10+, CD19+, CD34+ y el antígeno mieloide asociado CD13+. Los pacientes afectados con esta alteración tienen buen pronóstico.

-Leucemia/linfoma linfoblástico B con hiperdiploidía

En este tipo de leucemia de células B, los blastos contienen >50 cromosomas y usualmente <66 cromosomas, típicamente sin translocaciones u otras alteraciones estructurales. Los cromosomas que se encuentran extra en la mayoría de los casos son el 21, X, 14 y 4, y en menor frecuencia 1,2 y 3. Algunos casos que parecerían hiperdiploidía son en realidad casos de hipodiploidía con endoreduplicación de los cromosomas. El inmunofenotipo usualmente es CD19+, CD10+, CD34+ y CD45+. Los pacientes con LLA-T con hiperdiploidía no se consideran dentro de este grupo. Los pacientes tienen un pronóstico muy favorable con curación hasta en >90% de los niños.

-Leucemia/linfoma linfoblástico B con hipodiploidía

Los pacientes por definición muestran la pérdida de uno o más cromosomas, teniendo desde 45 cromosomas hasta casi haploidía. Los pacientes con este tipo de leucemia tienen mal pronóstico el cual depende del número de cromosomas, aquellos con 44-45 cromosomas tienen mejor pronóstico.

-Leucemia/linfoma linfoblástico B con t(5;14)(q31;q32); IL3-IGH

Los blastos alojan una translocación entre el gen de IL-3 y el gen IGH@, resultando en una variable eosinofílica. El rearreglo entre el gen IL-3 y el gen IGH@ resulta en la sobreexpresión de IL-3. El pronóstico no difiere de otros casos de LLA pero se piensa que hay muy pocos casos como para ser certeros.

-Leucemia/linfoma linfoblástico con t(1;19)(q23;p13.3); E2A-PBX1 (TCF3-PBX1)

E2A es un factor de transcripción localizado en el cromosoma 19q23 y se requiere para la iniciación del desarrollo de la célula B y es esencial para su maduración. La delección homocigota de E2A en ratones conlleva al arresto del desarrollo de la célula B en estadio pro-B y B-maduro. La anomalía genética que envuelve más comúnmente a E2A es t(1;19)(q23;p13.3) la cual resulta en la fusión quimérica de los dominios de transactivación de E2A con el dominio de unión al DNA de PBX1. E2A-PBX1 es un potente factor de transcripción que causa la expresión aberrante de genes. Se ha demostrado su poder oncogénico a través de favorecer a Bmi-1, un represor transcripcional envuelto en la auto-renovación de las células progenitoras hematopoyéticas. La t(1;19) tiene una fuerte asociación con el inmunofenotipo pre-B, son típicamente CD9+, CD10+, CD19+, CD22+, CD34- y expresan inmunoglobulina citoplasmática. (1)

Existen otras alteraciones moleculares importantes que aún no están incluidas en la clasificación de la OMS vigente se enlistan las más importantes.

-Alteraciones genéticas submicroscópicas

-Deleción de IKZF1

IKZF1 se localiza en el cromosoma 7p13-p11.1, codifica para IKAROS, una proteína fijadora de DNA que contiene dedos de zinc. IKAROS forma dímeros o multímeros y se fija a secuencias específicas de DNA a través de sus dominios dedos de zinc N-terminal. Las isoformas de IKAROS que carecen de los dominios dedos de zinc- N-terminal tienen localización citoplasmática aberrante y funcionan como una forma dominante *wild-type*. La deleción homocigota en ratones de la región de unión al DNA de IKZF1 resulta en el arresto completo del desarrollo de las células linfoides, mientras que la deleción heterocigota resulta en leucemia linfoblástica T y linfoma. En los ratones transgénicos, la haploinsuficiencia de IKZF1 coopera con la expresión de BCR-ABL1 en la leucemogénesis B. La presencia de altos niveles de la isoforma negativa IK-6 fue reconocida inicialmente en la LLA-B que afecta a los niños y posteriormente en los adultos. Se ha encontrado que la deleción de IKZF1 es una de las lesiones genéticas más frecuentes en la LLA-B de alto riesgo presente en el 75-90% de las LLA-B BCR-ABL1+ y en el 29% de las LLA-B pediátricas BCR-ABL1-. Las deleciones de IKZF1 son generalmente monoalélicas y están limitadas al gen en el 40% de los casos, ocurren varios patrones de deleción, pero el más frecuente envuelve el dominio de dedos de zinc N-terminal de IKAROS y resulta en la expresión de las isoformas negativas dominantes con localización citoplasmática y actividad oncogénica. La deleción de IKZF1 se ha identificado en la mayoría de los casos de LMC en crisis blástica linfóide, pero no en los casos en fase crónica.

-Deleción y translocación de PAX5

PAX5 codifica factores de transcripción específicos del linaje B, se localiza en el cromosoma 9p13. Se encuentra entre las alteraciones genéticas más frecuentes en LLA-B observado en aproximadamente el 30% de los casos. Se pueden encontrar deleciones monoalélicas, rearreglos o mutaciones puntuales. La deleción focal es la más común y se asocia frecuentemente a BCR-ABL1, E2A-PBX1 y cariotipo complejo. Los rearreglos de PAX5 son raros, ocurren en el 2.5% de los casos de LLA-B y al menos 12 diferentes parejas de fusión, incluidos factores de transcripción, proteínas estructurales y cinasas de proteínas, han sido reportadas.

-Deleción CDKN2 A/B.

CDKN2 A y su adyacente CDKN2 B en el cromosoma 9p21 son genes supresores de tumor que codifican para p16 INK4a/p14ARF y p15 INK4b respectivamente. Estas proteínas están involucradas en el control de la progresión del ciclo celular de la fase G1 a la S. La deleción de CDKN2 A/B es común

en diversas neoplasias, en la LLA-B, está presente en el 21-36% de la LLA-B pediátrica y en cerca del 50% de la LLA-B en los adolescentes y adultos. Se asocia frecuentemente a BCR-ABL1, E2A-PBX1 y menos frecuentemente a ETV6-RUNX1, MLL o hiperdiploidía.

-Cinasa Janus

JAK es una proteína cinasa de tirosina, que media la señalización de citosinas a través de la vía JAK-STAT. Existen 4 miembros de la familia JAK: JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2. Las mutaciones en JAK1 y JAK2 fueron identificadas inicialmente en las LLA-B asociadas a síndrome de Down. Mutaciones somáticas heterocigóticas de JAKs se ven en aproximadamente 10% de las LLA-B no asociadas a SD. Las mutaciones JAK ocurren en residuos altamente conservados en los dominios cinasa y pseudocinasa y da como resultado su activación. Parece que la señalización aberrante de la cinasa requiere la interacción con un receptor de citosina, porque la expresión ectópica de JAK1 mutante asociada a LLA-B por sí sola, falla en activar STAT en la ausencia de una cadena gamma contenida en el receptor de citocina. 70% de las LLA-B que alojan mutaciones en JAK tienen una delección concomitante de IKZF1 y/o CDKN2 A/B. Los pacientes con LLA-B asociada a JAK tienen a presentar cuentas elevadas de leucocitos y mal pronóstico. La mutación JAK2V617F no se encuentra en la LLA-B.

-Expresión aumentada de CRLF2

CRLF2 también conocido como receptor de linfopoyetina derivado del estroma tímico, es un receptor de citocina tipo I. CRLF2 forma un complejo heterodimérico con IL-7Ralfa en una unidad funcional señalizadora. Los niveles de CRLF2 están marcadamente elevados en algunos subtipos de LLA-B causados por traslocaciones o deleciones que envuelven la región pseudoautosómica 1 (PAR1) de los cromosomas sexuales. Las deleciones intersticiales de PAR1, resultan en la yuxtaposición del exón 1 no codificante de P2RY8 con la región codificante de CRLF2 o la translocación de esta área con IGH@ en el cromosoma 14q32.

-Expresión aberrante de microRNA.

Los microRNA son pequeños RNA no codificantes que están involucrados en la regulación postrascriptional de la expresión génica y juegan un rol crucial en muchos procesos biológicos incluyendo proliferación y apoptosis. Como resultado de alteraciones genéticas, los cambios en los niveles de expresión de miRNA pueden estar directamente involucrados en la leucemogénesis.

miRNA-125b1 fue el primer miRNA descrito en la LLA-B. El gen que lo codifica se encuentra en el cromosoma 11q24.1 pero ha localizado insertado en el rearrreglo IGH@ en el cromosoma 14q32 en algunos pacientes con LLA-B. Esta translocación resulta en un nivel elevado de miRNA-125b1 el cual es un regulador negativo de p53. (12)

-Leucemia/linfoma linfobástico T

Típicamente compuesta de blastos de mediano a pequeño tamaño, con escaso citoplasma, cromatina condensada a moderadamente dispersa y nucléolos. Comprende hasta el 15% de todas las leucemias linfoblásticas agudas en niños y hasta 25% en adultos.

Envuelve frecuentemente a mediastino y en ocasiones a Sistema Nerviosos Central, piel, amígdalas y testículos en hombres.

Dentro de las tinciones de citoquímica, los blastos suelen ser positivos para fosfatasa ácida, sin embargo esta reacción no es específica.

Los marcadores de inmunofenotipo más importantes son: TdT, CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7 y CD8.

Por lo regular siempre se encuentran rearrreglos clonales del receptor de célula T (TCR); se puede encontrar un cariotipo normal en el 50-70% de los casos, pero la alteración citogenética más frecuente envuelve el locus alfa y delta del receptor de TCR en 14q11.2, el locus beta en 7q35 y el locus gamma en 7p 14-15.

2.5 FACTORES PRONÓSTICOS

A pesar de que la LLA es una enfermedad heterogénea con manifestaciones clínicas diversas se han identificado factores de mal pronóstico ya sea porque se asocian con riesgo de recaída o con riesgo de no integrar remisión con el tratamiento con quimioterapia.

Factores pronóstico en niños

Los pacientes que tienen entre 1-9 años, con una cuenta inicial de leucocitos $<50\ 000/\text{mm}^3$, se clasifican como riesgo estándar, en este rubro se encuentran 2/3 partes de los pacientes con LLA-preB y tienen una sobrevida libre de evento a 4 años de 80%. Los pacientes restantes (alto riesgo) tienen una sobrevida libre de evento a 4 años de 65%. (13)

Los factores pronóstico identificados en niños se resumen en la siguiente tabla:

Factor	Favorable	Intermedio	Desfavorable
Edad (años)	1-9	>10	<1 y MLL+
Leucocitos iniciales(x10 ⁹ /L)	<50	>=50	
Inmunofenotipo	Pre B	T	
Genética	Hiperdiploidía >50 cromosomas ó indica de ADN>1.16 Trisomías 4, 10 y 17 t(12;21)/ETV6-RUNX1	Diploidía t(1;19)/TCF3-PBX1	t(9;22)/BCR-ABL1 t(4;11)MLL-AF4 Hipodiploidía<44 cromosomas
Estado del SNC	CNS1	CNS2 Líquido espinal traumático con blastos	CNS3
MRD(al final de la inducción)	<0.01%	0.01% a 0.99%	>=1%

Tabla 3. Factores Pronóstico en niños.

Factores pronóstico en adolescentes y adultos jóvenes (AYA)

El *National Cancer Institute*(NCI) define el rango de edad para el grupo AYA de los 15 a 39 años, históricamente este grupo ha sido tratado tanto como con protocolos pediátricos como con protocolos de adultos, sin embargo no se han obtenido tan buenos resultados comparándolos con los obtenidos en los niños menores a 10 años. El paciente del grupo AYA generalmente se presenta con una menor frecuencia de alteraciones citogenéticas de buen pronóstico, además de aumento en la frecuencia de casos con inmunofenotipo T e incremento en LLA-Ph+. Algunos protocolos han mostrado que un subgrupo de estos pacientes de entre 15-21 años, tratados con protocolos pediátricos han mejorado sustancialmente la sobrevida libre de evento (EFS).

Factores pronóstico en adultos

Se ha identificado a la edad >35 años así como una cuenta inicial de leucocitos >30x10⁹/L para el linaje B y >100x10⁹/L para el linaje T. Dentro de las alteraciones citogenéticas de mal pronóstico se han identificado a t(9;22), t(4;11), t(8;14), cariotipo complejo (>= 5 anormalidades cromosómicas) y la baja hipoploidía (30-39 cromosomas)/ casi tripleploidía (60-78 cromosomas) como factores de mal pronóstico. En contraste, la del 9(p) o la alta hiperdiploidía (51-65 cromosomas) se han asociado con un pronóstico más favorable.

Las recomendaciones de la NCCN para la clasificación de riesgo de los pacientes con LLA sugieren que la estratificación inicial se debe hacer en base a la presencia de Ph+, t(9;22) o identificación de BCR/ABL1.

Los pacientes con Ph-, pueden entonces clasificarse como de “alto riesgo” cuando presentan cuenta leucocitaria inicial $>30 \times 10^9/L$ para el linaje B y $>100 \times 10^9/L$ para el linaje T, hipodiploidía, rearrreglos MLL. La ausencia de estos factores se define como “riesgo estándar”.

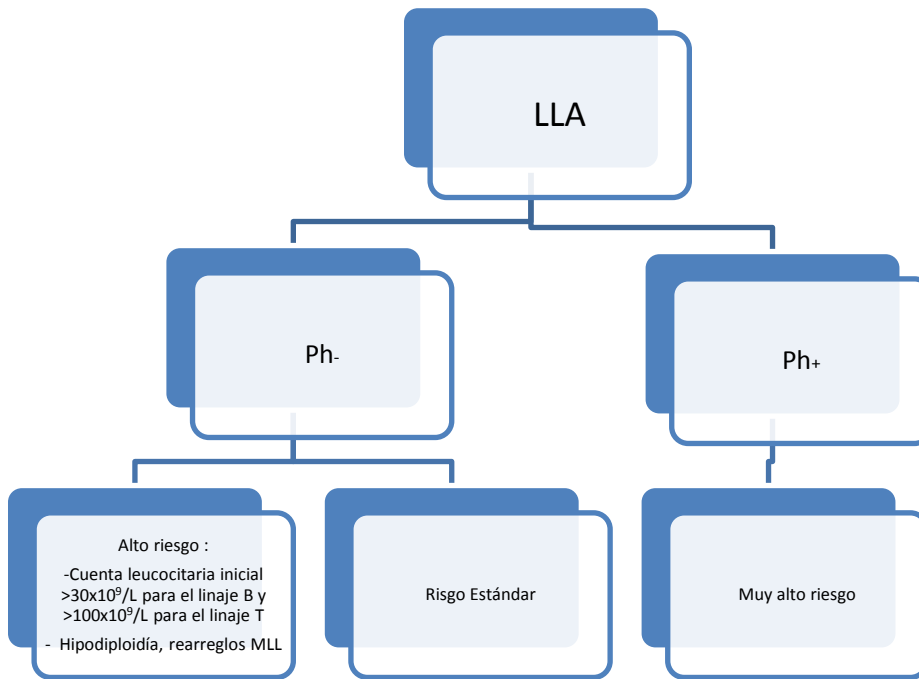


Figura 1. Clasificación del riesgo en Adultos.

La recaída al Sistema Nervioso Central (SNC) continua siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad y puede ocurrir entre el 3 -6% de los pacientes con LLA.

Se han asociado algunos factores de riesgo con una mayor incidencia de infiltración al SNC ya sea al inicio de la enfermedad o en una recaída; las anomalías genéticas de mal pronóstico (t(9;22) y los rearrreglos MLL), una leucemia con linaje T, cuenta celular alta, presencia de blastos en el líquido cefalorraquídeo (LCR) que pueden aparecer de manera espontánea o secundaria a punciones lumbares traumáticas. (8)

La metodología actual en nuestro medio para identificar la infiltración al SNC es el examen citopatológico. Existen otras técnicas con una sensibilidad mayor como la citometría de flujo o PCR, sin embargo se encuentran fuera de nuestro alcance por el momento.

El SNC puede actuar como un santuario para los blastos linfoides, protegiéndolos de la exposición correcta a los agentes quimioterapéuticos. En una recaída, las células leucémicas pueden invadir únicamente médula ósea o pueden invadir sitios extramedulares, típicamente el SNC y los testículos. Cuando se presenta una recaída clasificada como aislada a SNC puede hallarse de manera subclínica infiltración a médula ósea al mismo tiempo, lo que sugiere que los blastos pueden migrar de los sitios extramedulares a la médula ósea o viceversa. (9).

2.6 ¿CÓMO ES QUE LLEGAN LOS BLASTOS AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL?

Es necesario recordar la anatomía de las meninges. Las meninges proporcionan protección al SNC, consisten en la Duramadre en la porción externa, la aracnoides que reviste a la duramadre, y la piamadre adherida al encéfalo y médula espinal. Las últimas dos capas limitan el espacio subaracnoideo, el cual esta lleno de líquido cerebroespinal (LCE).

La duramadre o paquimeninge es una lámina densa firme de tejido conectivo colagenoso. La dura madre raquídea esta separada de la pared del canal raquídeo por un espacio epidural que contiene tejido adiposo y un plexo venoso. La dura mare craneal esta adherida con firmeza al periostio. Una delgada película microscópica de líquido ocupa el espacio subdural entre la duramadre y la lámina externa de la aracnoides.

La piamadre y la aracnoides constituyen las leptomeninges (membranas delgadas). La aracnoides contiene fibroblastos, fibras de colágena y algunas fibras elásticas. Ambas superficies de la aracnoides de la superficie externa de la piamadre están cubiertas por un epitelio escamoso simple. Las trabéculas que cruzan el espacio subaracnoideo son bandas delicadas de tejido conjuntivo con células epiteliales escamosas en su superficies. Uniones estrechas conectan las células epiteliales aracnoideas adyacentes, lo que evita el intercambio de moléculas grandes entre la sangre de la vasculatura dural y el LCE. No hay uniones estrechas entre las células gliales, por lo que puede haber un intercambio libre de macromoléculas entre el LCE y el tejido nervioso central.

La piamadre se separa para envolver a las arterias que penetran al parénquima cerebral, pero no a las venas. Los capilares no tienen envoltura pial.(14)

Para tratar de contestar a la pregunta realizada previamente de: ¿Cómo es que llegan los blastos al Sistema Nervioso Central? O ¿Cuál es la ruta que siguen los blastos linfoides para llegar al sistema nervioso central? Existen relativamente pocas publicaciones. En marzo de 1973 se publico en la revista

Cancer un trabajo realizado por Robert Price y Warren Johnson los cuales analizaron 126 cerebros tomados de autopsias de pacientes muertos por leucemia durante un periodo de 8 años; realizaron cortes histológicos de: 1) Aracnoides, 2) Sustancia gris y 3) Sustancia blanca. Posterior al análisis propusieron un patrón de infiltración que se enlista a continuación:

- Grado 0: Leptomeninges normales. Ausencia de infiltración leucémica.
- Grado 1: Leve a moderada infiltración leucémica en la aracnoides superficial con o sin contaminación del LCE y con o sin infiltración aislada en la aracnoides profunda.
- Grado 2: Densa infiltración leucémica en aracnoides con contaminación de LCE además de compromiso aracnoideo, infiltración en la sustancia gris y sustancia blanca del parénquima cerebral, pero sin destrucción de la membrana pial-gial.
- Grado 3: Infiltración extensa superficial y profunda de la aracnoides, contaminación de LCE y destrucción de la membrana pial-gial.

En el 44% de los tejidos estudiados no se encontró infiltración leucémica (Grado 0); en el 34% se encontró Grado 1 de infiltración; en el 8% se encontró infiltración grado 2, en estos casos, el infiltrado leucémico se extendía dentro de la sustancia gris y blanca pero confinado a la aracnoides perivascular profunda por la membrana pial-gial (MPG), la infiltración aracnoidea frecuentemente se observó al nivel de la arteriola precapilar y de la vénula postcapilar, esto comprueba la naturaleza protectora limitada de la MPG la cual no se extiende mas allá de las arteriolas precapilares. El grado 3 de infiltración fue encontrado en el 13.4% de los cerebros estudiados, la acumulación de células leucémicas en el espacio neural pericapilar fue observada sólo en la presencia de daño en la MPG.

Debido a sus hallazgos los autores proponen que la infiltración del Sistema Nervioso Central por los blastos linfoides sigue un patrón anatómico predecible, que la infiltración leucémica envuelve inicialmente a la aracnoides superficial y que a medida que el número de blastos se incrementa, las trabéculas aracnoideas son destruidas con la contaminación subsecuente del LCE. Cuando en asociación con la infiltración de la aracnoides perivascular profunda, la MPG es destruida, ocurre la infiltración directa del tejido neural. Por lo tanto concluyen que las células leucémicas no penetran los capilares del parénquima del sistema nervioso central y que la infiltración a dicho tejido es consecuencia de la infiltración aracnoidea y la destrucción de la membrana pial-gial. ⁽¹⁵⁾

Actualmente el método más usado para la identificación de blastos linfoides en el LCE es el estudio citológico. Para obtener la muestra de LCE es necesario realizar un punción lumbar, en la mayoría de los protocolos, al momento del diagnóstico y de manera subsecuente conforme avanza el protocolo de tratamiento. Una vez analizado el LCE, el resultado se puede reportar de la siguiente manera:

- CNS 1: Punción lumbar no traumática, menos de 10 eritrocitos por ul y no blastos identificados por centrifugación.
- CNS 2: Punción lumbar no traumática con menos de 5 leucocitos por ul con blastos posterior a la centrifugación
- CNS 3: Punción lumbar no traumática con más de 5 leucocitos por ul con blastos
- Punción lumbar traumática: Aquella con más de 10 eritrocitos por microlitro.⁽¹⁶⁾

En este punto puede generarse la incógnita de ¿qué papel juega una punción lumbar traumática en la infiltración blástica iatrógena al SNC?. Pocos estudios se han realizado al respecto, en el 2001 Gajjar, et al. demostraron el efecto adverso de una punción lumbar traumática al momento del diagnóstico en el resultado del tratamiento en niños con LLA y el autor concluyó que la introducción iatrógena de células leucémicas dentro del LCE al momento de la punción lumbar traumática puede ser una causa de ese resultado adverso, por lo que la punción lumbar debe ser realizada por personal experto. ^{(17) (18)}

En otros países actualmente se utilizan técnicas más sofisticadas y sensibles como la citometría de flujo en el LCE. Estudios como el de Carolina Martinez Laperche, et al. publicado en enero del 2013 en AJH muestran que la citometría de flujo puede ser útil en el diagnóstico temprano de pacientes con infiltración leucémica al SNC. En dicho estudio se analizaron 990 muestras de líquido cerebro espinal, 108 al momento del diagnóstico y 882 en cada administración de quimioterapia intratecal; encontraron que aquellos pacientes con citometría de flujo positiva para células leucémicas, padecían predominantemente leucemias con inmunofenotipo T además de poseer otros factores de riesgo conocidos como una cuenta elevada de leucocitos al diagnóstico, cariotipo normal, fusión del gen BCR-ABL; por otro lado en los pacientes que desarrollaron infiltración al SNC durante la terapia, de igual forma padecían en mayor proporción leucemias T y edad avanzada. ⁽¹⁹⁾

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se sabe por estudios previos que la infiltración al Sistema Nervioso Central por blastos linfoides puede ocurrir hasta en el 6% de los pacientes de los pacientes con Leucemia Aguda Linfoblástica. En nuestro país se han realizado pocos estudios que correlacionen los hallazgos anatomopatológicos con los encontrados en el estudio citopatológico o citometría de flujo de líquido cefalorraquídeo, de igual forma poco se sabe del uso de marcadores bioquímicos que detecten de manera temprana el riesgo de infiltración al Sistema Nervioso Central y que corroboren las estadísticas en la población mexicana. La punción lumbar y el análisis citológico del líquido cefalorraquídeo es por el momento el método diagnóstico de infiltración leucémica al Sistema Nervioso Central más importante en nuestro medio, de igual forma al realizar una punción lumbar se puede aplicar quimioterapia intratecal, lo que la convierte también en una herramienta terapéutica muy importante.

Se sabe también que el Sistema Nervioso Central de manera temprana puede actuar como nicho protector de los blastos linfoides ante la quimioterapia, y existen casos en los que los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda pueden debutar con infiltración al Sistema Nervioso Central. Al ser la punción lumbar con aplicación e quimioterapia intratecal un arma diagnóstica y terapéutica muy importante, es importante conocer los riesgos que conlleva, ya que, en algunos estudios se ha observado una correlación entre una punción lumbar traumática el riesgo de infiltración leucémica al sistema Nervioso Central, por lo tanto es importante realizar estudios que esclarezcan esta relación, para, de ser necesario, desarrollar mejores métodos de diagnóstico y tratamiento para la Infiltración leucémica al sistema nervioso central.

También se han usado marcadores bioquímicos asociados a infiltración a SNC, como la Osteopontina, pero poco se sabe si la elevación en sus niveles correlaciona con el hallazgo de blastos en líquido cerebroespinal por medio de citometría de flujo o estudio histopatológico.

4 JUSTIFICACIÓN

La infiltración al sistema nervioso central por células leucémicas en los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda continúa siendo una causa importante de morbilidad, además de que el sistema nervioso central puede actuar como un santuario que limita el tratamiento con quimioterapia pudiendo ocultar células leucémicas con potencial para recaídas sistémicas de la enfermedad, es por esta razón que el diagnóstico temprano y preciso es de suma importancia pudiendo influir en el pronóstico de los pacientes, al ser la punción lumbar un método invasivo es importante conocer el

riesgo de desarrollar infiltración leucémica al Sistema Nervioso Central asociado a punciones lumbares traumáticas previas.

5 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el riesgo de infiltración leucémica al Sistema Nervioso Central asociado a punciones lumbares traumáticas previas en el tratamiento de los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda tratados en el Hospital General de México.

6 OBJETIVOS SECUNDARIOS

Conocer la prevalencia de Infiltración leucémica al Sistema Nervioso Central en los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda tratados en el Hospital General de México.

Conocer si los factores de mal pronóstico como cuenta de leucocitos iniciales, presencia de BCR/ABL por PCR o edad aumentan el riesgo de infiltración al sistema nervioso central.

Conocer si una cifra de plaquetas inicial menor a $100 \times 10^9/L$ aumenta el riesgo de infiltración al sistema nervioso central relacionado con punciones lumbares traumáticas.

7 HIPÓTESIS

Los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda pueden debutar con infiltración al sistema Nervioso Central hasta en un 10%, según diferentes reportes internacionales, y en ausencia de tratamiento profiláctico dirigido pueden desarrollarla hasta en un 50%, por lo tanto es importante recalcar que todos estos pacientes deben recibir alguna modalidad de profilaxis, en estos momentos lo más aceptado es la aplicación de quimioterapia intratecal a través de una punción lumbar, pero existen otras opciones como dosis altas de quimioterapia sistémica o radioterapia.

Algunos estudios en pacientes pediátricos han encontrado un aumento en el riesgo de infiltración leucémica al Sistema Nervioso Central relacionado con el desarrollo de una punción lumbar traumática sobretodo al momento del diagnóstico, por lo tanto nuestra hipótesis es que:

Si encontramos en el registro de tratamiento de los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda la presencia de una o más punciones lumbares traumáticas, entonces estos pacientes se expusieron a un mayor riesgo de infiltración leucémica al Sistema Nervioso Central.

8 METODOLOGÍA

8.1 TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio analítico, observacional, transversal, retrospectivo.

8.2 POBLACIÓN Y TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se estudiará a la población de pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda en el Distrito Federal, la muestra será seleccionada en aquellos pacientes con dicho diagnóstico, tratados en el Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga desde enero del 2011. En el 2000 se diagnosticaron 238 casos nuevos de Leucemia Linfoblástica Aguda en el Distrito Federal ⁽²⁰⁾, por lo tanto para una población de 238 casos con un nivel de confianza de 95%, la muestra recomendada sería de 148 sujetos.

8.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN.

Criterios de Inclusión

- Pacientes con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda de novo tratados en el Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga con el protocolo institucional LAL 2007.
- Pacientes que hayan recibido como parte del protocolo de tratamiento, punción lumbar con quimioterapia intratecal, para prevenir infiltración al Sistema Nervioso Central.

Criterios de exclusión

- Pacientes con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda en recaída.
- Pacientes con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda que hayan sido tratados previamente en otra institución.
- Pacientes que debutaron con Infiltración leucémica al Sistema Nervioso Central, previo al tratamiento profiláctico con punciones lumbares.

Criterios de eliminación

- Pacientes que hayan abandonado el tratamiento o se hayan trasladado a otra institución.

8.4 VARIABLES

Variable dependientes	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Valores
Infiltración a SNC en líquido cefalorraquídeo	Punción lumbar no traumática con más de 5 leucocitos por ul con blastos	Cualitativa	Dicotómica	1: Infiltrado 0: No infiltrado

Tabla 3. Variables Dependientes

Variable independientes	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Valores
Punción Lumbar traumática	Punción lumbar con más de 10 eritrocitos por microlitro	Cualitativa	Dicotómica	1: traumática 0: no traumática
Citogenética de mal pronóstico (presencia de cromosoma filadelfia o BCR/ABL positivo)	Alteraciones en el cariotipo al momento del diagnóstico	Cualitativa	Dicotómica	1: mal pronóstico 0: no mal pronóstico
Edad al momento del diagnóstico	Tiempo transcurrido desde el nacimiento de un ser vivo	Cuantitativa	Continúa	0-100 años
Leucocitos iniciales	Cantidad de globulos blancos en sangre periférica al diagnóstico	Cuantitativa	Continúa	Células X 10 ⁹ /L
Plaquetas iniciales	Cantidad de plaquetas en sangre periférica al diagnóstico.	Cuantitativa	Continúa	Células x 10 ⁹ /L
Sexo	Condición orgánica que distingue a los machos de las hembras	Cualitativa	Dicotómica	1: Hombre 0: Mujer

Tabla 4. Variables Independientes

8.5 PROCEDIMIENTO

Se revisaron los archivos históricos de pacientes con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda desde enero del 2011, tratados con el protocolo institucional LAL 2007 que hayan recibido como parte del mismo profilaxis para evitar infiltración al sistema nervioso central con administración de quimioterapia intratecal.

Se revisó el archivo histórico de los resultados del análisis de líquido cefalorraquídeo para poder clasificar si los pacientes presentaban punción lumbar traumática o células leucémicas en el líquido cefalorraquídeo.

8.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un test de X^2 de para variables cualitativas y T de Student para variables cuantitativas para evaluar la asociación de al menos una punción lumbar traumática y la infiltración al Sistema Nervioso Central. Se realizó el cálculo de riesgos por Razon de Momios y aquellas que tuvieron plausibilidad biológica se sometieron a análisis de regresión logística para calcular la variable más independiente y estimar su riesgo por Riesgo Relativo.

9 RESULTADOS

Se obtuvieron 77 archivos históricos viables de pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda diagnosticados y tratados en el Hospital General de México Dr Eduardo Liceaga, se encontró una ligera predominancia del sexo masculino con un 57% de los pacientes; la media de edad al diagnóstico fue de 30 años, la cifra media de leucocitos iniciales fue de $40 \times 10^9/L$ (± 10.3), la cifra media de plaquetas iniciales fue de $54 \times 10^9/L$ (± 8.8); se encontró la presencia de BCR/ABL en un 4% de los pacientes, el marcador de inmunofenotipo que más se identificó fue CD10 con un 62%; se identificó un 38% de pacientes en recaída a médula ósea al momento del análisis.

En cuanto a las punciones lumbares; la media de líquidos traumáticos fue de 2 (1-3) y se encontró un total de 8 pacientes (10%) con infiltración al sistema nervioso central.

VARIABLE	NUMERO DE PACIENTES (PORCENTAJE O MEDIA (DESVIACIÓN ESTANDAR))
Sexo	
Hombre	44(57%)
Mujer	33(43%)
Edad (años)	30 (± 1.4)
Número de líquidos traumáticos	2 (1-3)
Leucocitos iniciales ($\times 10^9/L$)	40 (± 10.3)
Plaquetas ($\times 10^9/L$)	54 (± 8.8)
BCR/ABL(si)	3 (4%)
CD 20 (si)	15(20%)
CD 10	48(62%)
MPO	2 (2.5%)
CD13	1(1.3%)
CD33	2 (2.6%)
Recaída a Médula ósea	29 (38%)
Total de infiltrados a SNC	8(10%)

Tabla 5. Tabla general de resultados

Al realizar el cálculo del riesgo de las diferentes variables a estudiar se encontró de manera significativa un aumento en el riesgo de infiltración leucémica al sistema nervioso central asociado a la presencia de al menos un líquido cefalorraquídeo traumático (OR de 1.1, IC 95% 1-1.3, p= 0.02) también se encontró un aumento significativo en el riesgo de infiltración leucémica al sistema nervioso central y la presencia de trombocitopenia con cifra inicial de plaquetas menor a $100 \times 10^9/L$. (OR de 1.1, IC 95% 1-1.2, p= 0.05).

No se encontró relación significativa entre infiltración leucémica al Sistema Nervioso Central y la edad, el sexo, cuenta de leucocitos iniciales, presencia de BCR/ABL, o de algún marcador de inmunofenotipo.

Variable	Infiltrados N=(8)	No infiltrados N=(69)	OR	IC-95%	Valor de p
Sexo masc	6(75%)	38 (55%)	2.4	0.4-12	0.2
Edad mayor de 35	2(25%)	23(33%)	1.4	0.3-6.6	0.4
Algún líquido traumático	6(75%)	0(0%)	1.1	1-1.3	0.02
BCR/ABL	1(12%)	2(3%)	4.7	0.3-59	0.2
CD20	1(12%)	14(20%)	0.5	0.06-4.9	0.5
CD10	5(62%)	43(62%)	1	0.2-4.5	0.6
CD13	1(12%)	1(1.4%)	0.8	0.8-1.2	0.8
CD33	1(12%)	2(3%)	0.8	0.8-1.4	0.8
Leuc iniciales mayores a $100 \times 10^9/L$	1(12%)	10(15%)	1.1	0.1-8.5	0.6
Plaquetas iniciales menores a $100 \times 10^9/L$	8(100%)	56(81%)	1.1	1-1.2	0.05

Tabla 6. Tabla de Riesgos

Al realizar el análisis de la regresión logística de las diferentes variables se encontró un aumento en el riesgo relativo de infiltración leucémica de 4.2 por cada punción lumbar traumática previa (IC 95% 1.5-12, p= 0.006) se encontró también un riesgo relativo de 3.5 (IC95% 2-16, p= 0.04) relacionado con una recaída a médula ósea y un riesgo relativo de 1.5 (IC 95% 1.1-32, p= 0.07) relacionado con una cifra de plaquetas inferior a $100 \times 10^9/L$.

Variable	RR	IC-95%	Valor de p
Número de punciones traumáticas	4.2	1.5-12	0.006
Tener recaída a médula ósea	3.5	2-16	0.04
Plaquetas menor de 100	1.5	1.1-32	0.07

Tabla 7. Regresión logística

10 DISCUSIÓN

La infiltración leucémica al sistema Nervioso Central es una causa de morbilidad muy importante en los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda, en esta revisión encontramos una tasa de infiltración leucémica al sistema nervioso central de un 10%, lo cual concuerda con las estadísticas reportadas en otras series internacionales como los presentados por el grupo francés GET-LALA que reporta una incidencia del 15% al momento del diagnóstico y del 15% al momento de la primera recaída a médula ósea⁽²¹⁾, de igual forma son similares a los reportados por el grupo MRC UKALL XII/ECOG E2993 quienes encontraron hasta 5% de tasa de infiltración al momento del diagnóstico⁽²²⁾.

En este estudio también se obtuvieron datos similares en cuanto al principal sexo afectado por la Leucemia Linfoblástica Aguda encontrando una incidencia de 57% en el sexo masculino, con 43% en el sexo femenino, en otras poblaciones como la canadiense, se han encontrado tendencias similares⁽²³⁾.

Es bien conocida la relación entre la relación entre el cromosoma filadelfia t(9;22)(q34;q11.2) y un pronóstico adverso en este tipo de pacientes, en este estudio solamente se identificó la presencia de cromosoma filadelfia o de BCR/ABL1 por PCR en un 4% de los pacientes, sin embargo es importante mencionar que no fue posible realizar la búsqueda dirigida a todos los pacientes ya sea por cariotipo convencional, FISH o PCR, y es por este motivo que nuestro resultado varíe con los presentados a nivel internacional, los cuales han demostrado la presencia del cromosoma filadelfia en adultos hasta en más del 30-40%⁽²⁴⁾.

En este estudio no encontramos algún marcador de inmunofenotipo asociado a un mayor riesgo de infiltración a sistema nervioso central, el más frecuente fue CD 10 con un 62%, el cual se presenta predominantemente en el fenotipo B, sin embargo puede llegar a expresarse también en el fenotipo T. En otros estudios se ha encontrado asociación entre la expresión de antígenos como CD 56 y el aumento en el riesgo de infiltración al sistema nervioso central⁽²⁵⁾, en nuestro estudio, muy probablemente el panel limitado de marcadores no permitió la búsqueda de este antígeno, pero puede ser un campo de investigación a futuro.

Al realizar el cálculo del riesgo de las diferentes variables, y su relación con la infiltración leucémica al Sistema Nervioso Central, solo encontramos asociación significativa entre la presencia de algún líquido cefalorraquídeo traumático (OR 1.1, IC 95% 1-1.3, p= 0.02) así como la presencia de trombocitopenia menor a $100 \times 10^9/L$ (OR 1.1, IC95% 1-1.2, p= 0.05). En otras series se ha reportado un riesgo aumentado cuando los pacientes debutan con hiperleucocitosis⁽²¹⁾, sin embargo en nuestro

grupo de estudio no fue posible encontrar una asociación, lo que puede estar asociado a una baja incidencia de leucemia linfoblástica con inmunofenotipo T en nuestro grupo.

Si bien el OR para las punciones lumbares traumáticas con su relación a infiltración al Sistema Nervioso Central resultó bajo (OR= 1.1) al realizar el análisis de regresión logística, se encontró un RR de infiltración al SNC de 4.2 (1.5-12, IC 95%, $p= 0.006$) lo cual nos sugiere que por cada punción lumbar traumática el riesgo de infiltración leucémica al Sistema Nervioso Central aumenta de manera considerable. Además se encontró que aquellos pacientes que presentaban una recaída a médula ósea presentaban un riesgo significativo (RR= 3.5, IC 95% 2-16, $p= 0.04$) de infiltración al Sistema Nervioso Central, lo que confirma que pacientes con recaída a médula ósea tienen factores adversos agregados que pueden contribuir a su mal pronóstico.

11 CONCLUSIONES

La infiltración leucémica en pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda, es una causa de morbilidad muy importante que puede dejar secuelas que incapacitan o merman el desarrollo de las actividades cotidianas de los pacientes, por esta razón es importante conocer los mecanismos por los cuales se desarrolla y de qué manera se puede prevenir.

En la actualidad no hay una terapia estrictamente homogénea a nivel internacional para la profilaxis contra la infiltración leucémica al Sistema Nervioso Central, y de entre las diversas opciones terapéuticas como Radioterapia, dosis altas de quimioterapia sistémica ó punciones lumbares con aplicación de quimioterapia intratecal, esta última es una herramienta poderosa que nos permite a la par hacer diagnóstico y aplicar tratamiento. Sin embargo como cualquier otro procedimiento invasivo no esta exento de riesgo y en diversos estudios se ha encontrado un aumento del mismo de infiltración leucémica en presencia con un líquido cefalorraquídeo traumático, sobretodo en el momento del diagnóstico donde presumiblemente el número de blastos en sangre periférica puede ser mayor.

En nuestro estudio se encontró una relación significativa entre el riesgo de punción lumbar traumática e infiltración leucémica al sistema nervioso central sin importar el tiempo de realización de la punción lumbar, lo cual nos subraya la importancia de que dicho procedimiento se realice por personal altamente capacitado, y acompañado de aplicación de quimioterapia intratecal, buscando el tiempo óptimo para su realización.

Por el momento no podemos prescindir de este procedimiento diagnóstico y terapéutico pero estos hallazgos podrían encaminarnos a la búsqueda o aplicación de diferentes métodos menos invasivos o con menor riesgo para el paciente.

12 ANEXOS



Figura 2. Líquido cefalorraquídeo traumático.

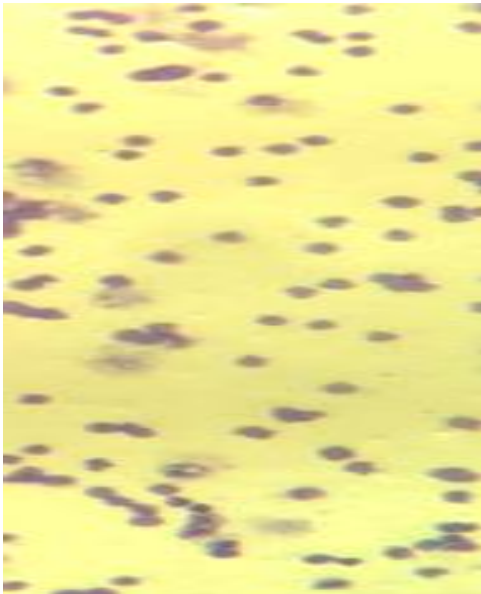


Figura 3. Líquido cefalorraquídeo infiltrado por blastos linfoides.

13 REFERENCIAS

- 1- Swerdlow S., et al. WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC 2008: 167-176.
- 2- Inaba H., et al. Acute Lymphoblastic Leukaemia. *Lancet* 2013; 381: 1943-55.
- 3- Onciu M. Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematol Oncol Clin N Am* 2009; 23: 655–674.
- 4- Harrison, Ch. Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clin Lab Med* 2011;31: 631–647
- 5- Ramos C, et al. Tratamiento de la leucemia linfocítica aguda del adulto. Experiencia de un Hospital en la Ciudad de México. *Rev Med Chile* 2011; 139: 1135-1142.
- 6- Pui Ch, et al. Acute Lymphoblastic Leukaemia. *Lancet* 2008; 371: 1030-43.
- 7- Mrozek K, Harper D, Aplan P, Cytogenetics and Molecular Genetics of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematol Oncol Clin N Am* 2009;23: 991–1010.
- 8- Narayanan S, Shami P. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in adults. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2012;81: 94–102.
- 9- Adamoko D., et al. *Wintrobe's Clinical Hematology*. Lippincott Williams & Wilkins 2009:301-325
- 10- Lee N, Stein H, Coupland S, et al. New Approaches to Lymphoma diagnosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2001: 194-220.
- 11- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the acute leukemias. *Br J Haematol* 1976; 33:451-8.
- 12- Zhou Y, You J, Young K, et al. Advances in the molecular pathobiology of B-lymphoblastic leukemia. *J Humpath* 2012; 43: 1347-1362.
- 13- Jeha S, Pui CH. Risk adapted treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin N Am*. 2009; 23:973-990
- 14- Pascual JM, et al. La barrera hematoencefálica: desarrollo de una estructura que permite la heterogeneidad funcional del sistema nervioso central. *Rev Neurol*. 2004; 38:565-581.
- 15- Price R, Johnson W. The Central Nervous System in Childhood Leukemia: I. The Arachnoid. *Cancer*. 1973;31: 520-533.
- 16- Bürger B, et al. Diagnostic Cerebrospinal Fluid Examination in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia: Significance of Low Leukocyte Counts With Blasts or Traumatic Lumbar Puncture. *Journal of Clinical Oncology*, 2003;21: 184-188.
- 17- Gajjar A, Harrison PL, et al. Traumatic lumbar puncture at diagnosis adversely affects outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 2000; 10: 3381-4.

- 18- Kabelmann-Betzing C, Seeger K, et al. Traumatic lumbar puncture at diagnosis and outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 2001;12: 3496-7.
- 19- Martínez-Laperche C, Gómez-García A, Lassaleta A, et al. Detection of occult cerebrospinal fluid involvement during maintenance therapy identifies a group of children with acute lymphoblastic leukemia at high risk for relapse. *American Journal of Hematology*. 2013;88: 359-364.
- 20- Ortega MA, Osnaya ML, Rosas JV. Leucemia Linfoblástica Aguda. *Medicina Interna de México*;23: 26-33
- 21- Reman O, et al. Central nervous system involvement in adult acute lymphoblastic leukemia at diagnosis and/or at first relapse: Results from the GET-LALA group. *Leukemia Research*. 2008; 32: 1741-1750.
- 22- Lazarus HM, et al. Central nervous system involvement in adult acute lymphoblastic leukemia at diagnosis: Results from the international ALL trial MRC UKALL XII/ECOG E2993. *Blood*. 2006; 108: 465-472.
- 23- Pole J, et al. Differential survival improvement for patients 20-29 years of age with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia Research*.2013;37: 1258-1264.
- 24- Ravandi F, Kebriaei P. Philadelphia Chromosome-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematol Oncol Clin N Am*. 2009; 23: 1043-1066.
- 25- Ravandi F, Cortés J, et al. CD56 expression predicts occurrence of CNS disease in acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia Research*. 2002;26: 643-649.