



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“DETERMINACIÓN DE CITOCINAS PROINFLAMATORIAS EN
PACIENTES CON LEUCEMIAS AGUDAS QUE PRESENTAN
NEUTROPENIA Y FIEBRE”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIATURA EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

PRESENTA:

BETZABETH VELÁZQUEZ GONZÁLEZ

ASESORA:

DRA. BRICEIDA LÓPEZ MARTÍNEZ

CO-ASESORA:

QFB LAURA GRICELDA MARTÍNEZ MÉNDEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2016



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
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.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Determinación de citocinas proinflamatorias en pacientes con leucemias agudas que presentan neutropenia y fiebre.

Que presenta la pasante: **Betzabeth Velázquez González**
Con número de cuenta: **308208869** para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 16 de Febrero de 2016.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Idalia Carmen Avila Miyazawa	
VOCAL	Dra. Susana Elisa Mendoza Elvira	
SECRETARIO	Q.F.B. Laura Gricelda Martínez Méndez	
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Amparo Ramos Aguilar	
2do. SUPLENTE	M en C. Erik González Ballesteros	

NOTA: los sindocales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo a todos los niños del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Gracias por mostrarme que la fortaleza, voluntad y amor de una persona pueden ser infinitos.

A mis padres, por brindarme siempre su apoyo incondicional, por darme el mejor hogar que es posible tener y por luchar siempre contra cualquier adversidad buscando mi bienestar y felicidad. Muchas gracias por permitirme disfrutar de una de las mejores experiencias de la vida y regalarme la mejor herencia que se le puede dar a un hijo. Los amo para siempre.

A mi hermano, por estar siempre a mi lado en los momentos más difíciles y en los más bellos, por ser mi amigo y confidente de toda la vida y mi más grande inspiración para seguir siempre adelante.

AGRADECIMIENTOS

Al Hospital Infantil de México Federico Gómez, por abrirme sus puertas para realizar este trabajo y permitirme dar los primeros pasos en la ejecución de mi profesión. Especialmente muchas gracias a los químicos del Laboratorio Clínico, por todas las enseñanzas transmitidas durante mi estancia, por todos sus consejos y los buenos momentos.

A la Dra. Briceida López Martínez, por darme su confianza para realizar este proyecto, por brindarme los recursos necesarios y por todas las enseñanzas brindadas.

A mi co-asesora, QFB Laura Gricelda Martínez Méndez, por su paciencia, sus consejos y valiosa guía tanto en este trabajo como en mi estancia en el Hospital.

Al Jefe del Laboratorio Clínico del Hospital Infantil de México, Israel Parra Ortega, por abrirme las puertas del laboratorio y permitirme llevar a cabo este proyecto. Así mismo, agradezco al MC Armando Vilchis Ordóñez, por su colaboración y asesoría en el presente estudio.

Un profundo agradecimiento a mis profesores de la FES-Cuautitlán, porque a lo largo de cuatro años me han brindado conocimientos, experiencias y me han formado como profesionista. Muchas gracias por la paciencia, interés, entusiasmo y responsabilidad que han mostrado y además por darme las herramientas básicas para lograr mi pleno desarrollo profesional.

A mis amigos, porque la facultad no hubiera sido lo mismo sin ustedes, gracias por todas las experiencias compartidas, porque juntos aprendimos, reímos, lloramos, nos caímos y nos volvimos a levantar. Gracias por enseñarme el valor tan grande que tiene la amistad, por mostrarme que a pesar de cualquier obstáculo siempre habrá un amigo dándote aliento para seguir adelante y que de un día para otro alguien que fue un desconocido alguna vez ahora forma parte tu familia y de toda tu vida.

Gracias Daniel por ser la persona grandiosa que eres y por ser uno de mis más grandes apoyos en esta etapa.

Finalmente quiero agradecer de la manera más profunda a la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por darme la oportunidad de adquirir mi formación profesional dentro de sus instalaciones, por dejarme algunas de las enseñanzas más valiosas de toda mi vida y por permitirme disfrutar de la maravillosa experiencia de ser orgullosamente universitario.

INFINITAS GRACIAS

ÍNDICE

I. ABREVIATURAS.....	<i>i</i>
II. ÍNDICE DE TABLAS	<i>iii</i>
III. ÍNDICE DE FIGURAS.....	<i>iii</i>
IV. RESUMEN.....	<i>iv</i>
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	1
2.1 HEMATOPOYESIS	3
2.2 LEUCEMIA.....	7
2.3 LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA	16
2.4 LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA	20
2.5 NEUTROPENIA Y FIEBRE	27
2.6 SEPSIS.....	29
2.7 CITOCINAS PROINFLAMATORIAS	30
2.8 METODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CITOCINAS	36
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	37
4. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO	38
5. OBJETIVOS.....	38
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
7. RESULTADOS	44
8. DISCUSIÓN.....	48
9. CONCLUSIONES.....	54
10. PERSPECTIVAS	55
11. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	55
12. ETICA Y BIOSEGURIDAD	55
13. Referencias	56

I. ABREVIATURAS

μl microlitro

AMM Asociación Médica Mundial

BFU-E Unidades Formadoras de Brotes Eritroides

UFC-E Unidades Formadoras de Colonias Eritroides

UFC-G Unidades Formadoras de Colonias Granulocíticas

UFC-GM Unidades Formadoras de Colonias Granulomonocíticas

UFC-M Unidades Formadoras de Colonias Monocíticas

CID Coagulación Intravascular Diseminada

CLP Célula Progenitora Linfoide Común

CMP Célula Progenitora Mieloide Común

CMH Complejo Mayor de Histocompatibilidad

CSF-GM Factor Estimulante de Colonias Granulomonocíticas

EIT Electroinmunotransferencia

ELISA Ensayo Inmunoenzimático

ELM Ensayo Luminométrico Múltiple

EMR Enfermedad Mínima Residual

FAB grupo Franco-Americano-Británico

FISH Hibridación In Situ Fluorescente

HLA-DR Antígenos Leucocitarios Humanos DR

HMGB1 Proteína del grupo 1 de alta movilidad

CMH Célula Madre Hematopoyética

IFI Inmunofluorescencia Indirecta

IL Interleucina

inv inversión

LA leucemia aguda

LLA Leucemia Linfoblástica Aguda

LMA Leucemia Mieloblástica Aguda

LPS Lipopolisacárido

Meg-BFC Células Formadoras de Brotes Megacariocíticos

Meg-CFC Células Formadoras de Colonias de Megacariocitos

MIF Factor Inhibidor de Migración

MPO Mieloperoxidasa

ml mililitro

mm³ milímetro cúbico

MO Médula Ósea

SP Sustancia P

NALIA Nanoensayo Luminométrico Múltiple

t () traslocación

NF Neutropenia Febril

TGF-β Factor de Crecimiento Tumoral Beta

NK Natural Killer

TLR Receptores tipo Toll

nm nanómetro

TNF-α Factor de Necrosis Tumoral Alfa

OMS Organización Mundial de la Salud

VIH Virus de la Inmunodeficiencia Humana

PAMP Patrones Moleculares Asociados a Patógenos

PCR Reacción en Cadena de la Polimerasa

PE Ficoeritrina

PEM Progenitores Eritroides-Megacariocíticos

PFA Proteínas de Fase Aguda

pg picogramo

PGM Progenitores Granulo-Monocíticos

PMC Progenitores Mieloides Comunes

PMN Polimorfonucleares

PRR Receptores de Reconocimiento de Patrones

RAN Recuento Absoluto de Neutrófilos

RC Remisión Completa

RCNA Registro Nacional de Cáncer en Niños y Adolescentes

SMD Síndromes Mielodisplásicos

II. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Secuencia de maduración de las líneas celulares en la médula ósea.</i>	4
Tabla 2. <i>Características generales de las Leucemias Agudas y Crónicas.</i>	7
Tabla 3. <i>Principales factores que intervienen en la etiología de las Leucemias.</i>	8
Tabla 4. <i>Alteraciones genéticas en la Leucemia Aguda.</i>	10
Tabla 5. <i>Anomalías cromosómicas y mutaciones puntuales.</i>	10
Tabla 6. <i>Características clínicas de la Leucemia Aguda.</i>	12
Tabla 7. <i>Clasificación FAB de la LLA.</i>	18
Tabla 8. <i>Clasificación inmunológica de la LLA.</i>	19
Tabla 9. <i>Principales anomalías citogenéticas de la LLA.</i>	20
Tabla 10. <i>Factores predisponentes para el desarrollo de Leucemia Mieloblástica Aguda.</i>	22
Tabla 11. <i>Clasificación FAB de la Leucemia Mieloblástica Aguda.</i>	23
Tabla 12. <i>Clasificación de la LMA según la OMS.</i>	26
Tabla 13. <i>Bacterias más comunes en neutropenia febril.</i>	28
Tabla 14. <i>Criterios de inclusión y exclusión.</i>	40
Tabla 15. <i>Preparación de Estándar de Citocinas Humanas.</i>	42
Tabla 16. <i>Concentración de citocinas.</i>	45

III. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Hematopoyesis normal.</i>	6
Figura 2. <i>Blastos en Leucemia Aguda.</i>	14
Figura 3. <i>Leucemia Linfoblástica Aguda: Tasa de incidencia por edad.</i>	17
Figura 4. <i>Clasificación citológica de las leucemias linfoblásticas agudas.</i>	19
Figura 5. <i>Ensayo Luminométrico Múltiple con perlas magnéticas.</i>	37
Figura 6. <i>Preparación del Estándar de Citocinas Humanas.</i>	43
Figura 7. <i>Tipos de Leucemia en los pacientes del grupo I.</i>	44
Figura 8. <i>Concentración sérica de TNF-α por tipo de Leucemia (grupo I) y de pacientes con diagnóstico nuevo (grupo II).</i>	46
Figura 9. <i>Concentración sérica de IL-1 beta por tipo de Leucemia (grupo I) y de pacientes con diagnóstico nuevo (grupo II).</i>	46
Figura 10. <i>Concentración sérica de IL-6 por tipo de Leucemia (grupo I) y de pacientes con diagnóstico nuevo (grupo II).</i>	47
Figura 11. <i>Concentración sérica de IL-8 por tipo de Leucemia (grupo I) y de pacientes con diagnóstico nuevo (grupo II).</i>	47
Figura 12. <i>Conteo de neutrófilos por tipo de leucemia</i>	48

IV. RESUMEN

Las leucemias agudas constituyen las neoplasias más frecuentes en la edad pediátrica, en México se estima que ocurren 49.5 casos nuevos por millón de habitantes al año.

Existen diversas complicaciones que son comunes en pacientes con enfermedades oncohematológicas. La presencia de fiebre asociada a un conteo de neutrófilos bajos constituye una urgencia infectológica, dado que las complicaciones infecciosas en este tipo de pacientes representan una importante morbilidad y mortalidad. Es por esto que resulta de gran interés disponer de marcadores de fácil aplicación en la práctica clínica habitual, que sean capaces de discriminar el origen del episodio febril así como su gravedad.

En los últimos años, algunos parámetros de origen biológico, denominados biomarcadores, se han asociado con la respuesta del huésped ante la invasión de algún microorganismo y han sido estudiados como una opción para diagnosticar sepsis.

En el presente estudio se determinaron los niveles séricos de diferentes citocinas proinflamatorias como son IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α , a través de un ensayo luminométrico múltiple. Se incluyeron dos grupos de pacientes. El grupo I consistió de pacientes pediátricos de entre 2 - 18 años con diagnóstico confirmado de Leucemia Aguda Mieloblástica o Linfoblástica con Neutropenia y Fiebre. El segundo grupo estuvo conformado por pacientes pediátricos con diagnóstico reciente de Leucemia Aguda, que además no presentaron neutropenia ni fiebre, su edad abarcó de los 2 a los 13 años.

Los resultados obtenidos a través de la determinación sérica de citocinas por ELM, nos indican que los pacientes que presentaron concentraciones significativamente mayores de IL-6 e IL-8 fueron aquellos con Leucemia Aguda y Neutropenia Febril. Los niveles más elevados de TNF- α fueron encontrados en los pacientes con diagnóstico reciente de leucemia y no en aquellos con neutropenia y fiebre. En el caso de IL-1 β no se encontró diferencia significativa en los niveles de esta interleucina entre los dos grupos estudiados.

Por lo tanto, de acuerdo a nuestros resultados la IL-6 e IL-8 son las citocinas más sensibles para indicar procesos de neutropenia febril de origen infeccioso.

1. INTRODUCCIÓN

El cuerpo humano está compuesto por millones de células vivas. Las células normales del cuerpo crecen, se dividen en nuevas células y mueren de manera ordenada. Durante los primeros años de vida de una persona, las células normales se dividen más rápidamente para permitir el crecimiento. Una vez que se llega a la edad adulta, la mayoría de las células sólo se dividen para reemplazar las células desgastadas o las que están muriendo y para reparar lesiones.

Se ha observado que alteraciones en el control de ciclo celular y otras mutaciones somáticas son eventos comunes que se presentan en las células cancerosas, las cuales se caracterizan por tener un crecimiento y proliferación descontrolados. La leucemia es un tipo de cáncer que afecta al tejido hematopoyético y que es un problema de salud pública de gran importancia por tener una alta prevalencia en la población pediátrica.

Debido a la susceptibilidad de este grupo etario para presentar dicho cáncer, es muy importante tomar en cuenta todas las complicaciones que los pacientes que padecen esta enfermedad puedan sufrir por la patogénesis de la misma o debido al tratamiento que requieren para combatirla.

En el cuerpo existen diversas moléculas que responden a diferentes estímulos, ya sea incrementando o bajando sus niveles normales en la circulación. De esta forma muchos de estos “biomarcadores” pueden ser empleados en la práctica clínica como indicadores de un proceso anormal en el organismo, lo cual puede resultar de gran utilidad tanto para prevenir complicaciones innecesarias en los pacientes, así como para seguir el tratamiento más adecuado.

2. MARCO TEÓRICO

El término cáncer se designa a un amplio grupo de enfermedades que pueden afectar cualquier parte del organismo; también se habla de “tumores malignos” o “neoplasias malignas”. Una característica del cáncer es la proliferación y acumulación descontrolada de células anormales que se extienden más allá de sus límites habituales y pueden invadir partes adyacentes del cuerpo o propagarse a otros órganos, proceso conocido como metástasis, las cuales son la principal causa de muerte por cáncer (Organización Mundial de la Salud, 2015).

El cáncer se origina en una célula, la transformación de dicha célula normal en tumoral es un proceso multifásico y suele consistir en la progresión de una lesión precancerosa a un tumor maligno. Muchos cánceres forman tumores sólidos, los cuales son masas de tejido. Los cánceres de la sangre, como las leucemias, en general no forman tumores sólidos. Estas alteraciones son el resultado de la interacción entre los factores genéticos del paciente y tres categorías de agentes externos, a saber:

1. Carcinógenos físicos, como las radiaciones ultravioleta e ionizantes.
2. Carcinógenos químicos, como los asbestos, los componentes del humo de tabaco, las aflatoxinas (contaminantes de los alimentos) o el arsénico (contaminante del agua de bebida).
3. Carcinógenos biológicos, como las infecciones causadas por determinados virus, bacterias o parásitos.

(Organización Mundial de la Salud, 2015)

El cáncer infantil constituye un problema de salud para las sociedades modernas. Probablemente, la urbanización, los cambiantes estilos de vida y los avances tecnológicos han acelerado su génesis y al mismo tiempo han facilitado su reconocimiento (Manuell, *et al*, 2012).

Los tipos de cáncer que afectan a los niños son a menudo distintos de los que afectan a los adultos. Frecuentemente, los cánceres en niños son el resultado de cambios genéticos dentro de las células que ocurren temprano en la vida, algunas veces incluso antes del nacimiento (American Cancer Society, 2015).

De acuerdo con el Registro Nacional de Cáncer en Niños y Adolescentes (RCNA), cada año se diagnostican más de 160,000 menores de 20 años con cáncer, en países desarrollados en donde tres de cada cuatro niños sobreviven al menos cinco años después de iniciar su tratamiento, a diferencia de los países en vías de desarrollo en los cuales más de la mitad (60%) mueren. Las leucemias constituyen el tipo de cáncer más frecuente dentro de este grupo etario, agrupando el 30 % de los casos (SINAVE, 2011).

La leucemia es una enfermedad maligna que afecta al tejido hematopoyético. Para comprender de una mejor manera la etiología de la Leucemia, revisaremos el proceso normal de hematopoyesis, por el cual se originan todas las células de la sangre.

2.1 HEMATOPOYESIS

La sangre de los mamíferos, entre ellos el ser humano, contiene diferentes tipos de células que resultan esenciales para garantizar la supervivencia en un medio adverso. El proceso a través del cual se generan las células de la sangre se denomina hematopoyesis y ocurre bajo condiciones muy específicas en el interior de los huesos, en la médula ósea (Figura 1). La progresión ordenada de la ontogenia de estas distintas células de la médula ósea se encuentra bajo el control de una considerable variedad de factores celulares y humorales, los cuales deben responder con rapidez a las demandas de la homeostasia en el organismo (Jaime & Gómez, 2012) (Mayani *et al.*, 2007).

Las células de la sangre se dividen en dos grandes grupos: mieloides y linfoides. Las primeras comprenden a los granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos), monocitos, eritrocitos y trombocitos, mientras que las segundas comprenden a los linfocitos B, linfocitos T y células NK. Las células mieloides son producidas a través de un proceso conocido como mielopoyesis, mientras que las linfoides son resultado de la linfopoyesis (Mayani *et al.*, 2007).

La mielopoyesis tiene origen dentro de la médula ósea, sitio en donde las células troncales hematopoyéticas dan lugar a los progenitores mieloides comunes (PMC). Los PMC son células con una alta capacidad proliferativa (y por lo tanto activas en el ciclo celular), pero incapaces de auto-renovarse y cuyo potencial de diferenciación está restringido a linajes específicos. Los PMC subsecuentemente se pueden diferenciar en progenitores más específicos, tales como los progenitores granulo-monocíticos (PGM), y los progenitores eritroides-megacariocíticos (PEM) (Mayani *et al.*, 2007).

Los progenitores eritroides más primitivos son denominados unidades formadoras de brotes eritroides (BFU-E), mientras que los progenitores eritroides más maduros se denominan unidades formadoras de colonias eritroides (CFU-E). Estos progenitores dan lugar a precursores eritroides, dentro de los que se incluyen proeritroblastos, eritroblastos basófilos, eritroblastos policromatófilos, eritroblastos ortocromáticos, y reticulocitos; estos últimos, a su vez, dan origen a los eritrocitos (Mayani *et al.*, 2007).

En relación a los progenitores megacariocíticos, los progenitores más tempranos son definidos como células formadoras de brotes megacariocíticos (meg-BFC). Estos meg-BFC dan lugar a células formadoras de colonias de megacariocitos (meg-CFC) que representan a los progenitores tardíos.

Las meg-CFC a lo largo de 5 a 7 días, tienen diversas endomitosis (replicación del ADN sin división nuclear), que conducen a la formación de precursores poliploides denominados megacariocitos inmaduros, quienes una vez que desarrollan un citoplasma maduro dan lugar a megacariocitos maduros, que eventualmente darán lugar a las plaquetas (Mayani *et al.*, 2007).

Los progenitores mieloides por su parte incluyen unidades formadoras de colonias granulomonocíticas (UFC-GM), que a su vez dan origen a unidades formadoras de colonias granulocíticas (UFC-G) y unidades formadoras de colonias monocíticas (UFC-M). Una vez encaminadas en la vía de diferenciación, las UFC-G dan lugar a mieloblastos, promielocitos, mielocitos, metamielocitos y células maduras (eosinófilos, neutrófilos y basófilos). Mientras que las UFC-M dan lugar a monoblastos, promonocitos, monocitos, y finalmente macrófagos (Tabla 1) (Mayani *et al.*, 2007).

La producción de las células del linaje linfóide (linfocitos B, linfocitos T, células NK y algunas categorías de células dendríticas) es un proceso dinámico y complejo, el cual está determinado por combinaciones de factores intrínsecos y microambientales que guían la diferenciación de progenitores linfoides a partir de las células troncales hematopoyéticas (Mayani *et al.*, 2007).

Tabla 1. Secuencia de maduración de las líneas celulares en la médula ósea.	
Línea eritroide	
Proeritroblasto → Eritroblato basófilo → Eritroblasto policromático → Eritroblasto ortocromático → Reticulocito → Eritrocito	
Línea granulocítica	
Mieloblasto → Promielocito → Mielocito → Metamielocito → Banda → Segmentado Neutrófilo, Eosinófilo y Basófilo	
Línea linfóide	
Linfoblasto → Prolinfocito B, T, NK → Linfocito B, T, NK	
Línea monocítica	
Monoblasto → Promonocito → Monocito	
Línea megacariocítica	
Megacarioblasto → Promegacariocito → Megacariocito granular → Megacariocito maduro → Plaquetas	

(Jaime & Gómez, 2012)

En la médula ósea normal se encuentran todas las células de la sangre, maduras e inmaduras. En la sangre periférica se identifican casi siempre células maduras y, en determinadas circunstancias, que pueden ser fisiológicas o patológicas, se observan células inmaduras. Al ocurrir alteraciones en algunos de los compartimientos celulares del sistema hematopoyético, sobre todo en los más primitivos, la producción de células sanguíneas puede verse modificada, de manera que los niveles de células circulantes sean abatidos drásticamente o incrementados muy por encima de lo normal; cualquiera de éstas condiciones puede conducir a estados fisiológicos muy delicados, e incluso, a la muerte del individuo. Enfermedades como la anemia aplásica, las leucemias mieloides y linfoides y los síndromes mielodisplásicos se originan a partir de alteraciones en células troncales y progenitoras hematopoyéticas (Jaime & Gómez, 2012).

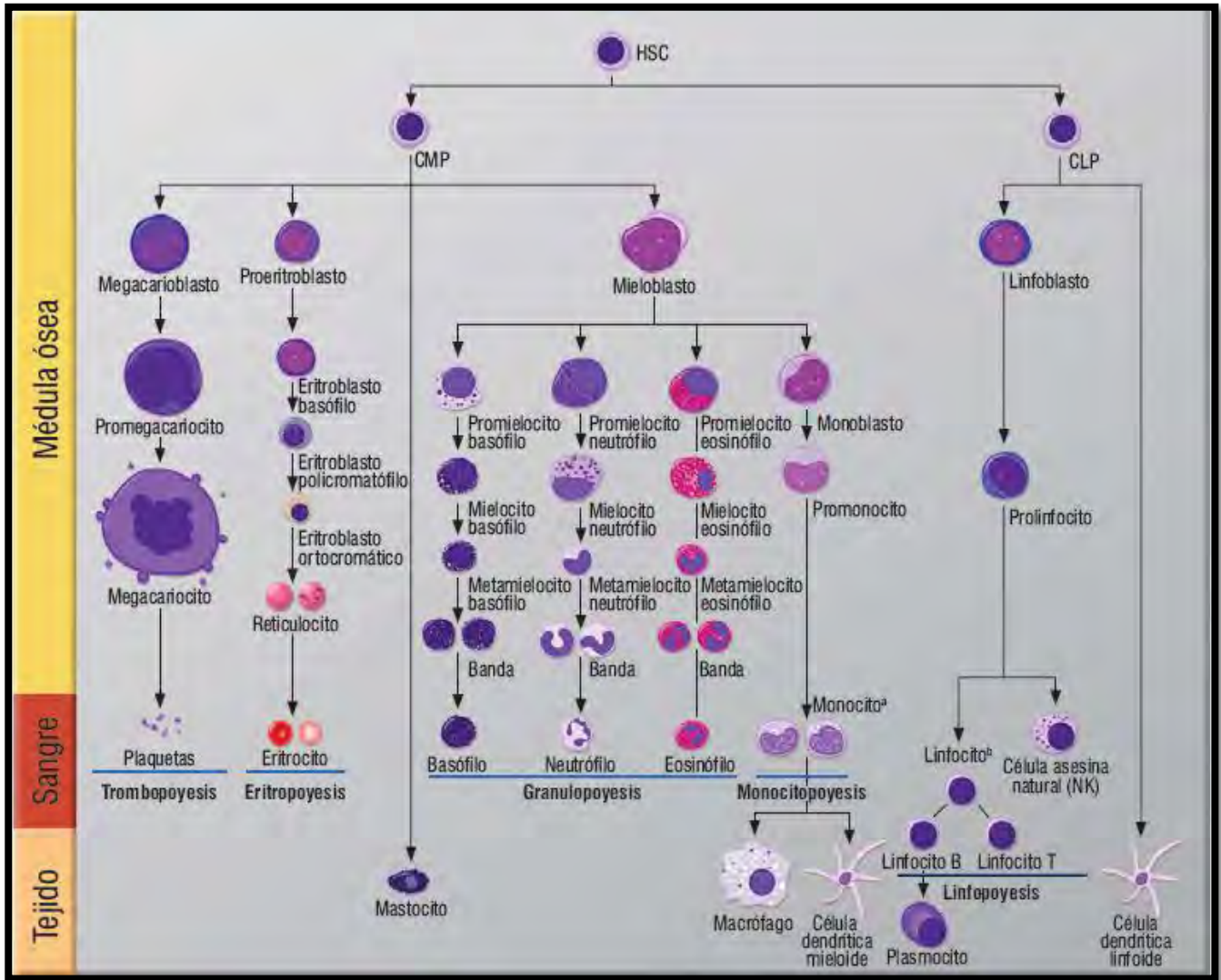


Figura 1. Hematopoyesis normal. Hematopoyesis en los diferentes compartimentos: médula ósea, sangre periférica y tejido hematopoyético. CMH: célula madre hematopoyética; CMP: célula progenitora mielóide común; CLP: célula progenitora linfóide común. (Campuzano, 2008)

2.2 LEUCEMIA

Las leucemias son un grupo heterogéneo de enfermedades que se distinguen por infiltración de la médula ósea, sangre y otros tejidos, por células neoplásicas del sistema hematopoyético. Son enfermedades neoplásicas que se deben a una mutación somática de la célula progenitora, según su estirpe celular afectada, ya sea la línea mieloide o la linfoide, su evolución varía desde las que conducen rápidamente a la muerte hasta las que evolucionan con lentitud, y se les conoce como agudas o crónicas, respectivamente (Ortega *et al.*, 2007). En la tabla siguiente se mencionan las características principales de cada una.

Tabla 2. Características generales de las Leucemias Agudas y Crónicas.	
LEUCEMIA AGUDA	LEUCEMIA CRÓNICA
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Proliferación maligna de células inmaduras. ✓ Evolución más rápida. ✓ Neoplasia infantil más frecuente. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Proliferación maligna de tipos celulares más diferenciados. ✓ Son de curso indolente. ✓ Más comunes en adultos que en niños.

Las células anormales se multiplican en imagen y semejanza de ellas mismas, por lo que ocupan paulatinamente el espacio de la médula ósea normal y provocan anemia progresiva, sangrado anormal y predisposición a las infecciones. Cuando las células anormales invaden otros tejidos, se producirá falla del funcionamiento del órgano que se ocupa (Hurtado *et al.*, 2012).

La etiología de las leucemias es poco conocida, y en la mayoría de los casos no se identifica ningún factor hereditario ni ambiental. Sin embargo, los estudios moleculares están develando una serie de alteraciones genéticas y epigenéticas que cooperan entre sí para producir la transformación neoplásica (Sánchez *et al.*, 2012).

En la etiología de las leucemias intervienen dos factores principales, los cuales se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Principales factores que intervienen en la etiología de las Leucemias.

FACTORES GENÉTICOS PREDISPONENTES	FACTORES AMBIENTALES ADQUIRIDOS
<p>1. Síndromes congénitos con alteraciones genéticas. Síndrome de Down (LLA).</p> <p>*Síndrome de Noonan y Síndrome de Li-Fraumeni (mutación del gen TP53).</p> <p>*Síndrome de Fanconi y Schwachman-Diamond, Disqueratosis congénita, Ataxia-telangiectasia o enfermedad de Kostmann (síndromes de fragilidad cromosómica con fallo medular).</p> <p>2. Función inmune aberrante. En pacientes con inmunodeficiencias congénitas (síndrome de Wiskott-Aldrich, inmunodeficiencia asociada al cromosoma X) y adquiridas, como en el sida o tras los tratamientos inmunosupresores prolongados.</p>	<p>1. Agentes infecciosos Como el virus HTLV-1 asociado al linfoma/leucemia T.</p> <p>2. Fármacos Agentes quimioterápicos: inhibidores de la topoisomerasa II (epipodofilotoxinas), causan LMA con anomalías del gen MLL (11q23). Agentes alquilantes: busulfán, melfalán, clorambucilo, provocan LAM con anomalías de los cromosomas 5 y 7.</p> <p>3. Agentes químicos-físicos Benceno y sus derivados. Radiaciones ionizantes. Exposición a radiación nuclear.</p> <p>4. Hemopatías clonales Previas o adquiridas, en el curso de su evolución pueden transformarse en leucemia aguda.</p>

(Sánchez *et al.*, 2012).

Las leucemias agudas (LA) son el resultado de una mutación somática en una única célula troncal, que desencadena una proliferación clonal de células leucémicas inmaduras. La célula en la que se produce la transformación leucémica es un precursor que pierde la capacidad de seguir su proceso normal de maduración (Merino, 2010).

Las alteraciones genéticas que acompañan a la transformación leucémica de una célula suelen ser alteraciones cromosómicas adquiridas. En las LA las células blásticas proliferan en la médula ósea y reemplazan a la celularidad normal de la misma, lo que provoca una disminución de las 3 series

hematopoyéticas en sangre periférica (anemia, neutropenia y trombocitopenia). En consecuencia, las LA suelen acompañarse de infección y/o hemorragia. La proliferación de blastos en otros órganos se traduce en la presencia de hepatomegalia y/o esplenomegalia o adenopatías (Merino, 2010).

Las LA suponen el 10% de todos los cánceres, con una incidencia aproximada de 2-3 casos/100.000 habitantes/año. La LA es la neoplasia infantil más frecuente (30%), aunque la mayoría se diagnostica en la edad adulta. Según la estirpe de la línea celular proliferante, se consideran dos grandes tipos de LA, las linfoides o linfoblásticas (LLA), y las mieloides o mieloblásticas (LMA). En los niños prevalece la LLA (75% de los casos) con un pico de máxima incidencia entre los tres y los cinco años. Por el contrario, las LMA predominan en el adulto (80% de los casos), especialmente a partir de la quinta década de la vida, y en la etapa prenatal (Sánchez *et al.*, 2012).

Las leucemias agudas constituyen las neoplasias más frecuentes en la edad pediátrica. En México, se estima que ocurren 49.5 casos nuevos por millón de habitantes al año. A pesar de que el cáncer en edad pediátrica es de alrededor del 1% de los casos nuevos de cáncer en una población, los mejores resultados del tratamiento se observan en este grupo etario (Rendón *et al.*, 2012).

La transformación leucémica de las células, al igual que en otras neoplasias, se produce de una forma escalonada, con la adición progresiva de mutaciones en diferentes grupos de genes que alteran rutas de señalización y bioquímicas celulares que cooperan entre sí y determinan el fenotipo leucémico (Sánchez *et al.*, 2012).

Las anomalías genéticas de las LA se pueden clasificar en tres categorías funcionales, las cuales se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4. Alteraciones genéticas en la Leucemia Aguda.		
Mutaciones de clase 1	Mutaciones de clase 2	Mutaciones de clase 3
“Activadoras”, ocasionan un aumento de la proliferación y supervivencia celular.	Interfieren en la transcripción del ADN.	Afectan genes que regulan el ciclo celular o la apoptosis.
Activación de algunas proteincinasas: * BCR/ABL t(9;22) * Mutaciones FLT3 * Mutaciones C-kit * Mutaciones JAK2 * Mutaciones NRAS	Mutaciones en factores de transcripción: * PML/RAR- α t(15;17) * Leucemias CBF: - CBF β /MYH11 (inv16) - RUNX1/ETO t(8;21) * Mutaciones MLL * Mutaciones CEBPA AML1 y HOX	Inmortalidad: * Mutaciones NPM1 * Mutaciones p53

(Sánchez *et al.*, 2012)

Algunas mutaciones se manifiestan como anomalías cromosómicas, detectables en el cariotipo o mediante hibridación in situ fluorescente (FISH) (Tabla 5).

Tabla 5. Anomalías cromosómicas y mutaciones puntuales.		
Traslocaciones cromosómicas balanceadas		Traslocaciones cromosómicas no balanceadas
*Intercambio de zonas enteras entre dos cromosomas distintos sin que se pierda ni gane material cromosómico. *Intercambio de material genético dentro de un mismo cromosoma (inversiones). *Ocasionan daño de los genes implicados en el punto de rotura por fragmentación y yuxtaposición. *Dan lugar a una disregulación de la actividad de los genes.		*Dan lugar a deleciones de grandes zonas del cromosoma o pérdidas o ganancias de un cromosoma entero.
a) Fusión de dos genes para generar uno quimérico que codifica una proteína de fusión anómala: *t(9;22) y el BCR-ABL *t(15;17) y el PML-RAR α *t(8;21) y el AML1-ETO *inv 16 con el gen CBF β -MYH11	b) Un gen traslocado se opone a uno activador que determina su sobreexpresión: *MYC en la t(8;14) *Inversión del cromosoma 3 que afecta al gen EVI1.	* Las deleciones suelen afectar a los cromosomas 5, 7, 11, 20 e Y - Provocan una pérdida de genes supresores tumorales. * Las ganancias afectan a los cromosomas 8, 12, 19 y 21. - Conllevan sobreexpresión de genes, y traducen episodios genéticos secundarios que aparecen en el curso de la evolución de la enfermedad.

(Sánchez *et al.*, 2012)

Muchas anomalías genéticas son indetectables con las técnicas citogenéticas, por lo que son necesarios análisis moleculares del ADN o ARN mediante reacción en cadena de polimerasa (PCR) o secuenciación y consisten en la pérdida, sustitución o repetición de una o varias bases en la secuencia normal del ADN, que producen una falta de síntesis o la síntesis de una proteína defectuosa que deja de hacer sus funciones o no se regula adecuadamente. La mayoría de los genes afectados en estas mutaciones intervienen en los procesos de regulación de la proliferación y de la muerte celular (Sánchez *et al.*, 2012).

Manifestaciones clínicas

Los diferentes tipos de LA tienen muchos signos clínicos en común, derivados de dos hechos fisiopatológicos fundamentales: la insuficiencia medular y la infiltración de órganos.

- **Insuficiencia de la médula ósea:**

La acumulación progresiva de células leucémicas en la médula ósea y la producción por las mismas de factores inhibidores de la hematopoyesis provocan una disminución de los precursores normales de las series eritroide, granulocítica y megacariocítica. Esto se traduce en el descenso de las cifras periféricas de hematíes, leucocitos neutrófilos y plaquetas con la aparición de síndrome anémico, susceptibilidad a infecciones y diátesis hemorrágica.

Las hemorragias son debidas fundamentalmente a la trombocitopenia, siendo habitual la existencia de hematomas espontáneos, púrpura petequeal, gingivorragias o epistaxis, y más raramente las hemorragias digestivas o del sistema nervioso central.

- **Infiltración de órganos:**

La infiltración medular masiva por las células leucémicas puede ocasionar dolor óseo, especialmente en los niños, en los que, unido al síndrome febril, puede simular una fiebre reumática. Hay hepatomegalia y esplenomegalia moderadas en la mayoría de los enfermos con LLA (80%) y en una minoría de quienes padecen LMA (30%).

La infiltración del sistema nervioso central ocurre con frecuencia en las LLA. Las células leucémicas pueden infiltrar otros tejidos como el pulmón, ojo, nasofaringe, hueso o riñones, a veces en forma de tumoraciones que se denominan sarcomas mieloides o sarcomas granulocíticos que pueden preceder a la infiltración medular. Cuando la cifra de blastos circulantes es muy alta, habitualmente

por encima de 100×10^9 /litro (leucemias hiperleucocíticas), puede producirse el denominado “síndrome de leucostasis”, originado por la invasión y obstrucción de los vasos de la microcirculación por microagregados de células leucémicas, sobre todo a nivel del sistema nervioso central y del pulmón.

Tabla 6. Características clínicas de la Leucemia Aguda.		
Insuficiencia Medular	Infiltración de órganos	Otras manifestaciones
<ul style="list-style-type: none"> - Anemia: debilidad, cansancio, palidez - Granulocitopenia: tendencia a infecciones. - Trombocitopenia: diátesis hemorrágica. 	<ul style="list-style-type: none"> - Linfadenopatías especialmente en LLA. - Esplenomegalia y hepatomegalia moderadas (LLA>LMA). - Hipertrofia gingival, úlceras orales y anorrectales (LLA, M4-M5). - Infiltración neuromeningea (LLA, M4-M5). - Dolor óseo, inflamación testicular, masa mediastínica por inflamación. 	<ul style="list-style-type: none"> - Coagulación intravascular diseminada (CID) (M3, M4, M5). - Trastornos metabólicos. - Síndrome de Leucostasis.

(Sánchez *et al.*, 2012)

Datos de laboratorio

- Hemograma:

Existe una anemia normocítica normocrómica, arregenerativa. El número de leucocitos es variable, alto, normal o bajo, dependiendo del grado de infiltración blástica de la sangre periférica. Habitualmente la mayor parte de los leucocitos son formas blásticas inmaduras, sin precursores intermedios (hiatus leucémico). Menos de un 10% de los pacientes se presentan sin blastos en la sangre periférica (formas “aleucémicas”). La neutropenia es constante y profunda. Es típica la trombocitopenia intensa, sobre todo en la LMA (Sánchez *et al.*, 2012).

- Estudio de coagulación:

Como consecuencia de la fragilidad de algunas células leucémicas, sobre todo en la leucemia aguda promielocítica M3 y en las monoblásticas, se produce lisis intravascular y liberación de material procoagulante, que puede desencadenar un cuadro de CID, con consumo de factores de la coagulación (fibrinógeno, factor V, factor VIII), aumento de los productos de degradación del fibrinógeno (PDF) y dímero D y agravamiento de la trombocitopenia (Sánchez *et al.*, 2012).

- Alteraciones bioquímicas:

La destrucción de las células leucémicas in vivo determina un incremento en la producción de ácido úrico, consecuencia del catabolismo de los ácidos nucleicos, así como de aniones orgánicos y otros productos metabólicos; de ahí que sea frecuente encontrar hiperuricemia, hipocalcemia e hipomagnesemia que pueden ser graves tras la quimioterapia y producir un síndrome de lisis tumoral. En las LA con componente monocítico está elevada la lisozima sérica, cuya excreción por el riñón provoca daño tubular renal que cursa con hipopotasemia (Sánchez *et al.*, 2012).

- Médula ósea:

La MO suele ser hipercelular y, en general, muestra una infiltración masiva por elementos blásticos monomorfos, con una marcada disminución de los precursores hematopoyéticos normales. En casos aislados, la médula puede ser hipocelular, aunque la mayoría de las células presentes serán leucémicas. La morfología medular es muy variable, dependiendo del subtipo de LA, se precisan técnicas de citoquímica, inmunofenotipo y citogenética para la tipificación adecuada de la enfermedad (Sánchez *et al.*, 2012).

- Punción lumbar:

Debe realizarse siempre que clínicamente se sospeche infiltración del sistema nervioso central y en la evaluación inicial de todas las leucemias, ya que, a veces, dicha infiltración es asintomática. En caso de infiltración, el examen citológico e inmunofenotípico del líquido cefalorraquídeo detectará la existencia de células leucémicas, y la bioquímica demostrará hipoglucoorraquia e hiperproteinorraquia (Sánchez *et al.*, 2012).

Diagnóstico diferencial

Según la OMS, el diagnóstico de LA se establece cuando existe al menos un 20% de células leucémicas en la MO o en la sangre periférica, o una infiltración blástica de tejidos extramedulares. Se admite el diagnóstico con un menor porcentaje de blastos, sólo si existen alteraciones citogenéticas específicas (OMS, 2015). En la Figura 2 observamos la presencia de blastos en sangre periférica y médula ósea en pacientes con leucemia aguda.

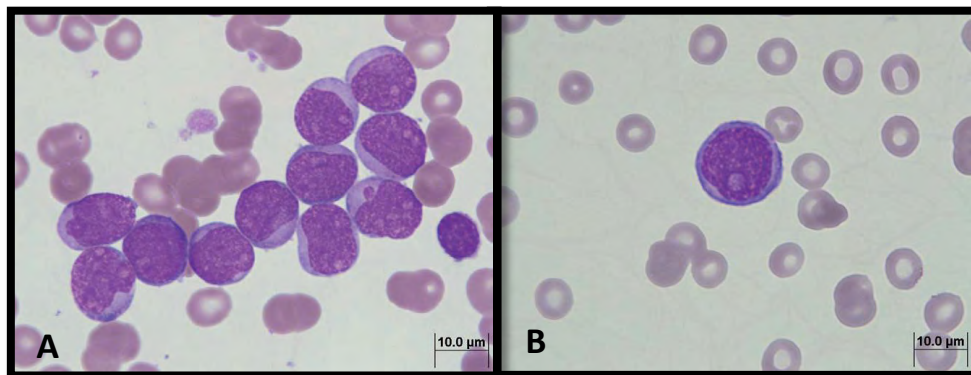


Figura 2. Blastos en Leucemia Aguda. A: Mieloblastos en la medula ósea de un paciente con diagnóstico de leucemia mieloblástica aguda. B: Linfoblasto en sangre periférica de un paciente con diagnóstico de leucemia linfoide aguda. (Campuzano, 2008)

En muchas ocasiones es común confundir a las leucemias agudas con otras enfermedades que presentan eventos parecidos, por lo cual el diagnóstico diferencial de las LA debe realizarse con las siguientes entidades:

- Reacciones leucemoides:

Algunas enfermedades infecciosas e inflamatorias cursan con una intensa leucocitosis con desviación a la izquierda y aparición de formas inmaduras en sangre periférica similares a los blastos. En contraste con las leucemias, en estas situaciones se ven formas intermedias (promielocitos, mielocitos, metamielocitos), no existe por tanto el hiatus leucémico, ni la anemia y trombopenia propias de las LA (Sánchez *et al.*, 2012).

- Infiltración de la médula por otras neoplasias:

Las metástasis medulares de tumores sólidos pueden simular una leucemia aguda, si bien es típica la agrupación celular en sincitios. Las técnicas citoquímicas y el inmunofenotipo servirán para aclarar el diagnóstico en estas circunstancias (Sánchez *et al.*, 2012).

- Síndromes mielodisplásicos (SMD):

La distinción entre estas entidades y la LMA es, en ocasiones, extremadamente difícil, e incluso para algunos resulta arbitraria, ya que en ambas pueden existir tanto alteraciones displásicas como células leucémicas. En los SMD el porcentaje de blastos es menor del 20%, y presentan alteraciones citogenéticas típicas (monosomía o delección en los cromosomas 5 y 7) (Sánchez *et al.*, 2012).

Clasificación

Para establecer el diagnóstico de la LLA de linfocitos B, LLA de linfocitos T o leucemia mieloide aguda (LMA) es necesario realizar la inmunofenotipificación, un proceso que identifica las células según el tipo de proteínas (antígenos) de la superficie celular. La “citometría de flujo” es una prueba que se puede usar para hacer la inmunofenotipificación.

La evaluación del fenotipo inmunológico por citometría de flujo define el linaje celular comprometido y es fundamental para la clasificación actual de las entidades clínico-biológicas que plantea la OMS; así mismo brinda sustento para la evaluación de la ERM (Enfermedad Mínima Residual) (Sánchez *et al.*, 2012).

Actualmente se dispone de estrategias de screening para identificar la línea involucrada: B, T o mieloide con marcadores de línea conservados en toda la ontogenia. Se utilizan combinaciones de 4 a 8 o más proteínas evaluadas en simultáneo con citómetros de flujo de 4 o más fluorescencias.

Tratamiento

La quimioterapia intensiva es la base fundamental del tratamiento de las LA. La estrategia terapéutica se basa en intentar eliminar todas las células neoplásicas. El tratamiento quimioterápico tiene dos objetivos bien definidos: a) alcanzar la remisión completa (RC) rápidamente y b) eliminar la enfermedad mínima residual (EMR), y evitar así la recidiva leucémica. La RC define un estado de reducción de la masa de células leucémicas a niveles no detectables por técnicas morfológicas, y el restablecimiento de la hematopoyesis normal, e incluye los siguientes criterios: MO celular con presencia de todas las series y menos del 5% de blastos y recuperación de los recuentos hemoperiféricos con más de 1.000 neutrófilos/ μl y más de 100.000 plaquetas/ μl . La quimioterapia inicial necesaria para alcanzar la RC se denomina tratamiento de inducción a la remisión. La segunda fase del tratamiento, destinada a erradicar la enfermedad residual, se engloba bajo el término de tratamiento postremisión, y consiste en ciclos repetidos de quimioterapia, incluyendo o no trasplante de progenitores hematopoyéticos que van disminuyendo progresivamente la masa leucémica, hasta eliminarla por completo. Esta segunda fase incluye el tratamiento de consolidación, administrado tras la inducción y con fármacos de intensidad similar, el tratamiento de intensificación en el que se emplean combinaciones de fármacos a dosis más elevadas y el tratamiento de mantenimiento con 1-2 fármacos en dosis bajas durante 2-3 años, que sólo se emplea en la LAL y en la LAM promielocítica. El tratamiento de soporte incluye, principalmente, la

transfusión de hemoderivados (concentrados de hematíes y plaquetas), la prevención y tratamiento de las infecciones, así como la corrección de las anomalías metabólicas que puedan producirse (Sánchez *et al.*, 2012).

2.3 LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es una neoplasia de células precursoras (linfoblastos) comprometidas a un linaje, ya sea B o T, con afección a médula ósea y/o a sangre periférica. Por morfología se define como linfoblasto aquella célula de tamaño pequeño a mediano, con escaso citoplasma, cromatina dispersa y en ocasiones con nucléolo visible (Labardini *et al.*, 2011).

Epidemiología

La LLA es una causa considerable de muerte tanto en países industrializados como en aquellos en vías de desarrollo. Hasta 60% de los casos se presentan en personas menores de 20 años. El padecimiento afecta de modo predominante al género masculino. En el mundo se diagnostican alrededor de 240 000 casos nuevos de leucemia aguda de la infancia cada año, de los cuales 75% se registra en países en desarrollo.

Tiene dos picos de frecuencia por edad, el primero de dos a cinco años con 8 casos por 100,000 habitantes y el segundo en la sexta década de la vida con 20 casos por cada 100,000 habitantes (Figura 3). La leucemia linfoblástica aguda es la enfermedad más importante en la hematooncología pediátrica, dado que es la neoplasia más común en niños menores de 15 años, grupo en el que constituye el 30% de todos los cánceres y el 76% de todas las leucemias. La LLA es ligeramente más común entre los niños blancos en comparación con los niños afroamericanos y americanos asiáticos, y es más común entre los niños que entre las niñas (American Cancer Society, 2014). Respecto de las zonas geográficas, hay prueba de mayor incidencia de LLA en la población del norte y occidente de Europa, norte de África y Oceanía. En México, en el año 2000 se informaron 1,926 casos nuevos, con tasa de 2/100,000 habitantes, de éstos 53% fueron hombres, con dos picos de manifestación, el primero en edad escolar y el segundo por arriba de 65 años de edad. Las entidades federativas

con mayor morbilidad fueron: Distrito Federal, Chiapas y Jalisco (el Distrito Federal con 238 casos nuevos en el 2000) (Jaime & Gómez, 2012) (Labardini *et al.*, 2011) (Ortega *et al.*, 2007).

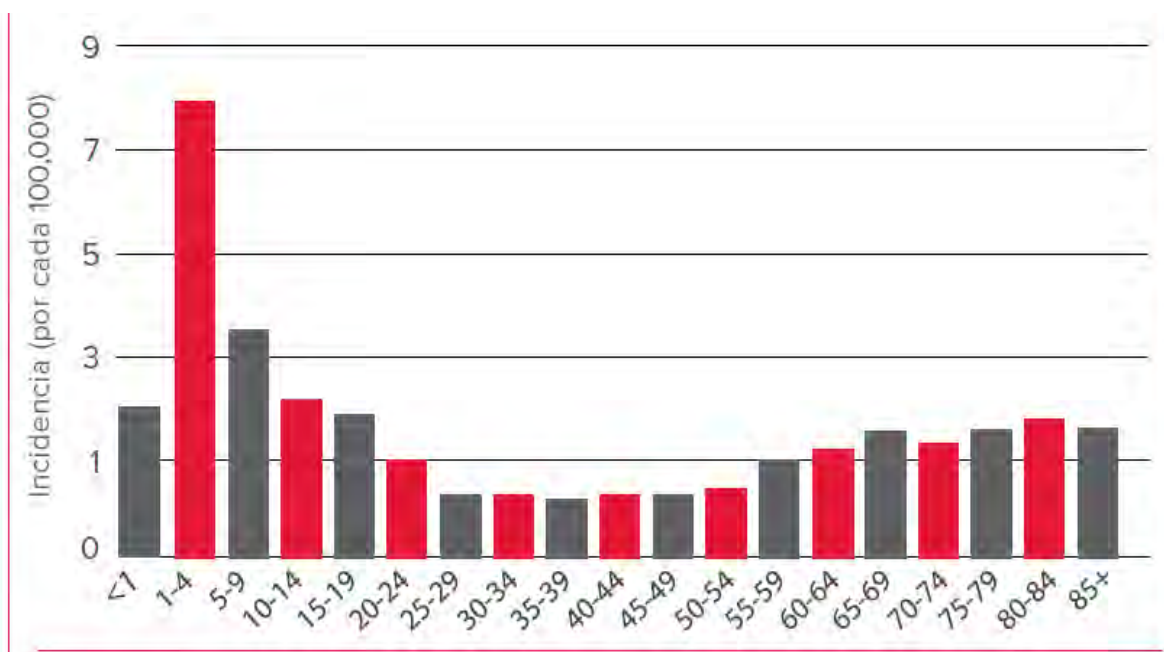


Figura 3. Leucemia Linfoblástica Aguda: Tasa de incidencia por edad. El eje horizontal muestra edades en intervalos de cinco años. El eje vertical muestra la frecuencia de nuevos casos de LLA por cada 100,000 personas, por grupo etario. Note que el riesgo de presentar LLA es mayor durante los primeros cinco años de vida. También se ve un aumento de la incidencia en las personas mayores (fuente: Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados Finales [SEER, por sus siglas en inglés] del Instituto Nacional del Cáncer; 2013) (Leukemia and Lymphoma Society, 2014).

Factores de riesgo

Se han descrito dos factores fuertemente asociados con el desarrollo de LAL: la exposición a radiación ionizante y el síndrome de Down (Labardini *et al.*, 2011). La exposición a radiaciones ionizantes se ha analizado para tres tipos distintos de exposición: antes del embarazo, durante la vida intrauterina y después del nacimiento. El riesgo ligado a la exposición durante la vida intrauterina o tras el nacimiento está bien documentado, pero en la actualidad se relaciona a casos de LLA en el niño en un porcentaje muy pequeño (Michel, 2008).

Existen otros factores predisponentes como la exposición al benceno, la quimioterapia y radioterapia previa, consumo de algunos fármacos como la fenitoína, tabaquismo antes y durante el embarazo como causa de leucemia linfoblástica aguda en niños, al igual que consumo materno de alcohol en el embarazo (Ortega *et al.*, 2007). Algunos agentes infecciosos, sobre todo virales, pueden ser causas de enfermedades neoplásicas.

Un ejemplo de este último punto son los linfomas no Hoodgkin que se relacionan con aparición de infección viral. El virus de Epstein-Barr se vincula con linfoma de Burkitt o LLA-L3, y también se han demostrado linfomas relacionados con VIH. Otro agente infeccioso es el virus linfotrópico humano tipo 1, agente causal de leucemia (linfoma de células T) (Michel, 2008) (Ortega *et al.*, 2007).

Síndromes congénitos como la Ataxia telangiectasia, el síndrome de Bloom y la Neurofibromatosis también pueden ser factores de riesgo para la LLA (Labardini *et al.*, 2011).

Clasificación

La leucemia linfoblástica aguda presenta tres variantes morfológicas definidas: L-1, L-2 y L-3. La diferencia entre un grupo y otro se basa en el tamaño, el grado de maduración del núcleo y la presencia de nucleolos y vacuolas (Tabla 7). Esta clasificación la propuso un grupo franco-americano-británico (FAB) de investigadores; es la clasificación morfológica de mayor aceptación internacional (Jaime & Gómez, 2012).

Tabla 7. Clasificación FAB de la LLA.			
Característica	L1	L2	L3
Tamaño celular	Pequeño	Moderado Heterogéneo	Moderado Homogéneo
Cromatina nuclear	Homogénea	Heterogénea	Homogénea
Contorno nuclear	Regular	Irregular, indentaciones	Regular redondo-oval
Nucleolos	No visible	Visible	Evidente
Citoplasma	Escaso	Variable Abundante	Moderado Abundante
Basofilia citoplasmática	Ligera a moderada	Variable	Intensa
Vacuolas citoplasmáticas	Variable	Variable	Prominente

(Sociedad Argentina de Hematología, 2013)

La L1 es la más uniforme de todas y la más diferenciada, con células de tamaño pequeño y escaso citoplasma; la L2 consiste en linfoblastos de tamaño variable, nucleolos más evidentes y menos diferenciados; la L3 (tipo Burkitt) se distingue por células grandes, indiferenciadas, con nucleolos notorios y numerosas vacuolas que incluyen el núcleo y el citoplasma similares a las observadas en

el linfoma de Burkitt. (Jaime & Gómez, 2012). A continuación se muestran ejemplos de cada una de las variantes morfológicas de la LLA.

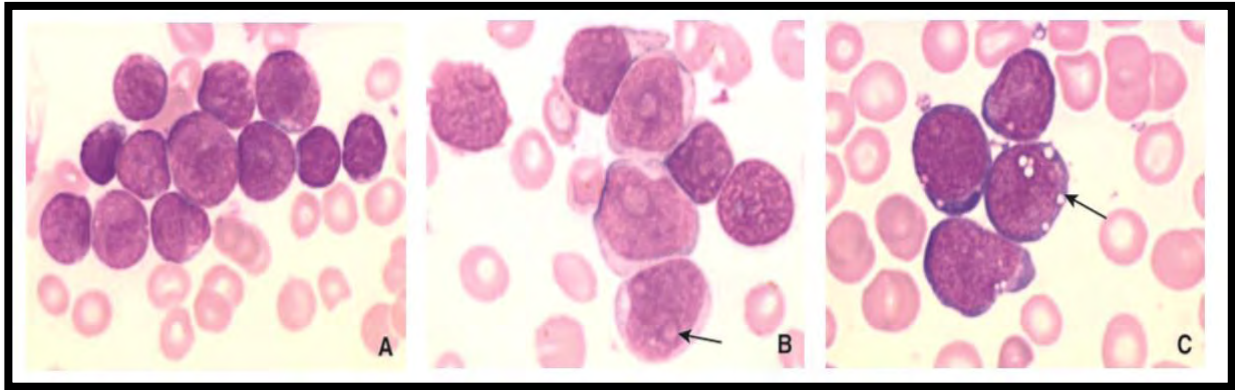


Figura 4. Clasificación citológica de las leucemias linfoblásticas agudas. Obsérvese la relación núcleo-citoplasmática muy elevada de L1 y la ausencia de nucléolo (A) mientras que los nucléolos de L2 están visibles (flecha) y el citoplasma es más abundante (B). Obsérvese también la intensa basofilia del citoplasma y las vacuolas de los linfoblastos L3 (flecha) (C) (Michel, 2008).

En los últimos años las leucemias linfoblásticas se han clasificado en subtipos, no solo de acuerdo con criterios morfológicos, sino también sin perder de vista su origen inmunológico y las características genéticas de la diferenciación del linfoblasto. La clasificación inmunológica y las principales anomalías citogenéticas de la LLA se muestran en las tablas 8 y 9 respectivamente.

Tabla 8. Clasificación inmunológica de la LLA.

Tipo	Marcadores	Frecuencia
“Pre - B temprano”	CD10+ (Antígeno común de la LLA, CALLA+)	65 %
“Pre - B”	Ig citoplasmica+ (cig+)	20 %
“B madura o tipo Burkitt”	CD19, CD22 e Ig de superficie+ (sig+)	20 %
“Pre - T”	CD2+, CD3+ y CD7+	13 %

(Sociedad Argentina de Hematología, 2013)

Tabla 9. Principales anomalías citogenéticas de la LLA.	
Anomalia	Pronostico Asociado
Hiperdiploidia: cantidad de cromosomas mayor que los 46 normales.	Pronóstico favorable
Hipodiploidia: cantidad de cromosomas menor que los 46 normales.	Pronóstico desfavorable
Traslocación entre los cromosomas 12 y 21.	Pronóstico favorable
Cromosoma Philadelphia o “Ph” Traslocación entre cromosomas 22 y 9.	Pronóstico favorable con la terapia actual
ALL “similar al Ph” (BCR-ABL1-negativa)	Pronóstico desfavorable
Traslocación entre los cromosomas 1 y 19 (Asociada con la leucemia del SNC)	Pronóstico favorable con la terapia actual
Traslocación entre los cromosomas 4 y 11 (Asociada con la leucemia del SNC en niños y adultos mayores)	Pronóstico desfavorable
Traslocación entre los cromosomas 11 y 19	Pronóstico desfavorable para bebés Mejor pronóstico para niños mayores
Traslocación entre los cromosomas 8 y 14	Pronóstico favorable con terapia intensiva de corto plazo
Mutaciones genéticas de CRLF2 y de la quinasa de Janus	Pronóstico desfavorable
Mutaciones de NOTCH1	Pronóstico favorable
Sobreexpresión de HOX11	Pronóstico favorable con quimioterapia sola
Amplificación del cromosoma 21	Requiere tratamiento intensivo para evitar un pronóstico desfavorable

(Leukemia and Lymphoma Society, 2014)

2.4 LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA

La leucemia mieloblástica aguda (LMA) se debe a una mutación de la célula madre hematopoyética o su progenie inmediata (Jaime & Gómez, 2012). Debido a la naturaleza heterogénea de la LMA, se ha demostrado que es difícil encontrar una estrategia de tratamiento que sea eficaz para todos los pacientes; por lo tanto, las tasas globales de curación para la LMA han mejorado modestamente en las últimas décadas (Nathan & Oski's, 2015).

Epidemiología

La leucemia mieloblástica aguda (LMA) representa 80% de los casos de leucemia aguda en los adultos y 15 a 20% de las leucemias agudas de la niñez (Jaime & Gómez, 2012). La respuesta al tratamiento y la supervivencia son menores que en la leucemia linfoblástica aguda (LLA) (Menéndez *et al.*, 2013).

La LMA es menos común que la LLA, comprende alrededor del 16% de las leucemias infantiles en niños menores de 15 años y el 36% de las leucemias en adolescentes de 15 a 20 años, para un total de 500 a 600 nuevos pacientes con LMA pediátrica anualmente en los Estados Unidos (Nathan & Oski's, 2015).

La LMA tiene una distribución bimodal, tiene mayor incidencia en niños menores de 2 años y luego de nuevo en adolescentes de entre 15 a 20 años de edad. La incidencia de la LMA es similar para todos los grupos de edad pediátrica, independientemente de su sexo. Con respecto a la etnicidad, hay una mayor frecuencia de LMA en niños hispanos en comparación con los niños no hispanos. Aunque la incidencia de LLA en los niños menores de 15 años aumentó desde 1977 hasta 1995, la incidencia de la LMA no cambió significativamente durante este período de tiempo (Nathan & Oski's, 2015).

Factores de riesgo

Se han identificado una serie de factores de riesgo que predisponen al desarrollo de LMA (Tabla 10). Al igual que en la LLA, la exposición a radiaciones ionizantes y el Síndrome de Down constituyen dos causas fuertemente asociadas con la predisposición a padecer LMA.

Tabla 10. Factores predisponentes para el desarrollo de Leucemia Mieloblástica Aguda.

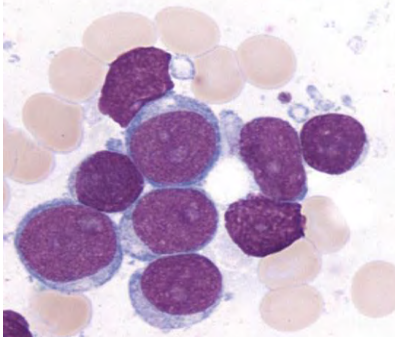
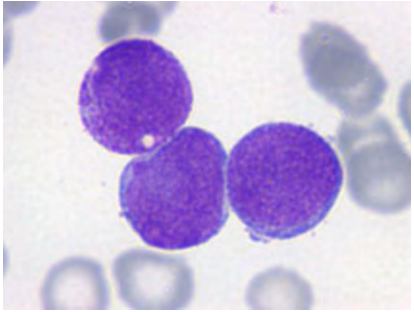
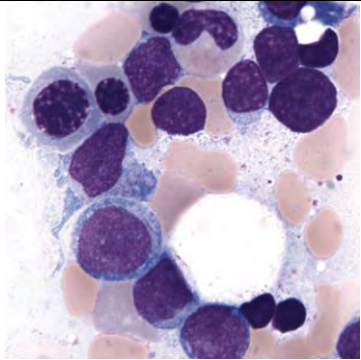
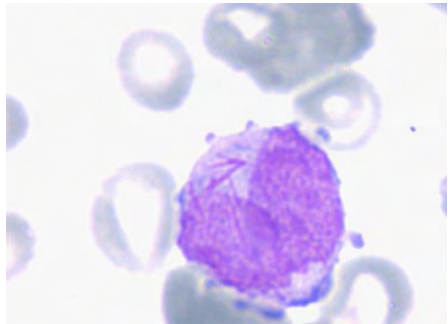
EXPOSICIÓN PRENATAL
<ol style="list-style-type: none"> 1. Alcohol 2. Pesticidas 3. Infecciones virales
EXPOSICIÓN AMBIENTAL
<ol style="list-style-type: none"> 1. Radiaciones ionizantes 2. Agentes quimioterapéuticos 3. Agentes alquilantes 4. Solventes orgánicos (benceno) 5. Pesticidas
CONDICIONES HEREDITARIAS
<ol style="list-style-type: none"> 1. Síndrome de Down 2. Síndrome de Noonan 3. Neurofibromatosis 4. Anemia de Fanconi 5. Síndrome de Bloom 6. Síndrome de Kostmann 7. Síndrome de Shwachman-Diamond 8. Síndrome de Klinefelter
MUTACIONES PREDISPONENTES DE LA LÍNEA GERMINAL
<ol style="list-style-type: none"> 1. <i>NF1</i> (for JMML) 2. <i>RUNX1</i> 3. <i>CEBPA</i> 4. <i>GATA2</i> 5. <i>ANKRD26</i>
DESÓRDENES ADQUIRIDOS
<ol style="list-style-type: none"> 1. Anemia aplásica 2. Hemoglobinuria paroxística nocturna 3. Leucemia mielomonocítica juvenil

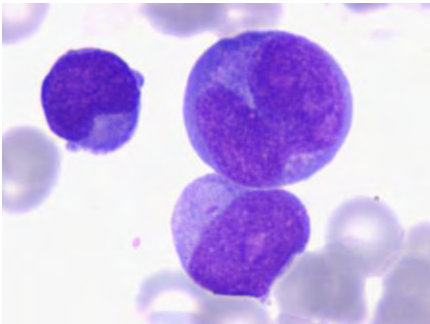
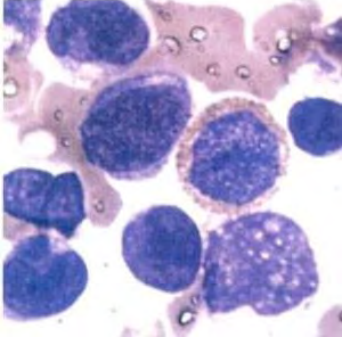
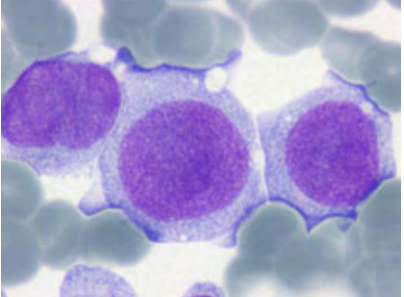
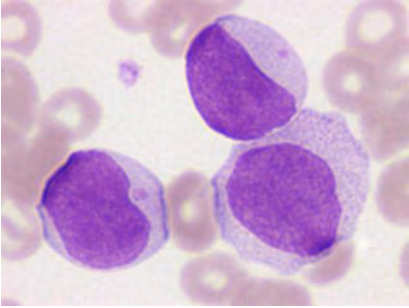
(Nathan & Oski's, 2015).

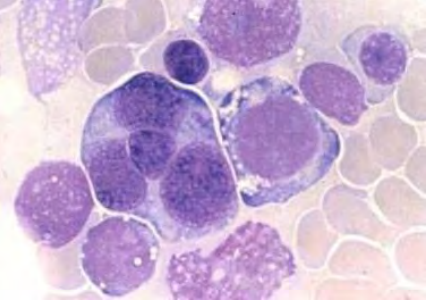
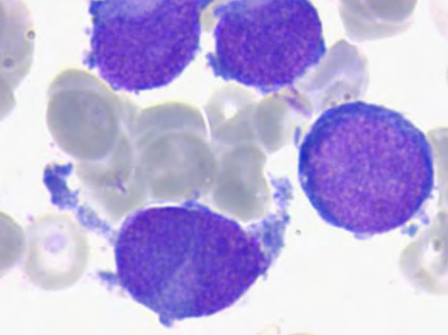
Clasificación

Los dos esquemas más comúnmente usados para clasificar a las LMA, son el antiguo sistema FAB de 2006 y el nuevo sistema de la OMS (Organización Mundial de la Salud) 2008.

La clasificación FAB divide la LMA en 8 subtipos, desde el M0 al M7, basándose en el tipo de células leucémicas y en su grado de madurez. Esta clasificación se establece mediante el examen de la apariencia de las células leucémicas al microscopio óptico o mediante técnicas citogenéticas (Tabla 11) (Fundación Josep Carreras, 2015).

Tabla 11. Clasificación FAB de la Leucemia Mieloblástica Aguda.		
NOMBRE	MORFOLOGÍA	IMAGEN
LMA M0 (mínimamente diferenciada)	Blastos grandes, agranulares e indiferenciados. > 90% blastos.	
LMA M1 (mieloblástica sin maduración)	Blastos de tamaño mediano, elevada relación N/C, contorno nuclear redondeado, núcleo de cromatina laxa e inmadura con presencia de uno o varios nucleolos prominentes. > 3% de los blastos son MPO + > 3% de blastos en SP	
LMA M2 (mieloblástica con maduración)	Blastos de tamaño pequeño a mediano, elevada relación N/C perfil nuclear redondeado, que a veces adopta una posición cuadrangular respecto al citoplasma. Núcleo con una cromatina laxa e inmadura, con uno o varios nucleolos visibles. Citoplasma basófilo.	
LMA M3 (promielocítica)	Las células que proliferan se denominan Promielocitos atípicos (hipergranulares). Presentan una granulación intensamente azuófila y muy abundante. Núcleo de aspecto reniforme y con un perfil bilobulado con la presencia de una hendidura amplia. Citoplasma poco basófilo debido al elevado contenido de granulación azurófila. Algunos promielocitos atípicos contienen inclusiones citoplasmáticas cristalinas alargadas o astillas, que suelen disponerse en cúmulos.	

<p>LMA M3 (Variante microgranular)</p>	<p>Se caracteriza por la escasez de granulación en las células leucémicas. Constituye el 15–20% de la totalidad de las LAM3. El citoplasma es más basófilo que en la LAM3 clásica, debido a su menor contenido en granulación azurófila.</p>	
<p>LMA M4 (mielomonocítica)</p>	<p>Tiene un componente granulocítico y otro monocítico, en proporciones variables y con diversos grados de maduración. Los blastos son de gran tamaño, moderada relación N/C y basofilia variable. El núcleo puede ser redondeado, arriñonado o de forma irregular. Los nucleolos acostumbran a ser prominentes.</p>	
<p>LMA M5a (monoblástica)</p>	<p>Los elementos blásticos son de gran tamaño, con un núcleo de perfil redondeado de cromatina laxa e inmadura (1–3 nucleolos), y un citoplasma moderadamente amplio e intensamente basófilo. En el citoplasma es posible observar algún bastón de Auer y/o prolongaciones o mamelones.</p>	
<p>LMA M5b (monocítica)</p>	<p>En la LAM5b los promonocitos presentan un núcleo de perfil redondeado o arriñonado, y un citoplasma menos basófilo, con mayor contenido de granulación que los monoblastos y con la presencia de alguna vacuola.</p>	

<p>LMA M6a (eritroleucemia)</p>	<p>Muestra una proliferación leucémica mixta de las series granulocítica y eritroblástica Para su diagnóstico se requiere que, en médula ósea, los precursores eritroides sean de un 50% o más de la totalidad celular y los mieloblastos un 30% de la celularidad no eritroide. En la eritroleucemia la morfología eritrocitaria de sangre periférica está muy alterada, con presencia de esquistocitos, o en forma de seta, hematíes espiculados del tipo equinocitos y acantocitos.</p>	
<p>LMA M6 (leucemia eritroide pura)</p>	<p>En la LAM6 variante, más de un 80% de la celularidad de médula ósea está constituida por elementos eritroides, siendo el componente mieloide inferior al 3%. La leucemia eritroide pura se asocia a alteraciones importantes de la morfología eritrocitaria en SP, tales como macrocitosis, punteado basófilo, cuerpos de Howell-Jolly o anillos de Cabot.</p>	
<p>LMA M7 (megacarioblástica)</p>	<p>Los blastos muestran un aspecto morfológico muy inmaduro, y son muy polimórficos. El núcleo es excéntrico, de cromatina laxa y reticulada y con 1-3 nucleolos prominentes. El citoplasma es basófilo, agranular y muestra un aspecto muy similar a las plaquetas circulantes con presencia de mamelones o pseudópodos. Se observan micromegacariocitos y fragmentos megacarioblásticos en SP, así como una gran dismorfia plaquetaria.</p>	

(Dorantes & Medina, 2007) (Merino, 2010) (Nathan & Oski's, 2015)

La clasificación propuesta por la Organización Mundial de la Salud (OMS), emplea la clasificación morfológica de la FAB e incluye estudios adicionales tales como el inmunofenotipo, genética molecular y características clínicas que hacen que el sistema tenga una mayor relevancia clínica para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la enfermedad (Tabla 12) (Nathan & Oski's, 2015).

Tabla 12. Clasificación de la LMA según la OMS.**I) LMA con anomalías genéticas recurrentes:**

1. t(8;21), t(15;17), inv (16), t(9;11), t(6;9), inv(3), t(1;22).
2. mutaciones NPM1, FLT3, CEBPA.

II) LAM con DISPLASIA.**III) LAM relacionadas con tratamientos previos (agentes alquilantes o inhibidores de la topoisomerasa II).****IV) LAM no categorizadas previamente, que incluyen:**

1. Subtipos de la clasificación FAB.
2. Leucemia aguda basofílica.
3. Panmielosis aguda con mielofibrosis.

V) Sarcoma mieloide.**VI) Proliferaciones mieloides en relación con el síndrome de Down.****VII) Neoplasias de células blásticas dendríticas plasmocitoides.**

(Merino, 2010)

Complicaciones en la Leucemia

Como ya se mencionó anteriormente, existen diversos factores que predisponen a los pacientes con Leucemias Agudas a padecer diferentes complicaciones debido a la patogénesis de la enfermedad y al tratamiento empleado, en estos casos, la quimioterapia.

Una de las complicaciones más comunes es la susceptibilidad para contraer infecciones, la cual está directamente relacionada con la disminución de los granulocitos circulantes, siendo especialmente frecuentes y graves cuando la cifra es inferior a $0,5 \times 10^9$ /litro.

2.5 NEUTROPENIA Y FIEBRE

La neutropenia febril (NF) es una entidad común en niños afectados con enfermedades oncohematológicas, los cuales representan cerca del 90% de los casos; de estos, la gran mayoría requiere tratamiento inmunosupresor con quimioterapia, lo que conlleva mayor riesgo de presentar esta entidad patológica.

En pediatría, la leucemia linfoblástica aguda y los linfomas son las patologías más comunes y requieren múltiples ciclos con inmunosupresores debido a su tratamiento.

La Neutropenia se define como el Recuento Absoluto de Neutrófilos (RAN) en sangre periférica de menos de $500/\text{mm}^3$ con tendencia a una caída brusca del RAN en las siguientes 48 horas. La neutropenia profunda o muy severa implica neutrófilos de menos de $100/\text{mm}^3$ (Pérez, 2012).

Por otro lado, la fiebre implica el registro de un pico febril mayor de $38,5^\circ\text{C}$ o dos mayores a 38°C en un intervalo no menor a una hora, tomados en axilas.

Los niños con neutropenia febril pueden presentar infecciones virales, bacterianas y fúngicas, siendo las bacterias las responsables de las complicaciones infecciosas más frecuentes y tempranas. Aproximadamente el 50% de los pacientes con NF tiene una infección establecida u oculta y, entre el 10 al 30%, cursa con bacteriemia. Las infecciones virales inciden en estos niños según el grupo etario y la estacionalidad. Las infecciones fúngicas son características en los cuadros de neutropenia prolongada (más de una semana de duración). Las fuentes primarias de las infecciones son la mucosa del tracto gastrointestinal, lesionada por la quimioterapia, y la piel o tejidos lesionados por procedimientos como la venopunción.

Distintos factores predisponen al desarrollo de infecciones severas que pueden llevar incluso a la muerte en este grupo de pacientes; la neutropenia severa o profunda es el principal factor de riesgo; además, su duración, la agresividad y el tiempo transcurrido de la quimioterapia, hospitalizaciones, procedimientos invasivos e infecciones previas también son determinantes.

El espectro de organismos causantes de infección en pacientes con NF es variado y se relaciona con la epidemiología local y la complejidad de cada institución. En las últimas dos décadas, se han observado cambios entre los agentes; estas modificaciones han obedecido a diversos factores: nuevos tratamientos quimioterapéuticos que inducen a mucositis o neutropenia de mayor intensidad y duración, mayor sobrevida en los pacientes, mayor implantación de catéteres venosos centrales (que facilitan la entrada de la microbiota cutánea), mayor número de procedimientos

invasivos, hospitalizaciones prolongadas y presión selectiva por el uso de antimicrobianos (Pérez, 2012).

Los patógenos bacterianos más comunes en los pacientes neutropénicos febriles se presentan en la Tabla 13.

Tabla 13. Bacterias más comunes en neutropenia febril.	
GÉRMENES GRAM POSITIVOS	GÉRMENES GRAM NEGATIVOS
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> , incluidos los meticilinoresistentes	<i>Klebsiella spp.</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>Enterobacter spp.</i>
<i>Streptococcus viridans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Citrobacter spp.</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Acinetobacter spp.</i>
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>

(Pérez, 2012)

Las infecciones fúngicas habitualmente se presentan como infecciones secundarias y sólo el 5% lo hace en el comienzo del episodio. La *Candida spp.* (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*), seguida de *Aspergillus spp.* (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*), son los hongos más comunes.

Los virus respiratorios, tales como el rinovirus, virus sincitial respiratorio, adenovirus, influenza, parainfluenza y metapneumovirus humano, afectan a los pacientes con neutropenia febril de acuerdo con la edad y las variaciones estacionales, al igual que a niños inmunocompetentes. El virus herpes simple afecta la boca y/o el tracto digestivo en forma secundaria a la administración de la quimioterapia. Las reactivaciones de infección por citomegalovirus no son frecuentes (Pérez, 2012).

2.6 SEPSIS

La sepsis se define como un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica con evidencia o sospecha de infección que se puede manifestar simultáneamente con algunos marcadores de enfermedad general, inflamación, anormalidad hemodinámica, disfunción orgánica o falla de perfusión tisular. Se habla de sepsis grave si está asociada a disfunción de órganos, hipoperfusión o hipotensión arterial, y se dice que hay un choque séptico si la hipotensión arterial persiste a pesar de la adecuada resucitación con fluidos y está acompañada de anormalidades en la perfusión.

La patogénesis involucra varios procesos concomitantes integrados y frecuentemente antagónicos, que implican tanto una respuesta inflamatoria exagerada como mecanismos de supresión inmune. De acuerdo con esto, se acepta que junto con la respuesta inflamatoria destinada a eliminar el patógeno, se inician mecanismos para controlar el estado de hiperactivación inmunológica; sin embargo, aunque los eventos anti-inflamatorios son esenciales para la restauración de la homeostasis inmune, éstos pueden resultar en inmunosupresión y finalmente ocurrir la muerte, debido a la incapacidad de responder a infecciones secundarias en el periodo post-séptico (Jaimes *et al.*, 2011).

Proceso inflamatorio

El consenso actual sobre la definición de la sepsis como un síndrome de respuesta sistémica producto de una infección no hace referencia al microorganismo responsable de ésta. Sin embargo, es claro que el reconocimiento inicial del patógeno por células de la inmunidad innata está mediado por los patrones moleculares asociados a patógenos (*pathogen-associated molecular patterns*-PAMP) presentes en diferentes grupos de organismos infecciosos como bacterias, virus, hongos y protozoos y sus correspondientes receptores de reconocimiento de patrones (*pattern recognition receptors*-PRR), entre ellos los receptores tipo toll (*toll like receptors*-TLR) (Jaimes *et al.*, 2011).

La consecuencia de la interacción inicial entre el microorganismo y el hospedero es la activación de las células del sistema inmune innato, entre las que se destacan los monocitos/macrófagos y las células dendríticas inmaduras, por la liberación de las citocinas proinflamatorias TNF- α e IL-1 β y de mediadores proinflamatorios secundarios como IL-6, IL-8 e IL-12.

Otras citocinas solubles han sido identificadas como mediadores críticos durante el curso clínico de la sepsis.

El factor inhibitorio de la migración de los macrófagos (en inglés *macrophage inhibitory factor*-MIF) es inducido por glucocorticoides y tiene como función regular los efectos antiinflamatorios de éstos, promoviendo la translocación nuclear del factor de transcripción NF- κ B y de ese modo la transcripción de TNF- α y otras citocinas proinflamatorias. La proteína del grupo de alta movilidad (HMGB1) también ha sido reconocida como un mediador tardío de la sepsis. En los monocitos, HMGB1 es inducida por TNF- α e IL-1 y a su vez, la primera potencia la expresión de los segundos por lo que actuaría como un mecanismo de retro-alimentación positiva. Como consecuencia de lo anterior, se da una activación prolongada de los monocitos y por ende la propagación y amplificación de respuestas proinflamatorias posteriores a la respuesta inflamatoria inicial.

Durante la respuesta inflamatoria del hospedero también se producen mediadores antiinflamatorios que tienen como objetivo mantener un equilibrio entre los dos estados; en la actualidad, es evidente que los pacientes que sobreviven a la fase inicial de la sepsis exhiben características consistentes con inmunosupresión.

Entre los mecanismos de regulación negativa de la respuesta inmune que contribuyen al estado de inmunosupresión característico de los procesos sépticos, se encuentran: la inducción de apoptosis en poblaciones de linfocitos T, células dendríticas y neutrófilos; la alteración funcional de monocitos, evidenciada por la baja expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) clase II, particularmente HLA-DR, y la baja capacidad de secretar citocinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6 y TNF- α ; y la producción de moléculas con propiedades antiinflamatorias como IL-4, IL-10, TGF- β , el receptor soluble de TNF, el receptor antagonista de IL-1 (IL-1ra) y el receptor sustituto de IL-1 tipo II (Jaimes *et al.*, 2011).

En el proceso inflamatorio que sufren los pacientes pediátricos con Leucemias Agudas y Neutropenia Febril, están involucradas diferentes citocinas llamadas proinflamatorias, como se dijo anteriormente. Para conocer de manera más profunda el papel de estas proteínas en el proceso inflamatorio, se describirán sus características más importantes.

2.7 CITOCINAS PROINFLAMATORIAS

Las citocinas son un grupo grande y heterogéneo de proteínas secretadas producidas por muchos tipos de células diferentes que median y regulan todos los aspectos de las inmunidades innata y adaptativa. El genoma humano contiene unos 180 genes que pueden codificar proteínas con las

características estructurales de las citocinas. La nomenclatura de las citocinas es algo fortuita, de manera que muchas citocinas se denominan de forma arbitraria en función de una de las actividades biológicas que se han descubierto que poseen y a otras se les llama interleucinas, con diversos sufijos, porque se pensaba que las citocinas se formaban y actuaban sobre los leucocitos.

Las citocinas no suelen almacenarse en forma de moléculas preformadas, y su síntesis la inicia la transcripción nueva de un gen tras una activación celular. Tal tipo de activación de la transcripción es transitoria, y el ARN mensajero que codifica la mayoría de las citocinas es inestable y a menudo se degrada con rapidez, de manera que la síntesis de las citocinas es también transitoria. La producción de algunas citocinas puede estar regulada, además, por un procesamiento del ARN y mecanismos postraslacionales, como la liberación proteolítica de un producto activo de un precursor inactivo. Una vez sintetizadas, las citocinas se secretan con rapidez, lo que provoca una liberación intensa y brusca cuando es necesario.

Las citocinas comparten muchas otras propiedades generales. Una citocina puede actuar sobre diversos tipos de células y tener múltiples efectos biológicos, una propiedad que se denomina pleotropismo. Por el contrario, múltiples citocinas pueden desempeñar la misma acción, y se dice que son redundantes. Una citocina puede estimular o inhibir la producción de otras, y las citocinas pueden antagonizarse entre sí o producir efectos aditivos o sinérgicos. La mayoría de las citocinas actúan cerca de donde se producen, en la misma célula que secreta la citocina (acción autocrina) o sobre una célula cercana (acción paracrina). Los linfocitos T secretan a menudo citocinas en la zona de contacto con la APC (célula presentadora de antígeno), lo que se denomina sinapsis inmunitaria. Esta puede ser una de las razones por las que las citocinas actúan a menudo sobre células que están en contacto con las productoras de la citocina. Cuando se producen en grandes cantidades, las citocinas pueden entrar en la circulación y actuar a distancia del lugar de producción (acción endocrina). El factor de necrosis tumoral (TNF) es un ejemplo de una citocina que tiene efectos importantes locales y a distancia (sistémicos).

Algunas citocinas son mediadores y reguladores de la inmunidad innata. Son producidas por células inmunitarias innatas, como las células dendríticas, los macrófagos y los mastocitos, y dirigen el proceso de la inflamación o contribuyen a la defensa contra las infecciones víricas. Otras citocinas, especialmente las producidas por subgrupos de linfocitos T cooperadores, contribuyen a la defensa del anfitrión mediada por el sistema inmunitario adaptativo y también regulan respuestas inmunitarias. Los miembros de esta categoría de citocinas también son responsables de la activación

y diferenciación de los linfocitos T y B. Algunas citocinas son factores de crecimiento para la hematopoyesis y regulan la generación de diferentes tipos de células inmunitarias a partir de los precursores presentes en la médula ósea (Abbas *et al.*, 2012).

En general, las citocinas de las inmunidades innata y adaptativa las producen diferentes poblaciones celulares, actúan sobre diferentes células diana y tienen otras propiedades especiales. Sin embargo, estas distinciones no son absolutas, porque la misma citocina puede producirse durante reacciones inmunitarias innatas y adaptativas, y diferentes citocinas producidas durante tales reacciones pueden tener acciones solapadas (Abbas *et al.*, 2012).

La principal vía por la que el sistema inmunitario innato se enfrenta a las infecciones y a la lesión tisular es estimulando la inflamación aguda, que es la acumulación de leucocitos, proteínas plasmáticas y líquido derivados de la sangre en un tejido extravascular infectado o dañado. Los leucocitos y las proteínas plasmáticas circulan normalmente en la sangre y son reclutados en los lugares de infección y lesión, donde realizan varias funciones efectoras que sirven para matar microbios y comenzar la reparación del daño tisular. El leucocito más abundante que se recluta de la sangre en las zonas con una inflamación aguda es el neutrófilo, pero los monocitos sanguíneos, que se convierten en macrófagos en el tejido, cada vez destacan más a medida que pasa el tiempo y pueden convertirse en la población dominante en algunas reacciones. Entre las proteínas plasmáticas más importantes que entran en las zonas inflamatorias están las proteínas del complemento, los anticuerpos y los reactantes de fase aguda. El reparto de estos componentes sanguíneos en la zona inflamatoria depende de cambios reversibles en los vasos sanguíneos del tejido infectado o dañado. Estos cambios abarcan el aumento del flujo sanguíneo del tejido debido a la dilatación arteriolar, el aumento de la adhesividad de los leucocitos circulantes al recubrimiento endotelial de las vénulas y el aumento de la permeabilidad de los capilares y las vénulas a las proteínas y el líquido plasmático. Todos estos cambios los inducen las citocinas y moléculas mediadoras pequeñas derivadas inicialmente de las células residentes en el tejido, como los mastocitos, los macrófagos y las células endoteliales, en respuesta al estímulo de los PAMP. A medida que se desarrolla el proceso inflamatorio, los mediadores pueden derivar de leucocitos recién llegados y activados, y de proteínas del complemento (Abbas *et al.*, 2012).

La inflamación aguda puede desplegarse en minutos a horas y durar días. La inflamación crónica es un proceso que sigue a la inflamación aguda si la infección no se elimina o la lesión tisular se

prolonga. Suele implicar el reclutamiento y activación de monocitos y linfocitos. Los lugares de inflamación crónica también sufren a menudo una reestructuración tisular, con angiogenia y fibrosis. Aunque los estímulos de la inmunidad innata pueden contribuir a la inflamación crónica, también puede participar el sistema inmunitario adaptativo debido a que las citocinas producidas por los linfocitos T son poderosos inductores de la inflamación (Abbas *et al.*, 2012).

Una de las primeras respuestas del sistema inmunitario innato frente a la infección y el daño tisular es la secreción de citocinas por las células tisulares, que es fundamental para la respuesta inflamatoria aguda. Los macrófagos tisulares y los mastocitos son la principal fuente de estas citocinas, aunque otros tipos celulares, como las células endoteliales y epiteliales, también pueden producir IL-1 e IL-6 (Abbas *et al.*, 2012).

Las citocinas pirogénicas o proinflamatorias son polipéptidos endógenos y pequeñas glucoproteínas que intervienen en el proceso febril. Entre ellas destacan la interleucina 1 β (IL-1 β), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la interleucina 6 (IL-6) y la interleucina 8 (IL-8) (Martí L., *et al.*, 2003).

- Interleucina 1 (IL-1)

La IL-1 es primariamente producida por macrófagos y monocitos, como también por células no inmunológicas, tales como fibroblastos y células endoteliales activadas durante la lesión celular, la infección, la invasión y la inflamación. Existen dos tipos conocidos: IL-1 α y IL-1 β , con 31 a 33 kDa cada uno. Ellos actúan sobre los mismos receptores, IL-1RI y IL-1RII. El IL-1RI se le considera el receptor activo, mientras que el IL-1RII no posee una molécula de transducción y es funcionalmente inactivo. La IL-1 α está estrechamente vinculada con las membranas celulares y actúa por medio de contactos celulares. Ya la IL-1 β esta sintetizada como una proteína precursora (Pro-IL-1 β), que no es segregada en la forma activa hasta ser metabolizada por la enzima caspasa-1. La IL-1 β produce una inflamación sistémica por medio de la activación de la ciclooxigenasa-2, con la formación de PGE2 en el hipotálamo anterior causando fiebre. También produce la sustancia-P (SP), óxido nítrico (activando la enzima óxido nítrico sintetasa) y moléculas de adherencia endotelial (Barros de Oliveira *et al.*, 2011).

- Interleucina 6 (IL-6)

La IL-6 es producida por diversos tipos celulares: monocitos, macrófagos, linfocitos T y B, fibroblastos, células endoteliales, sinoviocitos, células de la glía, adipocitos y células epiteliales

intestinales, entre otras. Los principales estímulos para su síntesis y liberación son las infecciones por ciertos microorganismos, particularmente virus y bacterias (lipopolisacárido bacteriano) y la acción de otras citocinas, como la IL-1, TNF- α y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas. Asimismo, sus principales objetivos o dianas celulares son los linfocitos T y B, las células epiteliales, los monocitos/macrófagos y los hepatocitos.

Es una citocina pleiotrópica ya que tiene acciones tanto proinflamatorias como antiinflamatorias. En la actualidad se la reconoce como el principal mediador de la respuesta de fase aguda; también posee efectos antiinflamatorios al ejercer un control parcial sobre la producción de IL-1 y TNF- α . A diferencia de la IL-1 y el TNF- α , que poseen acciones proinflamatorias, los efectos de la IL-6 en la inmunidad dependen del contexto y de su concentración local, así como de la presencia o ausencia de otras proteínas reguladoras que actúan en la vía de transducción de señales, o de la concentración de su receptor soluble (Saavedra *et al.*, 2011).

- Interleucina 8 (IL-8)

Se trata de una quimocina que actúa como factor quimiotáctico para leucocitos, fundamentalmente neutrófilos. Igualmente actúa favoreciendo su degranulación y estimulando la fagocitosis. El origen principal de la interleucina-8 son los monocitos, si bien también puede ser producida por células epiteliales, hepatocitos, fibroblastos y células endoteliales (Filella, 2003).

- Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- α)

Es producido fundamentalmente por monocitos, macrófagos y linfocitos. Actúa como mediador en el desarrollo del shock séptico. El factor de necrosis tumoral alfa también se denomina caquectina por intervenir como mediador en la caquexia, estado catabólico asociado a las enfermedades crónicas y que cursa con pérdida de peso, anorexia y anemia. El factor de necrosis tumoral alfa ejerce su función a través de dos receptores de masa molar 55.000 g/mol (TNF-R-I) y 75.000 g/mol (TNF-R-II), que también utiliza el factor de necrosis tumoral-b, sustancia que presenta una homología del 30 % con el α (Filella, 2003).

El TNF- α es uno de los mediadores más precoces y potentes de la respuesta inflamatoria. Aunque su vida media plasmática sea de apenas 20 minutos, es suficiente para provocar cambios metabólicos y hemodinámicos importantes, y activar distalmente otras citocinas (Barros de Oliveira *et al.*, 2011).

Citocinas proinflamatorias en pacientes con cáncer y Neutropenia Febril.

Las complicaciones más frecuentes de la LA son las infecciones, que se manifiestan principalmente por fiebre. Se ha propuesto que el tratamiento profiláctico en pacientes que cursan con neutropenia y fiebre debe ser agresivo, debido al riesgo de presentar bacteriemia y eventualmente la muerte (Zapata *et al.*, 2012). Es por esto que resulta de gran interés disponer de marcadores de fácil aplicación en la práctica clínica habitual, que sean capaces de discriminar el origen del episodio febril así como su gravedad (Aznar *et al.*, 2010).

Investigaciones recientes han analizado diferentes citocinas con la finalidad de conocer su importancia en los procesos fisiológicos que intervienen en la progresión del cáncer. El profesor Bodo E Lippitz y colaboradores en el Hospital Universitario de Stocolmo, Suecia, realizaron una revisión para conocer los patrones de diferentes citocinas en el cáncer. En dicha revisión, ellos señalan que se han encontrado concentraciones elevadas de TNF-alfa, IL-6 e IL-8 en el suero de pacientes que padecen alguna neoplasia como puede ser cáncer de colon, de mama, de próstata, cáncer gástrico, LLC, LLC de células B, entre otros (Lippitz, 2013). Así mismo, señalan que se ha encontrado que el TNF- alfa es un potente inmunoestimulador de citocinas con efectos locales en el microambiente tumoral y tiene un potencial efecto sistémico. En la estabilidad de los tumores, TNF contribuye al mantenimiento de un ambiente inflamatorio. También observaron que la IL-6 e IL-8, son citocinas que son consecutivamente activadas durante los procesos infamatorios. La producción inicial es de IL-8 y otros quimioatrayentes, estimulando así el reclutamiento temprano de neutrófilos en el sitio de inflamación, seguida de la IL-6 que promueve el reclutamiento de monocitos.

Por otro lado, en un estudio realizado por Rafal W Wyszynski y colaboradores, muestra que la IL-1 beta induce la producción de SCF (Factor Estimulador de Crecimiento) en células epiteliales de cáncer de mama MCF-7. SCF es un importante factor de crecimiento hematopoyético, el cual tiene un control crucial en la progresión de la leucemia mieloide aguda después de la transformación maligna de las células hematopoyéticas de linaje mieloide. De este modo IL-1 beta interviene indirectamente en la progresión de este tipo de leucemia (Wyszynski *et al.*, 2014).

Existen otras revisiones que se han realizado para estudiar diferentes biomarcadores que puedan usarse para discriminar procesos infecciosos en pacientes con cáncer. Jesús Reyna-Figueroa y colaboradores realizaron una investigación en diferentes publicaciones donde encontraron que IL-6, IL-8 y TNF- alfa pueden ser empleados como marcadores en procesos infecciosos, sin embargo

para que su sensibilidad sea mayor, deben de ser determinados en conjunto con otros biomarcadores, ya que esto los vuelve más específicos y más sensibles (Reyna *et al.*, 2015).

2.8 METODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CITOCINAS

Para identificar las citocinas específicas implicadas en una respuesta inflamatoria o inmune, puede ser necesario detectar paneles de citocinas, lo cual requiere cierto nivel de automatización y/o de alto rendimiento.

Existen diferentes ensayos inmunológicos basados en una reacción antígeno-anticuerpo con los cuales se pueden determinar diferentes analitos de interés, entre ellos citocinas, presentes en el suero humano. Entre las técnicas más utilizadas se encuentran: la Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), el ensayo Inmunoenzimático (ELISA), los ensayos múltiples (ELM y NALIA) y la Electroinmunotransferencia (EIT). Cada una de ellas presenta diferencias pero conservan el fundamento general que es el reconocimiento de la unión antígeno-anticuerpo (Hernández & Cabiedes, 2010).

El ensayo luminométrico múltiple (ELM) con perlas magnéticas puede hacer que el proceso de automatización tenga un mayor rendimiento y facilidad en la detección de citocinas, ya que permite la detección de hasta 100 diferentes autoanticuerpos que reconocen el mismo número de antígenos en una sola determinación y con un volumen pequeño de muestra (aproximadamente 50 µl). Estas son las ventajas más importantes del ensayo comparado con el ELISA, ya que para realizar el mismo número de determinaciones específicas por ELISA se requerirían 100 placas y 5ml de muestra.

La técnica es una variante del ELISA indirecto, pero la detección es distinta: en el ELISA se utiliza un compuesto cromogénico, en tanto que en el ELM la detección se realiza por fluorescencia, con lo que la sensibilidad del ensayo es mayor. El ELM se fundamenta en la detección de anticuerpos que reaccionan contra antígenos específicos, los cuales recubren esferas que contienen diferentes proporciones de un fluoróforo (combinaciones de un fluoruro rojo y otro infrarrojo). La determinación de la cantidad de anticuerpo unido al antígeno se revela por la interacción de un anticuerpo anti-inmunoglobulina humana conjugado con biotina. Posteriormente, se adiciona un conjugado estreptavidina-ficoeritrina (PE).

El ensayo se lee en un luminómetro, instrumento que tiene el mismo principio que el citómetro de flujo. De manera breve, cuando se hacen pasar por un detector de fluorescencia, las microesferas que contienen los complejos antígeno-anticuerpo-estreptavidina-PE, el colorante de las

microesferas y la PE se excitan por haces de luz de longitudes de onda de 635 y 525 nm respectivamente. La luz del láser que pasa por el filtro de longitud de onda de 635 nm excita al fluoróforo de la microesfera, lo que permite la identificación de los antígenos y el láser que pasa por el filtro de 525 nm excita a la PE conjugada con estreptavidina, permitiendo la detección de la cantidad de anticuerpo específico presente en la muestra del paciente (Hernández & Cabiedes, 2010).

En el caso de las perlas magnéticas para la determinación de citocinas, éstas se encuentran recubiertas con un anticuerpo de captura específico para cada citocina que se quiera determinar.

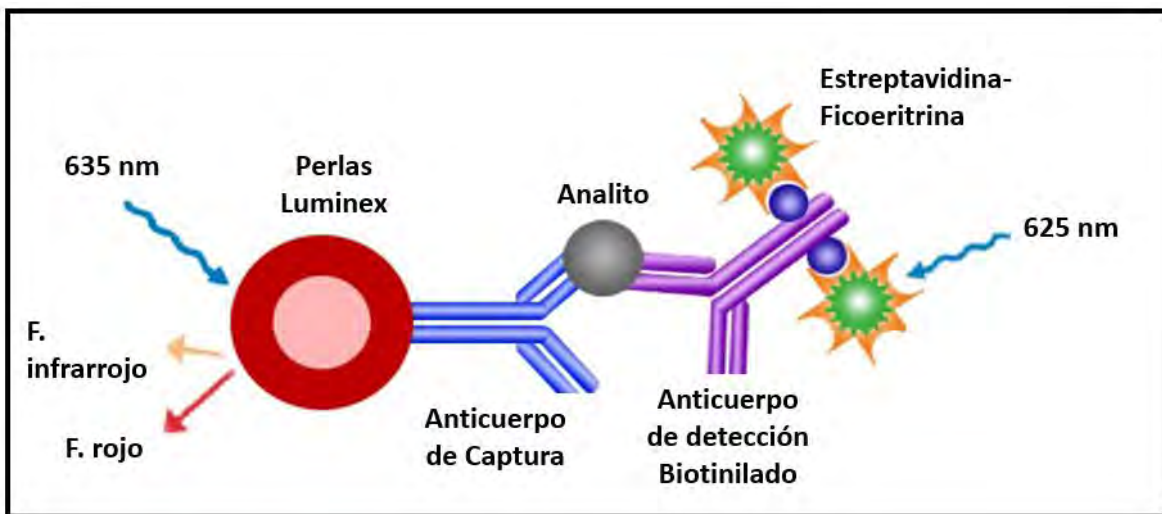


Figura 5. Ensayo Luminométrico Múltiple con perlas magnéticas (Merck Millipore, 2015).

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Por lo anteriormente descrito nos planteamos la siguiente pregunta:

¿Cuáles son los niveles de las citocinas proinflamatorias IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α , en pacientes con leucemias agudas que presentan neutropenia y fiebre?

4. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

Las principales complicaciones que presentan los pacientes con Leucemia Aguda incluyen la neutropenia y la fiebre, la presencia de ésta, asociada a un conteo de neutrófilos bajos constituye una urgencia infectológica, dado que las complicaciones infecciosas en este tipo de pacientes representan una importante morbilidad y mortalidad, motivo por el cual es necesario realizar una rápida evaluación e instauración de antibióticos de amplio espectro. En los últimos años, algunos parámetros de origen biológico, denominados biomarcadores, se han asociado con la respuesta del huésped ante la invasión de algún microorganismo y han sido estudiados como una opción para diagnosticar sepsis. Se consideran para cada uno de ellos diferentes ventajas y limitaciones. Se ha estipulado que existen, al menos, 178 biomarcadores, que son utilizados como discriminadores diagnósticos y pronósticos en sujetos con sepsis, cuyo objetivo principal es proveer información adicional a la clínica.

En el presente trabajo se pretenden determinar los niveles de diferentes citocinas implicadas en el proceso inflamatorio como son IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α , en muestras de sueros de pacientes pediátricos con diagnóstico de leucemia aguda que cursen con neutropenia y fiebre.

Lo anterior tiene la finalidad de contribuir al seguimiento clínico de los pacientes con leucemia y con ello evitar la presencia de complicaciones en su tratamiento.

5. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

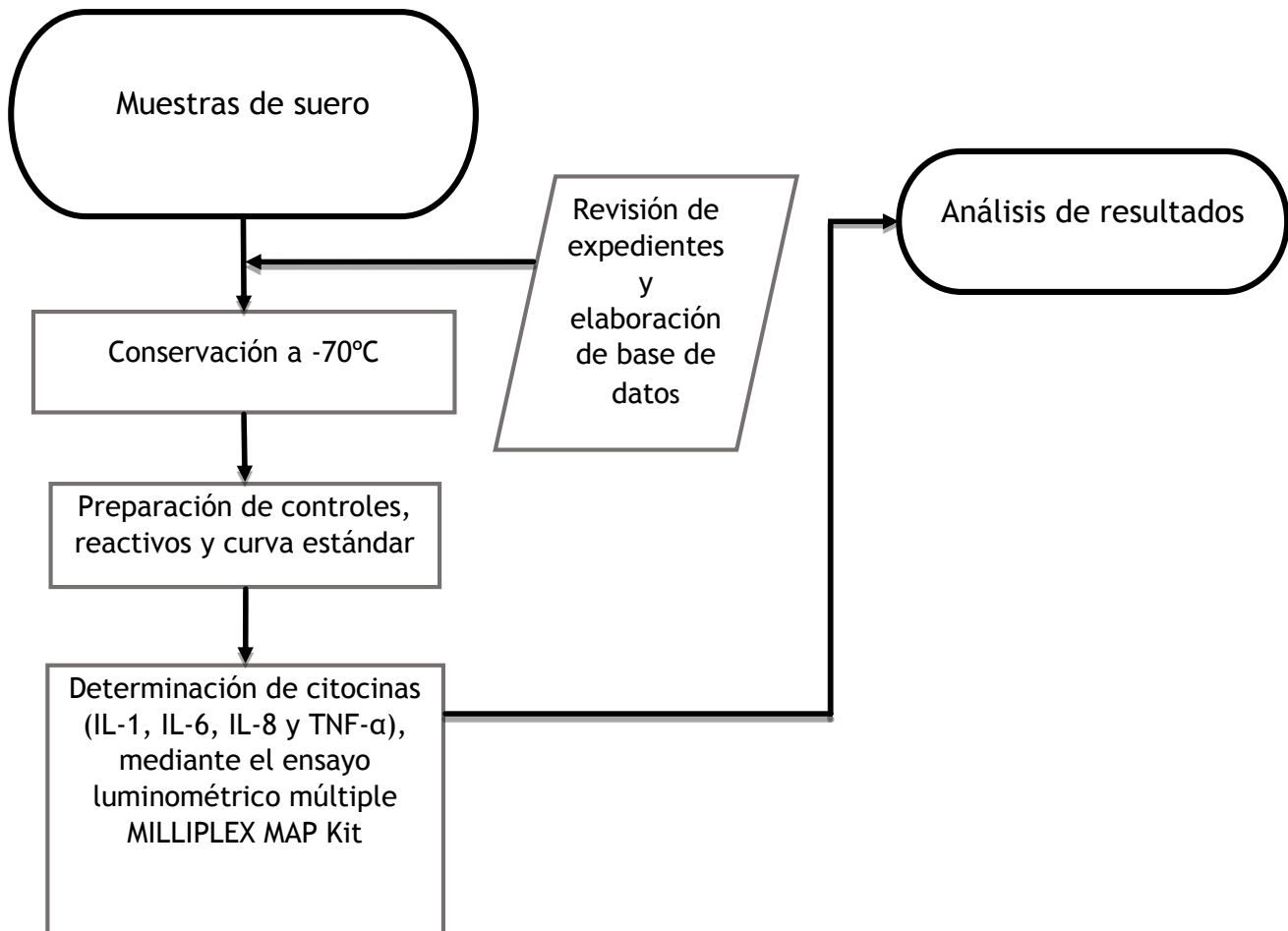
Describir los niveles de citocinas proinflamatorias en pacientes pediátricos con Leucemia Aguda que cursen con Neutropenia y Fiebre.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar los niveles séricos de IL-1, IL-6, IL-8 y TNF- α en pacientes pediátricos con leucemia aguda, que presenten neutropenia y fiebre.
- Establecer si existe correlación entre los niveles séricos de las citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, IL-8 y TNF- α) con el conteo de neutrófilos.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

▪ DIAGRAMA DE TRABAJO



▪ DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio transversal descriptivo en el que se incluyeron pacientes pediátricos con diagnóstico confirmado de Leucemia Aguda (mieloblástica o linfoblástica) y presencia de Neutropenia y Fiebre (grupo I), también se analizaron las muestras de pacientes con diagnóstico nuevo de leucemia, sin neutropenia y fiebre (grupo II), en un periodo de Noviembre de 2014 a Mayo de 2015. Se recolectaron los datos clínicos a partir de los expedientes y se obtuvo una muestra de sangre por venopunción, previa firma de consentimiento bajo información, el muestreo fue no probabilístico por conveniencia, incluyendo a los pacientes considerando los siguientes criterios (Tabla 14):

Tabla 14. Criterios de inclusión y exclusión.	
INCLUSIÓN	EXCLUSIÓN
GRUPO I	
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Pacientes con Leucemia Aguda. ✓ Edad entre 1- 18 años. ✓ Presencia de neutropenia y fiebre. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Pacientes oncológicos con patología diferente a Leucemia Aguda. ✓ No presentar neutropenia y fiebre.
GRUPO II	
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Pacientes con diagnóstico nuevo de Leucemia Aguda. ✓ Edad entre 1-18 años. ✓ No presentar neutropenia y fiebre. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Pacientes oncológicos con patología diferente a Leucemia Aguda. ✓ Presentar neutropenia y fiebre.

▪ METODOLOGÍA

Se determinaron las concentraciones de las citocinas proinflamatorias IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α , en el suero de los pacientes. La determinación se realizó utilizando el sistema MILLIPLEX MAP HUMAN CYTOKINE / CHEMOKINE MAGNETIC BEAD PANEL KIT con fundamento en la prueba de luminometría.

1. Preparación de muestras de suero:
 - ✓ Las muestras de suero recolectadas se descongelaron de forma gradual, pasando de -70°C a -20°C y posteriormente a -4°C y temperatura ambiente.
 - ✓ Para descongelar completamente las muestras y eliminar partículas, se mezclaron bien en vórtex antes de su uso en el ensayo.
 - ✓ No fue necesario realizar alguna dilución al suero.
2. Preparación de perlas con anticuerpo de captura:
 - ✓ Para preparar la mezcla de perlas a partir de viales individuales, se mezcló en vórtex cada vial de Antibody-Immobilized Beads durante 30 segundos.
 - ✓ Posteriormente se añadieron 60 µl de cada vial de Antibody-Immobilized Beads a la botella de mezcla y se llevó a un volumen final de 3.0 ml con el diluyente de perlas.
3. Preparación de controles de calidad:
 - ✓ Los controles de calidad 1 y 2 fueron reconstituidos con 250 µl de agua desionizada. El vial es agitado suavemente para su completa reconstitución y se dejó reposar 5min.
 - ✓ Los controles de calidad son transferidos posteriormente a tubos de polipropileno.
4. Preparación del Buffer de Lavado:
 - ✓ El tampón de lavado 10X se llevó a temperatura ambiente y se mezcló para llevar todas las sales en la solución.
 - ✓ Posteriormente se diluyeron 30 ml de tampón de lavado 10X con 270 ml de agua desionizada.
5. Preparación de suero matrix:
 - ✓ Se añadió 1.0 ml de agua desionizada a la botella que contiene el suero matrix liofilizado.
 - ✓ Se mezcló en vórtex y se dejó reposar 10 minutos para su reconstitución completa.
6. Preparación de Standard de citocinas humanas:
 - ✓ El Standard de citocinas humanas se reconstituyó con 250 µl de agua desionizada para obtener una concentración de 10,000 pg/ml. El vial es invertido varias veces y mezclado en

vórtex durante 10 segundos para su completa reconstitución. Se dejó reposar el vial durante 5-10 minutos y luego se transfirió a un tubo de polipropileno debidamente etiquetado. Este fue utilizado como el estándar 10,000 pg/ml.

- ✓ Para elaborar el Standard de Trabajo se etiquetaron cinco tubos de polipropileno como 2,000, 400, 80, 16, y 3.2 pg/ml. A cada uno de ellos se añadió 200 µl de tampón de ensayo. Después se prepararon diluciones en serie mediante la adición de 50 µl del Standard reconstituido 10,000 pg/ml al tubo 2,000 pg/ml, se mezcló bien y se transfirieron 50 µl del Standard 2,000 pg/ml al tubo 400 pg/ml, luego se transfirieron 50 µl del Standard 400 pg/ml al tubo 80 pg/ml, después 50 µl del Standard 80 pg/ml al tubo 16 pg/ml y finalmente 50 µl del Standard 16 pg/ml al tubo 3.2 pg/ml mezclando debidamente en cada pase (Tabla 15).

Tabla 15. Preparación de Estándar de Citocinas Humanas.		
Concentración del Standard (pg/ml).	Volumen de Agua desionizada por agregar.	Volumen de Standard por agregar.
10,000	250	0
Concentración del Standard (pg/ml).	Volumen d Buffer de ensayo por agregar.	Volumen de Standard por agregar.
2,000	200 µl	50 µl de 10,000 pg/ml
400	200 µl	50 µl de 2000 pg/ml
80	200 µl	50 µl de 400 pg/ml
16	200 µl	50 µl de 80 pg/ml
3.2	200 µl	50 µl de 16 pg/ml

En la Figura 6 se muestra la forma de preparación de las diluciones en serie para elaborar el Estándar de Citocinas Humanas (Estándar de Trabajo).

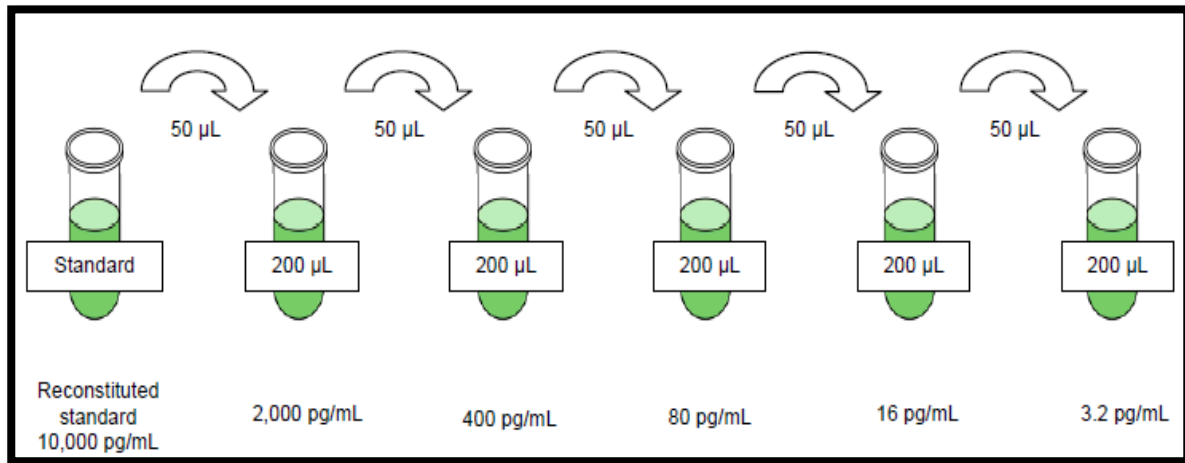
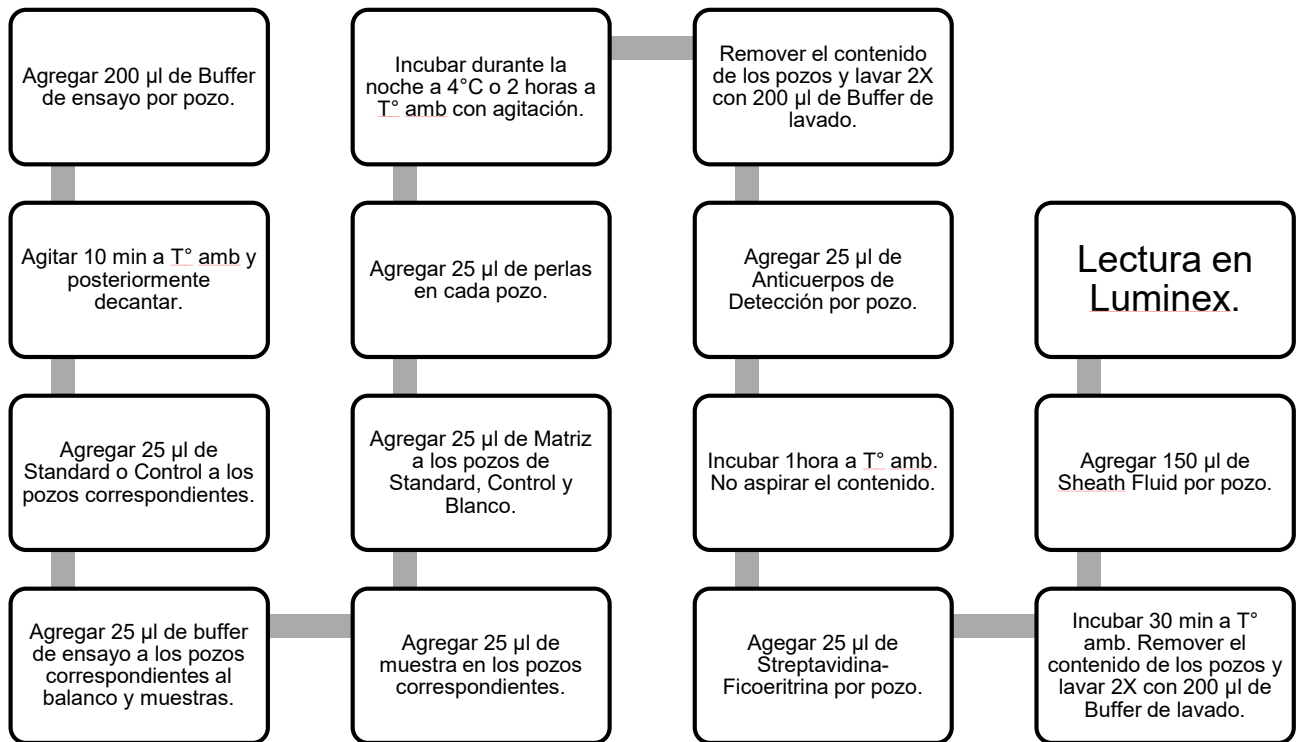


Figura 6. Preparación del Estándar de Citocinas Humanas.

7. Procedimiento del inmunoensayo



▪ **Análisis estadístico**

Se realizó estadística descriptiva.

La comparación de medias de los niveles de citocinas entre los dos grupos se realizó con el programa estadístico Epi info v 3.03^a

7. RESULTADOS

▪ DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN

Se incluyeron dos grupos de pacientes. El grupo I consistió de 39 pacientes pediátricos con diagnóstico confirmado de Leucemia Aguda Mieloblástica o Linfoblástica con Neutropenia y Fiebre. La edad de este grupo osciló entre los 2 y 18 años, con un promedio de 7.7 años, siendo 51% femenino y 49% masculino. El conteo promedio de neutrófilos en esta población fue de 160 células/mm³. En la Figura 7 se muestra el porcentaje de cada tipo de leucemia aguda presente en la población estudiada.

El segundo grupo estuvo conformado por 10 pacientes pediátricos con diagnóstico reciente de Leucemia Aguda, que además no presentaron neutropenia ni fiebre. La edad de estos pacientes abarcó de los 2 a los 13 años, con promedio de 6.8 años. 70 % fueron mujeres y 30% hombres.

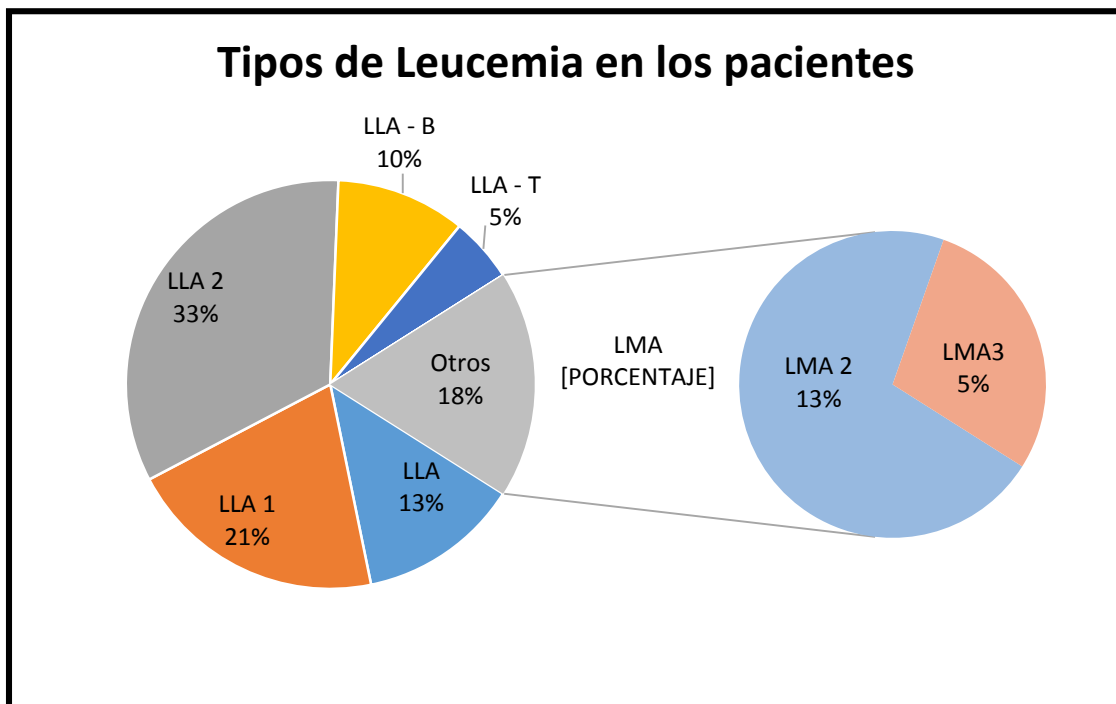


Figura 7. Tipos de Leucemia en los pacientes del grupo I.

▪ **NIVELES SÉRICOS DE CITOCINAS**

La determinación de citocinas se realizó mediante un Ensayo Luminométrico Múltiple, en ambos grupos de pacientes obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 16. Concentración de citocinas.			
CITOCINA (pg/ml)	GRUPO I n = 39	GRUPO II n = 10	Valor de p
TNF-alfa	115.96 (5-408)	327.16 (3-1009)	p<0.01
IL-1beta	35.86 (1-555)	25.9 (7-73.5)	p>0.01
IL-6	1908.79 (14.5 -24150)	378 (39-1039)	p<0.01
IL-8	3919.83 (24-24090)	1468 (130-2713)	p<0.01

En la tabla podemos observar una comparación de las concentraciones de las citocinas determinadas en los sueros de los pacientes del grupo I y II. Se muestran los valores máximos, mínimos y promedio de cada determinación. Así mismo se muestran los valores correspondientes a “p”, en donde se consideró un valor menor a 0.01 como estadísticamente significativo.

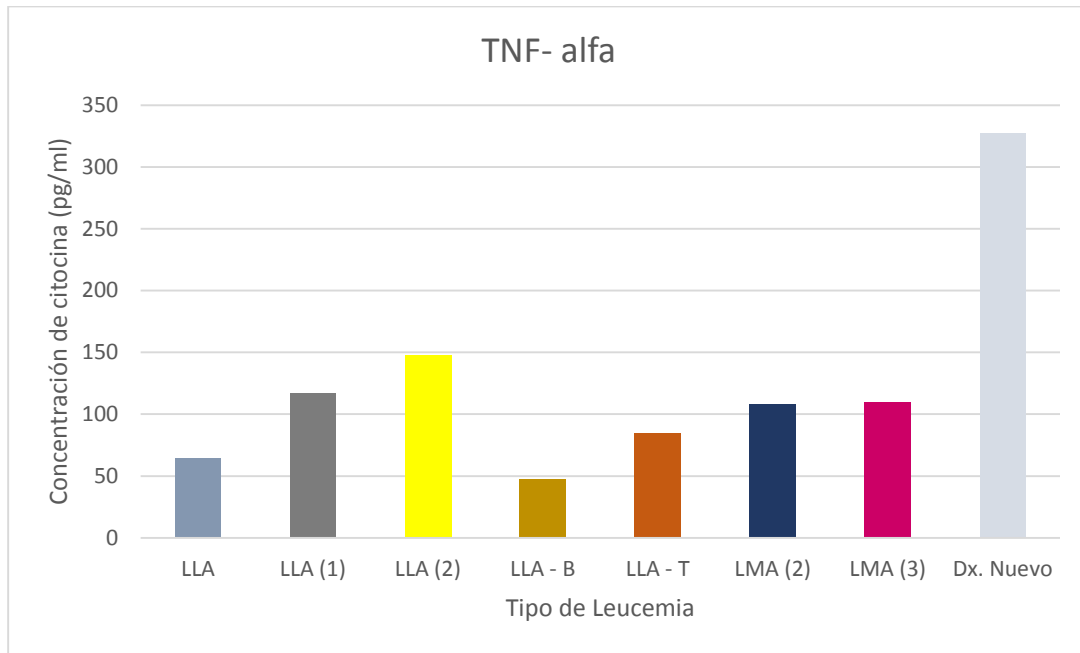


Figura 8. Concentración sérica de TNF- α por tipo de Leucemia (grupo I) y de pacientes con diagnóstico nuevo (grupo II).

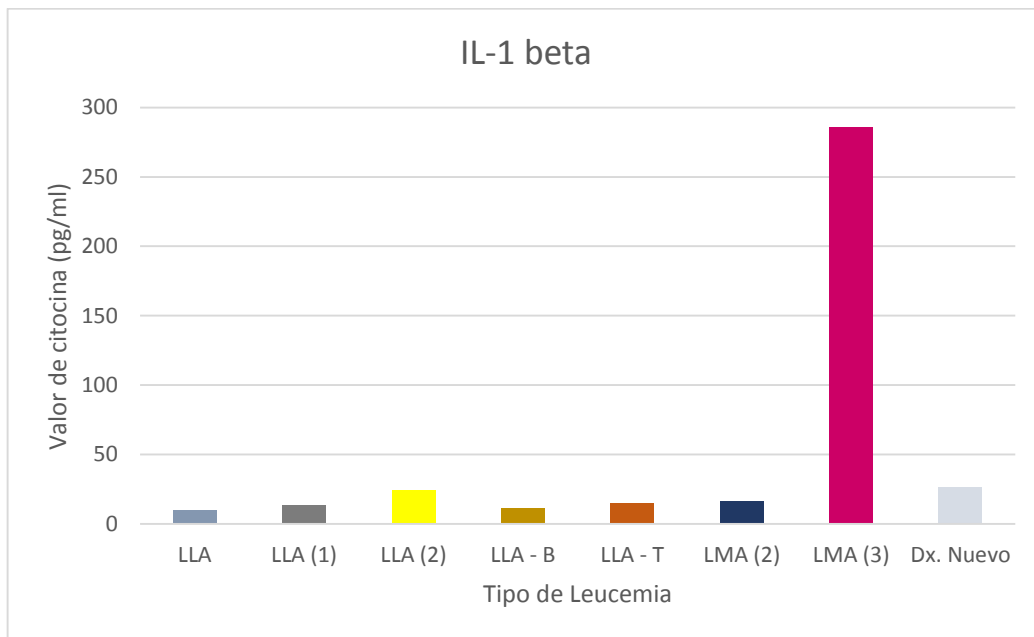


Figura 9. Concentración sérica de IL-1 beta por tipo de Leucemia (grupo I) y de pacientes con diagnóstico nuevo (grupo II).

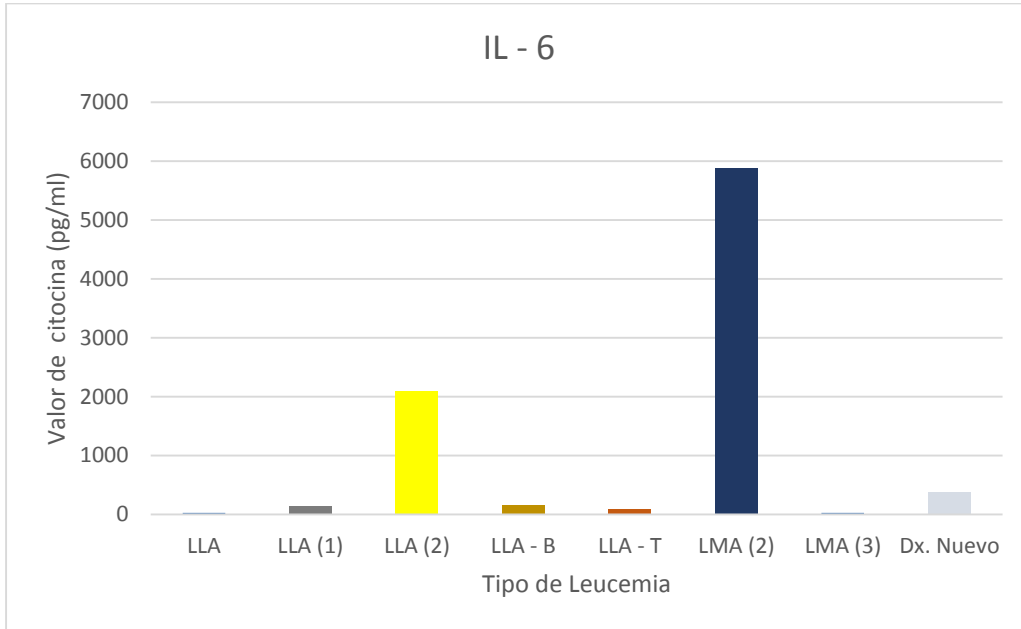


Figura 10. Concentración sérica de IL-6 por tipo de Leucemia (grupo I) y de pacientes con diagnóstico nuevo (grupo II).

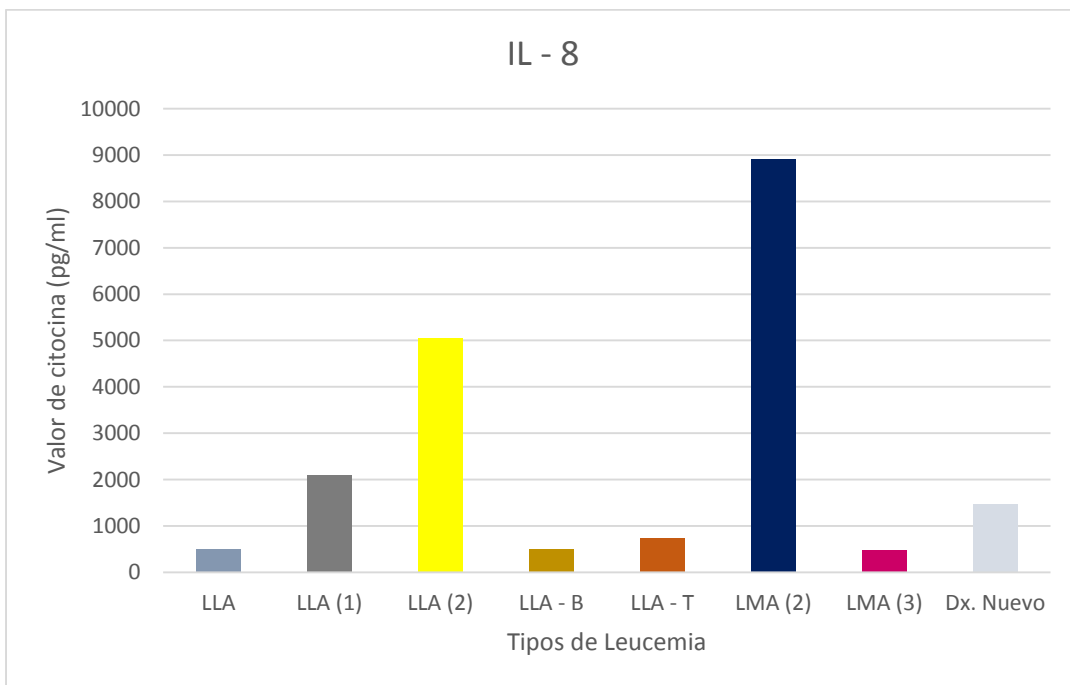


Figura 11. Concentración sérica de IL-8 por tipo de Leucemia (grupo I) y de pacientes con diagnóstico nuevo (grupo II).

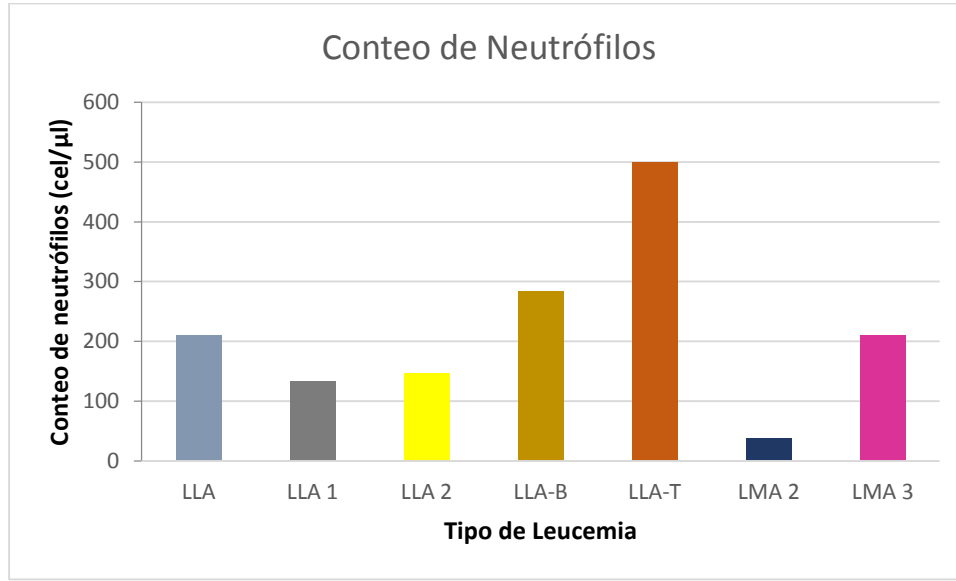


Figura 12. Conteo de neutrófilos por tipo de leucemia.

8. DISCUSIÓN

La aparición de fiebre es muy frecuente en los pacientes con cáncer durante el curso evolutivo de su enfermedad y su incidencia es superior al 30%. En la mayor parte de los casos su etiología es infecciosa y en ocasiones, se convierte en el único signo de infección en pacientes gravemente inmunocomprometidos (Aznar *et al.*, 2010).

En el presente estudio, se analizaron los sueros de 49 pacientes pediátricos con la finalidad de determinar los niveles de diferentes citocinas proinflamatorias. Los pacientes fueron divididos en dos grupos de acuerdo a los criterios mencionados en la tabla 14.

En nuestra población encontramos que en el 54 % de los sujetos con leucemia aguda y NF (grupo I) se reportó un foco establecido de sepsis, de los cuales el 57.4 % correspondieron a sepsis nosocomial. En el 46 % del total de pacientes del grupo I se reportó sepsis sin foco aparente. De acuerdo a los datos publicados por diferentes instituciones, aproximadamente el 50% de los pacientes con NF tiene una infección establecida u oculta y, entre el 10 al 30%, cursa con bacteriemia. El espectro de organismos causantes de infección en pacientes con NF es variado y se relaciona con la epidemiología local y la complejidad de cada institución, por lo que al encontrarse

los sujetos en tratamiento de quimioterapia, fue mayor el riesgo que presentaron de padecer infecciones de tipo nosocomial.

De los tipos de leucemia aguda linfocítica y mielocítica reportados en el grupo I, el 82 % de los pacientes presentó LLA, siendo la LLA tipo dos la más frecuente. Estos datos los encontramos similares a lo reportado en diferentes estudios en niños con cáncer, donde se menciona que la LLA prevalece en el 76 % de los casos de leucemia en menores de 15 años. La LMA, de forma contraria, es poco frecuente en niños y en nuestros pacientes sólo se presentó en el 18 % de la población.

El rango de edad de los sujetos fue de 2-18 años con una media de 7.7, lo cual hace más probable su predisposición a padecer LLA.

Se eligieron cuatro citocinas con características proinflamatorias para ser determinadas, ya que se ha reportado que estas citocinas pueden ser empleadas como biomarcadores durante procesos inflamatorios. Las citocinas estudiadas fueron Interleucina 1 beta (IL-1 β), Interleucina 6 (IL-6) e Interleucina 8 (IL-8) y Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- α).

En la tabla 16 podemos observar una comparación de las concentraciones de las citocinas determinadas en los sueros de los pacientes del grupo I y II. De acuerdo al valor de p obtenido al comparar al grupo I y II para cada una de las cuatro citocinas, se formula una hipótesis nula (H_0) y una hipótesis alternativa (H_1), en donde la hipótesis nula corresponde a un valor de p mayor a 0.01 y nos indica que la diferencia no es estadísticamente significativa, por lo tanto no existe una asociación entre las variables comparadas. En cambio la hipótesis alternativa corresponde a un valor de p menor a 0.01 y nos indica que sí hay una diferencia estadísticamente significativa entre las variables comparadas, por lo tanto existe una asociación entre ellas.

Tomando en cuenta estos criterios, podemos decir que de acuerdo a los datos presentados en la tabla 16, el TNF- α , la IL-6 y la IL-8, muestran una diferencia estadística significativa entre los pacientes del grupo I y los del grupo II. Sin embargo, el TNF- α a diferencia de la IL-6 e IL-8, presenta los valores más elevados en el grupo II y no en el grupo I como se esperaba.

Los pacientes que conformaron el grupo II presentaron Síndrome Infiltrativo, el cual es característico en las primeras etapas de la leucemia. Este síndrome supone el crecimiento de ganglios, bazo o hígado; debido a la expansión de la cavidad medular por la proliferación celular monoclonal puede causar dolores óseos. Además, se ha observado que las leucemias con componente monoblástico

infiltran las encías con mayor frecuencia que las leucemias linfoblásticas. Las LLA de linfocitos T con frecuencia generan crecimiento de timo (Ruíz, 2009).

El TNF- α se produce ante la presencia de bacterias o productos bacterianos en el organismo. El estímulo más estudiado es el lipopolisacárido (LPS) de las bacterias Gram negativas, pero otros estímulos exógenos o endógenos, como el mismo TNF, GM-CSF o la IL-1 pueden aumentar su producción (Santan *et al.*, 2002).

El TNF- α es una molécula que tiene un espectro de acción sumamente amplio. Probablemente su función más importante es que puede inducir la apoptosis de las células blanco que tienen receptores de membrana capaces de unirse a la molécula. Esto convierte al TNF- α en una molécula efectora de las reacciones de citotoxicidad celular inespecíficas. Además, su concentración en el suero ha sido encontrada elevada en pacientes con VIH-SIDA, enterocolitis necrotizante del recién nacido, cáncer, paludismo y otras enfermedades crónicas que evolucionan con una pérdida de peso progresiva (García, 1997).

Debido a la gran cantidad de procesos en los que participa esta citocina, resulta inespecífico determinar la causa precisa de su elevación en sangre. En nuestro estudio, ésta molécula resultó encontrarse más elevada en aquellos pacientes que han sido recientemente diagnosticados con leucemia aguda que en aquellos que además de padecer la enfermedad, sufren cuadros de neutropenia febril.

En relación a nuestros resultados, en un estudio realizado en la Universidad de Texas y el Anderson Cancer Center en 2008, se evaluó el significado pronóstico de los niveles de algunas citocinas en pacientes recién diagnosticados con Leucemia Mieloide Aguda. Las citocinas determinadas fueron TNF-alfa, IL-1RA, IL-6 e IL-10. Los niveles de TNF- α fueron medidos en 198 pacientes los cuales recibieron terapia de inducción a la remisión, encontrándose que la tasa de remisión completa (CR) fue mayor en los pacientes con niveles de TNF- α menores a 10 pg/ml, en cambio en los pacientes con una tasa de CR más baja, los valores de TNF- α fueron mayor-igual a 10 pg/ml. Con estos resultados ellos concluyeron que los niveles elevados de TNF-alfa en el suero son asociados con resultados clínicos adversos en pacientes con LMA no tratada (Tsimberidou *et al.*, 2008).

De forma similar al estudio referido, debemos tomar en cuenta que nuestros pacientes del grupo II no habían recibido ningún tratamiento de quimioterapia para tratar su enfermedad, por lo cual es probable que la elevación del TNF- α en ellos se deba a los procesos biológicos implicados en la evolución de la leucemia aguda, como lo es el síndrome infiltrativo. El valor medio de de TNF- α reportado en estos sujetos fue de 327.16 pg/ml, el cual representa una concentración muy elevada

comparada con la obtenida en el estudio en Texas (10 pg/ml). Sin embargo, se deben de tomar en cuenta otros factores como la edad de los pacientes, ya que se ha observado en estudios con personas sanas que los niveles de algunas citocinas se modifican dependiendo de la edad del sujeto. La edad promedio de nuestros pacientes del grupo II fue de 6.8 años y se han encontrado valores de hasta 40 pg/ml de TNF- α en un rango de edad de 1-6 años y hasta 60 pg/ml de 7-17 años (Kleiner *et al.*, 2013). Debido a esto suponemos que el factor edad sumado a la condición de los pacientes, determinan la concentración de TNF- α encontrada en ellos.

Por otro lado, en la tabla también se observa un valor de p mayor a 0.01 que corresponde a IL-1 beta. Los resultados obtenidos de esta citocina muestran una concentración mayor en el grupo I que en el grupo II, pero la diferencia no es significativa.

El TNF e IL-1 β comparten muchos efectos biológicos y muestran efecto sinérgico. La concentración más elevada de IL-1 β en el grupo I, nos indica que es un biomarcador más sensible que el TNF- α para predecir procesos de neutropenia y fiebre, sin embargo, al activarse en gran cantidad de procesos biológicos en los que también participa el TNF- α , la diferencia en la sensibilidad de ambas citocinas no es reelevante.

Debemos considerar también en estos resultados el tiempo que transcurrió desde la aparición de fiebre al momento de la toma de muestra a los pacientes, ya que la concentración de las citocinas no es la misma una vez iniciado el proceso febril. El TNF- α y la IL-1 β se activan en primer lugar con un pico máximo a los 90 minutos y a continuación, el TNF- α activa directamente la IL-6. La IL-1 β lo hace a través de sus receptores IL-1RI e IL1RacP, este segundo paso se realiza entre las 3 y 6 h posteriores. Se postula que la liberación más lenta de la IL-6 es debida a su mayor peso molecular (Martí *et al.*, 2003).

El proceso de toma de muestra se realizó aproximadamente de dos a seis horas después de notificado el proceso febril en los pacientes. Esta es una variable a la cual podemos atribuir también las concentraciones menores de estas citocinas en el grupo I, pues en el momento de la punción el pico máximo de actividad de IL-1 β y TNF- α ya había ocurrido; sin embargo, para el caso de IL-6, el momento de la toma de muestra favoreció para determinar su concentración en sangre.

Las concentraciones de las interleucinas 6 y 8, determinadas en los pacientes del grupo I y II, mostraron una concentración significativa diferente entre ambos grupos. Los valores de estas citocinas fueron mayores en los pacientes con neutropenia y fiebre.

Las endotoxinas son buenos inductores de la síntesis de IL-6, y por ello, se le encuentra elevada en el suero de pacientes con infecciones o en enfermos con SIDA. La concentración de IL-6 se observa aumentada en el suero de pacientes con varios tumores y en las células del estroma del tejido neoplásico. Es el principal regulador de los genes que codifican para la síntesis de las proteínas de fase aguda (PFA). De este modo la IL-6 participa en la inducción de reacciones inflamatorias que se necesitan para controlar las infecciones.

La IL-8 puede ser producida por los linfocitos T, los monocitos, los leucocitos PMN, los fibroblastos, las células endoteliales, los melanocitos y los queratinocitos, después de que son estimulados por la IL-1 y TNF- α . Después de ser secretada al exterior, tiende a permanecer biológicamente activa aunque esté en contacto con peptidasas, proteinasas o agentes desnaturalizantes.

La IL-8 es un potente agente inductor de raciones inflamatorias, ya que contribuye a la infiltración de los tejidos con leucocitos PMN en el curso de numerosas enfermedades, tanto infecciosas como de etiología diferente. Es por esto que la IL-8 es de mucha utilidad en el seguimiento de los pacientes con neutropenia y fiebre.

Dentro de los resultados, podemos observar en los gráficos 8-11, los valores de las citocinas de acuerdo al tipo de leucemia aguda presentadas en los pacientes con neutropenia y fiebre. Estas leucemias fueron LLA (sin diferenciar), LLA-1, LLA-2, LLA-B, LLA-T, LMA 2 y LMA 3. Cabe señalar que la leucemia que presentó mayor frecuencia fue la LLA 2, con 33% de la población del grupo I.

En los gráficos que corresponden a IL-6 e IL-8, observamos que estas citocinas muestran concentración más elevada en los pacientes que presentan LMA tipo 2 y en segundo lugar en los que presentan LLA 2.

La leucemia mieloblástica aguda es más común que se presente en la población adulta que en la pediátrica, por lo tanto, para los niños representa un mayor riesgo. Esto lo podemos observar en la figura (10), en donde se compara el conteo de neutrófilos con el tipo de leucemia en los niños. Lo que observamos en esta gráfica es que los conteos más bajos, que indican una neutropenia grave, los presentan precisamente aquellos que padecen LMA de tipo 2, seguidos por los de LLA 2.

En el año 2012, en un estudio realizado por Vincas Urbonas y colaboradores publicado en el Journal Pediatric of Hematology-Oncology, ellos estudiaron el valor diagnóstico de las interleucinas 6 y 8 en la predicción temprana de bacteremia y sepsis en niños con neutropenia febril y cáncer. Dichas

citocinas fueron determinadas en 37 pacientes de entre 1 y 18 años de edad, la población más grande fue de varones y todos habían recibido tratamiento de quimioterapia. Los pacientes se dividían en dos grupos, los que tenían sepsis y aquellos que padecían fiebre de origen desconocido. De acuerdo a los resultados que se obtuvieron, sugieren que ambas interleucinas pueden ser usadas como marcadores tempranos para la exclusión de infección bacteriana en el comienzo de la neutropenia febril en niños con cáncer, pues en los pacientes con sepsis los valores de IL-6 e IL-8 (275 y 632 pg/ml respectivamente) fueron más elevados que en los que padecían fiebre de origen desconocido (Urbonas *et al.*, 2012).

De la misma forma, en una experiencia realizada en Chile, en 601 episodios de NF en niños con cáncer, se vio que IL-8 fue mayor a 200 pg/ml al ingreso de los pacientes y > 300 pg/ml, lo que indica que fue un buen predictor de sepsis (Paganini *et al.*, 2011).

Relacionando nuestros resultados con lo mencionado anteriormente, podemos decir que tanto la IL-6 como la IL-8, son las citocinas más sensibles para indicar procesos de neutropenia febril de origen infeccioso. En los pacientes del grupo I la IL-6 tuvo una media de 1908.79 pg/ml y la IL-8 de 3919.83 pg/ml. Además, de acuerdo al conteo de neutrófilos presentado en nuestros pacientes, observamos que los niños que sufren LMA son más propensos a padecer neutropenias graves.

De forma contraria a las citocinas proinflamatorias, fue posible también hacer la determinación sérica de interleucina 10 (IL-10), la cual se ha descrito como una citocina con características antiinflamatorias. La IL-10 deprime la síntesis de las principales citocinas inflamatorias que producen los macrófagos como, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, GM-CSF y G-CSF, sin embargo, es también un buen estimulante de la proliferación de los linfocitos T inmaduros, actúa sobre los timocitos y estimula la expresión de los marcadores CD3 (Filella, 2003).

Varios trabajos han revelado que la IL-10 inhibe las principales actividades de las células fagocíticas que han sido estimuladas *in vitro* con las endotoxinas o LPS de las bacterias Gram negativas. Este efecto se observa tanto en los macrófagos y los monocitos, como en los leucocitos PMN (García, 1997).

Con base en lo anterior, se puede pensar que los niveles séricos de IL-10 podrían resultar más elevados en los pacientes con leucemia aguda y NF respecto los pacientes que habían sido

recientemente diagnosticados con LA, sin embargo, al hacer la comparación del valor promedio de esta interleucina para ambos grupos, no se observó diferencia relevante entre las concentraciones obtenidas en ellos, pues en el grupo I su valor fue de 730.75 pg/ml y en el grupo II de 841 pg/ml.

La IL-10 no ha sido profundamente estudiada como un marcador para pronóstico de sepsis en pacientes oncológicos, sin embargo se han realizado estudios en sujetos con diferentes tipos de cáncer en donde se ha visto que esta interleucina es sobreexpresada por las células tumorales, lo cual aumenta su concentración en suero. Esto se ha observado en las últimas etapas de la mayoría de los cánceres humanos, por lo cual se ha asociado con un pronóstico negativo en la evolución de la enfermedad (Urbonas *et al.*, 2012).

Los biomarcadores, particularmente, han demostrado utilidad en diferentes estudios realizados en niños con cáncer, con el inconveniente que no detectan los microorganismos ni su susceptibilidad. No obstante, tienen la ventaja de que las cifras del biomarcador elegido pueden ser monitoreadas y utilizadas como un marcador de mejoría o fracaso al tratamiento (Urbonas *et al.*, 2012).

El valor diagnóstico de los marcadores de inflamación, podría diferenciar procesos infecciosos de los que no lo son, y el pronóstico predecir la severidad de un proceso patológico o enfermedad, permitiendo iniciar un plan terapéutico adecuado y midiendo su respuesta (Miguel *et al.*, 2012).

9. CONCLUSIONES

- Con base a la determinación sérica de citocinas, en el presente trabajo se reportaron niveles mayores en la concentración de IL-6 e IL-8 en pacientes con LA y neutropenia febril, en comparación con pacientes de diagnóstico nuevo de Leucemia.
- No se encontró diferencia significativa en los niveles séricos de IL-1 β entre pacientes con LA y neutropenia febril y pacientes con diagnóstico nuevo de Leucemia.
- Los pacientes con las concentraciones más elevadas en suero de IL-6 e IL-8 fueron aquellos que padecían Leucemia Mieloide Aguda y neutropenia febril.
- Los niveles más elevados de TNF- α fueron encontrados en los pacientes con diagnóstico reciente de leucemia y no en aquellos con neutropenia y fiebre.

10. PERSPECTIVAS

Estos resultados son la base para la realización de estudios posteriores en los cuales se propone la utilización de los niveles séricos de IL-6 e IL-8 como biomarcadores en el diagnóstico de procesos infecciosos en pacientes con neutropenia y fiebre.

Así mismo se propone la determinación de otras citocinas que participen en la regulación de procesos inflamatorios en distintos grupos de pacientes pediátricos como son: pacientes con diagnóstico reciente de leucemia sin tratamiento, pacientes con leucemia en tratamiento y neutropenia febril que además presenten sepsis y un grupo control en el que los sujetos no padezcan de leucemia ni neutropenia y fiebre.

A largo plazo se propone analizar estos biomarcadores como de factor pronóstico de sepsis en niños con leucemia aguda.

11. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Las limitaciones de este estudio fueron aquellas referentes a la población, ya que debido a las características requeridas en los pacientes a evaluar no se pudieron incluir un mayor número de muestras. Por otra parte no se analizaron un mayor número de citocinas que están implicadas en los procesos inflamatorios que conllevan la neutropenia y fiebre.

12. ETICA Y BIOSEGURIDAD

El presente estudio fue de riesgo mínimo para los pacientes incluidos. Se siguieron los lineamientos de la Declaración de Helsinki de la AMM - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, 2013 (Asociación Médica Mundial, 2015)

Así mismo, este estudio se apegó a los lineamientos de bioseguridad estipulados en la NORMA Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos (Diario Oficial de la Federación, 2015)

13. Referencias

1. Abbas, A., Lichtman, A. y Pillai, S. (2012). *Inmunología celular y molecular*. Barcelona, España: Elsevier.
2. Aguilar, F., Juárez, S. J. y Mejía, J. M. (2003). Conceptos básicos de epidemiología y estadística. *Revista Médica del IMSS*, 419-427.
3. *American Cancer Society*. Consultado (2 de 04 de 2014). Obtenido de: <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/002289-pdf.pdf>
4. Angarita, C. T. et al. (2013). Caracterización clínica y paraclínica de los pacientes pediátricos con diagnóstico de Leucemia Linfoide Aguda atendidos en el centro Javeriano de Oncología (2004-2012). *Pontificia Universidad Javeriana*, 316-321.
5. Asociación Médica Mundial. Consultado (10 de 09 de 2015). *Declaración de Helsinki de la AMM -Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos*. Obtenido de file:///C:/Users/U305/Downloads/declaracion%20de%20helsinki%202013.pdf
6. Aznar, E., Sánchez Yepes, M., Lorente Alegre, P., et al. (2010). Valor diagnóstico de la procalcitonina, la interleucina 8, la interleucina 6 y la proteína C reactiva en la detección de bacteremia y fungemia en pacientes con cáncer. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 273-277.
7. Ballesteros, M. A., Miñambres, E. y Fariñas, M. C. (2014). Sepsis y shock séptico. *Servicio de Medicina Intensiva, Unidad de Enfermedades Infecciosas*, 3352-3363.
8. Barros de Oliveira, C. M., Rioko, S., Machado, A., et al. (2011). Citocinas y dolor. *Revista Brasileira de Anestesiología*, 137-142.
9. Campuzano, G. (2008). Utilidad del extendido de sangre periférica: los leucocitos. *Medicina y Laboratorio*, 411-455.
10. Candido, J. y Thorsten, T. (2013). Cancer-Related Inflammation. *Journal of Clinical Immunology*, 79-84.
11. *CENETEC*. Consultado (15 de 08 de 2015). Diagnóstico temprano y oportuno de leucemia aguda en la infancia y adolescencia en el primer nivel de atención. Obtenido de: http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/061_GPC__Leucemia ped/SSA_061_08_GRR.pdf
12. Diario Oficial de la Federación. Consultado (10 de 09 de 2015). *NORMA Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012*. Obtenido de: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5284148&fecha=04/01/2013
13. Dorantes, E. M. y Medina, A. (2007). Protocolo de tratamiento con el esquema NOPHO-AML93 modificado en pacientes pediátricos del HIMFG con leucemia mieloide aguda. *Hospital Infantil de México Federico Gómez*, 1-41.

14. Ferrís y Tortojada, J. (1999). Factores de Riesgo para las Leucemias Agudas infantiles. *Servei de Anatomía Patològica. Secció de Neumologia Pediàtrica*, 439-446.
15. Filella, X. (2003). Citocinas. *Educaci3n continuada en el laboratorio clínic*, 1-6.
16. *Fundaci3n Josep Carreras*. Consultado (07 de 06 de 2015). Leucemia Mieloide Aguda Infantil. Obtenido de: http://www.fcarreras.org/es/leucemia-mieloide-aguda-infantil_359458
17. Gallipoli, P., Pellicano, F., Morrison, H., et al. (2014). Autocrine TNF-a production supports CML stem and progenitor cell survival and enhances their proliferation. *Blood Journal*, 3335-3339.
18. García, P. (2008). Inflamaci3n. *Real Academia de Ciencias Exactas Físicas y Naturales (Esp)*, 91-159.
19. García, F. (1997). *Fundamentos de inmunobiología*. México, D. F.: UNAM.
20. Gómez, D. y Jaime, J. C. (2012). *Hematología: la sangre y sus enfermedades*. México, DF.: McGraw-Hill.
21. Guzmán, B., et al. (2004). Citocinas y otras moléculas involucradas en sepsis y en pacientes con sepsis y complicaciones de neutropenia. *Colegio mexicano de alergía, asma e inmunología pediátrica, AC*, 15-23.
22. Hernández, D. F. y Cabiedes, J. (2010). Técnicas inmunológicas que apoyan el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes. *Reumatología clínica*, 173-177.
23. Hurtado, R., Solano, B. y Vargas, P. (2012). Leucemia para el médico general. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 11-25.
24. Jaime, J. C. y Gómez, D. (2012). *Hematología, la sangre y sus enfermedades*. México: Mc Graw Hill.
25. Jaimes, F. A., Rugeles, M. T., Velilla, P. A. y Diosa, M. A. (2011). Células con propiedades inmunoregulatoras y su impacto en la patogénesis de la sepsis. *Infectología al día*, 572-578.
26. Kleiner, G., Marcuzzi, A., Zanin, V., et al. (2013). Cytokine Levels in the Serum of Healthy Subjects. *Mediators of Inflammation*, 1-6.
27. Labardini, J. R., et al. (2011). Leucemia Linfoblástica Aguda. *Cancerología*, 111-115.
28. Leukemia and Lymphoma Society. (2014). *Leucemia Linfoblástica Aguda*. USA: AMGEN.
29. Lippitz, B. E. (2013). Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review. *Lancet Oncology*, 218-228.
30. Lona, J. C., et al. (2013). Frecuencia de factores de riesgo para bacteremia en niños con cáncer, neutropenia y fiebre en un hospital de tercer nivel del occidente de México. *Boletín Médico Hospital Infantil de México*, 304-309.

31. Manterola, C., Pineda, V. y Grupo MINCIR. (2008). El valor de "p" y la "significación estadística". Aspectos generales y su valor en la práctica clínica. *Revista Chilena de Cirugía*, 86-89.
32. Manuell, G. R., Cortés, G., Medina, A. y Garduño, J. (2012). Resultados en salud en niños con leucemia linfoblástica aguda con cobertura por el Sistema de protección Social en Salud . *Boletín Médico del hospital Infantil de México*, 151-152.
33. Martí, L., Moreno, A., Fillela, X., Marín, J., et al. (2003). Valor de las citocinas proinflamatorias como factor de predicción de sepsis y mortalidad en el anciano con fiebre. *Medicina Clínica*, 11-16.
34. Mayani, H., Flores, E., Pelayo, R., et al. (2007). Hematopoyesis. *Cancerología 2*, 95-107.
35. Menéndez, A., et al. (2013). Tratamiento de la Leucemia Mieloide Aguda del niño en Cuba . *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y hemoterapia*.
36. Merino, A. (2010). Clasificación de las Leucemias Agudas Mieloides. *Revista del Laboratorio Clínico*, 139-147.
37. Michel, G. (2008). Leucemia linfoblástica aguda del niño y del adolescente: clínica y tratamiento. *Pediatría*, 1-11.
38. Miguel, V., Casanoves, E., Pallás, L., et al. (2012). Valor pronóstico de los biomarcadores procalcitonina, interleukina 6 y proteína C reactiva en la sepsis grave. *Medicina intensiva*, 556-562.
39. Nathan y Oski's. (2015). *Hematology and Oncology of Infancy and Childhood*. Philadelphia: Elsevier.
40. *Organización Mundial de la Salud*. Consultado (Febrero de 2015). Obtenido de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>
41. Ortega, M. A., Osnaya, M. L. y Rosas Barrientos, J. V. (2007). Leucemia Linfoblástica Aguda. *Revistas Médicas Mexicanas*, 26-33.
42. Pérez, J. (2012). Neutropenia febril en pediatría . *CCAP*, 33-45.
43. Regueiro, J. R., López, C., González, S. y Martínez Naves, E. (2008). *Inmunología, biología y patología del sistema inmune*. Madrid, España: Médica Panamericana.
44. Rendón, M. E., Reyes, N. C., Villasís, M. A., et al. (2012). Tendencia mundial de la supervivencia en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda. Revisión de las últimas cuatro décadas. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 153-163.
45. Reyna, J., Lagunas, A., Fernández, F., et al. (2014). Sepsis en el niño con cáncer: problemas en su identificación y retos para su dismiución. *Punto de vista*, 128-135.
46. Reyna, J., Lagunas, A., Martínez, P., et al. (2015). Procalcitonina como biomarcador diagnóstico de sepsis en el niño con cáncer, neutropenia y fiebre: revisión de la literatura. *Sociedad Argentina de Pediatría*, 46-52.

47. Reynaud, D., Pietras, E., Barry, K., et al. (2011). IL-6 controls leukemic multipotent progenitor cell fate and contributes to chronic myelogenous leukemia development. *Cancer cell*, 661-673.
48. Ruíz, G. (2009). *Fundamentos de Hematología*. México: Editorial Médica Panamericana.
49. Saavedra, P., Vásquez, G. y González, L. A. (2011). Interleucina-6: ¿amiga o enemiga? Bases para comprender su utilidad como objetivo terapéutico. *Iatreia*, 157-166.
50. Sánchez, S., López, F. J. y Carreño, L. (2011). Interleucinas en la fisiopatología de la artritis reumatoide: más allá de las citocinas proinflamatorias. *Reumatología Clínica*, 20-24.
51. Sánchez, A., Monserrat, J., Rosique, P. y Moraleda Jiménez, J. (2012). Leucemias Agudas. *Enfermedades de la sangre (II)*, 1268-79.
52. Santana, C., González, G., Domenech, E., et al. (2002). Mediadores inflamatorios en la sepsis neonatal. *Hospital Universitario Materno-Infantil de Canarias*, 1-11.
53. SINAVE, DGE y SS. (2011). *Perfil epidemiológico de cáncer en niños y adolescentes en México*. México, D. F. : IEPSA.
54. Sociedad Argentina de Hematología. (2013). Leucemia Linfoblástica Aguda. *Hematología*, 83-115.
55. Sociedad Argentina de Hematología (2007). *Terapia Intensiva*. Buenos Aires: Medica Panamericana.
56. Tsimberidou, A. M., Estey, E., Wen, S., et al. (2008). The Prognostic Significance of Cytokine Levels in Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia and High-risk Myelodysplastic Syndromes. *American Cancer Society*, 1605-1613.
57. Urbonas, V., Eidukaite, A. y Tamuliene, I. (2012). The Diagnostic Value of Interleukin-6 and Interleukin-8 for Early Prediction of Bacteremia and Sepsis in Children With Febrile Neutropenia and Cancer. *Journal Pediatric of Hematology-Oncology*, 122-127.
58. Villasís, M., et al. (2012). Metaanálisis sobre los factores pronóstico relacionados con la mortalidad en niños con leucemia linfoblástica aguda . *Boletín Médico Hospital Infantil de México*, 175-189.
59. Wyszynski, R. W., Gibbs, B. F., Varani, L., et al. (2014). Interleukin-1 beta induces the expression and production of stem cell factor by epithelial cells: crucial involvement of the PI-3K/mTOR pathway and HIF-1 transcription complex . *Cellular & Molecular Immunology*, 1-10.
60. Zapata, M., Klünder, M., Cicero, C., et al. (2012). Análisis de la atención de las complicaciones durante el tratamiento de niños con leucemia linfoblástica aguda. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 218-225.

