



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
HOSPITAL JUAREZ DE MÉXICO

PREVALENCIA DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS LINFOBLASTICAS POR INMUNOFENOTIPO EN LA POBLACION INFANTIL DEL HOSPITAL JUAREZ DE MÉXICO

TESIS
QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:
ESPECIALISTA EN PEDIATRÍA

Presenta

Dra. CYNTHIA SHANAT CRUZ MEDINA

ASESORES DE TESIS: DR. JOSÉ GABRIEL PEÑALOZA GONZÁLEZ

DRA. MARTHA M. VELÁZQUEZ AVIÑA

M en C. BILLY VERDEJO HERNÁNDEZ

México, D.F. Febrero de 2011





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Dr. Guillermo Hernández Valencia.

Titular de la unidad de Enseñanza

Dr. Jorge Alberto del Castillo Medina.

Jefe de la División de pediatría

Profesor titular del curso universitario de Especialización en Pediatría

Dr. José Gabriel Peñaloza González.

Asesor de Tesis

Médico Adscrito a oncología pediátrica

Dra. Martha Velázquez Aviña.

Asesor de Tesis

Médico Adscrito a oncología pediátrica

AGRADECIMIENTOS

A DIOS que a lo largo de mi vida ha sido mi más amoroso e incondicional compañero, por mostrarme las esperanzas de la vida en cada niño que aun en su dolor nos brinda la más sincera de las sonrisas, por permitirme mantenerme firme en este camino de la pediatría.

A MI HIJO el amor más grande de mi vida, que ha tenido el valor y la entereza de perdonar mis ausencias y así la delicadeza de seguir mostrando su amor inmenso en cada beso y cada sonrisa, por ser el motor y la energía en mi vida.

A MI MADRE forjadora del carácter que me permite seguir adelante, por su apoyo y ánimo para continuar cada día adelante, por su confianza y su amor en cada momento de mi vida.

A MI PADRE mi gran maestro y ejemplo a seguir en la vida, por su amor y apoyo incondicional, por enseñarme a ser mejor ser humano y mejor médico.

A MIS HERMANOS por compartir nuestras vidas con amor y confianza, por aceptar mis consejos con cariño y por ser parte fundamental en mi vida.

A MIS ASESORES por su apoyo y paciencia, por sus enseñanzas médicas y de la vida diaria, porque sin ellos este trabajo no habría sido posible.

A MIS MEDICOS ADSCRITOS por su disciplina y enseñanza, por defendernos y creer en nosotros los médicos residentes.

A MIS COMPAÑEROS en quienes he encontrado buenos amigos, con quienes hemos aprendido juntos a través de estos tres años lo maravilloso y gratificante de la pediatría y de la convivencia y diversidad de pensamientos.

INDICE

– Agradecimientos	3
– Índice	4
– Introducción	5
– Marco teórico	6
– Justificación	15
– Objetivo	16
– Diseño del estudio	17
– Material y métodos	18
– Resultados	21
– Discusión	27
– Conclusiones	28
– Bibliografía	29

INTRODUCCION

La leucemia aguda linfoblástica es la neoplasia más común en la infancia, la etiología aún se desconoce, el pico de incidencia es entre los 2 y los 5 años de edad, tiene mayor incidencia en varones, hay factores ambientales, genéticos, infecciosos, inmunológicos asociados a su patogénesis.

Las manifestaciones clínicas son inespecíficas y puede manifestarse como síndrome anémico, hemorrágico, infiltrativo y febril, los hallazgos en la biometría hemática pueden ser alteraciones en la cuenta leucocitaria con neutropenia, cuenta leucocitaria normal, blastos en sangre periférica ó hiperleucocitosis, la cuenta plaquetaria puede presentarse normal ó como trombocitopenia, puede haber grado variable de anemia.

El inmunofenotipo es un estudio realizado en nuestro medio mediante citometría de flujo, se realiza en sangre periférica ó en muestra obtenida mediante aspirado de médula ósea. Se analiza la expresión de los antígenos de línea celular, antígenos de maduración y diferenciación hematopoyética, nos permite analizar los antígenos citoplásmicos, de membrana, el tamaño y la complejidad citoplásmica celular, para clasificar, subclasificar las leucemias y valorar el grado y forma de maduración y/ o diferenciación celular blástica.

Para su diagnóstico, clasificación y pronóstico se utiliza; morfología, inmunohistoquímica, inmunofenotipo y citogenético.

El estudio citogenético nos permite conocer de forma exacta las alteraciones cromosómicas de las células blásticas, estas alteraciones incluyen cambios en el número (ploidias) y en la estructura (translocaciones). Nos proporciona información del cariotipo celular, incluyendo el número de cromosomas y la presencia de translocaciones.

Ambos estudios mencionados de forma previa son actualmente imprescindibles para un adecuado diagnóstico, clasificación de las leucemias, para pronóstico e implementación de tratamiento adecuado.¹²³⁴

LEUCEMIA AGUDA LINFOBLASTICA

Se define como una proliferación incontrolada de precursores hematopoyéticos linfoides. Es la neoplasia más frecuente en niños, representa el 27% de las neoplasias malignas en la infancia, de las cuales la leucemia linfoblástica aguda involucra el 75%.^{1 2 3 6 21}

La edad de mayor incidencia es entre los 2 a 5 años de edad. Es más frecuente en la raza blanca que en negros. La incidencia es más alta en niños que en niñas.^{1 2 3 21}

PATOGENESIS

Hay factores predisponentes para leucemia como lo son; factores ambientales (ejemplo; exposición crónica a bencenos, radiación ionizante), factores infecciosos (virales) factores genéticos (ejemplo; Sx Down, Sx Bloom) factores de inmunodeficiencias congénitas (ejemplo, hipogamaglobulinemia congénita) inmunodeficiencias adquiridas (ejemplo; Infección por virus de inmunodeficiencia humana, inmunosupresión por trasplante), ó aquellos pacientes tratados previamente con citotóxicos (epipodofilotoxinas y alquilantes).^{1 2 3 6 7 8 9 21}

PRESENTACION CLINICA

Los signos y síntomas reflejan el impacto de la infiltración de médula ósea y la presencia de enfermedad extra medular por células leucémicas. La duración de los signos y síntomas va desde 20 hasta 129 días, con una media de 109 días. Hay presencia de fiebre en un 61%, sangrado en 48%, dolor óseo y artralgias en 23%, linfadenopatías 50%, esplenomegalia en 63%, hepatomegalia en 68%, por laboratorio puede encontrarse cuenta leucocitaria menor de 10 mil en más del 50% de los pacientes, de 10 mil a 49 mil en un 30% y mayor de 50 mil en menos del 17%, hemoglobina menor de 7 en 43%, entre 7 y 11 en 45%, mayor de 11 en 12%, plaquetas menores de 20 mil en 28%, de 20 mil a 99 mil en 47%, mayores de 100 mil 25%. Pero típicamente los signos y síntomas de presentación son inespecíficos.^{1 2 3 6 7 8 9 21}

DIAGNOSTICO

El diagnóstico se realiza con aspirado de médula ósea, encontrando más del 25% de blastos de estirpe linfoide con inmunohistoquímica positiva para tinción de PAS.

El diagnóstico completo de leucemia comprende además del estudio morfológico, inmunotipificación, estudio citogenético, estudio cromosómico y respuesta a tratamiento.

Por morfología se diferencia en tres categorías, linfoblastos 1, 2 y 3. Acorde al tamaño celular, cromatina nuclear, forma del núcleo y del nucléolo, cantidad de citoplasma y de vacuolas. Aproximadamente el 85% presenta L1. En 1976 se formuló la clasificación morfológica FAB basada en la morfología celular usando microscopia de luz y complementada por pruebas histoquímicas, modificada en 1986.

Por inmunofenotipo; los estudios de inmunología confirman que la transformación leucémica y la expresión clonal ocurren en diferentes estadios de la maduración en el proceso de diferenciación linfoide. La presencia de inmunoglobulinas citoplásmicas ha sido un marcador útil para determinar el nivel de diferenciación de células leucémicas. Usando un panel de anticuerpos monoclonales asociado con varios estadios a lo largo de la diferenciación de células B, con información de la presencia ó ausencia de inmunoglobulinas de superficie ó citoplásmicas, se ha clasificado las leucemias linfoblásticas agudas de linaje B, en estadios de acuerdo con el grado de diferenciación ó maduración.

Por citogenética podemos definir alteraciones cromosómicas que afectan el pronóstico de las leucemias, las más significativas son; t (12:21), t (9:22), t (1:19), t (4:11), así como el número de cromosomas, siendo de mal pronóstico la hipodiploidia ó la hiperdiploidia de más de 80 cromosomas, pero de buen pronóstico cuando son más de 50. ^{1 4 5 7 8 9 21}

La combinación de nuevos métodos como bandaje cromosómico, fluorescencia con hibridación in situ, ha permitido que se detecten anomalías en el 100% de las leucemias.¹

4 5 6

INMUNOFENOTIPO

El inmunofenotipo es una herramienta más que permite clasificar a las leucemias de una forma racional y completa, que nos ofrece un diagnóstico preciso, permite otorgar un tratamiento adecuado y específico. El inmunofenotipo es de valor pronóstico para la supervivencia del paciente, es además útil para la caracterización inmunofenotípica de las leucemias ya que permite analizar simultáneamente antígenos citoplásmicos y de membrana así como tamaño y complejidad citoplásmica celular.

En 1970 se inicia el uso de clasificación inmunológica, fundamentada en la reactividad de los blastos a un grupo de anticuerpos monoclonales (inmunoglobulinas específicas capaces de reconocer marcadores en la superficie celular linfocitaria) los linfoblastos pueden expresar en la superficie celular antígenos presentes en los progenitores normales, reconocidos por sus respectivos anticuerpos, pero no necesariamente un epítopo.

Se han descrito 78 moléculas que reciben cada una el nombre genérico de grupo de diferenciación, cluster determinant (CD) molécula producida por la reacción de un anticuerpo monoclonal contra un antígeno de leucocitos. El primer panel nos permite distinguir entre leucemia aguda linfoblástica y no linfoblástica, determinando los subtipos de acuerdo al origen de células B o T. El desarrollo de antígenos heterólogos y anticuerpos monoclonales dirigidos contra leucemia humana, indican que aproximadamente el 80% de los pacientes designados como leucemia no B, no T, tienen un antígeno común en su superficie, (CALLA ó CD 10) y ahora se refiere a ella como leucemia común.^{1 3 4 5 6}

El análisis clínico de citometría de flujo implica la interpretación de los gráficos de dispersión de dos dimensiones individuales y de análisis simultáneo de hasta ocho mediciones (dos medidas de dispersión de luz y hasta seis canales de fluorescencia o "colores") para analizadores clínicos de rutina.

A diferencia de otros métodos de inmunofenotipo, la citometría de flujo permite el análisis simultáneo de múltiples marcadores de superficie en cualquier combinación para una célula individual específica.

Básicamente, hay tres métodos diferentes para la interpretación de datos de citometría de flujo: 1.- Dos dimensiones manuales simplistas de materia con combinaciones booleanas de lecturas de citometría de flujo y la clasificación de la muestra basada en el conocimiento individual y la experiencia, 2.- la clasificación de la muestra basada en el conocimiento y la experiencia individual, clasificación de muestra utilizando un equipo basado en algoritmo de aprendizaje automático multivariantes generados por un procedimiento de codificación y sincronización bidimensional, 3.- clasificación supervisada con el apoyo máquinas de vectores y automatizado in silico-sincronización de múltiples variables de lecturas de citometría de flujo.

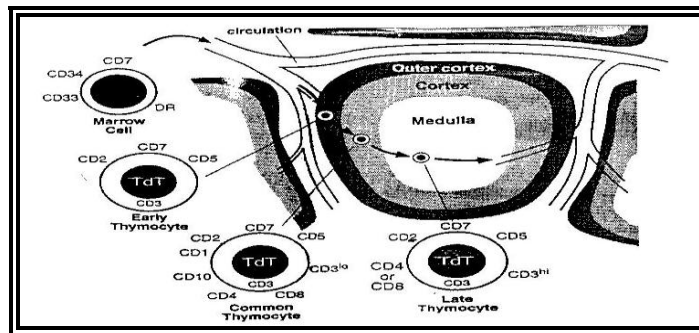
El análisis inmunofenotípico de las leucemias agudas, con uso de citometría de flujo multiparamétrica permite; reconocer la estirpe celular de las leucemias agudas y clasificarla en distintos subtipos (linfoides, mieloides, híbridas), identificar la frecuencia de las leucemias por grupos de edad, determinar que la frecuencia de la leucemia aguda linfoblástica (LLA) es más alta en la edad pediátrica y la leucemia aguda no linfoblástica (LANL) es más frecuente en la edad adulta, con excepción de los niños menores de 2 años de edad, confirma la heterogeneidad de los subtipos de LLA de los cuales el pre B en la literatura mundial es el más frecuente. ^{1 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20}

Los estudios de inmunobiología confirman que la transformación leucémica y la expansión clonal pueden ocurrir a diferentes estadios del proceso de maduración del proceso de maduración linfóide. La presencia de inmunoglobulinas en el citoplasma se asocia con el nivel de diferenciación de células leucémicas de estirpe B. los antígenos más comúnmente usados en la diferenciación celular son los siguientes:

Tabla 1. Marcadores celulares más comunes

MARCADORES LINFOIDES B	CD 10, CD 19, CD 79 ^a , CD 79 b
PRE B TEMPRANA	CD 10, CD 19, CD 24, CD 34
PRE B	CD 10, CD 19, CD 22, CD 24
PRE B TRANSICIONAL/TARDIA	Cadena pesada μ , CD 10, CD 19, CD 20, CD 22, CD 24, CD 79a
B	CD 19, CD 20, CD 21, CD 22, CD 24
MARCADORES LINFOIDES T	CD 1 ^a , CD 2, CD 3, CD 4, CD 5, CD 7, CD 8, CD 33, CD 34, TCR $\alpha\beta$, TCR $\gamma\delta$

Figura 1. Desarrollo de células T en el timo



CLASIFICACION INMUNOLOGICA DE LLA

Tabla 2. PORCENTAJE DE POSITIVIDAD DE MARCADORES

SUBTIPO INMUNOLOGICO	CD 19	CD 22	CD 79a	CD 10	CD 7	CD 5	CD 3a	clgμ	slgμ	Slgκ o λ	Subtipos más frecuentes
PRE B TEMPRANA	100	98	99	95							60- 65%
PRE B	100	100	100	98				100			20 – 25%
PRE B TRANSICIONAL	100	100	100	50				100	100		1 – 3%
B	100	100	100	50				98*	98*	98*	2 – 3%
T					100	95	100				15 – 18%

CD 45: Es una tirosin fosfatasa, que se expresa en las células nucleadas (presente en 90% de las LLA estirpe B), se relaciona con evolución favorable, hiperdiploidia.

CD 19 Y 79: CD 19 expresa en 100% de las LLA estirpe B, pero pueden expresarlo estirpes T y mieloides. CD79 en conjunción con CD19 son exclusivos de estirpe B.

CD 7 Y CD 3: CD7 glucoproteína encontrada en la superficie de los timocitos y células T maduras, puede expresarse en leucemias megacariocíticas, mieloides, monocíticas y algunas de estirpe B, su expresión en las mieloides habla de poca sobrevida. CD 3 es una glicoproteína de 5 subunidades se expresa solo en superficie de células T.

Mieloperoxidasa: marcador específico para mielocitos y monocitos. Usada en la clasificación y diagnóstico de las leucemias agudas.

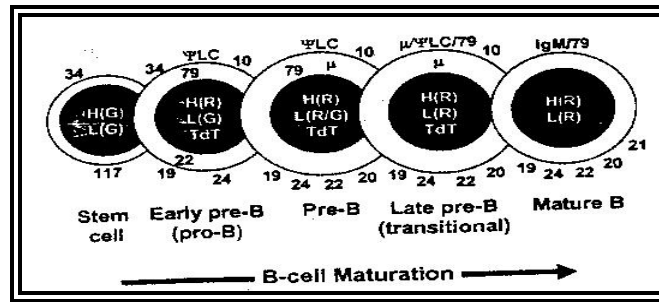
CD 117: es un producto del proto oncogén c kit, el cual pertenece a la familia de receptores de factor de crecimiento con actividad tirosin cinasa. Expresa en 85% e casos de LANL

TdT: es una DNA polimerasa nuclear implicada en la adición de nucleótidos a las regiones N de las Inmunoglobulinas (Ig) y receptores de células T (TCR). Se detecta en las formas inmaduras de las leucemias de estirpe B y T

CD 34: es una sialoglucoproteina transmembrana expresada por precursores hematopoyéticos tempranos en todas las estirpes. En el 70% de estirpe B y 30% de estirpe T.

CD 33: es una glucoproteína transmembrana que reconoce acido sialico y conserva dos inmunoreceptores inhibidores de tirosina citoplásmica, involucrados en la señalización celular

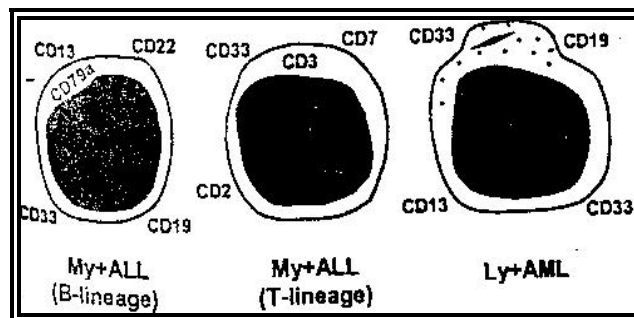
Figura 2. Esquema de estadio de maduración de las células B



Pacientes con leucemia con células precursoras B que manifiestan CD 10, tienen mejor pronóstico que las que no lo expresan. La expresión de CD34 se presenta en dos terceras partes de las leucemias con células precursoras B se asocian con mejor pronóstico.

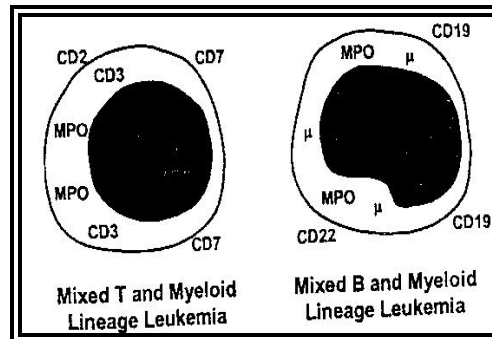
Los criterios utilizados en el St Jude Childrn's Research Hospital para definir si una leucemia es no linfoide, linfoide, miloide/linfoide y linaje mixto verdadero son; la leucemia aguda linfoblástica linaje B se diagnóstica cuando los blastos expresan inmunoglobulinas citoplásmicas ó CD 19 más CD 22 y/o CD 79^a, sin importar si expresan CD 13, CD 15, CD 33, CD 65. La leucemia aguda linfoblástica linaje T se diagnóstica cuando los blastos expresan CD 7 más CD 3 sin importar si expresan CD 13, CD 15, CD 33, CD 65. El diagnóstico de LANL se realiza cuando los blastos expresan Mieloperoxidasa (MPO) ó dos ó más antígenos asociados incluidos CD 13, CD 15, CD 33, CD 65, en ausencia de inmunoglobulina citoplásmica, CD 3 y CD 79^a.⁴

Figura 3. Diagrama de LLA linaje B y de células T con antígenos mieloides y LANL con expresión linfoide



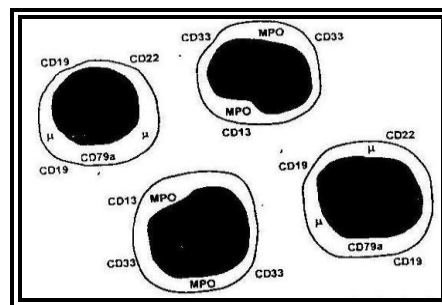
Se considera leucemia de linaje mixto cuando los blastos coexpresan MPO y CD3, MPO e inmunoglobulinas, MPO y CD 79^a.

Figura 4. Diagrama de representación de leucemia aguda de linaje mixto



Además de la asincronía de expresión de antígenos, las células leucémicas de algunos pacientes manifiestan características de más de un linaje celular. Las leucemias biclonales consisten en la presencia de dos ó más poblaciones de células morfológica e inmunofenotípicamente diferentes en el mismo paciente.

Figura 5. Diagrama de representación de Leucemia biclonal



La definición de leucemia bifenotípica (BAL) es importante para distinguir este tipo inusual de leucemia de la linfoide y la no linfoide con expresión de marcadores aberrantes de otros linajes. The European Group for Immunological Classification of Acute Leukemia (EGIL) ha propuesto un sistema de escaneo para asignar linajes celulares en leucemia aguda. Este sistema se basa en el número y grado de especificidad de antígenos expresados linfoides ó no linfoides por los blastos. BAL se diagnostica cuando el escaneo para linaje mielóide y linfoide reúne más de dos puntos. Los marcadores linfoides y mieloides que expresan en las leucemias linfoide y mielóide respectivamente pero que no es mayor de dos puntos se denomina marcador con expresión aberrante. Existe la teoría de que la célula que origina BAL es una célula madre hematopoyética temprana debido a que expresan marcadores linfoide CD 34, mieloides CD 13, CD 33, los marcadores anteriores son catalogados como un punto por cada uno para la clasificación por EGIL para la denominación de BAL.^{22 23 24 25 27}

La leucemia aguda bilineal se caracteriza por la presencia de más de una población de blastos y cada uno comprende un linaje.

Las leucemias de linaje mixto representan entre el 3 al 5% de las leucemias agudas en todas las edades y comprende diversos subtipos (bilineales, bifenotípicas y linaje indefinido), en la leucemia de linaje mixto si se expresa Mieloperoxidasa citoplásmica indica que el blasto es linaje no linfoide, si expresa CD 3 indica que el blasto es linaje linfoide, las leucemias que expresan ambos Mieloperoxidasa citoplásmica y CD 19 se denominan leucemias de linaje mixto, dependiendo de la expresión de CD 79^a, CD 10, CD 22.^{23 25 27}

Se ha reportado que un 5 a 30% de la leucemia aguda linfoblástica expresa antígenos no linfoides como, CD 11, CD 13, CD 14, CD 15, CD 33, CD 117.^{28 29}

Tabla 4. Criterios para clasificar leucemias por SJCRH (St. Jude Children's Research Hospital)¹

LEUCEMIA AGUDA LINFOBLASTICA B CON EXPRESION MIELOIDE	Blastos: CD 19, CD 79 ^a ; ó CD 3; ó MPO Blastos: expresión de ≥ 1 Antígeno (Ag) mieloide: CD 13, CD 15, CD 33, CD 36, CD 65
LEUCEMIA AGUDA MIELOIDE CON EXPRESION LINFOIDE (MPO: Mieloperoxidasa. ANB: alfa naftil butirato.)	Blastos: MPO ó ANB; ó CD 3; ó CD79a Blastos: expresión de \geq Ag linfocito: CD 2, CD 5, CD 7, CD 19, CD 22, CD 56
LEUCEMIA AGUDA LINFOBLASTICA T CON EXPRESION MIELOIDE	Blastos: CD 3 ó CD 7; ó CD 79 ^a ; ó MPO Blastos: expresión de \geq Ag mieloide: CD 13, CD 15, CD 33, CD 36, CD 65
LEUCEMIA CON LINAJE MIXTO clg μ (inmunoglobulinas citoplásmicas)	Blastos con coexpresión: MPO y CD 79 ^a ó clg μ Blastos con co expresión: MPO y CD 3 Blastos con coexpresión: CD 3 y CD 79 ^a ó clg μ

DELIMITACION DEL PROBLEMA:

La leucemia aguda linfoblástica es la neoplasia maligna más frecuente en la población pediátrica, actualmente se clasifica a la leucemia según la posibilidad de recaída, en muy alto riesgo, alto riesgo, riesgo habitual, bajo riesgo y muy bajo riesgo según criterios clínicos, citogenéticos, POR INMUNOFENOTIPO y de respuesta al tratamiento con enfermedad mínima residual, esto nos permite dar un tratamiento específico según el tipo de riesgo y disminuir morbi- mortalidad en aquellos pacientes que no requieren demasiada toxicidad, sin afectar su curación. Por esto es importante conocer la clasificación de leucemia aguda que se presenta en cada paciente, dar el tratamiento óptimo y poder explicar a familiares y paciente el pronóstico exacto de la enfermedad.

El inmunofenotipo es herramienta elemental para poder clasificar a las leucemias, dar mejor atención a los pacientes, la cual gracias al esfuerzo de las autoridades del HJM se pudo integrar al laboratorio central (citometría de flujo) a partir de febrero de 2009.

PREGUNTA DE INVESTIGACION:

¿Cuál es la prevalencia por inmunofenotipo de la leucemia aguda linfoblástica en los pacientes pediátricos hemato oncológicos del HJM?

OBJETIVO GENERAL:

Conocer la prevalencia de leucemia aguda linfoblástica en hospital Juárez de México, en los pacientes menores de 21 años de edad

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Conocer la distribución por grupo de edad y género, de la leucemia aguda linfoblástica en la población pediátrica del HJM.
- Conocer el tipo más frecuente de presentación de la leucemia aguda linfoblástica en la población pediátrica del HJM
- Conocer el inmunofenotipo más frecuente en la población pediátrica con leucemia del HJM

PLANTEAMIENTO DE LA HIPOTESIS:

Se trata de estudio meramente observacional por lo cual no requiere hipótesis

TAMAÑO DE MUESTRA:

No necesario por tratarse de estudio descriptivo y observacional

DISEÑO

Descriptivo, no experimental, retrospectivo, transversal

MATERIAL Y METODOS:

CRITERIOS DE INCLUSION:

- Niños de 0 a 21 años con 11 meses de edad
- Diagnosticados con leucemia aguda por AMO en hospital Juárez de México
- Estudio de inmunofenotipo
- Ambos géneros

CRITERIOS DE SALIDA:

CRITERIOS DE EXCLUSION:

- Personas mayores de 21 años 11 meses
- No poder realizarse estudio de inmunofenotipo
- No haber sido diagnosticados en HJM

CRITERIOS DE ELIMINACION

- No contar con diagnóstico de LLA por AMO
- No contar con estudio de inmunofenotipo

DEFINICION DE VARIABLE:

Leucemia aguda linfoblástica

Se define como una proliferación incontrolada de precursores hematopoyéticos linfoides. Es la neoplasia más frecuente en niños, representa el 25% de las neoplasias malignas en la infancia, de las cuales la leucemia linfoblástica aguda involucra el 75%.^{1 2 3 6}

Inmunofenotipo:

El estudio de inmunofenotipo por citometría de flujo nos permite es estudio especial de valor pronóstico para el tratamiento y sobrevida del paciente. Es útil para la caracterización inmunofenotípica de las leucemias ya que permite analizar simultáneamente antígenos citoplásmicos y de membrana así como tamaño y complejidad citoplásmica celular

Edad: recién nacido de cero días a 28 días, lactante menor de 29 días a 1 año 11 meses, lactante mayor de 2 años a 2 años 11 meses, preescolar de 3 años a 5 años 11 meses, escolar de 6 años a 11 años 11 meses, adolescente de 12 años a 21 años 11 meses.

Género: se tomaran en cuenta los géneros, masculino y femenino

TECNICAS:

Del inmunofenotipo por citometría de flujo

ESQUEMAS TERAPEUTICOS: no aplica

ESTUDIOS DE LABORATORIO: Ninguno

ESTUDIOS ESPECIALES: Inmunofenotipo

CONSIDERACION ETICA: no necesaria

METODOLOGIA:

Se revisaran los expedientes y libreta de citómetro de flujo de todos los pacientes pediátricos recibidos desde febrero de 2009 a febrero de 2010 en el servicio de oncopediatria del HJM

PRUEBAS ESTADISTICAS:

Se realizaran medidas de tendencia central: frecuencias y promedios a todas las variables. Se utilizara el programa Excel 2008

COSTO APROXIMADO DEL PROYECTO

No aplicable

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

INTERNA: no aplicable

EXTERNA: no aplicable

CRONOGRAMA

	ENERO	FEBRERO	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPT	OCT	NOV	DIC
ELABORACION DEL PROTOCOLO				X	X							
REGISTRO					X							
CAPTACION DE INFORMACION			X	X	X							
ANALISIS DE RESULTADOS						X						
ENTREGA DEL INFORME FINAL POR ESCRITO						X						
ENVIO A PUBLICACION	SI (X)						X					

RESULTADOS

Se estudio los pacientes pediátricos de cero a 252 meses de vida, del servicio de oncología pediátrica e inmunofenotipo, del Hospital Juárez de México en el periodo comprendido de febrero de 2009 a febrero de 2010.

Se encontró que de 124 pacientes en quienes se realizó el estudio de inmunofenotipo en el Hospital Juárez de México, en la fecha antes comprendida, 42 fueron niños con los rangos de edad antes establecidos, de ellos, 8 fueron excluidos por presentar inmunofenotipo mielóide, resultando solo 34 pacientes pediátricos a quienes se realizó el estudio de inmunofenotipo.

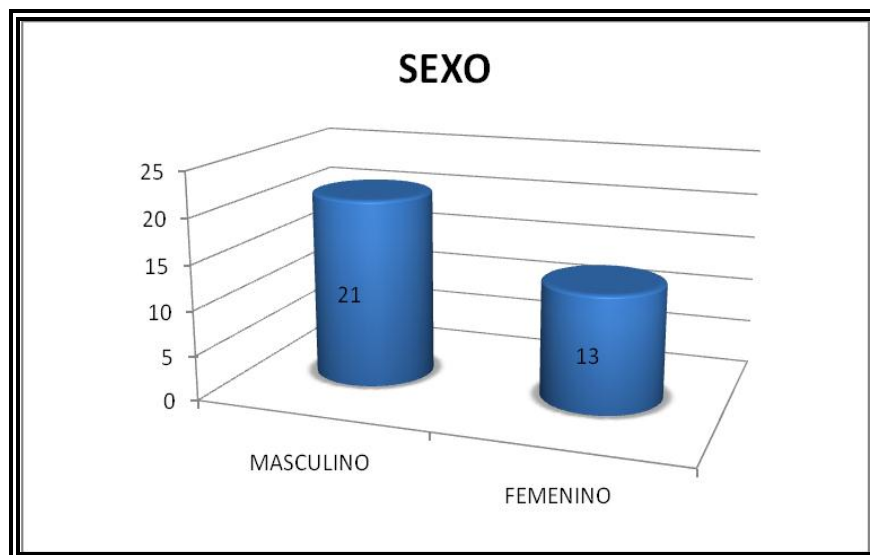
De los 34 pacientes de los cuales 13 pacientes, correspondientes al 38% fueron femeninos, 21 pacientes, correspondientes al 62% fueron masculinos.

TABLA 1. Distribución de pacientes por género

GENERO	NUMERO	PORCENTAJE
MASCULINO	21	62%
FEMENINO	13	38%

En nuestro estudio predominó el sexo masculino con 21 casos sobre el femenino con 13 casos

Grafica 1. Distribución por género

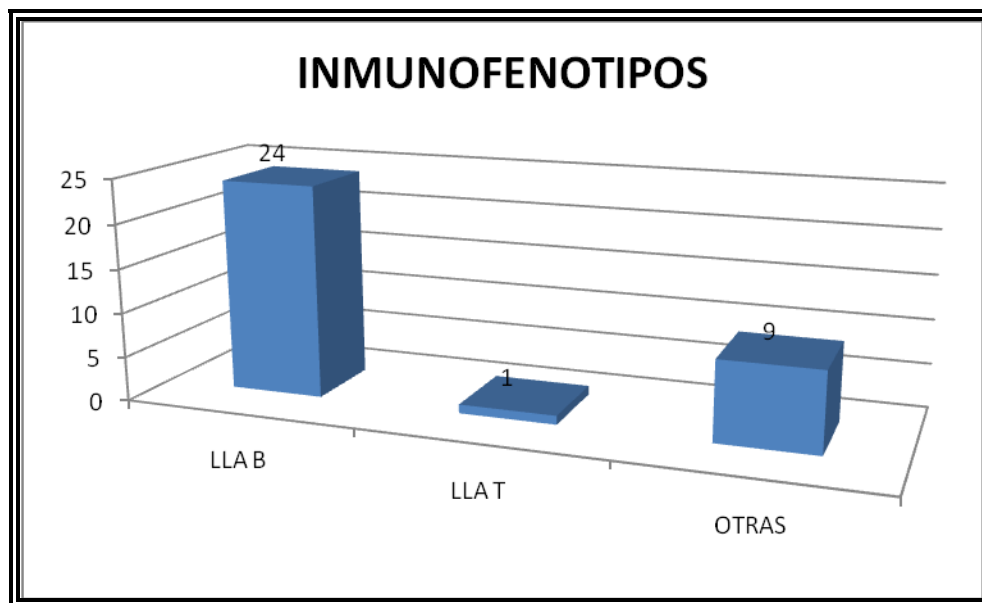


De los 34 pacientes, 24 fueron de inmunofenotipo B, correspondiente al 70.5%. De los 34 pacientes 12 presentaron inmunofenotipo Pre B temprana correspondiente al 35.2%, de los cuales 3 fueron del sexo femenino y 9 masculino, correspondientes a 25% y 75% respectivamente. 4 pacientes presentaron inmunofenotipo Pre B, correspondiente a 11.7%, de estos 2 fueron del sexo masculino y 2 femenino, correspondientes al 50% y 50% respectivamente. Inmunofenotipo B presentaron 2 pacientes, correspondiente al 5.8% de los cuales 2 pacientes (el 100%) fueron masculinos. Inmunofenotipo B transicional/tardía presentaron 6 pacientes correspondiente al 17.6%, de ellos 1 del sexo masculino y 5 del sexo femenino, correspondientes al 16.6% y 83.3% respectivamente.

De los 34 pacientes 1 paciente presentó inmunofenotipo T, correspondiente al 2.9%, y correspondió al sexo masculino.

De los 34 pacientes 9 presentaron diversos marcadores, correspondientes al 26.4%, de las cuales; se clasificaron como inmunofenotipo leucemia aguda mieloide con expresión linfocítica (LMA/L) 2 pacientes, correspondientes al 5.8%, de los cuales 2 (el 100%) fueron masculinos.

Grafica 2. Distribución por inmunofenotipo



Se encontró en nuestro estudio que el grupo predominante corresponde al inmunofenotipo B, posteriormente al encabezado como otros en donde se engloba inmunofenotipo mixto y bilineales, por último el inmunofenotipo T.

Se clasificó como inmunofenotipo leucemia aguda linfoblástica B con expresión mieloide (LLA B/M) 2 pacientes, correspondientes al 5.8%, de los cuales 2 (correspondientes al 100%) fueron masculinos.

Se clasificó como inmunofenotipo leucemia linfoblástica aguda T con expresión mieloide (LLA T/M) a 2 pacientes, correspondientes al 5.8%, de los cuales 1 (correspondiente al 50%) fue masculino y 1 (correspondiente al 50%) fue femenino.

Se clasifico como inmunofenotipo mixto a 3 pacientes, correspondientes al 8.8%, de los cuales 1 paciente (correspondiente al 33.3%) fue masculino, 2 pacientes (correspondientes al 66.6%) fueron del sexo femenino.

De los 34 pacientes 5 pacientes correspondientes al 14.7% presentaron marcador mielode aberrante, de estos; 3 pacientes se clasificaron con inmunofenotipo Pre B temprana, correspondiente al 60%, 1 paciente, correspondiente al 20% presento marcador aberrante con clasificación inmunofenotípica Pre B, 1 paciente correspondiente al 20% presento marcador aberrante con inmunofenotipo B T/T.

TABLA 2. Diagnóstico inmunofenotipico de los pacientes con diagnóstico de LLA

SUBTIPO DE LEUCEMIA	NUMERO	PORCENTAJE	MASCULINO	FEMENINO
PRE B TEMPRANA	12	35.2%	9	3
PRE B	4	11.7%	2	2
B	2	5.8%	2	0
B TARDIA/TRANSCIONAL	6	17.6%	1	5
T	1	2.9%	1	0
MIELOIDE/LINFOIDE	2	5.8%	2	0
LINFOIDE B/MIELOIDE	2	5.8%	2	0
T/M	2	5.8%	1	1
MIXTO	3	8.8%	1	2

El inmunofenotipo más frecuente fue el LLA B con 70.5%, posteriormente el de linaje mixto con 26.4%

Grafica 3. Diagnóstico por inmunofenotipo

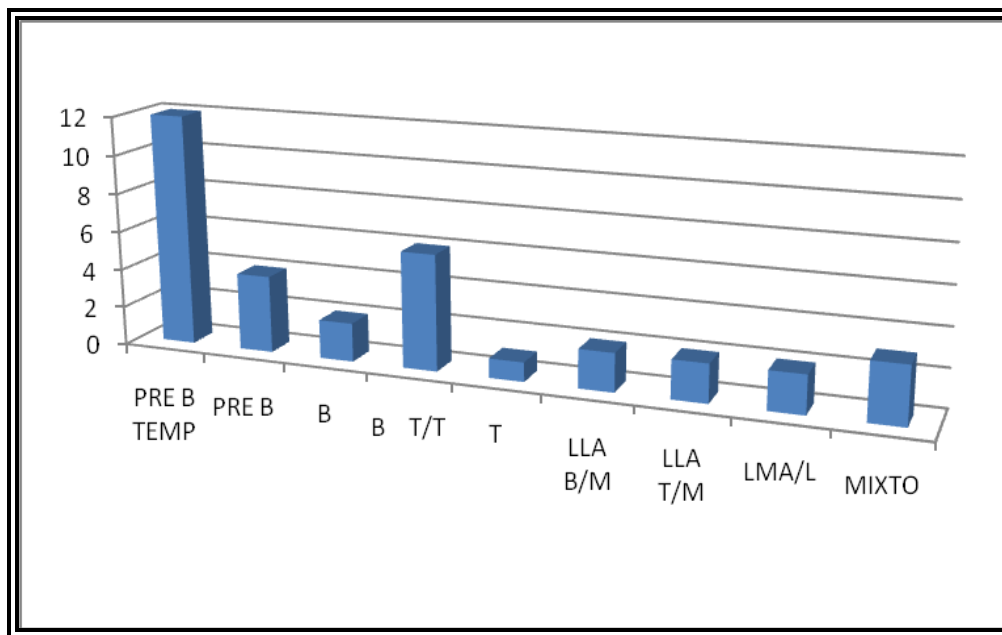
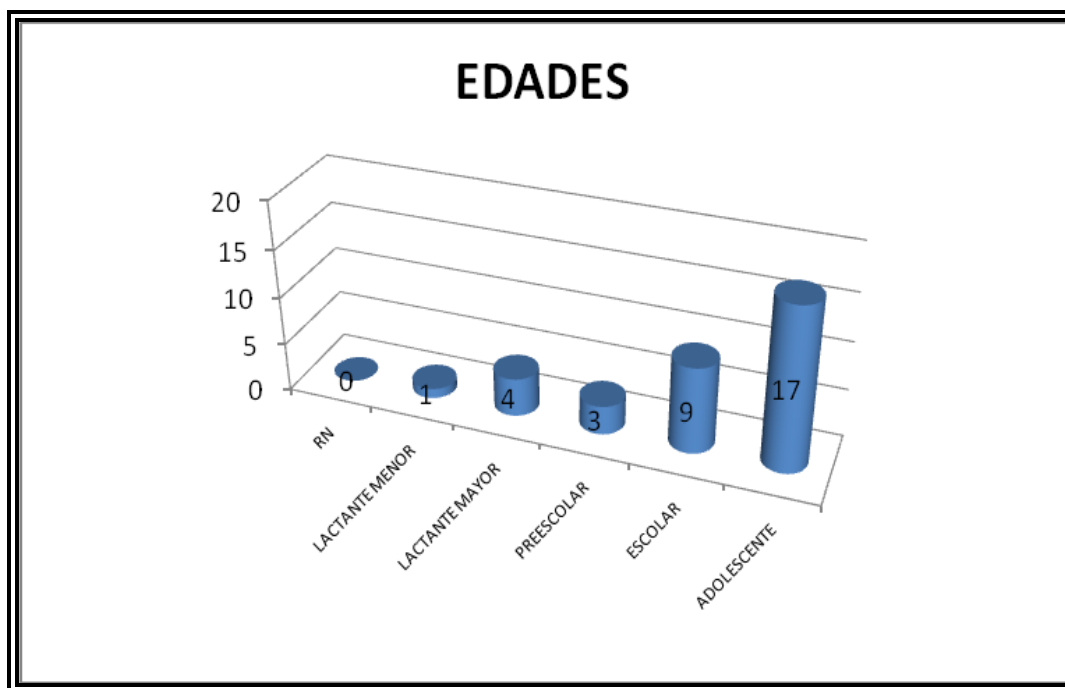


TABLA 3. Diagnóstico por grupo etario

GRUPO ETARIO	NUMERO	PORCENTAJE
RN	0	0%
LACTANTE MENOR	1	2.9%
LACTANTE MAYOR	4	11.7%
PREESCOLAR	3	8.8%
ESCOLAR	9	26.4%
ADOLESCENTE	17	50%

Se observo en nuestro estudio que el pico de incidencia es en el adolescente con 50% y un segundo pico de incidencia en el escolar con 26.4%

Grafica 4. Grupo etario



Se encontró en nuestro estudio que el grupo de edad predominante fue de la adolescencia. Contrario a lo encontrado en la literatura.

DISCUSION

Los avances tecnológicos han demostrado la importancia de realizar el estudio de inmunofenotipo (entre otros, como el estudio citogenético), con la finalidad de realizar un diagnóstico certero, proporcionar un pronóstico y tratamiento adecuados al paciente.

La identificación del inmunofenotipo es aún un proceso difícil de realizar, depende de diversos factores, entre ellos; el costo del material, el equipo necesario en nuestro país no se encuentra en todas las instituciones de salud, el personal capacitado para realizar y reportar los resultados obtenidos en dicho estudio, la calidad de la muestra, el estado del paciente, el inicio del tratamiento previo al estudio, entre otros.

Respecto al inmunofenotipo, en el estudio realizado en el departamento de Hematología, la unidad de Patología Clínica de Guadalajara, Jalisco realizado en 2006. Se estudiaron 1356 pacientes, de ellos 706 (52.1%) fueron de estirpe linfóide, de estos; 63 (8.9%) se clasificaron como B, 192 (27.2%) se clasificaron como Pre B temprana, 340 (48.2%) se clasificaron como pre B, 67 (9.5%) se clasificaron como T, 82 (6%) se clasificaron como linaje mixto, el resto correspondieron a estirpe mielóide por lo cual no se comentan.²⁶

Otro estudio realizado en el departamento de Hematología del St Jude Children's Research Hospital, se estudiaron 1118 pacientes, de los cuales 908 se clasificaron como leucemia aguda, de estos; 650 linaje B, 62 linaje T, 182 mielóide y 11 inclasificables.⁵

Otro estudio realizado en el Hospital Memorial de Mumbai, 2511 pacientes, de los cuales 21% fueron LLA en niños, 53% en adultos; 38.3% de todos los grupos etarios, 37% leucemias linfoblásticas bifenotípicas, el resto corresponde a leucemia mielóide.¹¹

En nuestro estudio se concluye que de los 124 pacientes estudiados en el periodo de tiempo comprendido en un año, solo 34 pacientes correspondiente al 27.4% fueron niños, de ellos 24 pacientes el 70.5% son linfóides de estirpe B, 1 paciente (2.9%) linfóide estirpe T, se descartaron 8 pacientes (6.4%) de los 124 pacientes, correspondientes a leucemia aguda mielóide, 9 pacientes (26.4%) con linaje mixto.

Respecto al género, la literatura establece que la leucemia aguda linfoblástica es más frecuente en el sexo masculino, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en este estudio.¹²³

Respecto al pico de incidencia de las leucemias agudas, se reporta en la literatura el primer pico de incidencia de los 2 a los 5 años, contrario con nuestro estudio en el cual el pico de incidencia se presenta en la adolescencia en un 50%, con segundo pico de incidencia en nuestra población en la edad escolar en un 26.4%, sin embargo nuestra muestra es de un año y solo se incluyeron 34 pacientes.

CONCLUSIONES

El análisis inmunofenotípico de las leucemias agudas utilizando citometría de flujo permite:

- Reconocer la estirpe celular de las leucemias agudas y subclasificarlas en (linfoides, mieloides, linaje mixto, linfocito B con expresión mielocítica, linfocito T con expresión mielocítica, linfocito/mielocítico)
- Nos permite identificar la frecuencia de las leucemias agudas linfoblásticas por grupos de edad, que en este estudio es en la adolescencia
- Determinar que la frecuencia de las leucemias agudas linfoblásticas es más alta en la edad pediátrica y de ellas la estirpe B es la de mayor prevalencia.
- Permite establecer un diagnóstico con mayor exactitud y un tratamiento y pronóstico específico.
- Establecer la presencia de marcadores aberrantes para pronóstico y tratamiento.

BIBLIOGRAFIA

1. Judith F. Margolin, C. Philip Steuber, David G. Poplack. Acute Lymphoblastic Leukemia. Principles and Practice of Pediatric Oncology. Pag 538- 580.
2. Jeanne Marie Guise, Donald Austin and Cynthia D. Morris. Review of Case Control Studies Related to Breastfeeding and Reduced Risk of Childhood Leukemia; Pediatrics 2005; 116: 724-731.
3. Jeffrey E, Rubnitz, Ching Hon Pui. Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia; The Oncologist 1997; 2: 374-380
4. Fred G. Behm and Dario Campana. Immunophenotyping: Childhood Leukemias. Ching Hon Pui. Pag 111-140
5. SC Howard, D Campana, et all. Development of a regional flow cytometry center for diagnosis of childhood leukemia in Central America: Leukemia 2005; 19: 223-225.
6. Soheil Meshinchi, Robert J. Arceci. Prognostic Factors and Risk Based Therapy in Pediatric Acute Myeloid Leukemia: The Oncologist 2007; 12: 341-355.
7. LB Silverman, KE Stevenson, et all. Long term results of Dana Farber Cancer Institute ALL Consortium protocols for children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia: Leukemia 2010; 24: 320- 334.
8. PS Gaynon, AL Angiolillo, et all. Long term result of the children's cancer group studies for childhood acute lymphoblastic leukemia: Leukemia 2010; 24: 285-297.
9. DC Liang, CP Yang, et all. Long term results of Taiwan Pediatric Oncology Group studies 1997 and 2002 for childhood acute lymphoblastic leukemia: Leukemia 2010; 24: 397- 405.
10. B. H. Davis, J. T. Holden et all. 2006 Bethesda International Consensus Recommendationson the Flow Cytometric Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia: Medical Indications: Cytometry Part B 2007; 72B: S5-S13.
11. S Gujral, Y Badrinath et all. Immunophenotypic Profile of Acute Leukemia: Critical Analysis and Insights Gained at a Tertiary Care in India: Cytometry Part B 2009; 76b: 199-205.

12. William G Finn, Kevin M. Carter et al. Analysis of Clinical Flow Cytometric Immunophenotyping Data by Clustering on Statistical Manifolds: Treating Flow Cytometry Data as High Dimensional Objects: *Cytometry Part B* 2009; 76B: 1-7.
13. Brent I, Maria Arroz, et al. 2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia by Flow Cytometry: Optimal Reagents and Reporting for the Flow Cytometric Diagnosis of Hematopoietic Neoplasia: *Cytometry Part B* 2007; 72B: s14- s22.
14. S Matarraz, A López et al. The immunophenotype of different immature, myeloid and B cell lineage committed CD34 hematopoietic cells allows discrimination between normal/reactive and myelodysplastic syndrome precursors: *Leukemia* 2008; 22: 1175-1183.
15. K Nguyen, M Devidas et al. Factors influencing survival after relapse from acute lymphoblastic leukemia: a children's Oncology Group study: *Leukemia* 2008; 22: 2142-2150.
16. Bruce Greig, Teri Oldaker et al. 2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia by Flow Cytometry: Recommendations for Training and Education to Perform Clinical Flow Cytometry: *Cytometry Part B* 2007; 72B: S23- S33.
17. Alberto Orfao, Francisco Ortuño et al. Immunophenotyping of Acute Leukemias and Myelodysplastic Syndromes: *Cytometry Part A* 2001; 58A: 62-71.
18. R Ratei, L Karawajew et al. Discriminant function analysis as decision support system for the diagnosis of acute leukemia with a minimal four color screening panel and multiparameter flow cytometry immunophenotyping: *Leukemia* 2007; 21: 1204-1211.
19. K Nguyen, M Devidas et al. Factors influencing survival after relapse from acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group study: *Leukemia* 2008; 22: 2142-2150.
20. Francesco Ceppi, Angela Brown et al. Cytogenetic Characterization of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in Nicaragua: *Pediatric Blood Cancer* 2009; 53: 1238-1241.
21. Saskia Mostert, Mei N. Influence of Socioeconomic Status on Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Treatment in Indonesia: *Pediatrics* 2006; 118: 1600-1606.
22. TM Owaidah, A Al Beihany, MA Iqbal, et al. Cytogenetics, molecular and ultrastructural characteristics of biphenotypic acute leukemia identified by the EGIL scoring system. *Leukemia* (2006) 20, 620-626

23. Jeffrey E. Rubnitz, Mihaela Onciu, et al. Acute mixed lineage leukemia in children: the experience of St Jude Children's Research Hospital. *BLOOD*, (2009) 113, No 21: 5083-5089
24. EG Weir, M Ali Ansari-Lari, et al. Acute bilineal leukemia: a rare disease with poor outcome. *Leukemia* (2007) 21, 2264–2270
25. W van den Ancker, M Terwijn et al. Acute leukemias of ambiguous lineage: diagnostic consequences of the WHO2008 classification. *Leukemia* (2010) 24, 1392–1396
26. Elias Pérez, Luis A Santoscoy. Inmunofenotipo leucémico. *Revista Mexicana de Patología Clínica* (2006) 53, No 1: 69-70
27. James W. Vardiman, Juergen Thiele et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukaemia: rationale and important changes. *BLOOD* (2009) 114, No 5: 937 – 951
28. K Akahane, T Inukai et al. Specific induction of CD 33 expression by E2A-HLF: the first evidence for aberrant myeloid antigen expression in ALL by fusion transcription factor. *Leukemia* (2010) 24: 865-869.
29. Correlation of CD 33 with poorer prognosis in childhood ALL implicates a potential of anti CD 33 frontline therapy. *Leukemia* (2005) 19, 1092-1094. Doi:10