



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE PEDIATRÍA
CENTRO MÉDICO NACIONAL DE OCCIDENTE

**PROTOCOLO DE TESIS DE POSTGRADO PARA OBTENER EL TÍTULO
PARA LA ESPECIALIDAD DE HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA**

**COMPARACIÓN DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO Y RE-ARREGLOS
MONOCLONALES IGH EN LA EVALUACIÓN DE LA REMISIÓN
COMPLETA AL TÉRMINO DE LA FASE DE INDUCCIÓN A LA REMISIÓN
EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA
AGUDA DE PRECURSORES B EN CENTRO MÉDICO NACIONAL DE
OCCIDENTE**

PRESENTA:
DRA. METZERI SÁNCHEZ PREZA
RESIDENTE DE HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA DE SEGUNDO AÑO
HOSPITAL DE PEDIATRÍA. CENTRO MÉDICO NACIONAL DE
OCCIDENTE

DIRECTOR DE TESIS:
DRA. JANET MARGARITA SOTO PADILLA
HEMATÓLOGA PEDIATRA
HOSPITAL DE PEDIATRÍA. CENTRO MÉDICO NACIONAL DE
OCCIDENTE



GUADALAJARA, JALISCO NOVIEMBRE 2022



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.

IDENTIFICACIÓN DE AUTORES

DIRECTOR DE TESIS

Dra. Janet Margarita Soto Padilla

Hematóloga Pediatra.

UMAE, Hospital de Pediatría CMNO

AV. Belisario Domínguez No. 735, colonia Independencia

C.P. 44340, Guadalajara, Jalisco

Matrícula. 11415274

Teléfono. 3316026537

Correo electrónico. Sirenajanethotmail.com

CO-DIRECTOR DE TESIS

Dr. Patricio Barros Núñez

Unidad de Investigación Médica

UMAE, Hospital de Pediatría CMNO

AV. Belisario Domínguez No. 735, colonia Independencia

C.P. 44340, Guadalajara, Jalisco

Matrícula. 10350721

Teléfono. 36683000

Correo electrónico. Jaime.barros@imss.gob.mx

TESISTA

Dra. Metzger Sánchez Preza

Residente de segundo año de Hematología Pediátrica

UMAE, Hospital de Pediatría CMNO

AV. Belisario Domínguez No. 735, colonia Independencia

C.P. 44340, Guadalajara, Jalisco

Matrícula. 97360087

Teléfono. 9811636642

Correo electrónico: metzi_03@msn.com

ASESOR METODOLÓGICO

Maestro en ciencias Roberto Hernández Raygoza

Médico especialista en Neumología Pediátrica

UMAE, Hospital de Pediatría CMNO

AV. Belisario Domínguez No. 735, colonia Independencia

C.P. 44340, Guadalajara, Jalisco

Teléfono. 3336188618

Correo electrónico: robertodr25@hotmail.com

INDICE

I.	Identificación de autores	2
II.	Resumen	5
III.	Marco teórico	7
	a. Antecedentes	30
	b. Planteamiento del problema	43
	c. Pregunta de investigación	44
	d. Justificación	44
	e. Objetivos	45
	f. Hipótesis	46
IV.	Materiales y métodos	
	a. Diseño metodológico	46
	b. Universo de estudio	46
	c. Tipo de muestra	46
	d. Cálculo de muestra	46
	e. Criterios de inclusión	46
	f. Criterios de no inclusión	47
	g. Criterios de eliminación	47
	h. Operacionalización de variables	48
	i. Análisis estadístico	51
	j. Aspectos Éticos	51
	k. Recursos, financiamiento y factibilidad	53
V.	Resultados descriptivos	55
VI.	Discusión	60
VII.	Conclusiones	62
VIII.	Bibliografía	63
IX.	Anexos	
	a. Hoja de recolección de datos	72
	b. Carta de dispensa de consentimiento informado	73
	c. Carta de Confidencialidad de datos	74

ABREVIATURAS

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

ARN: Ácido Ribonucleico

CD: Cluster de Diferenciación (del inglés: cluster differentiation)

CDR: Regiones Determinantes de Complementariedad

CFU-B: Unidad Formadora de Colonias B

CPH. Célula Progenitora Hematopoyética

CTH: Célula Troncal Hematopoyética

DHL: Lactato Deshidrogenasa

ERM: Enfermedad Mínima Residual.

FAB: Franco Americana Británica.

FR: Regiones Marco

LLA: Leucemia Linfoblástica Aguda

OMS: Organización Mundial de la salud

SNC: Sistema Nervioso Central

NK: Linfocito Natural Killer

SHM: Hipermutación Somática.

SP: Sangre Periférica

MO: Médula ósea

t: Translocación

TCR: Receptor de células T

PCR: Reacción en cadena de polimerasa

IG: Inmunoglobulina

RC: Remisión completa

URF: Unidades Relativas de Fluorescencia

I. RESUMEN ESTRUCTURADO

Antecedentes: La citometría de flujo se considera como el método más confiable para la detección de EMR aunque de menor sensibilidad que la PCR. La citometría de flujo ha sido la mejor opción de evaluación durante el seguimiento de los pacientes en la EMR; sin embargo, y dada la sensibilidad de los métodos basados en la determinación de re-arreglos genéticos de tipo monoclonal del gen IgH, consideramos comparar estas dos metodologías en la población pediátrica del hospital de Pediatría del CMNO en Guadalajara, Jalisco.

Objetivo general Comparar los métodos de citometría de flujo y la determinación de los re-arreglos monoclonales de las cadenas pesadas de las Ig en la evaluación al término de la fase de inducción a la remisión en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda de células B. **Objetivos específicos**
1. Describir las características sociodemográficas de pacientes pediátricos con leucemia aguda de células B. 2. Comparar el resultado de la citometría de flujo y de re-arreglos monoclonales IgH tomados al término de la inducción a la remisión en los pacientes con leucemia aguda de células B. 3. Identificar aquellos pacientes que al término de la fase de inducción a la remisión presenten: remisión de la enfermedad, falla a la inducción a la remisión y enfermedad mínima residual positiva.

Material y métodos: Tipo y Diseño. Estudio retrospectivo, transversal, observacional y descriptivo en población pediátrica (0-15 años de edad) de sexo indistinto, con diagnóstico clínico e histopatológico de Leucemia Linfoblástica Aguda de estirpe B realizado en el Centro Médico Nacional de Occidente, se excluyeron casos que al momento del diagnóstico presentaban procesos infecciosos y/o otros procesos inflamatorios diferentes a la enfermedad de base o en tratamiento para otras enfermedades. Muestreo de tipo no probabilístico por casos consecutivos de todos los pacientes identificados en el periodo comprendido de junio de 2017 a junio de 2019. Se revisaron las variables edad, edad al diagnóstico, género, inmunofenotipo, mortalidad, enfermedad mínima residual por citometría de flujo y por análisis de re-arreglos monoclonales IgH. Se describieron los resultados de forma descriptiva, y mediante la comparación entre

los métodos de diagnóstico de la EMR. Se realizó en una base de datos donde previamente se identificó la citometría de flujo y el análisis de re-arreglos para valorar EMR en los pacientes con LLA-B. Aspectos estadísticos: estadística descriptiva para las variables cualitativas, se utilizó frecuencias expresadas en porcentajes. Para la comparación de las variables EMR por citometría de flujo y EMR por re-arreglos monoclonales IgH por PCR se realizó el análisis de correlación, regresión lineal y gráfico de Bland-Altman. Se utilizó el programa estadístico SPSS® versión 26 para crear la base de datos para su posterior análisis y elaboración de gráficos.

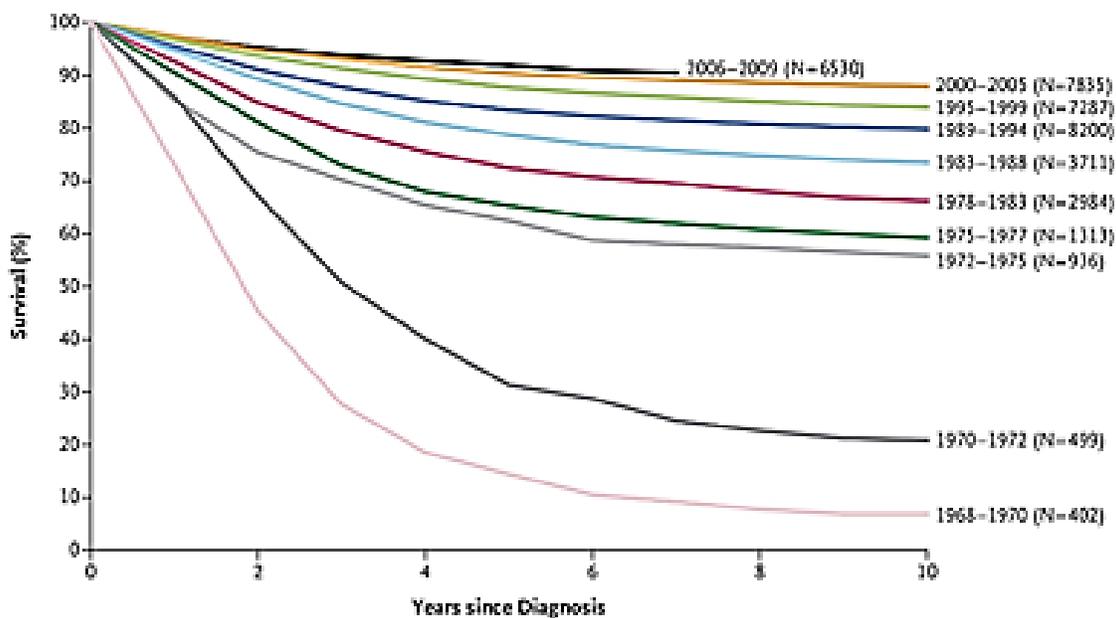
II. MARCO TEÓRICO

LEUCEMIA

Leucemia (Leukamie) significa “sangre blanca”, (del griego leuco, λευκός: “blanca” y emia, αἷμα: “sangre”) término propuesto por Rudolf Virchow en 1846. Es una hemopatía maligna clonal que se caracteriza por la proliferación no regulada de células endógenas de la medula ósea. Se considera una enfermedad de causa heterogénea producida por alteraciones genéticas que regulan la producción, crecimiento, diferenciación y apoptosis de las células progenitoras hematopoyéticas.¹

Representa el 30% de las neoplasias malignas en menores de 15 años. Se presentan aproximadamente 600 nuevos casos de leucemia aguda infantil anualmente en EUA, de los cuales el 80% son leucemia linfoblástica aguda.² La tasa de supervivencia ha aumentado, de menos del 10% en la década de 1960 al 90% en la actualidad (Figura 1)

Figura 1. Supervivencia general en niños con LLA que se inscribieron en el Children’s Cancer Group y el Children’s Oncology Group Clinica Trials, 1968-2009

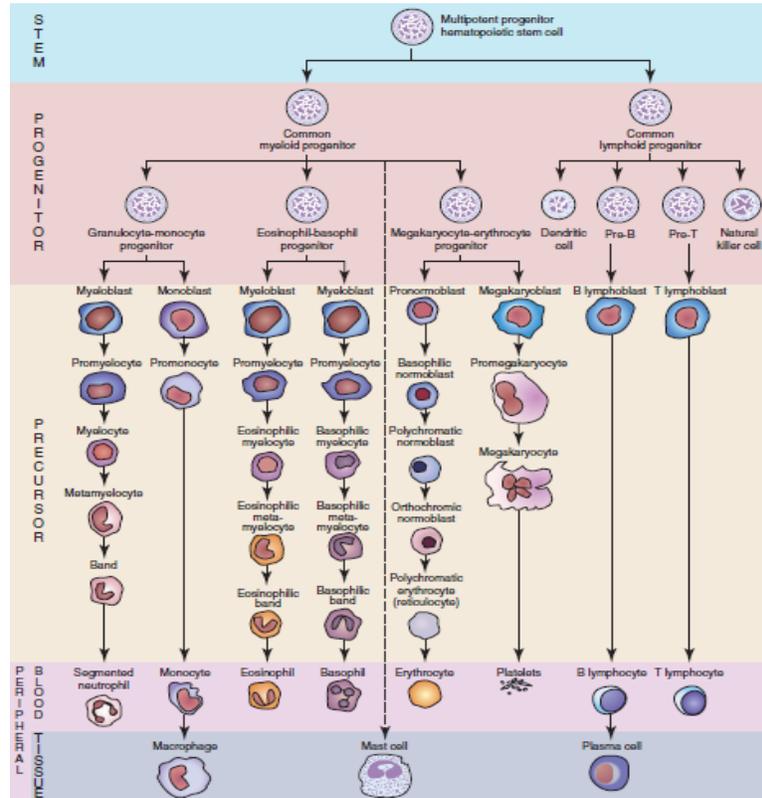


HEMATOPOYESIS

Se define como el proceso de producción y maduración de las células sanguíneas y se lleva a cabo en la médula ósea. De acuerdo al grado de maduración celular, la población celular de la médula ósea se divide en 4 grupos: el primer grupo lo constituyen las células troncales hematopoyéticas (CTH) que representan el 0.01% del total. Estas células tienen dos características funcionales: son capaces de auto-renovarse, dando lugar a células hijas de las cuales, al menos una, conserva las propiedades de la célula madre y son multipotenciales, es decir pueden dar origen a los distintos linajes sanguíneos. A partir de las CTH se origina el segundo grupo o células progenitoras hematopoyéticas (CPH) que representan menos del 0.5% del total de las células nucleadas en médula ósea; carecen de capacidad de auto renovación, pero conservan la multipotencialidad, aunque pueden estar restringidas a sólo dos linajes. Tienen características inmunofenotípicas semejantes a las CTH, como es la expresión del antígeno CD34.³

Las CPH dan origen a las células precursoras (tercer grupo), que corresponden a >90% de las células en médula ósea; son células inmaduras que dan origen a las células sanguíneas maduras circulantes, las cuales constituyen el 4^a grupo formado por las células mieloides y linfoides (Figura 2). Las células mieloides comprenden los monocitos, eritrocitos, plaquetas y granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos). Las células linfoides incluyen los linfocitos B, linfocitos T y células Natural Killer (NK).⁴ Figura 2.

Figura 2. Hematopoyesis. Tomado de: Atlas de Hematología. Rodak. 5ª ED



EPIDEMIOLOGÍA

La LLA es la neoplasia maligna más frecuente en la infancia y ocurre con mayor frecuencia en la primera década de la vida. Representa el 25% de los diagnósticos de cáncer en menores de 15 años.⁵ En los Estados Unidos, la incidencia de LLA es de aproximadamente 30 casos por millón de personas menores de 20 años y la incidencia ocurre entre los 3 y 5 años de edad.²

La prevalencia de LLA en América Latina es mayor a la reportada en otras partes del mundo, con tasas de hasta 120 pacientes por cada millón de habitantes.⁶ En México se calculó una incidencia de 1000 a 1200 casos nuevos por año.⁷ La incidencia varía significativamente según la raza y el grupo étnico: 14.8 casos por millón en población de raza negra, 35.6 casos por millón en caucásicos y 40.9

casos por millón en hispanos. La LLA se desarrolla con mayor frecuencia en niños que en niñas (relación hombre:mujer, 55% : 45%.²

ETIOLOGÍA

Varios factores genéticos (principalmente el síndrome de Down) están asociados con un mayor riesgo de LLA, pero la mayoría de los pacientes no tienen factores hereditarios reconocidos. Los estudios del genoma, han identificado variantes polimórficas en varios genes (incluidos ARID5B, CEBPE, GATA3, IKZF1), que están asociados con un mayor riesgo de LLA o subtipos específicos. Las mutaciones raras de la línea germinal en PAX5 y ETV6 están relacionadas con LLA familiar.⁸ Pocos factores de riesgo ambientales están asociados con LLA en niños. El aumento de las tasas de la enfermedad, se ha relacionado con la exposición a la radiación y ciertos productos químicos, pero estas asociaciones explican sólo una minoría de casos.⁹

PATOGÉNESIS

Los linfocitos surgen de células madre hematopoyéticas a través de una serie de etapas de proliferación y diferenciación que dan como resultado la formación de linfocitos B o T maduros, cada uno expresando una inmunoglobulina o TCR específica. El desarrollo de una respuesta inmune adaptativa depende de la generación de una población madura de linfocitos B y T con diversidad en antígenos específicos, los cuales cuentan con la capacidad de generar una respuesta inmune efectiva contra una amplia gama de patógenos. Esta diversidad en la especificidad del receptor de antígeno se logra a través de procesos de mutagénesis somática, que incluye recombinación e hipermutación somática, diseñada para introducir variaciones únicas en la estructura del gen de inmunoglobulina o TCR de cada linfocito en desarrollo individual.⁹

A pesar de su naturaleza regulada cuidadosamente, estos mecanismos programados de mutagénesis somática pueden salir mal e introducir mutaciones en otros loci. Las mutaciones en oncogenes o supresores tumorales adquiridos

durante el desarrollo de linfocitos pueden provocar la proliferación aberrante y detención de la diferenciación que son característicos de la LLA.

CLASIFICACIÓN

Las leucemias infantiles, pueden clasificarse como agudas o crónicas. La leucemia aguda se caracteriza por la expansión clonal de precursores hematopoyéticos o precursores linfoides, mientras que la leucemia crónica se refiere a afecciones caracterizadas por la expansión de elementos maduros de la médula ósea. La leucemia congénita se refiere a las leucemias diagnosticadas dentro de las primeras 4 semanas de vida.¹⁰

La leucemia aguda se caracteriza por el reemplazo de elementos de la médula normal con células blásticas malignas, indiferenciadas con distribución difusa de la cromatina nuclear, con uno o más nucléolos y citoplasma basófilo. Existen diferentes métodos para identificar a las células blásticas malignas, incluidas la morfología, la citoquímica e inmunofenotipo, alteraciones cromosómicas y aberraciones genéticas moleculares. Aproximadamente el 80% de los casos de leucemia aguda infantil es linfoblástica.¹⁰

Clasificación Morfológica y Citoquímica

Las células blásticas son precursores primitivos, que carecen de muchas de las características de diferenciación. Bajo condiciones normales, las formas blásticas constituyen menos del 5% de las células nucleadas de la médula ósea. Por lo general, las células blásticas no se observan en la sangre periférica, excepto en períodos de sobreproducción de células sanguíneas en respuesta a infección, sangrado o invasión de la médula ósea.¹⁰

Una vez que se realiza el diagnóstico de leucemia, se debe diferenciar entre linfoide o mieloide. Los linfoblastos teñidos con Wright-Giemsa tienen material nuclear homogéneo con presencia de nucléolos y sólo un pequeño borde de citoplasma teñido de azul claro, generalmente sin gránulos.

Un sistema estandarizado de clasificación morfológica ideado por el grupo de trabajo cooperativo Franco-Americano-Británico (FAB) se usa generalmente para clasificar la aparición de linfoblastos leucémicos. En este sistema, la leucemia linfoblástica aguda (LLA) se subdivide en 3 categorías morfológicas: L1, L2 y L3 (Cuadro 1). L1 es el subtipo más común, observado en el 85-90% de los casos, son células pequeñas, caracterizadas por una alta relación núcleo-citoplasma, el citoplasma es azul pálido, escaso, limitado por una pequeña porción del perímetro de la célula, las células tienen nucléolos y membranas nucleares que varían de redondas a hendidas. Las L2 se encuentran en 5-15% de los casos, las células son más grandes, muestran una variabilidad marcada en el tamaño y tienen nucléolos prominentes y citoplasma más abundante. Sólo en 1-3% pertenecen a los linfoblastos L3 que parecen idénticos a las células del linfoma de Burkitt, con citoplasma basófilo y vacuolizado. Se asocia frecuentemente a un fenotipo de células B maduras. Entre otras variantes morfológicas de la LLA, se han descrito células en espejo de mano.¹¹

Cuadro 1. Clasificación de la LLA de acuerdo a la FAB

Clasificación por FAB de la leucemia aguda linfoblástica (LAL)			
	L1	L2	L3
Tamaño del núcleo	Pequeño	Grande	Grande
Patrón nuclear	Regular con cromatina homogénea	Irregular con cromatina heterogénea	Regular con cromatina homogénea
Nuécleo	Poco prominente	Prominente	Prominente
Citoplasma	Escaso	Abundante	Abundante, basofilia, vacuolas grandes
Frecuencia	85%	14%	1%

Fuente: GPC de Diagnóstico y Tratamiento de la Leucemia Aguda, México: Secretaría de Salud; 2009.

Inmunofenotipo

El inmunofenotipo se ha vuelto esencial para el diagnóstico de la LLA y ha contribuido en una clasificación más precisa. Inicialmente realizado con antisueros policlonales y posteriormente con un panel de rápida expansión de MAb. Se ha aplicado principalmente para distinguir LLA de LMA y para asignación del linaje de los blastos leucémicos.¹²

El fenotipo celular se define en base a la presencia de marcadores intracelulares y de superficie que precisan las estirpes o linajes específicos. Su determinación se basa en la reacción antígeno-anticuerpo. Al momento se han desarrollado más de 200 anticuerpos monoclonales relacionados con la etapa de maduración de las células B que detectan antígenos asociados con los linajes hematopoyéticos.¹³

La LLA se subcategoriza en función de la expresión de antígenos específicos de linaje y maduración presentes en la superficie celular y en el citoplasma de los linfoblastos.

Antes del desarrollo de la primera célula identificable del linaje B, está la generación de un progenitor linfoide que expresa CD34, CD10 y bajos niveles de CD 19. Las primeras células pre B o pro B expresan CD 10, CD19, CD24, CD34, CD45, antígeno leucocitario humano (HLA)- DR, CD22, CD 79a, CD 79b y desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT).¹³

La OMS establece que, en el caso de las Leucemias de progenitores de células B, no define un antígeno único o específico, pero se recomienda que expresen fuertemente CD19 junto con otro antígeno de linaje de células B asociado, o en caso de una débil expresión de CD19, se debe tener la expresión de al menos 3 marcadores de linaje B.¹⁴

Cuadro 2. Expresión de marcadores y reordenamiento genético durante la ontogenia normal de células B

Pro B	HLA-DR +, CD 19+, CD 22+, CD 10-, cylg-, slg -
B Temprana	HLA- DR+, CD 19+, CD 22+, CD 10+, cylg-, slg -
Pre B	cyIgMu+, slg -
B madura	slg+

Precursor de Células B

El fenotipo de precursores de células B está presente en el 80-85% de los niños con LLA. Estas células leucémicas se caracterizan por la reactividad con anticuerpos monoclonales específicos para antígenos asociados a células B (CD9, CD19, CD22, CD 79a) y se distinguen de la LLA de células B madura por la ausencia de inmunoglobulinas de superficie. En la gran mayoría de la LLA de precursores B las células expresan CD10, también conocido por antígeno LLA común (CALLA).

Más del 90% de los casos de LLA con precursores B, tienen evidencia de reordenamientos del gen de inmunoglobulina, predominante que involucra la cadena pesada de inmunoglobulina (IgH). Es de destacar que los reordenamientos del gen del receptor de células T (TCR) también se puede observar en la célula precursora B de la LLA. Estos reordenamientos específicos se han utilizado para cuantificar los niveles submicroscópicos de leucemia residual por reacción en cadena de polimerasa (PCR). La presencia de inmunoglobulina intracitoplasmática (clg) también se usan para distinguir a los diferentes subconjuntos de LLA con precursores B, basado en sus niveles de diferenciación. Estos subconjuntos incluyen LLA pro B (3-4%), pre B temprana (60-70%) y pre B (20-30%).¹⁴

LLA Pro-B

Se considera que deriva de un precursor de células B inmaduras, se caracteriza por CD 10 negativo y la ausencia de inmunoglobulinas citoplasmáticas (clg). Se observa frecuentemente en lactantes con LLA, especialmente en los que incluyen anomalías que involucran a los cromosomas 11q23 (gen MLL).¹⁴

LLA Pre-B temprana

Es el subtipo más común. Deriva de precursores B más maduro que la pro B. Frecuentemente expresan CD10 pero carecen de clg (también conocida como LLA B común).¹⁴

Células Pre-B

Se caracteriza por la presencia de clg. Deriva de un intermedio de célula precursora B, más madura que las que carecen de clg pero no tan maduras como las que tienen inmunoglobulina de superficie (B madura). Las células pre-B típicamente expresan CD 10 y el antígeno leucocitario humano (HLA) DR. ¹⁴

Células B Maduras

Representan 1-2% de LLA. Se caracteriza por la presencia de inmunoglobulinas de superficie, con mayor frecuencia IgM que es monoclonal para cadenas ligeras κ o λ . Expresan antígenos de células B, incluidos CD19, CD20 y HLA-DR, morfológicamente tienden a ser L3. ¹³

Cuadro 3. Clasificación de la Leucemia Linfoblástica Aguda de acuerdo a la OMS

Linfoma/leucemia linfoblástica B	Linfoma/leucemia linfoblástica B Linfoma/leucemia linfoblástica B sin otra especificación Linfoma/leucemia linfoblástica B con anomalías genéticas recurrentes Linfoma/leucemia linfoblástica B con t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR-ABL1 Linfoma/leucemia linfoblástica B con t(v;11q23.3); rearreglo KMT2A Linfoma/leucemia linfoblástica B con t(12;21)(p13.2;q22.1); ETV6-RUNX1 Linfoma/leucemia linfoblástica B con hiperdiploidia Linfoma/leucemia linfoblástica B con hipodiploidia Linfoma/leucemia linfoblástica B con t(5;14)(q31.1;q32.3) IL3-IGH Linfoma/leucemia linfoblástica B con t(1;19)(q23;p13.3);TCF3-PBX1 Entidad provisional Linfoma/leucemia linfoblástica B con BCR-ABL1-like Entidad provisional Linfoma/leucemia linfoblástica B con iAMP21
---	---

Tomado de: Arber DA, 2016

MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y DIAGNÓSTICO

La LLA se puede presentar de manera insidiosa, aguda o como un hallazgo incidental en un niño asintomático. Los síntomas de presentación incluyen fiebre, palidez, hematomas, petequias, dolor óseo (secundario a la infiltración leucémica). Aunque la LLA es una enfermedad de la médula ósea y sangre periférica, las células anormales pueden infiltrar cualquier órgano o tejido. En el diagnóstico inicial, el 30-50% de los niños pueden tener hepatomegalia, esplenomegalia. La

linfadenopatía causada por infiltración leucémica es un signo frecuente. En general, el grado de infiltración de órganos se correlaciona con el recuento de blastos de sangre periférica, lo que refleja la masa leucémica total.

Sangre Periférica

Los datos de laboratorio clínico a menudo proporcionan un amplio espectro de hallazgos anormales al momento del diagnóstico. Anemia, recuento anormal de leucocitos y la trombocitopenia son comunes. Sin embargo, algunos niños con LLA pueden tener recuentos normales de células sanguíneas al momento del diagnóstico, incluso cuando la médula ósea es reemplazada por células leucémicas. Los glóbulos rojos pueden ser normocíticos, normocrómicos. El fracaso de la producción de eritrocitos, se manifiesta por un bajo recuento de reticulocitos. El frotis de sangre periférica (FSP) puede revelar formas de lágrima o eritrocitos nucleados, lo que es compatible con la invasión a la médula ósea. El recuento de plaquetas puede ser varias de normal a extremadamente bajo.¹⁵

Existe un amplio rango en el recuento de los leucocitos. Aproximadamente el 20% de los niños con LLA presentan recuentos de más de 50,000 cél/mm³. Los blastos pueden o no estar presentes en los FSP. La hipereosinofilia puede preceder al diagnóstico de LLA.¹⁶

Aproximadamente el 10% de los niños con LLA presentan recuentos de leucocitos altos (>100,000 células/mm³), en ellos el flujo sanguíneo en la microcirculación puede verse obstaculizado por el agrupamiento intravascular de los blastos, esto puede provocar hipoxemia local, daño endotelial, hemorragia e infarto, especialmente en SNC y pulmón.

La coagulación intravascular diseminada (CID) se observa con poca frecuencia en pacientes con LLA al momento del diagnóstico.¹⁷

Médula Ósea

El aspirado de médula ósea y la biopsia es esencial para hacer el diagnóstico de leucemia. La muestra de médula ósea suele ser hiper celular y se caracteriza por una población homogénea de células. En la mayoría de los casos se encuentra

más del 50% de blastos. En caso de ser difícil la obtención de la muestra ya sea por fibrosis o necrosis de la médula, se puede realizar el diagnóstico mediante una biopsia de médula ósea.¹⁸

Leucemia Extramedular.

Aunque el reemplazo medular es la causa principal de los síntomas de leucemia, la afectación extramedular también puede contribuir a la presencia de signos y síntomas. Hasta el 20% de los niños tendrán presencia de células blásticas en LCR al momento del diagnóstico.¹⁹ Se ha informado de una afectación de la médula espinal que clínicamente se manifiesta como un infiltrado leucémico epidural que comprime el cordón.²⁰

La infiltración leucémica del timo aparece como una masa mediastínica anterior en un radiografía d tórax. Se observa aproximadamente en el 10% de los pacientes recién diagnosticados, generalmente se asocia a inmunofenotipo de células T.

La presentación clínica de la LLA testicular es un agrandamiento indoloro de uno o ambos testículos. La leucemia testicular clínicamente detectable es poco frecuente al momento del diagnóstico, ocurre en 1-2% de los casos y parece no tener importancia pronóstica.²¹ Se ha observado riñones agrandados por ultrasonido en niños con LLA al diagnóstico por infiltración leucémica.²² La patogénesis puede estar causada por afectación del nervio sacro o ser causado por la obstrucción mecánica de los cuerpos cavernosos y las venas dorsales por infiltración leucémica o leucostasis.²³

El dolor óseo y articular son síntomas comunes de la LLA infantil.²⁴ El dolor óseo puede ser resultado de la infiltración leucémica directa al periostio o la expansión de la cavidad medular por células leucémicas. El dolor articular es menos frecuente, y hasta el 25% de los casos pueden tener cambios radiográficos característicos como osteopenia y fractura al momento del diagnóstico²⁵

La hepatoesplenomegalia es una característica común al momento del diagnóstico. Un ciclo corto con corticoesteroides antes del inicio de la quimioterapia puede mejorarla.²⁶

Pueden encontrarse manifestaciones oftálmicas en un tercio de los pacientes. Los síntomas incluyen inyección conjuntival, fotofobia, dolor, visión borrosa y disminución de la agudeza visual.²⁷

La leucostasis pulmonar puede conducir a insuficiencia respiratoria, se puede encontrar al momento del diagnóstico, especialmente si el paciente presenta recuento alto de leucocitos. La distinción radiográfica entre infección, infiltración leucémica o hemorragia, suele ser difícil.²⁸

La infiltración cutánea es poco frecuente en la LLA infantil, con excepción en la congénita. La leucemia cutis se manifiesta típicamente como pápulas, nódulos o placas rojas o violáceas.²⁸

GENÉTICA DE LA LEUCEMIA

Diversos estudios concluyen que hasta el 80% de los niños con LLA muestran cariotipos alterados, bien en el número de cromosomas (ploidía), o cambios estructurales como translocaciones y deleciones, los cuales tienen gran importancia pronóstica. Una de las principales causas genéticas de LLA son las mutaciones espontáneas, ello debido a que, durante los primeros años de vida, las células hematopoyéticas precursoras muestran intensa proliferación y en consecuencia mayor propensión a los reordenamientos de genes, siendo durante este periodo más susceptibles a los agentes mutagénicos.²⁹

Las apariciones de translocaciones específicas en los progenitores hematopoyéticos generan los llamados genes de fusión, responsables de la expresión de protooncogenes cuya actividad estimula factores de transcripción y como resultado aumenta la auto regeneración celular impidiendo la diferenciación y apoptosis celular.³⁰

Las alteraciones numéricas, en particular la hiperdiploidía, son frecuentes en la LLA. Más del 30% de los casos son hiperdiploidías y alrededor del 10% hipodiploidías.

Anormalidades Cromosómicas y sus Correlaciones Moleculares

En la LLA es común clasificar los cariotipos en grupos de ploidía y en grupos de reordenamiento específicos. Los grupos de ploidía comúnmente reconocidos son hiperdiploidía baja (47-50) en un quinto de los casos, hiperdiploidía alta (>50) en el 30% de los casos, casi triploidia, tetraploidía, haploidía, hipodiploidía (45 o inferior), pseudodiploidía (número normal de cromosomas con cambios estructurales) y cariotipo normal. La hipodiploidía confiere un pronóstico pobre en niños y adultos con LLA, está presente en aproximadamente el 1% de los niños con LLA pero en > 10% de los adultos. Se caracteriza por la delección de *IKZF2* y por mutaciones casi universales de *TP53*, que se heredan en aproximadamente la mitad de los casos. Los números entre 47 y 50 cromosomas está asociado a pronóstico intermedio. Entre 51 y 55 se asocia a pronóstico favorable.

Translocación (12;21) (p13;q22) / ETV6-RUNX1

Esta reorganización es difícil de detectar, ya que sólo se translocan pequeños segmentos. Hasta la aparición de técnica moleculares como FISH, Southern Blot y RT-PCR de detectaron transcripciones de fusión en hasta el 27% de los casos, por lo que es la más común en la LLA pediátrica. Se asocia con un inmunofenotipo precursor de células B y confiere un buen pronóstico.³¹

Translocación (9;22) (q34;q11) / BCR-ABL

La translocación tipo Philadelphia (Ph+) es la translocación más frecuente en la LLA en adultos. En la LLA infantil ocurre en el 3-6% de los casos. El segmento 3' del gen ABL del cromosoma 9 se transloca al parte 5' del gen BCR en el cromosoma 22, creando un gen híbrido BCR-ABL que se transcribe en un ARNm quimérico que genera una proteína con un aumento de la tirosina quinasa.

Si la ruptura ocurre en la región principal del grupo de puntos de ruptura (m-bcr) se crea una proteína de fusión de 210 kDa, llamada p210BCR-ABL, esta proteína de fusión se observa en el 50% de los casos de LLA Ph+ adultos y 20% de LLA Ph+ infantil. Los pacientes restantes muestran una ruptura dentro de puntos de ruptura

menores (m-bcr) que se traduce en una proteína de fusión BCR-ABL más pequeña llamada p190BCR-ABL. Existen puntos de interrupción raros dentro del gen BCR, que conducen a proteínas de diferentes tamaños. Las herramientas moleculares para la detección del reordenamiento BCR-ABL incluyen FISH y PCR que son complementarias a la citogenética. El pronóstico de LLA Ph+ es pobre tanto en la infancia como en los adultos.³¹

11q23 / Anormalidades MLL

Un evento molecular común es la interrupción del gen MLL ubicada en el cromosoma 11, banda 11q23. Se producen tanto en LLA y LMA. Se sabe que más de 30 loci cromosómicos participan en el reordenamiento de MLL. En la LLA los genes asociados más comúnmente en los reordenamientos de MLL son AF4 (4q21) y ENL (19p13). La translocación (4;11) (q21;q23) se observa en más del 60% de los lactantes con LLA, 2% niños y 3-6% adultos. Se asocia con la edad temprana (generalmente menores de 2 años), sexo femenino y alto recuento de leucocitos, se asocia a visceromegalias e infiltración a SNC.³¹

Translocación (1;19) (q23;p13) / E2A-PBX1

Esta translocación fue descrita por primera vez en 1984 por Carroll (referencia). Estudios posteriores la confirman como una de las translocaciones comunes en la LLA infantil, presentándose en el 25% de los casos de LLA de células pre B. Las características clínicas incluyen un recuento alto de leucocitos, niveles altos de DHL y un cariotipo pseudodiploide. A nivel molecular el gen E2A en el cromosoma 19 se fusiona con PBX1 en el cromosoma 1. Los estudios pediátricos han demostrado mal pronóstico en niños por lo que resulta favorable un tratamiento intensificado.

Translocación (8;14) (q24;q23) y Variantes translocación (2;8) (p12;q24) y translocación (8;22) (q24;q11)

Se encuentran tanto en la LLA como linfoma tipo Burkitt. El evento crucial en las tres translocaciones es la yuxtaposición del oncogén MYC . La t(8;14) es la más

común (85%), mientras que la t(2;8) y t(8;22) se encuentra alrededor de 5-10% de los pacientes, respectivamente.³¹

Delección 6q

Las deleciones del brazo largo del cromosoma 6 son comunes en la LLA, ocurren en el 5-10% de los casos, siendo el único cambio en 2/3 de los casos. Los estudios clínicos, no han confirmado ninguna diferencia en el pronóstico.

Anormalidades 9p

La pérdida de material 9p puede ocurrir por eliminaciones o translocaciones desequilibradas. Presente en el 7-12% de los casos de LLA infantil. Se encuentra en LLA de linaje B y T. Se asocia a características clínicas de alto riesgo, como la edad avanzada, recuento alto de leucocitos, infiltración a SNC.

Translocación / dic (9;22) (p11-12;p11-13)

Este grupo raro de anomalías cromosómicas conduce a la pérdida de partes de los brazos cortos de los cromosomas 9 y 12. La reorganización más común en este grupo es dic (9;12) que se asocia con edad temprana al diagnóstico, sin compromiso en SNC, fenotipo de células B y excelente pronóstico.

Delección 12p

La monosomía parcial 12p por deleciones o translocaciones se observa en el 5% de los casos de LLA. Raramente se presenta como la única anomalía. No parece tener impacto en el pronóstico.³²

Implicación de las Anomalías Cromosómicas en el Pronóstico

De acuerdo a los protocolos estándar utilizados actualmente, la t (12;21), dic (9;12), hiperdiploidía con un número de cromosomas entre 51 y 55, se asocia a un favorable pronóstico. Los pacientes con un cariotipo normal, una delección del brazo largo del cromosoma 6 o una delección 9p o 12p muestran un pronóstico intermedio. Para los pacientes con t (9;22) el resultado es un mal pronóstico con

estrategias de tratamiento intensivo, incluido el trasplante alogénico de médula ósea. Para los paciente con t(1;19), t(4;11) o t(8;14) y variantes, el pronóstico podría mejorarse con una terapia intensificada.

Según el “Protocolo de Atención para Leucemia Linfoblástica: Guía Clínica y Esquema de tratamiento” de la Secretaría de Salud de México, las translocaciones más comúnmente observadas en la LLA se muestran en el cuadro 4.

Cuadro 4. Translocaciones más frecuentes en la LLA y su pronóstico

Translocación	Pronóstico
t(12;21)	Buen pronóstico
t(1;19)	Pronóstico intermedio
t(9;22)	Mal pronóstico
t(4;11)	Mal pronóstico
t(8;14)	Mal pronóstico

Tomado de (Dorantes-Acosta, E. et al. 2013)

FACTORES PRONÓSTICOS

Se han identificado características clínicas y biológicas como significativas en el pronóstico de LLA infantil, incluida la edad, el recuento leucocitario, inmunofenotipo, anomalías cromosómicas (ploidía, translocaciones), la presencia de leucemia manifiesta en el SNC en el momento diagnóstico y la rapidez con la que los pacientes responden a la quimioterapia inicial.

Edad

La edad de los pacientes con LLA se correlaciona significativamente con el resultado clínico. En la LLA infantil, los bebés y adolescentes tienen un peor pronóstico que lo pacientes en el grupo de edad intermedia (1-10 años). La LLA en la infancia (<1 año al diagnóstico) se asocia con un alto recuento leucocitario inicial, una mayor frecuencia de leucemia en SNC al momento de presentación y una alta incidencia de reordenamientos del gen MLL en el cromosoma 11q23. Incluso cuando se tratan con regímenes intensificados, los bebés con reordenamientos del gen MLL tienen un pronóstico sombrío.³³

Recuento de leucocitos

El recuento inicial de leucocitos en sangre periférica es un predictor significativo del resultado del tratamiento y empeora los resultados a medida que aumenta el mismo. Desde 1996, según las recomendaciones del programa de evaluación de la terapia del Instituto Nacional del Cáncer (NCI) muchos investigadores, han considerado un recuento de leucocitos de 50, 000 células/mm³ como el nivel que separa a los pacientes con un mayor riesgo de recaída de aquellos con un pronóstico más favorable.³⁴

Inmunofenotipo

El inmunofenotipo se considera un factor pronóstico importante, con resultados inferiores observados en paciente con LLA de células T maduras. Los estudios han sugerido que la LLA de células B (clg+) tienen un peor pronóstico que las de células B (clg-).³⁵

La coexpresión de antígenos mieloides se creía anteriormente asociada a un resultado inferior, pero varios informes más recientes han indicado que no es un factor pronóstico.

Anomalías Cromosómicas

Varias anomalías cromosómicas recurrentes son factores pronósticos importantes en la LLA infantil. La hiperdiploidía alta (51-65 cromosomas o un índice de ADN mayor o igual a 1.16) y la t(12;21) (fusión ETV6-RUNX1) se han asociado a un pronóstico favorable. Se observa hiperdiploidía alta en el 25-30% de los casos de LLA infantil y es más común en niños con fenotipo de células precursoras B y recuento bajo de leucocitos. Los resultados más favorables en pacientes con LLA e hiperdiploidía alta se han asociado con la presencia de trisomías de los cromosomas 4, 10 y 17.³⁶

La fusión de ETV6-RUNX1 es más común en pacientes jóvenes, con recuento bajo de leucocitos y se observa en paciente con LLA con fenotipo B, se puede presentar hasta en el 80%, asociándose a un buen pronóstico.

Las anomalías cromosómicas asociadas con un pronóstico adverso se incluyen la hipodiploidía (44 ó 45 cromosomas), rearrreglos MLL y el cromosoma Philadelphia positivo.

La amplificación del gen AML1 en el cromosoma 21, detectada en el 1-2% de los niños con LLA puede estar asociada a un resultado inferior. La translocación (1;19) observada en el 5% de los casos de LLA infantil, se ha informado que tienen un mayor riesgo de recaída a SNC.³⁷

Infiltración a Sistema Nervioso Central (SNC)

Los linfoblastos en el líquido cefalorraquídeo (LCR) se pueden detectar en el 15-20% de los niños con LLA. Algunos niños, como los diagnosticados dentro de los primeros 12 meses de vida y aquellos con LLA de células T, tienen una mayor incidencia de LLA con infiltración a SNC lo cual es un indicador de pronóstico adverso y deben ser tratados con terapia más agresiva. Las punciones lumbares traumáticas con linfoblastos también se han asociado a un pronóstico adverso.³⁵

El estado del SNC se clasifica de la siguiente manera:

Cuadro. 5. Clasificación de SNC al momento del diagnóstico

SNC 1	Sin células blásticas
SNC 2	Menos de 5 leu/ μ L con células blásticas
SNC 3	5 leu/ μ L con células blásticas o parálisis de nervios craneales

Respuesta Temprana a la Quimioterapia de Inducción

La rapidez con la que un paciente responde a la quimioterapia inicial es predictor significativo de resultados a largo plazo. La respuesta temprana a la terapia, se debe evaluar utilizando características morfológicas, técnicas más sensibles como PCR y citometría de flujo.

Respuesta Morfológica a la Terapia

Los pacientes que requieren dos o más ciclos de quimioterapia de inducción para lograr la remisión completa tienen un pronóstico mucho peor que aquellos que logran la remisión completa dentro del primer mes del diagnóstico. La persistencia de blastos en muestras de médula ósea obtenidos al día 7 o 14 después de comenzar la quimioterapia se correlaciona fuertemente con un mal pronóstico.³⁸

Género y Raza

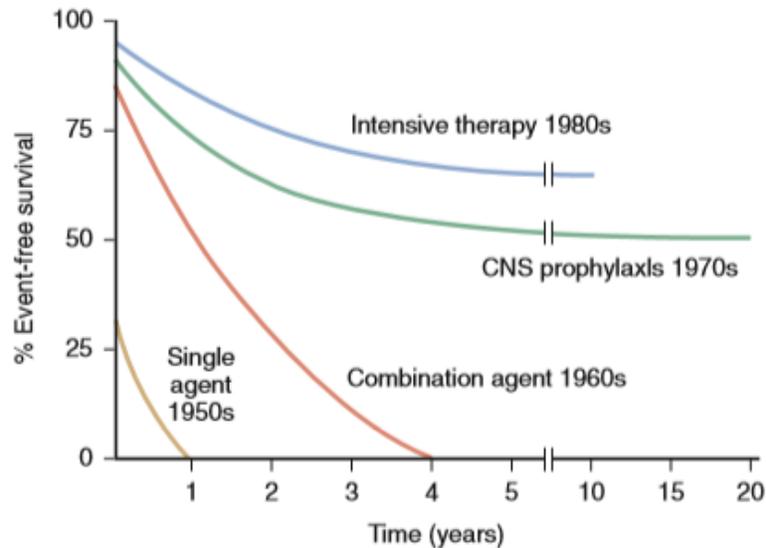
Algunos investigadores han informado que los paciente varones tienen peor pronóstico. Esta observación, se ha atribuido, en parte, al riesgo de recaída testicular.

La raza también puede influir en el resultado, con tasas más bajas de recaída para pacientes afroamericanos, hispanos y americanos. Las razones por las cuales los pacientes de diferentes razas tienen respuestas variables a la terapia en ciertos regímenes pueden estar en parte relacionadas con las diferencias en los subtipos biológicos de LLA.

TRATAMIENTO

En los últimos 50 años, ha habido una mejora en el pronóstico de la LLA infantil. La era del agente único dio como resultado pocas remisiones completas y ninguna cura. La era de la combinación de agentes sin un tratamiento adecuado a SNC dio como resultado altas tasas de remisión completa pero una mortalidad casi uniforme. Entre mediados de los años sesenta y setenta, la combinación de quimioterapia y tratamiento del SNC resultó en una supervivencia prolongada y libre de enfermedad en el 50% de los niños. La terapia intensiva en las décadas de 1980 y 1990 resultó en una supervivencia libre de enfermedad de 75-80% en los niños. Con los regímenes actuales, más del 95% de los pacientes logran la remisión completa.⁴⁰

Figura 3. Evolución del tratamiento antineoplásico en la LLA infantil.



Tomado de Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium Protocol 95-01 for children with acute lymphoblastic leukemia

El tratamiento quimioterápico y estratificado, basado en el riesgo de recaída, ha favorecido exitosamente la curación del cáncer. Éste, tiene como objetivo principal la remisión clínica y hematológica y el mantenimiento de la misma.⁴¹

Para el tratamiento, el Instituto Nacional de Cáncer de Estados Unidos establece 2 grupos de riesgo:

- a) Riesgo estándar (bajo): pacientes entre 1-10 años de edad, con recuento de glóbulos blancos inferior a 50.000/ μ l en el momento del diagnóstico.
- b) Riesgo alto: Pacientes menores a un año y mayores de 10 años, con un recuento de glóbulos blancos de 50.000/ μ l o más en el momento del diagnóstico.

Fases de la Terapia

En general, los regímenes de tratamiento para los niños con LLA recién diagnosticada incluyen 3 fases: inducción a la remisión, consolidación y mantenimiento, con una duración de 2 a 2.5 años.

La fase de inducción a la remisión está diseñada para destruir rápidamente las células leucémicas medibles y minimizar la carga residual (es decir, el número total de células leucémicas en el cuerpo). La fase de intensificación o consolidación están diseñada para reducir aún más la carga celular de leucemia y abordar los problemas de resistencia a los medicamentos antileucémicos. La fase de mantenimiento que consiste en quimioterapia a dosis baja, está diseñada para erradicar la carga celular de leucemia residual. En todas las fases, los tratamientos dirigidos al SNC (por ejemplo, la quimioterapia intratecal) son un componente esencial porque muchos agentes administrados por vía sistémica no penetran adecuadamente el cerebro y la médula espinal.⁴²

Inducción a la Remisión

Esta fase está diseñada para reducir la carga de células leucémicas a un nivel clínico y hematológico indetectable. La remisión hematológica se define como el logro de la médula ósea normocelular con 5% o menos de blastos y sin presencia de linfoblastos en sangre periférica con retorno de recuentos sanguíneos periféricos “normales”, es decir, granulocitos superiores a 500 – 1000 /mm³, plaquetas superiores a 100 000 /mm³. La remisión completa se define como el logro de estos criterios junto con la ausencia de signos y síntomas de leucemia extramedular. La duración de la mayoría de los regímenes de inducción es de 4 a 6 semanas e induce la remisión completa (RC) en aproximadamente el 98% de los casos pacientes pediátricos.

Los ensayos clínicos en la década de los sesenta demostraron que las combinaciones de dos agentes eran consistentemente superiores a los agentes únicos para inducir la remisión completa en niños con LLA. La vincristina y la prednisona produjeron una remisión completa en aproximadamente 90% de los pacientes pediátricos con LLA. La adición de un tercer fármaco aumento el número de pacientes que alcanzaron la remisión completa como la supervivencia sin recaídas a largo plazo.⁴² Los regímenes de inducción actuales, por lo tanto, consisten de al menos cuatro agentes, con mayor frecuencia L. asparaginasa, antraciclina, vincristina y prednisona.⁴³

EL inicio del tratamiento de SNC es un componente integral de la terapia de inducción. En general, se recomienda administrar quimioterapia intratecal con la primera punción lumbar diagnóstica para reducir el riesgo de sembrar inadvertidamente las meninges con linfoblastos de sangre periférica. Los pacientes con blastos en LCR al diagnóstico o punción lumbar traumática con blastos, reciben más dosis de quimioterapia intratecal durante la fase de inducción. El fracaso para lograr la remisión después del primer mes de tratamiento es poco común, ocurre en menos del 5%. A pesar de esta tasa de remisión completa relativamente alta, la supervivencia general para los pacientes con antecedente de fracaso a la inducción inicial es pobres, con tasas de supervivencia global a largo plazo de 20-30%.⁴⁴

Consolidación

Los objetivos de esta fase son reducir aún más la carga de la enfermedad y ajustar la intensidad del tratamiento según el riesgo de recaída posterior.

Tiene una duración aproximada de 24 semanas. En esta etapa de intensificación se evalúa la opción de administrar quimioterapia intratecal si el paciente es considerado de alto riesgo para evitar la invasión de las células leucémicas a SNC (American Cancer Society, 2014).

El metotrexato es crucial para controlar la leucemia sistémica y también la enfermedad del SNC y testicular, el cual se administra a dosis altas (2-5 gr/m²), más recates de ácido folínico.

Mantenimiento

Fase en la que los pacientes son tratados con quimioterapia menos intensa para completar al menos 2 años de terapia. La mayoría de los regímenes consisten en dosis bajas semanales de metotrexate y mercaptopurina en algunos casos combinado con Vincristina y Prednisona.⁴⁵

Terapia dirigida a Sistema Nervioso Central

Debido al alto riesgo de secuelas neurocognitivas tardías, endocrinopatía y cánceres secundarios, la irradiación craneal ha sido reemplazada en gran parte

por quimioterapia intratecal, además de quimioterapia sistémica que tiene efectos sobre el SNC (p. Ej., Dexametasona, metotrexato en dosis altas y asparaginasa).⁴⁶

Agentes dirigidos Molecularmente

Con la mayor comprensión de las alteraciones genéticas en la LLA, están surgiendo enfoques dirigidos a la mutación genética impulsora y / o la vía de señalización asociada.

Este enfoque es atractivo ya que puede aumentar o reemplazar la quimioterapia convencional con menos efectos secundarios.

En la LLA pediátrica Ph positiva, la adición de un inhibidor de la tirosina quinasa ABL1a la quimioterapia intensiva posterior a la inducción produjo mejoría en la sobrevida global.

Para aquellos pacientes con alteraciones que activan la vía de señalización JAKSTAT, como reordenamientos o una mutación de *CRLF2* (*IGH-CRLF2*, *P2RY8 CRLF2* o *CRLF2 F232C*), reordenamientos de *JAK 2*, *EPOR* o *TYK2* o mutaciones / deleciones de *IL7R*, *SH2B3*, *JAK1*, *JAK3*, *TYK2* o *IL2RB*, se están realizando ensayos clínicos de un inhibidor de JAK (ruxolitinib). Venetoclax inhibe el regulador antiapoptótico BCL-2. Los estudios preclínicos han identificado actividades de venetoclax contra leucemias de alto riesgo como LLA ETP, LLA reordenada *KMT2A*, LLA TCF3 -*HLF* positiva y LLA hipodiploide.

Inmunoterapia

La inmunoterapia consiste en la administración de anticuerpos (p. Ej., Blinatumomab o inotuzumab ozogamicina).

Blinatumomab tiene dos fragmentos Fv monocatenarios diferentes: uno se une al antígeno CD3 y activa la citotoxicidad de las células T, y el otro se une al antígeno CD19 de las células B, que se expresa en la mayoría de las células B-ALL. En los estudios realizados en pacientes con LLA-B refractaria / recidivante, presentan una mejor tasa de remisión completa y supervivencia que aquellos que recibieron quimioterapia habitual, refiriendo una mayor sobrevida libre de enfermedad a 2 años, sobrevida global, con menores incidencias de neutropenia

febril, infección y sepsis en comparación con el grupo de quimioterapia. El síndrome de liberación de citocinas y la neurotoxicidad son efectos adversos del blinatumomab, y su incidencia y gravedad pueden reducirse disminuyendo la carga de la enfermedad antes del tratamiento.⁴⁷

Inotuzumab ozogamicina es un anticuerpo monoclonal anti-CD22 humanizado conjugado con caliqueamicina. Los estudios en pacientes adultos con LLA de células B refractarios al tratamiento o en recaída que recibieron Inotuzumab tuvieron una mejor tasa de remisión y supervivencia. En pacientes pediátricos con LL-B recidivante/refractaria, se observó una remisión completa en el 67%.⁴⁸

ANTECEDENTES DIRECTOS

ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL

Los protocolos de tratamiento citotóxico actuales inducen la remisión completa según los criterios citomorfológicos en 95 a 98% de los niños con leucemia linfoblástica aguda (LLA). Sin embargo, el 25-30% de los pacientes con LLA infantil recaen, lo que implica que no todas las células leucémicas están erradicadas. Los criterios citomorfológicos no son suficientes para una evaluación adecuada del estado de remisión porque el umbral de detección es del 1 al 5% de células leucémicas.

El concepto de enfermedad mínima residual (EMR) se introdujo para estimar con mayor precisión el número de células leucémicas y, a su vez, para mejorar el tratamiento clínico y las tasas de curación. El beneficio de la detección de la EMR durante el tratamiento es que resulta en un factor pronóstico y predictor de recaída. Lo que permite la intensificación temprana del tratamiento y empleo de estrategias como el trasplante de médula ósea.

El término "enfermedad mínima residual" (EMR) define el nivel de enfermedad detectable en pacientes en remisión clínica durante la terapia, por debajo del límite de detección de los métodos convencionales. Se pueden utilizar métodos muy

sensibles, capaces de identificar una célula leucémica de entre 10.000 linfocitos normales.

Los primeros estudios sobre la detección de EMR en LLA datan de la década de 1980, utilizando microscopía de inmunofluorescencia. Varios estudios han demostrado que la detección de EMR en la LLA es un parámetro de riesgo, por lo que se incorpora actualmente en la mayoría de los protocolos de tratamiento de LLA como herramienta de estratificación.

Existen tres tipos de técnicas que permiten la detección de EMR de 10^{-3} – 10^{-6} (una célula leucémica en 10^3 – 10^6 células): 1) inmunofenotipado por citometría de flujo (detección de la expresión aberrante de proteínas por las células de la LLA); 2) Análisis por PCR de regiones de fusión de puntos de ruptura de aberraciones cromosómicas; y 3) detección de reordenamientos de genes de inmunoglobulina (Ig) y receptor de células T (TCR) específicos de clon mediante amplificación por PCR.

Enfermedad Mínima Residual

En las últimas décadas, los avances en quimioterapia, radioterapia y en el trasplante de precursores hematopoyéticos han mejorado de forma considerable las posibilidades de supervivencia de los niños afectados de patología oncológica. Sin embargo, el riesgo de recurrencia continúa siendo, en muchos casos, un obstáculo importante para su curación. En este sentido, la detección de enfermedad mínima residual (EMR) constituye un procedimiento de gran interés con objeto de adecuar los requerimientos terapéuticos y además en algunos casos puede tener una clara trascendencia pronóstica

La EMR consiste en la persistencia de un clon anormal, aún en niveles bajos, durante o tras finalizar el tratamiento. El inmunofenotipo y/o la citogenética y las técnicas moleculares pueden ser utilizadas para su estudio en leucemias y diferentes tumores sólidos infantiles.

La respuesta precoz al tratamiento de inducción es uno de los factores pronósticos más importantes en niños afectados de leucemia linfoblástica aguda (LLA). Actualmente se consigue la remisión citológica en el 95-98 % de estos pacientes; sin embargo, un porcentaje importante recaerá posteriormente. Es preciso utilizar técnicas más sensibles para medir la leucemia residual y establecer un nuevo concepto de remisión completa.

La evaluación de la enfermedad mínima residual (EMR) implica la medición de niveles muy bajos de células blásticas utilizando técnicas sensibles como PCR o citometría de flujo, inmunocitología y técnicas moleculares como la hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH).

Mediante estas técnicas, las células de leucemia se han identificado en niveles tan bajos como 1 en 10, 000 o 1 en 100, 000 células. Para los pacientes con niveles altos de EMR al final de la inducción tienen un mayor riesgo de recaída. El riesgo de recaída se correlaciona con el nivel de EMR, es decir, aquellos con niveles más altos de EMR al final de la inducción a la remisión tienen peor pronóstico.³⁹

Los métodos de estudio para detectar EMR deben cumplir unos requisitos previos para poder ser considerados útiles. Dichos requisitos incluyen una elevada sensibilidad, especificidad, reproducibilidad y aplicabilidad de la técnica.

Técnicas de EMR en la LLA

Análisis de PCR

La PCR es una técnica molecular que permite amplificar secuencias específicas de ADN o ARN expresadas en las células tumorales, multiplicando por 100 el número de copias que podemos obtener de un determinado fragmento de ADN. Con la RT-PCR, se puede analizar el ARN de transcripción expresado en dichas células. Esto nos permite el estudio de los genes alterados por translocaciones primarias y de otros genes característicos asociados a determinados tipos de

tumor. En la monitorización de la EMR es importante la cuantificación de ésta mediante la RT-PCR en tiempo real, de manera que la comparación de su nivel de amplificación con los estándares adecuados, proporciona una medida cuantitativa del grado de afectación. Posee una sensibilidad que se sitúa entre 1×10^{-5} y 1×10^{-6} .^{6, 8, 16}.

El cromosoma Filadelfia (Ph) representa un cromosoma 22 acortado que resulta de una translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22, lo que da como resultado la formación de un gen de fusión que involucra genes *ABL* y *BCR*. Esta aberración genética se encuentra en aproximadamente el 25% de los pacientes adultos y en el 5% de los niños con LLA y se asocia con un mal pronóstico. En el 70% de los pacientes con LLA Ph +, el punto de ruptura en el gen *BCR* se encuentra en el primer exón del gen *BCR* (e1) y se yuxtapone al segundo exón del gen *ABL* (a2). La transcripción del punto de ruptura menor resultante (e1-a2) codifica una proteína quimérica de 190 kDa (p190). La segunda transcripción de fusión más frecuente implica puntos de ruptura en una región de 5,8 kb que abarca los exones 12-16, conocida como la región del grupo de puntos de ruptura principal (M-bcr) y es típica de la leucemia mieloide crónica (LMC), pero también se observa en 30% de pacientes con LLA Ph +.

La detección de transcripciones de fusión *BCR - ABL* mediante PCR de transcripción inversa es relevante no solo para fines de diagnóstico sino también en particular para la monitorización cuantitativa de la EMR. Las ventajas de la RQ-PCR para evaluar las transcripciones de fusión en Ph + LLA incluyen alta sensibilidad, facilidad y rapidez de análisis y un costo relativamente bajo.⁴⁹

Citometría de Flujo

Se basa en el análisis de muestras de médula ósea. Un mínimo de $3 (-5) \times 10^6$ las células nucleadas deben estar disponibles para la realización del diagnóstico y para el análisis de seguimiento. El tiempo de envío es un tema importante cuando se analizan células vitales y, de manera óptima, no debe exceder las 24 horas.

Tecnología utilizada para analizar y definir el perfil inmunofenotípico de las células neoplásicas y establecer así la presencia de fenotipos aberrantes. Se utiliza

principalmente en leucemias. Se basa en la aplicación de anticuerpos monoclonales específicos, dirigidos contra proteínas de membrana o intracitoplasmáticas, que llevan apareado un fluorocromo para su detección y visualización mediante un sistema informático apropiado. Posee una sensibilidad superior a 1×10^{-4} , es decir, es capaz de detectar una célula tumoral entre 10.000 células normales^{9, 13-15}.

En principio se determinan las características de dispersión de luz e inmunofenotipo de diez mil eventos (células). A partir de estos datos se generan dos gráficas; en la primera se seleccionan los puntos que dispersan la luz en forma típica de blastos leucémicos (R1); la segunda se utiliza para seleccionar los puntos (R2) que reflejan la expresión de marcadores celulares particulares (CD19, CD34). A partir de estas gráficas se obtiene un grupo de eventos que cumplen con los criterios de CD19+, CD34+ (R3). El estudio de estas células se continúa con el análisis de los fenotipos “asociados a leucemia” como es la expresión de CD33 que no se obtiene en células normales, pero sí en las leucémicas (R4). Estas células deben ser analizadas nuevamente en una gráfica de dispersión de luz para comprobar que se trata de un grupo homogéneo de células. Una vez determinados los marcadores útiles, éstos se vuelven a utilizar en las muestras de médula ósea subsecuentes, tomadas para la evaluación del tratamiento de inducción a la remisión. Si en este momento se encuentran una o más células con el inmunofenotipo leucémico entre 10 mil células (0,01%), se considera una muestra positiva a EMR.

Se recomienda un mínimo de 6 a 8 marcadores relevantes en combinaciones estratégicas, es decir, una columna vertebral constante de 2 a 4 marcadores de linaje, que permiten el seguimiento de las células de interés. Los anticuerpos monoclonales deben seleccionarse cuidadosamente para obtener un rendimiento óptimo y la elección de los fluorocromos debe basarse en evitar las interacciones de los fluorocromos y el tipo de marcador (o aberración), para permitir la mejor discriminación entre células normales y malignas.

El límite de detección de un ensayo de EMR por citometría de flujo está determinado en parte por el número mínimo de eventos que pueden usarse de manera confiable para definir una población de células neoplásicas. Se ha demostrado que, en determinadas circunstancias, la identificación precisa de una población que utiliza la citometría de flujo de hasta 4 colores requiere al menos 20 eventos. El Consorcio EuroFlow afirma un mínimo de al menos 100 eventos de células neoplásicas para la cuantificación. El grupo BFM-ALL-FLOW-MRD cuantifica la EMR una vez que se adquieren un mínimo de 30 eventos de células neoplásicas por tubo.

Para alcanzar la sensibilidad recomendada entre 1×10^4 células (es decir, nivel 10^{-4}), el número mínimo de eventos totales requeridos es 1×10^6 .

PCR de rearrreglos de las inmunoglobulinas

Finalmente, la detención de enfermedad mínima residual basándose en la detección de re arreglos monoclonales de las cadenas pesadas o livianas de las inmunoglobulinas mediante PCR, es considerada hoy en día como una técnica con mayor precisión.⁴⁹

Diagnóstico de Monoclonalidad de re-arreglos de genes de Inmunoglobulinas.

Las neoplasias se constituyen de poblaciones celulares que comparten muchas características y pueden, en teoría, derivarse de la proliferación de un único precursor común; o en otras palabras, las neoplasias suelen ser "clonales". Por lo tanto, se esperaría cada una de las células que conforman tales neoplasias contengan secuencias de ADN idénticas, que podrían usarse como marcadores tumorales específicos. La gran mayoría de las neoplasias linfoides (> 98%) contienen reordenamientos de genes idénticos (es decir, clonales) de la inmunoglobulina (*IG*) y / o el receptor de células T (*TCR*), así como otras aberraciones cromosómicas bien definidas las cuales se han documentado en 25-30% de los casos, cualquiera de los cuales puede servir como marcador de clonalidad.⁵⁰

Las proteínas IG están compuestas por dos cadenas pesadas (IGH) y dos cadenas ligeras (IGK o IGL). El dominio variable de IGH está codificado por un solo exón que se origina en los segmentos V, D y J reordenados, mientras que una combinación de los segmentos del gen V y J codifica los dominios variables de IGK y/o IGL. El dominio constante está codificado por segmentos de genes dentro de la región C (constante).

Los exones de los genes de la región variable de las Ig se generan a través de un reordenamiento de secuencias que originalmente se encuentran separadas en la cadena de ADN original. Las proteínas RAG1 y RAG2 son indispensables en el proceso de reordenamiento de los segmentos variables (V), de diversidad (D) y de unión (J) («recombinación VDJ») para formar la cadena pesada de la Ig (IgH).

Durante el desarrollo temprano de las células B y T, los fragmentos de línea germinal variable (V), diversos (D) y de unión (J) de los genes *IG* y *TCR* se reorganizan mediante la delección o inserción aleatoria de nucleótidos dentro de la región de unión, lo que genera secuencias específicas y únicas dentro de cada linfocito. Por lo tanto, las células cancerosas que surgen de alteraciones en precursores linfoides individuales poseen regiones de unión *IG* o *TCR* clonales, que pueden considerarse como 'huellas dactilares de ADN' para las células malignas y pueden usarse como marcadores específicos de tumores ^{50, 51, 52}

El reordenamiento de las secuencias génicas de la IgH comienza en los linfocitos pro-B por acción de la enzima deoxinucleotil transferasa terminal (TdT) y los productos proteicos de los genes activadores de recombinación 1 y 2 (RAG1 y RAG2), con las que se inicia el reordenamiento inicial de los segmentos D y J de la IgH. Posteriormente, en el estado de linfocitos pre-B ocurre la unión de uno de los segmentos V al rearreglo inicial DJ, generándose el rearreglo final VDJ. Si el reordenamiento no da lugar a una IgH funcional, se iniciará el reordenamiento del segundo alelo de la IgH.

Los reordenamientos de los genes de Ig y TCR durante la diferenciación linfoide temprana generalmente siguen un orden jerárquico. Durante la diferenciación de células B, primero se reordenan los genes *IGH*, luego *IGK*, lo que potencialmente

da como resultado la expresión de IgH / κ o seguido de la delección de *IGK* y el reordenamiento de *IGL*, seguido potencialmente de la expresión de IgH / λ .⁵³ Esto implica que prácticamente todas las células B Ig λ^+ tienen delecciones del gen *IGK* monoalélico o bialélico.

En el caso de las células T, se conocen dos tipos de receptores: TCR $\alpha\beta$ y TCR $\gamma\delta$; en particular, la cadena $\gamma\delta$ se reordena antes que la cadena $\alpha\beta$ durante la ontogénesis. De hecho, durante la diferenciación de células T, primero se reorganizan los genes de las cadenas *D de TCR* (*TRD*), luego las *cadena G de TCR* (*TRG*), Resultando potencialmente en la expresión TCR $\gamma\delta$ o seguido de más cadenas de reordenamiento *TCR B* (*TRB*) y de delección de TCRD con posteriores *TCR A* cadenas (*TRA*) reordenamiento, potencialmente seguido por la expresión TCR $\alpha\beta$. Además, se han observado reordenamientos de las *cadena B* y / o *G de TCR* en casi todos los tipos de trastornos linfoproliferativos T.⁵⁴ No obstante, es importante subrayar que hay neoplasias de células T raras que han carecido de reordenamientos de los genes TRB o TRG, en estos casos la evaluación de TRD podría ser útil.^{55, 56}

Los reordenamientos de genes IGH, se presenta como el primer evento en la diferenciación de las células B en forma de un reordenamiento clonal detectable en alrededor del 82% de las neoplasias linfoides.

Los reordenamientos se efectúan por medio de pasos secuenciales e invariables:

1. Sinapsis: el mecanismo enzimático detecta las secuencias señal de la recombinación o RSS. Estas constan de tres porciones: un heptámero de nucleótidos conservados, un espaciador de 12 o 23 nucleótidos variables y un nonámero de nucleótidos rico en AT. El espaciador corresponde a giros de la hélice de ADN, de manera que los heptámeros se encuentran en posiciones vulnerables al ataque enzimático por la V(D)J recombinasa. Estas enzimas son propias de los linfocitos en desarrollo y se encuentran inactivas durante la proliferación celular.

2. Escisión: roturas en la doble cadena de ADN en las uniones entre la RSS y la secuencia codificadora. La unión entre los heptámeros se lleva a cabo eliminando el ADN entre ellos, o formando un bucle por inversión de las cadenas. Los extremos codificadores rotos finalizan por una horquilla cerrada.

3. Apertura de las horquillas por medio de la enzima Artemisa, una endonucleasa, con el fin de que la enzima TDT (por la sigla en inglés de Terminal deoxynucleotidyl transferase) añada nuevas bases en los extremos expuestos, aumentando la diversidad de las secuencias.

4. Unión y finalización por medio del sistema de unión de extremos no homólogo, un mecanismo de reparación de ADN presente en todas las células. Más tarde, los linfocitos B maduros aumentan su repertorio de combinación por medio de hipermutación somática en el centro germinal. Se caracteriza por la adición o sustracción de nucleótidos.

Las distintas combinaciones de segmentos de genes V, D y J representan el llamado repertorio combinatorio, que se estima en $\sim 2 \times 10^6$ para moléculas de Ig, $\sim 3 \times 10^6$ para moléculas de TCR $\alpha\beta$, y $\sim 5 \times 10^3$ para moléculas de TCR $\gamma\delta$.⁵⁴

Cuadro 6. Número estimado de segmentos de genes V, D, J humanos no polimórficos que pueden estar involucrado en reordenamiento de genes de Ig o TCR

Segmento genético	IGH	IGK	IGL	TCRA	TCRB	TCRG	TCRD
<i>Segmentos en V</i>							
Funcional (familiar)	44 (7)	43 (7)	38 (10)	46 (32)	47 (23)	6 (4)	8
Reorganizable (familia)	66 (7) ^b	76 (7)	56 (11)	54 (32)	67 (30)	9 (4)	8
<i>Segmentos D</i>							
Reorganizable (familia)	27 (7)	-	-	-	2	-	3
<i>Segmentos J</i>							
Funcional	6 ^c	5 días	4	53	13	5	4
Reorganizable	6 ^c	5 días	5 ^e	61	13	5	4

^a En esta tabla solo se incluyen segmentos de genes no polimórficos con un RSS adecuado.^{62, 63}

^b Esta estimación no incluye los pseudogenes VH recientemente descubiertos (generalmente truncados), que se agrupan en tres clanes.

^c Los seis segmentos del gen JH son altamente homólogos en un tramo de ~ 20 nucleótidos, lo que es suficiente para el diseño de un cebador consenso.

^d Los segmentos J κ tienen una alta homología, lo que permite el diseño de dos a tres cebadores de consenso J κ .

^e Cinco de los siete segmentos del gen J λ tienen un RSS adecuado.

Fuente: Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: Report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936

Si bien, las distinciones entre trastornos malignos linfoproliferativos y procesos no neoplásicos suelen basarse en características clínicas, cito / histomorfológicas, inmunofenotipo y la identificación de aberraciones cromosómicas bien definidas, el 10-15% de los casos, dichos diagnósticos siguen sin estar claros y se requieren estudios adicionales, como evaluaciones de clonalidad, para confirmar las sospechas diagnósticas.⁵⁷

Actualmente, existen enfoques diferentes para detectar la clonalidad, incluidos los análisis de transferencia Southern, los ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y, más recientemente, la secuenciación de alto rendimiento.

Los estudios de PCR logran identificar monoclonas en poblaciones de linfocitos que se ven anormalmente aumentadas; esto se basa en que cada linfocito posee, en las cadenas pesadas y ligeras de las Ig, secuencias hipervariables únicas denominadas Regiones Determinantes de Complementariedad (CDR).

El uso de PCR para la detección de estos reordenamientos, tiene sus raíces a principios de la década de 1990. Desde el principio, la estandarización del análisis RQ-PCR (reacción de cadena de polimerasa en tiempo real) y la interpretación de datos fue uno de los principales objetivos de las colaboraciones europeas. Posteriormente en el año 2002, el grupo BFM-SG europeo estableció la detección de EMR en LLA (ESG-MRD-ALL) por esta técnica.

Se utilizan dos tipos diferentes de análisis de PCR para las evaluaciones de clonalidad: cualitativo y cuantitativo.

Análisis de clonalidad por PCR cualitativa

La detección de reordenamientos de genes *IG* y *TCR* mediante PCR (Reacción de Cadena de Polimerasa) puede identificar una sola célula monoclonal T o B con alta sensibilidad.⁵⁴ Sin embargo, una desventaja significativa de *IG* o *TCR* basados en el análisis por PCR de genes es que los tipos de reordenamientos que se pueden detectar están limitados por los cebadores que se utilizan, lo que aumenta

la posibilidad de resultados falsos negativos. En 2003, el grupo BIOMED-2 estableció protocolos y cebadores estandarizados para el análisis de clonalidad por PCR multiplex, que han aumentado la eficiencia y la reproducibilidad de la detección de clonalidad. En el caso de trastornos linfoproliferativos B, las dianas de *IGH* (FR1, FR2 y FR3) se eligen generalmente, en paralelo o seguidas por dianas de *IGK*. Con respecto a los trastornos linfoproliferativos T, *TRB* y *TRG* pueden analizarse en paralelo o consecutivamente, y muestran una tasa de detección cercana al 100%.

En cuanto a la evaluación de patrones en las pruebas de clonalidad, resulta difícil discernir si los reordenamientos son clonales, oligoclonales, policlonales o pseudoclonales.⁵⁸ En un intento de hacer la interpretación menos subjetiva, se han introducido *algoritmos de lectura*. Estos algoritmos consideran las alturas de los picos y las proporciones de los picos para definir reordenamientos "verdaderamente clonales".⁵⁹

Análisis de clonalidad por PCR cuantitativa

Este análisis se realiza por reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (RQ-PCR), esta técnica es la más simple y se basa en la detección y cuantificación de productos de PCR utilizando el colorante intercalador de ADN SYBR Green I. Sin embargo, este método no es específico. Por el contrario, los sistemas que implican sondas de hidrólisis o hibridación son más sensibles y se pueden usar para analizar los resultados de RQ-PCR de una manera específica de secuencia. En estos ensayos, la generación de señales requiere dos tipos de hibridación (dos cebadores y una / dos sondas), lo que conduce a niveles de precisión más altos. Independientemente del tipo de análisis de RQ-PCR utilizado, también se pueden usar diferentes tipos de oligonucleótidos para aumentar la especificidad, incluida la sonda de oligonucleótidos específicos de alelo (ASO), cebadores directos e inversos de ASO, así como sondas y cebadores de línea germinal.⁶⁰

En las neoplasias linfoides, los objetivos principales utilizados en los análisis de EMR basados en PCR son los reordenamientos clonales de antígeno-receptor.⁶¹ Se requiere cribar el ADN usando PCR para determinar el reordenamiento clonal preciso en el momento del diagnóstico. Luego, el producto de la PCR se secuencía para definir las regiones de unión y permitir el diseño de cebadores ASO y específicos del paciente. Estos cebadores se utilizan luego para evaluar la EMR en células mononucleares de sangre periférica (SP) / médula ósea (MO) de muestras secuenciales recolectadas en diferentes puntos de tiempo después de la terapia.⁶²

A pesar de la dificultad de los enfoques de RQ-PCR, resulta extremadamente sensibles,⁶³ pudiendo detectar 1 célula cancerosa entre 10,000–100,000 células normales (sensibilidad = 10^{-4} – 10^{-5}).

Los inconvenientes de la RQ-PCR son los resultados falsos negativos debido a fenómenos como la oligoclonalidad (los clones patológicos menores que no se detectaron en el momento del diagnóstico se vuelven más predominantes durante el curso de la enfermedad) o la evolución clonal (los marcadores clonales son reemplazados por un reordenamiento secundario).⁶⁴

Los resultados falsos negativos son asociados a dos causas principales: la falta de unión de los iniciadores ocasionada principalmente por la alineación ineficaz de los iniciadores para los segmentos V y J y por la llamada hipermutación somática (SHM) en los genes *IG* de centro germinal (CG) y post-CG; el segundo factor es la enorme diversidad de los segmentos génicos V, D y J. Los resultados falsos positivos son causados por la detección de pseudoclonas que en condiciones estándar en un gel de poliacrilamida semejan una monoclonal.⁶⁵

Los diferentes estudios ofrecen diferencias en la sensibilidad de la detección del EMR, sin embargo la citometría de flujo se ha llegado a considerar el método más accesible para la detección de EMR aunque de menor sensibilidad. Una ventaja específica que ofrece sobre los ensayos basados en PCR es que permite la cuantificación directa y precisa de las células leucémicas residuales, en contraste con la extrapolación de las cuantificaciones obtenidas del producto de la PCR.

Además, la citometría de flujo identifica células muertas y detritos celulares; a la vez evalúa el estado de las células hematopoyéticas normales sensibilidad ⁶⁶

	Sensibilidad	
PCR mediante ARN	1×10^{-6}	1 célula en 1 000,000
Amplificación genes Ig y TCR por RT-PCR	Entre 1×10^{-4} 1×10^{-5}	1 célula en 100,000 a 10, 000
Detección por citometría de flujo de inmunofenotipos	1×10^{-4}	1 célula en 10,000

Se han obtenido resultados similares en trabajos realizados en pacientes con LLA por citometría de flujo; en un estudio se determinó que de 104 muestras de médula ósea de pacientes con LLA de linaje B positivas a EMR, sólo 37 muestras de sangre periférica de los mismos pacientes tuvieron resultados positivos. En contraste, en un estudio realizado en México donde se analizó EMR en 93 pacientes con leucemia aguda tanto por citometría de flujo como por PCR, no se encontraron diferencias al realizar la estimación en ambos tipos de muestras. También se refiere que a pesar de tener una menor sensibilidad que la PCR, la citometría de flujo fue la mejor opción de evaluación durante el seguimiento de los pacientes, ya que fue posible realizarla en todos los casos estudiados. ^{67,68}

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la neoplasia maligna infantil más común y representa el 30% de todos los cánceres de la edad pediátrica.

Durante las últimas décadas se han logrado avances significativos en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda (LLA) que resulta en una mejora de las tasas de curación de hasta el 80%, así como en el desarrollo de técnicas moleculares avanzadas para la monitorización eficaz de los pacientes durante el seguimiento.

Los trastornos malignos linfoproliferativos requieren un análisis de las características clínicas, cito / histomorfológicas, inmunofenotipo y la identificación de aberraciones cromosómicas bien definidas, para su diagnóstico, sin embargo el 10-15% de los casos, dichos diagnósticos siguen sin estar claros y se requieren estudios adicionales, en tales casos, los estudios de clonalidad molecular de reordenamientos de inmunoglobulina (Ig) / receptor de células T (TCR) pueden ser útiles para confirmar las sospechas diagnósticas.

Actualmente, existen enfoques diferentes para detectar la clonalidad, incluidos los análisis de transferencia Southern, los ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y, más recientemente, la secuenciación de alto rendimiento.

Debido a que la PCR es rápida, precisa y solo requiere pequeñas cantidades de ácido nucleico como molde, actualmente han reemplazado gradualmente a otras técnicas para los estudios de clonalidad de rutina.

Además, el nivel de enfermedad mínima residual (ERM), determinado por PCR, es actualmente el factor pronóstico más fiable en el tratamiento de la LLA pediátrica. La información sobre los niveles de ERM permite la identificación de pacientes con riesgo alto, intermedio y bajo de recaída de LLA. Esto conduce a una mejor clasificación en grupos de riesgo y una toma de decisiones clínicas apropiadas. Por lo tanto, las evaluaciones de clonalidad se pueden utilizar tanto con fines pronósticos como terapéuticos.

Tales ventajas justifican la necesidad de adoptar técnicas moleculares más sensibles, que eliminen los problemas inherentes a los ensayos específicos que hoy en día utilizamos en nuestra unidad hospitalaria, reduciendo los errores

debidos a interpretación de datos dependientes del operador y del laboratorio para mejorar los estudios de diagnóstico y la monitorización durante el tratamiento de los pacientes con LLA.

Las limitaciones en el uso de la PCR son los resultados falsos negativos (baja tasa de detección) y falsos positivos (pseudoclonas). Por lo que utilizará el set de iniciadores y se basará este estudio en protocolos estandarizados por el grupo de estudio colaborativo europeo denominado BIOMED-2.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe diferencia entre los métodos de citometría de flujo y la determinación de los re-arreglos monoclonales IgH en la evaluación de la remisión completa al término de la fase de inducción a la remisión en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda de células B en Centro Médico Nacional de Occidente?

JUSTIFICACIÓN

Magnitud

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el cáncer más frecuente en la edad pediátrica, representa el 30% de los diagnósticos de cáncer en menores de 15 años, con una incidencia anual de 30 a 40 casos por millón, siendo la edad más frecuente de presentación de los 3 a 5 años. En América Latina la incidencia de la LLA es de hasta 120 pacientes por millón por año. En México se estima una incidencia de 78.1 casos nuevos por cada millón de habitantes al año y presentan una tasa de supervivencia menor a la reportada en países desarrollados.

Trascendencia

Los métodos utilizados para el diagnóstico de los trastornos malignos linfoproliferativos se basan en criterios morfológicos, clínicos, inmunofenotipo y la identificación de aberraciones cromosómicas bien definidas, sin embargo, el 10-15% de los casos, escapan de estas técnicas.

Vulnerabilidad

Actualmente, se realiza en todos los pacientes de forma habitual citometría de flujo al término de la inducción a la remisión y no todos los pacientes cuentan con estudio de re-arreglos monoclonales IgH, por lo que podría verse limitado el número de expedientes de pacientes captados.

Factibilidad

El estudio es factible ya que la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente cuenta con una población activa de personal clínico y no clínico suficiente para la muestra del presente estudio. Por lo cual se cuenta con todos los elementos tanto materiales como de recursos humanos para poder realizar el estudio.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Comparar a la citometría de flujo y re-arreglos IgH monoclonales en la evaluación de la remisión al término de la fase de inducción a la remisión en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda de células B.

Objetivos específicos:

1. Describir las características sociodemográficas de pacientes pediátricos con leucemia aguda de células B.
2. Comparar el resultado de la citometría de flujo y de re-arreglos monoclonales IgH tomados al término de la inducción a la remisión en los pacientes con leucemia aguda de células B.
3. Identificar aquellos pacientes que al término de la fase de inducción a la remisión presenten: remisión de la enfermedad, falla a la inducción a la remisión, enfermedad mínima residual positiva o muerte.

HIPÓTESIS

Al tratarse de un estudio descriptivo, no se requiere de una hipótesis

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo de diseño: Retrospectivo, trasversal, observacional y descriptivo.

Universo de estudio: Pacientes atendidos en el servicio de Hematología Pediátrica de la UMAE Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social procedentes de los estados de Jalisco, Colima, Nayarit y Michoacán.

Población de estudio: Expedientes de pacientes pediátricos con diagnóstico de Leucemia linfoblástica aguda de células B atendidos en el servicio de hematología pediátrica perteneciente a la UMAE Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Tipo de muestreo: No probabilístico por casos consecutivos.

Cálculo de muestra: Al tratarse de un estudio descriptivo, no se realizó un cálculo de tamaño de muestra y se incluirá a todos los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión.

Criterios de selección:

Criterios de inclusión

1. Expedientes de pacientes con diagnóstico clínico e histopatológico de Leucemia Linfoblástica Aguda de estirpe B en el periodo comprendido de junio de 2017 a Junio de 2019.
2. Edad entre 0-15 años.
3. Sexo indistinto.
4. Pacientes que no hayan recibido tratamiento quimioterapéutico previo.

Criterios de NO inclusión

1. Pacientes que al momento del diagnóstico presenten procesos infecciosos.
2. Pacientes que presenten otros procesos inflamatorios diferentes a la enfermedad de base.
3. Pacientes que estén recibiendo tratamiento para otras enfermedades.

Criterios de eliminación

1. Pacientes que no cuenten en el expediente con resultados de citometría de flujo y determinación de re-arreglos monoclonales IgH al diagnóstico y al final de la inducción
2. Pacientes con seguimientos o datos incompletos

Variables del estudio:

Variable dependiente: Remisión completa

Variable Independiente: Citometría de flujo, re-arreglos monoclonales IgH

Variables intervinientes: Edad, edad al diagnóstico, genero, inmunofenotipo, defunción, enfermedad mínima residual, recaída

Definición de variables:

Remisión completa: Pacientes que hayan completado la fase de tratamiento de inducción a la remisión y que al presentar recuperación hematológica (neutrófilos absolutos $>300/\text{mm}^3$, y plaquetas $>50,000$), presenten por aspirado de médula ósea una morfología con menos de 5% de blastos, por citometría de flujo un nivel menor a 0.01% y menor a 50 UFR por estudio molecular.

Rearreglos monoclonales IgH: cambios genéticos monoclonales presentes en la cadena IgH.

Citometría de flujo: Técnica de análisis que permite identificar poblaciones celulares a medida que son transportadas en un fluido e incididas por un haz de luz.

Edad: Tiempo que ha transcurrido desde el nacimiento de un ser vivo

Edad al diagnóstico: Tiempo que ha transcurrido desde el nacimiento de un ser vivo al diagnóstico de la enfermedad.

Género: Características biológicas que definen a un individuo como hombre o mujer

Inmunofenotipo: Proceso en el que se usan anticuerpos para identificar células según el tipo de antígenos o marcadores en su superficie

Mortalidad: Cantidad de personas que mueren en un lugar y en un período de tiempo determinados en relación con el total de la población

Enfermedad mínima residual: Conjunto de células neoplásicas que persisten en los pacientes con leucemia aguda posterior a tratamiento

Recaída: Reparición de una enfermedad o de los signos y síntomas de ella, después de un período de mejoría

Cuadro de Operacionalización de variables:

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	ESCALA	UNIDAD DE MEDICION	DEFINICIÓN OPERACIONAL	PRUEBA ESTADÍSTICA
Remisión completa	Cualitativa	Nominal	Remisión No remisión	Pacientes que hayan completado la fase de tratamiento de inducción a la remisión y que presenten por AMO una morfología con menos de 5% de blastos, por citometría de flujo un nivel menor a 0.01% y menor a 50 URF por estudio molecular.	Frecuencias, porcentajes,
Citometría de flujo	Cualitativa	Nominal	Positiva Negativa	>0.01% de blastos <0.01% de blastos	Frecuencias, porcentajes,
Re-arreglos monoclonales IGH	Cualitativa	Nominal	Positiva Negativa	> 0.001% ó >50 URF <0.001% ó <50 URF	Frecuencias, porcentajes,
Edad	Cuantitativa	Discreta	años	Tiempo que ha transcurrido desde el nacimiento de un ser vivo	Media/DS o mediana y rangos,
Edad al diagnóstico	Cuantitativa	Discreta	años	Edad en años a la que se tiene registro en el expediente clínico que se confirmó leucemia aguda de células B	Media/DS o mediana y rangos,
Género	Cualitativa	Nominal	Femenino/ Masculino	Género al que se tiene identificado al paciente en el expediente	Frecuencias, porcentajes,

				clínico	
Inmunofenotipo	Cualitativa	Politémica	Pro B B temprana Pre B B madura	Reporte de inmunofenotipo registrado en el expediente clínico	Frecuencias, porcentajes
Mortalidad	Cualitativa	Nominal	Si No	Pacientes que hayan fallecido al hasta el momento del estudio.	Frecuencias, porcentajes
Enfermedad mínima residual	Cualitativa	Nominal	Presente Ausente	Conjunto de células neoplásicas que persisten en los pacientes con leucemia aguda posterior a tratamiento (Positiva por citometría de flujo >0.01% y por estudio molecular >50 URF)	Frecuencias, porcentaje
Recaída	Cualitativa	Ordinal	Muy temprana Temprana y Tardía	Presencia de AMO una morfología con más de 5% de blastos, por citometría de flujo un nivel mayor a 0.01% y mayor a 50 URF por estudio molecular	Frecuencia, porcentajes

Desarrollo del estudio y procedimientos.

Previa autorización del comité de ética e investigación del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente IMSS para la realización del estudio, se realizó de la siguiente forma:

Se revisaron los censos diarios correspondientes al periodo de estudio del servicio de hematología pediátrica, y así se identificaron los expedientes de que cumplieron con los criterios de selección. El diagnóstico de LLA-B fue establecido

en el servicio de Hematología Pediátrica del CMNO del IMSS por parte de los hematólogos pediatras del servicio de Hematología pediátrica. Una vez identificados se solicitaron los expedientes al archivo clínico de la unidad y se procedió a la revisión de los mismos, se aplicaron los criterios de inclusión, exclusión y eliminación. Cuando un expediente no fue incluido en el estudio, este fue regresado al archivo clínico.

Posteriormente, se procedió a identificar cada una de las variables consideradas en el estudio y se registraron los datos observados en la hoja de recolección correspondiente.

Una vez registrados los datos de la muestra, se procedió a codificarlos y posteriormente a vaciarlos en una hoja de cálculo, se verificó la integridad de los datos y se realizó el análisis estadístico en el programa IBM SPSS versión 26 para su análisis.

Análisis estadísticos Se realizó estadística descriptiva, para las variables cualitativas se utilizó frecuencias expresadas en porcentajes. Para la comparación de las variables EMR por citometría de flujo y EMR por rearrreglos monoclonales IgH por PCR se realizó el análisis de correlación, regresión lineal y método de Bland-Altman para determinar la media entre ambos métodos y posteriormente establecer un rango de confianza 95% de las diferencias y estimar la precisión de nuestro estudio. Se utilizó el programa estadístico SPSS® versión 26 para crear la base de datos para su posterior análisis y elaboración de gráficos.

ASPECTOS ETICOS

El siguiente protocolo se apegó al reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud actualizada en el año 2014 (DOF 02-04-2014), respecto al Título Segundo “De los aspectos éticos de la investigación en seres humanos” capítulo uno, artículo 13 prevaleciendo el criterio de respeto a la dignidad y protección de los derechos y bienestar del sujeto en estudio, así mismo en el artículo 16 donde se realiza énfasis en la privacidad del sujeto de investigación, conforme a este punto, nuestra investigación trabajará con

confidencialidad de datos, bajo número de folio de cada expediente estudiado, el cual sólo tendrá acceso el investigador responsable y asesor de tesis, resguardado bajo llave, en USB. La información obtenida, se resguardará por un periodo de 2 años, una vez pasado este tiempo, se eliminará, lo anterior con la finalidad de garantizar la confidencialidad de datos y evitar el mal uso de los mismos. De acuerdo con el artículo 17 en el que se considera como riesgo de la investigación a la probabilidad de que el sujeto de estudio sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio, esta investigación se clasifica como tipo I, sin riesgo, ya que se realizará revisión de expedientes clínicos, de manera retrospectiva y no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio.

De acuerdo con la pauta 10 de las pautas éticas internacionales para la investigación relacionada con la salud con seres humanos elaborado por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) en colaboración con la Organización mundial de la Salud (OMS) el año 2016, se solicitó la dispensa de consentimiento informado de nuestro proyecto de investigación ya que se trata de un estudio retrospectivo que obtuvo la información a base de datos de registros de la población estudiada en expediente electrónico, físico y resultados de laboratorio obtenidos del programa institucional, los cuales no contienen datos personales.

Los sujetos del estudio resultaron egresados, perdieron derechohabencia o en algunos casos fallecieron, por lo que no sería factible obtener consentimiento informado, así mismo, ya que se trabajará con búsqueda de variables encontradas en expediente, no representa riesgo para los participantes, igualmente este estudio tendrá un valor social importante ya que los resultados representarán una alternativa de estudio en el seguimiento en pacientes con LLA en nuestro centro hospitalario.

Dicho estudio se inició posterior a su aprobación por el Comité Local de Investigación en Salud y Comité de Ética en Investigación 1302, UMAE Hospital

de Pediatría Centro Médico Nacional de Occidente. Cuenta con número de registro institucional: R-2022-1302-024

RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD

Humanos

Tesista: Dra. Metzger Sánchez Preza, residente de segundo año de la sub-especialidad de hematología pediátrica en el Hospital de Pediatría de CMNO, quien se encargó de la elaboración del protocolo de estudio, búsqueda y registros de pacientes y sus datos, búsqueda de expedientes, recopilación de datos, análisis estadístico y reporte de resultados.

Directora de tesis: Dra. Janet Margarita Soto Padilla Hematóloga pediatra adscrita al servicio de hematología pediátrica del CMNO, quien estuvo a cargo del asesoramiento clínico, así como verificación de que los procesos se realizaran en tiempo y forma dictaminada.

Asesor metodológico: M. en C. Roberto Hernández Raygoza, Médico especialista en neumología pediátrica quién estuvo a cargo del asesoramiento metodológico, captura de datos y reporte de resultados.

Recursos físicos.

- Expedientes clínicos electrónicos y físicos
- Hojas de recolección de datos, fotocopias, carpetas.
- Biblioteca del Hospital de pediatría del CMNO, lugar utilizado para recopilación de datos, análisis estadístico y búsqueda de información actualizada.
- Archivo del Hospital de Pediatría del CMNO.
- Las instalaciones del servicio de Hematología Pediátrica de la Unidad Médica de Alta Especialidad del Hospital de Pediatría de CMNO

Recursos materiales.

- Programas estadísticos, computador.

Financiamiento.

El presente estudio no requirió de financiamiento, ya que el IMSS cuenta con los recursos físicos, materiales y humanos necesarios para la realización del estudio. Cualquier costo extra que se requirió fue cubierto por los investigadores.

Factibilidad.

El presente trabajo tuvo una adecuada disponibilidad en los recursos para llevar a cabo sus objetivos y metas señaladas, por lo tanto, fue posible cumplir con las metas, tomando en cuenta los recursos económicos no implicaron una limitante en la realización del proyecto y los beneficios a obtener son superiores a los costos, también se tuvo acceso en la institución a los pacientes, área física y personal capacitado para su realización.

RESULTADOS

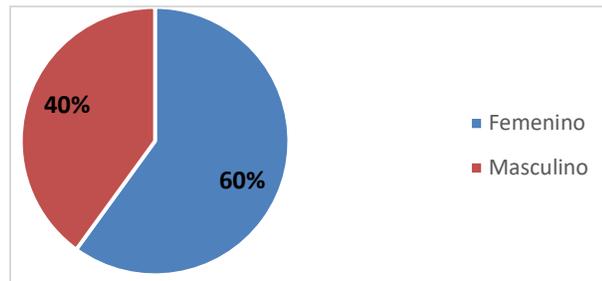
En el presente estudio se analizaron un total de 10 pacientes pediátricos del Centro Médico Nacional de Occidente diagnosticados con Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) de linaje B. En estos pacientes se evaluó la remisión al término de la fase de inducción a la remisión por medio de citometría de flujo y por re-arreglos monoclonales IgH.

En la tabla 1 y 2 se muestran las frecuencias por género y edad de los pacientes incluidos en el estudio, donde se observa que el género predominante es el femenino con un 60 %, mientras que el 40 % corresponde al sexo masculino.

Tabla 1. Descripción de la frecuencia de Género de los pacientes analizados en el estudio.

Género	Frecuencia n (%)
Masculino	6 (60)
Femenino	4 (40)

Grafica 1 Descripción del porcentaje del género de los pacientes analizados en el estudio.



Los pacientes que participaron en el estudio tuvieron un rango de edad entre 1 a 10 años con una media de edad de 4.6 años, el 70 % de la población de estudio presentó una edad al diagnóstico entre 1 y 4 años (Tabla 2).

Tabla 2. Descripción de la frecuencia de edad de los pacientes analizados en el estudio

Edad (años)	Frecuencia n (%)
1	1 (10)
2	2 (20)
3	2 (20)
4	2 (20)
8	1 (10)
9	1 (10)
10	1 (10)

La población de estudio, presentó las siguientes características clínicas al momento del diagnóstico, la mayoría de los casos debutaron con síndrome anémico, febril e infiltrativo, seguido del síndrome hemorrágico y síndrome consuntivo en menor frecuencia, en ninguno de los casos se observó infiltración a SNC o testicular, el 50% de ellos presentan leucocitosis <50,000 al diagnóstico y sólo en 20% hiperleucocitosis. (Tabla 3)

Tabla 3. Características clínicas de los pacientes al diagnóstico.

Presentación clínica al diagnóstico	Frecuencia n (%)
Síndrome anémico	7 (70)
Síndrome febril	7 (70)
Síndrome infiltrativo	6 (60)
Síndrome hemorrágico	3 (30)
Síndrome consuntivo	1(10)
Infiltración a SNC	0
Infiltración testicular	0
Recuento leucocitario	
<50, 000	5 (50)
>50, 000	3 (30)
>100, 0000	2 (20)

En la tabla 4 se muestra el análisis por Citometría de flujo de los 10 pacientes incluidos al momento del diagnóstico y al final de la fase de inducción a la remisión. Todos los pacientes disminuyeron la cantidad de blastos al final de la inducción a la remisión, sin embargo ninguno de ellos presentó una disminución menor al 0.01% por esta técnica.

Tabla 4. Resultados de las determinaciones de EMR por Citometría de flujo al momento del diagnóstico y al final de la inducción. (Población clonal expresada en porcentaje)

Paciente	Citometría de flujo	
	Diagnóstico	Final de inducción a la remisión
1	77%	0.11%
2	93%	0.13%
3	39%	0.15%
4	87%	0.07%
5	34%	0.16%
6	92%	0.15%
7	97%	0.2%
8	71%	0.05%
9	93%	2.2%
10	93%	0.5%

Así mismo, los resultados del análisis por el método de re-arreglos monoclonales IgH por PCR mostraron un descenso de las URF posterior a finalizar la fase de inducción a la remisión respecto al diagnóstico, cuando se alcanza un umbral de 50 URF, se espera que la muestra contenga al menos una célula monoclonal entre 1000 células policlonales. (Tabla 5).

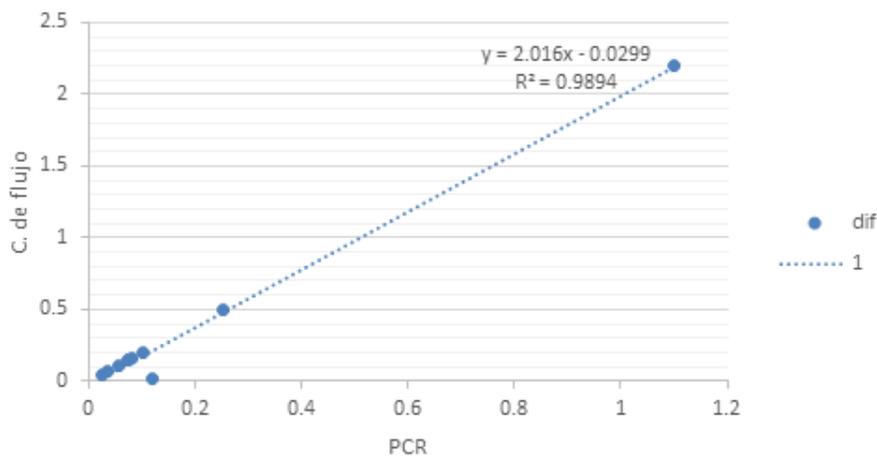
Tabla 5. Resultados de las determinaciones de EMR por re-arreglos monoclonales IgH por PCR al momento del diagnóstico y al final de la inducción (expresado en Unidades Relativas de Fluorescencia)

Paciente	re-arreglos monoclonales IgH por PCR	
	Diagnóstico	Final de inducción a la remisión
1	8128 URF	287 URF
2	9323 URF	5841 URF
3	7494 URF	79 URF
4	7876 URF	82 URF
5	7134 URF	195 URF
6	6714 URF	100 URF
7	7823 URF	111 URF
8	7292 URF	75 URF
9	7868 URF	1471 URF
10	7410 URF	357 URF

Se observa por ambos métodos un descenso importante células blásticas, sin embargo en ninguna de las muestras estudiadas se encontró un descenso menor a 0.01% o menor a 50 URF. No se presenta ninguna defunción hasta el final de la fase de inducción a la remisión.

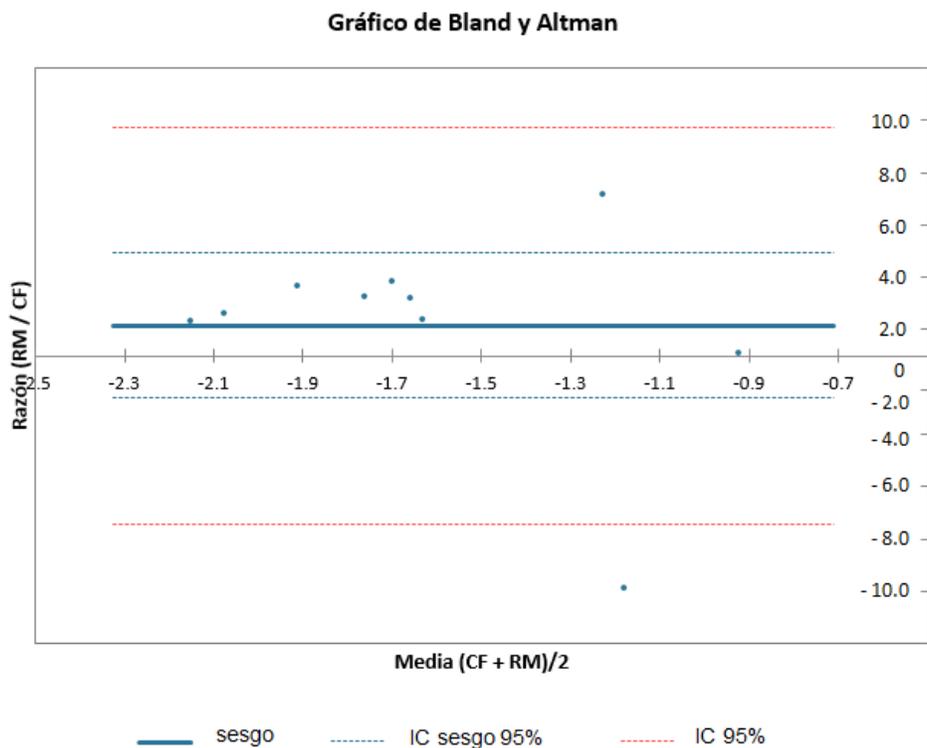
Se investigó la concordancia de ambos métodos para determinar la Enfermedad Mínima Residual (EMR) en 10 pacientes con LLA de linaje B común, al final de la inducción a la remisión. Los niveles de EMR >0.01% por citometría de flujo y > 50 URF por rearrreglos monoclonales por PCR se consideraron positivos y los niveles por debajo de estos umbrales se calificaron como negativos. La correlación de las estimaciones de EMR al final de la inducción a la remisión, por ambas técnicas fue alta, lo cual se determinó evaluando el grado de correlación entre ambos métodos con la prueba de análisis lineal, se utilizó la media de los resultados de EMR por citometría de flujo y re-arreglos monoclonales IgH y la diferencia de los resultados, en donde se puede observar que la correlación entre ambas técnicas es alta debido a que el coeficiente de correlación lineal ($R^2=0.9894$) fue cercano a 1 (Gráfico 2).

Gráfico 2. Análisis de correlación para EMR por Citometría de Flujo y PCR de los pacientes analizados en el estudio.



Además, se realizó el análisis de Bland-Altman para comparar las técnicas de citometría de flujo y re-arreglos monoclonales IgH por PCR para la determinación de EMR. Debido a que los valores de EMR al final de la inducción a la remisión fueron bajos, la media y las diferencias de la media se calcularon a partir de resultados de EMR proporcionales transformados logarítmicamente. El método gráfico de Bland-Altman permite comparar dos técnicas de medición sobre una misma variable cuantitativa; se puede observar que la diferencia media entre ambos métodos conocido como sesgo fue de 2.16 cercana a cero y el 80% de los valores se encuentran dentro del intervalo de confianza de 95% y solo el 20% presentó resultados discordantes, lo que nos indica que estas técnicas son reproducibles. En la representación gráfica del análisis de **Bland-Altman** se muestra que los límites no exceden la diferencia máxima aceptable entre métodos (Gráfico 3), por lo cual se puede considerar que los dos están en concordancia y pueden ser usados indistintamente para evaluar la EMR al final de la inducción a la remisión en las muestras incluidas en este estudio.

Gráfico 3. Representación gráfica del método de Bland-Altman.



DISCUSION

Los estudios de enfermedad mínima residual (EMR) favorecen significativamente la precisión de la evaluación de riesgos, una tarea de suma importancia en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda infantil, esta determinación permitirá realizar una mejor estratificación del riesgo y de igual forma abrir oportunidades para intervenciones terapéuticas tempranas, además poder predecir cualquier recaída antes de la aparición de manifestaciones clínicas o hematológicas.

Los protocolos de tratamiento empleados actuales para la LLA monitorean la EMR con gran utilidad clínica pues su aplicación para la estratificación de riesgo sugiere impacto pronóstico y se ha incorporado para realizar ajustes tempranos de la intensidad del tratamiento, además se puede utilizar para reconocer la recidiva de la leucemia antes de que se manifieste morfológicamente. Por lo tanto, los estudios de EMR pueden contribuir de muchas maneras a mejorar el manejo de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda.

En nuestro estudio encontramos que los datos obtenidos por citometría de flujo y PCR para la detección de EMR en LLA, muestran que el 80% de las muestras analizadas presentan resultados concordantes entre ambos estudios, lo cual concuerda con lo reportado por algunos autores como Kerts G y cols.⁶⁹ Los hallazgos de EMR discreparon sólo en el 20% de las 10 muestras estudiadas, existen diferentes factores que pueden determinar la diferencia en la concordancia, pueden ser debido a las diferencias de sensibilidad entre la técnica de citometría de flujo y el método de rearreglos monoclonales por PCR, los cambios inmunofenotípicos a lo largo del tratamiento o incluso la inestabilidad de los reordenamientos IgH. Esto demuestra que los dos métodos más utilizados para la detección de EMR en la leucemia linfoblástica aguda pueden lograr resultados notablemente concordantes, sin embargo, sería importante realizar esta evaluación en un mayor número de pacientes.

Cada una de las técnicas tiene sus propias ventajas y su selección depende en gran medida de la infraestructura y los recursos disponibles. Pueden presentarse falsos negativos por citometría de flujo debido a cambios inmunofenotípicos

durante la terapia y en PCR de rearreglos monoclonales debido a oligoclonalidad al diagnóstico y/o evolución clonal durante el curso de la enfermedad. El uso de los dos métodos en conjunto debería compensar la posibilidad de resultados de EMR falsos negativos debido a estos eventos. Hasta el momento, solo un número limitado de estudios han reportado la detección simultánea de la ERM con niveles de concordancia cualitativa variables de entre el 72 % y 97 %.

Sin embargo, el seguimiento de este estudio es corto y no podemos excluir la posibilidad de que un seguimiento adicional, en las siguientes fases de tratamiento revele un mayor riesgo para los pacientes con niveles más altos de EMR en nuestro centro hospitalario.

Por lo que es importante aumentar el tamaño de muestra de la población de estudio, así como monitorear a los pacientes que participaron en este estudio durante las siguientes fases de su tratamiento para evaluar con mayor exactitud la determinación de la EMR en este tipo de pacientes.

CONCLUSIONES

La comparación entre la citometría de flujo y rearreglos monoclonales IgH por PCR, en la evaluación de la respuesta al tratamiento, al término de la fase de inducción a la remisión en 10 pacientes con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda de células B en CMNO, mostró resultados semejantes entre ambos métodos, en la mayoría de los casos, con una tasa de concordancia de 80% de los pacientes estudiados, sin embargo se reporta en un 20% discordante con presencia de EMR positiva al final de la inducción a la remisión. Por tanto, estos pacientes que no presentan remisión completa a la inducción a la remisión, tienen mayor riesgo de recaída, esto proporciona una información crucial sobre la respuesta al tratamiento, permitiendo su identificación para una posterior intensificación de la terapia establecida.

Para estudiar prácticamente a todos los pacientes y evitar resultados falsos negativos o positivos debido a la evolución clonal o cambios fenotípicos, parecería de gran beneficio utilizar tanto la técnica inmunológica como la molecular en conjunto en futuros ensayos de EMR, ya que este enfoque podría proporcionar a los pacientes el beneficio de una estratificación de riesgo basada en EMR para su reducción o intensificación del tratamiento.

V. BIBLIOGRAFÍA

1. Rodak, F. Hematología Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. 4ª Ed. Buenos Aires: Medica Panamericana;2005. pp 455-462.
2. Hunger S, Mullighan C. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children N Engl J Med. 2015 Oct; 373 (16):1541-52.
3. Alberts, B. Johnson A. Lewis, J. Morgan D. Molecular Biology of the cell 6a ed. New York: Garland Science. 2008
4. Mayani, H., Flores-Figueroa, E., Pelayo, R. "Hematopoyesis." Cancerología 2. Vol 2. 2007. pp 95-107
5. Howlader, N., Noone, A.M., Krapcho, M. SEER Cancer Statistics Review, Bethesda, Md: National Cancer Institute, Section 28. 2013. pp 1975-2010.
6. Kadan-Lottick, N. S., Ness, K. K. et al. (2003). "Survival variability by race and ethnicity in childhood acute lymphoblastic leukemia." JAMA vol. 290, 2014. doi:10.1001/jama.290
7. GPC de Diagnóstico y Tratamiento de la Leucemia Aguda, México: Secretaría de Salud; 2009. <http://www.cenetec.salud.gob.mx/interior/gpc.html>
8. Pérez-Andreu V, Roberts KG, Harvey RC. Las variantes heredadas de GATA3 se asocian con leucemia linfoblástica aguda infantil tipo Ph y riesgo de recaída. Nat Genet 2013 ; 45: pp. 1494 – 1498
9. Shah S, Schrader KA, Waanders E, y col. Una mutación recurrente de la línea germinal PAX5 confiere susceptibilidad a la leucemia linfoblástica aguda de células pre-B. Nat Genet 2013 ; 45: pp. 1226 – 1231
10. Moricke A, Zimmermann M, Reiter A. Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. Leukemia 24:2010. pp. 265–284
11. Pui CH, Pei D, Sandlund JT, Ribeiro RC, Rubnitz JE. Long-term results of St Jude Total Therapy Studies 11, 12, 13A, 13B, and 14 for childhood acute lymphoblastic leukemia. Leukemia. 2010 Feb;24(2):371-82.

12. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, Sultan C. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol.* 1976 Aug;33(4):451-8
13. van Eys J, Pullen J, Head D, Boyett J, Crist W, Falletta J, Humphrey GB, Jackson J, Riccardi V, Brock B. The French-American-British (FAB) classification of leukemia. The Pediatric Oncology Group experience with lymphocytic leukemia. *Cancer.* 1986 Mar 1;57(5):1046-51
14. Pui CH, Behm FG, Crist WM. Clinical and biologic relevance of immunologic marker studies in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 1993 Jul 15;82(2):343-62. PMID: 8329694.
15. Dubansky AS, Boyett JM, Falletta J, Mahoney DH, Land VJ, Pullen J, Buchanan G. Isolated thrombocytopenia in children with acute lymphoblastic leukemia: a rare event in a Pediatric Oncology Group Study. *Pediatrics.* 1989 Dec;84(6):1068-71
16. Smith M, Arthur D, Camitta B, Carroll AJ, Crist W, Gaynon P, Gelber R, Heerema N, Korn EL, Link M, Murphy S, Pui CH, Pullen J, Reamon G, Sallan SE, Sather H, Shuster J, Simon R, Trigg M, Tubergen D, Uckun F, Ungerleider R. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol.* 1996 Jan;14(1):18-24
17. Ribeiro RC, Pui CH. The clinical and biological correlates of coagulopathy in children with acute leukemia. *J Clin Oncol.* 1986 Aug;4(8):1212-8.
18. Hann IM, Evans DI, Marsden HB. Bone marrow fibrosis in acute lymphoblastic leukaemia of childhood. *J Clin Pathol.* 1978 Apr;31(4):313-5. doi: 10.1136/jcp.31.4.313. PMID: 273620; PMCID: PMC1145268.
19. Mahmoud HH, Rivera GK, Hancock ML. Low leukocyte counts with blast cells in cerebrospinal fluid of children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med.* 1993 Jul 29;329(5):314-9. doi: 10.1056/NEJM199307293290504. PMID: 8321259
20. Koenig MK, Sitton CW, Wang M. Central nervous system complications of blastic hyperleukocytosis in childhood acute lymphoblastic leukemia: diagnostic

- and prognostic implications. *J Child Neurol.* 2008 Nov;23(11):1347-52. doi: 10.1177/0883073808318201. PMID: 18984849; PMCID: PMC3099428
21. Sirvent N, Suciú S, Bertrand Y. Overt testicular disease (OTD) at diagnosis is not associated with a poor prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia: results of the EORTC CLG Study 58881. *Pediatr Blood Cancer.* 2007 Sep;49(3):344-8. doi: 10.1002/pbc.20716. PMID: 16358303.
22. Goh TS, LeQuesne GW, Wong KY. Severe infiltration of the kidneys with ultrasonic abnormalities in acute lymphoblastic leukemia. *Am J Dis Child.* 1978 Dec;132(12):1204-5. doi: 10.1001/archpedi.1978.02120370056012. PMID: 281126.
23. Howard SC, Kaplan SD, Razzouk BI, Pui CH. Urolithiasis in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2003 Mar;17(3):541-6. doi: 10.1038/sj.leu.2402852. PMID: 12646942.
24. Jonsson OG, Sartain P, Ducore JM, Buchanan GR. Bone pain as an initial symptom of childhood acute lymphoblastic leukemia: association with nearly normal hematologic indexes. *J Pediatr.* 1990 Aug;117(2 Pt 1):233-7. doi: 10.1016/s0022-3476(05)80535-9. PMID: 2380822.
25. Kushner DC, Weinstein HJ, Kirkpatrick JA. The radiologic diagnosis of leukemia and lymphoma in children. *Semin Roentgenol.* 1980 Oct;15(4 Pt 2):316-34. doi: 10.1016/0037-198x(80)90027-9. PMID: 7001643.
26. Segal I, Rassekh SR, Bond MC, Senger C, Schreiber RA. Abnormal liver transaminases and conjugated hyperbilirubinemia at presentation of acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2010 Sep;55(3):434-9. doi: 10.1002/pbc.22549. PMID: 20658613.
27. Schwartz CL, Miller NR, Wharam MD, Leventhal BG. The optic nerve as the site of initial relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer.* 1989 Apr 15;63(8):1616-20. doi: 10.1002/1097-0142(19890415)63:8<1616::aid-cncr2820630829>3.0.co;2-y. PMID: 2635874.
28. Lowe EJ, Pui CH, Hancock ML, Geiger TL. Early complications in children with acute lymphoblastic leukemia presenting with hyperleukocytosis. *Pediatr Blood Cancer.* 2005 Jul;45(1):10-5. doi: 10.1002/pbc.20178. PMID: 15547931.

29. Dorantes-Acosta, E., Medina-Sanson, A., Davila-Ornelas, K., Lopez-Martinez, B. "Clasificación inmunológica de las leucemias agudas linfoblásticas del Hospital Infantil de Mexico Federico Gomez, de acuerdo al EGIL " Gaceta Mexicana de Oncología, vol 12, pp 136-142. 2013
30. Pui CH, Robison LL, Look AT. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*. 2008 Mar 22;371(9617):1030-43. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60457-2. PMID: 18358930.
31. Schindler JW, Van Buren D, Foudi A. TEL-AML1 corrupts hematopoietic stem cells to persist in the bone marrow and initiate leukemia. *Cell Stem Cell*. 2009 Jul 2;5(1):43-53. doi: 10.1016/j.stem.2009.04.019. PMID: 19570513.
32. Shago M. Recurrent Cytogenetic Abnormalities in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Methods Mol Biol*. 2017;1541:257-278. doi: 10.1007/978-1-4939-6703-2_21. PMID: 27910029.
33. Möricke A, Zimmermann M, Reiter A, Gadner H. 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 Nov-Dec;217(6):310-20. doi: 10.1055/s-2005-872515. PMID: 16307416.
34. Smith M, Arthur D, Camitta B, Pui CH, Pullen J. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 1996 Jan;14(1):18-24. doi: 10.1200/JCO.1996.14.1.18. PMID: 8558195.
35. Möricke A, Zimmermann M, Reiter A, Gadner H. 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 Nov-Dec;217(6):310-20
36. Sutcliffe MJ, Shuster JJ, Sather HN, Camitta BM. High concordance from independent studies by the Children's Cancer Group (CCG) and Pediatric Oncology Group (POG) associating favorable prognosis with combined trisomies 4, 10, and 17 in children with NCI Standard-Risk B-precursor Acute Lymphoblastic Leukemia: a Children's Oncology Group (COG) initiative. *Leukemia*. 2005 May;19(5):734-40. doi: 10.1038/sj.leu.2403673. PMID: 15789069.

37. Jeha S, Pei D, Raimondi SC, Pui CH. Increased risk for CNS relapse in pre-B cell leukemia with the t(1;19)/TCF3-PBX1. *Leukemia*. 2009 Aug;23(8):1406-9. doi: 10.1038/leu.2009.42. Epub 2009 Mar 12. PMID: 19282835; PMCID: PMC2731684.
38. Silverman LB, Gelber RD, Young ML. Induction failure in acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Cancer*. 1999 Mar 15;85(6):1395-404
39. Conter V, Bartram CR, Valsecchi MG. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study. *Blood*. 2010 Apr 22;115(16):3206-14. doi: 10.1182/blood-2009-10-248146. Epub 2010 Feb 12. PMID: 20154213.
40. Moghrabi A, Levy DE, Asselin B. Results of the Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium Protocol 95-01 for children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2007 Feb 1;109(3):896-904. doi: 10.1182/blood-2006-06-027714. Epub 2006 Sep 26. PMID: 17003366; PMCID: PMC1785142.
41. Pui CH, Sandlund JT, Pei D, Campana D. Total Therapy Study XIII B at St Jude Children's Research Hospital. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Total Therapy Study XIII B at St Jude Children's Research Hospital. *Blood*. 2004 Nov 1;104(9):2690-6. doi: 10.1182/blood-2004-04-1616. Epub 2004 Jul 13. PMID: 15251979
42. Holland JF, Glidewell O. Chemotherapy of acute lymphocytic leukemia of childhood. *Cancer*. 1972 Dec;30(6):1480-7. doi: 10.1002/1097-0142(197212)30:6<1480::aid-cnrcr2820300611>3.0.co;2-3. PMID: 4509104.
43. Gaynon PS, Steinherz PG, Bleyer WA. Improved therapy for children with acute lymphoblastic leukemia and unfavorable presenting features: a follow-up report of the Childrens Cancer Group Study CCG-106. *J Clin Oncol*. 1993 Nov;11(11):2234-42. doi: 10.1200/JCO.1993.11.11.2234. PMID: 8229139.
44. Silverman LB, Gelber RD, Young ML. Induction failure in acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Cancer*. 1999 Mar 15;85(6):1395-404.
45. Schmiegelow K, Schrøder H, Gustafsson G. Risk of relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia is related to RBC methotrexate and mercaptopurine

metabolites during maintenance chemotherapy. Nordic Society for Pediatric Hematology and Oncology. *J Clin Oncol*. 1995 Feb;13(2):345-51

46. Inaba H, Mullighan CG. Pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2020 Nov 1;105(11):2524-2539. doi: 10.3324/haematol.2020.247031. PMID: 33054110; PMCID: PMC7604619.

47. Gokbuget N, Dombret H, Bonifacio M. Blinatumomab for minimal residual disease in adults with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2018; 131(14):1522-1531

48. Kantarjian HM, DeAngelo DJ, Stelljes M. Inotuzumab ozogamicin versus standard therapy for acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2016; 375(8):740-753.

49. Kruse A, Abdel-Azim N, Kim HN, Ruan Y, Phan V, Ogana H, Wang W, Lee R, Gang EJ, Khazal S, Kim YM. Minimal Residual Disease Detection in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Int J Mol Sci*. 2020 Feb 5;21(3):105

50. Van Dongen JJ, Wolvers-Tettero IL. Analysis of immunoglobulin and T cell receptor genes. Part I: Basic and technical aspects. *Clin Chim Acta*. 1991 Apr;198(1-2):1-91. doi: 10.1016/0009-8981(91)90246-9. PMID: 1863985.

51. Beldjord K., Beldjord C., Macintyre E., Even P., Sigaux F. (1993) Peripheral selection of V delta 1+ cells with restricted T cell receptor delta gene junctional repertoire in the peripheral blood of healthy donors. *J Exp Med* 178: 121–127

52. Tonegawa S. Somatic generation of antibody diversity. *Nature*. 1983 Apr 14;302(5909):575-81. doi: 10.1038/302575a0. PMID: 6300689.

53. Van Dongen JJM, Szczepanski T, Adriaansen HJ . Immunobiology of leukemia. In: Henderson ES, Lister TA, Greaves MF (eds) *Leukemia*. Philadelphia: WB Saunders Company, 2002, pp 85–129)

54. Van Dongen JJ, Langerak AW, Brüggemann M, Evans PA, Hummel M, Lavender FL, Delabesse E, Davi F, Schuurin E, García-Sanz R, van Krieken JH, Droese J, González D, Bastard C, White HE, Spaargaren M, González M, Parreira A, Smith JL, Morgan GJ, Kneba M, Macintyre EA. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the

BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. Leukemia. 2003 Dec;17(12):2257-317

55. O'Connor NT, Wainscoat JS, Weatherall DJ, Gatter KC, Feller AC, Isaacson P, Jones D, Lennert K, Pallesen G, Ramsey A, et al. Rearrangement of the T-cell-receptor beta-chain gene in the diagnosis of lymphoproliferative disorders. *Lancet*. 1985 Jun 8;1(8441):1295-7

56. Weiss LM, Picker LJ, Grogan TM, Warnke RA, Sklar J. Absence of clonal beta and gamma T-cell receptor gene rearrangements in a subset of peripheral T-cell lymphomas. *Am J Pathol*. 1988 Mar;130(3):436-42. Erratum in: *Am J Pathol* 1988 Jun;131(3):604

57. Langerak A., Wolvers-Tettero I., van Dongen J. (1999) Detection of T cell receptor beta (TCRB) gene rearrangement patterns in T cell malignancies by Southern blot analysis. *Leukemia* 13: 965–974

58. Langerak AW, Groenen PJ, Brüggemann M, Beldjord K, Bellan C, Bonello L, Boone E, Carter GI, Catherwood M, Davi F, Delfau-Larue MH, Diss T, Evans PA, Gameiro P, Garcia Sanz R, Gonzalez D, Grand D, Håkansson A, Hummel M, Liu H, Lombardia L, Macintyre EA, Milner BJ, Montes-Moreno S, Schuurin E, Spaargaren M, Hodges E, van Dongen JJ. EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. *Leukemia*. 2012 Oct;26(10):2159-71. doi: 10.1038/leu.2012.246. Epub 2012 Aug 24.

59. Greiner TC, Rubocki RJ. Effectiveness of capillary electrophoresis using fluorescent-labeled primers in detecting T-cell receptor gamma gene rearrangements. *J Mol Diagn*. 2002 Aug;4(3):137-43. doi: 10.1016/s1525-1578(10)60694-0. Erratum in: *J Mol Diagn*. 2003 Aug;5(3):195.

60. Campana D. Minimal residual disease studies in acute leukemia. *Am J Clin Pathol*. 2004 Dec;122 Suppl:S47-57.

61. Van der Velden VH, Wijkhuijs JM, Jacobs DC, van Wering ER, van Dongen JJ. T cell receptor gamma gene rearrangements as targets for detection of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia by real-time quantitative PCR analysis. *Leukemia*. 2002 Jul;16(7):1372-80

62. Van der Velden VH, Cazzaniga G, Schrauder A, Hancock J, Bader P, Panzer-Grumayer ER, Flohr T, Sutton R, Cave H, Madsen HO, Cayuela JM, Trka J, Eckert C, Foroni L, Zur Stadt U, Beldjord K, Raff T, van der Schoot CE, van Dongen JJ; European Study Group on MRD detection in ALL (ESG-MRD-ALL). Analysis of minimal residual disease by Ig/TCR gene rearrangements: guidelines for interpretation of real-time quantitative PCR data. *Leukemia*. 2007 Apr;21(4):604-11.
63. Brüggemann M, Raff T, Flohr T, Gökbuget N, Nakao M, Droese J, Lüschen S, Pott C, Ritgen M, Scheuring U, Horst HA, Thiel E, Hoelzer D, Bartram CR, Kneba M; German Multicenter Study Group for Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. Clinical significance of minimal residual disease quantification in adult patients with standard-risk acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2006 Feb 1;107(3):1116-23.
64. Van der Velden VH, Brüggemann M, Hoogeveen PG, de Bie M, Hart PG, Raff T, Pfeifer H, Lüschen S, Szczepański T, van Wering ER, Kneba M, van Dongen JJ. TCRB gene rearrangements in childhood and adult precursor-B-ALL: frequency, applicability as MRD-PCR target, and stability between diagnosis and relapse. *Leukemia*. 2004 Dec;18(12):1971-80
65. Villamizar-Rivera N, Olaya N. Estudio de la clonalidad linfoide por medio del análisis de reordenamientos del receptor de antígeno [Clonality lymphoid study through rearrangement analysis of antigen receptor]. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2015 Jan-Feb;53(1):56-65
66. Campana D. Role of minimal residual disease monitoring in adult and pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;23(5):1083-98.
67. Coustan-Smith E, Sancho J, Hancock ML, Boyett JM, Behm FG, Raimondi SC y cols. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2000;96(8):2691-6.
68. Ruiz-Argüelles G, Fernández-Lara, Estrada-Gomez R, Manzano C, Ruiz-Delgado GJ, Pérez-Romano B y cols. Minimal Residual Disease Testing in Acute Leukemia by Flow Cytometry Immunophenotyping: Prognostic Significance. *Lab Hematol* 2007;13:22-6.

69. Kerst G, Kreyenberg H, Roth C, Well C, Dietz K, Coustan-Smith E, Campana D, Koscielniak E, Niemeyer C, Schlegel PG, Müller I, Niethammer D, Bader P. Concurrent detection of minimal residual disease (MRD) in childhood acute lymphoblastic leukaemia by flow cytometry and real-time PCR. *Br J Haematol.* 2005 Mar;128(6):774.

VI. ANEXOS

Anexo 1. Hoja de recolección de datos

Protocolo: Comparación de la citometría de flujo y re-arreglos monoclonales IgH en la evaluación de la remisión completa al término de la fase de inducción a la remisión en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda de precursores B en Centro Médico Nacional de Occidente

No. Folio. _____

FICHA DE IDENTIFICACIÓN

Género: _____

Fecha de Nacimiento: _____ Lugar de Nacimiento: _____

Edad: _____ Teléfono _____

Domicilio: _____

Diagnóstico: _____

Fecha del Diagnóstico de LLA: _____

ESTUDIOS AL DIAGNÓSTICO

ANÁLISIS	RESULTADO
Inmunofenotipo	() Pro B () B temprana () Pre B () B madura
Clasificación FAB	L1____ L2____ L3____
% Blastos en MO	
Citometría de flujo	
Re arreglos monoclonales	

Fecha de inicio de inducción de la remisión: _____

Fecha de final de la inducción a la remisión: _____

DATOS CLÍNICOS AL DIAGNÓSTICO

Síndrome anémico	
Síndrome infiltrativo	
Síndrome hemorrágico	
Síndrome infeccioso	

ESTUDIOS AL FINAL DE LA INDUCCIÓN A LA REMISIÓN

ANÁLISIS	RESULTADO
Respuesta morfológica de la Médula Ósea	() M1 () M2 () M3
EMR por citometría de flujo	() Positiva () Negativa
EMR Re- arreglos monoclonales IgH	

Anexo 2. Carta de dispensa del consentimiento informado

CARTA DE DISPENSA PARA REALIZAR CONSENTIMIENTO INFORMADO

Guadalajara, Jalisco, Enero de 2022

Comité de ética en Investigación:

Dra. Ana Bertha Rodríguez López
Presidenta Comité de Ética en Investigación

Dra. Elizabeth Arce Mojica
Secretario del Comité de Ética en Investigación

1. IDENTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

- **Título del estudio:** Comparación de la citometría de flujo y re-arreglos monoclonales IgH en la evaluación de la remisión completa al término de la fase de inducción a la remisión en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda de precursores B en Centro Médico Nacional de Occidente
- **Investigador responsable:** Dra. Janet Margarita Soto Padilla
- **Tesista:** Metzner Sánchez Preza
- **Unidad/Departamento/Servicio:** UMAE Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional de Occidente, Servicio de Hematología Pediátrica

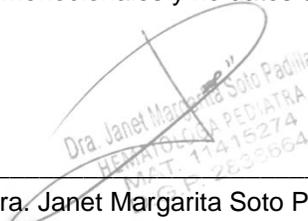
2. JUSTIFICACIÓN DE DISPENSA

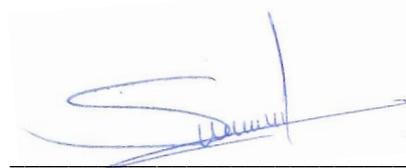
Por medio de la presente se solicita al Comité de Ética en Investigación y al Comité Local de Investigación en Salud 1302 del Hospital de Pediatría CMNO la dispensa de la carta de consentimiento informado dadas las siguientes condiciones:

La investigación no sería viable sin la exención de la carta de consentimiento informado.

El presente estudio tiene un valor social importante y de acuerdo a la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud (Art. 17) esta investigación se clasifica dentro de la categoría sin riesgo, ya que se trata de un estudio retrospectivo, descriptivo y comprende un amplio periodo de estudio donde buscaremos información a través de los expedientes clínicos de todos los pacientes pediátricos con diagnóstico clínico e histopatológico de Leucemia Linfoblástica Aguda de estirpe B en el periodo comprendido de Junio de 2017 a Junio de 2019, algunos de los sujetos de estudio resultaron egresados, perdieron derechohabencia o en algunos casos fallecieron, por lo que no será factible obtener el consentimiento informado,

El estudio se realizará utilizando los registros ya existentes en el expediente clínico de los pacientes del Centro Médico Nacional de Occidente donde se recabarán datos como sexo, edad, resultados de pruebas de laboratorio, resultados de citometría de flujo y re-arreglos monoclonales y no datos de carácter personal que permitan identificar a los pacientes.


Dra. Janet Margarita Soto Padilla
Director de Tesis
Hematóloga Pediatra


Dra. Metzner Sánchez Preza
Tesista
Residente de Hematología Pediátrica

Anexo 3. Carta de confidencialidad de datos

Guadalajara, Jalisco, Enero de 2022

El C. Janet Margarita Soto Padilla (Investigador responsable) y la C. Metzner Sánchez Preza tesista del proyecto titulado **“Comparación de la citometría de flujo y re-arreglos monoclonales IgH en la evaluación de la remisión completa al término de la fase de inducción a la remisión en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda de precursores B en Centro Médico Nacional de Occidente”** con domicilio ubicado en Av. Belisario Domínguez No. 735, Colonia Independencia. C. P 44340. Guadalajara, Jalisco; a 30 de diciembre de 2020, nos comprometemos a resguardar, mantener la confidencialidad y no hacer mal uso de los documentos, expedientes, reportes, estudios, actas, resoluciones, oficios, correspondencia, acuerdos, directivas, directrices, circulares, contratos, convenios, instructivos, notas, memorandos, archivos físicos y/o electrónicos, estadísticas o bien, cualquier otro registro o información que documente el ejercicio de las facultades para la evaluación de los protocolos de investigación, a que tenga acceso en mi carácter investigador responsable, así como a no difundir, distribuir o comercializar con los datos personales contenidos en los sistemas de información, desarrollados en el ejercicio de mis funciones como investigador responsable.

Estando en conocimiento de que en caso de no dar cumplimiento se estará acorde a la sanciones civiles, penales o administrativas que procedan de conformidad con lo dispuesto en la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública Gubernamental, la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares y el Código Penal del Estado de Jalisco, a la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares, y demás disposiciones aplicables en la materia.

Acepto

Dra. Janet Margarita Soto Padilla
HEMATÓLOGA PEDIÁTRICA
MAT. 11415274
D.G.P. 2835664

Nombre y firma