

Congreso Estudiantil de Investigación del SI 2014

**LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA: AVANCES Y PERSPECTIVAS EN BUSCA DE UN
TRATAMIENTO MOLECULAR**

Colegio Indoamericano S. C. Plantel Nicolás de Romero Rubio

Autores:

Dulce Karen Cuandón Hernández
Liliana Berenice Ramírez Domínguez

Asesor:

M. en C. Victoria Domínguez Catzín

Clave de Registro: CIN2014A10263

Área: Ciencias Biológicas, Químicas y de la Salud

Disciplina: Biología

Investigación Documental

Lugar y Fecha: México, 20 de Febrero 2014.

RESUMEN

Las leucemias son un grupo heterogéneo de enfermedades que se distinguen por infiltración de la médula ósea, sangre y otros tejidos, por células neoplásicas del sistema hematopoyético. Son enfermedades que se deben a una mutación somática de la célula progenitora, según su estirpe celular afectada, ya sea la línea mieloide o la linfóide, su evolución varía desde las que conducen rápidamente a la muerte hasta las que evolucionan con lentitud, y se les conoce como agudas o crónicas, respectivamente. Existen cuatro tipos principales de leucemia: Leucemia linfoblástica aguda (ALL), Leucemia mieloide aguda (AML), Leucemia linfocítica crónica (CLL) y Leucemia mieloide crónica (CML). En México, el Registro Epidemiológico de Neoplasias Malignas, reporta una incidencia anual de las leucemias agudas en la población general de 2/100,000 habitantes/año; para la LLA esta cifra es de 1.3/100,000 habitantes/año.¹ El objetivo de este trabajo fue mostrar los avances científicos durante los últimos años referentes al tratamiento y diagnóstico molecular de la enfermedad, así como la comparación de la situación actual de los tratamientos en nuestro país con respecto al mundo. Hablaremos del desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico a nivel de metilación del DNA, así como el desarrollo de investigación en el área de la respuesta inmune como la terapia de inmunidad artificial. Los datos que se muestran a continuación sugieren una mayor esperanza en el pronóstico temprano de la enfermedad y una mejor esperanza de vida para los pacientes con LLA.

Palabras Clave: Leucemia Linfoblástica aguda, Quimioterapia, Inmunología artificial.

ABSTRACT

Leukemias are heterogeneous groups of diseases characterized by the infiltration of hematopoietic neoplastic cells into bone marrow, blood and other tissues. These groups of diseases are caused by somatic mutations in progenitor cells, according to the affected cellular lineage, which includes the myeloid, or lymphoid cell types. Leukemia development can range from those that lead to a prompt death to slowly progressing leukemia commonly known as acute or chronic leukemia. There are four main types of leukemia: Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL), Acute Myeloid Leukemia (AML), Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) and Chronic Myeloid Leukemia (CML). In Mexico, the Malign Neoplastic Epidemiological Registry reports that the annual incidence in the general population of acute leukemia is 2/100,000 persons per year; for LLA this number reaches 1.3/100,000 persons per year. The purpose of this work was to illustrate the scientific developments made during the last few years pertaining to the molecular diagnosis and treatment of these diseases, as well as the comparison of the current therapies offered in our country and the rest of the world. The development of new diagnostic techniques at the DNA methylation level as well as research in the use of the immune response as a therapy (artificial immunity) will also be debated. Data shown in this work suggests there is hope in the early prognosis of this disease and better life quality for LLA patients.

INTRODUCCIÓN

La leucemia es un tipo de cáncer que se origina en las células primitivas productoras de sangre, es decir en el tejido hematopoyético, en este tipo de padecimiento no hay formación de tumores. En cambio, estas células cancerosas están en la sangre y los órganos que producen la sangre, y circulan a través de otros tejidos en los que crecen. Con mayor frecuencia, la leucemia es un cáncer de los glóbulos blancos, pero algunas leucemias comienzan en otros tipos de células sanguíneas.²

Cualquiera de las células de la médula ósea puede convertirse en una célula leucémica. Una vez que ocurre este cambio, las células de leucemia no pasan por el proceso normal de maduración. Las células leucémicas se pueden reproducir rápidamente, y puede que no mueran cuando deberían hacerlo, sino que sobreviven y se acumulan en la médula ósea, desplazando a las células normales. En la mayoría de los casos, las células leucémicas pasan al torrente sanguíneo con bastante rapidez.³ De acuerdo a su desarrollo, la leucemia se clasifica en aguda y crónica. La leucemia aguda se presenta y agrava en un periodo corto de tiempo y es más frecuente en los niños; en cambio, las leucemias crónicas tienen un periodo largo de desarrollo y se presentan con mayor frecuencia en adultos.²

Las leucemias que se inician en las células de origen mieloide (células precursoras de basófilos, neutrófilos, megacariocitos o eritrocitos inmaduros) son llamadas leucemias mieloides. Existen dos tipos principales de leucemia mieloide:

La leucemia mieloide aguda (LMA) provoca que se produzca una cantidad excesiva de células sanguíneas mielógenas (denominados blastos mieloides). Se trata de células leucémicas anómalas que no pueden madurar para formar glóbulos blancos normales. Esta sobre elaboración de células mielógenas se realiza en un lapso corto de tiempo.

La leucemia mieloide crónica (LMC) es la lenta proliferación de células sanguíneas mielógenas que ocurre casi siempre en adultos de mediana edad.

Las leucemias con origen linfoide (que comienzan en los primeros estadios de los linfocitos T y B), son denominadas linfoblásticas. Los dos tipos principales de leucemia linfoblástica son:

La leucemia linfoblástica crónica (LLC) se origina en los linfocitos T o B y propicia la propagación de blastos linfoides. Es más común en adultos que en niños.

La LLA, es el tipo más común de leucemia en niños, se origina en los linfocitos en sus etapas más jóvenes. Se puede originar en células B o T tempranas en diferentes etapas de madurez, las leucemias de las células B son mucho más comunes que las leucemias de las células T.³

El presente trabajo se enfoca en el estudio de la leucemia linfoblástica aguda (LLA), debido a su alta incidencia en niños menores a 14 años en México.

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es una neoplasia del sistema hematopoyético, que se caracteriza por la proliferación no regulada de células progenitoras linfoides B o T en diversas etapas de la diferenciación.⁴

Este cáncer representa 12% de todas las leucemias diagnosticadas en Estados Unidos, y 60% de todos los casos ocurre en personas menores de 20 años. Tiene dos picos de frecuencia por edad, el primero de dos a cinco años y el segundo en la sexta década de la vida. La LLA es la neoplasia más común diagnosticada en pacientes menores de 15 años, constituye la cuarta parte de las neoplasias diagnosticadas en este grupo de edad y 76% de todas las leucemias. La incidencia de leucemia linfoblástica aguda en adultos mayores es de 1/100,000 habitantes al año, es más frecuente en varones que en mujeres, así como en personas de raza caucásica que en personas de raza negra. Respecto de las zonas geográficas, hay prueba de mayor incidencia de LLA en la población del norte y occidente de Europa, norte de África y Oceanía. En México, en el año 2000 se informaron 1,926 casos nuevos, con tasa de 2/100,000 habitantes. De éstos 53% fueron hombres, con dos picos de

manifestación, el primero en edad escolar y el segundo por arriba de 65 años de edad. Las entidades federativas con mayor morbilidad fueron: Distrito Federal, Chiapas y Jalisco (el Distrito Federal con 238 casos nuevos en el 2000). En el mismo año 2000 se informaron 3,301 muertes por leucemia, con tasa de 3/100,000 habitantes y cociente hombre-mujer de 4/3. Con mayor mortalidad en personas de más de 65 años y en el Distrito Federal, Colima y Morelos. Actualmente las opciones de tratamiento estándar de la leucemia linfoblástica aguda recién diagnosticada son la quimioterapia y la radioterapia o radiación ionizante, en ambos casos se destruyen las células cancerosas y sanas en el área que recibe tratamiento al dañar su material genético y hacer imposible que crezcan y se dividan.

HIPÓTESIS

Los tratamientos actuales resultan altamente citotóxicos para el organismo, el desarrollo de diagnósticos y tratamientos a nivel molecular serán menos agresivos, mejorando el pronóstico de vida del paciente.

JUSTIFICACIÓN

Siendo la Leucemia Linfoblástica Aguda la décima causa de muerte en niños menores de 14 años y en México el cáncer más frecuente en infantes, con una sobrevivencia aproximada del 50%, es necesario conocer los avances tecnológicos y científicos entorno al desarrollo de tratamientos a nivel molecular que resulten en una mejor esperanza de vida, sin dejar de lado la investigación para identificar nuevos blancos terapéuticos que ataquen el problema desde diferentes rutas de señalización celular para que en un futuro contemos con un diagnóstico oportuno.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo de este trabajo es mostrar los avances científicos durante los últimos años referentes al tratamiento y diagnóstico molecular de la enfermedad, así como la comparación de la situación actual de los tratamientos en nuestro país con respecto al mundo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Hacer una revisión del diagnóstico en México para pacientes con LLA.
- 2.- Hacer una revisión de los avances en diagnóstico temprano cuando hay sospecha de LLA.
- 3.- Hacer una revisión de los tratamientos que se emplean contra la LLA en México.
- 4.- Hacer una revisión de los nuevos tratamientos contra LLA.

METODOLOGÍA

Se hará una revisión bibliográfica de fuentes científicas como artículos de investigación, tesis, libros especializados e información de Internet. Así mismo, se realizará una investigación en hospitales de la Ciudad de México, para conocer cuál es la incidencia de casos y cuáles son los tratamientos más utilizados en la Leucemia Linfoblástica Aguda en niños mexicanos. Por último, apoyaremos nuestra investigación con el testimonio de científicos y profesionales que laboran en diferentes centros relacionados con nuestra temática.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Factores de Riesgo

Varios trastornos hereditarios aumentan el riesgo de que un niño desarrolle leucemia:

- Síndrome de Down (trisomía 21): los niños con síndrome de Down tienen una copia adicional (tercera) del cromosoma 21. Los niños con síndrome de Down tienen muchas más probabilidades de desarrollar leucemia linfocítica aguda (ALL) o leucemia mieloide aguda (AML) que el resto de los niños, con un riesgo general de aproximadamente 2% a 3%. El síndrome de Down también se ha relacionado con la leucemia transitoria (también conocido como trastorno mieloproliferativo transitorio), una afección similar a la leucemia que aparece durante el primer mes de vida y que frecuentemente se resuelve por sí misma sin necesidad de quimioterapia.³
- Síndrome de Klinefelter: es una afección genética en la que los hombres tienen un cromosoma "X" adicional. Esto causa infertilidad, evita el desarrollo normal de algunas características masculinas (como vello corporal, voz profunda, etc.) y está relacionada con un riesgo ligeramente aumentado de desarrollar leucemia.³
- Síndrome de Li-Fraumeni: un cambio en el gen supresor de tumores TP53 causa esta afección poco frecuente. Las personas que tienen este cambio presentan un mayor riesgo de desarrollar varias clases de cáncer, incluyendo leucemia, sarcomas de tejido óseo o blando, cáncer de seno, cáncer de glándulas suprarrenales y tumores en el cerebro.³

Varios otros trastornos genéticos (como neurofibromatosis y anemia de Fanconi) también conllevan un riesgo aumentado de leucemia, así como de algunos tipos de cáncer.³

El cáncer puede ser causado por mutaciones en el ADN (u otros tipos de cambios) que activan los oncogenes o desactivan los genes supresores de tumores. Estos cambios genéticos pueden ser heredados de uno de los padres (como es algunas veces el caso con las leucemias infantiles), o puede que surjan aleatoriamente durante la vida de una persona si las células en el organismo cometen errores cuando se dividen para formar dos nuevas células.³

Un tipo común de anomalía del ADN que pueden dar lugar a la leucemia se conoce como translocación cromosómica. El ADN humano está empacado en 23 pares de cromosomas. En una translocación, el ADN de un cromosoma se desprende y se une a un cromosoma diferente. El punto en el cromosoma donde ocurre el desprendimiento puede afectar los oncogenes o los genes supresores de tumores. Por ejemplo, una translocación vista en casi todos los casos de leucemia mieloide crónica (CML) infantil y en algunos casos de leucemia linfocítica aguda (ALL) infantil es el intercambio de ADN entre los cromosomas 9 y 22, lo que conduce a lo que se conoce como cromosoma Philadelphia. Esto crea un oncogén conocido como BCR-ABL.³

Las alteraciones t(15:17)(q21;q11), t(8:21)(q22;q22) y la inversión (16) (p13;q22) son las translocaciones más frecuentes en niños y adultos jóvenes menores a 50 años de edad con LMA, mientras que en la LLA son t(9;22) (q34;q11) y t(1;19) (q23;p13).⁷

La t(1;19) (q23;p13) se presenta en el 2,04% y la t(1;11) (q21;q23) en el 0,45% en el total de afectos LLA.⁷

El cromosoma Philadelphia se encuentra en el 25-30% de adultos que padecen de esta enfermedad. Es la anomalía citogenética en este tipo de leucemia en población adulta, siendo p190 la proteína expresada.³

La expresión de la t(4;11) (q21;q23) en LLA es baja o nula.

En la LLA existen factores pronóstico o de riesgo que influyen en la respuesta del tratamiento y en la supervivencia de los pacientes tales como: la edad, la cuenta de leucocitos (CI), el sexo, el subtipo citomorfológico, el inmunofenotipo y el estudio citogenético.⁴

- Ambientales: como la exposición a rayos X en útero, o a reacciones nucleares, como las ocurridas en Hiroshima y Nagasaki.

- Ocupacionales: como en tareas agrícolas, de soldadura, en la industria maderera, así como por el uso de pesticidas, plaguicidas, tintes de cabello y solventes.
- Quimioterapia y radioterapia previas.
- Algunos fármacos como la fenitoína.
- Tabaquismo antes y durante el embarazo como causa de leucemia linfoblástica aguda en niños, al igual que consumo materno de alcohol en el embarazo.
- Dieta rica en nitratos.
- Agentes infecciosos, sobre todo virales, como causas de enfermedades neoplásicas. Un ejemplo de este último punto son los linfomas no Hodgkin que se relacionan con aparición de infección viral. Las células tumorales de Burkitt africano contienen el genoma del virus Epstein-Barr (VEB), que expresa el receptor CD21 del mismo virus; sin embargo, no hay pruebas directas de células B o T en la leucemia linfoblástica aguda (LLA). El VEB se vincula con linfoma de Burkitt o LLA-L3, y también se han demostrado linfomas relacionados con VIH.5 Otro agente infeccioso es el virus linfotrópico humano tipo 1, agente causal de leucemia (linfoma de células T).

TECNICAS DE DIAGNOSTICO COMUN

En la LLA existen factores pronóstico o de riesgo que influyen en la respuesta del tratamiento y en la supervivencia de los pacientes tales como: la edad, la cuenta de leucocitos (Cl), el sexo, el subtipo citomorfológico, el inmunofenotipo y el estudio citogenético. ⁴

Se observa una muestra de médula ósea, tejido de los ganglios linfáticos o líquido cefalorraquídeo. Un factor elemental es si las células se ven maduras (como las células sanguíneas normales) o inmaduras (carentes de las características de estas células normales). Las células más inmaduras se llaman blastos. La presencia de demasiados blastos en la muestra, especialmente en la sangre, es un signo típico de leucemia. ⁴

Una característica importante de una muestra de médula ósea es su celularidad. La médula ósea normal contiene cierto número de células productoras de sangre y de células adiposas. Se dice que una médula que tiene demasiadas células productoras de sangre es hipercelular. Si se encuentran muy pocas células formadoras de sangre, se considera que la médula es hipocelular. ⁴

Citoquímica

En las pruebas de citoquímica, se colocan células de la muestra en una laminilla de un microscopio y se exponen a tinciones (colorantes) químicas que reaccionan solamente con algunos tipos de células leucémicas. Estos colorantes ocasionan cambios de color que se pueden ver a través del microscopio. Esto puede ayudar al médico a determinar los tipos de células presentes. Por ejemplo, una tinción causa que los gránulos de la mayoría de las células de la AML aparezcan como manchas negras en el microscopio, pero no causa que las células de la LLA cambien de color.

Citometría de flujo e inmunohistoquímica

La citometría de flujo se usa para analizar las células de las muestras de médula ósea, ganglios linfáticos y sangre, y determinar con más precisión el tipo exacto de leucemia. Este es un recurso muy importante porque puede ayudar a definir las características únicas de la leucemia. También se ha estado usando para medir la respuesta del tratamiento y la existencia de enfermedad residual mínima en algunos tipos de leucemia. ³

La prueba analiza ciertas moléculas en la superficie de las células, lo cual ayuda a identificar el tipo a que pertenecen. Las células de la muestra se tratan con anticuerpos especiales (versiones sintéticas

de las proteínas del sistema inmunológico) que sólo se adhieren a estas sustancias. Las células son luego pasadas por delante de un rayo láser. Si ahora las células tienen adheridos anticuerpos, el rayo láser causa que reflejen luz, que entonces se mide y analiza por medio de una computadora. ³

La citometría de flujo también se puede usar para calcular la cantidad de ADN en las células leucémicas. Es importante saber esto, especialmente en la ALL, ya que las células con un alto índice de ADN (1.16 o más, lo cual es más de 16% sobre el valor normal) con frecuencia son más sensibles a la quimioterapia, y estas leucemias tienen un mejor pronóstico (perspectiva).³

Para las pruebas de inmunohistoquímica, las células de la médula ósea o de otras muestras se tratan con anticuerpos sintéticos especiales. Pero en lugar de usar un rayo láser y una computadora para análisis, la muestra se trata para que ciertos tipos de células cambien de color cuando se observan con un microscopio. Al igual que la citometría de flujo, este estudio es útil para distinguir los diferentes tipos de leucemia entre sí y de otras enfermedades. ³

Estas pruebas se usan para determinar el inmunofenotipo de las células; esto es, la clasificación de las células leucémicas de acuerdo con las sustancias (antígenos) presentes en su superficie. Los diferentes tipos de células tienen diferentes antígenos en su superficie. Estos antígenos también cambian conforme cada célula madura. Cada célula leucémica del paciente debe tener el mismo antígeno porque todas ellas provienen de la misma célula leucémica original. Las pruebas de laboratorio de los antígenos son una manera muy sensible de diagnosticar y clasificar las leucemias. ³

Para las pruebas de inmunohistoquímica las células de la médula ósea o de otras muestras se tratan con anticuerpos sintéticos especiales. Pero en lugar de usar un rayo láser y una computadora para análisis, la muestra se trata para que ciertos tipos de células cambien de color cuando se observan con un microscopio. Al igual que la citometría de flujo, este estudio es útil para distinguir los diferentes tipos de leucemia entre sí y de otras enfermedades. ³

Estas pruebas se usan para determinar el inmunofenotipo de las células; esto es, la clasificación de las células leucémicas de acuerdo con las sustancias (antígenos) presentes en su superficie. Los diferentes tipos de células tienen diferentes antígenos en su superficie. Estos antígenos también cambian conforme cada célula madura. Cada célula leucémica del paciente debe tener el mismo antígeno porque todas ellas provienen de la misma célula leucémica original. Las pruebas de laboratorio de los antígenos son una manera muy sensible de diagnosticar y clasificar las leucemias. ³

Para las pruebas de inmunohistoquímica las células de la médula ósea o de otras muestras se tratan con anticuerpos sintéticos especiales. Pero en lugar de usar un rayo láser y una computadora para análisis, la muestra se trata para que ciertos tipos de células cambien de color cuando se observan con un microscopio. Al igual que la citometría de flujo, este estudio es útil para distinguir los diferentes tipos de leucemia entre sí y de otras enfermedades. ³

Estas pruebas se usan para determinar el inmunofenotipo de las células; esto es, la clasificación de las células leucémicas de acuerdo con las sustancias (antígenos) presentes en su superficie. Los diferentes tipos de células tienen diferentes antígenos en su superficie. Estos antígenos también cambian conforme cada célula madura. Cada célula leucémica del paciente debe tener el mismo antígeno porque todas ellas provienen de la misma célula leucémica original. Las pruebas de laboratorio de los antígenos son una manera muy sensible de diagnosticar y clasificar las leucemias. ³

Citogenética

Para esta prueba se observan los cromosomas (conglomerados de ADN) de las células leucémicas con un microscopio para detectar cualquier cambio. Las células humanas normales contienen 23 pares de cromosomas, cada una de las cuales tiene cierto tamaño y se tiñe de cierta manera. En algunos tipos de leucemias es posible observar los cambios en los cromosomas.

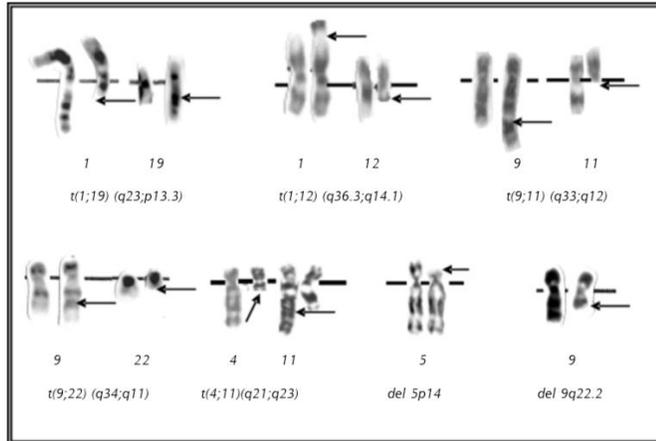


Figura 1. Marcadores cromosómicos observados en pacientes con LLA. (Tomado de Calderón Piñaza, et., al, 2012)

Hibridización in situ con fluorescencia (FISH)

Este procedimiento es similar a la prueba citogenética. Utiliza fragmentos de ADN que sólo se adhieren a ciertas partes de cromosomas particulares. El ADN es enlazado a tintes fluorescentes que se pueden ver con un microscopio especial. La prueba FISH puede encontrar la mayoría de los cambios cromosómicos (como translocaciones) que son visibles en un microscopio en las pruebas citogenéticas convencionales, así como algunos cambios que son demasiado pequeños para verlos con la prueba citogenética usual. ³

La prueba FISH se puede usar para detectar cambios específicos en los cromosomas. Se puede usar en muestras de sangre o médula ósea. Esta prueba es muy precisa y puede usualmente proveer resultados dentro de varios días.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Esta prueba de ADN es de alta sensibilidad que también puede encontrar algunos cambios cromosómicos tan pequeños que no se pueden ver con el microscopio, aunque la muestra tenga muy pocas células leucémicas. Esta prueba puede ser muy útil en examinar pequeños números de células leucémicas (enfermedad residual mínima, o MRD) durante y después del tratamiento que tal vez no fueron detectados con otras pruebas. ³ (Tabla1).

Gen	Función
Notch	La vía de señalización Notch está involucrada en el control de diversos eventos durante el desarrollo de las células eucarióticas como son la proliferación, el crecimiento, la migración, la diferenciación y la muerte celular programada (apoptosis). ²⁴
HOX11	Es un proto-oncogen homeobox que codifica para una proteína

	nuclear que regula el ciclo celular ²⁵
LMO1	Gen que codifica para una proteína de dedo de zinc ²⁶
SIL-TAL1	Participa en procesos de diferenciación eritroide. ²⁷

Tabla. 1 Se muestran los genes analizados por PCR en pacientes durante y después del tratamiento contra LLA.

El EC es un factor clave, ya que permite visualizar alteraciones cromosómicas que están vinculadas con la enfermedad, pronóstico y supervivencia. Muchas veces en pacientes con LLA se presentan diferentes alteraciones cromosómicas, en los adultos en muchos de los casos se observa la translocación o el cromosoma Ph + h (cromosoma filadelfia positivo, BCR/ ABL), y es asociado con el diagnóstico desfavorable, y en niños viceversa. El EC convencional es una prueba clave, pero tiene sus limitaciones ya que requiere de células en división y en metafase en buena calidad, y una posible alternativa a este procedimiento es la hibridación in situ con fluorescencia o citogenética molecular. ⁴ Los procedimientos diagnósticos se resumen en la Figura 2.

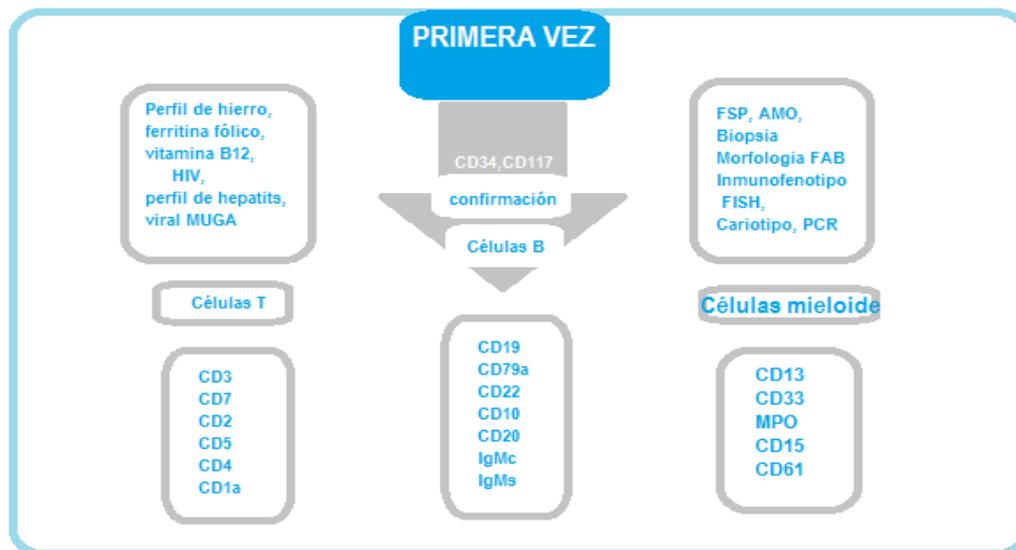


Fig.2 Esquema donde se muestra los estudios diagnósticos que se realizan en pacientes de primera vez, con sospecha de leucemia. Los recuadros en gris muestran los marcadores por inmunofenotipo más importantes Modificado de (Labardini, et., al, (2011).

TECNICAS QUE SE PROPONEN PARA EL DIAGNOSTICO DE LLA

La hipermetilación de sitios CpG en la región promotora de genes supresores de tumores (GST) es un evento epigenético adquirido, frecuente en la LLA y contribuiría en el proceso de patogénesis. Por tanto, la inactivación de uno o más GST, participes en diferentes vías metabólicas, le proporcionan a la célula leucémica una ventaja proliferativa o impiden el proceso de apoptosis celular ¹¹

En tumores con p53 normal se ha observado que este gen no suprime el crecimiento tumoral ni desencadena la apoptosis. Este hecho, ha llevado a pensar que otros genes estarían provocando alteraciones en la vía de p53 ¹² El gen APAF1 (apoptotic peptidase activating factor 1) juega un rol

importante en la inducción de la apoptosis. Se ha reportado que la hipermetilación es un mecanismo de inactivación de este gen en la leucemia aguda y su deficiencia puede contribuir de modo significativo sobre la resistencia a la apoptosis, la progresión de la enfermedad y en la quimioresistencia¹³. El gen ASPP1 (apoptosis-stimulating protein of p53, 1) perteneciente a la familia de proteínas ASPP (ASPP1, ASPP2, iASPP) han sido implicadas en la función apoptótica de p53 y de la familia del p53 (p63 y p73)¹⁴. ASPP1 y ASPP2 actúan como potentes activadores de p53 e iASPP como un inhibidor de la función apoptótica de p53¹⁵. La expresión proteica de ASPP1 se ha observado que se encuentra reducida en la LLA, atribuyendo esto a la hipermetilación del promotor. Además, la expresión anormal de ASPP1 se ha asociado con un pobre pronóstico en la LLA¹⁶. El gen p73 está involucrado en la regulación del ciclo, apoptosis y progresión celular. La hipermetilación y subsecuente inactivación del gen ha sido descrita como un hallazgo común en desórdenes linfoproliferativos malignos, LLA y linfoma no Hodgkin^{17, 18}. El gen FHIT (Fragile Histidine Triad) participa en la regulación de la apoptosis y en el ciclo celular.

La hipermetilación del gen APAF1 fue muy frecuente y se asoció significativamente a la sobrevivencia del grupo de estudio, mostrando a este gen como un factor predictivo de mal pronóstico en pacientes con LLA. Por otro lado, la alta frecuencia de hipermetilación del set de GST reafirma la participación de la metilación en la región promotora de GST en la patogénesis de la LLA y hace necesario realizar una investigación adicional para buscar el grupo de GST más representativo, con el fin de complementar la detección de translocaciones génicas y ayudar en la clasificación molecular de las leucemias.¹

TRATAMIENTOS BASADOS EN QUIMIOTERAPIA Y RADIOTERAPIA

Las siguientes son las opciones de tratamiento estándar para la leucemia linfoblástica aguda (LLA) recién diagnosticada:

Quimioterapia.

El objetivo de la primera fase del tratamiento (inducción de remisión) es inducir una remisión completa (RC). Esta fase suele durar cuatro semanas. En general, cerca de 98% de los pacientes recién diagnosticados con LLA de células B precursoras alcanza la RC hacia el final de esta fase; los pacientes con LLA de células T o con recuentos leucocitarios altos en el momento de la presentación tienen tasas relativamente más bajas.⁵ La quimioterapia de inducción incluye los siguientes fármacos, con antraciclina o sin esta:⁶

- Vincristina. Tiene la capacidad de inhibir la división celular durante la mitosis temprana. La vincristina se une a los monómeros de tubulina evitando la formación de los microtúbulos del huso. Al unirse a los componentes básicos de los microtúbulos, la vincristina incapacita el mecanismo celular del alineamiento y el movimiento de los cromosomas. La vincristina para la separación de los cromosomas duplicadas y previene la división celular. Mientras la vincristina trabaja para mantener que las células cancerosas se dividan, ésta no es muy específica a la división de las células cancerosas. Como los otros alcaloides, ésta también puede parar la división de las células normales, produciendo efectos secundarios⁹
- Cortico esteroides (prednisona o dexametasona). La dexametasona y la prednisona inhiben citoquinas, que son sustancias químicas que controlan la inflamación. La dexametasona disminuye la inflamación mediante la parada de los leucocitos y los hace viajar hacia donde se encuentra la hinchazón. La dexametasona puede también alterar las respuestas normales del sistema inmune.¹⁰
- L-asparaginasa. La L-asparaginasa es una enzima de alto peso molecular obtenida comercialmente de la *Escherichia coli* que hidroliza la asparagina, la cual es indispensable para la

célula y la desdobra en ácido aspártico y amoníaco. Las células normales son capaces de sintetizar ellas mismas la asparagina, pero ciertas células malignas no. La L-asparaginasa interfiere en la síntesis proteica y también en la síntesis de DNA y RNA; parece ser ciclo celular específica para la fase G1 de la división celular, además de poseer actividad inmunosupresora en animales.

Tratamiento de consolidación o intensificación

Una vez se alcanza la remisión completa (RC), se administra tratamiento sistémico junto con la terapia dirigida al SNC. La intensidad de la quimioterapia pos inducción varía considerablemente según la asignación al grupo de riesgo, pero todos los pacientes reciben alguna forma de intensificación después de lograr la RC y antes de iniciar la terapia de mantenimiento. ⁵

Radioterapia

La radioterapia el uso de un tipo de energía (llamada radiación ionizante) para destruir las células cancerosas y reducir el tamaño de los tumores. La radioterapia lesiona o destruye las células en el área que recibe tratamiento al dañar su material genético y hacer imposible que crezcan y se dividan. Aunque la radiación daña las células cancerosas así como las normales, muchas células normales se recuperan de los efectos de la radiación y funcionan adecuadamente. El objeto de la radioterapia es destruir el mayor número posible de células cancerosas y limitar el daño que sufre el tejido sano del derredor. ⁸

TRATAMIENTOS BASADOS EN INMUNOTERAPIA O INMUNOLOGIA ARTIFICIAL

Como hemos comentado anteriormente el tratamiento general en pacientes con LLA está basado en la quimioterapia o la radioterapia; sin embargo estos tratamientos no han sido 100% exitosos ya que las tasa de reincidencia todavía superan el 30%, por otra parte las leucemias que son clasificadas como de alto riesgo y que no son candidatas a la quimioterapia deben ser remitidas a un trasplante de médula ósea, lo cual es riesgoso y no todos los pacientes tienen acceso a este tipo de terapia. ²⁰ Por lo tanto es necesario el desarrollo que prevengan las remisiones y que funcionen como un primer tratamiento al trasplante de médula.

La inmunoterapia es una estrategia efectiva en el tratamiento contra la leucemia, esta técnica incluye el uso de vacunas contra ciertos epítopes del HLA o la producción de anticuerpos contra CD19 que es un receptor de células T asociado a la reincidencia de LLA en niños ²¹. Actualmente se está desarrollando una nueva técnica de inmunoterapia basada en las células de la inmunidad innata (células presentadoras de antígeno), llamada "Inmunoterapia Artificial", Weber y Cols, trabajan en la activación de células T autólogas de pacientes con LLA dirigidas a múltiples antígenos tumorales, esta activación se lleva a cabo mediante la presentación de antígenos mediadas por células dendríticas *in vitro*. En este estudio se utilizaron péptidos pertenecientes a la proteína survivina, a la proteína WT1 y PRAME, las cuales están relacionadas con un mal pronóstico en pacientes con LLA. Ellos observaron, que la presentación del antígeno por las APC en un cultivo celular de linfocitos T promueve exitosamente la expansión clonal de estas células T maduras y son capaces de reconocer en cultivo celular células autólogas cancerígenas ²²

Por otro lado, se ha demostrado que el uso de la proteína Flt3L (Fms-like Tirosin Cinasa) para la estimulación de células de origen mieloide y linfoide así como células APC promueve el aumento en la proliferación y maduración de células de la respuesta inmune promoviendo una regresión del tumor en un modelo murino y además se favorece la segregación de citocinas e interleucinas ²³

DISCUSIÓN

La leucemia es un tipo de cáncer que se origina en las células primitivas productoras de sangre, es decir, en el tejido hematopoyético. Estas células cancerosas se encuentran en la sangre y circulan a través de otros tejidos en las que crecen. La leucemia linfoblástica aguda LLA por sus siglas en inglés, es la neoplasia más común diagnosticada en pacientes menores de 15 años y corresponde al 76 % de todas las leucemias.

Nosotras elegimos este tipo de leucemia enfocándonos a los infantes, ya que son en grupo más susceptibles de la población, orientándonos mayormente hacia los procedimientos a nivel molecular que se utilizan en el pronóstico y tratamiento de la LLA.

Actualmente las opciones de tratamiento estándar de la leucemia linfoblástica aguda son la quimioterapia y la radioterapia o radiación ionizante, en ambos casos se destruyen las células en el área que recibe tratamiento al dañar su material genético y hacer imposible que crezcan y se dividan. Los riesgos de estos métodos son el alto porcentaje de recidiva de la leucemia y que tanto las células sanas como las cancerosas resultan perjudicadas.

El principal tratamiento propuesto en el presente trabajo es la "Inmunidad Artificial", la cual consiste en una técnica *in vitro* de activación de células T de pacientes con LLA, mediante la presentación de antígeno con células dendríticas.

En los países como Chile, se realizan ensayos sobre la desmetilación de genes relacionados con la LLA y tratamientos de inmunología artificial y, obteniendo hasta el momento resultados que han dado a los científicos una perspectiva que apunta hacia una mejor detección oportuna y pronóstico para pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda. No obstante, en México los tratamientos estándar son los más utilizados, ya que no se cuenta con las condiciones propicias para el desarrollo de nuevas prácticas; por lo tanto, las aportaciones de nuevas investigaciones son significativas para generar las condiciones óptimas para el progreso de las técnicas anteriormente descritas.

CONCLUSIONES

De acuerdo a la información recabada a lo largo del proyecto podemos concluir que la leucemia linfoblástica aguda es una de las neoplasias que más afectan a la población mexicana, en particular a la población infantil, siendo en México la décima causa de muerte en niños menores de 14 años y el cáncer más frecuente en infantes con una sobrevivencia aproximada del 50 %.

Debido a que los tratamientos estándar o regulares empleados en el país para este tipo de neoplasias tales como quimioterapia y la radioterapia resultan para el paciente altamente agresivos y citotóxicos, disminuyendo la calidad de vida del paciente; actualmente los avances científicos proponen nuevos tratamientos o rutas para el tratamiento y diagnóstico que puedan mejorar la calidad de vida del paciente, aportando nuevas perspectivas que brindarían una nueva esperanza al avance en el cáncer de este, siendo la desmetilación de genes supresores de tumores (GST) y la inmunidad artificial propuestas innovadoras para el diagnóstico oportuno y tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda.

BIBLOGRAFIA

1. Solis E, Epidemiología de las leucemias agudas. *Revista de Hematología*. 2010; 11:37-39.
2. Leucemia linfoblástica aguda infantil: Tratamiento (PDQ®) (<http://www.cancer.gov/espanol/pdq/tratamiento/LLAinfantil/HealthProfessional>) U.S. National Institute of Health; (citada 15 de febrero de 2014)
4. Paz-y-Miño C, Burgos, R, Moriño S, Santos JC, Fiallo B, Leone P. BCR-ABL Rearrangement frequencies in chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia in Ecuador, South America. *Cancer cytotgenet*. 2002;132:65-67.
5. Pizaña-Calderón Diana, Hernández R. Daniel, Jiménez G. Elvia, Delgado B. José, Ocaña C. Sonia del Carmen, López G. Eduardo Stalin, Malagón C. Enoc Mariano, Altamirano A. Gustavo y Martínez S. Mónica, Identificación de marcadores cromosómicos en pacientes con leucemia linfoblástica aguda, *Genética y Diagnóstico Molecular, Rev Hosp Mex* 2012; 79 (4): 243-251.
6. Möricke A, Zimmermann M, Reiter A, et al.: Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. *Leukemia* 24 (2): 265-84, 2010.
7. Salzer WL, Devidas M, Carroll WL, et al.: Long-term results of the pediatric oncology group studies for childhood acute lymphoblastic leukemia 1984-2001: a report from the children's oncology group. *Leukemia* 24 (2): 355-70, 2010.
8. Hunger S, Galili N, Carrol A, Crist W, Link M, Cleary M. The t(1;19) (q23;p13) results in consistent fusion of E2A and PBX1 coding sequences acute lymphoblastic leukemias. *Blood*. 1991; 77:687-693.
9. Lawrence TS, Ten Haken RK, Giaccia A. Principles of Radiation Oncology. In: DeVita VT Jr., Lawrence TS, Rosenberg SA, editors. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2008.
10. Physician's Desk Reference, 56th ed., 2002. Medcial Economics: Thomson Healthcare
11. Conociendo dexametasona y otros esteroides. International Myeloma Foundation, 2006, California
12. Melki, J. R. & Clark, S. J. DNA methylation changes in leukaemia. *Semin. Cancer Biol.*, 12(5):347-57, 2002.
13. Agirre, X.; Novo, F. J.; Calasanz, M. J.; Larrayoz, M. J.; Lahortiga, I.; Valganon, M.; Garcia-Delgado, M. & Vizmanos, J. L. TP53 is frequently altered by methylation, mutation, and/or deletion in acute lymphoblastic leukaemia. *Mol. Carcinog.*, 38(4):201-8, 2003.
14. Furukawa, Y.; Sutheesophon, K.; Wada, T.; Nishimura, M.; Saito, Y. & Ishii, H. Methylation silencing of the Apaf-1 gene in acute leukemia. *Mol. Cancer Res.*, 3(6):325-34, 2005.
15. Bergamaschi, D.; Samuels, Y.; Jin, B.; Duraisingham, S.; Crook, T. & Lu, X. ASPP1 and ASPP2: common activators of p53 family members. *Mol. Cell Biol.*, 24(3):1341-50, 2004.
16. Liu, Z. J.; Lu, X. & Zhong, S. ASPP--Apoptotic specific regulator of p53. *Biochim. Biophys Acta*, 1756(1):77-80, 2005
17. Agirre, X.; Roman-Gomez, J.; Jimenez-Velasco, A.; Garate, L.; Montiel- Duarte, C.; Navarro, G.; Vazquez, I.; Zalacain, M.; Calasanz, M. J.; Heiniger, A.; Torres, A.; Minna, J. D. & Prosper, F. ASPP1, a common activator of TP53, is inactivated by aberrant methylation of its promoter in acute lymphoblastic leukemia. *Oncogene*, 25(13):1862-70, 2006
18. Pluta, A.; Nyman, U.; Joseph, B.; Robak, T.; Zhivotovsky, B. & Smolewski, P. The role of p73 in hematological malignancies. *Leukemia*, 20(5):757- 66, 2006.

19. Corn, P. G.; Kuerbitz, S. J.; van Noesel, M. M.; Esteller, M.; Compitello, N.; Baylin, S. B. & Herman, J. G. Transcriptional silencing of the p73 gene in acute lymphoblastic leukemia and Burkitt's lymphoma is associated with 5' CpG island methylation. *Cancer Res.*, 59(14):3352- 6, 1999.
20. - Melo, A. A.; Artigas, A. C. G.; Muñoz, N. S.; Brebi, M. P.; Hoffstetter, G. R. & Roa, S. J. C. Perfil de Metilación de genes supresores de tumores APAF1, ASSP1, p73 y FHIT en pacientes con leucemia linfoblástica aguda infantil. *Int. J. Morphol.*, 31(3):973-979, 2013.
21. (Kennedy-Nasser AA, Bollard CM, Myers GD, Leung KS, Gottschalk S, Zhang Y, et al. Comparable outcome of alternative donor and matched sibling donor hematopoietic stem cell transplant for children with acute lymphoblastic leukemia in first or second remission using alemtuzumab in a myeloablative condition regimen. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14:1245–52.)
22. Eapen M, Zhang MJ, Devidas M, Raetz E, Barredo JC, Ritchey AK, et al. Outcomes after HLA-matched sibling transplantation or chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia in a second remission after an isolated central nervous system relapse: a collaborative study of the Children's Oncology Group and the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. *Leukemia* 2008;22:281–6.
23. Generation of Tumor Antigen-Specific T Cell Lines from Pediatric Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia—implications for Immunotherapy Gerrit Weber^{1,2,5,6}, Ignazio Caruana^{1,2,5,6}, Rayne H. Rouce^{2,6,7}, A. John Barrett⁸, Ulrike Gerdemann^{1,2,5,6}, Ann M. Leen^{1,2,5,6}, Karen R. Rabin^{2,6,7}, and Catherine M. Bollard^{1,2,3,4,5,6}. *Journal of Clinical Cancer Research* 2013
24. Dendritic cells engineered to express the Flt3 ligand stimulate type I immune response, and induce enhanced cytotoxic T and natural killer cell cytotoxicities and antitumor immunity. Yongqing Liu¹ Hui Huang¹ Zhuang Chen¹ Li Zong² Jim Xiang^{1*} *THE JOURNAL OF GENE MEDICINE J Gene Med* 2003; 5: 668–680.
25. Leticia Santos, MC, Dra en C, María Fabiola León-Galván, MC, Erika Nahomy Marino-Marmolejo. Vía de señalización Notch y nuevas estrategias para el tratamiento de cáncer *Salud Pública Méx* 2006; Vol. 48(2):155-165
26. Zhang N, Gong ZZ, Minden M, Lu M. The HOX-11 (TCL-3) homeobox proto-oncogene encodes a nuclear protein that undergoes cell cycle-dependent regulation. *Oncogene*. 1993 Dec;8(12):3265-70.
27. McGuire-E-A. Hockett-R-D. Pollock-K-M. Bartholdi-M-F. O'Brien-S-J. Korsmeyer-S-J. *Mol-Cell-Biol* 9: 2124-2132 (1989)
28. Huang S, Qiu Y, Shi Y, Xu Z, Brandt SJ. P/CAF-mediated acetylation regulates the function of the basic helix-loop-helix transcription factor TAL1/SCL. *EMBO J*. 2000 Dec 15;19(24):6792-803.
29. M. L. Faixas, Y. Manginelli, M. L. Strada Agodino, P. Galarza, A. Perusco, G. E. Correa Niveles plasmáticos de homocisteína y presencia de polimorfismo C677T: estudio preliminar en un grupo de pacientes