



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**“FRECUENCIA DE ALTERACIONES CITOGENÉTICAS
DIAGNOSTICADAS POR RT-PCR EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON
LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA Y MIELOBLÁSTICA AGUDA EN EL
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA”**

**T E S I S
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN ONCOLOGÍA PEDIÁTRICA**

P R E S E N T A:

DRA. CAROLINA LEÓN PIÑA

TUTOR: DRA. MARTA ZAPATA TARRÉS

MÉXICO, D. F.

2015.





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.

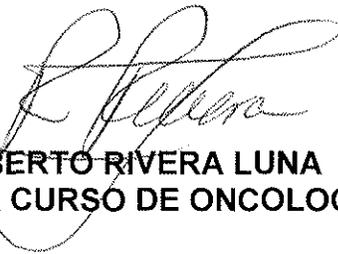
**“FRECUENCIA DE ALTERACIONES CITOGENÉTICAS DIAGNOSTICADAS
POR RT-PCR EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON LEUCEMIA
LINFOBLÁSTICA Y MIELOBLÁSTICA AGUDA EN EL INSTITUTO NACIONAL
DE PEDIATRÍA”**



**DRA. ROSAURA ROSAS VARGAS
DIRECTORA DE ENSEÑANZA**



**DR. MANUEL ENRIQUE FLORES LANDERO
JEFE DE DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO**



**DR. ROBERTO RIVERA LUNA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ONCOLOGÍA PEDIÁTRICA**



**DRA. MARTA ZAPATA TARRÉS
TUTOR DE TESIS**

AGRADECIMIENTO

**A MI ESPOSO LUIS FERNANDO YERBES MENDEZ POR SU APOYO
INCONDICIONAL**

A MI HIJA ADORADA ANA LUISA YERBES LEON

**A MIS PADRES MARIA DEL CARMEN PIÑA RODRIGUEZ Y ROBERTO LEON
SOLANO**

INDICE

RESUMEN.....	1-2
SUMMARY.....	3-4
INTRODUCCIÓN.....	5-6
ANTECEDENTES CIENTIFICOS.....	7-19
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	20
JUSTIFICACIÓN.....	20
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	20
OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS.....	21-23
METODOLOGÍA.....	23
VARIABLES.....	24
CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	25
RECURSOS.....	25
RESULTADOS.....	26-35
DISCUSIÓN.....	36-38
CONCLUSIÓN.....	38-39
CRONO.GRAMA DE ACTIVIDADES.....	39
REFERENCIAS.....	40-45
ANEXOS.....	46-47

RESUMEN

OBJETIVO: Conocer la frecuencia de alteraciones citogenéticas diagnosticadas por RT-PCR en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica y mieloblástica aguda en el Instituto Nacional de Pediatría.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo, retrolectivo, observacional y transversal, siendo la población de este estudio los niños menores de 18 años con leucemia linfoblástica y mieloides aguda que ingresaron en el INP del 1 de enero de 2005 al 30 de Junio de 2015. Se describió la frecuencia de las traslocaciones $t(1;11)(p32;q23)$, $t(1;11)(q21;q23)$, $t(1;19)(q23;p13)$, $t(3;5)$, $t(3;21)$, $t(4;11)(q21;q23)$, $t(5;12)$, $t(5;17)$, $t(6;9)(p23;q34)$, $t(6;11)$, $t(8;21)(q22;q22)$, $t(9;9)$, $t(9;11)(p22;q23)$, $t(9;12)(9p11-p12;p12)$, $t(9;22)$, $t(10;11)(p12;q23)$, $t(11;17)(q23;q21)$, $t(11;19)(q23;q13),11q23$, $t(12;21)(p12;q22)$, $t(12;22)$, $t(15;17)(q22;q12)$, $t(16;21)$, $t(17;19)$, $t(X;11)$, inversión del cromosoma 3(q21;q26.2), inversión del cromosoma 16(p12;q22), rearrreglo en la secuencia del gen TAL1 en pacientes con LA detectado por RT-PCR. Se analizó las variables de sexo, edad, clasificación de leucemia linfoblástica y mieloblástica; año en que se realizó el diagnóstico y la ciudad de origen de los pacientes.

RESULTADOS: Se encontró que para LLA, el sexo más frecuente fue el masculino (49%), el grupo de edad más frecuente fue el de 3 a 5 años (34.09%), dentro la clasificación por riesgo se reportó que la leucemia de alto riesgo fue la más frecuente (66%) y la de linaje B (92.78%) mayor que la T, el año de mayor diagnóstico fue el 2010 y la entidad de la cual proviene el mayor número de pacientes fue de la ciudad de México con un total de 143 pacientes, dado por la ubicación de este Instituto, sin representar ninguna frecuencia por entidad federativa. Dentro del grupo de pacientes con LLA la alteración citogenética más común fue $t(12;21)(p13q22)$ (34.54%). En LMA el género más frecuente fue el sexo masculino en un 56%; la edad de mayor frecuencia de presentación fue de 13 a 15 años, (24.74%); de acuerdo a la clasificación FAB de leucemia mieloblástica aguda en este estudio la leucemia mieloides M4 fue la de mayor presentación con un 31.95%; el lugar de origen más frecuente de los pacientes fue el distrito federal

seguido por la el estado de México, al igual que en LLA no representa ninguna frecuencia por entidad federativa; el año con mayor número de casos reportados fue en 2008. La alteración citogenética más común en LMA fue t(15;17) en un 44.89%.

CONCLUSION: En la LLA es más frecuente el sexo masculino con una relación de 1.4:1, la edad más frecuente de 3 a 5 años de edad. Con lo que respecta a la LMA se reportó al sexo masculino como el más frecuente, la edad más frecuente de 13 a 15 años; el subtipo de mayor presentación la M4. Las alteraciones genéticas más frecuentes en los pacientes con LLA en el INP fueron la t(12;21)(p13q22) en un 34.54%, seguida de t(9;22) con un 27.27%, en tercer lugar le correspondió a la t(1;19) en un 25.45%. Para la LMA la alteración citogenética más común en un 44.89% fue t(15;17), seguida de t(8;21) con 18.36%, en tercer lugar le corresponde a la Inv(16) en 12.24%. Así mismo nos ha permitido la identificación de alteraciones que se relacionan a un mal pronóstico como lo es la traslocación t(11;19)(q23p13.3), siendo de gran importancia su identificación ya que en un futuro podría modificarse el tratamiento de estos pacientes mejorando su respuesta al tratamiento y por lo tanto el pronóstico de los mismos.

SUMMARY

OBJECTIVE: Describe the Frequency of cytogenetic abnormalities diagnosed by RT-PCR in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia and myeloblastic at the National Institute of Pediatrics.

MATERIALS AND METHODS: We perform a descriptive, retrospective, retrolective, observational and cross selectional study, the target population of this study was children under 18 years with acute lymphoblastic leukemia and acute myeloid who entered the INP of January 1th of 2005 to Jun 30th of 2015. We described the frequency of translocations t(1;11)(p32;q23), t(1;11)(q21;q23), t(1;19)(q23; p13), t(3;5), t(3;21), t(4;11)(q21;q23), t(5;12), t(5;17), t(6;9)(p23;q34), t(6;11), t(8;21)(q22;q22), t(9;9), t(9;11)(p22;q23), t(9;12)(9p11-p12;p12), t(9;22), t(10;11)(p12;q23), t(11;17)(q23;q21), t(11;19)(q23;q13), 11q23, t(12;21)(p12;q22), t(12;22), t(15;17)(q22;q12), t(16;21), t(17;19), t(X;11), inversion of chromosome 3 (q21 ; q26.2), inversion of chromosome 16 (p12; q22), rearrangements in the gene sequence TAL1 in patients with detected by RT-PCR. The variables of sex, age, lymphoblastic and myeloid leukemia classification was analyzed; year of diagnosis and the city of origin of the patients was performed.

RESULTS: We found in this study to ALL that the most frequent patients were male (49%), the group of most frequent age was that of 3-5 years (34.09%) within the classification risk is reported that leukemia high risk was the most frequent (66%) and B-lineage (92.78%) than T, the year of greatest diagnosis was in 2010 and the entity of which comes the highest number of patients was Mexico city with a total of 143 patients, given for the location of this institute, without representing any frequency by state. Within the group of patients with ALL the most common cytogenetic abnormality was t (12; 21) (p13q22) (34.54%). In AML the most common male gender was 56%, the most frequent age at presentation was that of 13-15 years old in 24.74%; according to the FAB classification of acute myeloid leukemia in this study M4 myelogenous leukemia was the most comun presentation with a 31.95%,

the original site of the patients was federal district followed by the state of Mexico, as in ALL does not the frequency does not represent any frequency by state; the year highest number of reported cases was 2008. The most common cytogenetic alteration in AML was t (15; 17) in a 44.89%.

CONCLUSION: In the ALL the most common sex was male with a ratio of 1.4: 1, the highest age range was 3 to 5 years old. With regard to AML was reported that male sex was the most frequent, the largest age group was 13 to 15 years; the presentation was more subtypes M4. The state of Mexico and the Federal District were the states with the largest number of cases treated. The most frequent genetic alterations in patients with ALL in the INP were the t (12; 21) (p13q22) in a 34.54%, followed by t (9; 22) with a 27.27%, thirdly it corresponded to t (1; 19) in a 25.45%. LMA for the most common cytogenetic alteration in a 44.89% was t (15; 17), followed by t (8; 21) with 18.36%, in third place corresponds to Inv (16) at 12.24%. It also allowed us to identify changes that are related to a poor prognosis such as the translocation t (11; 19) (q23p13.3) is of great importance since its identification in the future could change the treatment of these improving patient response to treatment and the outcome thereof.

INTRODUCCIÓN

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 Linfoblástica Aguda (LLA) y Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA).¹

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 solo contribuye al diagnóstico de las mismas sino que la información que aporta suele constituir un factor pronóstico de primer nivel.¹

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 humanas.¹

En el caso de las leucemias agudas, se estima que hasta en el 60% existe una alteración cromosómica, principalmente traslocaciones, inversiones, deleciones, monosomías y trisomías.¹ Se piensa estas influyen directamente en el pronóstico del paciente, ya que se relaciona con la respuesta al tratamiento.

La identificación de alteraciones genéticas específicas es actualmente un elemento indispensable para la subclasificación de las leucemias en distintos grupos pronósticos para su adecuado tratamiento. Las alteraciones citogenéticas más frecuentes en neoplasias hematológicas son los rearrreglos y puntos de ruptura (translocaciones e inversiones cromosómicas), deleciones y aberraciones numéricas cromosómicas (monosomías, trisomías, etc.). Estas alteraciones se identifican con el cariotipo o por estudios de biología molecular. Hoy sabemos

que las alteraciones genéticas de las neoplasias son, generalmente, los agentes causales de la patología y definen distintos comportamientos biológicos, que se traducen obviamente en distintos comportamientos clínicos y finalmente en pronósticos muy variables. Un ejemplo claro de ello es el caso de LMA donde estas alteraciones están bien caracterizadas como favorables, intermedio o adversas. Así como su categorización se ha publicado por ciertos grupos.

Algunas anomalías estructurales primarias de mayor relevancia en LLA serán descritas, ejemplo de ellas $t(1;19)$, $t(9;22)$, $t(12;21)$ etc., cuyas frecuencias fueron reportadas por Look TA. Otras alteraciones pero de la LMA como la $t(8;21)$, $t(15;17)$, $Inv(16)$, $t(16;16)$, monosomía 7, que sus frecuencias fueron reportadas por Raimondi SC; Potter AM.

ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

El primer artículo publicado de leucemia en la literatura médica data de 1827, cuando un médico francés llamado Alfred-Armand-Louis-Marie Velpeau descubrió el caso de una florista de 63 años de edad con una enfermedad cuyos principales síntomas eran fiebre, debilidad, cálculos renales y hepato-esplenomegalia. Velpeau advirtió que la sangre de esta paciente tenía una consistencia semejante a la “papilla de avena” e hipotetizó que este aspecto de la sangre era debido a los glóbulos blancos. En 1845, el patólogo J.H Bennett reportó una serie de casos similares de pacientes que fallecieron con esplenomegalia y cambios “en el color y consistencia de la sangre”. Bennett utilizó el término “leucocitemia” para describir esta condición patológica^{1, 48}.

El término “leucemia” fue acuñado por Rudolf Virchow, el renombrado patólogo alemán, en 1856. Pionero en el uso del microscopio óptico en el campo de la patología. Virchow fue el primero en describir el anormal exceso de glóbulos blancos en pacientes con el síndrome clínico descrito por Velpeau y Bennett. Virchow no estaba seguro de la causa que producía el exceso de glóbulos blancos, por lo que decidió utilizar el término puramente descriptivo de “leucemia” (del griego sangre blanca), para darle el nombre a esta patología^{1, 48}.

Los avances en la comprensión de la LMA progresaban con el desarrollo de las nuevas tecnologías. En 1877, Paul Ehrlich desarrolló una serie de técnicas de tinción de células sanguíneas que le permitieron describir en detalle y diferenciar los glóbulos blancos normales y anormales. Wilhelm Ebstein introdujo el término “leucemia aguda” en 1889 para diferenciar las leucemias progresivas de las leucemias crónicas. El término “mieloide”, fue acuñado por Neumann en 1869, tras ser el primero en determinar que los glóbulos blancos provenían de la médula ósea (del riego myelos= médula) y no del bazo. Fue Mosler quien, diez años más tarde (1879), describía por primera vez una técnica para examinar la médula ósea y diagnosticar la leucemia. Finalmente en el año de 1900, Naegli caracterizó los

mieloblastos, que pertenecen a la estirpe celular afectada en la LMA, y dividió los tipos de leucemia en mieloides y linfoides, según la estirpe celular sanguínea que se viera afectada. 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 Linfoblástica Aguda (LLA) y Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA).^{1, 48}

Constituyen la entidad neoplásica maligna más frecuente de la edad pediátrica. La LLA representa cerca del 75% de las leucemias agudas pediátricas. La incidencia de LLA 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 predominio de los pacientes del sexo masculino sobre el femenino.ⁱ La exposición a radiación ionizante se ha establecido como un factor ambiental que predispone al desarrollo de leucemia, en especial LMA. El riesgo de LLA 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 LLA 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 LLA.ⁱⁱ

El desarrollo de LLA, 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 LLA basado en la etapa de diferenciación de las células linfoides en las que ocurre el evento.²

Las manifestaciones clínicas se relacionan con la infiltración de los blastos en la médula ósea, el sistema linfático y/o sitios extra medulares, 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 tratamiento.

El diagnóstico definitivo de Leucemia se basa en la demostración de una blastosis medular que iguale o supere el 25% de la totalidad celular, el estudio morfológico, citoquímico, inmunológico y citogenético detallado es fundamental para etiquetar el tipo de leucemia aguda.

El cáncer es un problema de salud mundial y nacional dado que representa la segunda causa de mortalidad infantil, solo después de los accidentes en los pacientes pediátricos de 4 a 18 años de edad.⁴

El cáncer en menores de 18 años difiere significativamente del que se presenta en la edad adulta. De acuerdo a estadísticas recientes de Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos, la tasa de sobrevivida a 5 años de los niños diagnosticados con cáncer ha llegado al 77%.⁵

En la población pediátrica, los principales tipos de cáncer son las leucemias, los tumores de sistema nervioso central (SNC) y los linfomas.⁶ A nivel mundial se habla de una incidencia de cáncer en la edad pediátrica de 100 a 180 por cada 1,000,000 de niños por año, con variantes en cada país.^{1,2}

Las leucemias agudas son enfermedades monoclonales que se originan en la médula ósea, caracterizadas por crecimiento incontrolado de formas celulares inmaduras de componentes sanguíneos llamados blastos. En México la tasa de incidencia se ha incrementado de 7.75 a 44.9 casos por millón de niños en los últimos años, representando de las mayores tasas de incidencia.⁷

Desde un punto de vista morfológico se han dividido en Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) y Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA). Constituyen la entidad

neoplásica maligna más frecuente en la edad pediátrica. En México, las leucemias agudas representan alrededor de 40% de todas las neoplasias, mientras que en otros países constituyen entre 30 y 34%.⁸

1.- Leucemias Linfoblástica Aguda

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) se define como una alteración genética que tiene como consecuencia la proliferación monoclonal de células precursoras de células de serie linfoide o de los glóbulos blancos. Es el cáncer más frecuente en la edad pediátrica con una incidencia entre 3 y 4 pacientes por cada 100,000 por año. Cada año se diagnostican alrededor de 2500 a 3000 niños. El pico de presentación es alrededor de los cuatro años. En México la incidencia es de 50 casos por millón de habitantes por año, con una prevalencia del 60 – 70%, de lo cual un 75% corresponde a leucemia linfoblástica.⁹

En pediatría, la edad más frecuente de presentación es dentro del grupo de edad de 3 a 5 años. Aproximadamente 2,400 niños y adolescentes menores de 20 años son diagnosticados con LLA cada año en los Estados Unidos, existiendo un aumento gradual de su incidencia en los últimos 25 años.¹⁰

Existen algunas enfermedades en las cuales la incidencia de ésta enfermedad es mayor (síndrome de Down, síndrome de Bloom, anemia de Fanconi, síndrome de ataxia-telangiectasia).^{11,12,13} Así mismo están descritos algunos factores que se han considerado predisponentes como son la exposición a insecticidas o el ser producto de madre fumadora durante el embarazo.⁵ El cuadro clínico es variable sin embargo los signos y síntomas más comunes son la palidez de tegumentos, la presencia de hematomas, petequias y hepatomegalia. En los estudios de laboratorio se observan alteraciones en la biometría hemática (anemia, trombocitopenia, leucopenia o leucocitosis).¹⁴

La sospecha diagnóstica de LLA se basa en la identificación de síndromes sugestivos como síndrome infiltrativo, hemorrágico, anémico y síndrome febril. El diagnóstico se hace con base en las manifestaciones clínicas, exploración física y hallazgos de laboratorio. El estándar de oro para el diagnóstico es el aspirado de médula ósea, donde se deben realizar estudios de morfología, inmunohistoquímica, fenotipo y de biología molecular y se establece al encontrar más del 25% de blastos de características linfoides en la médula ósea; se clasifica con base en los siguientes aspectos:

Morfológico: la clasificación se hará en base a los criterios internacionales. Inmunológico: las LLA serán clasificadas desde este punto de vista en precursor de células B (80-85%), (pre B tempranas, pre B y pre B transicional); B maduras, células T, de acuerdo al porcentaje de positividad de los anticuerpos monoclonales. Genética: alteraciones numéricas, las leucemias serán clasificadas en grupos de ploidía y las alteraciones estructurales cromosómicas, se dividirán en traslocaciones (que son las más frecuentes), deleciones, inversiones, etc.¹⁵ Tomando en cuenta indicadores clínicos y paraclínicos los casos serán clasificados en cuatro grupos de riesgo lo que servirá para determinar el tipo de tratamiento a recibir (Tabla 1).^{16,17,18}

TABLA 1.- Clasificación de la LLA por riesgo

RIESGO	Riesgo estándar	Riesgo alto
Edad	1 a 9 años	<1 y >10 años
Género*	Cualquiera	Cualquiera
Infiltración Extramedular*	Ausente	Presente
Leucocitos	<50,000 uL	>50,000
FAB*	L1 y L2	L3
Inmunofenotipo	Precursor B CD10- o +	B madura, T

Genética	Cariotipo normal, pseudodiploidia. Una o dos de las trisomías (4,10, o 17), t(1:19) 1 a 1.15	Hipodiploidia (30 a 43 cromosomas)
Índice ADN	1 a 1.5	< 0.8
RT – PCR	E2A/PBX1	
Respuesta al esteroide	<1000 blastos en sangre periférica en el día 7 de la ventana	>1000 blastos en sangre periférica en el día 7 de la ventana
Citorreducción Temprana	MO en M 1 al día 14 de la inducción	MO en M 2 en el día 14 de la inducción
Enfermedad Mínima residual	< 10 ⁻³ a las semanas 5 y 12	>10 ⁻² a las semanas 5 y 12

* datos indirectos, sin peso independiente

El tratamiento de las LLA se divide en tres fases principales: la inducción a la remisión, la consolidación y el mantenimiento. La inducción a la remisión y la consolidación son comunes en los dos esquemas de tratamiento (riesgo habitual y alto riesgo), diferenciándose estas en el mantenimiento. La supervivencia de éstos pacientes ha aumentado de manera muy significativa en los últimos 30 años siendo actualmente superior del 70% hasta 85% en algunos grupos.¹⁹

2. - Leucemias Mieloides Agudas

Las Leucemias Agudas Mieloides (LMA) se definen como la proliferación maligna de blastos con diferenciación mielóide, diagnosticándose cuando existen más de 20% de mieloblastos en la médula ósea de acuerdo a la Organización mundial de la Salud (OMS). La LMA representa el 15-20% del total de leucemias en la infancia.²⁰

Esta leucemia (LMA) ha sido clasificada en 8 subtipos por el grupo cooperativo francés, americano y británico (FAB), basándose en la morfología y en la tinción histoquímica, lo que ha mejorado el conocimiento de esta enfermedad, de sus bases moleculares y su biología, desarrollándose mejores estrategias terapéuticas (Tabla 2).^{21,22,23}

TABLA 2. Clasificación FAB para LMA

TIPO	NOMBRE	MORFOLOGÍA	HISTOQUÍMICA
MO	Indiferenciada	Blastos grandes, agranulares, indiferenciados. >90% blastos	MP- SN B – ^b
M1	Mieloblástica aguda sin maduración	Indiferenciada, >90% blastos, <10% promielocitos /monocitos	MP+, SN+, PAS-
M2	Mieloblástica aguda con maduración	> 30% y < 89% blastos; >10% promielocitos, mielocitos; <20% monocitos	MP+, SN+, PAS-
M3	Aguda promielocítica hipergranular	>20% de promielocitos anormales hipergranulares, Cuerpos de Auer presentes	MP+, SN+, PAS-
M3	Aguda promielocítica variante micro granular	Fina granularidad del citoplasma en los promielocitos, núcleos bilobulados.	MP+, SN+, PAS-
M4	Aguda mielomonocítica	>30% blastos en serie no eritroide, >20% pero <80% monolitos. Monocitos en sangre periférica $>5 \times 10^9$ /L; lisozima >3v lo normal.	MP+, NASDA +
M4Eo	Aguda mielomonocítica con eosinofilia	>5% eosinófilos anormales con gránulos basófilos.	MP+, NASDA+ eosinófilos, PAS+
M5a	Monocítica aguda	>80% células monocíticas son monoblastos, resto son promonocitos/monocitos	MP+, NASDA+
M5b	Monocítica aguda con diferenciación	<80% células monolíticas son monoblastos, el resto son promonocitos/ monocitos.	MP+,NASDA+

M6	Eritroleucemia	>30% de la serie no eritroide son blastos; >50% de la médula ósea son eritroblastos	PAS+, sideroblastos con tinción de Fe ²⁺
M7	Megacarioblástica Aguda	>30% de la serie no eritroide son megacarioblastos; mielofibrosis frecuente	MP-, SN-, NASDA plaquetaria +, MP+ por ME.

Por otro lado el sistema de clasificación de la OMS incorpora, al igual que grupo FAB, información clínica y morfológica, agregándose características inmunofenotípicas, citogenéticas y moleculares, lo cual dificulta su integración a nivel nacional.

Por lo anterior para obtener el correcto diagnóstico se obliga a realizar diversos estudios tales como: evaluación histoquímica (PAS, Sudán negro, esterasa, etc.), inmunofenotipos (antígenos linfocíticos B o T, HLA-DR, etc.) al igual que evaluación citogenética y anomalías moleculares de gran importancia.²⁴ Es por ello que a los niños con LMA deben realizarse idealmente, análisis cromosómicos de la leucemia, pues son importantes marcadores de diagnóstico y pronóstico. Se han identificado anomalías cromosómicas clonales en los blastos de cerca del 75% de los niños con LMA, y son útiles en la definición de los subtipos con características particulares como t(8;21) con M2, t(15;17) con M3, inv (16) con M4 Eo, anomalías 11q23 con M4 y M5, t(1;22) con M7.^{25,26,27} En la literatura internacional se han demostrado la existencia de estos como valores pronósticos.^{28,29,30}

Como factores pronósticos favorables en LMA infantil con los cuales contamos en México, incluimos translocaciones, [t(15;17), t(8;21)], inversiones (inversión del cromosoma 16), cuenta leucocitaria <100x10⁹L, subtipos FAB M1 o M2 con cuerpos de Auer, M3 y M4Eo y remisión completa al primer ciclo de quimioterapia del tratamiento.

Dentro del tratamiento de los pacientes con LMA infantiles se encuentran los basados en el esquema NOPHO 93, mostrando tasas de supervivencia libre de

enfermedad a 5 años alrededor del 50% en distintos grupos.³¹ Existen otros grupos basados en el Medical Research Council y de St Jude.

3. Clasificación inmunológica de las leucemias

Se basa en la tipificación inmunológica mediante la identificación del linaje celular específico, a través de anticuerpos mononucleares, así como el estadio de diferenciación. De acuerdo a la clasificación según los inmunofenotipos se consideran los siguientes tipos: 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 nulo.³²

Alteraciones citogenéticas en leucemias agudas

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 solo contribuye al diagnóstico de las mismas sino que la información que aporta suele constituir un factor pronóstico de primer nivel.³³

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 humanas.³⁴

En el caso de las leucemias agudas, se estima que hasta en el 60% existe una alteración cromosómica, principalmente traslocaciones, inversiones, deleciones, monosomías y trisomías.³⁵ Se piensa estas influyen directamente en el pronóstico del paciente, ya que se relaciona con la respuesta al tratamiento.

La identificación de alteraciones genéticas específicas es actualmente un elemento indispensable para la subclasificación de las leucemias en distintos grupos pronósticos para su adecuado tratamiento. Las alteraciones citogenéticas más frecuentes en neoplasias hematológicas son los rearrreglos y puntos de ruptura (translocaciones e inversiones cromosómicas), deleciones y aberraciones numéricas cromosómicas (monosomías, trisomías, etc.). Estas alteraciones se identifican con el cariotipo o por estudios de biología molecular. Hoy sabemos que las alteraciones genéticas de las neoplasias son, generalmente, los agentes causales de la patología y definen distintos comportamientos biológicos, que se traducen obviamente en distintos comportamientos clínicos y finalmente en pronósticos muy variables.

Las anormalidades cromosómicas tanto estructurales como numéricas se han clasificado recientemente como importante factor pronóstico. Un ejemplo claro de ello es el caso de LMA donde estas alteraciones están bien caracterizadas como favorables, riesgo intermedio y adversas (Tabla 3).^{36,37} Así como su categorización se ha publicado, por ciertos grupos, las prevalencias obtenidas de estas alteraciones (Tabla 4).³⁸

Tabla 3. Subgrupos pronósticos de LMA basados en alteraciones citogenéticas y anomalías moleculares.

Estatus de Riesgo	Citogenéticas	Anormalidades Moleculares
Favorable	t(8;21)(q22;q22) inv(16)(p13.q22), t(16;16)(p13.q22) t(15;17)	Citogenética normal con mutación NPM1 o mutación CEBPA en ausencia de FLT3-ITD
Intermedio	Citogenética Normal t8 t(3;5) t(9;11)(p22q23) Otras no definidos	Mutación de c-KIT con: t(8;21)(q22;q22) o inv(16)(p13.q22), t(16;16)(p13.q22)
Pobre	Cariotipo complejo (>3 anomalías) MK+ Monosomías del 5, del5q Monosomías del 7, del7q Otros 11q23 abnl Inv(3)(q21q26.2), t(3;3)(q21126.2) t(6;9), t(9;22) Anl(17p)	Expresión alta de EVI1 (con o sin lesión citogenética 3q26) Citogenética normal con FLT3-ITD en ausencia de mutación NPM1

Tabla 4. Frecuencia de las alteraciones citogenéticas más comunes en LMA

Rearreglo cromosómico	Frecuencia (%)
Cariotipo Normal	15-30%
t(1;22)(p13;q13)	0-3
inv(3)(q21q26)/t(3;3)(q21;q26)	1-5
Monosomía del 5/del(5q)	1-2.5
t(6;9)(p23;q34)	1-2
Monosomía del 7	1-4.5
del(7q)	1-3
t(7;12)(q36;p13)	3-5
t8	5-10
t(8;16)(p11;p13)	0-2.5
t(8;21)(q22;q22)	7-16
del(9q)	0-4.6
t(9;22)(q34;q11.2)	0-1
t(11q23)/MLL	14-22
t(9;11)(p22;q23)	6-11
t(15;17)(q22;q21)	2-10
inv(16)(p13q22)/t(16;16)(p13;q22)	3-11.6
t(16;21)(p11;q22)	1-3.5
t21	1.5-4.6

La LMA es una enfermedad clínica y genéticamente heterogénea, además de la respuesta inicial del paciente al tratamiento, su pronóstico está determinado por la presencia de anomalías citogenéticas. Varias anomalías citogenéticas recurrentes tales como 11q23 nos ayudan a predecir el resultado de las neoplasias mieloides y leucemias agudas. Hasta ahora se han identificado más de 60 traslocaciones asociadas.³⁹

El ejemplo claro de las diferencias dadas por la presentación de alteraciones cromosómicas está presente por grupos de edad, diferenciando las LLA presentes en niños y adolescentes a la manifestada por adultos. Autores de un reciente

estudio de cohorte en adultos con LMA mostraron que los niños con t(9;11) (p22;q23) con aberraciones adicionales tenían menores tasas de supervivencia global que los que tienen otros subgrupos de LMA.⁴⁰ El análisis detallado de los rearrreglos citogenéticos por varios años ha proveído de información importante para aclarar las incidencias de anomalías individuales y su significancia pronóstica (Figura 1).⁴¹

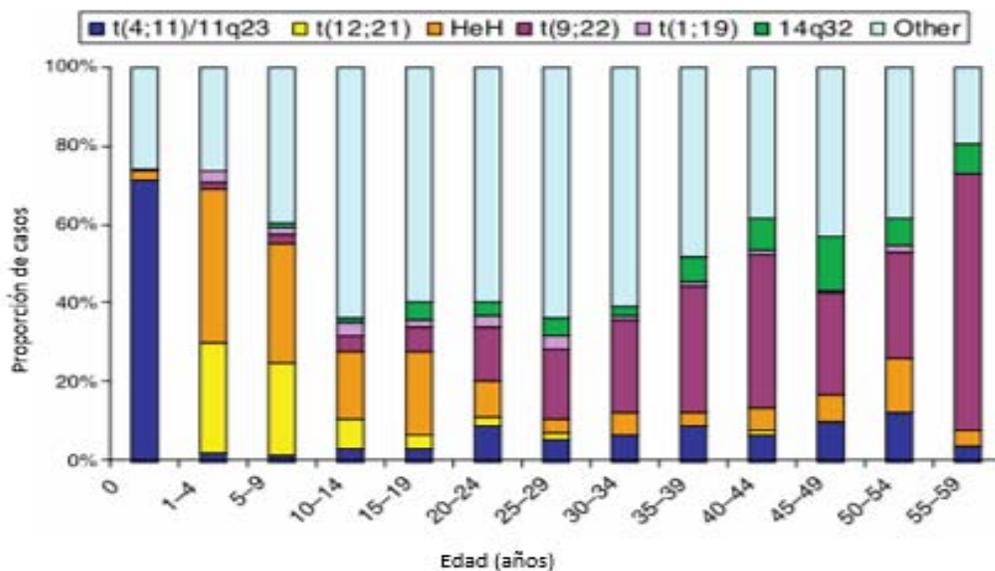


Figura 1. Distribución de las principales alteraciones citogenéticas en LLA acuerdo a subgrupos de edad. HeH:hiperdiploidía.

El estudio de las alteraciones genéticas de este trabajo incluye traslocaciones e inversiones que se buscan de manera rutinaria como t(15;17), inv(16), t(9;22), t(11;17), t(1;19), t(12;21), t(4;11), sin embargo se incluyeron como nuevas las siguientes alteraciones; t(1;11)(q21;q23), t(1;11)(p32;q23), t(1;19), t(3;21), t(3;5), t(4;11), t(5;12), t(5;17), t(6;9), t(6;11), t(8;21), t(9;9), t(9;11), t(9;12), t(9;22), t(10;11), t(11;17), t(11;19) (q23;p13.1), t(11;19)(q23;p13.3), t(12;21), t(12;22), t(15;17), t(16;21), t(17;19), t(X;11); la inv(16), y rearrreglos en la secuencia del gen *TAL1*.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las recomendaciones de la FAB son realizar la clasificación Morfológica, Inmunológica y Citogenética por lo que es de gran trascendencia investigar las alteraciones citogenéticas que se están estudiando en el mundo. Por lo anterior realizamos el siguiente planteamiento; el diagnóstico molecular de las Leucemia agudas en el Instituto Nacional de Pediatría permitirá conocer mejor la epidemiología de las mismas en nuestra población.

JUSTIFICACIÓN

El tener un diagnóstico molecular de las Leucemias (linfoblástica y mieloblástica) es indispensable para su clasificación y por lo tanto para su tratamiento. Lo anterior permitirá que el grupo de pacientes que se clasifican como alto riesgo por no tener el estudio citogenético sea tratado de acuerdo a su riesgo real o incluso ser enviado a trasplante de médula ósea oportunamente. Finalmente el realizar una descripción adecuada de la epidemiología molecular de las Leucemias nos permite comparar nuestros resultados con los realizados a nivel internacional. Así mismo podremos realizar publicaciones de Leucemia en las cuales se exige el diagnóstico molecular.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la frecuencia de alteraciones citogenéticas diagnosticadas por RT-PCR en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica y mieloblástica aguda en el Instituto Nacional de Pediatría?

OBJETIVO GENERAL

Reportar la frecuencia de alteraciones citogenéticas diagnosticadas por RT-P CR en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica y mieloblástica aguda en el Instituto Nacional de Pediatría.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir la frecuencia de la translocación t(1;11)(p32;q23) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(1;11)(q21;q23) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(1;19)(q23; p13) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(3;5) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(3;21) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(4;11)(q21;q23) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(5;12) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(5;17) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(6;9)(p23;q34) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(6;11) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(8;21)(q22;q22) en pacientes con LA detectados por RT-PCR

- Describir la frecuencia de la translocación t(9;9) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(9;11)(p22;q23) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(9;12)(9p11-p12;p12) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(9;22) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(10;11)(p12;q23) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(11;17)(q23;q21) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(11;19)(q23;q13) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación 11q23
- Describir la frecuencia de la translocación t(12;21)(p12;q22) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(12;22) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(15;17)(q22;q12) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(16;21) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(17;19) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la translocación t(X;11) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la inversión del cromosoma 3(q21;q26.2) en pacientes con LA detectados por RT-PCR
- Describir la frecuencia de la inversión del cromosoma 16(p12;q22) en pacientes con LA detectados por RT-PCR

- Describir la frecuencia del rearrreglo en la secuencia del gen TAL1 en pacientes con LA detectado por RT-PCR.

METODOLOGÍA

Tipo de estudio: estudio descriptivo, retrospectivo, retrolectivo, observacional y transversal.

Población objetivo: Niños menores de 18 años con Leucemia linfoblástica y mieloide aguda del Instituto Nacional de Pediatría

Población elegible: Pacientes del Instituto Nacional de Pediatría del 1 de enero del 2005 al 30 de junio del 2015.

Criterios de selección:

Inclusión:

Todos los pacientes con Leucemia linfoblástica y mieloide agudas que hayan ingresado en el Instituto Nacional de Pediatría y que estén registrados en el Archivo Clínico con esos diagnósticos.

Menores de 18 años al momento del diagnóstico.

Expediente con la información necesaria.

No hay criterios de exclusión ni de eliminación

VARIABLES

DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	TIPO	MEDICIÓN	DEFINICIÓN
EDAD	Cuantitativa continua	En años	Número de años del nacimiento al momento del diagnóstico
GÉNERO	Categórica dicotómica	Masculino Femenino	
ALTERACIONES CITOGENÉTICAS	Categórica	t(10;11), t(11;19) (q23;p13.1), t(11;19) (q23;p13.3), t(1;11)(p32;q23), t(1;11)(q21;q23) t(9;11), t(3;21), t(15;17), inv(16), t(9;22), t(6;11), t(11;17), t(X;11), t(1 ;19), t(17;19), t(12 ;21), TAL1, t(8;21), t(3;21), t(16;21), t(4;11), t(9;12), t(5;12), t(12;22), t(6;9), t(9;9), t(3;5), t(5;17)	Variaciones en la estructura, función y comportamiento del material genético (ADN)
TIPO DE LEUCEMIA	Categórica Dicotómica	Linfoblástica Aguda Mieloide Aguda	Serie celular involucrada

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Con base en la declaración de Helsinki, la Ley General de Salud y la Norma Oficial Mexicana NOM- para la prevención, tratamiento y control, la información que se obtenga será utilizada única y exclusivamente para fines de la investigación; así también, los datos que se recaben serán totalmente confidenciales y sin fines lucrativos.

RECURSOS

Materiales

Hojas de recolección de datos

Lápices, bolígrafos

Calculadora

Computadora

Office

Paquete estadísticos y para gráficos, SPSS.

Revistas médicas

Libros de texto

RIMA, Medscape, Cochrane, JAMA

RESULTADOS

Leucemia linfoblástica aguda

Se revisaron 385 expediente clasificados como leucemia linfoblástica aguda de los cuales 80 se excluyeron por estar incompletos. 305 cumplieron con los criterios de selección.

De los 305 pacientes seleccionados 180 (59.01%) son hombres y 125 (40.98%), con una relación hombre: mujer 1.4:1, como se observa en el gráfico 1.

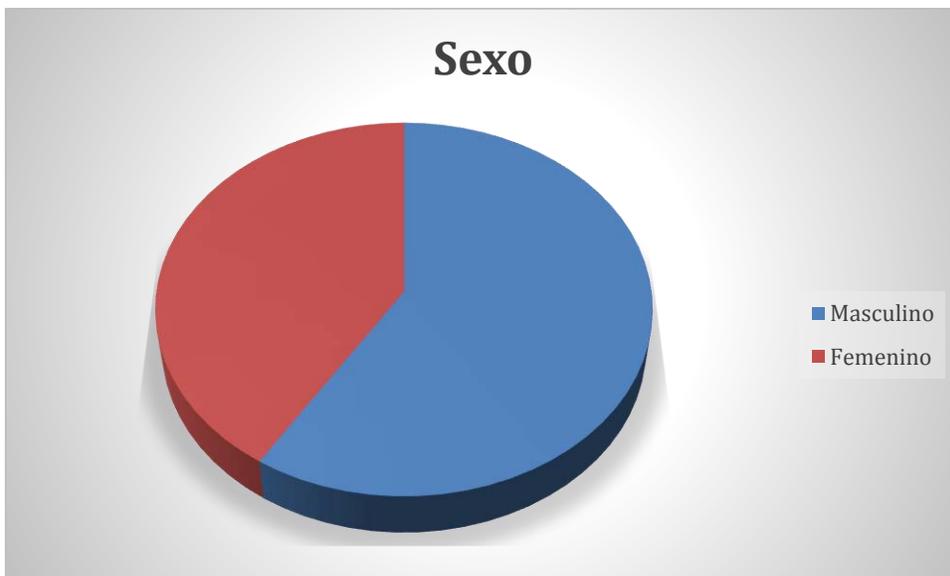


Gráfico 1. *Fuente: Archivo clínico del Instituto Nacional de Pediatría

El grupo más frecuente de edad al diagnóstico fue de 3 a 5 años con 104 (34.09%) pacientes, seguido del grupo de 6 a 8 años con 72 (23.60%) pacientes. Siendo el grupo de menor incidencia el de 15 a 17 años con 23 (7.54%) pacientes (Tabla 1).

Tabla 1. Grupo de edad en paciente con leucemia linfoblástica aguda

Edad (años)	Número de Casos	Porcentaje
0 - 2	35	11.47
3 - 5	104	34.09
6 - 8	72	23.60
9 - 11	37	12.13
12 - 14	34	11.14
15 - 17	23	7.54
Total	305	100%

*Fuente: Archivo clínico del Instituto Nacional de Pediatría

Del grupo de pacientes con LLA, se clasificaron como de Riesgo habitual (RH) a 103 (33.77%) pacientes y de Alto riesgo (AR) a 202 (66.22%) pacientes, como se observa en la tabla 2.

Tabla 2.- Clasificación por riesgo de leucemia aguda linfoblástica

Riesgo	Número de casos	Porcentaje
Alto	202	66.22
Habitual	103	33.77
Total	305	100 %

*Fuente: Archivo clínico del Instituto Nacional de Pediatría

Del total del paciente se encontró que 283 (92.78%) fueron linaje B y 22 (7.21%) linaje T, como se observa en la tabla 3.

Tabla 3. Linaje de leucemia linfoblástica aguda

Linaje	Número de Casos	Porcentaje
B	283	92.78
T	22	7.21
Total	305	100 %

*Fuente: Archivo clínico del Instituto Nacional de Pediatría

Con respecto al período de diagnóstico en el año 2011 se diagnosticaron 58 casos de leucemia aguda linfoblástica (19.01%) seguido del año 2010 con un total de 55 caso que corresponden al 18.03% y en el año 2006 se registró el menor número de casos con un porcentaje de 0.65% (2 casos). En lo que respecta al año en curso (2015) se han reportado hasta el 30 de Junio de 2015 un total de 32 casos que corresponde al 10.49%. Ver Tabla 4.

Tabla 4. Año en que se realizó el diagnóstico de LLA

Año	Número Casos	Porcentaje
2005	5	1.63
2006	2	0.65
2007	11	3.60
2008	15	4.91
2009	26	8.52
2010	55	18.03
2011	58	19.01
2012	49	16.06
2013	14	4.59
2014	38	12.45
2015	32	10.49
Total	305	100 %

*Fuente: Archivo clínico del Instituto Nacional de Pediatría

Con respecto a la entidad federativa de la cual provienen los pacientes se encontró que el origen más frecuente de los pacientes fue del Distrito Federal con 143 casos, en segundo lugar fue el Estado de México con 99 casos y el de menor frecuencia le corresponde a Durango y Quintana Roo con un caso respectivamente. Ver tabla 5

Tabla 5.- Ciudad de origen de los pacientes con LLA

Ciudad de Origen	Número de Casos
Cd. México	143
Edo. México	99
Michoacán	7
Hidalgo	16
Oaxaca	7
Guanajuato	4
Morelos	6
Guerrero	3
Querétaro	3
Veracruz	6
Chiapas	3
Puebla	4
Tlaxcala	2
Durango	1
Quinta Roo	1
Total	305

*Fuente: Archivo clínico del Instituto Nacional de Pediatría

FRECUENCIA DE ALTERACIONES GENÉTICAS DIAGNOSTICADAS POR RT-PCR EN LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA

De los 305 pacientes, 55 (18.03%) de ellos obtuvieron un resultado positivo a alguna de las traslocaciones que se detectan por RT-PCR, mientras que 250 (81.97%) obtuvieron un resultado negativo para alguna de estas traslocaciones.

Dentro del grupo de pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda la alteración citogenética más común en 19 de los pacientes (34.54%) fue t(12;21)(p13q22), seguida de t(9;22), con 15 pacientes (27.27%), en tercer lugar le corresponde a la t(1;19) en 14 pacientes (25.45%), en cuarto lugar la t(4;11) en dos pacientes (3.63%) el resto de las traslocaciones representaron el 1.81% como se observa en el gráfico 2.

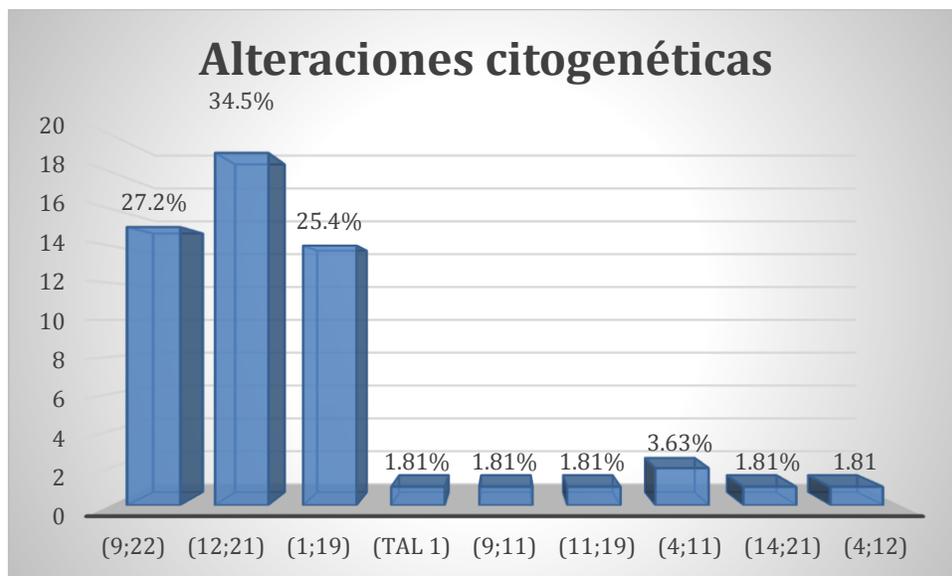


Gráfico 2. *Fuente: Archivo clínico del Instituto Nacional de Pediatría

Leucemia Mieloblástica aguda

Se revisaron 127 expediente clasificados como leucemia mieloide aguda de los cuales 30 se excluyeron por estar incompletos, 97 cumplieron con los criterios de selección.

De los 97 pacientes seleccionados 54 (55.67%) son hombres y 43 (44.32%), con una relación hombre: mujer 1.25:1, como se observa en el gráfico 1.

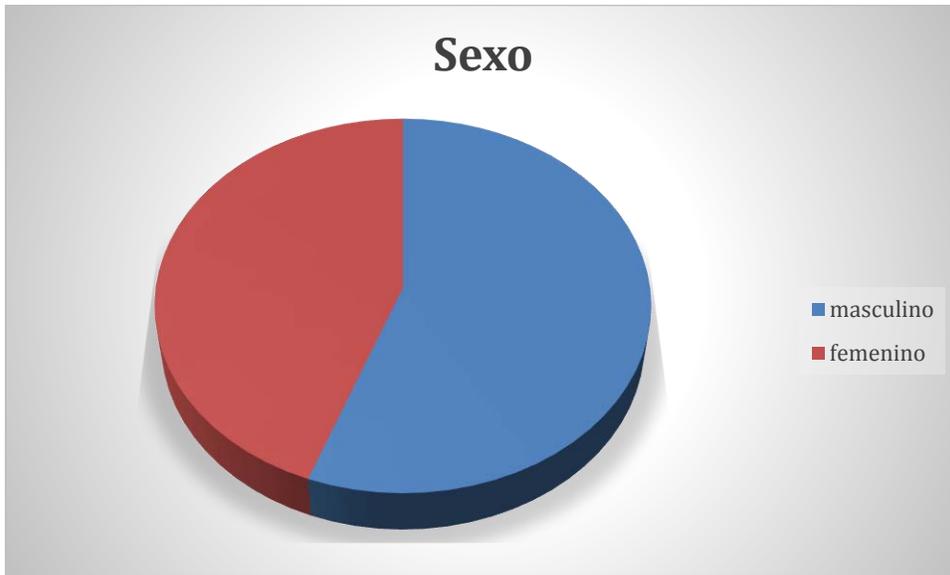


Gráfico 1. *Fuente: Archivo clínico del Instituto Nacional de Pediatría

El grupo más frecuente de edad al diagnóstico fue de 13 a 15 años con 24 (24.74%) pacientes, seguido del grupo de 10 a 12 años con 22 (22.68%) pacientes. Siendo el grupo de 16 a 18 años con el menor número de casos, 2 (2.06%) pacientes (Gráfico 2).

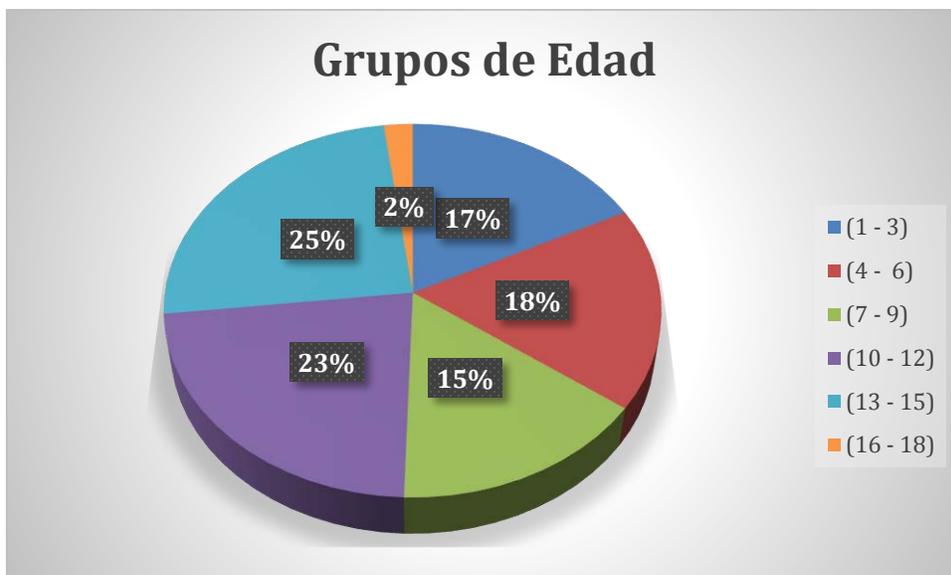


Gráfico 2. *Fuente: Archivo clínico del Instituto Nacional de Pediatría

Con respecto a los subtipos de leucemia mieloblástica aguda se encontró que, el subtipo M4 fue el de mayor presentación con 31 casos (31.95%) seguido del subtipo M3 con 21 casos (21.64%) en tercer lugar LMA M2 con 14 (14.43%) casos, en cuarto lugar el subtipo M7 con 13 casos que representa el 13.40%, el subtipo M5 con 12 casos (12.37%) y por último el subtipo M1 con 6 casos (6.18%). No se encontró ningún caso de subtipos M0 y M6. Ver tabla 1.

Tabla 1. Subtipos de leucemia mieloblástica aguda

Subtipo de LMA	Número de casos	Porcentaje
M0	0	0
M1	6	6.18
M2	14	14.43
M3	21	21.64
M4	31	31.95
M5	12	12.37
M6	0	0
M7	13	13.40
TOTAL	97	100 %

*Fuente: Archivo clínico del Instituto Nacional de Pediatría

Con respecto al período de diagnóstico en el año 2008 se diagnosticaron 16 casos de leucemia aguda mieloblástica (16.49%) seguido del año 2009 con un total de 15 casos que corresponden al 15.46% y en el año 2014 se registró el menor número de casos con un porcentaje de 3.09% (3 casos). En lo que respecta al año en curso (2015) se han reportado hasta el 30 de Junio de 2015 un total de 2 casos que corresponde al 2.06%. Ver Tabla 2.

Tabla 2. Año en que se realizó el diagnóstico de LMA

Año	Número de Casos	Porcentaje
2005	6	6.18
2006	5	5.15
2007	11	11.34
2008	16	16.49
2009	15	15.46
2010	13	13.40
2011	9	9.27
2012	13	13.40
2013	4	4.12
2014	3	3.09
2015	2	2.06
Total	97	100 %

*Fuente: Archivo clínico del Instituto Nacional de Pediatría

En cuanto a la entidad federativa de la cual provienen los pacientes se encontró que el origen más frecuente de los pacientes fue del Distrito Federal con 36 casos, en segundo lugar fue el Estado de México con 35 casos y los de menor frecuencia con el mismo número de casos se encuentran Sonora, Tabasco, Puebla, Chihuahua y Oaxaca. Ver tabla 3.

Tabla 3.- Ciudad de origen de los pacientes con LMA

Entidad	Número de casos
Edo. México	35
Distrito Federal	36
Sonora	1
Tabasco	1
Chiapas	4
Hidalgo	2
Puebla	1
Veracruz	4
Guerrero	2
Tlaxcala	2
Chihuahua	1
Oaxaca	1
Morelos	4
Guanajuato	3
Total	97

*Fuente: Archivo clínico del Instituto Nacional de Pediatría

FRECUENCIA DE ALTERACIONES GENÉTICAS DIAGNOSTICADAS POR RT-PCR EN LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA

De los 97 pacientes, 49 (50.51%) de ellos obtuvieron un resultado positivo a alguna de las traslocaciones que se detectan por RT-PCR, mientras que el resto obtuvieron un resultado negativo para alguna alteración citogenética.

Dentro del grupo de pacientes con Leucemia mieloide aguda la alteración citogenética más común en 22 de los pacientes (44.89%) fue t(15;17), seguida de t(8;21) con 9 pacientes (18.36%), en tercer lugar le corresponde a la Inv(16) en 6 pacientes (12.24%), en cuarto lugar la t(9;22), t(9;11) en dos pacientes cada una (6.12%). El resto de las traslocaciones representaron menos del 5% como se observa en el gráfico 3.

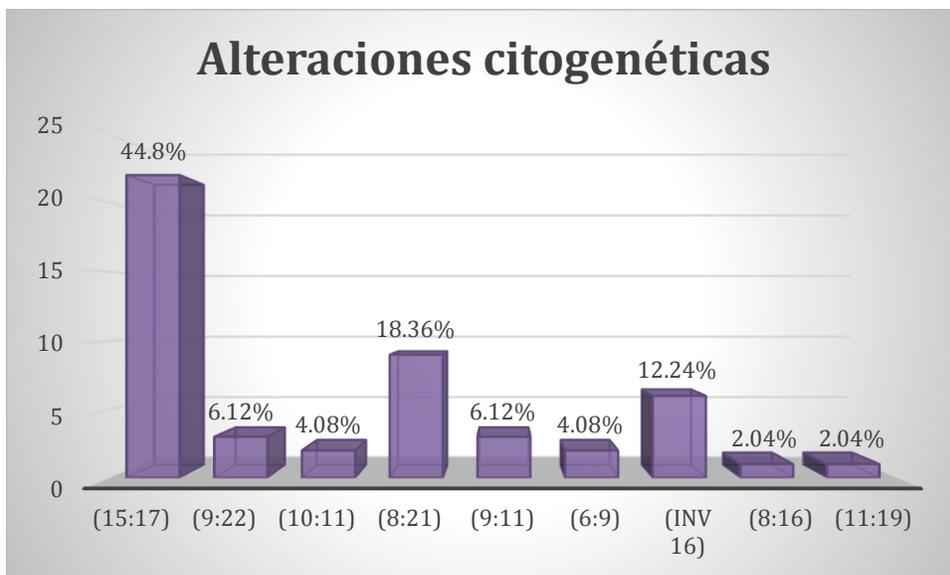


Gráfico 3. *Fuente: Archivo clínico del Instituto Nacional de Pediatría

DISCUSIÓN

La descripción de las alteraciones cromosómicas asociadas específicamente a un tipo de leucemia, ha permitido conocer en un período corto, el significado clínico 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.

En este protocolo de investigación, se estudiaron pacientes con Leucemia aguda linfoblástica y mieloblástica.

Con respecto a las leucemias mieloides y linfoides agudas, predominó el sexo masculino sobre femenino siendo similar a lo reportado en la mayoría de la literatura.¹ Así, la Leucemia Linfoblástica se encontró en un 75.87%, y la Leucemia Mieloide en un 24.12%.

Algunos investigadores han considerado que estas alteraciones cromosómicas son 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 traslocación⁴².

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 Leucemia aguda. Hye-Jin Kim et al, describieron en un estudio realizado en 270 pacientes coreanos la frecuencia de las alteraciones genéticas identificadas por RT-PCR (HemaVision), concluyendo que la alteración más frecuente es la traslocación t(12;21)(p13q22) seguida de t(8;21)(q22q22) y t(9;22)(q32q11)⁴³. En nuestro estudio se revisaron las alteraciones citogenéticas diagnosticadas por RT-PCR con un total de 402 expedientes de los

cuales 305 pacientes se reportaron con Leucemia aguda linfoblástica y 55 de los pacientes con LLA presentaron una alteración genética, de estos la alteración más frecuente fue la $t(12;21)(p13q22)$ y $t(9;22)(q34q11)$. Con respecto a leucemia mielóide aguda se revisaron 97 expedientes de los cuales 49 presentaron una alteración citogenética siendo las más frecuentes: $t(15;17)$ y la $t(8;21)$.

Existen otros estudios como el realizado por Vázquez y Ramírez en el Hospital Universitario San Vicente de Paul 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 genéticas.⁴⁴

En Costa Rica se realizó un estudio citogenético a pacientes con Leucemia, referidos al Hospital Nacional de Niños e incluyó a 107 pacientes menores de 14 años. Las Leucemias agudas constituyeron el 98% de los casos, 70% LLA y 26% LMA. Los hallazgos citogenéticos encontrados fueron principalmente alteraciones numéricas (trisomías 8, 19, 20, 21, y 22) así como deleciones (cromosomas 5 y 6), traslocaciones $t(8;14)$ e inversiones (cromosoma 11).⁴⁵

Otro estudio llevado a cabo en el mismo hospital en 177 niños con Leucemia Linfoblástica Aguda de precursores B se observó una distribución entre cariotipos normales y aquellos con anomalías cromosómicas de 29% y 71% respectivamente. Las aberraciones encontradas fueron: $t(4;11)$ en 3%, $t(9;22)$ en 3%, $t(1;19)$ en 5%, hiperdiploides en 39% y otras aberraciones cromosómicas en 21%.⁴⁶

Lo que hemos observado es que la identificación de alteraciones genéticas por cariotipo así como por citogenética se ve limitada por la pobre cantidad de alteraciones a estudiar en cada muestra, lo cual nos limita al diagnóstico de las mismas, por el contrario, al realizar el análisis de las alteraciones citogenéticas

mediante RT-PCR se incrementa el número de alteraciones detectadas, se disminuye tiempo de procesamiento y se podría clasificar con mayor precisión a los pacientes.

CONCLUSIÓN

Con la realización de este estudio se puede concluir que en nuestra población, la Leucemia aguda linfoblástica es más frecuente en pacientes del sexo masculino con una relación de 1.4:1, el rango de edad con mayor número de casos de este tipo de leucemia fue el de 3 a 5 años de edad con 104 pacientes (34.09%). Con lo respecta a la leucemia mieloide aguda se reportaron 97 también siendo en esta leucemia el sexo masculino con una relación hombre:mujer 1.25:1, el rango de edad con mayor número de casos fue el de 13 a 15 años con 24 (24.74%); los subtipos de leucemia mieloide aguda el subtipo M4 fue el de mayor presentación con 31 casos (31.95%) seguido del subtipo M3 con 21 casos (21.64%) en tercer lugar LMA M2 con 14 (14.43%) casos, en cuarto lugar el subtipo M7 con 13 casos que representa el 13.40%, el subtipo M5 con 12 casos (12.37%) y por último el subtipo M1 con 6 casos (6.18%). No se encontró ningún caso de subtipos M0 y M6.

El estado de México y el Distrito Federal fueron las entidades federativas con mayor número de casos tratados tanto para leucemia linfoblástica aguda como leucemia mieloide aguda en el Instituto Nacional de Pediatría.

Las alteraciones genéticas diagnosticadas por RT-PCR que se revisaron en este estudio más frecuentes en los pacientes con Leucemia linfoblástica aguda que acudieron al Instituto Nacional de Pediatría fueron la $t(12;21)(p13q22)$ en 19 de los pacientes (34.54%), seguida de $t(9;22)$, con 15 pacientes (27.27%), en tercer lugar le correspondió a la $t(1;19)$ en 14 pacientes (25.45%). Para leucemia mieloblástica aguda la alteración citogenética más común en 22 de los pacientes (44.89%) fue $t(15;17)$, seguida de $t(8;21)$ con 9 pacientes (18.36%), en tercer lugar le corresponde a la $Inv(16)$ en 6 pacientes (12.24%).

Así mismo nos ha permitido la identificación de alteraciones que se relacionan a un mal pronóstico como lo es la traslocación t(11;19)(q23p13.3), siendo de gran importancia su identificación ya que en un futuro podría modificarse el tratamiento de estos pacientes mejorando su respuesta al tratamiento y por lo tanto el pronóstico de los mismos.

La determinación de las alteraciones genéticas mediante RT-PCR es una técnica adecuada que nos permite identificar el mayor número de alteraciones genéticas en menor tiempo. El diagnóstico citogenético de nuestros pacientes se precisa en un mayor porcentaje logrando una mejor clasificación en el riesgo que este presenta. Estos diagnósticos y en un futuro la realización de enfermedad mínima residual permitirá una correlación a largo plazo con la respuesta al tratamiento, pronóstico y supervivencia de cada paciente.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Se inició el proyecto en Abril del 2015 con la realización del protocolo de investigación, revisión y actualización de la literatura. Se inició con la recolección de datos de los expedientes de pacientes del Instituto Nacional de Pediatría en Julio de 2015 concluyendo en Septiembre de 2015 con el análisis de los datos recolectados.

REFERENCIAS

- 1.- Greaves, MF. Child Hood Leukaemia. BMJ, 2002.- 324 (7332): 283-287.
- 2.- Esparza, SD; Sakamoto KM.- Topics in Pediatric Leukemia: Acute Lymphoblastic Leukemia.- Men Gen Med, 2005; 7 (1): 23.
- 3.- Belson M; Kingsley B; Holmes A.- Risk factors for Acute Leukemia in children: a review.- Environ Health Perspect, 2007; 115: 138-145.
- 4.- Fajardo-Gutiérrez A, Juárez-Ocaña S, González-Miranda G, Palma-Padilla V, Carreón-Cruz R, Mejía-Aranguré JM. General and specific incidence of cancer among children affiliated to the Mexican Institute of Social Security. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2007; 45: 579-92.
- 5.- Smith MA, Ries LA, Gurney JG, et al. Online cancer incidence and survival among children and adolescents : United States SEER Program 1975-2008. Disponible en: <http://seer.cancer.gov/publications/childhood/>.
- 6.- Abdullaev, F., Rivera-Luna, R., Roitenburd-Belacortu, V., & Espinosa-Aguirre, J. Pattern of childhood cancer mortality in Mexico. Arch Med Res 2000; 31: 526-31.
- 7.- Mejía JM. Epidemiología de la leucemia linfoblástica aguda infantil. Hematología 2010;11:35-36.
- 8.- Chow EJ, Kamineni A, Daling JR, et al. Reproductive outcomes in male childhood cancer survivors: a linked cancer-birth registry analysis. Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine. 2009; 163(10):887-894.
- 9.- Pui CH, Relling MV, Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia. N Engl J Med 2004;15:1535-1548.

- 10.- Xie Y, Davies SM, Xiang Y, et al. Trends in leukemia incidence and survival in the United States (1973-1998). *Cancer* 2003;97:2229-2235.
- 11.- Passarge E. Bloom's syndrome. The German experience. *Ann Genet* 1991;3-4:179-197.
- 12.- Taylor AM, Metcalfe JA, Thick J, et al. Leukemia and lymphoma in ataxia telangiectasia. *Blood* 1996;2:423-438.
- 13.- Whitlock JA. Down syndrome and acute lymphoblastic leukemia. *Br J Haematol* 2006;135(5):595-602.
- 14.- McNeil DE, Coté TR, Clegg L, et al. SEER update of incidence and trends in pediatric malignancies: acute lymphoblastic leukemia. *Med Pediatr Oncol* 2002;39:554-557.
- 15.- Harrison C. Cytogenetics of pediatric and adolescent acute lymphoblastic leukemia. *Br J Haematol*. 2009;144(2):147-56.
- 16.- Pullen J, Shuster JJ, Link M. Significance of commonly used prognostic factors differs for children with T cell acute lymphocytic leukemia (ALL), as compared to those with B-precursor ALL. A Pediatric Oncology Group (POG) Study. *Leukemia* 1999;13 (11): 1696-70.
- 17.- Möricke A, Zimmermann M, Reiter A, et al.: Prognostic impact of age in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia: data from the trials ALL-BFM 86, 90, and 95. *Klin Padiatr* 2005;217(6):310-20.
- 18.- Smith M, Arthur D, Camitta B, et al.: Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1996;14(1):18-24.

19.-Pui CH, Evans WE. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2006;354:166-178.

20.- Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the WHO classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009. Disponible:
<http://bloodjournal.hematologylibrary.org/content/early/2009/04/08/blood-2009-03-209262.full.pdf>.

21.- Xie Y, Davies SM, Xiang Y, et al. Trends in leukemia incidence and survival in the United States (1973–1998). *Cancer* 2003;97(9):2229–35.

22.-Rubnitz JE , Gibson B, Smith FO Acute Myeloid Leucemia *Pediatr Clin N Am* 2008;55:21–51.

23.-Meshinchi S, Arceci RJ. Prognostic factors and risk- based therapy in pediatric acute myeloid leukemia. *The Oncologist* 2007;12:341–55.

24.- Ravindranath Y, Chang M, Steuber CP, Becton D, Dahl G, Civin C, Camitta B, Carroll A, Raimondi SC, Weinstein HJ. Pediatric Oncology Group (POG) studies of acute myeloid leukemia (AML): a review of four consecutive childhood AML trials conducted between 1981 and 2000. *Leukemia* 2005;19: 2101-2116.

25.- Dash A, Gilliland DG. Molecular genetics of acute myeloid leukaemia. *BestPract Res Clin Haematol* 2001;14(1):49–64.

26.-Meshinchi S and Arceci RJ Prognostic Factors and Risk-Based Therapy in Pediatric Acute Myeloid Leukemia *Oncologist* 2007;12;341-355.

- 27.- Wu J, Zhang LP, Lu AD, Wang B, Cheng YF, Liu GL. Clinical features and prognosis of t (8; 21)/AML1-ETO-positive childhood acute myeloid leucemia. *ZhongguoDangDai Er KeZaZhi*. 2011;13(12):931-5.
- 28.-Manola K. Cytogenetics of pediatric acute myeloid leucemia. *Eur J Haematol*. 2009;83(5):391-405.
- 29.- Foran JM. New prognostic markers in acute myeloid leukemia: perspective from the clinic. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2010;2010:47-55.
- 30.- Byrd JC, Mrozek K, Dodge RK, et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood*. 2002;100:4325– 4336.
- 31.-Dohner H, Estey EH, Amadori S, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European Leukemia. *Blood*. 2010;115:453– 474.
- 32.- Margolin JF, Steuber CP, Poplack DG. Acute Lymphoblastic leukemia. In: *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. 15th ed. 2006:538-90.
- 33.- Garcia JL, Hernandez JM, Gutierrez NC, Fernandez P, Rios A. La citogenetica en el estudio de las hemopatias malignas. *BLOOD* 1996; 41: 289-296.
- 34.- Glassman, AB, Chromosoma labnormalities in acute leukemias.- *Clinics in Laboratory Medina*, 2000.-20(1):39-39.
- 35.- Mitelman F. *Catalog of Chromosome Aberrations in cancer*. New York, NY:Wiley-LissInc 1998.

36.-Dohner H, Estey EH, Amadori S, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European Leukemia. *Blood*. 2010;115:453– 474.

37.-Grimwade D, Hills RK. Independent prognostic factors for AML outcome. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009:385–395.

38.- Chow EJ, Kamineneni A, Daling JR, et al. Reproductive outcomes in male childhood cancer survivors: a linked cancer-birth registry analysis. *Archives of Pediatrics&Adolescent Medicine*. 2009; 163(10):887-894.

39.- Von Neuhoff C, Reinhardt D, Sander A, et al. Prognostic impact of specific chromosomal aberrations in a large group of pediatric patients with acute myeloid leukemia treated uniformly according to trial AML-BFM 98. *J Clin Oncol*. 2010; 28(16):2682-2689.

40.-Pui, C.H., Relling, M.V. & Downing, J.R. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2004;350; 1535–1548.

41.- Cheok MH, Evans WE. Acute lymphoblastic leukemia: a model for the pharmacogenomics of cancer therapy. *Nat Rev cancer*. 2006; 6(2): 117-29.

42.- Margolin JF, Steuber CP, Poplack DG. Acute Lymphoblastic leukemia. In: *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. 15th ed. 2006:538-90.

43.- Hye-Jin, MD, HyunJin Oh, MD, JaeWook Lee, MD, et.al.- Utility of a multiplex reverse transcriptase polymerase chain reaction assay (HemaVision) in the evaluation of genetic abnormalities in Korean children with acute leukemia: a single institution study.- *Korean J Pediatr* 2013; 56(6):247-53.

- 44.- 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 periodo 1998-2001.- IATREIA, 2002.- 15 (4):217-225.
- 45.- 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.
- 46.- Venegas, P; Rivera, J.- Estudios citogenéticos en niños con Leucemia Linfocítica Aguda B en Costa Rica.- Rev biol Trop, 2004, 52 (3): 551-558.
- 47.- 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.
- 48.- Ortiz C. Notas sobre la historia de la leucemia. Patología Revista Latinoamericana. 2013; 51: 58 – 69.

ANEXOS

Anexo 1.- Hoja de recolección de datos

1.- Origen geográfico.

Entidad federativa_____

2.- Fecha de nacimiento.

Día____, mes____, año____

3.- Sexo: masculino Femenino

3.- Edad.

(1): 0 a 1 año, (2): 1.1 a 2 años, (3): 2.1 a 3 años, (3): 3.1 a 4 años, (4): 4.1 a 5 años, (5): 5.1 a 6 años, (6): 6.1 a 7 años, (7): 7.1 a 8 años, (8): 8.1 a 9 años, (9): 9.1 a 10 años, (10): 10.1 a 11 años, (11): 11.1 a 12 años, (12): 12.1 a 13 años, (13) 13.1 a 14 años, (14) 14.1 a 15 años, (15) 15.1 a 16 años, (16) 16.1 a 17 años, (17) 17.1 a 17.11 años.

4.- Tipo de Leucemia:

LMA_____ LLA_____

Subtipos de LMA.

(1): M0; (2): M1; (3): M2; (4): M3; (5): M4; (6): M5, (7): M6; (8): M7.

5.- Alteración genética_____

Anexo 2.- Cronograma

MES	Mar-15	Abril-15	May-15	Jun-15	Jul-15	Ago-15	Sept-15
Realización de proyecto de investigación	Light Gray	Dark Gray	Dark Gray	Dark Gray	Light Gray	Light Gray	Light Gray
Recolección de datos	Light Gray	Light Gray	Light Gray	Light Gray	Dark Gray	Dark Gray	Light Gray
Análisis de los datos	Light Gray	Dark Gray					
