

# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA**

**INMUNOFENOTIPO EN LEUCEMIA AGUDA  
LINFOBLASTICA EN EL HIES**

TESIS:

Que presenta para obtener el diploma en la  
Subespecialidad de Oncología Pediátrica

Presenta:

**DR. EVER AMILCAR FING SOTO**

Hermosillo Sonora

Febrero 2007



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.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION**

**HOSPITAL INFANTIL DEL ESTADO DE SONORA**

**INMUNOFENOTIPO EN LEUCEMIA AGUDA LINFOBLASTICA**  
**EN EL HIES.**

TESIS

Que presenta para obtener el diploma en la  
Subespecialidad de Oncología Pediátrica

Presenta:

***Dr. Ever Amilcar Fing Soto***

**Dr. Ricardo Franco Hernández**

Director de Enseñanza e Investigación  
Hospital Infantil del Estado de Sonora  
Sonora.

**Dr. Filiberto Pérez Duarte**

Director General  
Hospital Infantil del Estado de

**Dr. Gilberto Covarrubias Espinoza**  
**García**

Jefe del Servicio de Oncología  
Hospital Infantil del Estado de Sonora  
Sonora

**Dr. Homero Rendón**

Adscrito al Servicio Oncología  
Hospital Infantil del Estado de

## INDICE

RESUMEN.....	5
INTRODUCCION.....	6
MARCO TEORICO.....	10
OBJETIVOS.....	21
JUSTIFICACION.....	21
MATERIAL Y METODOS.....	22
RESULTADOS.....	23
DISCUSION.....	25
CONCLUSION.....	27
ANEXOS.....	28
BIBLIOGRAFIA.....	34

## RESUMEN

### INMUNOFENOTIPO EN LEUCEMIA AGUDA LINFOBLASTICA HIES

**Presenta:** Dr. Ever Amilcar Fing Soto  
**Asesores:** Dr. Gilberto Covarrubias Espinoza  
Dr. Homero Rendón García

**INTRODUCCION:** La Leucemia Aguda agrupa diversas enfermedades que tiene en común la transformación neoplásica de células hematopoyéticas. Fue reconocida como patología individualizada hace 150 años y debido a su relativa frecuencia en niños y la gravedad de su pronóstico esta enfermedad a sido objeto de tanto investigación clínica como biológica gracias a esto se a podido demostrar la curación con agentes farmacológicos, sirviendo de referencia para el tratamiento de neoplasias infantiles. El inmunofenotipo ha hecho posible la producción de anticuerpos monoclonales a gran escala y su paliación en el estudio de las glucoproteinas de la superficie celular, ha descubierto las determinantes antigénicas específicas de estirpe o linaje de antígenos normales para las diversas etapas de diferenciación de los linfocitos **B, T** y serie **mieloide**, convirtiéndose actualmente en una herramienta para el diagnostico y clasificación de las leucemias.

**MATERIAL Y METODOS:** Se realizo un estudio retrospectivo, descriptivo y observacional en niños con LLA tratados en el Hospital Infantil del Estado de Sonora en el periodo comprendido del 2005 a 2007 incluyendo pacientes con diagnostico de LLA catalogándose en grupos de riesgo en base a edad, sexo, cuenta leucocitaria al diagnostico, clasificación de la FAB para leucemias agudas linfoblásticas y realización de inmunofenotipo en todos los pacientes del estudio.

**RESULTADOS:** La muestra consistió en 21 pacientes con diagnóstico de leucemia aguda linfoblástica tratados en el área de Oncología. La edad de los pacientes oscilo entre menores de 1 año hasta los 15 años de edad, encontrando 5 casos menores de un año edad , entre 1 a 10 años, 10 casos y de mas de 10 años 6 pacientes, divididos de esta forma, tomando en cuenta los grupos de riesgo antes descritos, predominando el sexo masculino con 12 casos y femeninos 9 casos. El estudio de inmunofenotipo por citometría de flujo con técnica de fluorescencia reveló que la mayoría de los casos de LAL correspondían a la maduración ontogénica de PRE B con 14 casos, PRE B temprano con 2, B maduro 2 caso, de células T 1 paciente, linaje mixto 1 caso, inmunofenotipo indiferenciado 1 caso y mieloide 1 caso.

En base a la clasificación de la FAB la mayor parte de los casos correspondió a L2 en 10 casos, L1 en 9 casos y L3 en 2. La Clasificación de alto riesgo en base al grupo de riesgo basados en la edad, cuenta leucocitaria, inmunofenotipo, masa mediastinal fueron 13 casos y de bajo riesgo 8 casos, Sin evidencia de infiltración a sistema nervioso central y a testículos en el momento del diagnóstico. La leucocitosis se presentó en 8 casos, y con más de 100 000 leucocitos en 3 de 21 pacientes, la evolución clínica hasta el momento se encuentran 16 pacientes en remisión completa continua, con una supervivencia promedio de 12 meses.

**DISCUSIÓN:** El inmunofenotipo es de gran utilidad en la actualidad para el diagnóstico y subclasificación de la enfermedad, sin embargo esta información no puede ser utilizada sola ya que tiene que ser complementaria con los demás datos clínicos y para-clínicos del paciente. Los factores de riesgo de la actualidad permiten dar una terapéutica de quimioterapia más enfocada para reducir el riesgo de recaída de la enfermedad. Con el inmunofenotipo nos da una información extra de el posible comportamiento biológico de la leucemia ya que de encontrar alguna expresión aberrante o algún marcador de superficie relacionado con pronóstico adverso nos indicaría un pronóstico significativo relacionado con las leucemias agudas.

## INTRODUCCION.

El inmunofenotipo con los progresos de la biotecnología y la llegada de la hibridación somática a hecho posible la producción de anticuerpos monoclonales a gran escala y su paliación en el estudio de las glucoproteínas de la superficie celular a descubierto las determinantes antigénicos específicos de estirpe o linaje de antígenos normales para las diversas etapas de diferenciación de los linfocitos **B, T** y serie **mieloide**. Con la citometría de flujo se permiten mediciones objetivas, sensibles, rápidas y reproducibles de gran variedad de características monoclonales celulares actualmente convirtiéndose en una herramienta para el diagnóstico y clasificación de las leucemias.

Las células de estirpe **B** durante el proceso de maduración pasan por diversos estadios secuenciales cada uno de los cuales se caracteriza por un modelo específico de expresión de genes de inmunoglobulina y por la expresión de otras proteínas de superficie celular que sirven como marcadores genotípicos de estos estadios de maduración. El rasgo que caracteriza a las células **B** maduras es la presencia de receptores antigénicos compuestos de dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras de Ig unidos por un puente disulfuro la superficie de las células esta compuesta por un gran número de moléculas diferentes, algunas de ellas son estructurales, mientras que otras son esenciales para una función en particular según el tipo de célula. **Kohler y Milstein** en 1970 hicieron posible la reproducción de anticuerpos monoclonales altamente específicos que reconocen distintos epitopos de antígenos celulares. **Greaves** en 1975 preparó un heteroantisuero anticelulas leucémicas que identificaba un antígeno (Ag) común propio (**CALLA**) de la

Leucemia aguda Linfoblástica (LAL) con propiedades que sugerían un antígeno específico de leucemia. A falta de la uniformidad de la nomenclatura se originaron los talleres sobre antígenos de diferenciación leucocitaria, 1982 y 1984 creando los "cluster designación) **CD** <sup>(11)</sup>.

A principios del decenio de los 80as la utilización de heteroantisueros contra los antígenos propios de la LAL humana (CALLA), T de linfocitos humanos y la clase II de la respuesta inmunitaria (**HLA DR**) junto con el uso de la valoración de la actividad enzimática de la **TdT**, permitieron la identificación de la extirpe en más de 90% de los casos de LAL <sup>(11)</sup>.

En 1985 **Chan** y colaboradores utilizaron la inmunotipificación y análisis múltiple métrico por citometría de flujo (**CMF**) con un incremento de la extirpe específica de las células leucémicas <sup>(9)</sup>.

En 1984 **Nadler** y cols. Propusieron un modelo de diferenciación de los linfocitos B análogo a uno propuesto con anterioridad para la diferenciación de los linfocitos T <sup>(2)</sup>. Modelo basado en la expresión secuencial de cuatro antígenos de superficie casi siempre ligados a la extirpe **B**: la (**HLA DR**), **CD19 (B4)**, **CD10,(CALLA)** y **CD20(B1)**. La división de linfocitos **B** se dividió en cuatro estadios. La demostración de que el 15% de los blastos expresaban inmunoglobulinas citoplasmáticas y 50% el Ag B1 y que todas demostraban reacomodo de los genes de las cadenas pesadas de la inmunoglobulina también proporcionaron fuerte apoyo a que estas leucemias fueran de extirpe B. En el estudio de 100 pacientes de LAL, se observó que virtualmente todos los subtipos se pudieron asignar a uno de los cuatro estadios de diferenciación, 3% estadio I, 14% estadio II, 32% estadio III, 47% estadio IV y 4% presentó inmunofenotipos aberrantes o asincronía en la



expresión antigénica <sup>(2)</sup>.

En la historia de LAL en el HIES el estudio de inmunofenotipo es un método diagnóstico nuevo, de manera convencional se ha utilizado la citomorfología según a FAB además de algunas tinciones específicas para diferenciar células de extirpe mielode o linfoide como la mieloperoxidasa, PAS, sudan negro, estearasas para darnos un diagnóstico citomorfológico y así iniciar un tratamiento específico, ahora con el estudio de inmunofenotipo por citometría de flujo nos ayuda a saber el grado de diferenciación exacto de la serie linfoide en este caso dando un significado pronóstico para pautar el curso terapéutico específico a seguir además de encontrar marcadores de extirpe bifenotípica en estas células dando información de riesgo para el tratamiento específico.

### **TÉCNICA DE INMUNOFENOTIPO**

Es identificación y cuantificación de distintas poblaciones celulares a base de la expresión diferencial de marcadores de membrana. Este tipo de análisis se realiza empleando anticuerpos monoclonales antígeno-específicos marcados con fluorocromos, en los análisis de inmunofenotipo suelen medirse de forma simultánea varios marcadores tumorales, por lo que se emplean anticuerpos acoplados a fluorocromos con diferentes espectros de emisión. El inmunofenotipo se utiliza para identificar poblaciones celulares desconocidas así como cuantificar posibles alteraciones en poblaciones celulares conocidas. El principal uso diagnóstico del inmunofenotipo se ha centrado en los niveles de células T CD4 en la sangre de pacientes con síndrome de

inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y en el estudio de linfomas y leucemias mediante en análisis de células con fenotipos aberrantes <sup>(12)</sup> .

## MARCO TEORICO

El concepto de leucemia aguda agrupa diversas enfermedades que tiene en común la transformación neoplásica de células hematopoyéticas. Fue reconocida como patología individualizada hace 150 años y debido a su relativa frecuencia en niños y la gravedad de su pronóstico esta enfermedad a sido objeto de tanto investigación clínica como biológica gracias a esto se a podido demostrar la curación con agentes farmacológicos, sirviendo de referencia para el tratamiento de neoplasias infantiles <sup>(9)</sup> .

La leucemia representa alrededor de 35% de las neoplasias en pacientes con edad inferior a 15 años. En países desarrollados la incidencia esta al rededor de 4 casos por 100 000 niños; en EUA, en Francia de 400, en España de 250 casos por año y en México la incidencia de casos nuevos por año se desconoce ya que no existen estadísticas nacionales <sup>(9)</sup>.

La Leucemia es una enfermedad heterogénea ya que puede desarrollarse a partir de diferente estadio de diferenciación celular. Por su evolución clínica, se clasifican en agudas y crónicas, las agudas según su extirpe se clasifican en linfoblásticas y en mieloblásticas o no linfoblásticas.

En este trabajo nos referiremos a las leucemias agudas linfoblásticas por su mayor incidencia en la infancia y el motivo de esta investigación es conocer el

inmunofenotipo en nuestra población <sup>(4)</sup>.

La Leucemia aguda linfoblástica presenta un pico de incidencia (40%) entre los 3 y 6 años de edad siendo algo más frecuente en niños con una relación 1:2 a niñas. Los factores genéticos juegan un papel importante en la presentación de esta enfermedad, esta teoría se apoya en la presentación de casos familiares de leucemia y la mayor incidencia de esta enfermedad se ha visto en gemelos, así como la asociación de anomalías citogenéticas constitucionales como en el Síndrome de Down o síndromes de inestabilidad genética, en donde la leucemia se presenta 15 veces más frecuente que en la población pediátrica normal. La desregulación de estos genes que participan en la proliferación celular debido a translocaciones, deleciones cromosómicas adquiridas en las células leucémicas. Aparte del factor genético incriminado en esta patología otros factores como son: el **factor ambiental**: la exposición a **radiaciones ionizantes**: se basa en la observación de un mayor riesgo de desarrollar leucemia como en los supervivientes de la segunda guerra mundial en Japón hasta 12 años posteriores a la exposición, también la exposición in útero aumenta muy ligeramente el riesgo de padecer leucemia, se debate la posibilidad de que los campos electromagnéticos de alto voltaje pudieran tener alguna relación con el aumento de riesgo<sup>(9)</sup>; el **tabaco**: en un trabajo escandinavo se asocia aun mayor riesgo de madres que fueron fumadoras durante el embarazo; esto no se ha confirmado por otros autores <sup>(9)</sup>, la administración de determinados **fármacos**: en especial los alquilantes, las epipodofilotoxinas y los antracíclicos, su uso incrementa el riesgo de leucemia sobre todo de leucemia mieloblástica aguda <sup>(11)</sup>, también el tratamiento de

inmunosupresión con ciclosporina o la gammaglobulina antilinfocitaria <sup>(9)</sup> . Las **infecciones** principalmente **víricas**: el virus de Epstein Barr se a asociado con el desarrollo de linfoma de Burkitt inhibiendo la apoptosis por inducción de bcl-2 algunos casos de leucemia linfoma relacionado etiologicamente al virus linfotropico humano tipo 1 (HTLV-1).

### **Clasificación de LAL por grupos de riesgo.**

**Riesgo estándar** son aquellos pacientes con edad entre 1 a 9 años, cifra leucocitaria inferior a 20 000 / mm<sup>3</sup>, inmunofenotipo de PRE B inmadura con expresión de antígeno común leucocitario (**CALLA +**) y ausencia de cadenas m citoplasmáticas, ausencia de alteración citogenética o molecular desfavorable, ausencia de afectación extramedular y presencia de blastos en la medula ósea de un porcentaje inferior a 5% al día 14 de tratamiento. Cuadro 1

**Alto riesgo**: son los pacientes que presentan algunos de los siguientes criterios como edad menor de 1 año y superior a 10 años, leucocitosis mayor a 50 000 / mm<sup>3</sup>, inmunofenotipo distinto al definido en el grupo de riesgo estándar, citogenética molecular desfavorable, afectación extramedular o los pacientes que en el día 14 de tratamiento presentan una cifra de blastos en la de médula ósea superior a 5%.

**Muy alto riesgo**: cifra de leucocitos superior a 100 000, presencia de alteraciones citogenéticas, t (9:22) o t (4:11) o bien su expresión molecular BCR 7, AML o MML respectivamente cerca de la haploidía (24-29 cromosomas) también el estudio de medula ósea con presencia de blastos de mas de 5% <sup>(8)</sup>.

## Cuadro 1

### Clasificación por grupo de riesgo.

Grupo de riesgo	características	tipo de terapia.
<b>Bajo</b>	precursor de células B Edad 1 – 9 años Leucocitos < 50 000 mm <sup>3</sup> al dx Índice de DNA >1.16 <1.60 en ETV6-CBFA2 No infiltración extramedular Buena respuesta al esteroide TEL AML	Antimetabolitos
<b>Estándar</b>	Células T  células B que no entren en criterios de bajo riesgo	poli quimioterapia intensiva
<b>Alto</b>	Edad mayor a 10 años menor de 12 meses leucocitos mayor de 50 000 mm <sup>3</sup> al dx Masa mediastinal presente respuesta pobre al tratamiento reárenlo MLL t(4;11) Infiltración extramedular.	Transplante de medula ósea

Pui Ching-Hon Childhood leukemia St Jude Children research Hospital. Memphis Tennessee. 1ra ed. Cambridge University press 1999:288-321.

La clasificación **morfología** según la **FAB** (French-American-British) sigue siendo valida, dividida en tres grupos **L1, L2 y L3**. Actualmente esta clasificación tiene escaso valor pronóstico excepto la tipo L3, que puede correlacionarse a leucemia tipo Burkitt.

El diagnostico de LLA en algunos casos se requiere del uso de la histoquímica mediante tinciones especiales permitiéndonos diferenciar entre leucemias de origen mieloide y linaje linfoide, las siguientes tinciones son utilizadas en el apoyo diagnostico de esta enfermedad. Cuadro 2

## Cuadro 2

### Tinciones de apoyo para el diagnostico diferencial.

#### Tinción no enzimática

##### Linfoblástica

*PAS*

*Sudan Negro*

#### Tinción Enzimática

*Mieloperoxidasa*

*Fosfatasa alcalina*

#### Esterasas

*Naftol AS-D Cloroacetato*

*Naftol AS-D Acetato*

*alfa-naftil acetato*

*Fosfatasa acida*

#### Leucemia Aguda

**Positiva**

**Negativo**

**Negativa**

**Normal**

**Negativo**

**Negativo / Positivo**

**Negativo**

**Negativo en LLA T**

Tomada de Tesis Leucemia Linfoblástica Aguda. Resultado del tratamiento Protocolo HIES 06 Dr. Homero Rendón García 2002:pag12.

Una segunda clasificación pronóstica actual y de mayor valor pronóstico es determinada por el **inmunofenotipo**, independiente de la clasificación morfológica, y este se expresa de acuerdo a la maduración ontológica en tres extirpes celulares. La expresión de antígenos de membranas o de citoplasma en las células leucémicas permite definir el inmunofenotipo el cual se determina por técnica de citometría de flujo mediante anticuerpos monoclonales permitiendo diferenciar los blastos pertenecientes a la serie **B** o **T** e identificar leucemias bifenotípicas o leucemias con expresión de marcadores mieloides o linfoides, los siguientes son marcadores específicos para cada línea celular. El estudio de la inmunobiología ha permitido dar una mejor diferenciación del estado de maduración y diferenciación ontogénica.

A principios de 1975 surgieron las primeras formas de marcaje para caracterizar el estado de maduración y diferenciación siendo los primeros para diferenciar células de origen T, B o No B o no T. Utilizando receptores de eritrocitos de cordero, aproximadamente el 20 % de los casos correspondían a células T<sup>(10)</sup>.

Con el advenimiento de los anticuerpos monoclonales 80% de los pacientes fueron designados como de origen B, teniendo el antígeno leucocitario común (CALLA), CD10 en la superficie de la célula. Esto es conocido actualmente como CALLA+ o CD10+ y es común en LLA.

La demostración de inmunoglobulinas intracitoplasmáticas en algunas células con anticuerpos monoclonales asociados a antígenos específicos, ha permitido diferenciar in vitro con marcadores de maduración hasta de un 80 a 85% de los niños con LLA. La presencia de inmunoglobulina citoplasmática las cuales están presentes en el 20 a 30% de los casos de los precursores de LLA. La adición de inmunofluorescencia a revolucionado la clasificación histopatológica de muchas patologías incluyendo LLA.

Más de 200 tipos de anticuerpos monoclonales relacionados con la maduración ontogénica en las células hematopoyética son utilizadas actualmente.

En el análisis del inmunofenotipo se a relacionado a las células B maduras con pobre pronóstico y a la células pre B con mejor respuesta a al tratamiento. Muchas veces la diferenciación entre células pre B con inmunoglobulina de citoplasma positivo o negativo no es relevante. Sin embargo cuando se trata del CALLA (**CD10**) su presencia si implica factor pronóstico teniendo favorable pronóstico cuando esta negativo. La expresión del antígeno de



célula madre **CD34** no tienen una asociación pronóstica probada. Los rearrreglos genéticos de inmunoglobulinas en los precursores de células B se presentan en diferentes estadios de maduración. Las cadenas pesadas Kappa que preceden a las cadenas ligeras Gamma presentan un patrón jerárquico al igual que la aparición de rearrreglos en las células. *Cuadro 3 y 4*

La identificación de genes de cadenas de inmunoglobulinas ayuda a confirmar el linaje precursor de células PRE B o B con los marcadores monoclonales. Esta jerarquía de inmunoglobulinas ayuda también a las células T. La predominancia de algún marcador de superficie no es un factor pronóstico específico. Las cadenas pesadas de inmunoglobulinas están presentes en el 10 a 15% de los casos de células T. El gen TCR esta presente en la mayoría de los precursores B <sup>(10)</sup>.

El inmunofenotipo y el análisis citogenética, tiene orígenes científicos diferentes pero complementan el diagnóstico. En las leucemias bifenotípica o de linaje mixto las características mieloides y linfoides están presentes en la misma leucemia este tipo se presenta en un 7 a 25% en los casos de LLA. La base biológica para la presentación de este tipo de leucemias es aun desconocida. Una propuesta es la expansión clonal anormal de bilinaje o multilinaje. En algunas ocasiones se asocia a anomalías citogenéticas especialmente t(4;11) (q23;q23) y las leucemias que contienen el cromosoma Filadelfia t(9;22). El tratamiento para el tipo de leucemia biclonal esta poco claro. La combinación de Pre B/ mieloide es la mas común que Linfoblasto T/mieloide y raramente T y B/ natural killer, para el tratamiento de este tipo de leucemias se recomienda ciclos de quimioterapia seguido de TAMO. La

sobrevida a 2 años de estas leucemias es de 39%. Teniendo como factor pronostico la presencia de cromosoma Filadelfia<sup>(10)</sup>.

### Cuadro 3

#### Clasificación inmunológica en leucemia aguda linfoblástica

##### Marcador inmunológico de estudio (% de positividad para cada marcador).

Subtipo Frecuencia inmunológico subtipo	CD19	CD22	CD79a	CD10	CD7	CD5	Cd3a	clgm	slgm	slg k o lamda	de
Pre B Temprana 65%	100	98	99	95	5	0	0	0	0	0	60 –
Pre B 25%	100	100	100	98	0	<2	0	100	0	0	20 –
Pre B trans 3 %	100	100	100	50	0	0	0	100	100	0	1 -
B 3 %	100	100	100	50	0	0	0	98b	98b	98b	2 -
T 18 %	<5	0	0	45	100	95	100	0	0	0	15-

Abreviación: clg Inmunoglobulina citoplasmática slg . Inmunoglobulina de superficie.

a expresión citoplasmática

b aproximadamente el 2% de las FAB L3 con una t(8;14) ,t(2;8), t(8;22)

Pui Ching-Hon Childhood leukemias St Jude Children research Hospital. Memphis Tennessee. 1ed. Cambridge University press. 1999:111-138.

Los siguientes son marcadores específicos para línea celular de origen mielóide:

#### Cuadro 4

##### Inmunfenotipo en leucemia aguda mieloblástica.

Subtipo FAB	CD34	DR	CD13	CD14	CD15	CD33	CD36	CD41a	CD65	CD117	GPA
M0	++	++	++	0	+	++	0	0	+	++	0
M1	++	++	++	0	++	++	0	0	++	++	0
M2	++	+++	+++	0	++	+++	0	0	++	++	0
M3	+/-	+/-	+++	0	++	+++	0	0	++	+	0
M4	++	+++	++	++	++	+++	+	0	+++	++	0
M5	+/-	+++	++	++	++	+++	++	0	+++	++	0
M6	+	++	++	0	+	++	++	0	++	+	+++
M7	+	+	+	0	+	++	++	+++	+/-	+	+/-

Abreviaciones: FAB Franco-Americana-Británica, DR, HLA DR antígeno, GPA, Glicoporina A a Porcentaje de casos de expresión CD 0 ninguno, +/-<10%, + 10-49%, ++ 50-80%, +++>80%

Pui Ching-Hon Childhood leukemias St Jude Children research Hospital. Memphis Tennessee 1999:111-138.

**Citogenéticamente** La LAL biomolecularmente se clasifica en grupos de alteraciones numéricas y estructurales las cuales son de mucha importancia conocer, las afecciones cromosómicas presentes se han identificado los genes que participan en esta enfermedad. Los genes alterados actúan en una red funcional, donde los productos génicos son: factores de crecimiento, factores de transcripción, enzimas tirocincinasa, que tienen actividad de transmisión de señales y moléculas que reestructuran la cromatina, que son capaces de modificar el proceso de transcripción (+). Tabla 5

Las afecciones numéricas que va de acuerdo a la cantidad de pares de cromosomas de diploidía 46 cromosomas, cerca de la haploidía <46 cromosomas y la **hiperdiploidía** mas de 47 cromosomas, pasando por tetraploidía (82 a 94 cromosomas) triploidia >69 cromosomas y la **Pseudodiploidía** con 46 pares de cromosomas pero con alteración estructural

presente. Confiriendo un pronóstico pobre entre mas **hipodiploida** exista y con mejor respuesta al tratamiento cuando existen más números de cromosomas asociándose con tipo inmunofenotipo de Pre B temprano. Las lesiones estructurales que se han descrito en LAL son múltiples el siguiente cuadro de muestra las más frecuentes:

**Tabla 5**

**Frecuencia y pronóstico de las traslocaciones en pacientes pediátricos con leucemia agudas linfoblásticas.**

Alteración cromosomica	Genes alterados	Frecuencia %	Pronostico	
t(11;19)	E2A-PBX1	5	Adverso	Pre B
t( 9;22)	BCR-ABL	4	Adverso	Pre B
t(12;21)	TEL-AML1	28	Favorable	Pre B
Rearreglos en 11q23	MLL	6	Adverso	Pre B
t(17;19)	E2A-HLF	1	Adverso	Pre B
t(8;14), t(2;8)	MYC	5	Adverso	B
Rearreglos en 7q35	TCRb	4	Adverso	T
Rearreglos en 14q11	TCRad	3	Adverso	T

Tomado de Look TA. Genes altered by chromosomal translocations in leukemia and lymphomas En: Vogelstein B, kinzler KW (Eds). The genetic basis of human cancer, New York: MacGraw-Hill 1977:109-141

En cuanto al **diagnostico Clínico** de la leucemia aguda esta en relación con el fallo de la hematopoyesis desplazada por la infiltración blástica dando síntomas derivados de la disminución de la hemoglobina , de plaquetas y de neutrófilos como palidez e infección que son los mas frecuentes al

diagnostico, se establece por examen microscópico de sangre periférica y medular complementado con el estudio citoquímico , el inmunofenotipo , la citogenética , biología molecular, descartando enfermedad extramedular con un examen de liquido cefalorraquídeo , radiografía de tórax , ecografía abdominal, TAC, o RNM .

En cuanto al inmunofenotipo en nuestra institución , no se había llevado a cabo por lo que empleábamos pruebas inmunohistoquímica ( mieloperoxidasa) a todas las LAL L2 de aquí nació nuestro objetivo para conocer el extirpe inmunológico en nuestros niños.

## **OBJETIVOS Y JUSTIFICACION**

- 1.-Determinar los rasgos epidemiológicos de los niños con LAL.
- 2.-Determinar que el inmunofenotipo ayuda a protocolizar la terapia de mantenimiento.
- 3.-Determinar la expresión mieloide en inmunofenotipo y su valor pronostico
- 4.-Determinar porcentaje de CD34 en LAL en la población de HIES.
- 5.-Determinar la variabilidad antigénica en la población leucémica de estudio

## **MATERIAL Y METODOS**

Se revisaron un total de 21 expedientes con diagnóstico de Leucemia Aguda Linfoblástica que ingresaron al Servicio de Oncología del Hospital Infantil del Estado de Sonora, en un periodo comprendido del 2005 al 2007, utilizando como método inmunológico el inmunofenotipo, técnica de Citometría de flujo para el estudio de los pacientes catalogándose en pacientes de riesgo según los parámetros clínicos y de laboratorio: se revisaron edad, sexo, exploración física, biometría hemática completa, médula ósea con la clasificación de la FAB, citocentrífuga de líquido cefalorraquídeo, respuesta a los esteroides a 7 días del tratamiento con prednisona, y estado actual al momento de la revisión.





## RESULTADOS

La muestra consistió en 21 pacientes con diagnóstico de leucemia aguda linfoblástica tratados en el área de Oncología del Hospital Infantil del Estado de Sonora ( H I E S ). La edad de los pacientes osciló entre menores de 1 año hasta los 15 años de edad, encontrando 5 casos menores de un año edad , entre 1 a 10 años, 10 casos y de más de 10 años 6 pacientes, divididos de esta forma, tomando en cuenta los grupos de riesgo antes descritos, predominando el sexo masculino con 12 casos y femeninos 9 casos. El estudio de inmunofenotipo por citometría de flujo con técnica de fluorescencia reveló que la mayoría de los casos de LAL correspondían a la maduración ontogénica de PRE B con 14 casos, PRE B temprano con 2, B maduro 2 caso, de células T 1 paciente, linaje mixto 1 caso, inmunofenotipo indiferenciado 1 caso y mieloide 1 caso. En base a la clasificación de la FAB la mayor parte de los casos correspondió a L2 en 10 casos, L1 en 9 casos y L3 en 2. La Clasificación de alto riesgo en base al grupo de riesgo basados en la edad , cuenta leucocitaria, inmunofenotipo, masa mediastinal fueron 13 casos y de bajo riesgo 8 casos, Sin evidencia de infiltración a sistema nervioso central y a testículos en el momento del diagnóstico. La leucocitosis se presentó en 8 casos, y con más de 100 000 leucocitos en 3 de 21 pacientes, la evolución clínica hasta el momento se encuentran 16 pacientes en remisión completa continua, con una supervivencia promedio de 12 meses.

En dos casos se observó recaída a Sistema Nervioso Central y 2 con

recaída a médula ósea se presento una muerte por toxicidad y septicemia.

## DISCUSIÓN

Desde el desarrollo de la tecnología de anticuerpos monoclonales a finales de la década de los 70s la inmunotipificación de células leucémicas neoplásicas hematopoyéticas, se ha previsto de gran utilidad clínica. Actualmente su uso permite subclasificar así como identificar leucemias bifenotípicas estableciendo por un lado una mejor terapéutica en base a los protocolos de riesgo. Los resultados de este estudio demuestran que la distribución de los pacientes con LLA según la edad y sexo fue similar a la publicada por otros autores<sup>(2-4,6,7)</sup>. Entre nuestros pacientes predominó el sexo masculino y la edad mayor afectada entre los 2 a 5 años de edad. Las características morfológicas de los blastos mostró un predominio de la variedad L2 con 13 casos un poco diferente a la publicada por otros autores con 61% de los casos L1 con 6 casos y 2 casos de L3 con un 28% y 11% respectivamente, esto último similar a la literatura<sup>(9,11)</sup>. La mayoría de los niños mostraron baja carga tumoral reflejada en el número de leucocitos 2 con masa mediastínica. No se encontró infiltración leucémica a sistema nervioso central al momento del diagnóstico coincidiendo con lo mostrado por los autores.

En cuanto al inmunofenotipo nosotros encontramos la expresión de los antígenos CD19, CD10, en el 100% de los casos. La expresión del antígeno CD20 presente normalmente en estadios de madurez de la célula B en un

38% presente igual que en las publicaciones de 30% <sup>(9)</sup>. La expresión de antígenos de linaje T en la LLA es rara encontrando un bajo porcentaje de antígenos CD3 en 0.9%. El antígeno CD13 que es una aminopeptidasa –N es expresado en la LLA en respuesta a estímulos proliferativos. Este antígeno en cooperación con el CD10 puede actuar como regulador de la concentración de moléculas en la membrana celular e influir en el crecimiento de las células B precursoras.

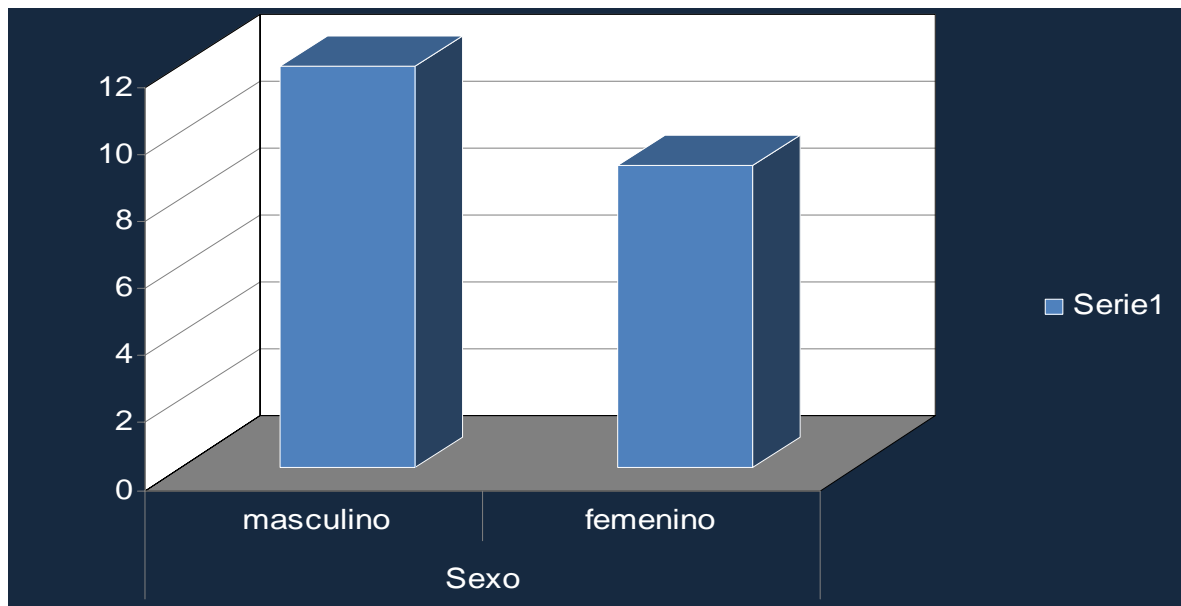
Esta revisión demuestra que la LLA es una enfermedad fenotípicamente heterogénea con subtipos clínicamente diversos que representan expansiones clónales de los linfoblasto en diferentes estadios de maduración por los que conocer las características inmunológicas de las leucémicas, es esencial para la generación de respuestas fenotipo-específicas en el contexto de la terapia moderna de la LLA.

## **CONCLUSIONES**

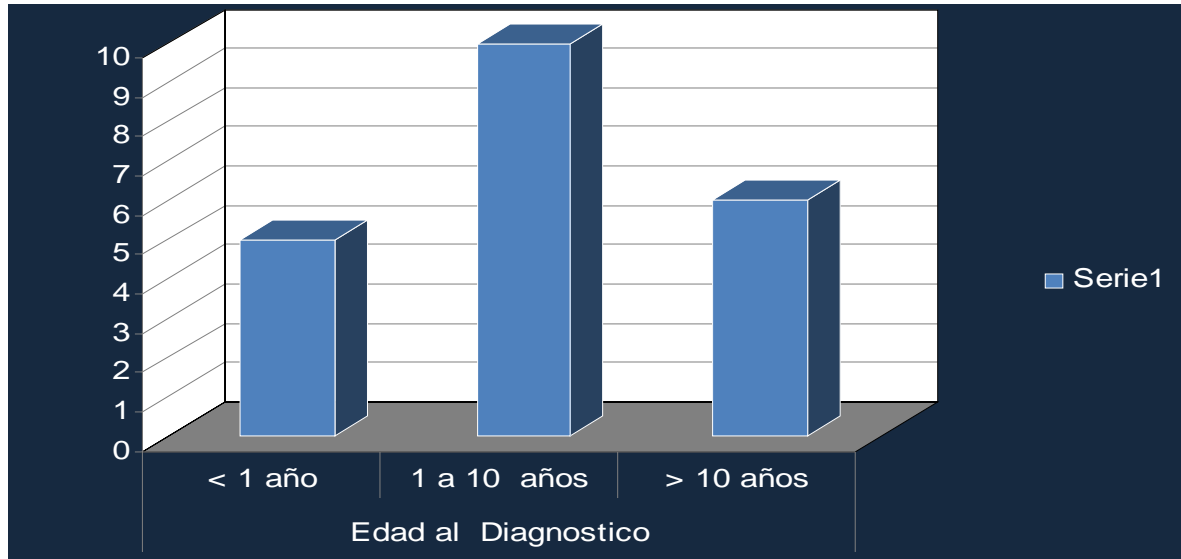
El inmunofenotipo es de gran utilidad en la actualidad para el diagnóstico y sub-clasificación de la enfermedad sin embargo esta información no puede ser utilizada sola ya que tiene que ser complementaria con los demás datos clínicos y para-clínicos del paciente. Los factores de riesgo de la actualidad permiten dar una terapéutica de quimioterapia mas enfocada para reducir el riesgo de recaída de la enfermedad. Con el inmunofenotipo nos da una información extra de el posible comportamiento biológico de la leucemia ya que de encontrar alguna expresión aberrante o algún marcador de superficie relacionado con pronostico adverso nos indicaría un pronostico significativo relacionado con las leucemias agudas.

**ANEXOS.**

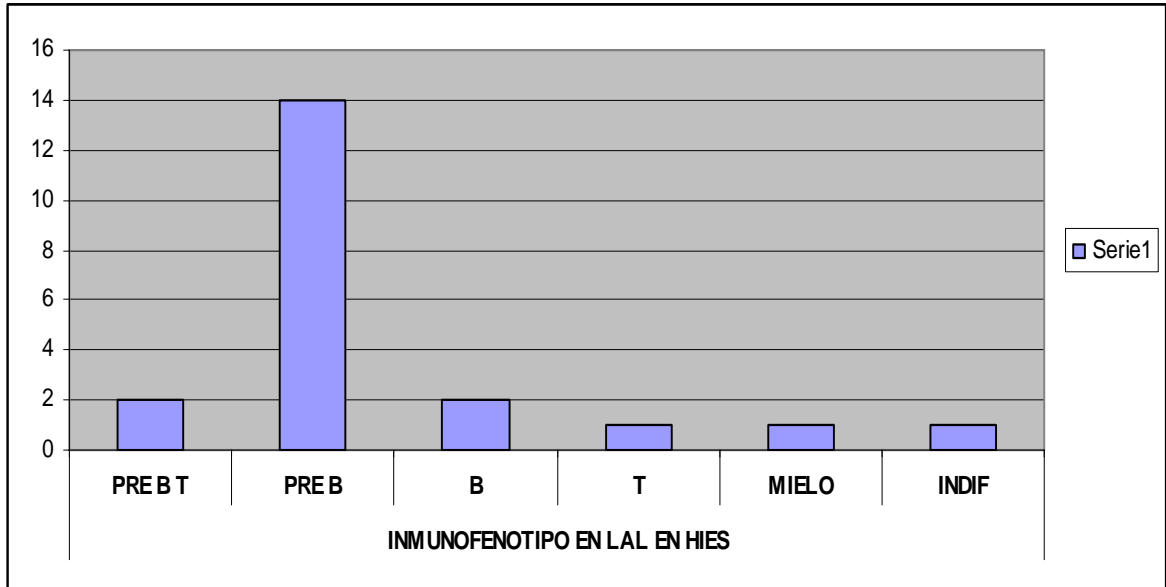
**RELACION DE CASOS POR SEXO**



## EDAD DE PRESENTACIÓN AL DIAGNOSTICO

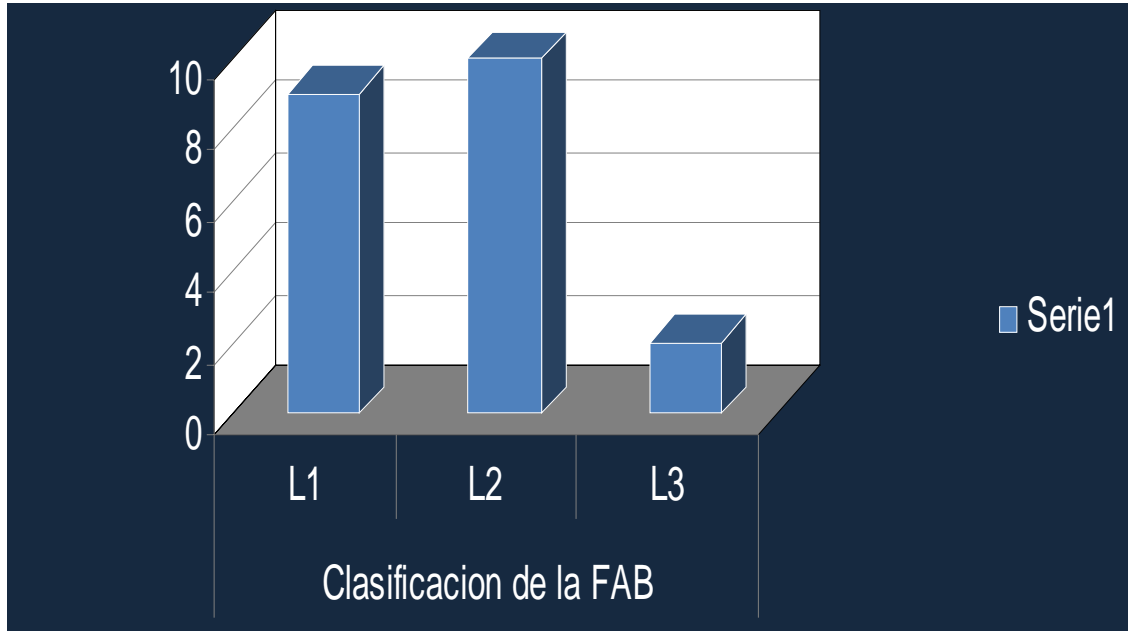


**INMUNOFENOTIPO EN LAL INFANTIL.  
H I E S**

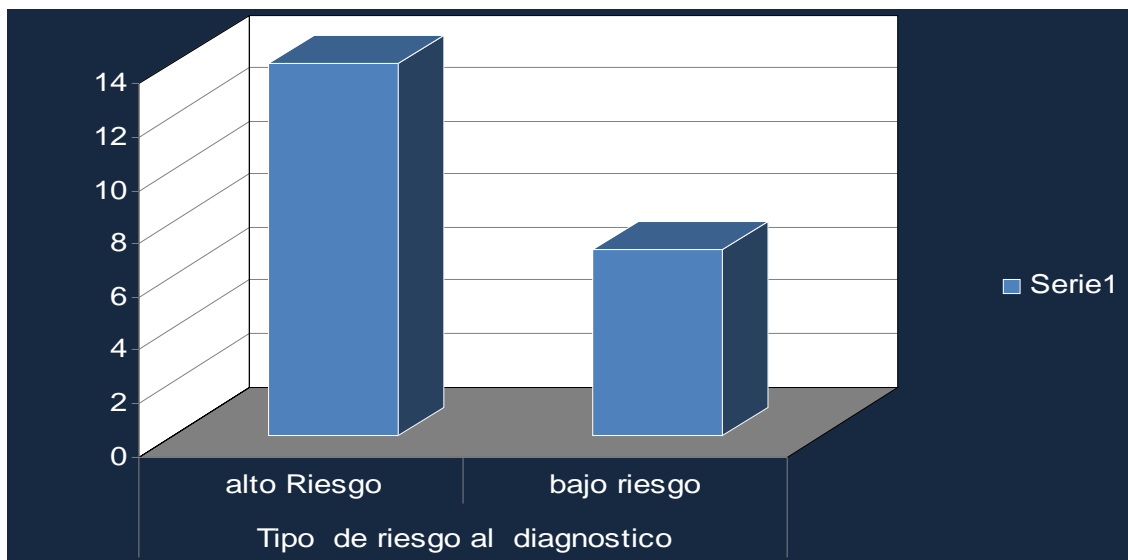




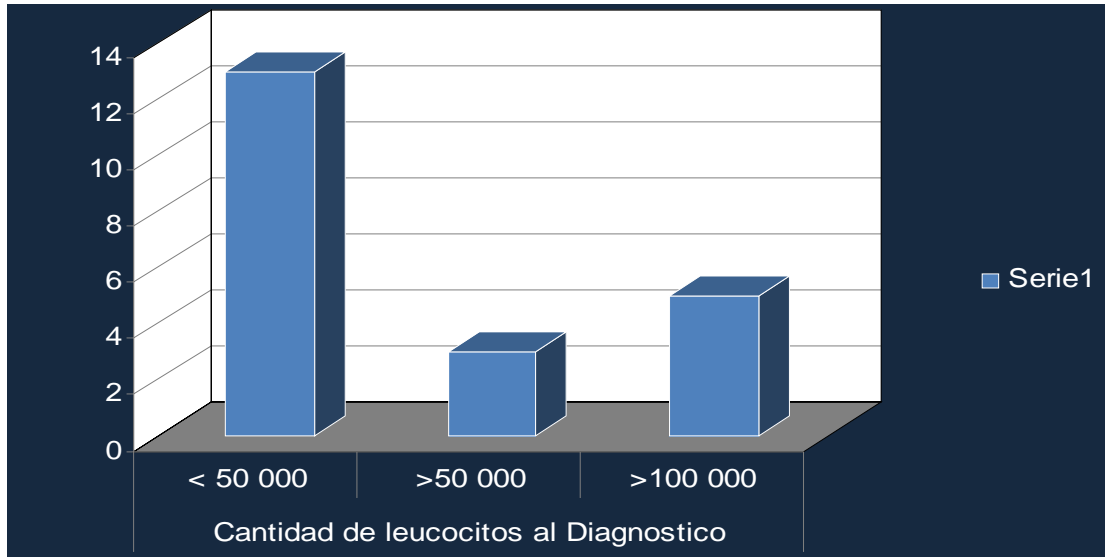
## CLASIFICACION FAB EN LAL



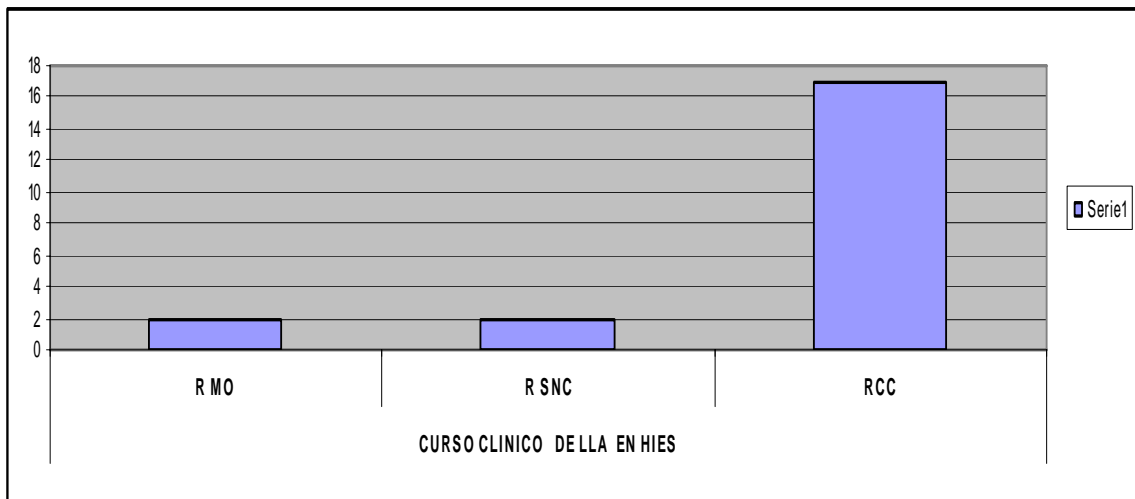
## TIPO DE RIESGO AL DIAGNOSTICO LAL INFANTIL HIES



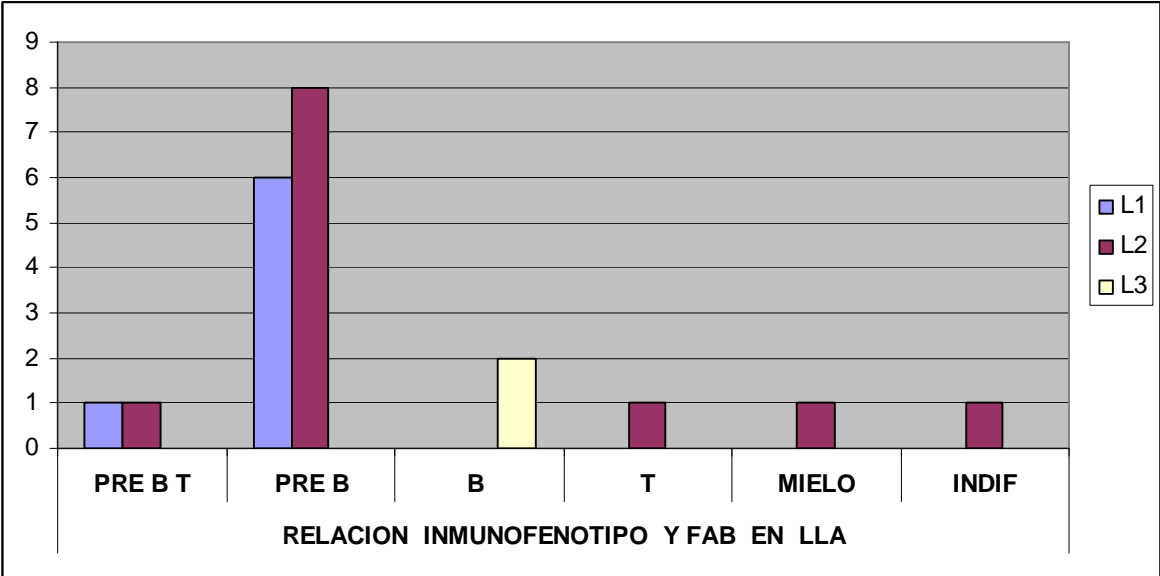
## CANTIDAD DE LEUCOCITOS AL DIAGNOSTICO EN LLA



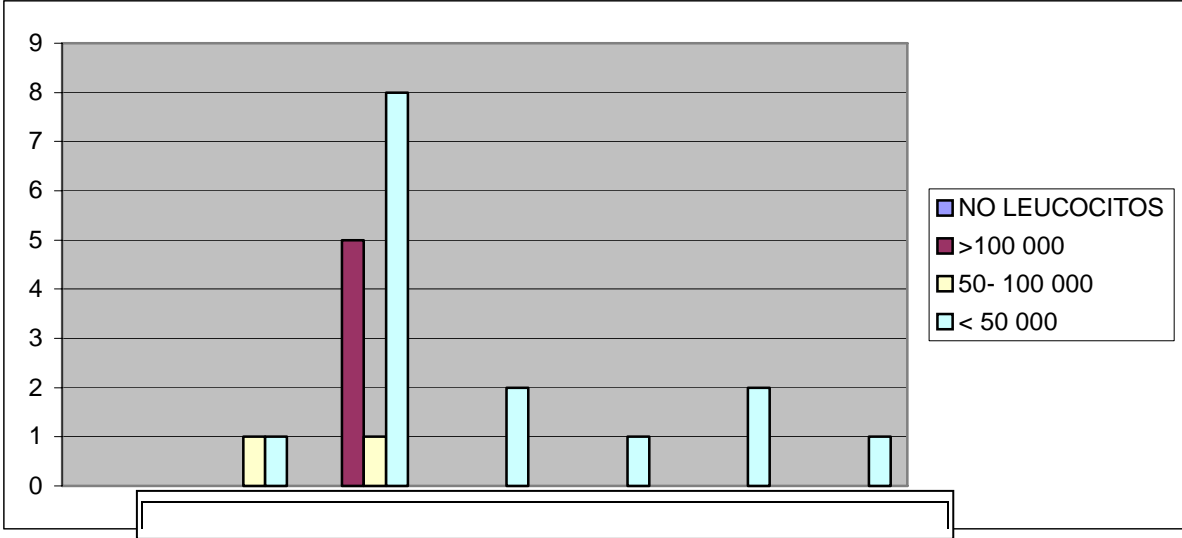
## CURSO CLINICO DE LLA EN HIES



# RELACION INMUNOFENOTIPO Y LA FAB EN LAL



**RELACION INMUNOFENOTIPO Y NUMERO DE LEUCOCITOS AL  
DIAGNOSTICO EN LAL**





## BIBLIOGRAFÍA

- 1.-Bonhlander SK, Fusión de genes in leukemia: An emerging network. Cytogenetic cell genet 2000; 91:52-56.
- 2.-Marsan Suarez Dra.cols,Revista Cubana de hematologia,2004;20 (2) (@). <http://www.nci.nih.gov/espanol/pdq/tratamiento/leucemia-linfoblastica-infantil/health> 2005
- 3.-Carolyn A Felix (chair) Beverly J. Lange.Judith M Chessells.Pediatric acute lymphoblastic leukemia: Challenges and controversies in 2000. American Society Hematology.2000.285-297.
- 4.-Campbell Miriam B. Ferreiro Myriam, Tordecilla Juan.Pilar Joannon S, Carlos Rizzardini L. y Cols. Leucemia linfoblastica aguda .Caracteristicas al diagnostico en 100 niños. Revista chilena de pediatria 1999:Vol.70,No 4,
- 5.-I Badell Serra,J Cubells Riero.Unidad de hematologia .Leucemia en pediatria Estado Actual. Servicio de pediatría. Hospital Santa Creu y San Pau.Barcelona 1989.
- 6.-Pui Ching MD Extended follow up long term survivor of childhood acute lymphoblast leukemia The New England Journal Of Medicine 2003; 349: 640-649.
- 7.-Ching-Hon Pui MD, Mary V. Relling, Pharm D, James R. Downing MD. Mechanism of disease Acute Lymphoblast Leukemia. N Engl J Med 2004: 350: 1535-48.
- 8.-J Ferris I, Tortajada .Factores de riesgo para leucemias agudas infantiles. An Esp Pediatr 1999; 50; 439-446.
- 9.-Pizzo Philip A.,Poplack David. Principles and practice of pediatric oncology. Fifth edition,J.B. Lippincott Co. 2006: 538-580.
- 10.-Ching-Hon Pui. Childhood leukemia, Immunophenotyping, First

Edition,Cambridge, 1999: 111-140.

**11.**-Roberto Rivera Luna. Hemato-oncología pediátrica, Primera edición. Editores de texto mexicanos. 2006: 157-175.

**12.**-Susan O. Sharrow .Current protocols in immunology .Overview of flow cytometry.