



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



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI  
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD  
HOSPITAL DE PEDIATRÍA “DR. SILVESTRE FRENK FREUND”**

**CORRELACIÓN ENTRE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, INMUNOFENOTÍPICAS Y  
DE BIOLOGÍA MOLECULAR CON LA EXPRESIÓN DE CORTACTINA EN PACIENTES  
CON RECAÍDA POR LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.**

**TESIS  
PARA OBTENER EL  
GRADO DE ESPECIALISTA  
EN:  
GENÉTICA MÉDICA**

**PRESENTA:  
CARRILLO NAJAR CAROLINA**

**DIRECTOR:  
DR. CÁRDENAS CONEJO ALAN  
MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE GENETICA MEDICA Y PROFESOR  
ADJUNTO DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN GENÉTICA MEDICA. UMAE  
HOSPITAL DE PEDIATRÍA DR. SILVESTRE FRENK FREUND CENTRO MÉDICO  
NACIONAL SIGLO XXI IMSS**

**CO-DIRECTOR  
DR. NÚÑEZ ENRÍQUEZ JUAN CARLOS  
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD. UMAE HOSPITAL DE PEDIATRÍA DR.  
SILVESTRE FRENK FREUND CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, IMSS**

**CIUDAD DE MÉXICO, AGOSTO DE 2025**



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.



**CORRELACIÓN ENTRE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, INMUNOFENOTÍPICAS Y DE BIOLOGÍA MOLECULAR CON LA EXPRESIÓN DE CORTACTINA EN PACIENTES CON RECAÍDA POR LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.**

**Investigador(a) Responsable:** Doctor Cárdenas Conejo Alan

**Adscripción:** Médico adscrito a servicio de Genética Médica. CMN SXXI UMAE HPED IMSS

**Tel:** 55 5627 6900

**Correo electrónico:** alan.cardenasc@imss.gob.mx

**Colaborador 1:** Carrillo Najar Carolina

**Adscripción:** Residente servicio de Genética Médica. CMN SXXI UMAE HPED IMSS

**Tel:** 55 5627 6900

**Correo electrónico:** dracarolinacarrillonajar@gmail.com

**Alumno(a):** Carrillo Najar Carolina

**Adscripción:** Residente servicio de Genética Médica. CMN SXXI UMAE HPED IMSS

**Tel:** 55 5627 6900

**Correo electrónico:** dracarolinacarrillonajar@gmail.com



## Índice

<b>Abreviaturas</b>	<b>6</b>
<b>1. Resumen</b>	<b>7</b>
<b>2. Marco teórico</b>	<b>9</b>
<b>3. Antecedentes</b>	<b>35</b>
<b>4. Justificación</b>	<b>37</b>
<b>5. Planteamiento del problema</b>	<b>39</b>
<b>6. Pregunta de investigación</b>	<b>40</b>
<b>7. Objetivos</b>	<b>40</b>
<b>8. Hipótesis de trabajo</b>	<b>41</b>
<b>9. Material y métodos</b>	<b>42</b>
<b>10. Aspectos éticos</b>	<b>51</b>
<b>11. Recursos, financiamiento y factibilidad</b>	<b>53</b>
<b>12. Resultados</b>	<b>54</b>
<b>13. Discusión</b>	<b>70</b>
<b>14. Conclusiones</b>	<b>77</b>
<b>16. Anexos</b>	<b>80</b>
<b>17. Referencias bibliográficas</b>	<b>81</b>



### Índice de figuras

<b>Figura 1</b> .....	13
<b>Figura 2</b> .....	15
<b>Figura 3</b> .....	31

### Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> .....	18
<b>Tabla 2</b> .....	24
<b>Tabla 3</b> .....	32
<b>Tabla 4</b> .....	36
<b>Tabla 5</b> .....	54
<b>Tabla 6</b> .....	55
<b>Tabla 7</b> .....	55
<b>Tabla 8</b> .....	56
<b>Tabla 9</b> .....	57
<b>Tabla 10</b> .....	58
<b>Tabla 11</b> .....	59

### Índice de gráficas

<b>Gráfica 1</b> .....	59
<b>Gráfica 2</b> .....	60
<b>Gráfica 3</b> .....	61
<b>Gráfica 4</b> .....	62
<b>Gráfica 5</b> .....	63
<b>Gráfica 6</b> .....	64
<b>Gráfica 7</b> .....	65
<b>Gráfica 8</b> .....	66
<b>Gráfica 9</b> .....	67
<b>Gráfica 10</b> .....	68
<b>Gráfica 11</b> .....	69



## Abreviaturas

<b>CTTN</b>	Cortactina
<b>CD</b>	Grupo de diferenciación
<b>CNV</b>	Variante en el número de copias
<b>EGIL</b>	Grupo Europeo de Caracterización Inmunológica de Leucemias
<b>FAB</b>	French-American-British classification
<b>FISH</b>	Hibridación fluorescente in situ
<b>GWAS</b>	Estudios de asociación de genoma completo
<b>HDAC</b>	Histone deacetylase inhibitors
<b>HS1</b>	Hematopoyetic cell-specific lyn substrate 1
<b>HSCT</b>	Trasplante de células madre hematopoyéticas
<b>iAMP21</b>	Amplificación intracromosómica del cromosoma 21
<b>ICC</b>	International Consensus Classification
<b>LLA</b>	Leucemia linfoblástica aguda
<b>LLA-B</b>	Leucemia linfoblástica aguda células B
<b>LLA-T</b>	Leucemia linfoblástica aguda células T
<b>MFC</b>	Citometría de flujo multicolor
<b>MLPA</b>	Amplificación de Sondas Dependiente de Ligación Múltiple
<b>MRD</b>	Enfermedad residual cuantificable
<b>NGS</b>	Secuenciación de siguiente generación
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>OMS-HAEMS</b>	Clasificación de la Organización Mundial de la Salud de Tumores Hematolinfoides
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa
<b>PCR-RT</b>	Reacción en cadena de la polimerasa transcripción reversa
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>SNV</b>	Variante de un solo nucleótido
<b>WGS</b>	Secuenciación de genoma completo



## 1. Resumen

**Título.** Correlación entre las características clínicas, inmunofenotípicas y de biología molecular y la expresión de cortactina en pacientes con recaída por leucemia linfoblástica aguda.

**Antecedentes.** El cáncer infantil es una prioridad global, en donde se incluye a la leucemia, siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en niños. La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la neoplasia hematológica más común en la población pediátrica. El 73-85% de los casos de LLA se origina de linfocitos B (LLA-B). La LLA es una enfermedad heterogénea caracterizada por distintos subtipos moleculares, estas alteraciones genéticas tienen un papel central en la leucemogénesis y están asociados con distintas firmas de expresión génica, vías de señalización, características clínicas, respuesta al tratamiento y posibles desenlaces de la enfermedad. A pesar de los avances en el tratamiento, la recaída continúa siendo un desafío importante. La cortactina es una proteína implicada en la reorganización del citoesqueleto y en la migración celular, que ha sido asociada con el comportamiento invasivo en diferentes tipos de cáncer. Estudios recientes han demostrado que la sobreexpresión de cortactina está relacionada con la progresión de la enfermedad y mal pronóstico en distintas enfermedades hematológicas malignas, como leucemia linfoblástica crónica, linfomas de células B no Hodgkin, pero su papel en la LLA aún no ha sido completamente caracterizado.

**Objetivo.** Correlacionar las características clínicas, inmunofenotípicas y de biología molecular con la expresión de cortactina en pacientes con recaída por LLA.

**Material y métodos.** Se trató de un estudio de tipo observacional, comparativo, longitudinal y retrospectivo. Se seleccionaron pacientes con diagnóstico de LLA que además tuvieron recaída, atendidos en la UMAE HPED CMN SXXI. Se recabó información del expediente clínico para describir datos demográficos de los pacientes, como sexo, lugar de nacimiento, edad, así como datos clínicos, como la presencia de hepatomegalia, esplenomegalia, adenopatías o masa mediastinal; además de estudios de laboratorio al momento del diagnóstico, así como información al momento de la recaída a distintos sistemas, principalmente a sistema nervioso central, hematológico o a médula ósea. También se recabaron los datos obtenidos por el estudio de aspirado de médula ósea para realización de estudios de biología molecular como rearrreglos cromosómicos. Se obtuvo información de la muestra de médula ósea al momento del diagnóstico y de la recaída en los pacientes, para realizar la medición de la expresión de cortactina. Se compararon los niveles de expresión en



los dos momentos de la muestra y se correlacionaron las características clínicas, inmunofenotípicas y de biología molecular y la expresión de cortactina. Se observó una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la expresión de cortactina determinada por el sexo, demostrando que los pacientes masculinos aumentan la expresión de cortactina al momento de la recaída, comparada con la expresión al momento del diagnóstico, por medio de la prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes con  $p=0.04$ . Por otro lado, no se reportaron diferencias estadísticamente significativas entre la expresión de cortactina con las manifestaciones clínicas, por el tipo de rearrreglo cromosómico, por el sitio de recaída o el tiempo de recaída o por los valores de DHL.

**Recursos o infraestructura.** Se contaron con los recursos humanos, físicos y económicos para la realización de este proyecto.

**Experiencia del grupo.** Se contó con investigadores expertos en el área, quienes tienen amplios conocimientos y experiencia en el tema de Leucemias Linfoblásticas Agudas en el área pediátrica y en el ámbito genético de las mismas.

**Tiempo de desarrollo.** Dos años



## **2. Marco teórico**

### ***Leucemia linfoblástica aguda***

#### **Introducción**

El cáncer infantil es una prioridad global, en donde se incluye a la leucemia, siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en niños. Cuenta con una incidencia de 140 nuevos casos por millón al año, ocurriendo dentro de los primeros 14 años de vida (1).

#### **Definición**

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la neoplasia maligna más común en la infancia y una de las principales causas de muerte en niños y adolescentes, representa el 23% de los diagnósticos de cáncer en menores de 15 años (2,3).

La LLA surge de la transformación y proliferación descontrolada de células linfoides inmaduras, ya sea precursores de células B o progenitores linfoides T, estas células se detienen en cualquiera de las etapas inmaduras de la diferenciación linfoide y poseen la capacidad de invasión a médula ósea, torrente sanguíneo o sitios extramedulares (2,4).

#### **Epidemiología**

En Estados Unidos se tiene una incidencia estimada de 1 a 57 por cada 100,000 habitantes en el año 2014, con un aproximado de 5,960 nuevos casos diagnosticados y 1,470 muertes reportadas en el año 2018 (4). De forma global, en el 2019 se reportaron más de 150,000 nuevos casos. La LLA corresponde aproximadamente al 3% de los nuevos diagnósticos de cáncer, con una distribución heterogénea en cuanto a edad, sexo y región geográfica. De acuerdo con los reportes, se ha visto un incremento en la incidencia de la LLA de un 1.29% desde 1990 (2).

En América Latina la incidencia de LLA es mayor a la reportada en otras partes del mundo, con tasas de hasta 120 pacientes por millón por año (3). Dentro de los países de Latinoamérica, México ha reportado la mayor incidencia y mortalidad en leucemia infantil (5).



Un estudio descriptivo realizado en el 2011 por la Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica de la UMAE CMN SXXI, menciona que la incidencia reportada en la Ciudad de México corresponde sólo a una porción de la población, principalmente la atendida en el IMSS, en donde se reporta una incidencia general de leucemia de entre 55.4 a 58.4 por millón de habitantes y dentro de los grupos, la LLA tiene una incidencia de 43.2 a 44.9 por millón, para el linaje de células T se ha reportado una proporción de 23.6%, que es un dato más alto que lo reportado para la población caucásica o asiática (6).

La LLA cuenta con dos picos de presentación; el primer pico es cercano a los 5 años de edad; el segundo pico, alrededor de los 50 años de edad, datos más recientes refieren que la incidencia ha incrementado en población de edad más avanzada (aproximadamente a los 69 años de edad) (1,2,7). La edad más frecuente de presentación en etapa pediátrica es dentro del grupo de edad de 3 a 5 años (3).

De forma global, la mayor incidencia reportada para LLA, se observa desde pacientes recién nacidos hasta niños de 9 años de edad (2). Cerca del 60% de los casos son diagnosticados antes de los 20 años de edad, con una media de 16 años (4,7). La relación hombre-mujer varía entre 1.22 a 1.41 (2).

### **Mecanismos moleculares/ fisiopatología**

La LLA es una enfermedad heterogénea caracterizada por distintos subtipos moleculares, en los que se incluyen aneuploidías, rearrreglos cromosómicos, variantes en el número de copias (CNV) y expresión disregulada de genes. Estas alteraciones genéticas tienen un papel central en la leucemogénesis y están asociados con distintas firmas de expresión génica, vías de señalización, características clínicas, respuesta al tratamiento y posibles desenlaces de la enfermedad (2).

### **Factores de riesgo**

Se han identificado distintos factores de riesgo o condiciones que pueden predisponer al desarrollo de LLA, dentro de los que se encuentra sexo masculino, etnicidad caucásica, antecedente de hermano con diagnóstico de leucemia, exposición a radiación ionizante, quimioterapia o radioterapia y exposición a otras toxinas (2).



## Susceptibilidad genética

A pesar de que la LLA se presenta en individuos sanos, se ha identificado susceptibilidad genética, así como factores de riesgo ambientales que pudieran estar involucrados. En la población pediátrica se han identificado distintos síndromes con predisposición a LLA, así como variantes alélicas que también se han asociado con un aumento en la susceptibilidad con un efecto aditivo; por lo que se ha sugerido un modelo poligénico. Mediante estudios de asociación de genoma completo (GWAS), se han identificado genes relacionados a esta enfermedad, que están involucrados en la proliferación y diferenciación de células sanguíneas, lo que sugiere una contribución directa en la vulnerabilidad de las células hematopoyéticas, llevándolas a tumorigénesis (4).

El involucro de factores genéticos en el desarrollo de LLA se pueden categorizar en dos grupos según la susceptibilidad a desarrollar la enfermedad; el primero, de baja penetrancia, que están relacionados a polimorfismos germinales comunes, resultando en un riesgo moderado, aumentando de 1.5 a 2 veces el riesgo, en el segundo, se encuentran los de alta penetrancia, que están asociados a variantes germinales poco frecuentes, llevando a un incremento de hasta 10 veces más de desarrollar LLA (2).

Dentro del primer grupo se han descrito variantes en algunos genes, dentro de los que se incluyen a *ARID5B*, *IKZF1*, *IKZF3*, *CEBPE*, *CDKN2A*, *CDKN2B*, *PIP4K2A*, *ETV6*, *GATA3*, *ERG*; algunos de estos genes codifican para factores de transcripción hematopoyéticos (2,4).

La segunda categoría incluye variantes germinales menos frecuentes, en genes asociados a síndromes de predisposición a cáncer. En este grupo se pueden distinguir síndromes causados por variantes raras, de baja penetrancia, pero con asociación a LLA, de aquellos síndromes con variantes de alto riesgo de predisposición a cáncer. Ejemplo de lo anterior son algunos síndromes, como Síndrome Down, Anemia de Fanconi, Ataxia Telangiectasia, Síndrome de Bloom, Síndrome Rubinstein-Taybi, Síndrome de Noonan, entre otros como la deficiencia constitucional de maquinaria de reparación de bases mal apareadas (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) y síndrome de Li-Fraumeni (*TP53*) (2,4).



También se han descrito como factores de predisposición a desarrollar LLA, variantes estructurales como translocaciones robertsonianas entre los cromosomas 15 y 21; así como variantes de un solo nucleótido (SNV) (4).

La LLA en etapa pediátrica ha sido ampliamente estudiada, principalmente con respecto a las bases moleculares de predisposición y desarrollo de la leucemia. De acuerdo con lo anterior, han surgido diferentes hipótesis, incluyendo exposición exógena o endógena a toxinas, susceptibilidad genética por variantes germinales o por eventos aleatorios, también se han involucrado a los procesos infecciosos. Una de las hipótesis se basa en la observación de un evento inicial, el primer "hit", como LLA hiperdiploide, rearrreglos como *ETV6::RUNX1*, *BCR::ABL1*, *TCF3::PBX1* y *KMT2A*, que se genera in útero a partir de la expansión clonal de un grupo de células hematopoyéticas que tienen estas mutaciones pero que no han progresado a una etapa de leucemia completa, también conocidas como clones preleucémicos. En un grupo limitado de individuos con los clones preleucémicos, sumado a la falta de exposición a infecciones en la infancia, se puede presentar un segundo hit, desencadenada posnatalmente debido a una infección inducida por estrés. Esta hipótesis es conocida como la hipótesis de la "infección retardada" de Greaves, que potencialmente podría promover LLA pediátrica (2).

Se ha descrito que, dentro de la fisiopatología, las alteraciones a nivel genético que incluyen rearrreglos estructurales somáticos, CNV y SNV, modifican el control del crecimiento celular, la proliferación celular, la diferenciación linfóide y la supervivencia celular. Gran parte de estos rearrreglos determinan perfiles de expresión diferentes, lo que pudiera afectar a los patrones de desarrollo linfóide. Otros alteran la vía de señalización de tirosin-cinasa, las vías mediadas por citocinas, oncogenes y supresores tumorales, señalización de la vía Ras y remodelamiento de la cromatina (2).

La inclusión de nuevas tecnologías moleculares, como la secuenciación de siguiente generación (NGS) ha llevado a la identificación de variantes germinales implicadas en LLA familiar, dentro de las que se describen los siguientes genes: *SH2B3*, *TP53*, *RUNX1*, *TYK2*, *IKZF1*, *PAX5* y *ETV6* (2).

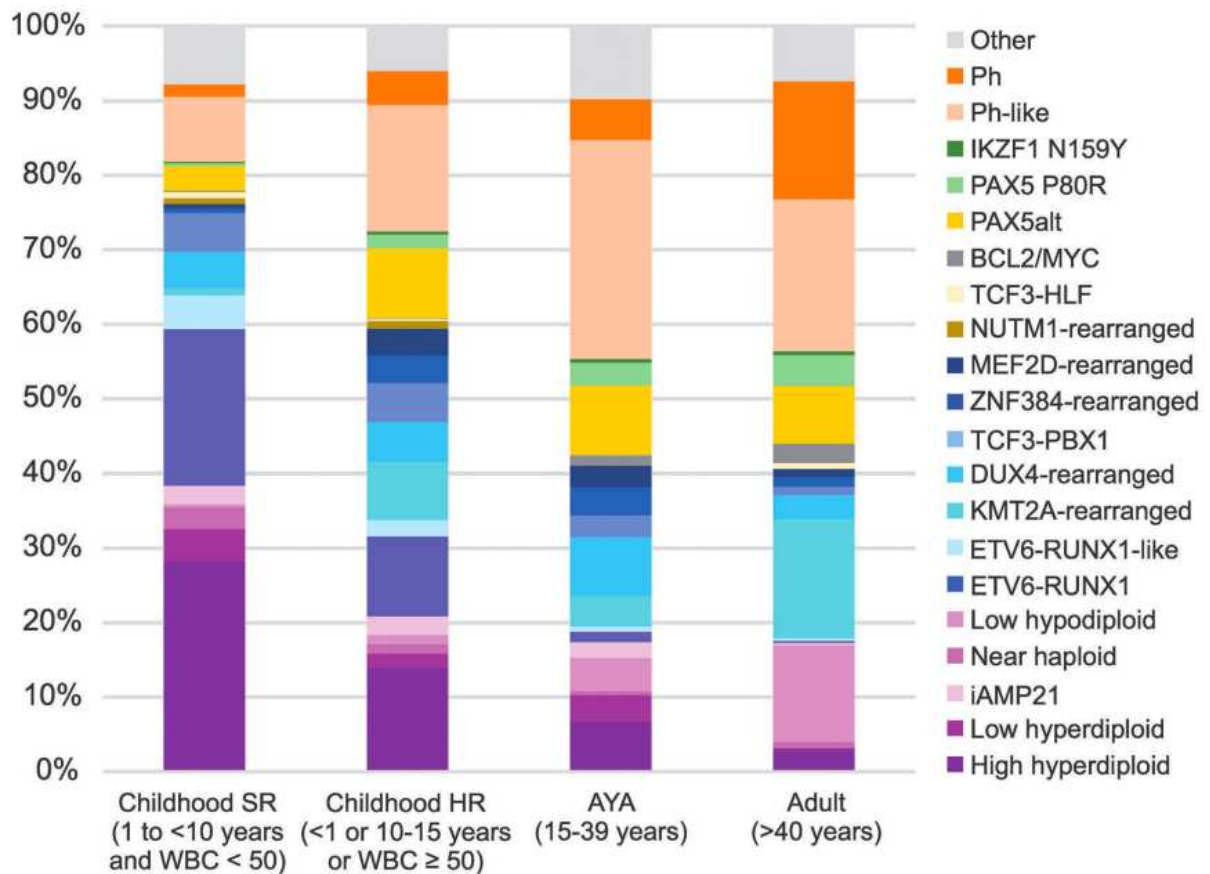
En la siguiente imagen se observa la distribución de los subtipos de LLA-B. Se comprenden más de 20 subtipos, con una prevalencia variable de acuerdo con la edad y que están



asociados con diferentes perfiles de expresión génica, como se mencionó previamente, se diferencian tres grandes grupos, en donde se incluyen aneuploidías, rearrreglos cromosómicos y variantes puntuales. En cada uno de los subtipos, el mecanismo lleva a la alteración del desarrollo linfoide, alteración de la regulación del ciclo celular, de señalización celular y reguladores de la cromatina (8).

**Figura 1**

**Distribución de los subtipos de LLA-B por cada grupo de edad.**



Nota: SR: riesgo estándar; HR: riesgo alto; WBC: conteo de glóbulos blancos; AYA: adolescentes y jóvenes adultos.

Imagen tomada de Inaba, H., & Mullighan, C. G. (2020). Pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*, 105(11), 2524–2539.

<https://doi.org/10.3324/haematol.2020.247031>



## **Cuadro clínico**

La LLA se presenta como una infiltración blástica en la médula ósea, así como en otros órganos periféricos como hígado, bazo y ganglios linfáticos, esto, lleva a elevación de glóbulos blancos, disminución de glóbulos rojos y de plaquetas, además, puede involucrar al sistema nervioso central (SNC). También se pueden afectar otros tejidos como órbitas, testículos y adenoides (2).

En cuanto a la presentación clínica se manifiesta típicamente de forma repentina, sin embargo, en algunos casos puede progresar gradualmente en pocos meses. Los síntomas predominantes son consecuencia de citopenias e incluyen fatiga y debilidad secundaria a anemia, cuadros infecciosos neutropénicos o fiebres paraneoplásicas y diátesis hemorrágica (2).

Frecuentemente se presenta con datos inespecíficos, dentro de los que se incluyen fiebre, fatiga, falta de apetito y pérdida de peso; por otro lado, algunos hallazgos pueden ser más preocupantes como la presencia de linfadenopatía localizada o generalizada, hepatoesplenomegalia y dolor óseo (9).

## **Diagnóstico**

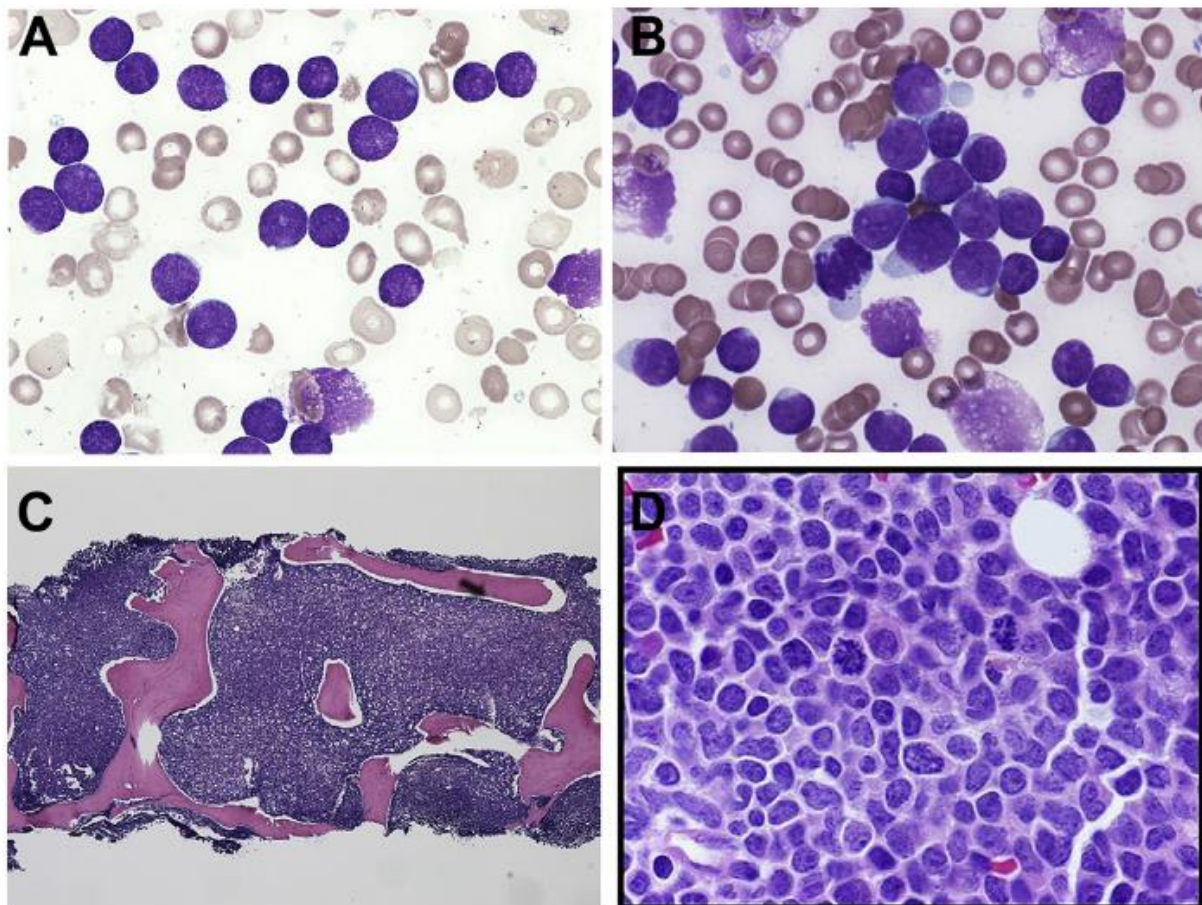
En los hallazgos de laboratorio, se encuentra anemia, trombocitopenia, neutropenia y leucopenia o leucocitosis (2).

El conteo de glóbulos blancos es muy variable y puede ir desde leucopenia con pocos y ningún blasto circulante, hasta una marcada leucocitosis con un gran número de blastos circulantes. Morfológicamente, la apariencia clásica de los linfoblastos, sin importar del linaje, se describe como células de tamaño pequeño a mediano, con una proporción núcleo-citoplasma muy alto, contorno nuclear irregular y con frecuencia con muescas, cromatina dispersa, nucleolos visibles pero muy discretos, cantidad mínima de citoplasma basófilo con vacuolización o gránulos no significativos. La morfología del linfoblasto es similar en sangre periférica que en médula ósea; la presencia de blastos con un pseudópodo citoplasmático unipolar (también

llamadas células en espejo de mano), son más fácil de apreciar en frotis por aspirado de médula ósea, como lo referido en el panel B de la figura 2 (9).

**Figura 2**

**Morfología de linfoblastos.**



En la figura previa podemos observar la morfología de los linfoblastos. **A.** Linfoblastos en sangre periférica, tinción Giemsa, magnificación x1000 con gota de aceite de inmersión. **B.** Linfoblastos en médula ósea, tinción Giemsa, magnificación x1000 con gota de aceite de inmersión. **C.** Hiper celularidad en biopsia de médula ósea mostrando áreas de necrosis, tinción hematoxilina-eosina, magnificación x20. **D.** Actividad mitótica incrementada con mitosis anormal, tinción hematoxilina-eosina, magnificación x400.



Imagen tomada de Luca D. C. (2021). Update on Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma. *Clinics in laboratory medicine*, 41(3), 405–416. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2021.04.003>

La LLA tiende a mostrar un involucro extenso al espacio de la médula ósea y como consecuencia, hay una reducción marcada del linaje hematopoyético. Al realizar biopsia de médula ósea podemos encontrar zonas de necrosis además de la hiper celularidad. La LLA es la causa más común de necrosis de médula ósea en la población pediátrica (9).

La hiperleucocitosis ( $>100 \times 10^9/L$ ) se encuentra presente hasta en el 18% de los pacientes pediátricos, en pacientes adultos va de 10 al 30%. Las fusiones entre *BCR::ABL1*, *TCF3::PBX1*, la presencia de masa mediastinal y el involucro a SNC están frecuentemente asociados con hiperleucocitosis (2).

Para la confirmación diagnóstica se requiere realizar biopsia y aspiración de médula ósea y para complementar el diagnóstico se puede realizar citometría de flujo multiparamétrica. El inmunofenotipo determina los linajes celulares, define los subgrupos y monitorea enfermedad residual cuantificable (2).

La punción lumbar permite el estudio del líquido cefalorraquídeo en la búsqueda de blastos y usualmente es realizada junto con la aspiración de médula ósea con o sin la toma de biopsia, al momento del diagnóstico, así como para estudios de seguimiento. La identificación de blastos en el líquido cefalorraquídeo puede ir desde una cantidad abundante hasta la presencia de sólo 1 o 2 células malignas (9).

El diagnóstico de LLA se establece mediante la aspiración de médula ósea, cuando la presencia de linfoblastos B o T constituye  $>20\%$  de las células de la médula ósea, determinado por citometría de flujo o evaluación citológica microscópica. Posteriormente, determinar el inmunofenotipo es esencial para definir y clasificar los fenotipos de células B o T y sus subgrupos. Algunos procedimientos adicionales como los de citogenética convencional o la caracterización genómica, representan elementos cruciales de la evaluación diagnóstica que permiten la toma de decisiones terapéuticas (2).



## Clasificación

Previamente y de forma histórica, se contemplaba la clasificación realizada en 1976 un grupo de hematólogos, designada como FAB (por sus siglas en inglés, French-American-British); dentro de esta clasificación se mencionan 3 grupos distintos, en los que se toman en consideración hallazgos citológicos para su descripción, el primer grupo es LLA-L1, en el que se encuentran células pequeñas con cromatina nuclear homogénea, núcleo de forma regular, nucleolo pequeño o ausente, citoplasma escaso y basofilia de leve a moderada; LLA-L2, con células grandes y heterogéneas con cromatina nuclear variable, núcleo de forma irregular, 1 o más nucleolos, cantidad variable de citoplasma y basofilia variable; por último, LLA-L3, se describen células grandes y homogéneas, con cromatina fina y punteada, núcleo de forma regular, con nucleolo prominente y citoplasma abundante y muy basófilo, la característica principal es la presencia de vacuolas citoplasmáticas (10).

Después de su publicación entre los años 1976 y 1996, se presentaron grandes avances en el conocimiento de este tema, basado principalmente en el análisis genético y molecular, en conjunto con los hallazgos citogenéticos y la descripción de su inmunofenotipo. Estos hallazgos frecuentemente son fuertes predictores del comportamiento clínico, incluyendo la respuesta terapéutica, así como el pronóstico a largo plazo (9,10).

A pesar de que la clasificación por la FAB fue reemplazada por la clasificación más reciente de la OMS (Organización Mundial de la Salud), la primera sigue siendo relevante para la evaluación morfológica inicial en casos sospechosos de leucemia, especialmente en los casos de leucemia aguda y son de utilidad para realizar descripciones morfológicas iniciales (10).

De acuerdo con el ICC (International Consensus Classification), la clasificación más actual de LLA de células B (LLA-B) y LLA de células T (LLA-T), incluye la revisión previamente realizada por la OMS en 2016. La clasificación ICC incorpora datos clínicos, citogenéticos y moleculares recientes, con énfasis en estudios moleculares como análisis de transcriptoma y expresión génica (11).



**Tabla 1**

**Clasificación de leucemia linfoblástica y linfoma.**

<b>LLA-B/ linfoma</b>
NOS (not otherwise specified/ no especificado)
Con rearrreglos recurrentes
t(12;21)(p13.2;q22.1); <i>ETV6-RUNX1</i>
Hiperdiploidia
t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>
<i>KMT2A</i>
Hipodiploidia
<i>BCR-ABL</i> like
iAMP21
t(1;19)(q23;p13.3); <i>TCF3-PBX1</i>
t(5;14)(q31.1;q32.1); <i>IGH/IL3</i>
<b>LLA-T/ linfoma</b>
NOS
Precursor células T temprano
<b>LLA/ linfoma-NK</b>

Nota: NK: natural killer

Imagen obtenida de Luca D. C. (2021). Update on Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma. *Clinics in laboratory medicine*, 41(3), 405–416. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2021.04.003>

En la tabla anterior se aprecia la clasificación actual para leucemias linfoblásticas de células B y de células T, así como de linfomas. En el primer grupo se encuentran las LLA-B, en donde se subdividen en 4 subtipos, el primero es sin otras especificaciones; el segundo con el hallazgo de alteraciones genéticas recurrentes como rearrreglos cromosómicos, tales como translocaciones y otros hallazgos citogenéticos como aneuploidías; el tercero con fusión de oncogenes y el último con otras mutaciones. Posteriormente se describe el grupo de LLA-T (9).

Las leucemias linfoblásticas son entidades con predominio en población pediátrica (9). De todas las leucemias, el 73-85% de los casos se origina de linfocitos B (1,2). De todos los casos de leucemias agudas en niños, aproximadamente del 80 al 85% de los casos son de tipo linfoblásticas y solo el 20% de las leucemias agudas en adultos muestran linaje linfoide inmaduro. En este tipo específicamente, la mayoría de los casos, hasta 75%, ocurren antes de los 6 años de edad (9,12).



### **Leucemia linfoblástica aguda de células B**

La LLA-B es una neoplasia de precursores de células B, también conocidos como linfoblastos B. Clínicamente, se muestra involucro extramedular, que puede afectar SNC, ganglios linfáticos, hígado, bazo y testículos (9).

La LLA-B tiene distintos subtipos, en donde se incluyen las aneuploidías y los rearrreglos cromosómicos, esto resulta en una disregulación del producto funcional por la formación de genes quiméricos o en una sobrerregulación de genes por la yuxtaposición con algún elemento como un enhacer. Ejemplo de lo anterior es la fusión del gen *ETV6* y de *RUNX1* [t(12;21)(q13;q22)] y del gen *TCF3* y *PBX1* [t(1;19)(q23;p13)], ambas se han asociado con un pronóstico favorable. Mientras que la fusión del gen *TCF3* y de *HLF* se ha asociado con pobre pronóstico y está presente en menos del 1% de los pacientes con LLA. La fusión entre el gen *BCR* y *ABL* [t(9;22)(q34;q11)] se ha asociado también a pobre pronóstico, sin embargo, tiene una mejora considerable con el tratamiento con inhibidores de tirosin-cinasa (4).

### **Aspectos moleculares de la LLA-B**

**Aneuploidías.** En este grupo, la hiperdiploidia alta (51-65 cromosomas) ocurre en aproximadamente del 25 al 30% de la población pediátrica y en menos del 3% de los adultos con LLA-B, algunos otros estudios demuestran que se presenta en el 7-8% de la población adulta, tiene un pronóstico favorable, igual que el anterior con una remisión a largo plazo del 90%. Las copias extras más comunes son las del cromosoma 21, X, 14 y 4. También se ha descrito una asociación con un mejor pronóstico, con el hallazgo de trisomías del cromosoma 4, 10 y 17. Estas alteraciones numéricas se pueden apreciar con la realización de técnicas de citogenética como el cariotipo, por lo que es ampliamente recomendado, así como otras técnicas como el estudio de FISH. Muchos de los pacientes además presentan mutaciones en la vía de señalización de Ras y en modificadores de histonas. Por otro lado, la hipodiploidia baja (32-39 cromosomas) en pediátricos (1%) y en adultos (10%), se caracteriza por variantes en *TP53* y deleciones en *RB1*, *IKZF2* y *CDKN2A/B*. La casi haploidía, un subtipo de hipodiploidia (near-haploidy) (24-31 cromosomas) es poco frecuente en niños (2-3%) y en adultos (<1%), se asocia con mutaciones en receptores de la vía de señalización de tirosin-cinasa, en la vía de señalización de Ras (*NF1*, *NRAS*, *FLT3*), modificadores de histonas



(*CREBBP*) y con la inactivación de *IKZF3*. La hipodiploidia baja y la casi haploidía muestran activación de la vía de señalización de Ras y de PI3K, que se asocian a pobre pronóstico (2,9).

**Amplificación intracromosómica del cromosoma 21 (iAMP21-ALL).** Representa del 2 al 3% de la población pediátrica con LLA-B, con una media de edad entre 9-10 años y es muy poco frecuente en adultos, además, se caracteriza por un conteo bajo de glóbulos blancos. La formación del cromosoma iAMP21 surge de ciclos de ruptura-fusión-puente seguidos de cromotripsis; es altamente heterogéneo entre pacientes y puede ser identificado por estudios moleculares como microarreglos o secuenciación de genoma completo (WGS), debido a un perfil de número de copias distintivo, en donde se pueden encontrar más de 5 copias del gen *RUNX1* por célula. Dentro de los principales cambios secundarios asociados, los más frecuentes son las alteraciones en la en la vía de señalización de JAK-STAT, en la vía de señalización Ras, en la diferenciación de células B y en otros reguladores transcripcionales. Inicialmente se asociaba con pobre pronóstico, sin embargo, un tratamiento intensivo ha mejorado drásticamente el desenlace de la enfermedad, principalmente en niños (2,9).

**Rearreglos cromosómicos.** La translocación  $t(9;22)(q34;q11.2)$  es el rearreglo más común en adultos, que se asocia a la expresión de la fusión entre *BCR* y *ABL1*, que codifica para una proteína de activación en la vía de señalización tirosin-cinasa y que lleva al desarrollo de leucemia. La frecuencia de este rearreglo incrementa con la edad: 5% en niños y 25% en adultos. La LLA-B con la presencia del cromosoma Philadelphia representa el subgrupo con el peor pronóstico. El tratamiento con inhibidores de tirosin-cinasa ha mejorado significativamente el pronóstico en estos pacientes. También se sugiere la realización de otros estudios moleculares como FISH al momento del diagnóstico (2,9). Este rearreglo confiere un pronóstico pobre en los pacientes con LLA sin tratamiento con inhibidores tirosin-cinasa (13).

Otro subtipo es el rearreglo *BCR-ABL1*-like también conocido como pH-like (por cromosoma Philadelphia like), en la que por definición no se encuentra la translocación pero muestra un patrón de expresión génica similar a lo observado en la LLA-B con cromosoma Philadelphia  $t(9;22)(q34;q11.2)$ . Es un subtipo encontrado del 10 al 25% de los pacientes con LLA-B. Este tipo de leucemias usualmente presentan un alto conteo de glóbulos blancos al momento del diagnóstico (9). Se refiere que conlleva un riesgo alto y se presenta de forma frecuente en población hispana. El pH-like se caracteriza por rearreglos o CNV que involucran genes



receptores de cinasa, se ha demostrado que los pacientes presentan mayor expresión de *CRLF2*, *GPR110*, *MUC4* y otros genes asociados con la actividad tirosin cinasa y pérdida de *IKZF1*, *BTLA/CD300*, *RAG1-2* y *EBF1*; todas estas alteraciones se han reportado con mayor frecuencia en población latina (14).

Por otro lado, la translocación  $t(12;21)(p13;q22)$  resulta en la fusión de *ETV6* y *RUNX1*, que es el rearrreglo estructural más común en niños con LLA-B, representando un 25% de los casos, es mucho menos frecuente en adultos (<1 al 3%) y se asocia con un pronóstico favorable en cualquiera de los dos grupos. Se describe una tasa de remisión a largo plazo de 90%. La fusión entre *ETV6* y *RUNX1* comúnmente es adquirida in útero y requiere modificaciones genéticas adicionales para inducir leucemia, como mutaciones en *WHSC1*, *KRAS*, *NRAS* y deleciones en *PAX5*. Son necesarios estudios moleculares adicionales para la detección de esta alteración, ejemplo de ello serían estudios de hibridación fluorescente in situ (FISH) al momento del diagnóstico (2,9).

De acuerdo con lo anterior, la predisposición a leucemia asociada a *PAX5*, con modelo de herencia autosómico dominante, causado por variantes patogénicas germinales en *PAX5*, que se ha relacionado a predisposición a LLA, en estudios animales, con modelos murinos describen que el KO de este gen lleva a un bloqueo en la diferenciación de células B, mientras que en humanos, mutaciones somáticas o translocaciones afectando a *PAX5*, comprenden hasta una tercera parte de los casos de LLA-B, de acuerdo con otros datos representa aproximadamente 10% de las LLA-B. Dentro de este subtipo se describen 2 grupos, el primero es *PAX5* p.Pro80Arg y en el segundo se engloban otras alteraciones de *PAX5*, como rearrreglos, amplificaciones intragénicas o mutaciones, designado como *PAX5alt*. Este subtipo tiene un desenlace variable, pero se considera que tiene un pronóstico de intermedio a pobre en niños y adultos (9,15).

La translocación  $t(1;9)(q23;p13)$ , que lleva a la fusión de *TCF3* y *PBX1*, está presente en el 6% de los niños y adultos con LLA-B y está ligada a un pronóstico favorable con el tratamiento con quimioterapia actual. La fusión de estos genes activa la señalización de receptores de células pre-B e induce una sobrerregulación de *BCL6* (2,9). Se ha reportado que esta fusión génica se ha asociado con pobre pronóstico en pacientes con LLA (13).



Contrario a lo que ocurre con la fusión entre *TCF3* y *HLF* y entre *TCF4* y *HLF*, que están presentes en <1% de los pacientes con LLA-B y que están asociados a pronóstico pobre. Además, se ha demostrado la activación de la vía de señalización de Notch en los rearrreglos que involucran *HLF* (2).

Con el uso de nuevas tecnologías, se han descrito otros rearrreglos que no habían sido identificados por el análisis convencional, como los rearrreglos en *DUX4*, que se presentan en el 7% de los pacientes y que se han asociado a un excelente pronóstico. También se han asociado con la delección intragénica de *ERG*, resultando en la expresión de una isoforma de *ERG* (ERGal) (2).

Los rearrreglos en *ZNF384* se caracterizan por un fenotipo débil para CD10 y una expresión aberrante de los marcadores de linaje mielóide CD13 y/o CD33, representa del 3-6% en la población pediátrica y del 3-10% en adultos con LLA-B, se asocia con pronóstico intermedio (2).

Las fusiones recurrentes con *MEF2D*, se encuentran en el 2-4% de los niños y en el 2-7% en adultos con LLA-B, se han asociado con pronóstico pobre. Se han descrito hasta 10 genes con los que pudiera estar fusionado, el más común es *BCL9* y *HNRNPUL1*, representando más del 80% de los casos. Los rearrreglos de *MEF2D*, se caracterizan por una expresión aumentada de *HDAC9*, delecciones de *CDKN2A/2B*, sobreexpresión de genes que codifican la señalización de receptores de células pre-B, mutaciones en la vía de señalización Ras y sensibilidad a HDAC (histone deacetylase inhibitors) (2).

Se han descrito alteraciones en *IKZF1* en LLA-B de alto riesgo, dentro de las más frecuentes son las delecciones de *IKZF1*. Variantes puntuales en *IKZF1* son un subtipo nuevo, presente en menos del 1% de las LLA-B, que resulta en una sobreexpresión de *YAP1* y de *SALL1* (2).

Los rearrreglos con *MYC* frecuentemente se asocian con linfomas agresivos de células B maduras, sin embargo, estas translocaciones se reportan en hasta el 4% de las LLA-B en adultos y mucho menos en LLA-B en pacientes pediátricos. Estas leucemias están asociadas a un muy pobre pronóstico. Por otro lado, y poco frecuente en población pediátrica, se encuentran también los rearrreglos de *NUTM1*, que tienen un pronóstico favorable (11).



Otras variantes puntuales son las que se presentan en *ZEB2*, en menos del 1% de los casos, asociado con sobreexpresión de *LMO1* y regulación a la baja de *SMAD1* y *BMP2*, además, se asocian con una supervivencia libre de enfermedad pobre y una alta tasa de recaída (2).

### **Diagnóstico de LLA-B**

El diagnóstico de LLA se basa en las guías de la OMS 2016, en donde se integran morfología celular, inmunofenotipo, genética y citogenética (4).

El grupo Europeo de Caracterización Inmunológica de Leucemias (EGIL por sus siglas en inglés) ha descrito una clasificación basada en el inmunofenotipo, de acuerdo con marcadores de maduración presentes. Se diferencian subtipos según los marcadores de grupo de diferenciación (CD) en LLA-B (CD19, CD20, CD22, CD24 y CD79a) (2).

La clasificación de LLA-pro B (EGIL B-I) se basa en la presencia de al menos de los siguientes marcadores de diferenciación de células B: CD19, CD22 y CD79a. CD10, también conocido CALLA (common acute lymphoblastic leukaemia) identifica el subtipo EGIL B-II y la presencia de Ig $\mu$  (mu; c $\mu$ ) identifica al subtipo de células pre B (EGIL B-III). A pesar de que se puede reconocer un fenotipo de blastos maduros (EGIL B-IV), por ejemplo linfoma de Burkitt o leucemia de células de Burkitt, por la presencia de IgM, la Clasificación de la Organización Mundial de la Salud de Tumores Hematolinfoides (OMS-HAEMS 2022) no los clasifica como LLA-B, si no como neoplasias de células B maduras, sin embargo, este subgrupo es muy heterogéneo; se describe que se pueden incluir es este subtipo LLA-B poco frecuentes, que expresan TdT (terminal deoxynucleotidyl transferase). En las LLA positivas a cromosoma Philadelphia, se pueden expresar CD13 y CD33, así como CD34 (2).

De acuerdo con lo descrito en la tabla 1, se muestran los subtipos inmunológicos de LLA-B de acuerdo con los marcadores de diferenciación de células B, además, se describe su frecuencia en población pediátrica y en adultos, así como consideraciones en cuanto al pronóstico (2).



**Tabla 2**

**Subtipos inmunológicos de LLA-B.**

Subtipo	Característica	Frecuencia (%)	Pronóstico
<b>Pro-B</b>	CD19 <sup>+</sup> , CD22 <sup>+</sup> , CD79a <sup>+</sup> , TdT <sup>+</sup> , CD10 <sup>-</sup> , cyμ <sup>-</sup> , mlg <sup>-</sup>	Niños 5; adultos 11	Comúnmente con pobre pronóstico
<b>B</b>	CD19 <sup>+</sup> , CD22 <sup>+</sup> , CD79a <sup>+</sup> , TdT <sup>+</sup> , CD10 <sup>+</sup> , cyμ <sup>-</sup> , mlg <sup>-</sup>	Niños 60; adultos 50	
<b>Pre-B</b>	CD19 <sup>+</sup> , CD22 <sup>+</sup> , CD79a <sup>+</sup> , TdT <sup>+</sup> , CD10 <sup>+</sup> , cyμ <sup>+</sup> , mlg <sup>-</sup>	Niños 16; adultos 9	

Nota: mlg: inmunoglobulina de membrana

Información obtenida de Pagliaro, L., Chen, S. J., Herranz, D., Mecucci, C., Harrison, C. J., Mullighan, C. G., Zhang, M., Chen, Z., Boissel, N., Winter, S. S., & Roti, G. (2024). Acute lymphoblastic leukaemia. *Nature reviews. Disease primers*, 10(1), 41. <https://doi.org/10.1038/s41572-024-00525-x>

La citogenética convencional, FISH u otras técnicas moleculares como qPCR-RT, son las herramientas diagnósticas para la identificación de alteraciones cromosómicas específicas, señaladas como el estándar de oro; las CNV pueden ser identificadas por técnicas de microarreglos u otras como MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification). También se ha realizado la secuenciación del transcriptoma, que ha identificado nuevos subtipos de LLA y se está convirtiendo en una herramienta de tamizaje para los pacientes (2).

La incorporación de WGS, NGS dirigida y mapeo óptico del genoma ha permitido que las pruebas moleculares sean más específicas; dentro de las ventajas de estas técnicas, se encuentra la realización de estos estudios en grupo o de forma individual, sin embargo, aún se encuentran bajo validación, pero muestran una alta correlación en la detección de subtipos genéticos de relevancia pronóstica en LLA y probablemente reemplazarán a la citogenética convencional y a los estudios de hibridación (2).



La heterogeneidad de las LLA hace muy complicado la identificación de todas las alteraciones genéticas usando técnicas convencionales, lo que justifica el aumento en el uso de otras herramientas moleculares como NGS o secuenciación de transcriptoma y WGS, aunque una de las consideraciones debe ser el alto costo (2).

### **Enfermedad residual cuantificable (MRD)**

La MRD es un predictor independiente de recaída y de supervivencia en adultos y niños con LLA. Detecta células leucémicas en pacientes, en diferentes tiempos durante el curso de su tratamiento, utilizando métodos de estudio de muestras de médula ósea. Una de estas técnicas es la citometría de flujo multicolor (MFC), que puede detectar MRD asociada a leucemia en el 40-70% de los casos de LLA-B (2).

La MRD se integra en los protocolos de LLA, para guiar decisiones terapéuticas, identificando pacientes de alto riesgo que requieran intensificar su tratamiento u otras terapias como trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT) y aquellos con pronóstico favorable que no requieren trasplante de primera opción. Los niveles altos de MRD al final de la etapa de inducción o antes del trasplante, predicen mayor riesgo de recaída, lo que requiere de intervenciones adicionales para reducir los niveles de MRD antes del HSCT (2).

### **Complicaciones**

A pesar de que los distintos tratamientos han incrementado la supervivencia, cerca del 80% de los pacientes pueden presentar recaídas o resistencia al tratamiento (7). Además, la infiltración a órganos y la recaída se correlacionan con un pobre pronóstico (1).

La presentación de una recaída puede clasificarse de acuerdo al tiempo que transcurrió desde el diagnóstico hasta que sucedió el evento, de esta forma existen tres grupos, el primero, las recaídas muy tempranas, que se presentan en los primeros 18 meses posterior al diagnóstico; el segundo, las tempranas, que se presentan entre los primeros 18 a 36 meses y el último grupo, las tardías con un tiempo de aparición mayor a 36 meses posterior al diagnóstico.

La recaída a médula ósea es la más común y es clínicamente complicada, pero la infiltración extramedular o a SNC también puede ocurrir, lo que tiene peor pronóstico y supervivencia (1,7).



La recaída a médula ósea se define como la presencia de más de 25% de blastos o más de 5% de blastos con recaída concomitante extramedular (5).

Diversas proteínas, como las GTPasas Rho, actúan sobre los leucocitos y células leucémicas para promover migración transendotelial, lo que pudiera promover la infiltración a otros órganos (7).

En particular, alteraciones genéticas en modificadores de la cromatina o en reguladores epigenéticos, son comunes en pacientes con recaída de LLA, lo que posiblemente pudiera contribuir a una menor respuesta al tratamiento. Variantes en *CREBBP*, están presentes en 20% de pacientes con recaída de LLA-B y con poca respuesta a glucocorticoides. Variantes con ganancia de función en el gen *NT5C2*, inducen resistencia a tratamiento, en específico a la mercaptopurina y están presentes selectivamente en pacientes con LLA-B y recaída. Otras mutaciones somáticas frecuentemente presentes en pacientes con LLA-B y recaída, son en los siguientes genes: *WHSC1*, *TP53*, *USH2A*, *NRAS* e *IKZF1*, por otro lado, se han descrito variantes somáticas en genes de la maquinaria de reparación de bases mal apareadas, como *PMS2* y *MSH6* (4).

De acuerdo con lo anterior, además de la respuesta a tratamiento y el fenotipo de la leucemia se establece el riesgo que tiene el paciente de recaer, por lo que de acuerdo al centro hospitalario se clasifican a los pacientes en distintos estratos. En algunos centros se estratifican en pacientes de riesgo bajo, habitual o estándar, riesgo alto y riesgo muy alto (3). Según lo establecido por el Instituto Nacional de Cáncer (NCI), los pacientes tienen un riesgo estándar si se encuentran entre el año y los 9 años de edad, con un conteo inicial de leucocitos menor a  $50 \times 10^9/L$ , por otro lado, se clasifican con riesgo alto si son menores a un año o mayores a 10 años de edad o conteo inicial de leucocitos mayor a  $50 \times 10^9/L$  (13).

## **Tratamiento**

Debido a que la LLA afecta pacientes a lo largo de su vida, el tratamiento ha sido ajustado para proveer terapias intensificadas apropiadas para la edad, con la finalidad de mitigar los efectos adversos de la terapia combinada (2).



Se han desarrollado estrategias terapéuticas para niños, con el objetivo de adaptar la farmacocinética y la farmacodinamia de pacientes con función renal y hepática inmadura (2).

En cuanto al tratamiento, la primera línea incluye 4 fases que duran aproximadamente 2 a 3 años, que incluyen inducción, consolidación, intensificación y mantenimiento. Este abordaje terapéutico ha llevado a un estimado en sobrevivida a 5 años de 90% en niños con LLA (4).

El tratamiento con trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas está indicado para aquellos pacientes con clasificación de la enfermedad de alto riesgo o aquellos con enfermedad mínima residual persistente (4).

### **Pronóstico**

Se han descrito factores pronósticos y para estratificar el riesgo, su identificación es útil para elegir de forma apropiada el plan terapéutico y evaluar la posibilidad de otras terapias como trasplante. Dentro de los factores pronóstico clásicos, se incluye a la edad, el conteo celular al momento del diagnóstico, involucro a SNC, raza y etnicidad, sexo y linaje celular. En los factores favorables se encuentran edad de 1 a 10 años, femenino, asiático o caucásico, sin involucro a SNC, inmunofenotipo linaje células B, entre otros (4).

Dentro de los factores que se asocian a un pronóstico adverso se encuentran como grupo etario la infancia o edad más avanzada, un alto conteo de glóbulos blancos al momento del diagnóstico, respuesta inicial disminuida al tratamiento, involucro a SNC y algunas alteraciones genéticas (9).

Con el resultado de otros estudios, se ha determinado que los pacientes con edad entre uno a 9 años y del sexo femenino, tienen una mejor supervivencia que los que se encuentran fuera de este rango de edad; mientras que el pronóstico es desfavorable para los pacientes con infiltración a SNC y leucocitosis (mayor a  $50,000/\text{mm}^3$ ) al diagnóstico (3).

En las últimas cuatro décadas, el desenlace de la enfermedad ha mejorado considerablemente, específicamente en la supervivencia a 5 años, ya que en el año 1975 era de 31%, comparado con lo referido en el año 2009, de 70% (4). Para la estratificación del pronóstico, se identifican 3 subgrupos: estándar o favorable, intermedio y alto o muy alto



riesgo, con tasas de supervivencia general a 5 años de 90%,83% y 62% respectivamente en población pediátrica (2).

La LLA-B tiene un pronóstico muy favorable en la población pediátrica, con una tasa de remisión completa de la enfermedad de más del 95% y una tasa de curación de aproximadamente 80%. Se ha asociado un mejor desenlace de la enfermedad con regímenes terapéuticos más intensos (9).

Según lo descrito, los niños que viven en ambientes de pobreza extrema tienen aproximadamente el doble de riesgo de presentar una recaída, comparado con otros niños en grupos control, se ha sugerido que no sólo es la falta del apego al tratamiento farmacológico oral, sino también la falta de acceso a centros de salud, alimentación inadecuada y la falta de transporte confiable para acudir a su seguimiento (2).

La remisión completa de la enfermedad se define como la presencia de menos de 5% de blastos en médula ósea por medio de microscopía, sin evidencia de enfermedad extramedular (5).

Resulta importante definir el término de mortalidad temprana, que se refiere a la muerte del paciente en el primer año posterior al diagnóstico (13).

### **Calidad de vida**

La calidad de un tratamiento, cuyo objetivo principal es la intención curativa, tiene el mayor impacto positivo en la calidad de vida de los pacientes con leucemia. Es evidente que la prevención de recaídas y el control de los efectos adversos a largo plazo de terapias como el trasplante de células madre hematopoyéticas, son cruciales para mantener una alta calidad de vida (2).

Por otro lado, los eventos adversos inducidos por quimioterapia, como náusea y vómito, fiebres neutropénicas, fatiga y otras complicaciones neurológicas, pueden tener un gran impacto en el apego terapéutico (2).



La rehabilitación física es importante para mejorar la calidad de vida, llevando un adecuado manejo de las neuropatías, las miopatías y de la fatiga (2).

Mejorar la calidad de vida se basa en el esfuerzo conjunto de trabajadores sociales, nutricionistas, terapeutas físicos, psiquiatras, clínicos y otros miembros de un equipo multidisciplinario durante distintas etapas del tratamiento. Para lograr una buena calidad de vida, se requieren de cuidados efectivos durante el tratamiento activo, así como evitar los efectos tardíos en los pacientes que logran y mantienen remisión a largo plazo (2).

### ***Cortactina***

La migración y adhesión celular están reguladas por el citoesqueleto de actina, al formar estructuras que permiten la interacción con células B y células del estroma en la médula ósea o con células endoteliales (1).

La cortactina es una proteína multidominio que funciona como regulador en el citoesqueleto de actina. Tiene diversas funciones en procesos celulares relacionados a actina, como migración celular e invasión, metástasis de células tumorales y endocitosis (16).

La cortactina y su homólogo hematopoyético HS1 (hematopoyetic cell-specific lyn substrate 1), son proteínas de unión a actina presentes en todos los tipos de células y se encuentran involucrados en la regulación del citoesqueleto, incluyendo la adhesión celular y la migración (1,7) Tiene un papel importante en el ensamblaje de la actina y en mantener su estabilidad a través de su unión con el complejo Arp2/3 (actin related protein 2/3). Por lo tanto, se ha reconocido su asociación con la motilidad celular e invasión (17).

La cortactina ha mostrado no sólo ser un regulador crucial en la dinámica del citoesqueleto de actina, si no también tener un papel clave en distintos tipos de cáncer. Se refiere que tiene un papel vital en la formación de invadopodios y en la degradación de matriz extracelular (7). La cortactina se ha encontrado en sitios dinámicos de ensamblaje de actina (protrusiones celulares), como en lamelipodios e invadopodios (17).

La cortactina puede ser fosforilada por cinasas de tirosina o de serina/treonina, lo que la hace un blanco regulador importante. Además, desempeña funciones críticas en el transporte



transmembrana y promueve la secreción de proteinasas degradantes de matriz extracelular, que son fundamentales para la formación de invadopodios y su función en la metástasis de células tumorales (17).

Por otro lado, la HS1, expresada exclusivamente en células hematopoyéticas, tiene múltiples funciones compartidas con cortactina, dentro de las que se incluyen la migración celular (7).

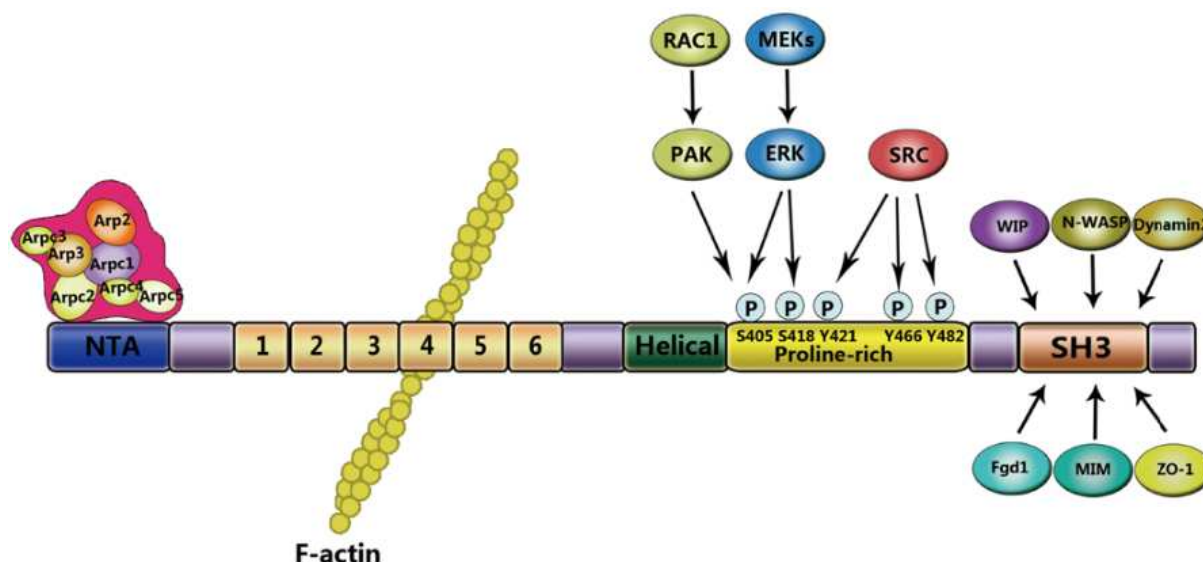
Se ha descrito que los factores promotores de la adhesión celular, la migración transendotelial, entre otros, podrían promover la infiltración a órganos (1).

El gen *CTTN* con locus en 11q13.3, codifica para la proteína cortactina, que es una proteína multidominio que funciona como un regulador en el citoesqueleto de actina. Además, cuenta con múltiples roles a nivel de procesos celulares, tales como migración e invasión celulares, metástasis tumoral y endocitosis. (OMIM 164765).

La cortactina es una proteína de entre 63-65 kDa, que está compuesta por 4 dominios mayores, dentro de los que se incluyen el N-terminal (NTA), el dominio de 6.5 repetidos en tándem, un dominio rico en prolina y un dominio C-terminal de homología Src 3 (SH3). El dominio NTA permite la unión y la activación de Arp2/3, proceso involucrado en el ensamblaje de redes de actina ramificada. El dominio NTA está localizado entre los residuos 15 y 35, además, contiene al motivo conservado ácido aspártico - ácido aspártico - triptófano (DDW) en los residuos 20-22, que es necesario para la unión de Arp3, una subunidad del complejo Arp2/3. La región NTA se continua con una serie de 6 segmentos de repetidos en tándem de 37 aminoácidos y uno incompleto de 20 residuos de longitud, estos repetidos se conocen como repetidos de cortactina y forman un motivo hélice-giro-hélice. Los repetidos de cortactina median la unión de cortactina con F-actina. El repetido número 4 es requerido para la unión con la F-actina, mientras que el número 3 y el 5 son esenciales para el mantenimiento de esa unión, este proceso es promovido por el complejo Arp2/3. La F-actina surge de la polimerización reversible de la G-actina, ofrece estructura y las fuerzas mecánicas que regulan los cambios morfológicos dentro de la célula. Luego, sigue el dominio rico en prolina, un dominio alfa-hélice de longitud variable, que va de 48 a 52 residuos; por último, el dominio SH3 en la porción C-terminal, que media la interacción con otras proteínas involucradas en diversas funciones celulares (17).

Figura 3

**Dominios estructurales de la cortactina.**



**Dominios estructurales de la cortactina.** La cortactina tiene múltiples dominios que interactúan con distintas moléculas de señalización.

El dominio NTA (azul) se localiza en el extremo N-terminal e interactúa con y activa a Arp3, subunidad del complejo Arp2/3. El cuarto repetido de los repetidos de cortactina (dorado, señalado del 1 al 6) se une con la F-actina. En el extremo C-terminal, el dominio rico en prolina (amarillo) contiene sitios de fosforilación para serina/ tirosin cinasas. El dominio SH3 (naranja) media la unión con proteínas del citoesqueleto, proteínas de transporte transmembrana y de señalización.

Tomado de Yin, M., Ma, W., & An, L. (2017). Cortactin in cancer cell migration and invasion. *Oncotarget*, 8(50), 88232–88243. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21088>

En la tabla 2 se enlistan algunas de las principales proteínas con las que interactúa la cortactina, en donde se agrupan en 4 principales grupos, el primero es unión asociada a actina; el segundo, asociada a fosforilación y acetilación; el tercero, aquellas asociadas a transporte transmembrana y por último, el cuarto, asociadas a transmisión de señales; así mismo, se describen los sitios de unión en cada uno de los dominios y su función principal.



Un gran número de proteínas del citoesqueleto involucradas en el proceso de transporte transmembrana se unen al dominio SH3 de la cortactina, lo que indica que la cortactina actúa como andamio en la estructura del citoesqueleto y en el transporte transmembrana (17).

**Tabla 3**

***Proteínas que interactúan con cortactina, sitio de unión y función.***

<b>Proteínas de unión a cortactina</b>	<b>Sitio de unión (dominio)</b>	<b>Función</b>
<b>1. Asociadas a ensamblaje de actina</b>		
Arp2/3	NTA	Nucleación de actina
Filamentos de actina	Repetidos de cortactina	Polímero del citoesqueleto
Caldesmona	N-terminal	Proteína de unión a actina
N-WASP	SH3	Ensamblaje de actina
WIP	SH3	Proteína adaptadora, ensamblaje/ unión a actina, estabiliza WASP
MIM	SH3	Proteína adaptadora, unión y regulación de actina
<b>2. Asociadas con fosforilación y acetilación</b>		
HDAC6	Repetidos de cortactina	Deacetilasa
SIRT1	Repetidos de cortactina	Deacetilasa
Met	Desconocido	Receptor tirosin cinasa
Syk	Desconocido	Tirosin cinasa
PTP1B	Tyr446	Tirosina fosfatasa
Nck1	Phospho-Y421,466	Adaptador de señalización
Familia de cinasas Src	Phospho-Y421,466, 482	Tirosin cinasa
ERK1/2	S405, 418	Serina/ treonina cinasa
PAK1	S113	Serina/ treonina cinasa
Abl/Arg	SH3	Tirosin cinasa
<b>3. Asociadas con transporte transmembrana</b>		
p120 catenina	N-terminal	Adhesión celular
Hip1R	SH3	Transporte transmembrana
ASAP1/AMAP1	SH3	Transporte transmembrana, transducción de señales
Dinamina2	SH3	GTPasa, transporte transmembrana
Canales BK	SH3	Excitabilidad de la membrana



Proteínas de unión a cortactina	Sitio de unión (dominio)	Función
Canal de K	Desconocido	Excitabilidad de la membrana
<b>4. Asociadas con transmisión de señales</b>		
Grb2	N-terminal	Adaptador de señalización
BPGAP1	SH3	RhoA-GAP
CortBP1/SHANK2	SH3	Plasticidad sináptica, regula el intercambiador 3 Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup>
FGD1	SH3	Cdc42-GEF
ASAP/AMAP1	SH3	Transporte transmembrana, transducción de señales

Nota: Y/Tyr: tirosina, S: serina

Información obtenida de Yin, M., Ma, W., & An, L. (2017). Cortactin in cancer cell migration and invasion. *Oncotarget*, 8(50), 88232–88243. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21088>

### Cortactina en la migración celular

La migración celular está relacionada con características especializadas de la célula migratoria, en particular el desarrollo de invadopodios y podosomas. Los invadopodios son protrusiones de la membrana que se localizan en la superficie basal de las células invasoras y están involucradas en el ensamblaje de actina, adhesión, señalización celular y secreción de proteasas, lo anterior para promover el remodelamiento de la matriz extracelular. Los podosomas son similares a los invadopodios, pero se encuentran en células normales que tienen un papel en remodelamiento de matriz extracelular y la capacidad de atravesar barreras tisulares (17).

La cortactina mejora la capacidad de las células para producir invadopodios “dominantes” en respuesta a estimulación del factor de crecimiento. Además, la cortactina facilita la formación de adherencias en el borde de las células, lo que puede contribuir a la persistencia y migración del invadopodio (17).



## **Cortactina e invasión tumoral**

La metástasis de células tumorales depende de la activación de invadopodios para la degradación de la matriz extracelular. La cortactina promueve el transporte transmembrana y recluta proteinasas que degradan matriz extracelular hacia los invadopodios, de este modo la cortactina tiene un papel esencial en el proceso de degradación de matriz extracelular asociado con invadopodios (17).

## **Expresión de cortactina en cáncer**

Se ha descrito que la cortactina se encuentra sobrerregulada en distintos tipos de cáncer, así como estar relacionada con la migración celular y la invasividad. Además, ambos están relacionados a pobre pronóstico en la Leucemia Linfoblástica Crónica de células B en adultos (1).

Estudios más recientes han demostrado que la sobreexpresión de cortactina está relacionada con la progresión de la enfermedad y mal pronóstico en distintas enfermedades hematológicas malignas, como leucemia linfoblástica crónica, linfomas de células B no Hodgkin y LLA-B (7).

Se ha señalado la sobreexpresión de cortactina en distintos tipos de tumores sólidos, como en el cáncer de mama, en el cáncer ovárico, en los tumores de cabeza y cuello, en los tumores gástricos, en los carcinomas esofágicos, en los hepatocelulares y en los carcinomas colorrectales, además se ha encontrado una asociación con aumento de metástasis, con una mayor agresividad y con un peor pronóstico (1,7,17).

La sobreexpresión de cortactina frecuentemente se debe a una amplificación cromosómica de la región 11q13. El gen *CTTN* (también conocido como *EMS1*) contiene diversos oncogenes, ya conocidos o potenciales; dentro de los que se incluyen a Ciclina D1, INT2/FGF3 (factor de crecimiento de fibroblastos), human serum thymus factor/FGF4 y BCL1 (17).

Por otro lado, se revisaron reportes en donde se refiere que modificaciones postraduccionales en cortactina son esenciales para procesos como motilidad celular y cambios morfológicos, sin embargo, algunos reportes aún lo mantienen como controversial (17).



### 3. Antecedentes

Velázquez-Avila et al., en el 2019 realizaron una investigación para conocer los niveles de expresión de cortactina y su potencial impacto en infiltración a órganos, así como pronóstico en pacientes con LLA-B. Se recolectaron muestras de médula ósea y de líquido cefalorraquídeo en pacientes menores de 18 años con diagnóstico de LLA-B antes de cualquier tratamiento o tras una recaída. Se analizó la expresión de cortactina y de HS1 por medio de PCR-RT. Dentro de los resultados reportan que las líneas celulares de LLA-B y precursores celulares de médula ósea y de líquido cefalorraquídeo de pacientes con LLA-B, presentaron sobreexpresión de cortactina. En este mismo estudio se analizaron más variables, como sexo, infecciones, manifestaciones clínicas asociadas (citopenia, hepatomegalia, esplenomegalia), muerte, entre otras, correlacionándolas con los niveles de expresión de cortactina, se ha encontrado una correlación positiva entre niveles altos de cortactina y si se presentó recaída, además, se ha encontrado la misma asociación en relación con la presencia de adenomegalias, así como con la falla al tratamiento con esteroides (1)

Otro de los estudios reportados por Aref et al., 2021, realiza la descripción de 74 pacientes con diagnóstico de LLA-B, en donde se reportan 39 hombres y 35 mujeres, con edad media de 38.4 años, comparados contra 76 individuos control, pareados por edad y sexo. Bajo consentimiento informado, se recolectó muestra de médula ósea en dos momentos, el primero al diagnóstico y el segundo posterior a la fase de inducción de la quimioterapia. Se realizó extracción de RNA y posteriormente se sintetizó cDNA. Realizaron PCR-RT para los genes *CTTN* y *HS1*. Dentro de los resultados se refiere que la expresión de ambos genes se encontró significativamente elevada en los casos de LLA, al momento del diagnóstico, además, reportaron una disminución significativa posterior a la inducción de quimioterapia comparado con el grupo control. También obtuvieron que la expresión aumentada de ambos genes se asocia con una menor supervivencia en general y con mayor frecuencia de recaída (7).



**Tabla 4**

**Estudios relacionados. Expresión de cortactina en muestras de pacientes con LLA-B**

Autor (año)	Lugar	Muestra	Resultados
Velázquez-Ávila, et.al (2019)	México	25 pacientes (HIM e IMIEM)	Expresión elevada de cortactina en pacientes con LLA-B. Correlación positiva entre niveles altos de cortactina y recaída, adenomegalias y falla al tratamiento con esteroides.
Aref, et.al (2021)	Egipto	74 pacientes	Expresión de <i>CTTN</i> y <i>HS1</i> significativamente elevada en los casos de LLA al momento del diagnóstico; disminución significativa posterior a la inducción de quimioterapia. La expresión aumentada de ambos genes se asocia con menor sobrevida en general y con mayor frecuencia de recaída.

Nota: HIM: Hospital Infantil de México “Federico Gomez”, México. IMIEM: Hospital para el Niño, Toluca, México.

Información obtenida de Velázquez-Avila, M., Balandrán, J. C., Ramírez-Ramírez, D., Velázquez-Avila, M., Sandoval, A., Felipe-López, A., Nava, P., Alvarado-Moreno, J. A., Dozal, D., Prieto-Chávez, J. L., Schaks, M., Rottner, K., Dorantes-Acosta, E., López-Martínez, B., Schnoor, M., & Pelayo, R. (2019). High cortactin expression in B-cell acute lymphoblastic leukemia is associated with increased transendothelial migration and bone marrow relapse. *Leukemia*, 33(6), 1337–1348. <https://doi.org/10.1038/s41375-018-0333-4> y Aref, S., Al Agdar, M., Ramez, A., Abou Zeid, T., Sabry, M., & Khaled, N. (2021). Evaluation of Cortactin and HS1 Genes Expression: New Players in Adult B-Cell Acute Lymphoblastic leukemia. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 22(3), 767–774. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2021.22.3.767>



#### 4. Justificación

La LLA es la neoplasia maligna más común en la infancia y una de las principales causas de muerte en niños y en adolescentes a nivel mundial (2). Para niños menores de 15 años, la incidencia de LLA de forma global, varía entre 20 a 30 casos por millón, mientras que la incidencia en la Ciudad de México, en Costa Rica y para la población hispana que vive en Estados Unidos, es mayor a 40 casos por millón (18).

La tasa de incidencia reportada en la Ciudad de México corresponde a una parte de la población, principalmente la atendida en el IMSS, en donde se atiende aproximadamente al 40% de la población. En esos estudios se ha reportado una incidencia en general de leucemia de 55.4 a 58.4 por millón; con las siguientes incidencias por subtipo: LLA entre 43.2 y 44.9 por millón, LMA entre 9.8 y 10.6 por millón, para el linaje de células T se reportó una incidencia de 23.6%, dichas frecuencias son relativamente más altas que lo reportado para la población caucásica o la población asiática (18).

A pesar de que las nuevas modalidades de tratamiento han resultado en un aumento de la sobrevida en general en pacientes con LLA, cerca del 80% de los casos, desarrollan resistencia a tratamiento o recaídas (1).

La evolución de tecnologías genómicas ha permitido una descripción más precisa de todas las LLA, llevando a conocer sus implicaciones clínicas, la estratificación de riesgo, conocer el pronóstico y ha permitido la toma de decisiones (2).

Más del 90% de los pacientes con LLA han sido clasificados de acuerdo con las alteraciones genéticas que presentan, sin embargo, se requiere de más investigación para entender completamente los mecanismos moleculares implicados, sus funciones y posibles blancos terapéuticos, a través de técnicas como secuenciación, WGS, estudio de proteómica y metabolómica (2).

El desarrollo de nuevas tecnologías y su disminución en costos probablemente tendrán un impacto en este proceso, lo que en última instancia dará como resultado un enfoque simplificado para el diagnóstico y tratamiento de la LLA (2).



Por otro lado, la expresión elevada de cortactina está asociada con un peor desarrollo de las LLA-B. Lo que sugiere que el determinar los niveles de cortactina en los pacientes con LLA-B, podría utilizarse en la estratificación de riesgo de la enfermedad. Además, la cortactina podría ser un potencial blanco terapéutico, para controlar la metástasis o las recaídas de LLA-B (1,7).

Por lo que en el presente trabajo se recabó información demográfica y clínica de los pacientes con diagnóstico de LLA que cursaran con recaída, de quienes se contó con información de una muestra de médula ósea en dos tiempos, una al diagnóstico y la otra toma al momento de la recaída para conocer los niveles de expresión de cortactina y posteriormente se buscó una asociación entre los niveles de expresión y las distintas variables. Se ha demostrado la importancia de la cortactina como una herramienta diagnóstica para enfermedades resistentes a tratamiento, en pacientes de alto riesgo y en pacientes con recaídas en médula ósea (1).



## 5. Planteamiento del problema

La LLA corresponde aproximadamente al 3% de los nuevos diagnósticos de cáncer, con una distribución heterogénea en cuanto a edad, sexo y región geográfica a nivel mundial (2).

La LLA se presenta como una infiltración blástica en la médula ósea, así como en otros órganos periféricos como hígado, bazo y ganglios linfáticos, además, puede involucrar al SNC. Los síntomas predominantes son consecuencia de citopenias e incluyen fatiga y debilidad secundaria a anemia, cuadros infecciosos neutropénicos o fiebres paraneoplásicas y diátesis hemorrágica (2). Algunos hallazgos pueden ser más preocupantes como la presencia de linfadenopatía localizada o generalizada, hepatoesplenomegalia y dolor óseo (9).

Para el diagnóstico de LLA se integran distintos criterios, dentro de los que se incluyen la morfología celular, el inmunofenotipo, alteraciones genéticas y otros hallazgos por técnicas citogenéticas (4).

En las últimas cuatro décadas, el desenlace de la enfermedad ha mejorado considerablemente (4). A pesar de que los distintos tratamientos han incrementado la sobrevivencia, cerca del 80% de los pacientes pueden presentar recaídas o resistencia al tratamiento (7). Además, la infiltración a órganos y la recaída se correlacionan con un pobre pronóstico (1).

La cortactina ha mostrado no sólo ser un regulador crucial en la dinámica del citoesqueleto de actina, si no también tener un papel clave en distintos tipos de cáncer. Se refiere que tiene un papel vital en la formación de invadopodios y en la degradación de matriz extracelular (7). Se ha establecido el papel de la cortactina en distintos procesos celulares, tales como en la migración celular, en la invasión tumoral y metástasis (16).

Estudios internacionales recientes, han demostrado que la sobreexpresión de cortactina está relacionada con la progresión de la enfermedad y mal pronóstico en distintas enfermedades hematológicas malignas (7).



## 6. Pregunta de investigación

¿Cuál es la correlación entre las características clínicas, inmunofenotípicas y de biología molecular con la expresión de cortactina en pacientes con recaída por leucemia linfoblástica aguda atendidos en la UMAE HPED CMN SXXI?

## 7. Objetivos

### Objetivo general.

Describir la correlación entre las características clínicas, inmunofenotípicas y de biología molecular con la expresión de cortactina en pacientes con recaída por leucemia linfoblástica aguda atendidos en la UMAE HPED CMN SXXI.

### Objetivos específicos.

- a) Recabar los datos demográficos de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda con recaída.
- b) Describir el nivel de cortactina por medio de rtPCR en donde la expresión génica relativa se obtuvo por el método  $\Delta\Delta CT$ , así como la expresión evaluada por inmunofenotipo, al diagnóstico y a la recaída, así como con variables como sexo, edad, manifestaciones clínicas, rearrreglos cromosómicos, estudios de laboratorio y las características de la recaída.
- c) Identificar la correlación entre las variables clínicas y el nivel de expresión de cortactina al diagnóstico y en la recaída.



## 8. Hipótesis de trabajo

Existirá una correlación positiva entre las características clínicas, inmunofenotípicas y de biología molecular y la expresión de cortactina en pacientes con recaída por leucemia linfoblástica aguda atendidos en la UMAE HPED CMN SXXI \*\*.

\*\*Basados en los datos obtenidos de Velázquez-Ávila et al., en donde se demostró que en células de pacientes con recaída a médula ósea los niveles expresados de cortactina incrementaron 3 veces más, comparado con pacientes con recién diagnóstico de LLA-B. Además, confirmaron una correlación positiva entre expresión elevada de cortactina y recaída a médula ósea, falla al tratamiento con esteroides y con la presencia de adenomegalias (1).



## **9. Material y métodos**

### **a) Lugar donde se realizó el estudio.**

UMAE HPED CMN SXXI IMSS

### **b) Población diana.**

Pacientes con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda con recaída.

### **c) Periodo de estudio.**

Enero 2020 a Marzo 2023.

### **d) Tiempo de desarrollo el estudio.**

Agosto 2023 a Agosto 2025.

### **e) Diseño del estudio.**

Observacional, comparativo, longitudinal y retrospectivo.



## **f) Criterios de selección**

### **Criterios de Inclusión:**

- Pacientes con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda.
- Pacientes con recaída por leucemia linfoblástica aguda.
- Pacientes menores de 18 años de edad.
- Pacientes de cualquier sexo.
- Pacientes que cuenten con expediente clínico completo.
- Pacientes con muestra suficiente para las distintas técnicas a realizar, con toma de muestra de médula ósea al diagnóstico y a la recaída.
- Pacientes que hayan aceptado consentimiento informado.

### **Criterios de Exclusión:**

- Pacientes con leucemia linfoblástica aguda sin recaída.
- Pacientes mayores a 18 años de edad.
- Pacientes con diagnóstico de Síndrome Down debido a que la inestabilidad genómica de esta entidad cromosómica podría ser un factor que modifique la expresión de las variables de estudio.

### **Criterios de Eliminación:**

- Pacientes cuyas muestras hayan sido insuficientes para su análisis.
- Paciente con expediente clínico incompleto.



**g) Variables de estudio**

<b>Variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Escala de Medición</b>	<b>Unidades de Medición</b>	<b>Tipo de variable</b>
Edad	Años de vida de una persona	Edad del paciente al momento del diagnóstico	Cuantitativa	Meses	Independiente
Sexo	Totalidad de características, funciones, fenotipo y genotipo, diferenciando el organismo masculino del femenino	Sexo del paciente obtenido del expediente	Cualitativa	Femenino/masculino	Independiente
Lugar de residencia	Sitio donde una persona o grupo de personas vive	Sitio en donde el paciente vive	Cualitativa	Estados de la República Mexicana	Independiente
Tipo de LLA	Clasificación de acuerdo con estirpe celular	Clasificación de acuerdo con estirpe celular obtenida del expediente	Cualitativa	LLA-B/ LLA-T	Independiente
Clasificación de riesgo de LLA	Grado de riesgo de LLA	Grado de riesgo de LLA obtenida del expediente	Cualitativa	Estándar, intermedio, alto y muy alto	Independiente
Manifestaciones clínicas	Conjunto de signos y síntomas que un paciente presenta como consecuencia de una enfermedad	Presentación de hepatomegalia, esplenomegalia, masa mediastinal o adenomegalias al diagnóstico	Cualitativa	Presente/ausente	Independiente
Leucocitos al diagnóstico	Cantidad de glóbulos blancos	Cantidad de glóbulos blancos al momento del diagnóstico reportado en biometría hemática	Cuantitativa	miles/ul	Independiente
DHL al diagnóstico	Enzima deshidrogenasa láctica	Cantidad de deshidrogenasa láctica al momento del diagnóstico reportado en química sanguínea	Cuantitativa	U	Independiente



Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de Medición	Unidades de Medición	Tipo de variable
Rearreglo cromosómico	Alteración en la estructura de un cromosoma	Alteración en la estructura de un cromosoma reportado en estudio de biología molecular	Cualitativo	ETV6-RUNX1, TCF3-PBX1, MLL-AFF1, BCR-ABL1, NOS	Independiente
Inmunofenotipo	Composición única de marcadores en la superficie de una célula	Inmunofenotipo reportado en expediente clínico	Cualitativo	Presente/ ausente	Independiente
Recaída	Reaparición o agravamiento de una enfermedad	Recaída por LLA reportada en expediente clínico	Cualitativa	Presente/ ausente	Independiente
Sitio de recaída	Sitio de reaparición de una enfermedad	Sitio de recaída reportada en expediente	Cualitativa	Médula ósea, SNC o mixta	Independiente
Desenlace	Resultado o evolución final de una enfermedad	Evolución del paciente reportada en el expediente clínico	Cualitativa	Libre de enfermedad o finado	Independiente
Nivel de expresión de cortactina por inmunofenotipo al diagnóstico	Nivel de expresión de cortactina por inmunofenotipo al diagnóstico	Nivel de expresión de cortactina por inmunofenotipo al diagnóstico reportada en el expediente clínico	Cuantitativa		Dependiente
Nivel de expresión de cortactina por inmunofenotipo a la recaída	Nivel de expresión de cortactina por inmunofenotipo a la recaída	Nivel de expresión de cortactina por inmunofenotipo a la recaída en el expediente clínico	Cuantitativa		Dependiente
Niveles de expresión del gen <i>CTTN</i> al diagnóstico	Niveles de expresión del gen <i>CTTN</i> al diagnóstico mediante rtPCR en donde la expresión génica relativa se obtuvo por el método $\Delta\Delta CT$	Niveles de expresión del gen <i>CTTN</i> al diagnóstico en el expediente clínico	Cuantitativa	Fold change	Dependiente
Niveles de expresión del	Niveles de expresión del gen <i>CTTN</i> a la	Niveles de expresión del gen <i>CTTN</i> a la	Cuantitativa	Fold change	Dependiente



Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de Medición	Unidades de Medición	Tipo de variable
gen <i>CTTN</i> a la recaída	recaída mediante rtPCR en donde la expresión génica relativa se obtuvo por el método $\Delta\Delta CT$	recaída en el expediente clínico			



## **h) Descripción General del Estudio**

Para el presente estudio se recabó información demográfica, clínica y molecular de pacientes con el diagnóstico de LLA y con antecedente de recaída, evaluados en la UMAE HPED CMN SXXI. Dentro de la información obtenida de los expedientes clínicos, se obtuvo la edad representada en meses, sexo y lugar de residencia; datos clínicos como la presencia de hepatomegalia, esplenomegalia, adenopatías o masa mediastinal; en cuanto a estudios de laboratorio contamos con valores de leucocitos y de DHL al momento del diagnóstico.

En cuanto al diagnóstico de LLA, se obtuvo información del inmunofenotipo para diferenciarlas en LLA-B o LLA-T, además, se clasificó el riesgo desde estándar, intermedio, alto y muy alto. También se recabó información del estudio de biología molecular, en donde se describen los distintos rearrreglos cromosómicos presentes. Para la recaída, se describe el sitio de recaída y la clasificación de acuerdo al tiempo de presentación; por otro lado, también se cuenta con el desenlace de la enfermedad.

Las muestras de médula ósea se localizaban en el biobanco a cargo del Dr. Juan Carlos Núñez Enríquez, de las que se obtuvo información en dos momentos, al momento del diagnóstico y de la recaída, para realizar la medición de la expresión de cortactina por las diferentes técnicas de laboratorio.

### **Aislamiento de RNA**

Se aisló RNA total a partir de líneas celulares y poblaciones CD19+. Se suspendieron  $1 \times 10^6$  células en 200  $\mu$ l de TRIzol (Invitrogen ThermoFisher), previamente calentado a 37 °C. La suspensión se agitó en vórtex durante 15 segundos por un total de 1 minuto para lisar las células. Luego se añadieron 40  $\mu$ l de cloroformo y la suspensión se mezcló suavemente por inversión, seguida de incubación durante 5 minutos a temperatura ambiente y posterior centrifugación a  $12,000 \times g$  durante 15 minutos a 4 °C. Posteriormente, se retiró la fase acuosa y se añadieron 500  $\mu$ l de isopropanol por cada mililitro de TRIzol utilizado. Las muestras se centrifugaron a  $12,000 \times g$  durante 10 minutos a 4 °C. Se eliminó el sobrenadante y el pellet se lavó con 200  $\mu$ l de etanol al 70%, seguido de una centrifugación a  $7500 \times g$  durante 5 minutos a 4 °C. El sobrenadante se retiró, el pellet se



secó a temperatura ambiente y se resuspendió en agua tratada con DEPC grado biología molecular (Gibco).

### **Síntesis de cDNA**

Se utilizaron 1.5 µg de RNA total para todas las síntesis de cDNA. El RNA se mezcló con 1500 ng de oligo dT y 1 mM de dNTP, y se ajustó a un volumen final de 12 µL con agua grado biología molecular. Se incubó a 65 °C durante 5 minutos y luego 1 minuto a 4 °C. Posteriormente, se añadieron tampón 5X First Strand (Invitrogen) hasta una concentración final de 1X y 0.01 M de DTT (Invitrogen), ajustando el volumen a 19 µL. La mezcla se calentó a 42 °C durante 2 minutos, se añadieron 400 U de transcriptasa inversa SuperScript II (Invitrogen) y se incubó a 42 °C durante 50 minutos. Para inactivar la enzima, la mezcla se incubó a 70 °C durante 5 minutos. La integridad del cDNA se comprobó mediante amplificación de GAPDH y 18S por PCR seguida de electroforesis en gel. La concentración y pureza se cuantificaron por espectrofotometría midiendo la absorbancia a 260 nm (A260) y 280 nm (A280) usando un dispositivo Nanodrop. Todas las muestras utilizadas presentaron una relación A260/A280 de al menos 1.8.

### **RT-PCR cuantitativa**

La expresión de cortactina se analizó por RT-PCR en tiempo real utilizando sondas y primers TaqMan. Como genes de referencia se empleó β-actina. Las mezclas de reacción se prepararon de la siguiente manera: 5 µL de mezcla maestra FastStart TaqMan Probe Master 2X (Roche); 0.25 µL de sonda TaqMan 20X (Roche); 0.25 µL de cada primer (directo y reverso) a 5 µM; 2.5 µL de cDNA diluido 1:10; en un volumen final de 10 µL con agua grado biología molecular. Las reacciones se llevaron a cabo en un Light Cycler 480 (Roche) bajo las siguientes condiciones: preincubación a 95 °C por 10 min; 45 ciclos de amplificación a 95 °C por 10 segundos, 60 °C por 30 segundos y 72 °C por 10 segundos; luego 40 °C por 30 segundos, seguido de enfriamiento continuo a 4 °C.

La expresión génica relativa se calculó utilizando el software LightCycler 480 SW1.5 y el método  $\Delta\Delta CT$ , que consiste en comparar directamente los valores de CT. El valor  $\Delta CT$  de células CD19 se determinó restando el CT del gen de referencia al CT del gen blanco en una muestra dada. Luego, el  $\Delta\Delta CT$  de cada gen blanco se calculó restando el  $\Delta CT$  de las



células CD19+ control del  $\Delta\text{CT}$  de las células REH. La expresión normalizada se calculó como  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ .

GeneTaqman ProbePrimer sequences

Cortactin25´ ggtgtgcagacagacagacaa 3´5´ gtcttttgggattcatgcag 3´

$\beta$ -ACTIN645´ ccagaggcgtacagggatag 3´5´ ccaaccgcgagaagatga 3´

### **Análisis por citometría de flujo de células derivadas de pacientes**

Las células mononucleares (MNCs) fueron lavadas con 1 mL de tampón FACS (PBS 1X + 1% FBS), bloqueadas con anti-FcR $\gamma$  humano (1:1000) durante 15 minutos e incubadas con Zombie NIR (1:2000) como marcador de viabilidad a temperatura ambiente. Posteriormente, las células fueron incubadas en la oscuridad durante 15 minutos a temperatura ambiente con los siguientes anticuerpos en tampón FACS: anti-CD34 humano conjugado a BV650 (1:200; BioLegend), anti-CD19 humano conjugado a BV510 (1:200; BioLegend) y anti-CD10 humano conjugado a BV421 (1:200; BioLegend), para identificar células progenitoras, incluyendo células pro-B (CD34+CD19+), pre-B (CD34–CD19+) y células B comunes (CD34+/-, CD19+, CD10+). Las MNCs también fueron incubadas con anti-CD66c humano conjugado a BV786 (1:200; BD Biosciences). Luego, las células fueron fijadas con paraformaldehído al 2% (PFA) durante 20 minutos e incubadas en tampón FACS que contiene 0.1% de saponina (PermWash) para su permeabilización. A continuación, se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente y en la oscuridad con anti-HDAC6 humano conjugado a AF647 (1:100; Novus Biologicals) y anti-cortactina humano conjugado a AF488 (1:100; proporcionado por el Dr. Klemens Rottner). Finalmente, las células fueron resuspendidas en 100  $\mu\text{L}$  de tampón FACS. La adquisición de datos se realizó en un citómetro de flujo Aurora y el análisis se llevó a cabo utilizando el software FlowJo X.

Se compararon los niveles de cortactina en los dos momentos de la muestra y se correlacionaron las características demográficas, clínicas, de inmunofenotipo y de biología molecular con la expresión de cortactina al diagnóstico y a la recaída.



#### **i) Cálculo de Tamaño de Muestra**

No se realizó cálculo del tamaño de la muestra, ya que se incluyó el total de pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y que fueron atendidos en la UMAE HPED CMN SXXI.

#### **j) Tipo de Muestreo**

Muestreo no probabilístico de casos consecutivos.

#### **k) Plan de Análisis Estadístico**

El análisis estadístico se realizó por el programa estadístico SPSS (Statistical Package of Social Science program for Windows) versión 25. Para identificar si las variables cuantitativas tenían una distribución paramétrica o no paramétrica se utilizaron las pruebas de Shapiro-Wilk, tomando un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo. Para variables cualitativas: se calcularon frecuencias absolutas y porcentajes. Para variables cuantitativas: se calcularon medidas de tendencia central y de dispersión de acuerdo con la distribución de los datos de acuerdo con la normalidad. En el caso de variables cuantitativas con distribución paramétrica se calcularon promedios y desviaciones estándar y para el caso de variables cuantitativas con distribución no paramétrica se calcularon medianas y rangos mínimos y máximos. Las variables cuantitativas con una distribución paramétrica se compararon por medio de la prueba T student. La prueba de U de Mann Whitney se utilizó para evaluar diferencias estadísticas entre dos grupos de variables con distribución no paramétrica. La prueba de rangos con signo de Wilcoxon se utilizó para evaluar cambios entre parámetros en distintos tiempos. En todos los casos, el nivel de significancia aceptado fue de  $p < 0.05$  con intervalo de confianza de 95%.



## **10. Aspectos éticos**

Para realizar el presente proyecto de investigación se consideraron las pautas de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial en Helsinki, Finlandia en junio 1964 y enmendada por la 75ª Asamblea General, en Helsinki, Finlandia en octubre 2024; así como también la Ley General de Salud en el Título III, Capítulo III artículo 41bis, fracción II y el Título Quinto, Capítulo único, Artículo 100 y el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud en el Título II, Capítulo I, Artículos 13, 14, 16 y 17. De acuerdo con lo que establecen estas disposiciones expresamos que nuestra investigación estuvo apegada a ellas.

### **Riesgo de la investigación.**

Tomando en cuenta el artículo 17 del Reglamento antes mencionado, consideramos que nuestro proyecto es una investigación sin riesgo pues empleamos técnicas y métodos de investigación retrospectivos al hacer una revisión de expedientes clínicos, sin identificar a los sujetos ni tratar aspectos sensitivos de su conducta.

### **Beneficios posibles.**

Con la realización de este trabajo de investigación se busca generar datos epidemiológicos en relación con las leucemias linfoblásticas agudas y la recaída a distintos sistemas como a médula ósea, sistema nervioso central o mixta, así como para conocer las características propias de la población atendida en esta institución.

### **Balance riesgo beneficio.**

El riesgo para los pacientes con la realización de este estudio es prácticamente nulo considerando por una parte que se tomaron las medidas antes mencionadas para proteger la confidencialidad y la privacidad de cada uno de ellos. Y por otra dado la naturaleza observacional del estudio no se le someterá a ninguna maniobra que pudiera comprometer su integridad de alguna manera. Los beneficios en cambio se esperan que sean mayores al



obtener información acerca de las características de los pacientes que se presentan en la consulta de nuestro hospital y servir de referencia para el estudio de nuevos pacientes.

### **Confidencialidad y privacidad.**

Los datos que pudieran ser utilizados para la identificación precisa del paciente (Nombre, número de seguridad social, dirección, teléfono) no serán registrados en este estudio, sino que serán substituidos por un sistema de codificación mediante folio por lo cual se mantendrán la confidencialidad y la privacidad de cada paciente. La información recopilada permanecerá en poder de los investigadores durante cinco años en sus dispositivos electrónicos durante y posteriormente será eliminada.

### **Conflicto de intereses**

No existe conflicto de intereses en la realización de este estudio.



## **11. Recursos, financiamiento y factibilidad**

### **Recursos**

Humanos: estudiante de posgrado e investigador principal y colaboradores. Dentro de la capacitación brindada, se realizó una visita al laboratorio experimental del CINVESTAV para el aprendizaje de las técnicas empleadas en las muestras de los pacientes.

Materiales: expediente clínico físico y electrónico, computadora (para revisión de expediente electrónico y recolección en base de datos), hojas blancas, impresora.

### **Financiamiento**

Los recursos económicos para la llevar a cabo de este estudio, serán solventados por los investigadores de este proyecto.

### **Factibilidad**

El estudio ha sido factible, ya que se cuenta con los recursos humanos y materiales necesarios para realizarlo, y no se requiere financiamiento.



## 12. Resultados

Durante el periodo de estudio se diagnosticaron 159 pacientes con LLA, de los cuales recayeron un total de 38 pacientes (23.8%). De estos, un total de nueve pacientes contaban con muestra de médula ósea tanto al diagnóstico previo al inicio de tratamiento como al momento de la recaída para los fines de este análisis.

Se cuenta con una población total estudiada de nueve pacientes pediátricos (N=9). En la tabla 5 se describen los datos demográficos, en los que se observa una edad media expresada en meses de 139, con un mínimo de 58 meses y máximo de meses 215. En cuanto al sexo de los pacientes, se observa que el 67% (n=6) son femeninos y el 33% (n=3) son masculinos. La mayoría de los casos (78%, n=7) son residentes de la Ciudad de México y el restante (22%, n=2) son residentes del Estado de Guerrero.

**Tabla 5**

Datos demográficos

Variable	Media	Rango
Edad (meses)	138.78	58-215
	Frecuencia	Porcentaje
Sexo		
Femenino	6	67
Masculino	3	33
Residencia		
Ciudad de México	7	78
Guerrero	2	22



**Tabla 6**

Diagnóstico de LLA

Variable	Frecuencia	Porcentaje
<b>Tipo de LLA</b>		
LLA-B	8	89
LLA-T	1	11
<b>Clasificación de riesgo</b>		
Estándar	0	0
Intermedio	0	0
Alto	9	100
Muy alto	0	0
	<b>Media</b>	<b>Rango</b>
Leucocitos (miles/uL)	109.01	7.04-316
DHL (U)	939.61	300-3544

En la tabla 6, se detalla que la mayoría de los pacientes (89%, n=8) tuvieron diagnóstico de LLA-B, por otro lado, el 11% (n=1) con diagnóstico de LLA-T. En cuanto a la clasificación, el 100% (n=9) de los casos, se reportaron de riesgo alto. Además, se cuenta con el valor de leucocitos al diagnóstico de 109.01 miles/uL en promedio, con un mínimo de 7.04 miles/uL y un máximo de 316 miles/uL. Así como de cifras de DHL al momento del diagnóstico, con valor en promedio de 939.61 U, valor mínimo de 300 U y un máximo de 3544 U.

**Tabla 7**

Manifestaciones clínicas al diagnóstico

	Frecuencia	Porcentaje
<b>Manifestación clínica</b>		
<b>Hepatomegalia</b>		
Presente	4	44
Ausente	5	56



	Frecuencia	Porcentaje
<b>Manifestación clínica</b>		
<b>Esplenomegalia</b>		
Presente	6	67
Ausente	3	33
<b>Masa mediastinal</b>		
Presente	1	11
Ausente	8	89
<b>Adenomegalias</b>		
Presente	6	67
Ausente	3	33

En la tabla 7 se describen las principales manifestaciones clínicas reportadas en los pacientes al momento del diagnóstico, dentro de las que se presentó hepatomegalia en el 44% (n=4), esplenomegalia en el 67% (n=6), masa mediastinal en el 11% (n=1) y adenomegalias en el 67% (n=6).

**Tabla 8**

Estudio por biología molecular

Variable	Frecuencia	Porcentaje
<b>Rearreglo cromosómico</b>		
ETV6-RUNX1	0	0
TCF3-PBX1	2	22
MLL-AFF1	0	0
BCR-ABL1	1	11
NOS	6	67

NOS: No especificado (not otherwise specified)

A los pacientes se les realizó estudio molecular, específico para la identificación de rearrreglos moleculares de tipo linfocítico, dentro de los hallazgos se reportó que un paciente (11%)



presentó la fusión BCR-ABL1, dos pacientes (22%) presentaron la fusión TCF3-PBX1 y el resto no presentó ningún rearrreglo (67%, n=6).

**Tabla 9**

Características de la recaída por LLA

Variable	Frecuencia	Porcentaje
<b>Tiempo a la recaída</b>		
Muy temprana	7	78
Temprana	2	22
<b>Sitio de recaída</b>		
Médula ósea	6	67
SNC	2	22
Mixta	1	11

Durante el periodo de estudio se pudieron confirmar un total de nueve recaídas (100%) en pacientes con LLA. De los cuales se obtuvo información de muestras de médula ósea en dos tiempos: al debut (antes del inicio de tratamiento) y al momento de la confirmación de la recaída. El tiempo a la recaída se presentó en etapa muy temprana en el 78% de los casos (siete pacientes). El sitio de recaída más frecuente fue a médula ósea en seis de nueve pacientes que corresponde al 67%, seguido de la recaída aislada a SNC en dos de nueve pacientes, que corresponde al 22% y un paciente recayó tanto a médula ósea como a SNC (11%).



**Tabla 10**

Tabla descriptiva de las variables cuantitativas

Variable	Media	IC 95%	DE	Mediana	Rango	p
Edad (meses)	138.78	93.80-183.76	58.51	143	58-215	0.702
Leucocitos al dx (miles/uL)	109.91	18.32-201.50	119.15	66.52	7.04-316	0.050
DHL al dx (U)	939.61	129.57-1749.65	1053.82	483	300-3544	0.000
<b>Cortactina</b>						
IMF al dx	2788.56	263.90-5313.22	3284.46	1562	58-8614	0.023
IMF a la recaída	2488.56	774.20-4202.91	2230.29	1834	746-7452	0.020
rtPCR al dx (fold change)	42.51	41.69-43.32	0.97	42.65	41.09-43.53	0.178
rtPCR a la recaída (fold change)	43.22	40.45-45.99	2.63	42.80	40.18-47.22	0.844

IC: Intervalo de Confianza, DE: Desviación Estándar, dx: diagnóstico

IMF: Inmunofenotipo, rtPCR: Reacción en cadena de la polimerasa, DHL: Deshidrogenasa láctica. Pruebas de normalidad con estadístico Shapiro-Wilk



**Tabla 11**

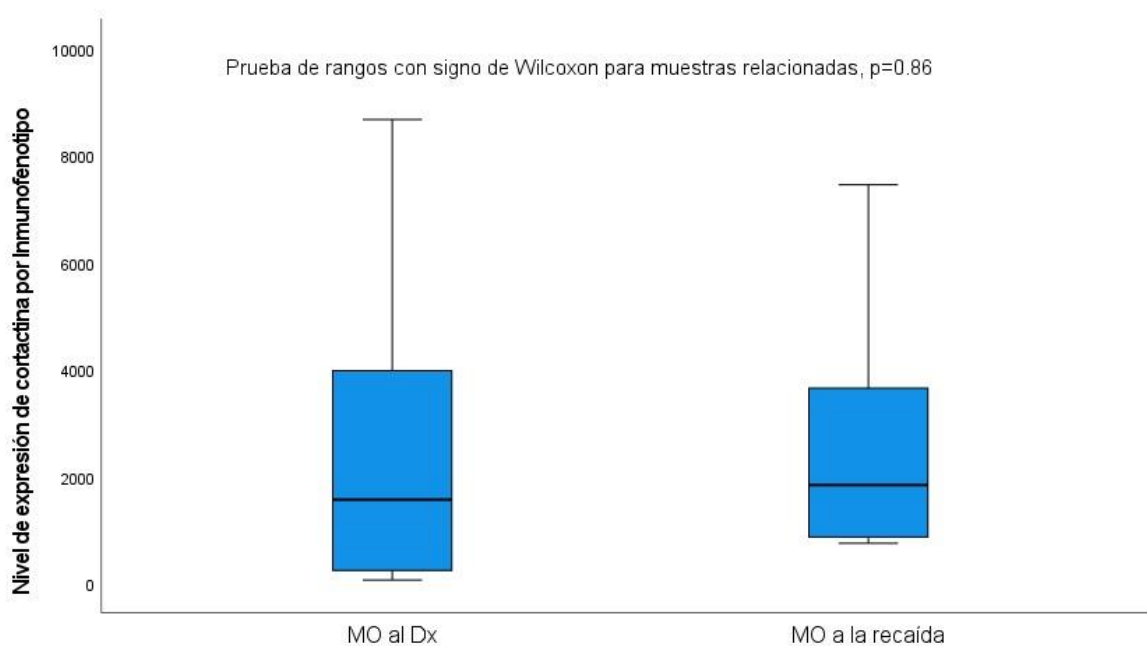
Desenlace tras la recaída

Variable	Frecuencia	Porcentaje
Supervivencia libre de enfermedad	6	67
Defunción	3	33

De los nueve pacientes que recayeron, tres de ellos (33%) murieron a causa de actividad leucémica y el resto de los pacientes (67%, n=6) continúan libre de enfermedad.

**Gráfica 1**

Correlación del nivel de expresión de cortactina al diagnóstico y a la recaída  
(análisis pareado)

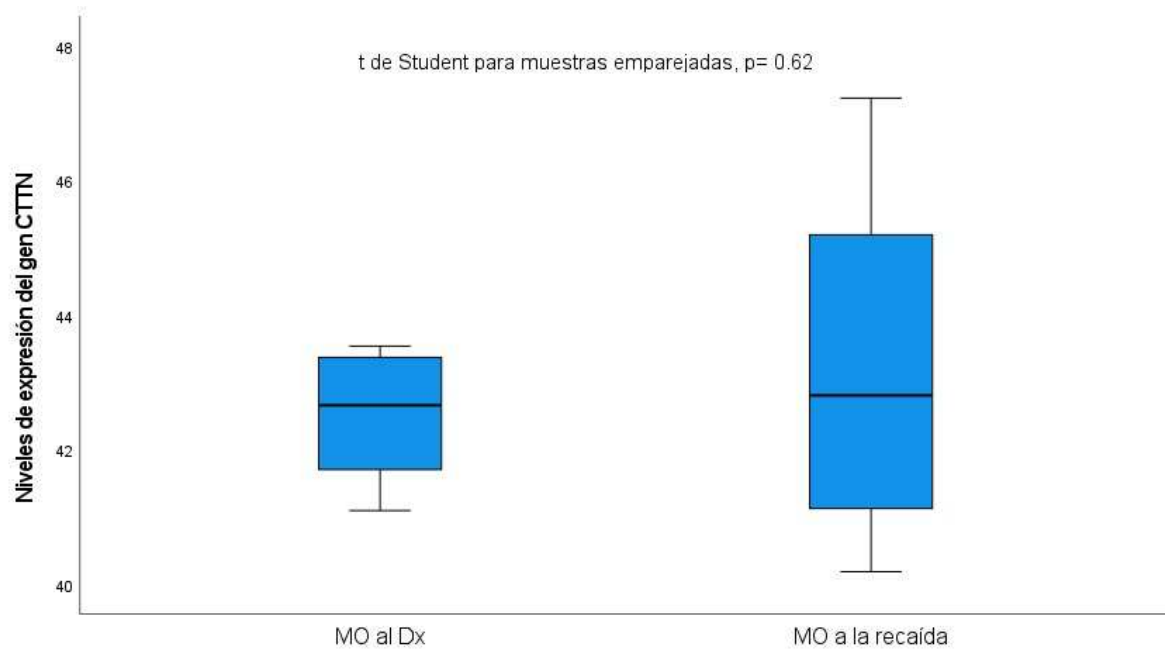


En la gráfica 1 se observa el nivel de expresión de cortactina por inmunofenotipo al momento del diagnóstico y a la recaída, se realizó la prueba de rangos con signo de Wilcoxon para muestras relacionadas, en donde no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, con  $p=0.86$ .



## Gráfica 2

Correlación de los niveles de *CTTN* al diagnóstico y a la recaída  
(análisis pareado)

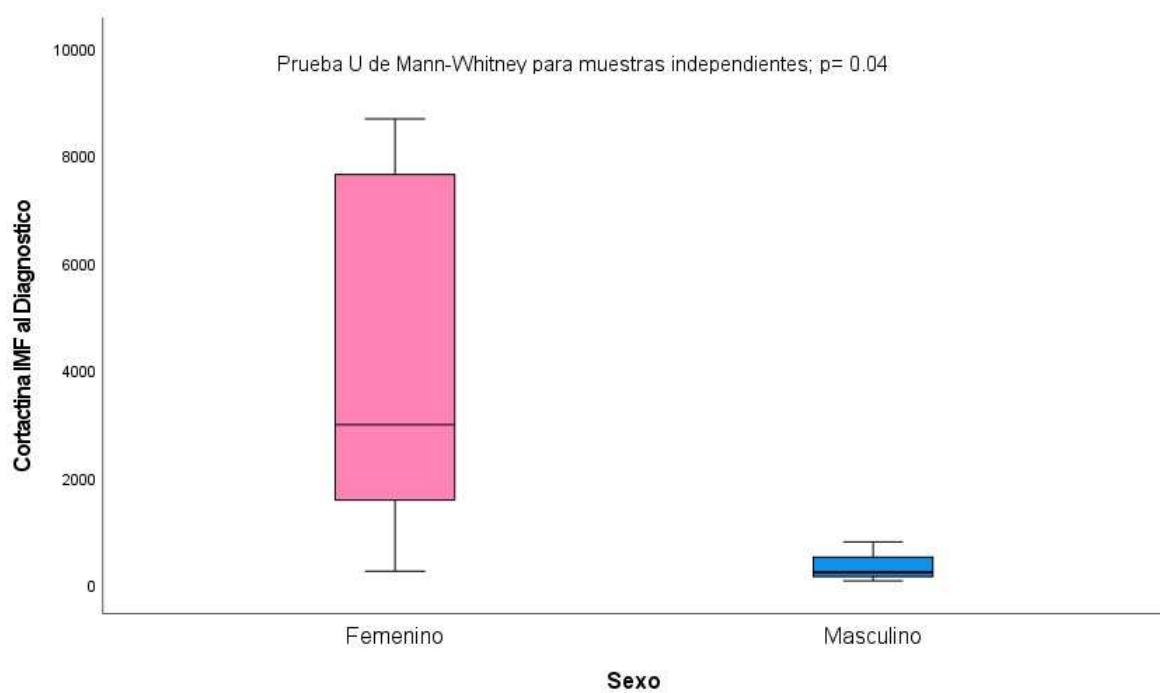


En la gráfica 2 se demuestra el nivel de expresión del gen *CTTN* al momento del diagnóstico comparado con el nivel a la recaída, se realizó la prueba t de Student para muestras emparejadas, en donde no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, con  $p=0.62$ .



**Gráfica 3**

Diferencias del nivel de cortactina al diagnóstico por sexo

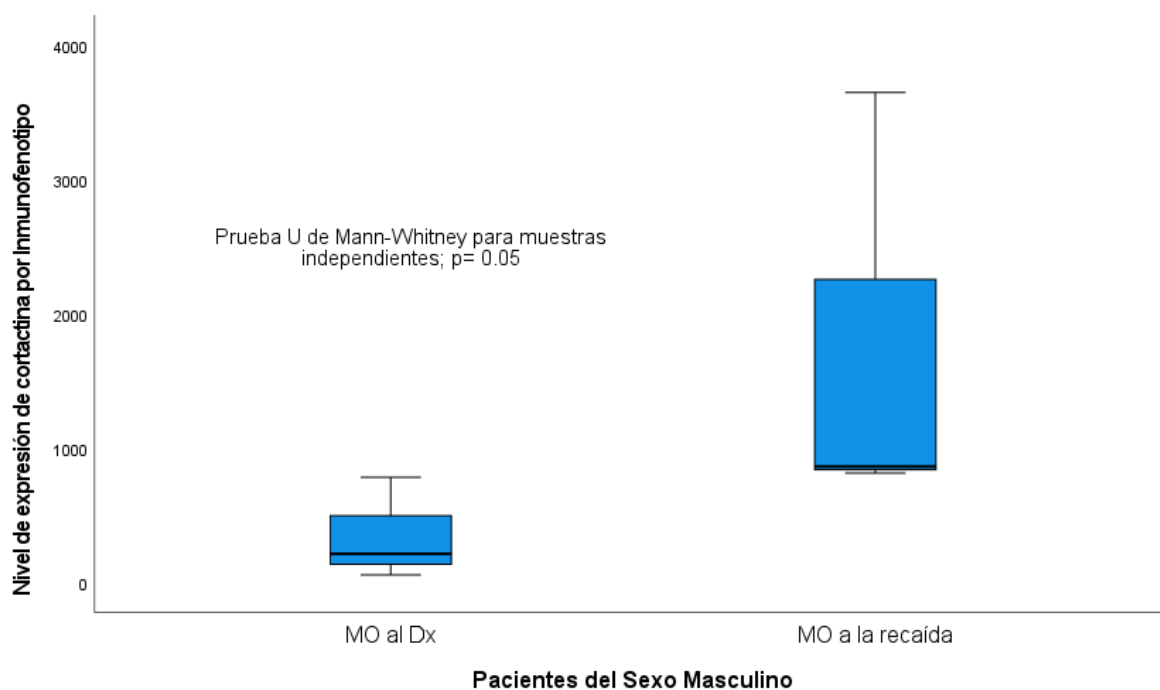


En la gráfica 3 se compararon los niveles de expresión de cortactina por inmunofenotipo al diagnóstico, comparado por sexo, por medio de la prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes se observan diferencias estadísticamente significativas, con  $p=0.04$ .



**Gráfica 4**

Correlación de la expresión de cortactina al diagnóstico y a la recaída estratificando por sexo masculino

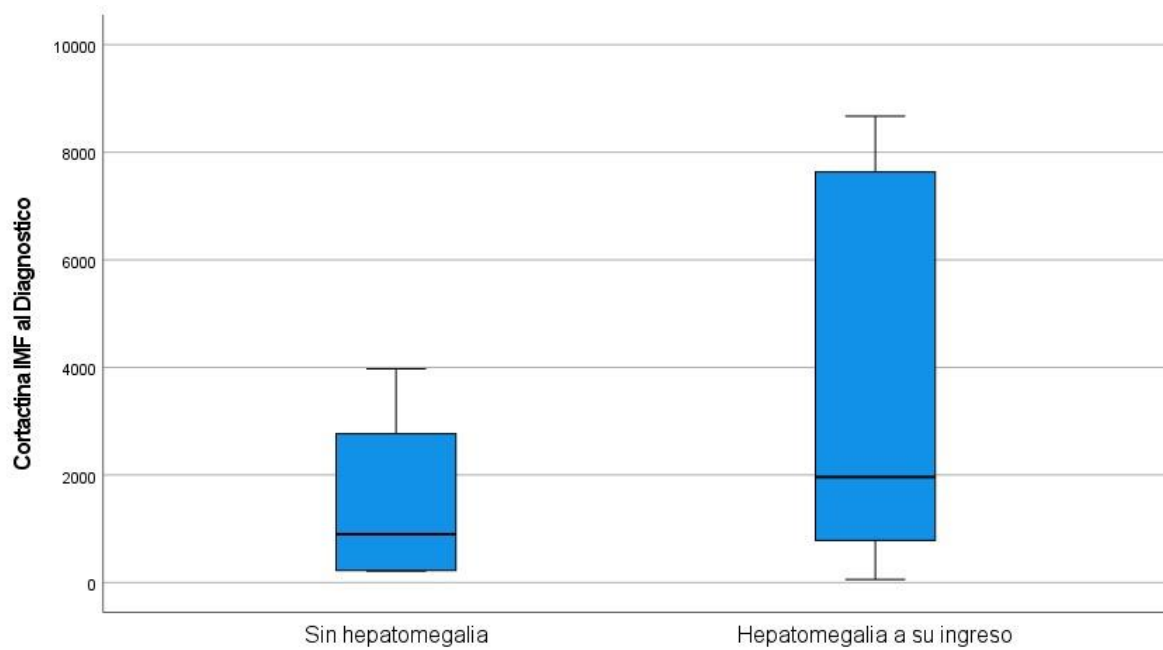


En la gráfica 4 se compararon los niveles de expresión de cortactina por inmunofenotipo al diagnóstico y a la recaída en pacientes del sexo masculino, por medio de la prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes se observan diferencias estadísticamente significativas, con  $p=0.05$ .



**Gráfica 5**

Correlación de los niveles de cortactina al diagnóstico con hepatomegalia

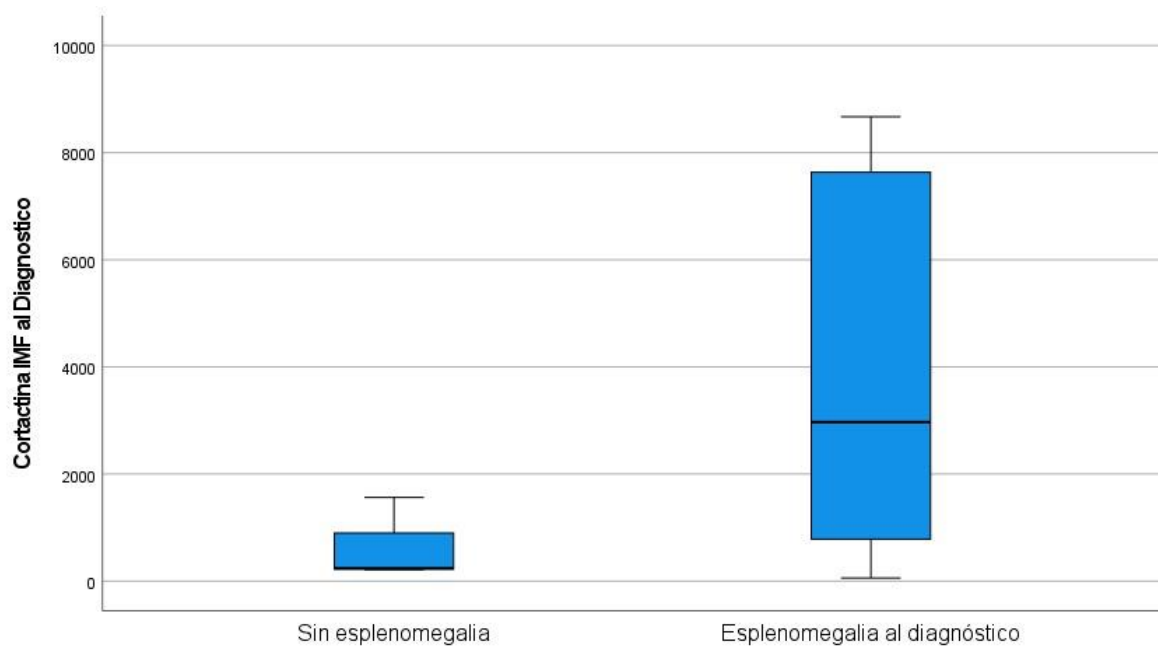


En la gráfica 5 se compararon los niveles de expresión de cortactina por inmunofenotipo al diagnóstico y la presentación de hepatomegalia, por medio de la prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes no se observan diferencias estadísticamente significativas, con  $p=0.46$ .



**Gráfica 6**

Correlación de los niveles de cortactina al diagnóstico con esplenomegalia

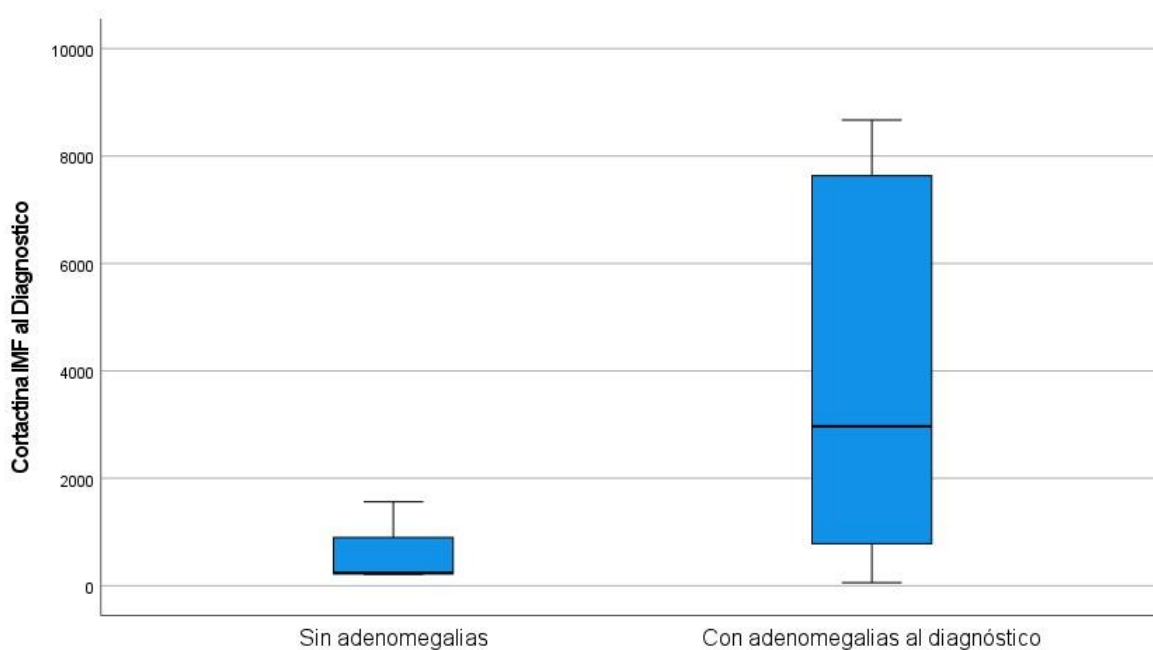


En la gráfica 6 se compararon los niveles de expresión de cortactina por inmunofenotipo al diagnóstico y la presentación de esplenomegalia, por medio de la prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes no se observan diferencias estadísticamente significativas, con  $p=0.19$ .



**Gráfica 7**

Correlación de los niveles de cortactina al diagnóstico con adenomegalias

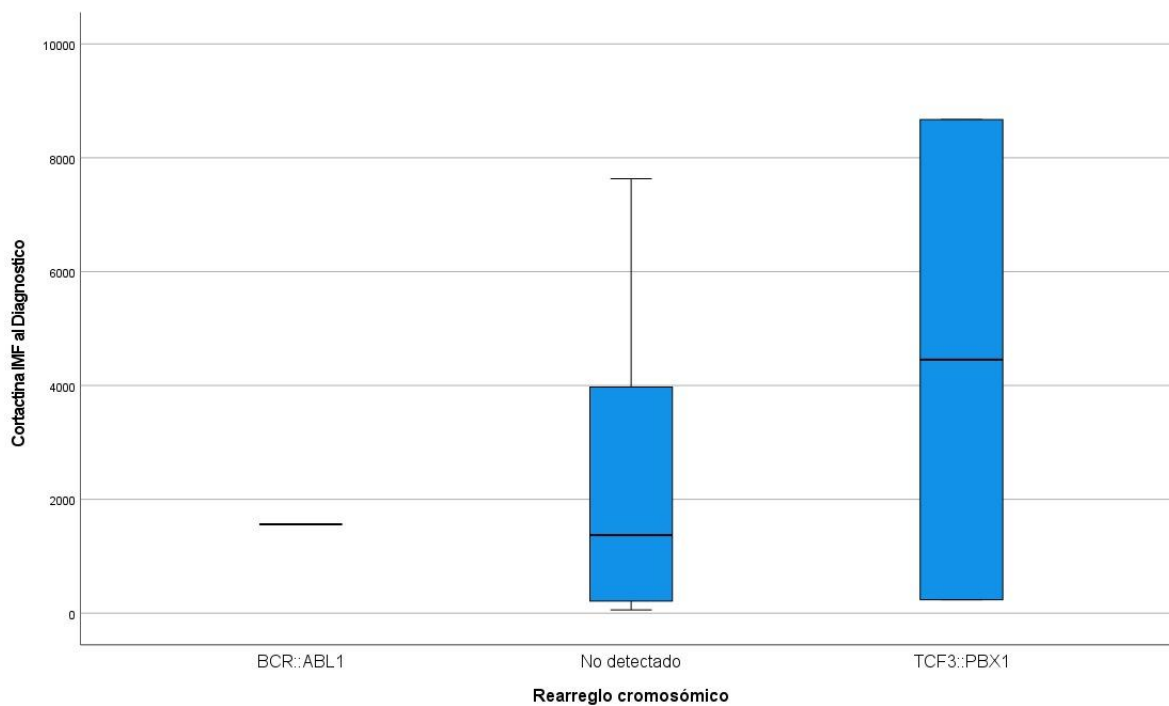


En la gráfica 7 se compararon los niveles de expresión de cortactina por inmunofenotipo al diagnóstico y la presentación de adenomegalias, por medio de la prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes no se observan diferencias estadísticamente significativas, con  $p=0.19$ .



**Gráfica 8**

Correlación de los niveles de cortactina al diagnóstico con rearreglo cromosómico

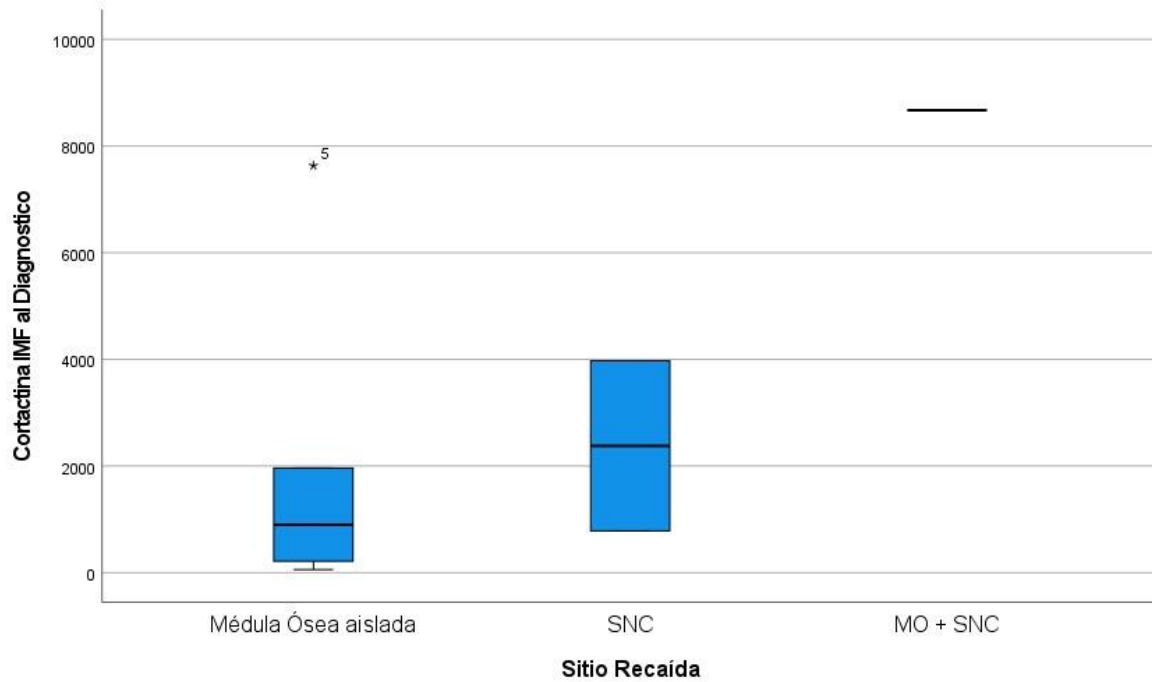


En la gráfica 8 se compararon los niveles de expresión de cortactina por inmunofenotipo al diagnóstico y la presentación de los distintos rearreglos cromosómicos, por medio de la prueba de Kruskal-Wallis, en donde no se observan diferencias estadísticamente significativas, con  $p=0.83$ .



**Gráfica 9**

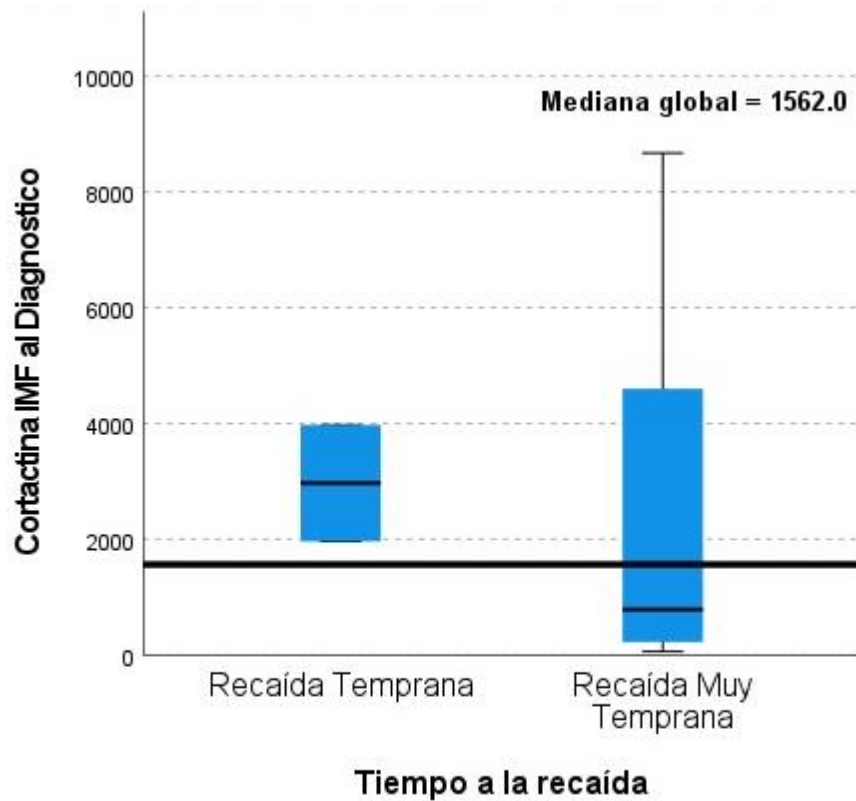
Correlación de los niveles de cortactina con el sitio de recaída



En la gráfica 9 se compararon los niveles de expresión de cortactina por inmunofenotipo al diagnóstico y el sitio de recaída, por medio de la prueba de Kruskal-Wallis, en donde no se observan diferencias estadísticamente significativas, con  $p=0.25$ .

**Gráfica 10**

Correlación de los niveles de cortactina con el tiempo a la recaída

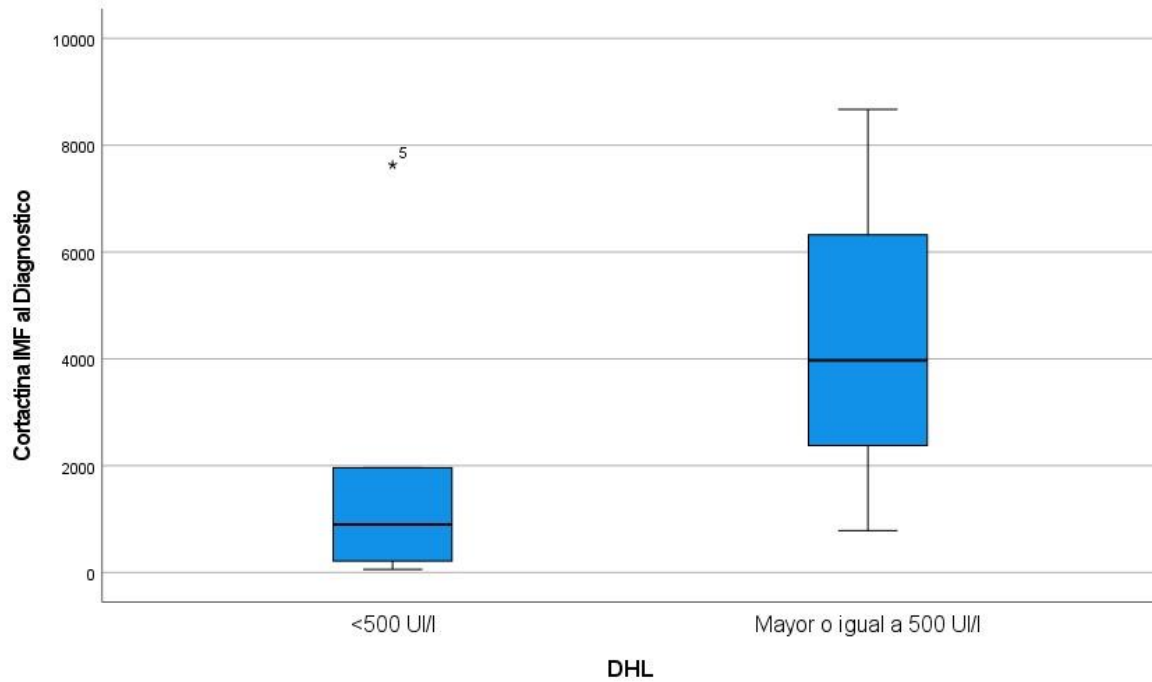


En la gráfica 10 se compararon los niveles de expresión de cortactina por inmunofenotipo al diagnóstico y el tiempo a la recaída, por medio de la prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes, en donde no se observan diferencias estadísticamente significativas, con  $p=0.38$ .



**Gráfica 11**

Correlación de los niveles de cortactina con el valor de DHL al diagnóstico



En la gráfica 11 se compararon los niveles de expresión de cortactina por inmunofenotipo al diagnóstico y el valor de DHL al diagnóstico, por medio de la prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes, en donde no se observan diferencias estadísticamente significativas, con  $p=0.19$ .



### 13. Discusión

Este estudio realizó de descripción de las características demográficas, clínicas, inmunofenotípicas y moleculares de pacientes con diagnóstico de LLA que presentaron recaída y que fueron atendidos en la UMAE HPED CMN SXXI.

De acuerdo con el estudio realizado por el Grupo Interinstitucional Mexicano para la Identificación de causas de Leucemia (MIGICCL) en donde se registraron a 638 pacientes menores de 19 años, con diagnóstico de LLA, evaluados en hospitales públicos de la Ciudad de México, se reportó una edad media de presentación de 75 meses (6.2 años) con un mínimo de 2 meses y un máximo de 222 meses (13). Comparado con lo reportado en el presente estudio, en donde la edad media al diagnóstico fue de 139 meses (11.5 años), con un mínimo de 58 meses y máximo de meses 215.

En la cohorte de Brasil en donde se incluyeron a 33 pacientes con diagnóstico de LLA-B reportada por Cézar et al., se describió que el 54.6% de los pacientes eran masculinos y el 45.4% eran femeninos, con una proporción masculino/femenino de 1.2:1 (19). Lo que difiere de nuestra población en donde reportamos que la mayoría de los pacientes incluidos eran femeninos (67% de los casos).

La mayoría de los pacientes en este estudio tuvieron diagnóstico de LLA de células B, representando un 89%, comparado con lo descrito por Pérez-Saldívar M, et al., en donde determinaron el inmunofenotipo en 96.4% de los casos con diagnóstico de LLA de pacientes evaluados en la Ciudad de México, reportando que el 73.2% se clasificó como precursor de células B, el 12.4% de células T, el 2.1% con un fenotipo dual y un 0.5% indeterminado (6). Bekker-Méndez, et al., reportaron que el 85.1% de los pacientes incluidos en su estudio fueron clasificados como LLA-B, el 10.8% LLA-T y el 4.1% con bifenotipo (13). Expertos en el Hospital St. Jude, proponen la descripción del término leucemias bifenotípicas (BAL por sus siglas en inglés) cuando las características de dos linajes se presentan en una misma población de blastos (20,21). En el estudio realizado por Dorantes-Acosta et al., en el Hospital Infantil de México, se describió una frecuencia en total de 51.3% de casos de LLA-B (21).

Por la clasificación de riesgo reportado, el 100% de nuestra población se clasificó con riesgo alto. De acuerdo con Pérez-Saldívar M, et al., en su estudio epidemiológico, se describen dos



categorías de riesgo conforme a distintos criterios, toman en cuenta el riesgo estándar para aquellos pacientes de entre uno a nueve años, con conteo de leucocitos menor a 50,000/uL y el riesgo alto para pacientes de entre 10 a 14 años de edad o menores de esa edad pero con conteo de leucocitos mayor a 50,000/uL, de acuerdo con sus resultados, reportaron que el 58.8% de los pacientes con LLA se clasificaron como riesgo alto (6). Así como en lo reportado por Bekker-Méndez, et al., en donde el 44.2% se clasificó como alto riesgo (13). Por otro lado, un estudio realizado en el Hospital Infantil de México en donde se recabó información de 113 pacientes con diagnóstico de LLA, reportó que el 74.3% de su población se clasificó como leucemia de alto riesgo (21).

En cuanto a las manifestaciones clínicas, reportadas en nuestra población, se presentó hepatomegalia en el 44%, esplenomegalia en el 67%, masa mediastinal en el 11% y adenomegalias en el 67% de los casos. Dentro de lo reportado por César et al., en su cohorte, el 66.7% de los pacientes presentaron hepatomegalia, seguido de esplenomegalia en el 57.8%, adenopatías en el 57.8%, fiebre en el 29.7%, anemia en el 16.2%, dolor articular en el 8.1% y petequias en el 5.4% (19).

En nuestro estudio se reportó un valor de leucocitos al diagnóstico de 109.01 miles/uL en promedio (rango de 7.04 a 316 miles/uL), comparado con lo observado en el estudio realizado por Bekker-Méndez, et al., con un valor en promedio de 10.07 miles/uL (rango de 0.46 a 970 miles/uL) (13). Así como lo descrito por César et al., con un promedio de 7 miles/uL (rango 1.4 a 513 miles/uL) (19).

Xiang-Shu et al., reportaron las características clínicas y el pronóstico de 21 casos de pacientes con LLA con recaída a SNC, el 47% de ellos fue LLA-B. Siete pacientes presentaron involucro a SNC desde el diagnóstico y 14 pacientes presentaron recaída a SNC; dentro de las características clínicas se reportó cefalea, parálisis facial, debilidad en extremidades inferiores y visión borrosa. Un dato por resaltar es el valor de DHL en sangre periférica al momento del diagnóstico en donde se reportaron niveles >600 U/L, se realizó un análisis multivariado y mostró una correlación significativa en cuanto al tiempo de supervivencia ( $p=0.048$ ). Lo que demostró que los valores de DHL mayores a 600 U/L se podrían asociar a un peor pronóstico (25). Lo que debemos tomar en consideración, debido a que, en nuestro estudio, el valor en promedio de DHL fue de 939.61 U (rango de 300 a 3544 U). Por otro lado,



en el estudio reportado por Aref et al., se observó una media de DHL de 612 U/L con rango de 429.75 a 1012.5 U/L (7).

La caracterización del inmunofenotipo es una herramienta útil para el diagnóstico de LLA, ya que permite la determinación de los subtipos de LLA, además, es necesaria la realización de paneles diagnósticos específicos para LLA-B, en donde se incluyan antígenos específicos como CD19, CD10, CD20. El consorcio Euro Flow ha propuesto optimizar el panel, con el uso de marcadores de maduración como CD34, CD38, TdT, IgM, CD33, CD13, CD9, CD81, CD15, CD66c, CD123 y NG2. La mayoría de los autores reportan que la expresión de los antígenos de superficie celular se considera positivos cuando se presentan >20% en los blastos (19,22). Algunos marcadores han sido ampliamente estudiados, como la expresión de CD10 que se ha asociado con un buen pronóstico, algunos otros permanecen inconclusos como la expresión de CD66 y otros marcadores desafortunadamente han sido poco estudiados o rara vez mencionados en la literatura como CD24 o CD33 (22).

En México, los rearrreglos cromosómicos (como *ETV6-RUNX1*) que tienen buen pronóstico se encuentran en menor frecuencia que en países en desarrollo, mientras que los rearrreglos con mal pronóstico se han reportado con mayor frecuencia (6,13). En nuestro estudio se reportó que un paciente (11%) presentó la fusión *BCR-ABL1* y dos pacientes (22%) presentaron la fusión *TCF3-PBX1*. En el estudio realizado por Bekker-Méndez, et al, se buscó detectar los rearrreglos más frecuentes en su población, en donde se reportó la presencia de rearrreglos en el 17.7% de los casos. *ETV6-RUNX1* se detectó en el 7.4% de los casos, de los cuales el 66.7% eran pacientes femeninos y el 85.7% eran niños menores de 10 años con diagnóstico de LLA-B de forma predominante, con riesgo estándar. *TCF3-PBX1* se presentó en el 7.1% de los casos, en donde el fenotipo predominante fue de células B y el 50% de estos pacientes se clasificaron como de alto riesgo. El rearrreglo *BCR-ABL* se detectó en el 1.8% de los casos y el 80% eran masculinos, la mayoría de los casos con inmunofenotipo de células B, con muerte temprana en el 40% de los casos (13).

El estudio realizado por Kulis et al., describe la relación genotipo-inmunofenotipo en LLA-B; en donde en algunos casos, ciertos marcadores predicen un subtipo o rearrreglo genético en particular, ejemplo de lo anterior es el antígeno NG2 con el rearrreglo que involucra *KMT2A* o la sobreexpresión de CD123 con la presencia de hiperdiploidia. Algunos marcadores han sido más estudiados que otros, como CD66c y CD13 que se asocian con la fusión *BCR-ABL*.



Frecuentemente, la baja expresión de CD9 se relaciona con el genotipo *ETV6-RUNX1*. En la revisión realizada por el estudio previamente mencionado, se reportó que la fusión *BCR-ABL1* presentó los siguientes marcadores: CD10, CD66c, CD123, CD9, CD20, CD24, CD22, CD13, CD33, TdT y CD34; por otro lado, *TCF3-PBX1* expresó CD10, CD66c, CD123, CD20, CD24, CD22, TdT y CD34 (22).

En años recientes, la efectividad del tratamiento ha mejorado y los protocolos terapéuticos se han ajustado de acuerdo con la clasificación de riesgo, lo que resulta en aumento en las tasas de sobrevivencia en 80-90%, sin embargo, las recaídas y las complicaciones relacionadas al tratamiento siguen ocurriendo hasta en un 20% de los casos (22).

En nuestro estudio, el 100% de los pacientes presentaron recaída, de las cuales en el 22% de los casos se presentó infiltración aislada a SNC, contrastado con lo descrito en la cohorte realizada por Cézar et al., donde se reportó infiltración a SNC en el 15.1% de su población, correspondiente a 5 pacientes. Uno de ellos presentó niveles de glóbulos blancos de 513.5 miles/uL al diagnóstico, fue clasificado como de riesgo alto y el tiempo desde el inicio de los síntomas al diagnóstico fue de 180 días, lo que es interesante, ya que el tiempo en promedio desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico en este mismo estudio fue de 38 días (19). Por lo que sería importante conocer si el tiempo entre el inicio de las manifestaciones clínicas y el diagnóstico, está relacionado con la presencia de recaídas. Dentro de nuestros resultados el tiempo a la recaída se presentó en etapa muy temprana en el 78% de los casos (siete pacientes).

En nuestro estudio, de los nueve pacientes que recayeron, el 33% falleció a causa de actividad leucémica y el resto de los pacientes (67%) continua libre de enfermedad. El análisis reportado por Bekker-Méndez, et al., reportó una mortalidad temprana en el 13.5% de los pacientes de su cohorte (13). Resulta importante comentar lo realizado en un estudio para conocer la tasa de mortalidad por leucemia en América Latina, que reportó que dentro del periodo de 2000-2004, México y Ecuador tenían una de las mayores tasas de mortalidad, principalmente en niños y en el grupo AYA (adolescentes y jóvenes adultos) en ambos sexos. A pesar de lo anterior, las tasas en México se mantienen relativamente bajas comparadas con las tasas reportadas en otros países del mundo (23). Otro estudio realizado en 2005 reportó que la mortalidad por leucemia en países de América Latina fue ligeramente menor que lo reportado para Canadá y Estados Unidos (24).



Estudios previos han reportado tasas de mortalidad temprana alarmantemente altas, principalmente en el primer año posterior al diagnóstico. Estos datos están atribuidos a la toxicidad relacionada a quimioterapia y recaídas tempranas, lo anterior como resultado de un diagnóstico impreciso, una estratificación de riesgo inadecuada y la ausencia de monitoreo estandarizado para la respuesta al tratamiento, especialmente en instituciones de salud públicas (5).

El estudio realizado por Alfaro-Hernández et al., demostró que existe evidencia de que la implementación de realizar inmunofenotipo de forma estandarizada y el monitoreo de enfermedad residual cuantificable durante la fase de inducción se asocia de forma significativa a la reducción de la mortalidad temprana en niños con LLA-B en regiones vulnerables de México. Aquellos pacientes con monitoreo de MRD recibieron intensificación de la terapia post-inducción, así como un seguimiento más estrecho, mientras que los pacientes sin monitoreo continuaron con protocolos terapéuticos estándar. También se demostró que el monitoreo de MRD redujo el riesgo de mortalidad temprana en el 59% (Hazard ratio 0.41, IC 95%: 0.22-0.77,  $p < 0.01$ ) (5).

Los factores que promueven la adhesión celular o la migración endotelial pueden llevar a la infiltración de órganos, estos factores están regulados por el citoesqueleto de actina que permite la interacción de las células B con células estromales en la médula ósea o con células endoteliales vasculares. La cortactina es una proteína de unión a actina, que facilita la adhesión y la migración celular, que además se ha descrito que está sobrerregulada en distintos tipos de cáncer (1)

Por lo anterior, se obtuvo información de muestra de médula ósea de los pacientes con diagnóstico de LLA al debut y al momento de la recaída, con el objetivo de conocer el nivel de expresión de cortactina y posteriormente se buscó conocer si existía correlación con alguna de las otras variables previamente estudiadas.

Con base a los resultados reportados por Velázquez-Ávila et al., se demostró que en células de pacientes con recaída a médula ósea los niveles expresados de cortactina incrementaron 3 veces más, comparado con pacientes con recién diagnóstico de LLA-B (1). Sin embargo, en nuestro estudio al comparar los niveles de cortactina por inmunofenotipo o el nivel de



expresión del gen *CTTN* al debut y a la recaída, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Se ha descrito que, en pacientes con recaída, las células infiltradas expresan cortactina, con altos niveles detectados en células aisladas de cerebro, testículos y pulmón, lo que sugiere que células con altos niveles de expresión de cortactina son capaces de inducir enfermedad infiltrativa (1).

Por otro lado, en el estudio de Velázquez-Ávila et al., confirmaron una correlación positiva entre expresión elevada de cortactina y recaída a médula ósea, falla al tratamiento con esteroides y con la presencia de adenomegalias. Sin embargo, no se encontró correlación entre la sobreexpresión de cortactina y sexo, clasificación de riesgo, inmunofenotipo u otras manifestaciones clínicas como citopenia, hepatomegalia o esplenomegalia o estudios de laboratorio como niveles de leucocitos o de DHL (1). En nuestro estudio si observamos una diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la expresión de cortactina determinada por el sexo. En donde se observó que las mujeres presentaban un valor más alto de cortactina al momento del debut, siendo no significativo al momento de la recaída de acuerdo con el sexo. Sin embargo, al realizar un análisis para el sexo masculino específicamente, se observó que existían diferencias significativas en cuanto a la expresión de cortactina al momento del debut comparado con la recaída. Por lo que se demuestra una tendencia de que los pacientes masculinos están aumentando la expresión de cortactina al momento de la recaída, comparada con la del diagnóstico.

Aref et al., observaron una asociación significativa entre la expresión de cortactina y niveles bajos de hemoglobina ( $p=0.002$ ), conteo de eritrocitos bajo ( $p=0.015$ ), plaquetas disminuidas ( $p=0.025$ ), mayor porcentaje de blastos en médula ósea ( $p=0.015$ ), presencia de cromosoma Philadelphia ( $p=0.036$ ), riesgo ( $p=0.042$ ) y recaída ( $p=0.025$ ) (7).

Por otro lado, en nuestro estudio se realizaron pruebas estadísticas para conocer si existía una correlación entre las manifestaciones clínicas, la presencia de rearreglo cromosómico o el valor de DHL al diagnóstico, sin embargo, ninguna resultó con diferencias estadísticamente significativas. También se buscó la posible correlación entre el sitio de la recaída y el tiempo transcurrido desde el diagnóstico a la recaída y tampoco resultó estadísticamente significativo.



Dentro de los hallazgos reportados en el estudio realizado por Velázquez-Avila et al., 2019 destaca la importancia de la cortactina como una herramienta diagnóstica para pacientes con resistencia al tratamiento, con LLA de alto riesgo o con recaída específicamente a médula ósea. Además, se demostró que los pacientes con niveles altos de expresión de cortactina tuvieron una supervivencia en general más corta, comparado con aquellos pacientes que tuvieron expresión disminuida de cortactina ( $p < 0.01$ ) (7).



## 14. Conclusiones

No se encontró asociación entre las manifestaciones clínicas, estudios de laboratorio (DHL), la presencia de rearrreglos cromosómicos, el sitio de la recaída o tiempo a la recaída, sin embargo, se reportaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la expresión de cortactina al momento del diagnóstico y de la recaída por sexo, es un dato que debe tomarse de forma cautelosa, con los resultados obtenidos, se observó una tendencia al aumento de la expresión de cortactina al momento de la recaída comparada con la expresión al momento del diagnóstico en el sexo masculino, lo que brinda información distinta a lo previamente reportado.

Este estudio ofrece datos muy valiosos de pacientes con diagnóstico de LLA que presentaron recaída, ya que es un estudio longitudinal que permitió la realización de un estudio pareado, en donde se realizó la descripción clínica, molecular y por inmunofenotipo de los pacientes, además, contamos con información de muestras de médula ósea para realizar la medición de los niveles de cortactina en dos momentos, que nos permitió conocer si existía alguna correlación entre las variables.

Una consideración importante, debido al acceso limitado para realizar estudios moleculares, es la identificación de rearrreglos cromosómicos para establecer una estratificación de riesgo más precisa, que permita conocer que pacientes serían beneficiados de una intensificación en su tratamiento o por otro lado, en aquellos pacientes con un riesgo bajo minimizar el sobretratamiento.

Es importante reconocer que a pesar de que los distintos tratamientos han incrementado la sobrevivencia, cerca del 80% de los pacientes pueden presentar recaídas o resistencia al tratamiento. Como lo observado en este estudio, se debe considerar que la recaída a médula ósea es la más frecuente, pero que también puede afectar al SNC e incluso presentarse en dos sitios.

La sobreexpresión de cortactina se ha relacionado con progresión de la enfermedad, así como con mal pronóstico en distintas neoplasias hematológicas, por lo que resulta de gran importancia la continua investigación en esta área, para profundizar en los mecanismos involucrados y como parte del seguimiento con los pacientes.



Se requieren de más estudios para explorar como la integración de marcadores y características moleculares, pueden brindar una mejor estratificación del riesgo y predecir resistencia al tratamiento de una forma más temprana.



## **15. Fortalezas y debilidades**

Una de las fortalezas de este estudio es su diseño longitudinal, en el que se permite el seguimiento en dos momentos de un mismo paciente, lo que permite la comparación de las variables, además de permitir un modelo de estudio con una muestra pareada.

Dentro de las debilidades, se encuentra la diferencia en número de sujetos por sexo, que a pesar de que resultó con diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la expresión de cortactina al momento del diagnóstico y de la recaída, es un dato que debe tomarse de forma cautelosa, por lo que sería necesario aumentar el tamaño de la muestra para continuar con dicho análisis, por ahora, con los resultados obtenidos, se observó una tendencia al aumento de la expresión de cortactina al momento de la recaída comparada con la expresión al momento del diagnóstico en el sexo masculino, lo que brinda información distinta a lo previamente reportado.



## 16. Anexos

Actividad	2023										2024										2025														
	Mes	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Elección de tema																																			
Revisión de bibliografía																																			
Elaboración de protocolo																																			
Recopilación de datos																																			
Análisis de resultados																																			
Elaboración de tesis																																			
Presentación de tesis																																			
Aprobación de examen																																			



## 17. Referencias bibliográficas

1. Velázquez-Avila M, Balandrán JC, Ramírez-Ramírez D, Velázquez-Avila M, Sandoval A, Felipe-López A, et al. High cortactin expression in B-cell acute lymphoblastic leukemia is associated with increased transendothelial migration and bone marrow relapse. *Leukemia*. 2019 Jun 1;33(6):1337–48.
2. Pagliaro L, Chen SJ, Herranz D, Mecucci C, Harrison CJ, Mullighan CG, et al. Acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Dis Primers*. 2024 Dec 1;10(1).
3. Dorantes-Acosta E, Medina-Sanson A, Dávila-Ornelas B Y Briceida López-Martínez K. *Gaceta Mexicana de Oncología*. 2013;12(3):136-142 Clasiicación inmunológica de las leucemias agudas linfoblásticas del Hospital Infantil de México Federico Gómez, de acuerdo al EGIL (European Group for the Immunological Classification of Leukemia) [Internet]. 2013. Available from: [www.elsevier.es](http://www.elsevier.es)
4. Malard F, Mohty M. Acute lymphoblastic leukaemia. Vol. 395, *The Lancet*. Lancet Publishing Group; 2020. p. 1146–62.
5. Alfaro-Hernández L, Ramírez-Ramírez D, Romo-Rodríguez R, Ayala-Contreras K, del Campo-Martínez Á, López-Aguilar E, et al. Impact of standardized immunophenotyping and MRD monitoring on early mortality reduction in childhood leukemia: a step towards addressing healthcare disparities in vulnerable populations from Southern Mexico. *Front Oncol* [Internet]. 2025 Jul 28;15. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2025.1614445/full>
6. Pérez-Saldivar ML, Fajardo-Gutiérrez A, Bernáldez-Ríos R, Martínez-Avalos A, Medina-Sanson A, Espinosa-Hernández L, et al. Childhood acute leukemias are frequent in Mexico City: descriptive epidemiology. *BMC Cancer*. 2011 Dec;11(1).
7. Aref S, Agdar M Al, Ramez A, Zeid TA, Sabry M, Khaled N. Evaluation of Cortactin and HS1 Genes Expression: New Players in Adult B-Cell Acute Lymphoblastic leukemia. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2021;22(3):767–74.
8. Inaba H, Mullighan CG. Pediatric acute lymphoblastic leukemia. Vol. 105, *Haematologica*. Ferrata Storti Foundation; 2020. p. 2524–39.
9. Luca DC. Update on Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma. Vol. 41, *Clinics in Laboratory Medicine*. W.B. Saunders; 2021. p. 405–16.
10. Bain BJ, Estcourt L. FAB Classification of Leukemia. In: *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition*. Elsevier Inc.; 2013. p. 5–7.



11. Duffield AS, Mullighan CG, Borowitz MJ. International Consensus Classification of acute lymphoblastic leukemia/lymphoma. Vol. 482, *Virchows Archiv*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2023. p. 11–26.
12. Panuciak K, Nowicka E, Mastalerczyk A, Zawitkowska J, Niedźwiecki M, Lejman M. Overview on Aneuploidy in Childhood B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. Vol. 24, *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.
13. Bekker-Méndez VC, Miranda-Peralta E, Núñez-Enríquez JC, Olarte-Carrillo I, Guerra-Castillo FX, Pompa-Mera EN, et al. Prevalence of Gene Rearrangements in Mexican Children with Acute Lymphoblastic Leukemia: A Population Study - Report from the Mexican Interinstitutional Group for the Identification of the Causes of Childhood Leukemia. *Biomed Res Int*. 2014;2014.
14. Quiroz E, Aldoss I, Pullarkat V, Rego E, Marcucci G, Douer D. The emerging story of acute lymphoblastic leukemia among the Latin American population – biological and clinical implications. Vol. 33, *Blood Reviews*. Churchill Livingstone; 2019. p. 98–105.
15. Bloom M, Maciaszek JL, Clark ME, Pui CH, Nichols KE. Recent advances in genetic predisposition to pediatric acute lymphoblastic leukemia. Vol. 13, *Expert Review of Hematology*. Taylor and Francis Ltd; 2020. p. 55–70.
16. Tegtmeyer N, Wittelsberger R, Hartig R, Wessler S, Martinez-Quiles N, Backert S. Serine phosphorylation of cortactin controls focal adhesion kinase activity and cell scattering induced by *Helicobacter pylori*. *Cell Host Microbe*. 2011 Jun 16;9(6):520–31.
17. Yin M, Ma W, An L. Cortactin in cancer cell migration and invasion [Internet]. Vol. 8, *Oncotarget*. 2017. Available from: [www.impactjournals.com/oncotarget/](http://www.impactjournals.com/oncotarget/)
18. Pérez-Saldivar ML, Fajardo-Gutiérrez A, Bernáldez-Ríos R, Martínez-Avalos A, Medina-Sanson A, Espinosa-Hernández L, et al. Childhood acute leukemias are frequent in Mexico City: descriptive epidemiology. *BMC Cancer*. 2011 Dec;11(1).
19. Ce RS, V Cerqueira BA, de Souza da Paz S, Barbosa CG, de Moura Neto P, de Barreto HS, et al. Outcome of B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia in Brazilian Children: Immunophenotypical, Hematological, and Clinical Evaluation [Internet]. 2015. Available from: [www.jpho-online.com](http://www.jpho-online.com)
20. Rubnitz JE, Onciu M, Pounds S, Shurtleff S, Cao X, Raimondi SC, et al. Acute mixed lineage leukemia in children: the experience of St Jude Children’s Research Hospital. 2009; Available from: <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/113/21/5083/1312817/zh802109005083.pdf>



21. Dorantes-Acosta E, Medina-Sanson A, Dávila-Ornelas B Y Briceida López-Martínez K. *Gaceta Mexicana de Oncología*. 2013;12(3):136-142 Clasiicación inmunológica de las leucemias agudas linfoblásticas del Hospital Infantil de México Federico Gómez, de acuerdo al EGIL (European Group for the Immunological Classification of Leukemia) [Internet]. 2013. Available from: [www.elsevier.es](http://www.elsevier.es)
22. Kulis J, Sędek Ł, Słota Ł, Perkowski B, Szczepański T. Commonly Assessed Markers in Childhood BCP-ALL Diagnostic Panels and Their Association with Genetic Aberrations and Outcome Prediction. Vol. 13, *Genes*. MDPI; 2022.
23. Curado MP, Pontes T, Guerra-Yi ME, De Camargo Cancela M. Leukemia mortality trends among children, adolescents, and young adults in Latin America. Vol. 29, *Rev Panam Salud Publica*.
24. Bosetti C, Malvezzi M, Chatenoud L, Negri E, Levi F, La Vecchia C. Trends in cancer mortality in the Americas, 1970-2000. *Annals of Oncology*. 2005 Mar;16(3):489–511.
  
25. Jin, X. S., Yang, L., Wang, B. H., Li, H. H., Yu, L., & Jing, Y. (2016). Clinical Characteristics and Prognosis of 21 Cases of Acute Lymphoblastic Leukemia with Central Nervous System Leukemia, 24(6), 1675–1682. <https://doi.org/10.7534/j.issn.1009-2137.2016.06.012>