

Atender y entender

LA LEUCEMIA INFANTIL

armonización, innovación e integración







Atender y entender LA LEUCEMIA INFANTIL

armonización, innovación e integración



El papel utilizado para la impresión de este libro ha sido fabricado garantizando una explotación de los recursos sostenibles con el medio ambiente y beneficiosa para las personas



©Primera Edición, México 2026.

ISBN: 978-970-96676-7-7

ZarPra Ediciones
Dr. Jiménez No. 248, Col. Doctores
C.P. 06720, México, D.F.

www.zarpraediciones.com

Diseño: Irán A. Zarza Martínez
Diseño de Portada: Irán A. Zarza Martínez

Comentarios sobre la edición y contenido de este libro a:
zarpraediciones@gmail.com

Todos los derechos reservados. Ninguna parte de esta publicación debe ser reproducida, almacenada en sistema alguno o transmitida por otro medio —electrónico, mecánico, fotocopiador, registrador, etcétera— sin permiso previo por escrito de la Editorial.

Impreso en México / Printed in Mexico

A las infancias en México



AGRADECIMIENTOS

A la comunidad ASI Leucemia Infantil y en particular a: Dr. Juan Carlos Balandran, Dr. Arturo Cérbulo, Dra. Elisa Dorantes, Dr. Gerardo Juárez Avenaño, Dra. Briceida López Martínez, M.en C. Nereida Méndez, Dr. Alberto Olaya Vargas, Dr. Pablo Cesar Ortiz, Dra. Rosana Pelayo, Dr. Elias Pérez Becerra, Dra. Dalia Ramírez Ramírez, Dr. Hugo Romo, Dra. Lourdes Vega Vega, Dr. Jairo Villanueva, Dra. Martha Zapata Tarrés, Dr. Pedro Arturo Zárate, quienes forman parte de nuestro grupo de expert@s. Su generosidad para compartir tiempo, experiencia y conocimiento ha sido fundamental para afianzar este esfuerzo colaborativo y así mejorar las condiciones de atención de la salud de las niñas y niños de nuestro país.

A todas las personas colaboradoras de los distintos grupos de trabajo del PRONAI^{II} de Leucemia Infantil, financiado por el CONAHCYT hoy SECIHTI.

A Fundación IMSS por su apoyo en la aplicación de los recursos financieros asignados a buena parte de este PRONAI^{II}.

A nuestras familias y gente cuyo apoyo de toda índole nos permiten ser funcionales y productivas/os. Sin Ustedes esta obra (y otras en nuestro haber) no se habría concretado.

EDITORAS

Diana Casique Aguirre

Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías.

Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil.

Centro de Investigación Biomédica de Oriente, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Ciudad de México, México.

Rosana Pelayo

Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil,

Centro de Investigación Biomédica de Oriente, IMSS, Puebla, México. Unidad de Educación e Investigación, IMSS, Ciudad de México, México.

Lourdes Andrea Arriaga Pizano

Unidad de Investigación Médica en Inmunoquímica,

Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional "Siglo XXI", IMSS, Ciudad de México, México.

COLABORADORES

Juan Carlos Núñez Enríquez

División de Investigación en Salud, Unidad Médica de Alta Especialidad.
Hospital de Pediatría "Dr. Silvestre Frenk Freund", Centro Médico Nacional,
Siglo XXI, IMSS, Ciudad de México, México.

Janet Flores Lujano

Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica,
Hospital de Pediatría "Dr. Silvestre Frenk Freund", Centro Médico Nacional
"Siglo XXI", IMSS, Ciudad de México, México.

Juan Manuel Mejía Aranguré

Laboratorio de Genómica Funcional del Cáncer, Instituto Nacional de
Medicina Genómica (INMEGEN). Facultad de Medicina, Universidad
Nacional Autónoma de México (UNAM), Ciudad de México, México.

Diana Tinoco Montejano

Departamento de Medicina, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza,
UNAM, Ciudad de México, México

Fátima Lizbeth Sánchez Jímenez

Facultad de Medicina y Cirugía, Universidad Regional del Sureste (URSE),
Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.

Juvenal Rasgado Gurrión

Facultad de Medicina y Cirugía, URSE, Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.

Marco Antonio Benavides Montero

Escuela de Medicina, Instituto de Estudios Superiores de Tamaulipas
(IEST) Anáhuac, Altamira, Tamaulipas, México.

COLABORADORES

Ana Elenka OrtizReyes

Laboratorio de Células Troncales Tumorales.
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas.
Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS,.
Ciudad de México, México.

Héctor Mayani

Laboratorio de Células Troncales y Progenitoras Hematopoyéticas.
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas.
Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS,
Ciudad de México, México.

María Antonieta Chávez González

Laboratorio de Células Troncales Tumorales.
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas.
Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS,
Ciudad de México, México.

César Galván Díaz

Servicio de Oncología, Instituto Nacional de Pediatría,
Ciudad de México, México.

Briceida López Martínez

Investigador Asociado, Hospital Juárez de México, Synlab,
Ciudad de México, México.

Alberto Olaya Vargas

Jefe del Servicio de Trasplante y Terapia Celular,
Instituto Nacional de Pediatría, Ciudad de México, México.

Israel Parra Ortega

Jefe de Departamento de Laboratorio Clínico,
Hospital Infantil de México Federico Gómez, Ciudad de México, México.

Marta Zapata Tarrés

Coordinación de Investigación, Fundación IMSS, A.C.,
Ciudad de México, México.

Rubí Romo Rodríguez

Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías.
Laboratorio de Citomática del Cáncer Infantil. Centro de Investigación
Biomédica de Oriente, IMSS, Ciudad de México, México.

Dulce Rosario Alberto Aguilar

Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías.
Laboratorio de Citomática del Cáncer Infantil. Centro de Investigación
Biomédica de Oriente, IMSS, Ciudad de México, México.

COLABORADORES

Jessica Lakshmi Prieto Chávez

Laboratorio de Citometría del Centro de Instrumentos de la Coordinación de Investigación en Salud, IMSS, Ciudad de México, México.

Laura Cecilia Zárraga Vargas

Unidad de Enseñanza e Investigación,

Hospital del Niño Morelense, Emiliano Zapata, Morelos, México.

Laboratorio de Biología de Células Troncales, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, México.

Beatriz Pérez Romano

Personal operativo Pronaii 300364.

Gina Martínez Flisser

Personal operativo Pronaii 300364.

Carmen Alaez Verson

Laboratorio de Diagnóstico Genómico,

Dirección de Investigación, INMEGEN, Ciudad de México, México.

Joaquín García Solorio

Laboratorio de Diagnóstico Genómico,

Dirección de Investigación, INMEGEN, Ciudad de México, México.

Fernanda Flores Espino

Laboratorio de Diagnóstico Genómico,

Dirección de Investigación, INMEGEN, Ciudad de México, México.

Marco Jiménez Olivares

Laboratorio de Diagnóstico Genómico,

Dirección de Investigación, INMEGEN, Ciudad de México, México.

Carolina Molina Garay

Laboratorio de Diagnóstico Genómico,

Dirección de Investigación, INMEGEN, Ciudad de México, México.

Karol Carrillo Sánchez

Laboratorio de Diagnóstico Genómico, Dirección de Investigación,

INMEGEN. Ciudad de México, México.

Víctor J. Sánchez Martínez

Laboratorio de Diagnóstico Genómico,

Dirección de Investigación, INMEGEN, Ciudad de México, México.

Alejandra Cervera Taboada

Laboratorio de Diagnóstico Genómico,

Dirección de Investigación, INMEGEN, Ciudad de México, México.

COLABORADORES

Michael Schnoor

Departamento de Biomedicina Molecular, Cinvestav-IPN,
Ciudad de México, México.

M. Víctor M. Correa Lara

Departamento de Biomedicina Molecular, Cinvestav-IPN,
Ciudad de México, México.

Joseph Adomako

Departamento de Biomedicina Molecular, Cinvestav-IPN,
Ciudad de México, México.

Hilda Vargas Robles

Departamento de Biomedicina Molecular, Cinvestav-IPN,
Ciudad de México, México.

Miguel Olivas Aguirre

Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas,
Universidad de Colima, Colima, México.

Liliana Torres López

Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas,
Universidad de Colima, Colima, México.

Igor Pottosin

Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas,
Universidad de Colima, Colima, México.

Oxana Dobrovinskaya

Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas,
Universidad de Colima, Colima, México.

Juan Carlos Bustamante Ogando

Laboratorio de Investigación en Inmunodeficiencias y
Servicio de Inmunología Clínica, Instituto Nacional de Pediatría,
Ciudad de México, México.

Alejandrina Hernández López

Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT).
Laboratorio de Biotecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia,
Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, México.

Angelica Meneses Acosta

Laboratorio de Biotecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia,
Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos, México.

COLABORADORES

Astrid Zoé López Valdez

Médico Residente del Servicio de Oncología Pediátrica,
Instituto Nacional de Pediatría, Ciudad de México, México.

María Cervantes Delgado

Becario del Programa Nacional de Servicio Social en Investigación, CIFRHS,
Departamento de Trasplante Hematopoyético y Terapia Celular,
Instituto Nacional de Pediatría, Ciudad de México, México.

Brenda Loaiza

Laboratorio de Biología de Sistemas, INMEGEN, Ciudad de México, México.

Cristian Padron Manrique

Laboratorio de Biología de Sistemas, INMEGEN.
Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas,
UNAM, Ciudad de México, México.

Diego Orozco Flores

Subdirección de Análisis de Expresión, INMEGEN,
Ciudad de México, México.

Ricardo Benjamín Olvera Acosta

Subdirección de Análisis de Expresión, INMEGEN,
Ciudad de México, México.

Perla Alvarado

Laboratorio de Biología de Sistemas, INMEGEN,
Ciudad de México, México.

Galilea Resendis González

Laboratorio de Biología de Sistemas, INMEGEN,
Ciudad de México, México.

Juan José Oropeza Valdés

Centro de Ciencias de la Complejidad, UNAM
Ciudad de México, México.

Jorge Meléndez Zajgla

Laboratorio de Genómica Funcional del Cáncer, INMEGEN,
Ciudad de México, México.

Osbaldo Resendis Antonio

Laboratorio de Biología de Sistemas, INMEGEN. Centro de Ciencias de la
Complejidad, UNAM. Coordinación de la Investigación Científica – Red de
Apoyo a la Investigación, UNAM, Ciudad de México, México.



PRÓLOGO

LA LEUCEMIA INFANTIL DESDE LA ARMONIZACIÓN CIENTÍFICA

La promoción de agendas para responder a los principales desafíos de salud a través de programas de integración transversal ha marcado una nueva era en la investigación científica de México.

Para nuestra nación, el cáncer infantil es una prioridad urgente de atender, ya que representa una de las patologías sistémicas de mayor detrimento tanto en la salud física y mental de las personas que la padecen como en sus familias y comunidad, con profundos impactos sociales, económicos y psicológicos. Los desenlaces fatales debidos al cáncer en edad pediátrica superan las muertes por todos los tipos de enfermedades de la infancia. Uno de cada dos casos de cáncer en niñas, niños y adolescentes mexicanos se debe a leucemias agudas, el cáncer de la sangre, que ha incrementado durante los últimos 40 años hasta ocupar el primer lugar de incidencia de nuevos casos y el mayor número estimado de muertes en edades 1-19 años en América Latina.

En el Proyecto Nacional de Investigación e Incidencia en Leucemia Infantil del Conahcyt, ahora Secihti, en alianza con la Secretaría de Salud, diseñamos una estrategia incluyente para potenciar la aplicación de conocimientos de diferentes áreas con el fin de mejorar la atención de pacientes con leucemia. El objetivo principal es in-

crementar las tasas de curación de esta devastadora enfermedad con expectativas de conservar una recaíta calidad de vida, instrumentando para ello enfoques interdisciplinarios armonizados, acompañados de herramientas y tecnologías de vanguardia. Este esfuerzo busca entender más ampliamente la complejidad de la leucemia, las condiciones de las poblaciones vulnerables de las zonas de mayor marginación del territorio mexicano, las cuales muestran las incidencias más altas y una preocupante reducción de probabilidad de sobrevivir a la enfermedad.

Más del 50% de los menores en nuestro país son clasificados al debut clínico de la leucemia como pacientes de alto riesgo y experimentan una evolución desfavorable, con desenlaces de recaídas y muertes ocurridas en fases muy tempranas del tratamiento, por lo menos tres veces más frecuentes que en otras regiones del mundo, a pesar del uso de esquemas similares de quimioterapia. Más aún, en aquéllos clasificados con criterios clínicos como riesgo estándar, la frecuencia de recaída es mayor al 55%, lo que denota la participación de múltiples factores biológicos y/o ambientales adicionales en los pronósticos desfavorables y subraya la necesidad de investigación científica exhaustiva para su detección oportuna, estratificación de riesgo e intervención terapéutica integral basada en el conocimiento y adecuada a la identidad de nuestras poblaciones.

Este modelo de investigación especializada operó en torno a cuatro ejes estratégicos: epidemiología ambiental, ciencia y tecnología de frontera, armonización y educación, e innovación para la prevención y tratamiento. Reunió el trabajo cooperativo de múltiples investigadores científicos y biotecnólogos, especialistas clínicos en hematología y oncología pediátrica, más de 20 instituciones nacionales de investigación y hospitales de concentración, laboratorios clínicos, Sociedades Médicas y Científicas de prestigio académico. De dichos ejes se articularon 11 proyectos interactivos liderados por expertos en las respectivas áreas, que operan simultáneamente a diferentes escalas de organización y en múltiples dimensiones de desarrollo, con adherencia rigurosa a los principios de inclusión, equidad y derecho universal a los beneficios de la ciencia.

El eje dedicado al estudio epidemiológico y de supervivencia de leucemia en zonas marginales, ha investigado a profundidad las po-

tenciales causas con componente ambiental, los factores de riesgo para su aparición, los factores pronósticos de su supervivencia y los determinantes sociodemográficos de la mortalidad en las poblaciones más vulnerables, para ofrecer recomendaciones preventivas primarias, secundarias y terciarias basadas en el cese de exposición a dichos factores.

Por otro lado, las estrategias de investigación científica incluyen proyectos interdisciplinarios y el lanzamiento de un laboratorio de citómica para el cáncer infantil. Las tecnologías ómicas han transformado la perspectiva integral de las enfermedades complejas, bajo un modelo en el que se estudian personas, perfiles y comportamientos biológicos, resultado del procesamiento de grandes cantidades de datos. La citómica, que combina la citometría de flujo y la espectrometría de masas, es de indudable utilidad para la ponderación de riesgo, así como para la predicción de respuesta a tratamiento. Su importancia recae en la capacidad de análisis de alto rendimiento de poblaciones heterogéneas de pacientes a nivel de células individuales y su asociación con desenlaces clínicos en las diferentes etapas de la enfermedad. Éstas han sido esenciales para el inicio de la construcción de un Atlas de Leucemia Infantil en México, resultado de la interacción en red de información clínica, citómica, genómica, ambiental, patobiológica y de respuesta tumoral a agentes terapéuticos.

Además, como podrá leerse en esta obra, la identificación del origen y evolución de las células troncales leucémicas en el debut y la recaída, así como la exploración de nuevas moléculas diana involucradas en procesos de regulación, activación y migración celulares han determinado potenciales estrategias de intervención molecular en escenarios de riesgo. En particular, cortactina y HDAC6 han surgido como importantes biomarcadores pronósticos en LLA-B. Estos biomarcadores, asociados con un aumento en las recaídas y una mayor migración celular, juegan un papel crucial en la regulación del citoesqueleto de actina. Su potencial como blancos terapéuticos abre el camino hacia el desarrollo de nuevas estrategias y terapias dirigidas.

La armonización nacional de sistemas de registro y diagnóstico por citometría de flujo es fundamental en el abordaje a patologías malignas, así como la educación continua a los profesionales de la salud a cargo de su manejo. La construcción y fortalecimien-

to de una comunidad académica multidisciplinaria que aporta su gran experiencia en el análisis del inmunofenotipo y la aplicación de otras herramientas de laboratorio para el diagnóstico y seguimiento de la leucemia linfoblástica aguda resulta esencial para cualquier estrategia de implementación de mejoras con visión incluyente para todo el país. La apropiación del conocimiento a nivel de comunidad, basada en la participación activa en consensos y basados en la revisión de buenas prácticas desde la obtención de la muestra de la mejor calidad posible hasta la emisión de un reporte armonizado que resulte útil para la toma de decisiones de cualquier profesional de la salud en el país, es el eje principal de esta estrategia.

Finalmente, estrategias biotecnológicas y de innovación han iniciado su desarrollo, como la expansión ex vivo a escala clínica de células troncales y progenitoras hematopoyéticas de la sangre de cordón umbilical para trasplante, la generación de plataformas biotecnológicas para el desarrollo de terapias contra el microambiente tumoral y el desarrollo de linfocitos T quiméricos (CAR-T) para terapia celular de entidades refractarias, han sentado las bases de estudios pre-clínicos de inmunoterapia y terapia celular.

A través de 10 capítulos, esta obra pretende contribuir a la cultura científica del lector interesado en torno a la patología de la leucemia, revelar nuevos descubrimientos que permiten subclasificar grupos de riesgo, y avances y perspectivas con potenciales implicaciones en políticas de salud infantil. Los esfuerzos aquí descritos han contribuido a la precisión en la clasificación diagnóstica de la leucemia, la optimización de estrategias terapéuticas y la reducción de la mortalidad infantil por leucemia en México, a partir de la armonización científica.

Dra. Lourdes Andrea Arriaga Pizano
Dra. Rosana Pelayo

CONTENIDO

CAPÍTULO 1 | 1

Determinantes socioambientales de la leucemia infantil: evidencia global, mecanismos y prioridades de investigación

Juan Carlos Núñez Enríquez, Janet Flores Lujano,

Juan Manuel Mejía Aranguré, Diana Tinoco Montejano,

Fátima Lizbeth Sánchez Jiménez, Juvenal Rasgado Gurrión,

Marco Antonio Benavides Montero, Rosana Pelayo

CAPÍTULO 2 | 25

Hematopoyesis normal y leucémica.

Origen, características e impacto clínico

Ana Elenka Ortiz Reyes, Héctor Mayani,

María Antonieta Chávez González

CAPÍTULO 3 | 45

Modelo de atención integral de pacientes pediátricos con LLA

César Galván Díaz, Briceida López Martínez,

Alberto Olaya Vargas, Israel Parra Ortega, Marta Zapata Tarrés

CAPÍTULO 4 | 69

Laboratorio de citómica del cáncer infantil: diagnóstico de precisión e incidencia centrado en el paciente, su comunidad y entorno ambiental

Rubí Romo Rodríguez, Diana Casique Aguirre,

Dulce Rosario Alberto Aguilar, Rosana Pelayo

CONTENIDO

CAPÍTULO 5 | 107

Armonización del reporte del inmunofenotipo:
estrategia colaborativa para el acceso equitativo*Lourdes Andrea Arriaga Pizano**Gina Martínez Flisser, Jessica Lakshmi Prieto Chávez,**Laura Cecilia Zárraga Vargas, Beatriz Pérez Romano,*

CAPÍTULO 6 | 133

La transcriptómica y la genómica como herramientas en el
estudio de la leucemia linfoblástica aguda B*Carmen Alaez Verson, Joaquín García Solorio, Fernanda Flores Espino,
Marco Jiménez Olivares, Carolina Molina Garay, Karol Carrillo Sánchez,
Víctor J. Sánchez Martínez, Alejandra Cervera Taboada*

CAPÍTULO 7 | 159

Identificación de biomarcadores de mal pronóstico en
leucemia linfoblástica aguda B*Michael Schnoor, M. Víctor M. Correa Lara,
Joseph Adomako, Hilda Vargas Robles*

CAPÍTULO 8 | 175

Nuevas estrategias terapéuticas
para leucemias agudas quimiorresistentes*Oxana Dobrovinskaya, Miguel Olivas Aguirre,
Liliana Torres López, Igor Pottosin*

CAPÍTULO 9 | 189

Células T con receptor de antígeno quimérico (CAR-T) para el
tratamiento de leucemia aguda linfoblástica en la infancia*Alberto Olaya Vargas, Juan Carlos Bustamante Ogando,**Alejandrina Hernández López, Angelica Meneses Acosta,**Marta Zapata Tarrés, Astrid Zoé López Valdez, María Cervantes Delgado*

CAPÍTULO 10 | 209

Ciencia de datos, inteligencia artificial y su incidencia
en leucemia infantil*Brenda Loaiza, Cristian Padron Manrique, Diego Orozco Flores,**Ricardo Benjamín Olvera Acosta, Perla Alvarado,**Galilea Resendis González, Juan José Oropeza Valdés,**Jorge Meléndez Zajgla, Osbaldo Resendis Antonio*

Capítulo 1

Determinantes socioambientales de la leucemia infantil: Evidencia global, mecanismos y prioridades de investigación



Juan Carlos Núñez Enríquez,
Janet Flores Lujano,
Juan Manuel Mejía Aranguré,
Diana Tinoco Montejano,
Fátima Lizbeth Sánchez Jiménez,
Juvenal Rasgado Gurrión,
Marco Antonio Benavides Montero,
Rosana Pelayo

INTRODUCCIÓN

La leucemia infantil, constituye una proporción significativa de los cánceres pediátricos a nivel mundial (Allemani y cols., 2018). Las desigualdades en incidencia, mortalidad y tasas de supervivencia entre distintos estratos socioeconómicos y grupos étnicos, especialmente en poblaciones hispanas de países de ingresos bajos, medios y altos, subrayan la necesidad de un análisis exhaustivo (Flores-Lujano y cols., 2022; Montes-Rodríguez y cols., 2023).

La población infantil y adolescente de origen hispano, particularmente aquella que vive en los Estados Unidos y América Latina, presenta diferencias notables en incidencia y supervivencia de la leucemia en comparación con otros grupos étnicos (Castellanos y cols., 2023; Montes-Rodríguez y cols., 2023). Los estudios indican que las poblaciones hispanas suelen mostrar tasas de incidencia más altas, pero menores tasas de supervivencia debido a barreras socioeconómicas y dificultades de acceso a la atención médica (Aristizabal y cols., 2023).

Por otro lado, diversos estudios destacan el impacto del nivel socioeconómico (NSE) en los desenlaces de la leucemia. Por ejemplo, las tasas de supervivencia son significativamente menores en países de ingresos bajos y medios en comparación con los de ingresos altos, debido al acceso limitado a la atención médica y a los recursos disponibles (Espinoza y cols., 2023; Korrapolu y cols., 2023; Makkeyah y cols., 2021). Asimismo, factores socioeconómicos como la pobreza y la infraestructura en salud son determinantes críticos de los resultados del tratamiento (Jabeen y cols., 2016).

Las disparidades en los desenlaces también están influenciadas por el contexto geográfico, de modo que los niños que viven en regiones rurales o desatendidas experimentan peores desenlaces. En zonas como Centroamérica, se han adaptado protocolos terapéuticos innovadores para

mejorar la supervivencia a pesar de las limitaciones de recursos (Espinoza y cols., 2023; Jaime-Pérez y cols., 2016).

Por otro lado, la disponibilidad de herramientas diagnósticas avanzadas y protocolos terapéuticos estandarizados impacta significativamente las tasas de supervivencia. En los países de ingresos bajos y medios, el acceso limitado a estos recursos se traduce en mayores tasas de mortalidad y recaídas (Abdelmabood y cols., 2020; Jaime-Pérez y cols., 2016).

A pesar de estas diferencias en infraestructura diagnóstica, acceso terapéutico y organización de los sistemas de salud, es importante reconocer que incluso en contextos con altos estándares clínicos, las causas conocidas de la leucemia infantil explican menos del 10% de los casos (Onyije y cols., 2022; Ricci y cols., 2024). Esta limitada comprensión etiológica ha impulsado una creciente atención hacia los determinantes socioambientales, los cuales podrían contribuir de manera significativa a la variabilidad geográfica, étnica y socioeconómica observada en la incidencia y los desenlaces.

DETERMINANTES SOCIOAMBIENTALES DE LA LEUCEMIA INFANTIL

Los factores socioambientales, que abarcan elementos como la contaminación del aire, el NSE, la exposición a pesticidas y las exposiciones ocupacionales de los padres (en particular al benceno), son cada vez más reconocidos como contribuyentes importantes al riesgo de desarrollar leucemia infantil. El presente capítulo sintetiza los hallazgos recientes sobre estos factores, con énfasis en la leucemia linfoblástica aguda (LLA) y la leucemia mieloide aguda (LMA), integra la evidencia procedente de estudios ecológicos, de casos y controles, cohortes y revisiones sistemáticas, y explora las principales brechas de conocimiento y direcciones de investigación futuras, especialmente relevantes para poblaciones hispanas y países de ingresos bajos y medios (**Fig. 1.1**).

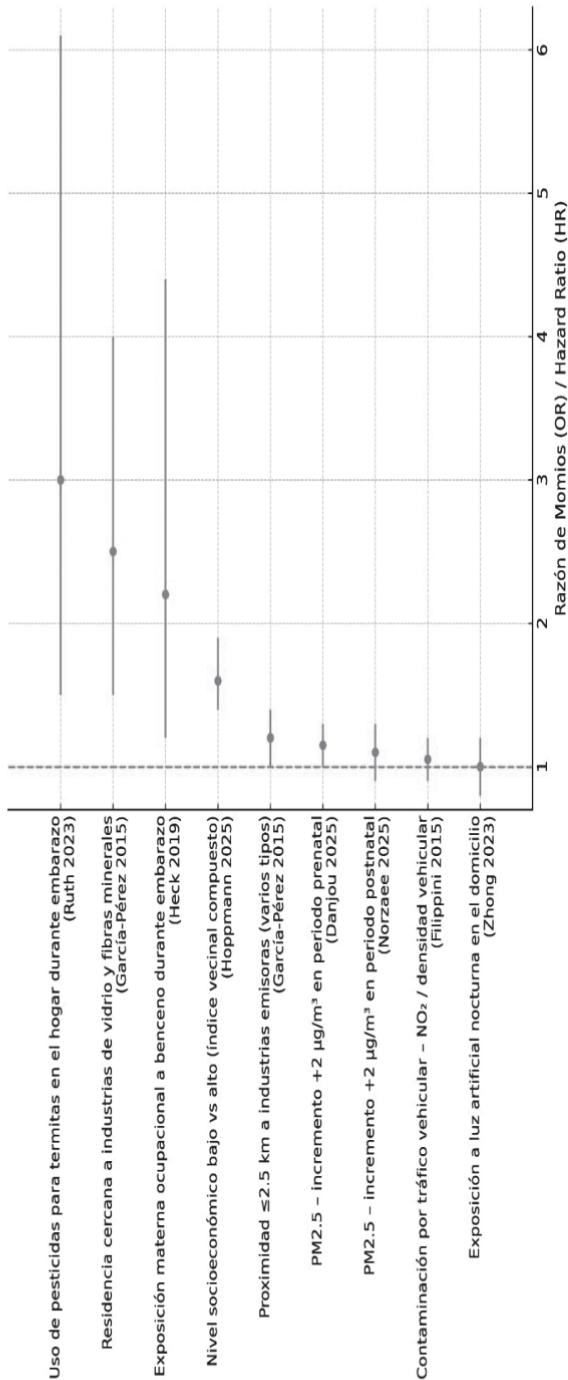


Figura 1.1. Forest plot de los principales factores socioambientales asociados con el riesgo de leucemia infantil. Se incluyen estimados puntuales (OR o HR) con intervalos de confianza al 95% provenientes de estudios internacionales que evaluaron: exposición residencial a LAN (Zhong, 2023); contaminación por tráfico vehicular y NO₂ (Filippini, 2015); incremento en PM_{2.5} en períodos postnatales (Norzaee, 2025) y prenatales (Danjou, 2025); proximidad a industrias emisoras múltiples (García-Pérez, 2015); NSE vecinal bajo (Hoppmann, 2025); exposición materna ocupacional a benceno durante el embarazo (Heck, 2019); residencia cercana a industrias de vidrio y fibras minerales (García-Pérez, 2015); y uso residencial de pesticidas para control de termitas durante la gestación (Ruth, 2023).

CONTAMINACIÓN DEL AIRE Y LEUCEMIA INFANTIL

Evidencia de estudios epidemiológicos

La contaminación atmosférica relacionada con el tráfico vehicular y con fuentes industriales se ha consolidado como uno de los focos principales en la investigación sobre leucemia infantil. Diversos contaminantes, partículas finas como $PM_{2.5}$ (material particulado fino $\leq 2.5 \mu m$) y PM_{10} (material particulado grueso $\leq 10 \mu m$), dióxido de nitrógeno (NO_2), benceno, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y carbono negro (CN), han sido asociados, con distinta fuerza, al riesgo de leucemia en la niñez (Filippini y cols., 2015).

Una de las síntesis más influyentes es la revisión sistemática y metaanálisis de Filippini y cols., (2015), que incluyó 26 estudios (6 ecológicos y 20 de casos y controles) publicados entre 1970 y 2014, centrados en la exposición prenatal y postnatal a contaminación del aire exterior y riesgo de LLA y LMA. La exposición se midió mediante densidad de tráfico (conteo de vehículos, longitud de carreteras, tráfico ponderado por distancia), proximidad a gasolineras y concentraciones ambientales de NO_2 y benceno obtenidas a partir de redes de monitoreo y modelos de regresión de uso de suelo (Land Use Regression, LUR) o dispersión atmosférica. El metaanálisis de efectos aleatorios mostró un mayor riesgo de leucemia infantil asociado con exposición a NO_2 , benceno y alta densidad de tráfico. En análisis específicos, la LLA se asoció más claramente con NO_2 (OR 1.21; IC 95% 1.04–1.41), mientras que la LMA mostró una asociación más fuerte con benceno (OR 2.28; IC 95% 1.09–4.75). Sin embargo, la heterogeneidad entre estudios fue elevada, con diferencias en los métodos de estimación de exposición, períodos de evaluación y calidad de los estudios, además de indicios de sesgo de publicación y variaciones geográficas importantes (Filippini y cols., 2015).

En un contexto más reciente, Zhong y cols., (2023) analizaron 2,782 casos de LLA y 139,100 controles en California (2000–2015) para evaluar la asociación entre luz artificial nocturna (LAN), contaminación por $PM_{2.5}$ y riesgo de LLA. La LAN se

estimó mediante imágenes satelitales de brillo del cielo asignadas a los domicilios al momento del nacimiento (de acuerdo con su acta de nacimiento) y categorizadas en terciles; la exposición a $PM_{2.5}$ se derivó de un modelo que integra datos satelitales, monitores terrestres, variables meteorológicas y de uso de suelo. En el análisis global, la LAN mostró asociaciones modestas (OR_a 1.05; IC 95% 0.95–1.17) y la $PM_{2.5}$ una asociación débil (OR 1.08 por $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$; IC 95% 0.96–1.20). Sin embargo, en análisis estratificados resaltan un mayor riesgo de LLA entre niños de origen hispano expuestos a altos niveles de LAN (OR_a 1.15; IC 95% 1.01–1.32), mientras que la asociación fue inversa o nula en blancos no hispanos (Zhong y cols., 2023). Estos hallazgos subrayan la importancia de considerar simultáneamente la dimensión étnica y socioambiental en poblaciones de origen hispano que residen en áreas urbanas.

En Teherán, Norzaee et al. (2025) realizaron un estudio de casos y controles con 428 niños de 1 a 15 años para evaluar la exposición residencial a $PM_{2.5}$ y CN en ventanas de exposición críticas: desde el nacimiento hasta el diagnóstico, el año previo al diagnóstico y a la edad de 2–4 años. Utilizaron un modelo de aprendizaje automático conocido como "Gradient Boosting Machine" que combinó datos de múltiples fuentes para generar concentraciones anuales de $PM_{2.5}$ y CN a nivel de domicilio. Se observó una asociación positiva y no lineal entre incrementos de $PM_{2.5}$ y CN con el riesgo de leucemia infantil. Un incremento de $5.09 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de $PM_{2.5}$ se asoció con OR de 1.10 (IC 95% 1.05–1.15) desde el nacimiento al diagnóstico, y en el año previo al diagnóstico el OR fue de 1.12 (IC 95% 1.01–1.11). Para CN, un incremento de $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en el año previo al diagnóstico se asoció con OR de 1.16 (IC 95% 1.00–2.15). Pese a las incertidumbres inherentes a los modelos de análisis utilizados y la posible confusión residual, estos datos refuerzan la hipótesis de que la exposición sostenida y acumulativa a contaminantes finos presentes en el aire incrementa el riesgo de leucemia aguda infantil (Norzaee y cols., 2025).

Complementariamente, el estudio (Danjou y cols., 2025) analizó 581 casos de LLA, 136 de LMA y 11,908 controles nacidos entre 2010 y 2015 para evaluar la exposición prenatal a contaminación relacionada con el tráfico mediante geocodificación del domicilio al nacimiento, la distancia a carreteras principales en un radio de 500 metros y concentraciones modeladas de NO_2 , $\text{PM}_{2.5}$ y CN. La exposición se analizó en terciles y como variable continua. Un incremento de $2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de $\text{PM}_{2.5}$ se asoció con mayor riesgo tanto de LLA (OR 1.14; IC 95% 1.08–1.20) como de LMA (OR 1.12; IC 95% 1.00–1.25). El CN mostró asociaciones elevadas con LLA en zonas de menor tamaño poblacional: OR 1.90 (IC 95% 1.22–2.97) en áreas $<5,000$ habitantes y OR 1.58 (IC 95% 1.16–2.17) en zonas de 5,000–99,999 habitantes, mientras que en las grandes urbes no se reportaron asociaciones significativas. Para NO_2 , el incremento en el riesgo de LMA (categoría más alta vs. más baja) fue moderado (OR 1.4; IC 95% 0.9–2.1). Si bien el estudio no incorporó información ocupacional de los padres ni exposiciones posnatales, aporta evidencia robusta de que la exposición prenatal a partículas finas y carbono está asociada con mayor riesgo de leucemia infantil, con variaciones según el contexto urbano (Danjou y cols., 2025).

En Corea del Sur, Lee y cols., (2022) utilizaron una cohorte retrospectiva de 1,261,855 niños nacidos entre 2002 y 2012 para evaluar la relación entre exposición a $\text{PM}_{2.5}$ y PM_{10} y riesgo de cáncer infantil (incluyendo leucemia y tumores del sistema nervioso central). La exposición se estimó a partir de promedios mensuales de PM_{10} , NO_2 , SO_2 (dióxido de azufre), CO (monóxido de carbono) y O_3 (ozono) de la red nacional AirKorea, y las concentraciones de $\text{PM}_{2.5}$ se obtuvieron mediante un enfoque de fusión de datos. Al aplicar modelos de Cox que consideraron la movilidad residencial, un incremento de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en $\text{PM}_{2.5}$ se asoció con un HR de 3.02 (IC 95% 1.63–5.59) para cáncer infantil, mientras que para PM_{10} el HR fue cercano a la unidad (1.04; IC 95% 0.74–1.45). Aunque la exposición no se midió de forma individual y faltó información sobre factores familiares y genéticos, este estudio refuerza la importancia de las partículas finas como carcinógeno relevante en la infancia (Lee y cols., 2022).

En Europa, los trabajos de Spycher y cols., (2015) y Kreis y cols., (2022) en Suiza profundizan en el papel del tráfico vehicular. Spycher y cols., evaluaron 1,938 casos de cáncer infantil (549 leucemias) en una cohorte nacional para analizar la proximidad residencial a autopistas y el volumen vehicular (Spycher y cols., 2015). Los niños que vivían a <100 m de una carretera principal mostraron HR ajustado de 1.43 (IC 95% 0.79–2.61) para leucemia en general, y de 2.17 (IC 95% 0.80–5.89) en menores de 5 años, aunque sin significancia estadística y sin una clara relación dosis–respuesta. Por su parte, Kreis y cols., (2022), con una cohorte de 3,493,769 niños y 2,960 cánceres infantiles (902 leucemias, 710 LLA y 131 LMA), encontraron que la exposición a NO₂ derivada de modelos de LUR y de dispersión se asociaba específicamente con LMA (HR 1.31; IC 95% 1.00–1.71 por incremento de 10 µg/m³), mientras que para LLA el HR fue de 1.00 (IC 95% 0.88–1.13). Estos resultados sugieren que ciertos subtipos de leucemia, particularmente la LMA, pueden ser más sensibles a contaminantes relacionados con el tráfico (Kreis y cols., 2022).

Más allá del tráfico, García-Pérez y cols., (2015) exploraron la proximidad residencial a zonas industriales y urbanas en España, analizando 638 casos de leucemia y 13,188 controles. Vivir a ≤2.5 km de cualquier industria se asoció con OR de 1.31 (IC 95% 1.03–1.67), y residir cerca de áreas urbanas con ≥10,000 habitantes con OR de 1.36 (IC 95% 1.02–1.80). La magnitud de la asociación fue aún mayor para industrias específicas, como vidrio y fibras minerales (OR 2.42; IC 95% 1.49–3.92), tratamientos con solventes orgánicos (OR 1.87; IC 95% 1.24–2.83), galvanización (OR 1.86; IC 95% 1.07–3.21) y producción/procesamiento de metales (OR 1.69; IC 95% 1.22–2.34) (García-Pérez y cols., 2015). Aunque la exposición se midió solo como distancia residencial y no se consideraron mediciones individuales ni historia completa de residencia, el patrón general respalda la importancia de fuentes industriales de carcinógenos en el entorno residencial.

Evidencia de países de ingresos medios y el caso de México

En México, Calderón-Hernández y cols., (2023) realizaron un estudio ecológico con 443 casos de LLA en niños y adolescentes de 0 a 19 años (subgrupos 0–4, 5–9, 10–14 y 15–19 años) diagnosticados entre 2015 y 2020. Mediante análisis de densidad de Kernel y modelos de Poisson se identificaron siete clústeres geoespaciales con exceso de riesgo de LLA (RR 1.4–2.3; $p < 0.05$), asociados a altas concentraciones de $PM_{2.5}$ (15–37 $\mu g/m^3$), varias veces por encima del estándar de la OMS (Organización Mundial de la Salud) y a la presencia de múltiples fuentes locales de carcinógenos: gasolineras, ladrilleras, carpinterías, cementeras y manufactura química o de pinturas. La supervivencia a 5 años varió de 61.5% a 78.6% según la región, lo que sugiere que las exposiciones ambientales se entrelazan con desigualdades en acceso al diagnóstico oportuno y tratamiento (Calderon-Hernandez y cols., 2023). Aunque se trata de un estudio basado en datos hospitalarios y sin medición individual de exposición, constituye un ejemplo claro de cómo la integración de información geoespacial y ambiental permite identificar “hotspots” urbanos de riesgo en un país de ingresos medios.

De manera complementaria, Navarrete-Meneses (2024) llevó a cabo una revisión narrativa de 174 estudios publicados entre 2013 y 2023 sobre contaminación ambiental y riesgo de cáncer infantil, con énfasis en leucemia. Esta revisión mostró que aproximadamente 29% de los estudios abordaban contaminación del aire, 28% pesticidas, 11% químicos intradomiciliarios, 16% consumo de tabaco y alcohol en los padres, 12% exposición a campos electromagnéticos y 4% la exposición a radón. La evidencia resumida indica una asociación positiva entre contaminación del aire, especialmente por alta densidad de tráfico, y LLA, con creciente implicación de benceno, $PM_{2.5}$, NO_2 y HAPs. La exposición prenatal y en los primeros años de vida emergió como periodo de mayor relevancia biológica. Sin embargo, la heterogeneidad metodológica, la escasez de mediciones personales y el control incompleto de confusores, como el NSE, limitaron la capacidad de establecer relaciones causales firmes (Navarrete-Meneses y cols., 2024).

Calidad del aire interior y guías de la OMS

Si bien la mayor parte de la literatura en leucemia infantil se ha centrado en la contaminación exterior, los entornos interiores, donde los niños pasan la mayor parte del tiempo, son críticos. Las Guías de la OMS para la Calidad del Aire Interior (*World Health Organization, 2010*) sintetizan la evidencia epidemiológica, toxicológica y experimental para establecer valores guía de calidad del aire interior para PM_{2.5}, PM₁₀, O₃, NO₂, SO₂, CO y compuestos como el benceno. En este documento, la exposición se estima mediante muestreo de aire interior y exterior con muestreadores activos y pasivos, monitoreo personal y, en algunos casos, biomonitoring (por ejemplo, metabolitos de benceno en orina o sangre). Las guías de la OMS recomiendan valores anuales de 10 µg/m³ para PM_{2.5} y 20 µg/m³ para PM₁₀, con valores de 24 horas de 25 µg/m³ y 50 µg/m³, respectivamente. Para NO₂ se establece un valor guía anual de 40 µg/m³ y para SO₂ un valor de 20 µg/m³ en 24 horas. Aunque el documento no se centra en leucemia infantil, sí proporciona la base regulatoria y conceptual para interpretar los niveles de exposición observados en estudios epidemiológicos, donde con frecuencia las concentraciones superan los límites recomendados, especialmente en regiones urbanas de países de ingresos bajos y medios.

EXPOSICIÓN A PESTICIDAS Y LEUCEMIA INFANTIL

Evidencia científica de revisiones sistemáticas y metaanálisis

Los pesticidas representan uno de los grupos de agentes ambientales con evidencia más consistente en relación con la LLA infantil, especialmente cuando la exposición ocurre durante el embarazo o la infancia temprana. La revisión de Onyijje y cols., (2022), que sintetizó 59 trabajos (42 metaanálisis y revisiones sistemáticas y 17 análisis agrupados) publicados entre 2003 y 2021, identificó dos factores ambientales con evidencia convincente de asociación con LLA infantil: 1. La exposición postnatal a radiación ionizante en bajas dosis y 2. La exposición materna a pesticidas durante el embarazo



(y, en algunos análisis, también en la preconcepción) (Onyije y cols., 2022). La revisión también encontró evidencia de magnitud moderada o limitada factores protectores como la suplementación con ácido fólico, multivitamínicos, duración de la lactancia ≥ 6 meses y asistencia temprana a guardería. Sin embargo, la heterogeneidad de métodos de medición de exposición y de poblaciones, junto con el riesgo de sesgo de memoria y la duplicación de datos en metaanálisis superpuestos, limita la posibilidad de inferir causalidad.

Clavel y cols., (2016), en una revisión narrativa de factores de riesgo ambientales de cáncer infantil (LLA, LMA, neuroblastoma, tumor de Wilms, retinoblastoma, linfomas y otros), destacan que gran parte de la evidencia sobre pesticidas se basa en entrevistas retrospectivas a padres sobre uso doméstico u ocupacional y en proximidad residencial a zonas agrícolas o industriales, ante la ausencia de biomarcadores ampliamente validados y de grandes cohortes prospectivas (Clavel, 2016). A pesar de estas limitaciones, la consistencia de asociaciones entre exposición parental a pesticidas y leucemia infantil a lo largo de múltiples estudios sugiere un papel nada despreciable de estos compuestos.

Un trabajo clave y más reciente es el de Ruth y cols., (2023), un amplio estudio de casos y controles en Estados Unidos con 1,810 casos de LLA y 1,951 controles, que exploró exposición domiciliaria a pesticidas durante el mes previo a la concepción, el embarazo y la lactancia. La exposición se determinó mediante entrevistas telefónicas estructuradas a madres y padres sobre uso de productos que contienen pesticidas en el hogar (insectos, roedores, termitas, malas hierbas, etc.), se evaluó su frecuencia y el momento de uso, así como la historia laboral con posibles exposiciones ocupacionales (Ruth y cols., 2023). El análisis mediante regresión logística condicional multivariado mostró que la exposición domiciliaria a pesticidas por cualquiera de los padres se asociaba con un aumento significativo del riesgo de LLA. Los autores identificaron una asociación entre la exposición materna al uso de pesticidas para termitas y el riesgo de LLA cuando consideraron como

grupo control a madres expuestas a algún otro pesticida (OR 2.96; IC 95% 1.43–6.15) y este riesgo incrementaba significativamente cuando el grupo control correspondía a madres no expuestas a ningún pesticida (OR 4.21; IC 95% 2.00–8.88). Además, reportaron un riesgo elevado ante la exposición paterna al uso de raticidas (OR 1.39; IC 95% 1.07–1.79) y para el uso combinado materno–paterno de insecticidas para hormigas, cucarachas, moscas o abejas (OR 1.63; IC 95% 1.07–1.39), así como para herbicidas (OR 1.65; IC 95% 1.24–2.19). Aunque no se identificó un gradiente dosis–respuesta claro y la exposición fue autorreportada, la magnitud y consistencia de estas asociaciones, especialmente para el inmunofenotipo B, refuerza la plausibilidad epidemiológica de los pesticidas como factor de riesgo relevante para LLA.

EXPOSICIÓN OCUPACIONAL PARENTAL, BENCENO Y BIOMARCADORES

Exposición ocupacional a benceno y riesgo de leucemia infantil

El benceno es un carcinógeno establecido para la leucemia en adultos, y su papel en la leucemia infantil se ha explorado tanto a través de exposiciones ocupacionales parentales como ambientales. Heck y cols., (2019) realizaron un estudio poblacional de casos y controles en Dinamarca, con 217 padres y 169 madres de casos con LLA y controles emparejados, para evaluar la exposición ocupacional a benceno en períodos críticos: tres meses preconcepción en padres y durante el embarazo en madres. La exposición se estimó de forma objetiva mediante una matriz de exposición laboral desarrollada para la población danesa, aplicando códigos industriales a partir del registro obligatorio del Fondo de Pensiones Suplementarias (Heck y cols., 2019). El estudio mostró que la exposición materna al benceno durante el embarazo se asociaba con un aumento significativo del riesgo de LLA en la descendencia (ORa 2.28; IC 95% 1.17–4.41), mientras que la exposición paterna preconcepcional no alcanzó significancia (ORa 1.40; IC

95% 0.88–2.22), probablemente por el número pequeño de padres expuestos. Este patrón se alinea con la hipótesis de que la exposición materna durante la organogénesis y la hematopoyesis fetal podría ser particularmente crítica.

La revisión de Schüz y cols., (2016) también subraya la consistencia de asociaciones entre exposición parental ocupacional a pesticidas y benceno y el riesgo de leucemia infantil, aunque señala que la evidencia no permite atribuir la mayor parte del riesgo poblacional a un solo factor ambiental. No obstante, los hallazgos convergentes en estudios que utilizan matrices de exposición laboral, registros poblacionales y diseños de casos y controles robustos apoyan la necesidad de vigilar y reducir la exposición ocupacional a benceno en adultos en edad reproductiva (Schüz & Erdmann, 2016).

Exposición ambiental a benceno y medición mediante biomarcadores

Más allá del ámbito ocupacional, el benceno se libera en zonas urbanas por emisiones vehiculares, estaciones de gasolina y complejos petroquímicos. Ochoa-Martínez y cols., (2018) realizaron un estudio transversal en 94 niños sanos de 6 a 15 años en el municipio de Cadereyta Jiménez, Nuevo León, con el objetivo de evaluar la exposición ambiental a benceno mediante la determinación urinaria de ácido trans,trans-mucónico (t,t-AM), un biomarcador específico de exposición (Ochoa-Martínez y cols., 2018). Las concentraciones de t,t-AM, medidas por HPLC (High Performance Liquid Chromatography) y normalizadas por creatinina, mostraron rangos de 45.53–1969.21 µg/g de creatinina, con mediana de 310.1 µg/g y percentil 75 de 590.52 µg/g. Llama particularmente la atención que 28% de los niños superó el Índice Biológico de Exposición de 500 µg/g, establecido para adultos ocupacionalmente expuestos, y que 52% presentó niveles moderadamente elevados, superiores a los esperados en zonas urbanas sin fuentes petroquímicas. Solo 20% mostró niveles bajos compatibles con áreas rurales o urbanas de baja exposición. Aunque el diseño transversal y

la ausencia de grupo control limitan la inferencia causal, estos resultados sugieren que niños que viven cerca de instalaciones petroquímicas pueden alcanzar niveles de exposición comparables a los de trabajadores, lo que plantea un potencial riesgo hematológico y justifica la vigilancia de alteraciones genotóxicas y la investigación de posibles incrementos en leucemia infantil en estas regiones.

Janitz y cols., (2017), en Oklahoma, exploraron la asociación entre exposición a benceno estimada mediante la herramienta Evaluación de Tóxicos en el Aire de Escala Nacional (NATA 2005) de la Agencia de Protección Ambiental (EPA) y el desarrollo de leucemia aguda infantil (LLA y LMA) en 307 casos y 1,013 controles. Aunque no se observó asociación global en la cohorte completa, el análisis estratificado mostró que los niños nacidos entre 2005–2010 en el cuartil más alto de exposición a benceno tenían un OR de 3.53 (IC 95% 1.35–9.27), con una asociación más marcada para LMA que para LLA (Janitz y cols., 2017). Las limitaciones incluyen el uso de estimaciones ambientales por trato censal, la ausencia de historia residencial y la baja potencia en subgrupos; sin embargo, el hallazgo de un riesgo elevado en cohortes recientes, expuestas en un contexto regulatorio y de mezcla de contaminantes distinto al de décadas previas, es relevante para las políticas actuales de calidad del aire.

Mecanismos biológicos: del benceno a la hematopoyesis clonal

En su revisión McHale y cols., (2012) describen de manera detallada los mecanismos mediante los cuales el benceno induce leucemia en humanos. La evidencia indica que el benceno genera daño genético y epigenético en las células troncales hematopoyéticas (CTH), promueve estrés oxidativo, altera el microambiente de la médula ósea, favorece la apoptosis de subpoblaciones celulares y selecciona clones con ventajas proliferativas, lo que puede conducir a la aparición de células troncales leucémicas y a una evolución clonal progresiva. Los niveles de exposición considerados abarcan desde exposiciones ocupacio-



nales en partes por millón hasta exposiciones ambientales en partes por billón, donde incluso niveles bajos podrían ser relevantes en individuos genéticamente susceptibles o expuestos durante ventanas críticas (Mchale y cols., 2012).

Por su parte, King y cols., (2020) amplían esta perspectiva al revisar cómo diversas exposiciones ambientales como el tabaquismo, radiación, inflamación crónica, infecciones, quimioterapia, obesidad y alteraciones metabólicas influyen en la hematopoyesis clonal; el cual es un estado caracterizado por la expansión de clones hematopoyéticos portadores de mutaciones somáticas en genes como **TET2**, **DNMT3A**, **PPM1D** o **TP53**. La inflamación (por ejemplo, mediada por IL-6 o IFN- γ), las exposiciones genotóxicas y las alteraciones metabólicas pueden favorecer selectivamente la expansión de clones mutados, que en algunos casos progresan a neoplasias hematológicas. Si bien la hematopoyesis clonal se ha estudiado principalmente en adultos, estos mecanismos permiten plantear hipótesis sobre cómo exposiciones ambientales tempranas pueden iniciar o acelerar trayectorias clonales anómalas que, décadas después, se expresan como leucemias y síndromes mielodisplásicos. La evidencia en población pediátrica es aún limitada, pero este marco conceptual ofrece una vía prometedora para integrar hallazgos epidemiológicos con biología molecular (King y cols., 2020).

NIVEL SOCIOECONÓMICO, INEQUIDADES ESTRUCTURALES Y LEUCEMIA INFANTIL

Nivel socioeconómico como determinante de riesgo: el caso de Dinamarca

Los estudios en países de ingresos altos con sistemas universales de salud ofrecen una perspectiva diferente al demostrar que, incluso cuando el acceso formal a tratamiento es similar, persisten gradientes socioeconómicos en incidencia y resultados. Erdmann y cols., (2020), en un estudio de casos y controles poblacional en Dinamarca con 1,336 casos de leucemia infan-

til y 5,330 controles, evaluaron la asociación entre educación e ingresos parentales, estatus socioeconómico (NSE) vecinal y riesgo de leucemia (LLA y LMA) en dos ventanas de exposición: durante el embarazo y un año antes del diagnóstico. Encontraron que, un mayor nivel educativo materno y paterno se asociaba con mayor riesgo de LMA en niños de 0–4 años (por ejemplo, educación materna alta durante el embarazo: OR 3.07; IC 95% 1.44–6.55), mientras que ingresos altos maternos y paternos se asociaban con mayor riesgo de LLA en niños de 5–19 años (ingreso materno alto antes del diagnóstico: OR 2.78; IC 95% 1.32–5.89) (Erdmann y cols., 2021). Las medidas de NSE vecinal no mostraron asociaciones consistentes. Estos patrones, aparentemente contraintuitivos, podrían reflejar variaciones en patrones reproductivos, exposiciones ambientales específicas de grupos de mayor educación/ingreso (por ejemplo, uso de productos de limpieza, viajes, estilos de vida urbanos), o incluso sesgos de diagnóstico más temprano en familias con mayor capital social. Lo central es que el NSE no actúa de manera unidimensional y que la interacción entre este factor, el ambiente y la biología es compleja y dependiente del contexto.

BRECHAS DE INVESTIGACIÓN Y PRIORIDADES FUTURAS

Pese al avance significativo en la comprensión de los determinantes socioambientales de la leucemia infantil, persisten vacíos importantes:

- a. **Falta de estudios longitudinales con medición detallada de exposiciones.** La mayoría de los estudios disponibles son casos y controles o ecológicos, con mediciones retrospectivas, estimaciones modeladas o proxies de exposición. Se requieren cohortes de nacimiento (o de base poblacional) con mediciones ambientales y personales repetidas (aire interior y exterior, biomarcadores, georreferenciación dinámica) que permitan delinear mejor la secuencia temporal y establecer relaciones causales entre exposiciones socioambientales y leucemogénesis.

- b. Modelos integrados que combinen NSE, ambiente y biología.** Son escasos los modelos que incorporan simultáneamente NSE individual y vecinal, exposiciones ambientales cuantitativas, factores infecciosos, predisposición genética y biomarcadores de daño o de hematopoyesis clonal. Integrar estas dimensiones permitiría pasar de asociaciones bivariadas a modelos de riesgo más realistas que expliquen por qué ciertas combinaciones de factores desencadenan leucemia en un subgrupo de niños, mientras que la mayoría permanece sana.
- c. Caracterización de mecanismos moleculares específicos en población pediátrica.** Aunque los mecanismos del benceno y otras exposiciones se han descrito en adultos, modelos animales y estudios *in vitro*, existe poca investigación que vincule directamente exposiciones ambientales infantiles con perfiles genómicos, epigenómicos y de clonalidad en leucemia pediátrica. Explorar cómo contaminantes como PM_{2.5}, NO₂, HAPs, pesticidas y benceno influyen en la firma mutacional y en la arquitectura clonal de la LLA y LMA infantil es una prioridad.
- d. Datos en contextos no occidentales y poblaciones diversas.** Gran parte de la evidencia proviene de Europa, Norteamérica y algunos países asiáticos. Son mucho más limitados los datos de América Latina, África y regiones del sur de Asia donde la combinación de altos niveles de contaminación, uso intensivo de pesticidas, pobreza estructural y sistemas de salud frágiles podría tener efectos particularmente relevantes. Estudios como los de Calderón-Hernández y cols., (2023), Navarrete-Meneses (2024) y Ochoa-Martínez y cols., (2018) muestran la pertinencia y urgencia de generar evidencia local.
- e. Mejores indicadores de pobreza y determinantes sociales de la salud.** Depender exclusivamente de raza, etnia, tipo de seguro o código postal es insuficiente para capturar las vías causales que conectan la pobreza con peores resultados. La incorporación sistemática de indicadores de carencia material, inseguridad alimentaria, vivienda inestable, transporte precario y racismo estruc-

tural en estudios de leucemia infantil permitiría diseñar intervenciones más precisas (Umaretiya y cols., 2024).

f. Evaluación de intervenciones ambientales y sociales. La mayoría de la evidencia actual es observacional. Existen muy pocos estudios que evalúen el impacto de intervenciones dirigidas a reducir exposición ambiental (por ejemplo, límites estrictos de benceno, mejora de calidad del aire, regulación de pesticidas) o a mitigar efectos de la pobreza (apoyo económico directo, alojamiento cercano a hospitales, acompañamiento psicosocial y legal) sobre la incidencia de leucemia infantil o la supervivencia. Diseñar y evaluar tales intervenciones es un paso indispensable para traducir la evidencia en políticas efectivas.

CONCLUSIONES

La evidencia disponible sugiere de manera consistente que la leucemia infantil no es un evento estrictamente aleatorio ni exclusivamente determinado por factores genéticos; por el contrario, está inscrita en un entramado de exposiciones socioambientales que comienzan antes del nacimiento y se acumulan a lo largo de la infancia. La contaminación del aire, en particular PM_{2.5}, NO₂, benceno y CN, la exposición a pesticidas en el ámbito agrícola y domiciliario, la exposición ocupacional parental a benceno y otras sustancias carcinógenas, el NSE y la pobreza, así como la proximidad a fuentes industriales y de tráfico pesado, conforman un “campo de riesgo” desigual que favorece la aparición de leucemia en ciertos niños, familias y territorios.

El reto para la próxima década es avanzar desde la identificación de estas asociaciones hacia una comprensión verdaderamente integrada que combine datos ambientales de alta resolución, información socioeconómica detallada, biomarcadores de exposición y efecto, y caracterización genómica y clonal de la leucemia infantil. Al mismo tiempo, resulta imperativo que los hallazgos se traduzcan en acciones concre-



tas: regulaciones ambientales más estrictas, políticas urbanas que reduzcan la exposición a contaminantes, programas de protección social dirigidos a familias en pobreza y marcos de atención oncológica pediátrica que incorporen explícitamente los determinantes sociales de la salud.

Solo mediante esta articulación entre ciencia ambiental, epidemiología, biología molecular, salud pública y justicia social será posible disminuir las inequidades en incidencia y supervivencia de la leucemia infantil y, en última instancia, prevenir que el lugar de nacimiento, la calidad del aire respirado o el tipo de trabajo de los padres sigan marcando el destino hematológico de los niños.

REFERENCIAS

- Abdelmabood, S., Fouda, A. E., Boujettif, F., & Mansour, A. (2020). Treatment outcomes of children with acute lymphoblastic leukemia in a middle-income developing country: high mortalities, early relapses, and poor survival. *Jornal de Pediatria*, 96(1), 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.jped.2018.07.013>
- Allemani, C., Matsuda, T., Di Carlo, V., Harewood, R., Matz, M., Nikšić, M., Bonaventure, A., Valkov, M., Johnson, C. J., Estève, J., Ogunbiyi, O. J., Azevedo e Silva, G., Chen, W. Q., Eser, S., Engholm, G., Stiller, C. A., Monnereau, A., Woods, R. R., Visser, O., ... Lewis, C. (2018). Global surveillance of trends in cancer survival 2000–14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *The Lancet*, 391, 1023–1075. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)33326-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)33326-3)
- Aristizabal, P., Thornburg, C. D., & Young, J. (2023). At the border: A call to action for health equity for children with leukemia. *Cancer*, 129(8), 1159–1161. <https://doi.org/10.1002/cncr.34629>
- Calderon-Hernandez, J., Jarquin-Yáñez, L., Reyes-Arreguin, L., Diaz-Padilla, L. A., Gonzalez-Compean, J. L., Gonzalez-Montalvo, P., Rivera-Gomez, R., Villanueva-Toledo, J. R., Pech, K., Arrieta, O., & Leal, Y. A. (2023). Childhood acute lymphoblastic leukemia survival and spatial analysis of socio-environmental risks in Mexico. *Frontiers in Oncology*, 13. <https://doi.org/10.3389/FONC.2023.1236942>

- Castellanos, M. I., Oluyomi, A. O., Chambers, T. M., Gramatges, M. M., Winestone, L. E., Lupo, P. J., & Scheurer, M. E. (2023). Ethnic disparities in childhood leukemia survival by border residence: A Texas population-based analysis. *Cancer*, 129(8), 1276–1286. <https://doi.org/10.1002/CNCR.34636>
- Clavel, J. (2016). Facteurs de risque environnementaux des cancers de l'enfant. *Oncologie* 2016 18:11, 18(11), 579–582. <https://doi.org/10.1007/S10269-016-2673-X>
- Danjou, A. M. N., Lafontaine, A., Jacquemin, B., Vienneau, D., de Hoogh, K., Faure, L., Clavel, J., & Goujon, S. (2025). Traffic-related air pollution exposure at birth and risk of childhood leukemia: results from the GEOCAP-Birth case-control study. *Environmental Health : A Global Access Science Source*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/S12940-025-01227-X>
- Espinosa, D., Blanco Lopez, J. G., Vasquez, R., Fu, L., Martínez, R., Rodríguez, H., Navarrete, M., Howard, S. C., Friedrich, P., Valsecchi, M. G., Conter, V., & Ceppi, F. (2023). How should childhood acute lymphoblastic leukemia relapses in low-income and middle-income countries be managed: The AHOPCA-ALL study group experience. *Cancer*, 129(5), 771–779. <https://doi.org/10.1002/CNCR.34572>
- Filippini, T., Heck, J. E., Malagoli, C., Giovane, C. Del, & Vinceti, M. (2015). A review and meta-analysis of outdoor air pollution and risk of childhood leukemia. *Journal of Environmental Science and Health. Part C, Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews*, 33(1), 36–66. <https://doi.org/10.1080/10590501.2015.1002999>
- Flores-Lujano, J., Duarte-Rodríguez, D. A., Jiménez-Hernández, E., Martín-Trejo, J. A., Allende-López, A., Peñaloza-González, J. G., Pérez-Saldivar, M. L., Medina-Sanson, A., Torres-Nava, J. R., Solís-Labastida, K. A., Flores-Villegas, L. V., Espinosa-Elizondo, R. M., Amador-Sánchez, R., Velázquez-Aviña, M. M., Merino-Pasaye, L. E., Núñez-Villegas, N. N., González-Ávila, A. I., del Campo-Martínez, M. de los Á., Alvarado-Ibarra, M., ... Mejía-Aranguré, J. M. (2022). Persistently high incidence rates of childhood acute leukemias from 2010 to 2017 in Mexico City: A population study from the MIGICCL. *Frontiers in Public Health*, 10. <https://doi.org/10.3389/FPUBH.2022.918921>
- García-Pérez, J., López-Abente, G., Gómez-Barroso, D., Morales-Piga, A., Pardo Romaguera, E., Tamayo, I., Fernández-Navarro, P., & Ramis, R. (2015). Childhood leukemia and residential proximity to industrial and urban sites. *Environmental Research*, 140, 542–553. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.05.014>
- Heck, J. E., He, D., Contreras, Z. A., Ritz, B., Olsen, J., & Hansen, J. (2019). Parental occupational exposure to benzene and the risk of childhood and adolescent acute lymphoblastic leukaemia: a population-based study. *Occupational and Environmental Medicine*, 76(8), 527–529. <https://doi.org/10.1136/OEMED-2019-105738>
- Jabeen, K., Ashraf, M. S., Iftikhar, S., & Belgaumi, A. F. (2016). The Impact of Socioeconomic Factors on the Outcome of Childhood Acute

- Lymphoblastic Leukemia (ALL) Treatment in a Low/Middle Income Country (LMIC). *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 38(8), 587–596. <https://doi.org/10.1097/MPH.0000000000000653>
- Jaime-Pérez, J. C., López-Razo, O. N., García-Arellano, G., Pinzón-Uresti, M. A., Jiménez-Castillo, R. A., González-Llano, O., & Gómez-Almaguer, D. (2016). Results of Treating Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in a Low-middle Income Country: 10 Year Experience in Northeast Mexico. *Archives of Medical Research*, 47(8), 668–676. <https://doi.org/10.1016/J.ARCMED.2017.01.004>
- Janitz, A. E., Campbell, J. E., Magzamen, S., Pate, A., Stoner, J. A., & Peck, J. D. (2017). Benzene and childhood acute leukemia in Oklahoma. *Environmental Research*, 158, 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.06.015>
- King, K. Y., Huang, Y., Nakada, D., & Goodell, M. A. (2020). Environmental influences on clonal hematopoiesis. *Experimental Hematology*, 83, 66–73. <https://doi.org/10.1016/J.EXPHEM.2019.12.005>
- Korrapolu, R. S. A., Boddu, D., John, R., Antonisamy, N., Geevar, T., Arunachalam, A. K., Joseph, L. L., Srinivasan, H. N., Mathew, L. G., & Totadri, S. (2023). What happens to children with acute lymphoblastic leukemia in low- and middle-income countries after relapse? A single-center experience from India. *Pediatric Hematology and Oncology*, 40(5), 475–484. <https://doi.org/10.1080/08880018.2023.2209158>
- Kreis, C., Héritier, H., Scheinemann, K., Hengartner, H., de Hoogh, K., Röösli, M., & Spycher, B. D. (2022). Childhood cancer and traffic-related air pollution in Switzerland: A nationwide census-based cohort study. *Environment International*, 166, 107380. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2022.107380>
- Lee, J. M., Lee, T. H., Kim, S., Song, M., & Bae, S. (2022). Association between long-term exposure to particulate matter and childhood cancer: A retrospective cohort study. *Environmental Research*, 205. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112418>
- Makkeyah, S., Manzour, A., Tantawy, A., Mohamed, A., Ebeid, F., El-Sherif, N., Abd El-Ghany, S., Shawiesh, M., Ali, H., Sayed, S., & Ragab, I. (2021). Treatment outcomes for childhood acute lymphoblastic leukemia in low-middle income country before minimal residual disease risk stratification. *Cancer Epidemiology*, 75. <https://doi.org/10.1016/j.canep.2021.102040>
- Mchale, C. M., Zhang, L., & Smith, M. T. (2012). Current understanding of the mechanism of benzene-induced leukemia in humans: implications for risk assessment. *Carcinogenesis*, 33(2), 240–252. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/BGR297>
- Montes-Rodríguez, I. M., Soto-Salgado, M., Torres-Cintrón, C. R., Tomassini-Fernandini, J. C., Suárez, E., Clavell, L. A., & Cadilla, C. L. (2023). Incidence and Mortality Rates for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in Puerto Rican Hispanics, 2012–2016. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention: A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the*

- American Society of Preventive Oncology, 32(8), 0F1–0F8. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-22-1227>
- Navarrete-Meneses, M. del P., Salas-Labadía, C., Gómez-Chávez, F., & Pérez-Vera, P. (2024). Environmental Pollution and Risk of Childhood Cancer: A Scoping Review of Evidence from the Last Decade. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(6), 3284. <https://doi.org/10.3390/IJMS25063284>
- Norzaee, S., Kermani, M., Hopke, P. K., Ghorbanian, A., Yunesian, M., Kalantary, R. R., Farzadkia, M., & Shahsavani, A. (2025). Association between exposure to PM2.5 and black carbon and the risk of childhood leukemia in Tehran: A case-control study with critical exposure time windows. *Environmental Research*, 287. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2025.123168>
- Ochoa-Martínez, Á. C., Pelallo-Martínez, N. A., Ruiz-Vera, T., Ramos-Delgado, N. A., Alonso-Segura, D., Gaspar-Ramírez, O., Ochoa-Martínez, Á. C., Pelallo-Martínez, N. A., Ruiz-Vera, T., Ramos-Delgado, N. A., Alonso-Segura, D., & Gaspar-Ramírez, O. (2018). EXPOSICIÓN A BENCENO EN UNA POBLACIÓN INFANTIL URBANA DEL NORESTE DE MÉXICO. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34(3), 541–546. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.03.15>
- Onyije, F. M., Olsson, A., Baaken, D., Erdmann, F., Stanulla, M., Wollschläger, D., & Schüz, J. (2022a). Environmental Risk Factors for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: An Umbrella Review. *Cancers*, 14(2). <https://doi.org/10.3390/CANCERS14020382>
- Onyije, F. M., Olsson, A., Baaken, D., Erdmann, F., Stanulla, M., Wollschläger, D., & Schüz, J. (2022b). Environmental Risk Factors for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: An Umbrella Review. *Cancers*, 14(2). <https://doi.org/10.3390/CANCERS14020382>
- Ricci, A. M., Emeny, R. T., Bagley, P. J., Blunt, H. B., Butow, M. E., Morgan, A., Alford-Teaster, J. A., Titus, L., Walston, R. R., & Rees, J. R. (2024). Causes of Childhood Cancer: A Review of the Recent Literature: Part I-Childhood Factors. *Cancers*, 16(7). <https://doi.org/10.3390/CANCERS16071297>
- Ruth, A. L., Rehman, U., Stewart, P., Moore, L. E., Yucel, R., & Taylor Wilson, R. (2023). Maternal and Paternal Household Pesticide Exposure During Pregnancy and Risk of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 65(7), 595–604. <https://doi.org/10.1097/JOM.0000000000002859>
- Schüz, J., & Erdmann, F. (2016). Environmental Exposure and Risk of Childhood Leukemia: An Overview. *Archives of Medical Research*, 47(8), 607–614. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2016.11.017>
- Spycher, B. D., Feller, M., Röösli, M., Ammann, R. A., Diezi, M., Egger, M., & Kuehni, C. E. (2015). Childhood cancer and residential exposure to highways: a nationwide cohort study. *European Journal of Epidemiology*, 30(12), 1263–1275. <https://doi.org/10.1007/S10654-015-0091-9>
- Umaretiya, P. J., Aziz-Bose, R., Kelly, C., & Bona, K. (2024). Targeting hardship: poverty as a modifiable risk factor in childhood leuke-

- mia and lymphoma treatment. *Hematology*. American Society of Hematology. Education Program, 2024(1), 20–26. <https://doi.org/10.1182/HEMATOLOGY.2024000527>
- World Health Organization. (2010). WHO guidelines for indoor air quality: selected pollutants; Chapter 5.Nitrogen dioxide. World Health Organization. Regional Office for Europe, 201–248. https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0009/128169/e94535.pdf
- Zhong, C., Wang, R., Morimoto, L. M., Longcore, T., Franklin, M., Rogne, T., Metayer, C., Wiemels, J. L., & Ma, X. (2023). Outdoor artificial light at night, air pollution, and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia in the California Linkage Study of Early-Onset Cancers. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-022-23682-Z>



Capítulo 2

Hematopoyesis normal y leucémica. Origen, características e impacto clínico

Ana Elenka Ortiz Reyes,
Héctor Mayani,
María Antonieta Chávez González



INTRODUCCIÓN

El término leucemia hace referencia a distintos cánceres de la sangre en donde se impide la producción saludable de glóbulos rojos, plaquetas y/o leucocitos, pero donde se establece la proliferación incontrolable de alguno de sus progenitores inmaduros, lo que invariablemente conduce a presentar síntomas como pérdida de peso, fatiga, infecciones recurrentes, aparición de moretones, etc.

Debido a que las leucemias son padecimientos altamente heterogéneos, existen clasificaciones que las agrupan de acuerdo con sus características generales y pese a que cada vez se conocen subtipos particulares de la enfermedad, las clasificaciones más utilizadas son la WHO (*World Health Organization*, por sus siglas en inglés) y la clasificación FAB (French-American-British, por sus siglas en inglés). De acuerdo con esta última (establecida en 1976), las leucemias se pueden dividir considerando su velocidad de progresión en: agudas y crónicas; y de acuerdo con el linaje celular que se ve afectado en: mieloídes y linfoides.

Sin embargo, independientemente de su clasificación existen reportes que indican que todas ellas se originan en poblaciones muy particulares y a partir de células sanguíneas normales que parecen conservar o adquirir características asociadas a células troncales, lo que las hace permanecer aún después del tratamiento e involucrarse con eventos de recaída y muerte.

En este capítulo se revisarán los aspectos fundamentales de la hematopoyesis, poniendo particular énfasis en los procesos troncales leucémicos.

HEMATOPOYESIS Y CÉLULAS TRONCALES HEMATOPOYÉTICAS

La sangre está compuesta por distintos tipos celulares que cumplen funciones específicas y altamente especializadas a lo largo de la vida de un organismo; los eritrocitos se en-

cargan del transporte de gases; los leucocitos (granulocitos, monocitos y linfocitos) se especializan en la protección ante patógenos; y las plaquetas, se involucran en procesos de coagulación sanguínea. Cada uno de estos tipos celulares tiene un tiempo de vida finito que puede oscilar entre 24 horas y 120 días, como sucede con el caso de granulocitos y eritrocitos respectivamente, lo que conlleva a un alto recambio celular en el que se generan alrededor 10 mil millones de leucocitos, 200 mil millones de eritrocitos y 400 mil millones de plaquetas diariamente a lo largo de toda la vida (Silva, 2021).

Este proceso de homeostasis celular y generación sanguínea es denominado hematopoyesis, está estrictamente regulado y es sostenido por una población de células troncales que ocupan diferentes sitios anatómicos a lo largo de la vida de un organismo y que en la etapa posnatal, toma lugar en sitios muy particulares dentro del microambiente de la médula ósea.

La presencia de poblaciones inmaduras capaces de generar nuevas células u organismos fue propuesta desde 1868 por Ernst Haeckel quien usó el vocablo "*Stem Cell*" para referirse a dos eventos: la existencia de un ancestro unicelular de todos los organismos y/o para denotar que el óvulo fecundado era capaz de dar lugar a todas las células del organismo. No obstante, dentro del sistema hematopoyético, el término *Stem Cell* se acredita a Alexander Maximov en 1909, aunque la descripción de un precursor común a las células sanguíneas ya había sido descrita desde 1879 y era sujeto de debate entre los científicos que apoyaban la teoría unitaria o la teoría dualista de la hematopoyesis. La controversia sobre el origen de las células sanguíneas fue resuelta en 1960, cuando James Till y Ernest McCulloch, publicaron un artículo en la revista *Radiation Research* en donde se demostró que tras trasplantar con médula ósea de ratones sanos a ratones irradiados, se podían distinguir en el bazo de los animales receptores colonias que parecían derivar de un solo progenitor, además cada colonia contenía al menos cuatro tipo celulares distintos: monocitos, granulocitos, megacariocitos y células eritro-

des (Ramalho-Santos, 2007; Till, 1961). En este artículo no se mencionó el término *“Stem Cell”*, pero su existencia y funcionalidad había sido contundentemente demostrada.

Actualmente, las células troncales hematopoyéticas (CTH) se pueden entender como poblaciones multipotentes inmaduras, heterogéneas, capaces de autorrenovarse y generar todos los linajes hematopoyéticos (tanto en estado homeostático como bajo condiciones de estrés). Dependiendo de la estrategia de purificación, las CTH comprenden entre el 0.01% y 0.2% del total de las células mononucleares humanas y ocupan el ápice de una estructura jerárquica, denominada sistema hematopoyético (Reither, 2015). Su morfología es linfoblastoide (núcleo grande y poco citoplasma), y para reconocerlas se utilizan perfiles inmunofenotípicos asociados a propiedades de diferenciación; así las HSC son CD34+CD38-CD90+CD45RA-CD49f+ y linaje- (CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD33, CD57, CD71, Glicoforina A, etc.). Las poblaciones troncales hematopoyéticas también pueden identificarse por su capacidad de expulsar colorantes como Rodamina y Hoechst, por lo que se han denominado *Side Population* (SP), o población colateral (Mayani, 2016).

Además, para asegurar su integridad genómica las HSC se encuentran en estados no proliferativos (quiescentes), pero bajo ciertos estímulos son capaces de transitar en el ciclo celular y tener divisiones simétricas o asimétricas. En la primera, las dos células generadas pueden ser troncales (lo que incrementa su pool) o células progenitoras con un mayor grado de diferenciación, mientras que en la segunda siempre se genera una célula troncal (manteniendo el pool de esta población) y una célula progenitora. El proceso de división asimétrica parece estar asociado a una repartición no equitativa del contenido citoplasmático, que en años recientes se ha asociado a procesos de diferenciación (Testa, 2022).

Desde el punto de vista funcional, las CTH humanas son capaces de repoblar la médula ósea y recapitular la hematopo-

poyesis *in vivo* al ser trasplantadas en modelos de ratones con inmunodeficiencia severa combinada que además son deficientes en la producción de células inmunes innatas y adaptativas (NOD/SCID), mientras que *in vitro* tienen la capacidad de sostener la hematopoyesis por varias semanas, cuando son mantenidas en cultivos en presencia de células estromales (Mayani, 2016). Siguiendo el modelo de diferenciación continua del sistema hematopoyético, las HSC darán lugar a poblaciones de células progenitoras hematopoyéticas (CPH), que ya no se autorrenuevan pero que pueden tener distinto grado de compromiso y diferenciación. Las CPH representan aproximadamente el 0.5% del total de células de la médula ósea, expresan los antígenos CD34 y CD38. Además, presentan elevadas tasas de proliferación, por lo que se han considerado como poblaciones de amplificación transitorias que comprenden progenitores multipotenciales (PMM), bipotenciales o monopotenciales. Las CPH dan lugar a precursores hematopoyéticos reconocibles por su morfología, que representan el 90% de las células contenidas en la cavidad medular y que, aunque siguen siendo células inmaduras ya presentan en su superficie marcadores característicos de linaje. Los precursores hematopoyéticos terminan su proceso de diferenciación dando lugar a las células sanguíneas circulantes, que cumplen funciones específicas y tienen tiempos de vida finitos (**Fig. 2.1**).

A lo largo del proceso hematopoyético interactúan un importante número de tipos celulares (hematopoyéticos y no hematopoyéticos), elementos de la matriz extracelular, así como distintos factores solubles (citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, iones, etc.), moléculas de adhesión y microvesículas (cargadas con microRNAs o proteínas), que conforman el microambiente de la médula ósea y que de forma más específica pueden constituir nichos dinámicos involucrados en regular los distintos procesos que la hematopoyesis requiere; por lo que alteraciones en el sistema puede dar lugar a distintas patologías.

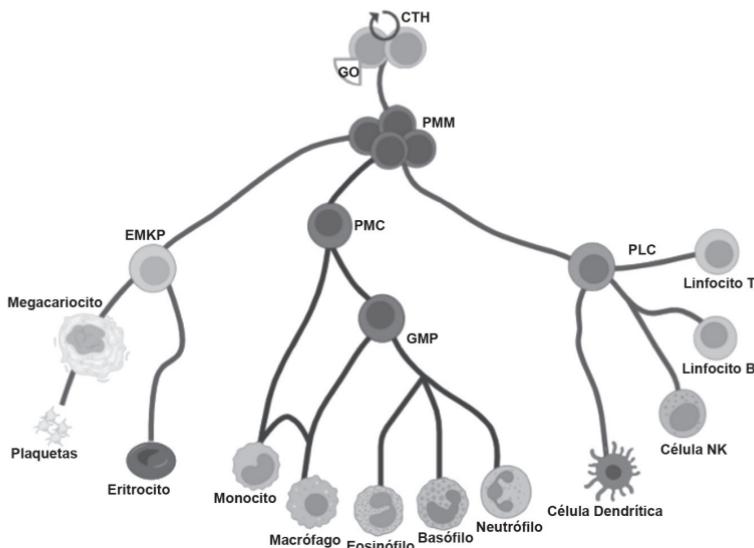


Figura 2.1. Hematopoyesis normal. Se muestra la estructura jerárquica del sistema hematopoyético en donde poblaciones de células troncales (CTH), son capaces de generar progenitores multipotenciales (PMM) o encaminados a alguna línea de diferenciación: eritroide-megacariocítica (EMK), mieloide común (PMK), linfoide común (PLC) o granulo-monocítico (PGM). Estas poblaciones generarán finalmente a las diferentes células maduras que son encontradas en la circulación sanguínea. La flecha circular y el triángulo GO indica la heterogeneidad de las HSC donde puede haber poblaciones autorrenovables y quiescentes, respectivamente. (figura realizada en bioRender).

HEMATOPOYESIS LEUCÉMICA

Descubrimiento de las células troncales leucémicas

De manera semejante a lo que sucede en la hematopoyesis normal, la existencia de un orden jerárquico dentro de hematopoyesis leucémica fue reportada por primera vez en 1994 por el grupo de John Dick, quienes utilizando muestras primarias de leucemia mieloide aguda (LMA) de pacientes que no habían recibido tratamiento, separaron poblaciones con fenotipos troncales ($CD34+CD38^-$) y progenitores ($CD34+CD38^+$) para posteriormente trasplantarlos en ratones NOD/SCID. Después de 6 semanas, los ratones trasplantados que habían

recibido células troncales, pero no los que recibieron progenitores, fueron capaces de recapitular el crecimiento de la muestra de origen y generaron blastos leucémicos. Además, las células obtenidas fueron trasplantadas en receptores secundarios en donde también se recapituló la leucemia, demostrando con ello su capacidad de autorrenovación (Lapidot 1994; Bonnet 1997) y en consecuencia la existencia de células troncales leucémicas (CTL) (**Fig. 2.2**).

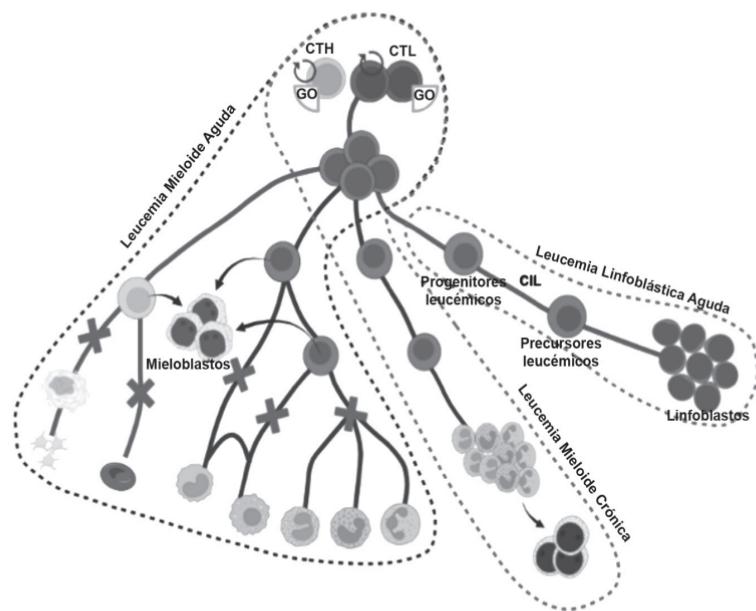


Figura 2.2. Hematopoyesis leucémica. Se indica la estructura jerárquica en donde la LMC y la LMA se originan a partir de poblaciones de células troncales (CTL), mientras que en la LLA el origen se ha sugerido en células iniciadoras de la leucemia (CIL). La línea punteada negra indica la hematopoyesis en LMA mostrando un bloqueo en la diferenciación terminal acompañado de la producción de blastos mieloides. La línea punteada roja agrupa a la hematopoyesis en LMC la cual genera un abundante número de granulocitos durante la fase crónica, o blastos en la crisis blástica. La línea punteada en azul muestra la hematopoyesis en LLA donde se generan blastos linfoides a partir de progenitores leucémicos. Tanto las poblaciones de CTH como de CTL tienen capacidad de autorrenovación (flecha circular) y una fracción de ellas puede encontrarse en quiescencia (GO). figura realizada en bioRender].

En 1999 y utilizando la misma estrategia descrita previamente, el grupo de Connie Eaves describió la presencia de CTL en muestras primarias y sin tratamiento, provenientes de pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC) positivas al cromosoma *Philadelphia* (Ph+). En este estudio además de demostrar que la población responsable del injerto en ratones inmunodeficientes es la fracción CD34+Ph+, también se demostró que, en esta fracción primitiva, existen células en estado quiescente del ciclo celular $Hst^{low}Py^{lo}$ o $Ki67^{low}7AAD^{low}$ que a diferencia de las poblaciones ciclantes ($Hst^{hi}Py^{hi}$, $Ki67^{hi}7AAD^{hi}$), son capaces de transitar en el ciclo celular y restablecer el crecimiento leucémico. (Holyoake, 1999) (**Fig. 2.2**). Este hallazgo puso de manifiesto que las poblaciones troncales leucémicas pueden tener importantes implicaciones terapéuticas ya que son capaces de permanecer en estado quiescente y en consecuencia insensible a los distintos agentes terapéuticos, cuyo fundamento es la eliminación de células que se encuentran en constante proliferación.

Estos primeros reportes utilizando como modelo leucemias mieloídes, sugerían que el origen de la transformación leucémica se encontraba en una población con inmunofenotipos asociados a troncalidad. Sin embargo, años más tarde se describió que el subtipo M3 de la LMA no se ajusta a este modelo y se origina en una fracción con inmunofenotipo progenitor CD34+CD38+, e incluso existen poblaciones con un estado mayor de maduración que son capaces de asociarse a autorrenovación y mantenimientos leucémicos (Eppert, 2011). En ese sentido se debe considerar que células con un estado funcional troncal (y no necesariamente con un fenotipo específico), son las que tienen importantes implicaciones en el desarrollo y pronóstico clínico en este tipo de leucemia. Aunado a lo anterior, un comportamiento semejante ha sido descrito para LMC en la etapa de crisis blástica, en donde progenitores de granulocitos-macrófagos pueden incrementar su potencial de autorrenovación y mantener el estado leucémico en respuesta a la activación de β -catenina (Jamieson, 2004).

Estos hallazgos ponen de manifiesto que si bien el inmunofenotipo es una herramienta altamente eficiente en los estudios de la hematopoyesis primitiva (tanto normal como leucémica), la troncalidad debe ser evaluada desde el punto de vista funcional, analizando potenciales de autorrenovación ya sea en modelos *in vivo* o *in vitro*.

En contraste a las leucemias mieloídes, las leucemias de tipo linfoide han representado un modelo más discordante para describir la existencia de poblaciones troncales leucémicas. Específicamente en el caso de la leucemia linfoblástica aguda (LLA), existen reportes contradictorios sobre la existencia de poblaciones de CTL. En el año 2000, el grupo de Sánchez-García reportó que células provenientes de sujetos con LLA positivas al cromosoma Ph y con inmunofenotipo CD34+CD38-, eran la población blanco para iniciar el crecimiento leucémico (Cobaleda, 2000). Sin embargo, estudios realizados por otros investigadores, muestran que la LLA se puede originar en diferentes estados del desarrollo hematopoyético, por ejemplo las muestras con las fusiones BCR::ABL que codifican a p210^{B-_{CR-ABL}} se originan en una fracción troncal, mientras que las que codifican a p190^{BCR-ABL} al igual que las que presentan la fusión ETV6::RUNX1 parecen originarse en progenitores linfoides comprometidos al linaje B (Castor, 2005; Hotfilder, 2002), o progenitores más inmaduros con fenotipo CD34+CD10-CD19- ya que muestran capacidad de recapitular la hematopoyesis de LLA en ratones NOD-SCID (Cox, 2004). Resultados semejantes fueron mostrados mediante ensayos de dilución limitante, en donde se encontró que los blastos de LLA tienen una alta capacidad de injertar ratones inmunodeficientes, pero estas poblaciones no tienen un inmunofenotipo específico (le Viseur, 2008). En ese mismo sentido se demostró que la expresión de CD34 y CD38 en blastos de LLA es altamente plástica y dinámica, lo que podría explicar las discrepancias en el modelo de las CTL (Lang, 2017). Cabe mencionar que en estos casos y a diferencia de las leucemias mieloídes, la población celular que parece originar y/o sostener la LLA se ha denominado Célula Iniciadora de la Leucemia (CIL) (**Fig. 2.2**).

Es importante mencionar que, en cualquiera de los tipos leucémicos antes mencionados, la hematopoyesis leucémica co-existe en la médula ósea con la hematopoyesis normal, la cual parece ser desplazada en las fases activas de la enfermedad, pero tiene la capacidad de restablecerse una vez que existe respuesta a tratamiento.

Características de las CTL

Si bien las CTL provienen de condiciones tumorales y sus proporciones pueden variar de un paciente y tipo leucémico a otro, nuestro grupo de trabajo ha descrito que se trata de poblaciones numéricamente reducidas, que para su mantenimiento *in-vitro* requieren de la presencia de citocinas estimuladoras de la hematopoyesis o bien de poblaciones presentes en el microambiente de la médula ósea (Chávez-González, 2004; Dorantes-Acosta 2008; Torres, 2022). Cabe mencionar que, a pesar de los bajos números detectados, la presencia de una firma asociada a troncalidad al momento del diagnóstico leucémico, se ha asociado con un impacto negativo en las tasas de sobrevida y respuesta al tratamiento (Gentles, 2010).

Como se ha mencionado anteriormente, las leucemias al igual que otros tipos de cáncer, representan entidades patológicas heterogéneas cuyo desarrollo es un proceso de múltiples pasos, caracterizado por la adquisición de mutaciones que son capaces de alterar funciones celulares críticas. Esta misma heterogeneidad es observada en las CTL y CIL, en donde incluso se ha sugerido que en el momento del diagnóstico pueden existir distintas clonas, algunas de las cuales contienen mutaciones pre-neoplásicas que pueden no ser detectadas en el clon leucémico dominante, pero que pueden ser el reservorio para una eventual progresión de la enfermedad (Fregona, 2021).

No obstante, a pesar de la heterogeneidad las CTL y las CIL deben mantener características de autorrenovación (por divisiones generalmente simétricas), que les permitan asegurar su existencia, por lo que vías como: Wnt/β-catenina, Notch 1-4/DLL/JAG, Hox y Hedgehog están altamente activas e involu-

cradas también con procesos de proliferación, diferenciación y mantenimiento de poblaciones leucémicas (Mayani, 2022).

Específicamente en cuanto a la proliferación, diversos estudios han mostrado que las vías de señalización PI3K/AKT/mTOR, JAK/STAT y RAS/RAF/MEK/ERK, están sobre activadas en CTL en donde además participan reduciendo la muerte por apoptosis a través de la regulación de moléculas como Bcl2 y Bcl-xL. Así mismo, estas vías se encuentran asociadas con la expresión del factor de transcripción NFkB, que ha mostrado estar constitutivamente activo en CTL y CIL, pero no en CTH, en donde se involucran procesos de proliferación, inhibición de apoptosis y resistencia a múltiples fármacos (Chávez-González 2017).

La actividad de NFkB también se ha asociado con un incremento en el nivel de especies reactivas de oxígeno en CTL, en donde además se ha detectado un incremento de la fosforilación oxidativa, contenido mitocondrial y metabolismo de los ácidos grasos; alteraciones que están relacionadas con supervivencia, diferenciación, plegamiento de proteínas e incluso regulación epigenética (Jones, 2021). En el caso de la LLA, la actividad de NFkB, ha sido relacionada con alteraciones en moléculas de adhesión e inestabilidad del eje CXCR4/CXCL12, ambos involucrados con alteraciones del microambiente (Enciso, 2016), así como con el incremento de TNFa, que junto con la alta expresión de Smad7 y niveles reducidos de TGF β en plasma, parecen tener significancia clínica (Álvarez, 2023).

Aunado a las características anteriores y considerando que las células troncales son entidades que se encuentran formando parte de un microambiente altamente dinámico y complejo, el estudio de las diferentes interacciones que existen tanto en la normalidad como en la leucemia ha cobrado relevante importancia.

Ahora sabemos, que las células troncales (normales y leucémicas) se encuentran en sitios específicos denominados nichos en donde se establecen interacciones particulares para regular distintos mecanismos ante diferentes estímulos o

escenarios biológicos. Las interacciones dentro de la médula ósea comprenden la comunicación entre elementos celulares (células inmunes, adipocitos, células estromales mesenquimales, fibroblastos, células endoteliales, osteoblastos, etc.), sus productos solubles (citocinas, factores de crecimiento, gases, iones, etc.), así como componentes de la matriz extracelular. De manera que, alteraciones en el mantenimiento de las características del microambiente medular normal puede ser suficiente para promover la transformación leucémica y regular mecanismos de proliferación, supervivencia, autorrenovación, evasión inmune y quiescencia celular; todo ello a expensas de la hematopoyesis normal (Torres-Barrera, 2021).

Un evento de relevante importancia en el mantenimiento de las células troncales es su permanencia en estados quiescentes del ciclo celular. Clásicamente se había considerado que las CTH eran poblaciones homogéneas y con tasas mínimas de proliferación. Sin embargo, ahora sabemos que son poblaciones heterogéneas en donde algunas de ellas pueden permanecer en estados inactivos y no proliferantes, que dependiendo de las necesidades del organismo pueden salir de la quiescencia y transitar en fases activas del ciclo. No obstante, para el caso de las CTL y en general para todas las células troncales tumorales, la permanencia en estados quiescentes representa un importante problema terapéutico, ya que todos los agentes utilizados en los distintos tratamientos tienen como fundamento eliminar células que se encuentran en fases activas del ciclo celular. En ese sentido, algunos autores mencionan que las células tumorales pueden permanecer en una quiescencia profunda (también denominada dormancia), que incluso puede mantenerse por largos períodos o bajo condiciones de estrés, tal y como sucede tras el tratamiento con los distintos quimioterapéuticos. Sin embargo, las CTL quiescentes pueden eventualmente salir de la quiescencia y comenzar a proliferar, restableciendo así el crecimiento leucémico (Luo, 2020).

Esta característica, junto con la alta expresión de proteínas relacionadas a la expulsión de múltiples fármacos, las modificaciones en las vías metabólicas, la protección por componentes del

microambiente, etc., representan algunos de los principales mecanismos de resistencia a distintos agentes terapéuticos y son sin duda los responsables de las recaídas y fallas al tratamiento.

IMPACTO DEL PRONAI_{II} EN EL ESTUDIO DE LA HEMATOPOYESIS NORMAL Y LEUCÉMICA

Células troncales en leucemia linfoblástica aguda

Como se ha visto a lo largo de este capítulo, las CTL y las CIL representan entidades que, por sus características biológicas, tienen alto impacto en la permanencia leucémica, por lo que la búsqueda de estrategias para su eliminación y/o detección a lo largo del curso clínico es un tema de gran interés en investigación.

Esta situación ha sido estudiada por el grupo del laboratorio de células troncales leucémicas quienes utilizando como modelo de estudio CTL provenientes de sujetos con diagnóstico reciente de leucemias mieloides, hemos demostrado que dos moléculas pequeñas, capaces de inhibir la vía NFkB, pueden reducir poblaciones totales y troncales leucémicas *in-vitro*. Este efecto se logra mediante la disminución de la actividad transcripcional de dicho factor, la inducción de apoptosis y la generación de especies reactivas de oxígeno (Flores-López, 2018). Aunado a lo anterior, utilizando el mismo modelo, hemos detectado la sobreexpresión de algunas moléculas en la superficie celular de CTL, las cuales pudieran estar relacionadas con la presencia troncal o la permanencia tumoral y que actualmente están siendo evaluadas como posibles moléculas pronósticas (Avilés-Vázquez, 2017). Por esta razón, el proyecto Pronai_{II} 303076 "células troncales leucémicas en leucemia linfoblástica aguda", se planteó realizar evaluaciones semejantes a las antes mencionadas, pero ahora utilizando muestras primarias provenientes de sujetos pediátricos con diagnóstico de LLA.

Los datos generados al momento indican que de forma semejante a lo que sucede en las leucemias mieloides, los agentes inhibidores de NFkB son capaces de reducir distintas poblaciones hematopoyéticas de LLA. De forma muy interesante y

a diferencia de la LMC, las muestras pediátricas de LLA tienen una alta heterogeneidad en las poblaciones analizadas, pero en todas ellas se ha detectado muerte celular por apoptosis tras el uso de las moléculas evaluadas. Además dicha apoptosis parece ser mayor en las poblaciones de progenitores, en donde también se presenta el porcentaje más alto de blastos leucémicos. Es importante comentar que, de las moléculas en estudio, dos de ellas son muy eficientes en la eliminación de blastos leucémicos y de células con inmunofenotipos primitivos. Cabe mencionar que, de forma semejante a lo antes descrito por nuestro grupo, estos agentes tienen un efecto muy reducido en las poblaciones hematopoyéticas normales e incluso en poblaciones no hematopoyéticas, que también se encuentran presentes en las muestras de los pacientes con LLA (Ortiz-Reyes, aceptado en IJMS).

EXPANSIÓN EX VIVO DE HSC Y HPC DE LA SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

Una de las terapias que mejores resultados ha brindado en el tratamiento de la leucemia es el trasplante de células hematopoyéticas (TCH). Es decir, reemplazar a las células hematopoyéticas leucémicas por células hematopoyéticas sanas y competentes. Para ello, es necesario eliminar a las células leucémicas a través de esquemas terapéuticos basados en quimioterapia (que puede ir acompañada de radioterapia) previo al trasplante (Baron et al, 2003).

Hoy en día, existen tres fuentes principales de células hematopoyéticas para llevar a cabo el trasplante: la médula ósea, la sangre periférica movilizada y la sangre de cordón umbilical (SCU) de recién nacidos. Esta última tiene ventajas importantes debido a que las CTH y CPH tienen mayores potenciales para reconstituir el sistema hematopoyético que su equivalente proveniente de sujetos adultos. Además, la SCU tiene mayor versatilidad en cuanto a la compatibilidad entre donador y paciente. Finalmente, en términos de almacenamiento, la obtención de células hematopoyéticas de la SCU ha permitido

tido la creación de bancos, tanto públicos como privados, en los que es posible almacenar miles de unidades listas para ser utilizadas en el tratamiento de la leucemia y de otras enfermedades del sistema hematopoyético (Mayani H, 2010).

Sin embargo, una desventaja es que el número absoluto de CTH y CPH en una unidad de SCU corresponde a un 15% o 20% del número observado en una unidad colectada de una fuente adulta. Esto provoca que el tiempo de recuperación e injerto del paciente sea significativamente más prolongado, lo que hace que se incremente el riesgo de que el paciente se infecte o sufra sangrados, además de que se incrementan los costos hospitalarios. Para resolver este problema, una estrategia que se ha planteado es cultivar a las CTH y CPH de la SCU en medios líquidos en el laboratorio con la finalidad de incrementar sus números. A esto se le conoce como expansión celular ex vivo (Mayani, Wagner, Broxmeyer, 2020).

El proyecto Pronaii 303048, consiste, precisamente, en desarrollar un sistema de cultivo para la expansión ex vivo de CTH y CPH de la SCU. El sistema que hemos desarrollado consiste en un medio de cultivo líquido libre de suero, el cual está suplementado con diferentes proteínas (llamadas citocinas) que estimulan a dichas poblaciones para que se multipliquen. Este sistema es todavía más eficiente, gracias a la presencia de moléculas orgánicas de bajo peso molecular que potencian el efecto de las citocinas, haciendo que las CTH se multipliquen sin diferenciarse para que, de esa manera, se produzcan más células. El objetivo es generar CTH y CPH eficientes y competentes en cantidades suficientes y en ausencia de agentes infectocontagiosos (virus o bacterias) para que puedan ser trasplantadas a pacientes.

La implementación de este sistema de expansión celular brindará, a los pacientes que requieren un trasplante hematopoyético, nuevas alternativas de tratamiento y mayores posibilidades de curación. Es importante considerar que, si bien, en pacientes leucémicos pediátricos menores de 10 años de edad el trasplante hematopoyético es poco utilizado, se ha sugerido que puede ser una buena alternativa para ciertos casos de gran complejidad clínica. Por otra parte, en pacientes adolescentes

y, sobre todo, adultos jóvenes, el TCH es utilizado con mayor frecuencia. De ahí la importancia de establecer un sistema de expansión eficiente y confiable. El establecimiento de laboratorios para el procesamiento y la expansión de CTH y CPH permitirá hacer más accesible esta alternativa terapéutica, brindando mayores oportunidades de recuperación clínica no solo a niñas, niños y adolescentes con leucemia, sino a pacientes leucémicos adultos de todas las edades. La implementación de este tipo de laboratorios en instituciones públicas de salud permitirá que este procedimiento pueda llegar a pacientes de todos los estratos socioeconómicos del país.

REFERENCIAS

- Álvarez-Zúñiga, C. D., Garza-Veloz, I., Martínez-Rendón, J., Ureño-Segura, M., Delgado-Enciso, I., & Martínez-Fierro, M. L. (2023). Circulating Biomarkers Associated with the Diagnosis and Prognosis of B-Cell Progenitor Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancers*, 15(16), 4186. <https://doi.org/10.3390/cancers15164186>
- Avilés-Vázquez, S., Chávez-González, A., Hidalgo-Miranda, A., Moreno-Lorenzana, D., Arriaga-Pizano, L., Sandoval-Esquível, M. Á., Ayala-Sánchez, M., Aguilar, R., Alfaro-Ruiz, L., & Mayani, H. (2017). Global gene expression profiles of hematopoietic stem and progenitor cells from patients with chronic myeloid leukemia: the effect of in vitro culture with or without imatinib. *Cancer Medicine*, 6(12), 2942-2956. <https://doi.org/10.1002/cam4.1187>
- Baron, F., Storb, R., & Little, M. (2003). Hematopoietic cell transplantation: five decades of progress. *Archives Of Medical Research*, 34(6), 528-544. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2003.09.010>
- Bonnet, D., & Dick, J. E. (1997). Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nature Medicine*, 3(7), 730-737. <https://doi.org/10.1038/nm0797-730>
- Castor, A., Nilsson, L., Åstrand-Grundström, I., Buitenhuis, M., Ramirez, C., Anderson, K., Strömbeck, B., Garwicz, S., Békássy, A. N., Schmiegelow, K., Lausen, B., Hokland, P., Lehmann, S., Juliusson, G., Johansson, B., & Jacobsen, S. E. W. (2005). Distinct patterns of hematopoietic stem cell involvement in acute lymphoblastic leukemia. *Nature Medicine*, 11(6), 630-637. <https://doi.org/10.1038/nm1253>

- Chavez-Gonzalez, A., Bakhshinejad, B., Pakravan, K., Guzman, M. L., & Babashah, S. (2016). Novel strategies for targeting leukemia stem cells: sounding the death knell for blood cancer. *Cellular Oncology*, 40(1), 1-20. <https://doi.org/10.1007/s13402-016-0297-1>
- Chávez-González, A., Rosas-Cabral, A., Vela-Ojeda, J., González, J. C., & Mayani, H. (2004). Severe functional alterations in vitro in CD34+ cell subpopulations from patients with chronic myeloid leukemia. *Leukemia Research*, 28(6), 639-647. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2003.11.005>
- Cobaleda, C., Gutiérrez-Cianca, N., Pérez-Losada, J., Flores, T., García-Sanz, R., González, M., & Sánchez-García, I. (2000). A primitive hematopoietic cell is the target for the leukemic transformation in human Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 95(3), 1007-1013. https://doi.org/10.1182/blood.v95.3.1007.003k35_1007_1013
- Cox, C. V., Evely, R. S., Oakhill, A., Pamphilon, D. H., Goulden, N. J., & Blair, A. (2004). Characterization of acute lymphoblastic leukemia progenitor cells. *Blood*, 104(9), 2919-2925. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-03-0901>
- Dorantes-Acosta, E., Chávez-González, A., Santos, J. I., Medina-Sanson, A., & Mayani, H. (2008). Defective in vitro growth of primitive hematopoietic cells from pediatric patients with acute myeloid leukemia. *Pediatric Blood & Cancer*, 51(6), 741-746. <https://doi.org/10.1002/pbc.21706>
- Enciso, J., Mayani, H., Mendoza, L., & Pelayo, R. (2016). Modeling the Pro-inflammatory Tumor Microenvironment in Acute Lymphoblastic Leukemia Predicts a Breakdown of Hematopoietic-Mesenchymal Communication Networks. *Frontiers In Physiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00349>
- Oppert, K., Takenaka, K., Lechman, E. R., Waldron, L., Nilsson, B., Van Galen, P., Metzeler, K. H., Poeppel, A., Ling, V., Beyene, J., Carty, A. J., Danska, J. S., Bohlander, S. K., Buske, C., Minden, M. D., Golub, T. R., Jurisica, I., Ebert, B. L., & Dick, J. E. (2011). Stem cell gene expression programs influence clinical outcome in human leukemia. *Nature Medicine*, 17(9), 1086-1093. <https://doi.org/10.1038/nm.2415>
- Flores-Lopez, G., Moreno-Lorenzana, D., Ayala-Sánchez, M., Aviles-Vazquez, S., Torres-Martinez, H., Crooks, P. A., Guzman, M. L., Mayani, H., & Chávez-González, A. (2018). Parthenolide and DMAPT induce cell death in primitive CML cells through reactive oxygen species. *Journal Of Cellular And Molecular Medicine*, 22(10), 4899-4912. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13755>
- Fregoni, V., Bayet, M., & Gerby, B. (2021). Oncogene-Induced Reprogramming in Acute Lymphoblastic Leukemia: Towards Targeted Therapy of Leukemia-Initiating Cells. *Cancers*, 13(21), 5511. <https://doi.org/10.3390/cancers13215511>

- Gentles, A. J. (2010). Association of a Leukemic Stem Cell Gene Expression Signature With Clinical Outcomes in Acute Myeloid Leukemia. *JAMA*, 304(24), 2706. <https://doi.org/10.1001/jama.2010.1862>
- Holyoake, T., Jiang, X., Eaves, C., & Eaves, A. (1999). Isolation of a Highly Quiescent Subpopulation of Primitive Leukemic Cells in Chronic Myeloid Leukemia. *Blood*, 94(6), 2056-2064. <https://doi.org/10.1182/blood.v94.6.2056>
- Hotfilder, M., Röttgers, S., Rosemann, A., Jürgens, H., Harbott, J., & Vormoor, J. (2002). Immature CD34+CD19- progenitor/stem cells in TEL/AML1-positive acute lymphoblastic leukemia are genetically and functionally normal. *Blood*, 100(2), 640-646. <https://doi.org/10.1182/blood.v100.2.640>
- Jamieson, C. H., Ailles, L. E., Dylla, S. J., Muijtjens, M., Jones, C., Zehnder, J. L., Gotlib, J., Li, K., Manz, M. G., Keating, A., Sawyers, C. L., & Weissman, I. L. (2004). Granulocyte-Macrophage Progenitors as Candidate Leukemic Stem Cells in Blast-Crisis CML. *New England Journal Of Medicine/ The New England Journal Of Medicine*, 351(7), 657-667. <https://doi.org/10.1056/nejmoa040258>
- Jordan, C. (s. f.). Targeting energy metabolism in cancer stem cells: progress and challenges in leukemia and solid tumors. *Cell Stem Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.stem.202102.13>
- Lang, F., Wojcik, B., Bothur, S., Knecht, C., Falkenburg, J. H. F., Schroeder, T., Serve, H., Ottmann, O. G., & Rieger, M. A. (2016). Plastic CD34 and CD38 expression in adult B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia explains ambiguity of leukemia-initiating stem cell populations. *Leukemia*, 31(3), 731-734. <https://doi.org/10.1038/leu.2016.315>
- Lapidot, T., Sirard, C., Vormoor, J., Murdoch, B., Hoang, T., Caceres-Cortes, J., Minden, M., Paterson, B., Caligiuri, M. A., & Dick, J. E. (1994). A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature*, 367(6464), 645-648. <https://doi.org/10.1038/367645a0>
- Viseur, C. L., Hotfilder, M., Bomken, S., Wilson, K., Röttgers, S., Schrauder, A., Rosemann, A., Irving, J., Stam, R. W., Shultz, L. D., Harbott, J., Jürgens, H., Schrappe, M., Pieters, R., & Vormoor, J. (2008). In Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia, Blasts at Different Stages of Immunophenotypic Maturation Have Stem Cell Properties. *Cancer Cell*, 14(1), 47-58. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.05.015>
- Luo, M., Li, J., Yang, Q., Zhang, K., Wang, Z., Zheng, S., & Zhou, J. (2020). Stem cell quiescence and its clinical relevance. *World Journal Of Stem Cells*, 12(11), 1307-1326. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v12.i11.1307>
- Mayani, H. (2010). Biological Differences Between Neonatal and Adult Human Hematopoietic Stem/Progenitor Cells. *Stem Cells And Development*, 19(3), 285-298. <https://doi.org/10.1089/scd.2009.0327>
- Mayani, H. (2016). Sangre blanca: Doscientos años de estudio y tratamiento de la leucemia.

- Mayani, H. (2016a). The regulation of hematopoietic stem cell populations. *F1000Research*, eCollection 2016.
- Mayani, H., Chávez-González, A., Vázquez-Santillan, K., Contreras, J., & Guzman, M. L. (2022). Cancer Stem Cells: Biology and Therapeutic Implications. *Archives Of Medical Research*, 53(8), 770-784. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2022.11.012>
- Mayani, H., Wagner, J. E., & Broxmeyer, H. E. (2019). Cord blood research, banking, and transplantation: achievements, challenges, and perspectives. *Bone Marrow Transplantation*, 55(1), 48-61. <https://doi.org/10.1038/s41409-019-0546-9>
- Notta, F., Doulatov, S., Laurenti, E., Poepll, A., Jurisica, I., & Dick, J. E. (2011). Isolation of Single Human Hematopoietic Stem Cells Capable of Long-Term Multilineage Engraftment. *Science*, 333(6039), 218-221. <https://doi.org/10.1126/science.1201219>
- Ramalho-Santos, M., & Willenbring, H. (2007). On the Origin of the Term "Stem Cell". *Cell Stem Cell*, 1(1), 35-38. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2007.05.013>
- Riether, C., Schürch, C. M., & Ochsenbein, A. F. (2014). Regulation of hematopoietic and leukemic stem cells by the immune system. *Cell Death And Differentiation*, 22(2), 187-198. <https://doi.org/10.1038/cdd.2014.89>
- Silva, W. N., Costa, A. C., Picoli, C. C., Rocha, B. G., Santos, G. S., Costa, P. A., Azimnasab-Sorkhabi, P., Soltani-Asl, M., Da Silva, R. A., Amorim, J. H., Resende, R. R., Mintz, A., & Birbrair, A. (2021). Hematopoietic stem cell stretches and moves in its bone marrow niche. *Critical Reviews In Oncology/Hematology*, 163, 103368. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2021.103368>
- Testa, U., Castelli, G., & Pelosi, E. (2022). CLONAL HEMATOPOIESIS: ROLE IN HEMATOLOGIC NON-HEMATOLOGIC. *Mediterranean Journal Of Hematology And Infectious Diseases*, 14(1), e2022069. <https://doi.org/10.4084/mjhid.2022.069>
- Till, J. E., & McCulloch, E. A. (2011). A Direct Measurement of the Radiation Sensitivity of Normal Mouse Bone Marrow Cells1. *Radiation Research*, 175(2), 145-149. <https://doi.org/10.1667/rrxx28.1>
- Torres-Barrera, P., Mayani, H., & Chávez-González, A. (2021). Understanding the hematopoietic microenvironment in chronic myeloid leukemia: A concise review. *Current Research In Translational Medicine*, 69(3), 103295. <https://doi.org/10.1016/j.retram.2021.103295>
- Torres-Barrera, P., Moreno-Lorenzana, D., Alvarado-Moreno, J. A., García-Ruiz, E., Lagunas, C., Mayani, H., & Chávez-González, A. (2022). Cell Contact with Endothelial Cells Favors the In Vitro Maintenance of Human Chronic Myeloid Leukemia Stem and Progenitor Cells. *International Journal Of Molecular Sciences*, 23(18), 10326. <https://doi.org/10.3390/ijms231810326>



Capítulo 3

Modelo de atención integral de pacientes pediátricos con LLA



César Galván Díaz,
Briceida López Martínez,
Alberto Olaya Vargas,
Israel Parra Ortega,
Marta Zapata Tarrés

INTRODUCCIÓN

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la forma más frecuente de cáncer en niñas, niños y adolescentes. Es una enfermedad heterogénea que se origina en la médula ósea y se caracteriza por la proliferación descontrolada de células linfoides inmaduras. Así mismo, a pesar de los avances en el tratamiento la LLA sigue siendo una enfermedad potencialmente mortal que requiere un enfoque integral y multidisciplinario para su manejo.

La leucemia aguda a nivel mundial presenta una incidencia del 28.8%, en México es del 33.2%. La supervivencia global se reporta del 90% a 3 años del tratamiento, teniendo una variación importante según el país. (Cancer Today. <https://gco.iarc.fr/today/home>)

En México, del 2005 a 2015, un estudio de 8,977 pacientes pediátricos, se reportó una supervivencia libre de enfermedad a 5 años de 61.8%. La supervivencia para pacientes de alto riesgo fue de 51% y de 66% para aquellos con riesgo estándar (Muñoz-Aguirre P. y cols., 2021), en México los reportes de supervivencia están relacionados con el tipo de Institución que trata a los pacientes, como el caso de Chiapas el cual reporta una sobrevida del 42%. (Lepe-Zúñiga y cols., 2018)

El manejo integral de atención para pacientes pediátricos con LLA es un enfoque holístico que aborda las diversas necesidades físicas, emocionales, sociales y psicológicas de los pacientes y sus familias. Este modelo reconoce que el tratamiento de la LLA no solo implica la administración de quimioterapia y otros tratamientos médicos, sino también el apoyo continuo para garantizar la calidad de vida del paciente y su familia durante todo el proceso.

Un modelo integral reconoce que el tratamiento de la LLA no solo implica la administración de quimioterapia y otros tratamientos médicos, sino también, aborda las diversas necesidades físicas, emocionales, sociales y psicológicas de los pacientes y sus familias y opera gracias a la integración de un equipo multidisciplinario de profesionales de la salud que incluye

hematólogos, oncólogos pediatras, enfermeras especializadas en oncología, psicólogos, trabajadores sociales, educadores y otros especialistas. Este equipo completo debe trabajar en armonía y en beneficio del cuidado completo y coordinado que atienda todas las necesidades del paciente y su familia.

El tratamiento de la LLA se divide en varias fases: inducción a la remisión, consolidación, intensificación, mantenimiento y en algunos casos trasplante de células progenitoras.

Cada fase presenta desafíos únicos que requieren una atención especializada y un seguimiento cuidadoso.

El modelo integral de atención garantiza que los pacientes reciban el apoyo necesario de cada etapa, desde el abordaje clínico, el diagnóstico, la administración de los medicamentos, la atención de los efectos secundarios y el apoyo emocional entre otros.

Además, el modelo integral puede proporcionar apoyo educativo y social a los pacientes y a sus familias. Esta información puede incluir sesiones informativas sobre la enfermedad, el tratamiento, los recursos financieros y apoyo para abordar temas educativos y laborales.

Estas acciones tienen énfasis en la atención centrada en el paciente. Este concepto significa involucrar activamente a los pacientes y sus familias en el proceso de toma de decisiones y brindarles el apoyo necesario para que puedan participar de manera significativa en su propio cuidado. Se debe fomentar la comunicación abierta y transparente entre el equipo médico, el paciente y la familia para garantizar que se satisfagan las necesidades y preocupaciones individuales de cada uno.

En resumen, el modelo integral de atención para pacientes pediátricos con LLA es un enfoque holístico y multidisciplinario que reconoce la complejidad de esta enfermedad y la importancia de abordar todas las necesidades del paciente y su familia. Al proporcionar un cuidado completo y coordinado que se centra en el paciente y su bienestar general, este modelo ayuda a mejorar los resultados del tratamiento y la calidad de vida de los pacientes pediátricos con LLA y sus familias.

DIAGNÓSTICO

Diagnóstico clínico

El diagnóstico de la LLA es un desafío en pediatría debido a que no es una enfermedad frecuente y por otro lado se manifiesta con signos y síntomas inespecíficos. El cuadro clínico se caracteriza por una instauración sintomática progresiva, sin embargo, una vez iniciados los síntomas, la progresión suele ser rápida (en estimado tres a cuatro semanas para un cuadro clínico significativo) y las manifestaciones van relacionadas a la infiltración fuera y dentro de la médula ósea.

Las manifestaciones relacionadas a la infiltración de la médula ósea van relacionadas con la disminución de las cuentas celulares. Entre ellas están la disminución de glóbulos rojos, leucocitos y plaquetas. Por lo tanto, la anemia tiene manifestaciones clínicas secundarias como son la palidez, la taquicardia, la ingurgitación yugular, entre otros. Por otro lado, la trombocitopenia se puede presentar con datos sutiles como son las petequias, la hematuria, los hematomas hasta eventos catastróficos como hemorragias cerebrales o abdominales, entre otros. Finalmente, la leucopenia se puede traducir en un mayor riesgo de infecciones por microorganismos propios del paciente o externos. Tras la sospecha fundamentada en la clínica y evolución, se recomienda la realización de una biometría hemática completa.

Las manifestaciones relacionadas a la infiltración fuera de la médula ósea se presentan principalmente en los ganglios linfáticos y en los órganos abdominales principalmente hepatomegalia y esplenomegalia. Las células leucémicas pueden invadir cualquier tejido incluyendo el sistema nervioso central, el humor vítreo, los testículos entre otros.

La leucemia es una enfermedad sistémica y como tal presenta síntomas generales como son fiebre en un 60%, adenomegalias generalizadas en 50% hepato y esplenomegalia en un 40%. Es importante resaltar que el 40% no presenta fiebre, el 50% no presenta adenomegalias y el 60% no presenta hepato ni esplenomegalia.

Los antecedentes personales patológicos en el paciente es importante considerarlos ya que en algunos casos hay un mayor riesgo de desarrollo de leucemia y por lo tanto la sospecha diagnóstica es más sencilla. Entre estas enfermedades está principalmente el síndrome de Down, los síndromes mielodisplásicos, el antecedente de uso de quimioterapia o exposición a radiación, las inmunodeficiencias y la anemia de Fanconi por ejemplo.

Los antecedentes heredofamiliares deben interrogarse de manera detallada para conocer el contexto e identificar alteraciones concomitantes o riesgos en el paciente, sin embargo, respecto a LLA, existe poca evidencia de un origen hereditario, siendo el síndrome de Li Fraumeni y el antecedente de leucemia en hermanos factores asociados al desarrollo.

Respecto a los antecedentes personales no patológicos, no existen evidencias de que la alimentación o algún tipo de hábito higiénico dietético incremente las probabilidades de padecer leucemia. Se han descrito factores ambientales como la contaminación o exposición a bencenos o químicos derivados del tolueno y los xilenos como factores que incrementan el riesgo a desarrollar LLA.

El estudio de la biometría hemática es fundamental ya que la evidencia muestra que al diagnóstico solo entre el 3% y el 5% de los casos tendrán un estudio normal.

Es importante recordar que los pacientes con leucemia y sobre todo aquellos que tienen hiperleucocitosis pueden cursar con síndrome de lisis tumoral el cual se caracteriza por hipercalemia, hiperfosfatemia e hiperuricemia. Estos pacientes deben ser valorados por el médico de terapia intensiva así como por el nefrólogo. Otro especialista que muchas veces es necesario valore al paciente es el infectólogo debido a los cuadros clínicos compatibles con neumonías, cuadro gastrointestinales, infecciones de vías aéreas, entre otros.

Las indicaciones para realizar un aspirado de médula ósea son: presencia de blastos en sangre periférica, bicitopenia y pancitopenia.

PRUEBAS DE LABORATORIO EN EL DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO DE LA LLA

Como ya se describió, los estudios de abordaje inicial de un paciente con sospecha de LLA son la citometría hemática, DHL, ácido úrico, electrolitos séricos y pruebas de función renal.

Actualmente, el diagnóstico por laboratorio de la LLA, se realiza mediante el estudio de sangre periférica y médula ósea, empleando tinciones pancromáticas (May-Grunwald-Giemsa, Wright o Romanowsky), en donde se deben identificar células malignas conocidas como blastos, basados en las características de estas células se realiza la clasificación basada en los criterios FAB (grupo Francés-American-Británico) de manera inicial (Parra-Ortega y cols., 2020). Sin embargo, cuando se utiliza el estudio morfológico como única herramienta de apoyo en el diagnóstico y clasificación de leucemias, existe una probabilidad de un 20% a un 50% de error en la identificación de las células leucémicas, esta variación es atribuible a la experiencia del profesionista que realiza la lectura, la calidad de la tinción y en algunos casos la misma enfermedad tiene una morfología compleja. La clasificación FAB describe 10 tipos de leucemias cada una de ellas tiene sus particularidades, en el caso de las LLA se clasifican como L1, L2 y L3 en las que profundizaremos a lo largo de este texto. (Foà y cols., 2005; Parra-Ortega cols., 2020). (**Cuadro 3.1**).

Cuadro 3.1. Clasificación FAB de la leucemia linfoblástica aguda [LLA]

L1. Blastos pequeños con escaso citoplasma y poca variación de tamaño y forma de célula a célula. El núcleo es redondo y habitualmente con un único nucléolo pequeño

L2. Células blásticas más grandes y con citoplasma más abundante que en la L1. Tamaño y forma de las células muy heterogéneos. El núcleo puede tener una forma irregular y con frecuencia tiene múltiples nucléolos

L3. Células grandes con citoplasma intensamente basófilo y con frecuencia vacuulado. Núcleo redondo de cromatina fina y nucléolo basófilo a menudo múltiple. Esta morfología es común a la leucemia asociada al linfoma de Burkitt

(Bennett JM, 1976)

Posterior a la identificación morfológica (20% o más de las células analizadas en un extendido de médula ósea) se debe llevar a cabo la clasificación inmunológica utilizando citometría de flujo multiparamétrica (CFM), esta inmunofenotipificación permite confirmar el linaje y subclasificar la LLA de acuerdo con el grado de maduración (Tettero cols., 2024). Esta metodología, permite analizar las muestras de forma eficiente y permite al médico realizar un diagnóstico oportuno, estratificando inmediatamente al paciente, la CFM analiza diferentes parámetros de una célula (tamaño, complejidad y expresión de antígenos), y de esta manera es posible caracterizar una célula por su fenotipo, lo que lleva a una mejor identificación de las poblaciones anormales, con las siguientes fortalezas 1. Identificar de manera puntual el linaje celular que tiene la leucemia, ya que en algunos casos pueden identificarse dos o más marcadores de diferente linaje y que actualmente tienen relevancia en el pronóstico del paciente. ya que con esta metodología pueden identificarse fenotipos aberrantes o las leucemias de linaje ambiguo o fenotípicas como se conocían anteriormente. 2. Establecer de manera más exacta el porcentaje de células leucémicas que tiene el paciente en médula ósea, además del porcentaje de componentes hematopoyéticos normales ya que se analizan todos los grupos celulares. 3. Caracterizar por CFM permite monitorear el tratamiento y en casos de recaída, es una herramienta importante para identificar un posible cambio o switch de linaje (Campana G Pui, 1995; Stock G Estrov, 2000; Tettero cols., 2024).

Para finalizar con la clasificación de las LLA se debe realizar al momento del diagnóstico, se deben usar herramientas citogenéticas (como el cariotipo con bandeo G) y pruebas de biología molecular (para la identificación de translocaciones, inversiones) para estratificar el riesgo y poder establecer las medidas terapéuticas adecuadas, el seguimiento y el pronóstico (Jiménez-Morales cols., 2017).

Entre los subtipos de leucemias agudas se han descrito asociaciones específicas con alteraciones cromosómicas que se utilizan como factor pronóstico y para estratificar grupos de riesgo, lo cual es un aspecto importante para definir alternativas de tratamiento.

CLASIFICACIÓN CITOGÉNÉTICA Y MOLECULAR DE LA LLA

Durante el diagnóstico de la leucemia aguda, es importante realizar la detección de las alteraciones citogenéticas más frecuentes con los objetivos de: a) estratificar el riesgo del paciente indicando un tratamiento dirigido, como en los casos de la t(9;22), inv 16 o t(15;17), b) Identificar una alteración citogenética con la que pudiera evaluar la enfermedad mínima residual durante el seguimiento de la paciente (Rivera-Luna cols., 2017).

En el 2016, la OMS define una nueva clasificación en la leucemia aguda linfoblástica y se describe en la tabla 2 (Arber cols., 2022). Se han generado nuevas alteraciones estructurales en la leucemia aguda linfoblástica, las cuales se describen en la tabla 3, con frecuencia, el pronóstico, los genes asociados y el inmunofenotipo (Arber cols., 2022). (**Cuadro 3.2**).

Se han generado nuevas alteraciones estructurales en la leucemia aguda linfoblástica, las cuales se describen en la tabla 3, con frecuencia, el pronóstico, los genes asociados y el inmunofenotipo (Arber et al., 2022). (**Cuadro 3.3**).

La LLA precursora temprana de T (ETP) es una variedad de leucemia menos frecuente pero más compleja y heterogénea. Se define con el inmunofenotipo y se han descrito que un tercio se caracteriza por el reordenamiento y la desregulación del factor de transcripción T BCL11B, el 80% de los casos tiene mutaciones activadoras del FLT3 y la mayoría de los casos presenta sobreexpresión de FLT3.

La infiltración al sistema nervioso central es un hallazgo frecuente, con una incidencia superior al 25% en leucemias y linfomas. En la evaluación inicial de los pacientes con LLA es importante realizar el estudio del líquido cefalorraquídeo (LCR) para identificar infiltración.

Utilizar la citometría de flujo para el estudio del inmunofenotipo en LCR es una tecnología que debe considerarse en la

evaluación del sistema nervioso central (SNC) de los pacientes con LLA, ya que permite explorar poblaciones celulares, siendo un método objetivo y único (Palomo Colli cols., 2015).

El pronóstico se consideraba adverso aunque recientemente ha mejorado gracias a la identificación de este subtipo

Cuadro 3.2. Clasificación de leucemia aguda linfoblástica y alteraciones citogenéticas

- LLA-B con anomalías genéticas recurrentes
- LLA-B con t(9;22)(q34.1;q11.2)/ BCR::ABL1
 - con afectación sólo linfoides
 - con participación multilinaje
- LLA-B con t(v;11q23.3)/ KMT2A reordenado
- LLA-B con t(12;21)(p13.2;q22.1)/ ETV6::RUNX1
- LLA-B, hiperdiploide
- LLA-B, hipodiploide baja
- LLA-B, casi haploide
- LLA-B con t(5;14)(q31.1;q32.3)/ IL3::IGH
- LLA-B con t(1;19)(q23.3;p13.3)/ TCF3::PBX1
- LLA-B, BCR :: ABL1 –similar, clase ABL-1 reorganizada
- LLA-B, BCR :: ABL1 –como, JAK-STAT activado
- LLA-B, BCR :: ABL1 –como, NOS
- LLA-B con iAMP21
- LLA-B con reordenamiento MYC
- LLA-B con reordenamiento DUX4
- LLA-B con reordenamiento MEF2D
- LLA-B con reordenamiento ZNF384(362)
- LLA-B con reordenamiento NUTM1
- LLA-B con reordenamiento HLF
- LLA-B con UBTF::ATXN7L3/PAN3,CDX2 ("CDX2/UBTF")
- LLA-B con IKZF1 N159Y mutado
- LLA-B con PAX5 P80R mutado
- LLA-B, NOS
- Leucemia aguda linfoblástica T
- LLA precursora temprana de células T con reordenamiento BCL11B
- LLA precursora temprana de células T, NOS

Cuadro 3.3. Alteraciones estructurales en la leucemia aguda linfoblástica

SUBTIPO	FRECUENCIA	PRONÓSTICO	ENFOQUE DX	GENES ASOCIADOS	INMUNOFENOTIPO
LLA-B con reordenamiento MYC	2-5%, adulto mayor, adolescentes y adultos jóvenes	Pobre	FISH MYC / BCL2 / BCL6 ; estado mutacional de IgV(H)	IGH	TdT+CD34-CD20+/- ; puede ser Sig+/-
LLA-B con reordenamiento DUX4	5-10%, mayor en adolescentes y adultos jóvenes	Excelente	WTS, * IHC para sobreexpresión de DUX4		CD371+; CD2+
LLA-B con reordenamiento MEF2D	3%-5%	Pobre	WTS; FISH MEF2D	BCL9 , HNRNPUL1	CD10-/tenue; CD38+; cu+
LLA-B con reordenamiento ZNF384 o ZNF362	5%-10%, mayor en adolescentes y adultos jóvenes	Variáble	WTS; FISH posible	EP300 (más común y de buen pronóstico), TCF3 , TAF15 , CREBBP	CD10-/tenue; antígeno mieloide +
					<i>Continúa...</i>

...Continuación cuadro 3.3

...Continuación cuadro 3.3					
LLA-B con reordenamiento NUTM1	2% o menos; raro en adultos, principalmente lactantes sin reordenamientos KMT2A	Bien	FISH NUTM1 ; WTS; Sobreexpresión de NUTM1 (WTS, RT-PCR, IHC)	ACIN1 , ZNF618 , BRD9 , IKZF1 , CUX1	CD10-/tenue; expresión de marcadores mieloides (CD13/CD15/CD33)
LLA-B /LL con reordenamiento HLF	<1% niños	Muy pobre	WTS; FISH HLF	TCF3 ; TCF4	Desconocido
CDX2 / UBTF	<1%; mayor en adolescentes y adultos jóvenes y mujeres	Pobre	RT-PCR, WTS	UBTF :: ATXN7L3 por eliminación criptica de 17q21.31; alta expresión de CDX2 por delección FLT3 / PAN3 en 13q12.2)	CD10 negativo e IgM citoplasmática positiva
LLA-B /LL con IKZF1 N159Y mutado	<1% todas las edades	Intermedio	Secuenciación de panel de genes/ exoma	N / A	Desconocido
LLA-B /LL con PAX5 PBOR mutado	2-5% mayor en adultos	Intermedio, bueno en adultos.	Secuenciación de panel de genes/ exoma	N / A	

TRATAMIENTO

La edad del paciente, la información clínica, la respuesta a la inducción, infiltración al sistema nervioso central, los datos de laboratorio como; cuenta de leucocitos, immunofenotipo, enfermedad extramedular, las alteraciones citogenéticas identificadas por técnicas moleculares y de secuenciación, así como el seguimiento de la respuesta al tratamiento permiten clasificar el riesgo de los pacientes y administrar un tratamiento según el riesgo identificado (Palomo Colli cols., 2015).

No existe un tratamiento estándar o ideal para LLA pediátrica, se ha avanzado en el desarrollo y mejora de los esquemas de tratamiento, sin embargo distan del tratamiento ideal, aún se depende primordialmente de la quimioterapia y en la mayoría de los pacientes en México, de la quimioterapia intensificada para pacientes de riesgo alto, esto implica un riesgo exacerbado de complicaciones principalmente infecciosas (Rivera-Luna cols., 2022).

Se deben tener las siguientes consideraciones para elegir un tratamiento, particularmente LLA:

- Incluir inducción, consolidación, al menos 2 intensificaciones y mantenimiento.
- Contar con una estrategia dirigida a evitar la progresión de la enfermedad al sistema nervioso central, que incluya:
 - Terapia intratecal con técnica e indicaciones adecuadas.
 - Metotrexate a altas dosis.
 - Uso efectivo de asparaginasa.
- El tratamiento debe tener un perfil de toxicidad manejable en el centro en el que se administra, sin que esto signifique modificar u omitir dosis, pues los cambios al protocolo, comprometen la intensidad de dosis y potencialmente la efectividad del tratamiento. Cabe destacar que se debe buscar mejorar el soporte y detección/ atención a toxicidad asociada al tratamiento.
- El tratamiento debe ser basado y ajustado en función de la respuesta al tratamiento, mediante el seguimiento de la enfermedad mínima residual.

- Se deben considerar indicaciones de trasplante alogénico de manera oportuna, evaluando dicha necesidad al diagnóstico, al finalizar la inducción, al finalizar la consolidación y en casos particulares inclusive en momentos posteriores.
- Se recomienda contar con estrategias para promover y supervisar el apego a los medicamentos orales durante el mantenimiento.
- La duración global del tratamiento efectivamente administrado debe ser de al menos 104 semanas.

Seguimiento de la respuesta al tratamiento

Uno de los desafíos más importantes en el tratamiento de la LLA es distinguir con precisión a los pacientes que necesitan una terapia más intensiva (y potencialmente más tóxica) es por ello que identificar de manera clara la respuesta al tratamiento es primordial para la toma de decisiones.

La determinación de la enfermedad medible residual (EMR) en la LLA es de gran importancia en la evaluación de la respuesta al tratamiento, proporciona una medición directa de la respuesta de las células leucémicas a la quimioterapia y actualmente es esencial para la estratificación de riesgo en los protocolos de tratamiento.

La EMR es considerada una prueba de laboratorio que permitirá establecer un pronóstico de la enfermedad, independientemente de las alteraciones citogenéticas, por esto, se debe medir en las etapas indicadas en su protocolo de tratamiento.

La EMR es la presencia de células malignas que no pueden distinguirse de manera habitual o con la observación al microscopio o la detección morfológica (5%), un estudio de EMR debe detectar y cuantificar las células leucémicas con alta sensibilidad y especificidad, así como ser reproducible entre laboratorios. Los métodos moleculares y la inmunotipificación por CFM son los métodos más utilizados en la vigilancia del tratamiento y en los últimos años se han utilizado como herramienta en la EMR la secuenciación de segunda generación (van der Linde cols., 2023).

Las células leucémicas se pueden distinguir claramente de los progenitores hematopoyéticos normales utilizando herramientas de laboratorio como: 1. Tinciones y características morfológicas y citoquímicas, 2. La clasificación con el inmunofenotipo, 3. Las anomalías cariotípicas o genéticas. y 4. Los reordenamientos del gen Ig/TCR. Estas herramientas seleccionadas adecuadamente con base en las características del paciente al diagnóstico y con el conocimiento de la biología de la enfermedad, pueden ser de gran ayuda en la medición de la EMR (Li y cols., 2021, MA y cols., 2024).

Se han descrito diferentes publicaciones donde utilizan varios métodos de laboratorio para la medición de la EMR, sin embargo los que más destacan son: la biología molecular con las pruebas de PCR en tiempo real, la CFM y recientemente la secuenciación masiva (Hwang y cols., 2024).

La selección de las diferentes metodologías utilizadas para la detección de EMR depende de tres factores importantes: 1. Especificidad de la prueba para discriminar entre células malignas y normales, a fin de no generar resultados falsos positivos, 2. El límite de sensibilidad, el cual debe ser como mínimo de 1×10^{-3} y 3. Reproducibilidad y accesibilidad (fácil estandarización y rápida recopilación de resultados para aplicaciones clínicas).

Para utilizar las pruebas de biología molecular para medir la EMR basados en la presencia o ausencia de traslocaciones, es importante mencionar que solo una pequeña proporción (aproximadamente el 20% de las leucemias) presentan marcadores específicos, como translocaciones cromosómicas, por ejemplo, t(9;22), t(4;11), t(12;21) o t(1;19), y solo en ellas se puede utilizar dicha alteración para medir la EMR.

Por lo anterior, la metodología más utilizada por su accesibilidad y por las múltiples recomendaciones para su estandarización es la CFM, donde parte del estudio se basa en la identificación de los inmunofenotipos expresados en células leucémicas al diagnóstico pero no en progenitores linfoides normales. Sin embargo, estos estudios requieren experien-

cia considerable y a menudo tienen costos elevados debido a los extensos paneles de marcadores y los equipos necesarios para su ejecución. De manera general se considera una EMR cuando se encuentran 0.01% de células neoplásicas en al menos 5 millones de células estudiadas (Verbeek cols., 2024).

Es importante considerar que la calidad de la muestra para el estudio de ERM condiciona la conducta a seguir con la interpretación de resultados (Tettero cols., 2024), existen algunas recomendaciones básicas que todos debemos considerar cuando se utiliza CFM en la identificación de EMR y estas son:

1. Las muestras hemodiluidas pueden arrojar resultados falsos negativos.
2. La primer muestra del aspirado es la de mejor calidad para el estudio de la EMR (Los primeros 2 a 4 mililitros de aspirado).
3. El número de eventos o células analizadas por citometría de flujo condiciona la validez del ensayo o prueba de ERM.
4. Investigar la EMR en el Líquido cefalorraquídeo de pacientes con Diagnóstico de LLA tiene el objetivo de identificar la infiltración en sistema nervioso central en el diagnóstico y posteriormente durante el tratamiento. En diferentes centros oncológicos, utilizan el cytos-pin para búsqueda de blastos en LCR. Sin embargo, su bajasensibilidad disminuye la tasa de detección de infiltración en SNC, por lo que se sugiere puede existir mayor ventaja de la CFM sobre cytos-pin, estrategia aun en desarrollo y evaluación para utilizarla como metodología de laboratorio para este fin. (Parellada ME y col. 2018).

SEGUIMIENTO INTEGRAL DEL PACIENTE

Las necesidades durante el tratamiento y atención a niños y adolescentes con leucemia linfoblástica aguda difieren enormemente de la atención clínica convencional de otros padecimientos, pues las diferencias e implicaciones en la complejidad, diagnóstica y terapéutica son abismales.

La clásica y cuestionable analogía entre una lucha o una guerra y el tratamiento contra el cáncer intenta acercarse a describir la complejidad con la que pacientes, familia y sociedad encaran estos retos, llamar a los niños y adolescentes "guerreros" o "héroes" (sin estimular a que esto sea una práctica correcta) y al tratamiento como "lucha" son conceptos que podrían parecer románticos hasta que conocemos de cerca la vivencia de una familia que ha sido marcada por el cáncer.

En países de altos ingresos se ha demostrado el beneficio de la creación de hospitales especializados para el manejo de cáncer infantil, en los que la arquitectura, el personal, la política de atención, los servicios y el conjunto de acciones que tocan la labor de atención clínica giran en torno a la complejidad de esta "guerra".

La propuesta de un modelo integral de seguimiento a los pacientes con LLA atiende a la necesidad de optimizar los recursos ya disponibles para mejorar el pronóstico de los pacientes con leucemia. Ya se describieron algunas recomendaciones a considerar al elegir un protocolo de tratamiento para pacientes con LLA, sin embargo, a diferencia de los padecimientos no oncológicos, en los que una vez que se conoce el diagnóstico y se cuenta con los medicamentos o agentes para el tratamiento, la administración y el camino a la mejoría/cura generalmente es lineal, esto no ocurre en el cáncer, y particularmente es complejo en LLA, donde el diagnóstico sólo marca el inicio de una "lucha" que requiere al menos 2 años de tratamiento efectivamente recibido, tratamiento que frecuentemente les toma a los pacientes 3 o más años en cumplir.

El seguimiento integral de los pacientes pediátricos con LLA requiere buscar y mantener el seguimiento continuo con cinco ejes fundamentales:

1. Educación y comunicación efectiva con el paciente y la familia.
2. Asignación de riesgo, seguimiento a la respuesta y atención protocolizados.
3. Prevención y atención oportuna de toxicidad asociada al tratamiento.
4. Atención interdisciplinaria psico-social
5. Soporte nutricional y control temprano de síntomas

Educación y comunicación efectiva con el paciente y la familia

El contexto cultural y social Mexicano se ha identificado como un potencial factor de riesgo, que disminuye las posibilidades de curación, específicamente vivir en un enclave Mexicano aumenta la mortalidad asociada a LLA (Schraw y cols., 2021).

La falta de entendimiento de la complejidad de la enfermedad, la atención tardía de complicaciones presentadas durante el tratamiento y posiblemente el tipo de alimentación son factores en los que se debe incidir desde el diagnóstico de LLA, lograr una intervención familiar que haga conscientes a todos los cuidadores del paciente de los riesgos e importancia de atención oportuna, la importancia en el cumplimiento del tratamiento y establecer mecanismos claros de acción (ej. Si se detecta fiebre se debe acudir inmediatamente a urgencias) que se refuercen en todas las consultas y encuentros con la familia debe ser prioritario. (Buursma P y cols., Pediatr Blood Cancer. 2025)

Los tiempos de consulta asignados deben tener esto en consideración y tras cada consulta se debe socializar y asegurar que los cuidadores entienden en qué fase de tratamiento se encuentra el paciente, los riesgos y recomendaciones generales.

Asignación de riesgo, seguimiento a la respuesta y atención protocolizados

Las estrategias diagnósticas descritas deben aterrizarse en un esquema protocolizado de tratamiento que comprenda: diagnóstico, estudio de riesgo, estudio de respuesta y tratamiento protocolizado, con alternativas oportunas para "rescate" en caso de respuesta subóptima, falla al tratamiento o recaída, esto con propuestas de colaboración interinstitucionales que permitan la mejor distribución de recursos, esto en el entendido de lograr; estos enfoques protocolizados representan la base fundamental del éxito y mejora que ha llevado a la LLA de una enfermedad incurable, a una enfermedad curable en más del 90% de los casos en algunos países. (Hayashi H y cols., Cancers. 2024;16(723).

Lograr esta estructura, no debe ser exclusivo de países con alto desarrollo socio-económico, la formación de grupos colaborativos centrados en estructurar la atención clínica y la investigación debe ser prioritario en México, hay ejemplos de éxito e nuestro país que han logrado integrar hoy grupos sólidos como el Proyecto Nacional de Investigación e Incidencia (Pronaii) de leucemia infantil; extender los alcances de estos grupos con una propuestas de atención clínica integral formará la base para la mejora global de la atención de nuestros niños y adolescentes con LLA. (Núñez-Enríquez JC y cols., Front Oncol. 2024 Apr 3;14:1304690).

Prevención y atención oportuna de toxicidad asociada al tratamiento

El progreso de los últimos 60 años en la atención de la LLA pediátrica ha permitido reducir significativamente la tasa de falla al tratamiento, sin embargo, esto en algunos casos implica mayor riesgo de toxicidad asociada al tratamiento, el seguimiento integral debe considerar estrategias hospitalarias para que todo el personal conozca detectar y tratar al menos de manera inicial las complicaciones que se presentan durante el tratamiento de LLA (Pui & Evans, 2013).

Existen programas desarrollados específicamente para estas acciones, la administración temprana de antibióticos en pacientes en tratamiento con fiebre promovida como "Hora Dorada" y la aplicación continua de escalas por parte de enfermería para la detección de pacientes en riesgo mediante la escala de valoración de alerta temprana (EVAT), entre otros, deben ser programas de implementación prioritaria en todos los hospitales que tratan con pacientes con cáncer, promover los recursos para su constante promoción y correcta operación debe ser igualmente prioritario por parte de la directiva de las instituciones (Agulnik y cols., 2022; Gonzalez y cols., 2021).

Atención interdisciplinaria psico-social

Todas las intervenciones recomendadas dejan claro que el diagnóstico de LLA trastorna la vida y la dinámica familiar de los pacientes y sus familias, contar con seguimiento psicológico y evaluación social para el establecimiento temprano de un plan que garantice el apego, cumplimiento y seguridad del paciente por parte de trabajo social son acciones que deben llevarse desde la confirmación diagnóstica de LLA; utilizar los recursos disponibles como albergues, apoyo económico, acompañamiento y fortalecimiento de redes de apoyo son labores que se deben establecer desde el diagnóstico independientemente de la situación socio-económica del paciente o su familia. (Secretaría de Salud. PROTOCOLO DE LA ATENCIÓN LLA, *National Cancer Institute*. Tratamiento de la LLA).

Soporte nutricional y control temprano de síntomas

Se debe garantizar la inocuidad, suficiencia y adecuación nutricional desde el diagnóstico, el seguimiento nutricional integral, que más allá del control de talla y peso revise constantemente los hábitos alimenticios de los pacientes, la composición corporal y que evite los ayunos innecesarios, todo ello deberá formar parte de las evaluaciones en cada visita de los pacientes. Se debe evitar la normalización del malestar durante el tratamiento de LLA interrogando y atendiendo correctamente la presencia de síntomas en los pacientes, el dolor, la disgeusia, debilidad, náusea, vómito y cualquier otro síntoma referido por el paciente o identificado en la rutina clínica debe llevar un seguimiento para asegurar su resolución, o correcta evolución, la persistencia de este tipo de síntomas es un factor que favorece el abandono o mal apego a las indicaciones clínicas. (Rodríguez-Aguilar y cols., 2023, Shimizu y cols., 2024).

REFERENCIAS

- Cancer Today. <https://gco.iarc.fr/today/home>
- Muñoz-Aguirre P, Huerta-Gutierrez R, Zamora S, Mohar A, Vega-Vega L, Hernández-Ávila JE, Morales-Carmona E, Zapata-Tarres M, Bautista-Arredondo S, Perez-Cuevas R, Rivera-Luna R, Reich MR, Lajous M. Acute Lymphoblastic Leukaemia Survival in Children Covered by Seguro Popular in Mexico: A National Comprehensive Analysis 2005-2017. *Health Syst Reform*. 2021 Jan 1;7(1):e1914897. doi: 10.1080/23288604.2021.1914897. PMID: 34125000.
- Lepe-Zúñiga, José L., Méndez-Cigarroa, Adriana O., Jerónimo-López, Francisco J., & Hernández-Orantes, Jorge G.. (2018). Sobrevida global de pacientes con leucemia aguda en el Hospital de Especialidades Pediátricas de Chiapas, México. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 75(6), 338-351. <https://doi.org/10.24875/bmhim.18000013>
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, Sultan C. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol*. 1976 Aug;33(4):451-8. doi: 10.1111/j.1365-2141.1976.tb03563.x. PMID: 188440.
- Aguilnik, A., Gonzalez Ruiz, A., Muniz-Talavera, H., Carrillo, A. K., Cárdenas, A., Puerto-Torres, M. F., Garza, M., Conde, T., Soberanis Vasquez, D. J., Méndez Aceituno, A., Acuña Aguirre, C., Alfonso, Y., Álvarez Arellano, S. Y., Argüello Vargas, D., Batista, R., Blasco Arriaga, E. E., Chávez Rios, M., Cuencio Rodríguez, M. E., Fing Soto, E. A., ... Rodriguez-Galindo, C. (2022). Model for regional collaboration: Successful strategy to implement a pediatric early warning system in 36 pediatric oncology centers in Latin America. *Cancer*, 128(22), 4004-4016. <https://doi.org/10.1002/CNCR.34427>
- Arber, D. A., Orazi, A., Hasserjian, R. P., Borowitz, M. J., Calvo, K. R., Kvasnicka, H. M., Wang, S. A., Bagg, A., Barbui, T., Branford, S., Bueso-Ramos, C. E., Cortes, J. E., Dal Cin, P., DiNardo, C. D., Dombret, H., Duncavage, E. J., Ebert, B. L., Estey, E. H., Facchetti, F., ... Teffferi, A. (2022). International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood*, 140(11), 1200-1228. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.2022015850>
- Campana, D., & Pui, C. H. (1995). Detection of minimal residual disease in acute leukemia: methodologic advances and clinical significance [see comments]. *Blood*, 85(6), 1416-1434. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V85.6.1416.BLOODJOURNAL8561416>
- Foà, R., Vitale, A., Chiaretti, S., & Guarini, A. (2005). A broad and integrated diagnostic work-up for a modern management of Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL). *Hematology (Amsterdam, Netherlands)*, 10 Suppl 1(SUPPL. 1), 55-62. <https://doi.org/10.1080/10245330512331390041>

- Gonzalez, M. L., Aristizabal, P., Loera-Reyna, A., Torres, D., Ornelas-Sánchez, M., Nuño-Vázquez, L., Aguilera, M., Sánchez, A., Romano, M., Rivera-Gómez, R., Relyea, G., Friedrich, P., & Caniza, M. A. (2021). The Golden Hour: Sustainability and Clinical Outcomes of Adequate Time to Antibiotic Administration in Children with Cancer and Febrile Neutropenia in Northwestern Mexico. *JCO Global Oncology*, 7(7), 659–670. <https://doi.org/10.1200/GO.20.00578>
- Hwang SM, Oh I, Kwon SR, Lee JS, Seong MW. Comparison of Measurable Residual Disease in Pediatric B-Lymphoblastic Leukemia Using Multiparametric Flow Cytometry and Next-Generation Sequencing. *Ann Lab Med*. 2024 Jul 1;44(4):354-358. doi: 10.3343/alm.2023.0412. Epub 2024 Jan 19. PMID: 38237930; PMCID: PMC10961625.
- Jiménez-Morales, S., Hidalgo-Miranda, A., Ramírez-Bello, J., Jiménez-Morales, S., Hidalgo-Miranda, A., & Ramírez-Bello, J. (2017). Leucemia linfoblástica aguda infantil: una aproximación genómica. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México*, 74(1), 13–26. <https://doi.org/10.1016/J.BMHIMX.2016.07.007>
- Li, W., Morgan, R., Nieder, R., Truong, S., Habeebu, S. S. M., & Ahmed, A. A. (2021). Normal or reactive minor cell populations in bone marrow and peripheral blood mimic minimal residual leukemia by flow cytometry. *Cytometry. Part B, Clinical Cytometry*, 100(5), 590–601. <https://doi.org/10.1002/CYTO.B.21968>
- Ma SB, Lin W, Campbell J, Clerici K, White D, Yeung D, Gorniak M, Fleming S, Fong CY, Agarwal R. Laboratory validation and clinical utility of next-generation sequencing-based IGH/TCR clonality testing for the monitoring of measurable residual disease in acute lymphoblastic leukaemia: real-world experience at Austin Pathology. *Pathology*. 2024 Dec;56(7):982-992. doi: 10.1016/j.pathol.2024.04.012. Epub 2024 Jul 2. PMID: 39025724.
- Palomo Colli, M. Á., Tarres, M. M. Z., Villegas, L. E. J., Martínez, B. L., & Riosvelasco, F. O. (2015). Inmunofenotipo en el líquido cefalorraquídeo de niños con leucemia linfoblástica aguda. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 14(1), 13–20. <https://doi.org/10.1016/J.GAMO.2015.06.003>
- Parra-Ortega, I., Núñez-Hernández, E., Nájera-Martínez, N., Mendoza-García, E., Cortés-Flores, D. C., Gaytán-Morales, F., Castorena-Villa, I., & López-Martínez, B. (2020). Concordancia entre el análisis morfológico y el inmunofenotipo al momento del diagnóstico y clasificación de leucemias agudas en pacientes pediátricos. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 66(4), 193–211. www.medicgraphic.com/patologiaclinicawww.medicgraphic.org.mx
- Pui, C.-H., & Evans, W. E. (2013). A 50-Year Journey to Cure Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Seminars in Hematology*, 50(3), 185–196. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2013.06.007>
- Rivera-Luna, R., Perez-Vera, P., Galvan-Diaz, C., Velasco-Hidalgo, L., Olaya-Vargas, A., Cardenas-Cardos, R., Aguilar-Ortiz, M., & Pon-

- ce-Cruz, J. (2022). Triple-hit explanation for the worse prognosis of pediatric acute lymphoblastic leukemia among Mexican and Hispanic children. *Frontiers in Oncology*, 12. <https://doi.org/10.3389/FONC.2022.1072811>
- Rivera-Luna, R., Velasco-Hidalgo, L., Zapata-Tarrés, M., Cárdenas-Cárdenas, R., & Aguilar-Ortiz, M. R. (2017). Current outlook of childhood cancer epidemiology in a middle-income country under a public health insurance program. *Pediatric Hematology and Oncology*, 34(1), 43–50. <https://doi.org/10.1080/08880018.2016.1276236>
- Schraw, J. M., Peckham-Gregory, E. C., Hughes, A. E., Scheurer, M. E., Pruitt, S. L., & Lupo, P. J. (2021). Residence in a hispanic enclave is associated with inferior overall survival among children with acute lymphoblastic leukemia. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(17). [https://doi.org/10.3390/IJERPH18179273/S1](https://doi.org/10.3390/IJERPH18179273)
- Parellada ME. Leucemia linfoblástica con compromiso de SNC: evaluación del líquido cefalorraquídeo al diagnóstico por citometría de flujo. RH [Internet]. 31 de agosto de 2019 [citado 21 de febrero de 2025];23(2):56-64. Disponible en: <https://revistahematologia.com.ar/index.php/Revista/article/view/191>
- Stock, W., & Estrov, Z. (2000). Studies of minimal residual disease in acute lymphocytic leukemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 14(6), 1289–1305. [https://doi.org/10.1016/S0889-8588\(05\)70187-8](https://doi.org/10.1016/S0889-8588(05)70187-8)
- Tettero, J. M., Heidinga, M. E., Mocking, T. R., Fransen, G., Kelder, A., Scholten, W. J., Snel, A. N., Ngai, L. L., Bachas, C., van de Loosdrecht, A. A., Ossenkoppele, G. J., de Leeuw, D. C., Cloos, J., & Janssen, J. J. W. M. (2024). Impact of hemodilution on flow cytometry based measurable residual disease assessment in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2024 38:3, 38(3), 630–639. <https://doi.org/10.1038/s41375-024-02158-1>
- van der Linde, R., Gatt, P. N., Smith, S., Fernandez, M. A., Vaughan, L., Blyth, E., Curnow, J., Brown, D. A., Tegg, E., & Sasson, S. C. (2023). Measurable Residual Disease (MRD) by Flow Cytometry in Adult B-Acute Lymphoblastic Leukaemia (B-ALL) and Acute Myeloid Leukaemia (AML): Correlation with Molecular MRD Testing and Clinical Outcome at One Year. *Cancers*, 15(20). <https://doi.org/10.3390/CANCERS15205064>
- Verbeek MWC, Rodríguez BS, Sedek L, Laqua A, Buracchi C, Buysse M, Reiterová M, Oliveira E, Morf D, Oude Alink SR, Barrena S, Kohlscheen S, Nierkens S, Hofmans M, Fernandez P, de Costa ES, Mejstrikova E, Szczepanski T, Slota L, Brüggemann M, Gaipa G, Grigore G, van Dongen JJM, Orfao A, van der Velden VHJ. Minimal residual disease assessment in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia by semi-automated identification of normal hematopoietic cells: A EuroFlow study. *Cytometry B Clin Cytom*. 2024 Jul;106(4):252-263.

- doi: 10.1002/cyto.b.22143. Epub 2023 Sep 22. PMID: 37740440.
- Secretaría de Salud. PROTOCOLO DE LA ATENCIÓN PARA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA. GUÍA CLÍNICA Y ESQUEMA DE TRATAMIENTO. México: Secretaría de Salud; s.f. Disponible en: <https://www.salud.gob.mx/unidades/dgfps/micsitio/ptcia/recursos/LEUCEMIA.pdf>
- National Cancer Institute. Tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda (PDQ®)–Versión para pacientes. Bethesda, MD: National Cancer Institute. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/leucemia/paciente/tratamiento-lla-adultos-pdq>
- Buursma P, Schepers SA, Zwerus D, Alkirawan R, van den Bergh EMM, Dors N, Hoogerbrugge PM, Grootenhuis MA, Kars MC. Communicating a Pediatric Leukemia Diagnosis to a Child and Their Family: A Qualitative Study into Oncologists' Perspectives. *Pediatr Blood Cancer*. 2025 Jan 29:e31564. doi: 10.1002/pbc.31564. Epub ahead of print. PMID: 39878316.
- Hayashi H, Makimoto A, Yuza Y. Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia: A Historical Perspective. *Cancers*. 2024;16(723). <https://doi.org/10.3390/cancers16040723>
- Núñez-Enríquez JC, Romo-Rodríguez R, Gaspar-Mendoza P, Zamora-Herrera G, Torres-Pineda L, Amador-Cardoso J, López-Blanco JA, Alfonso-Hernández L, López-García L, Rosas-Cruz A, Alberto-Aguilar DR, Trejo-Pichardo CO, Ramírez-Ramírez D, Cruz-Maza A, Flores-Lujano J, Luna-Silva N, Martínez-Martell A, Martínez-Jose K, Ramírez-Ramírez A, Solis-Poblano JC, Zagoya-Martínez P, Terán-Cerqueda V, Huerta-Moreno A, Montiel-Jarquín Á, Garrido-Hernández M, Hernández-Ramos R, Olvera-Caraza D, Cruz-Medina CS, Alvarez-Rodríguez E, Chávez-Aguilar LA, Herrera-Olivares W, García-Hidalgo B, Cano-Cuapio LS, Guevara-Espejel C, Juárez-Avendaño G, Balandrán JC, Baños-Lara MDR, Cárdenas-González M, Álvarez-Buylla ER, Pérez-Tapia SM, Casique-Aguirre D, Pelayo R. Implementation of a roadmap for the comprehensive diagnosis, follow-up, and research of childhood leukemias in vulnerable regions of Mexico: results from the PRONAI Strategy. *Front Oncol*. 2024 Apr 3;14:1304690. doi: 10.3389/fonc.2024.1304690. PMID: 38634051; PMCID: PMC11022691.
- Rodríguez-Aguilar EA, García-Guzmán AD, Guevara-Cruz M, Pinzón-Navarro BA, Velasco-Hidalgo L, Zapata-Tarres M, et al. Development of new predictive equation for resting energy expenditure in pediatric patients with oncology diagnosis. *Clin Nutr ESPEN*. 2023 Apr 1.
- Shimizu M, Shimizu A, Takamasu T, Goto H, Taniguchi H. Effectiveness of Nutrition Support Team Intervention in Pediatric Patients with Cancer. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2024;70(4):328-335. doi: 10.3177/jnsv.70.328. PMID: 39218694.



Capítulo 4

Laboratorio de citómica del cáncer infantil: diagnóstico de precisión e incidencia centrado en el paciente, su comunidad y entorno ambiental

Rubí Romo Rodríguez,
Diana Casique Aguirre,
Dulce Rosario Alberto Aguilar,
Rosana Pelayo



LEUCEMIA INFANTIL: UNA PATOLOGÍA SISTÉMICA DE URGENCIA NACIONAL

Las leucemias agudas (LA) son el tipo de cáncer más común y un importante problema de salud pública a nivel mundial en niñas, niños y adolescentes menores de 19 años. De acuerdo con los últimos reportes de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2022 éstas representaron el 28.2% de los diagnósticos de cáncer en menores, con 3.0 casos y 1.2 defunciones por cada 100,000 habitantes (GLOBOCAN 2022). No obstante, dichas cifras podrían ser mayores, considerando que en las regiones de economías menos desarrolladas del mundo, la oportunidad y calidad del registro, diagnóstico y atención a menudo son subóptimas debido a la limitada infraestructura y acceso a los servicios de salud (Ren y cols., 2022).

El advenimiento de avances tecnológicos que han facilitado la uniformidad en el diagnóstico temprano, la disponibilidad de medicamentos, los protocolos de tratamiento y la monitorización de la respuesta a terapia, han determinado en los países desarrollados, la sustantiva reducción en las tasas de mortalidad de sus poblaciones, así como valores de supervivencia libre de enfermedad a 5 años, mayores del 85% (Ward y cols., 2014). Sin embargo, este favorable comportamiento no representa la epidemiología del mundo vulnerable y en continuo desarrollo, en donde se registran aproximadamente el 80% de los casos y las tasas de supervivencia varían entre 20 y 70% (Kulkarni y cols., 2011; Ren y cols., 2022; Rivera-Luna y cols., 2017; Zapata-Tarrés y cols., 2021).

En México, las métricas de los últimos 20 años han mostrado una epidemiología particularmente grave, con las más altas tasas de incidencia y mortalidad de los países que conforman la OCDE (IHME 2021), 1.8 veces superior al promedio mundial. La década pasada registró una supervivencia a 5 años aproximada a 61.8% (Muñoz-Aguirre y cols., 2021), en tanto que el reporte 2022 proyectó 5.5 casos y 2.5 defunciones por cada 100,000 habitantes (GLOBOCAN 2022).

En concordancia, para nuestra Nación el cáncer infantil es una prioridad urgente de atender, ya que representa una de las patologías sistémicas de mayor detrimento fisiológico, social, económico y psicológico, cuyos desenlaces fatales superan las muertes por todos los tipos de enfermedades de la infancia. Uno de cada 2 casos de cáncer en niñas, niños y adolescentes mexicanos se debe a leucemias agudas, que ha incrementado hasta alcanzar cifras desproporcionadamente altas de años de vida perdidos. Notablemente, más del 50% son clasificados al debut clínico de la leucemia como pacientes de alto riesgo y experimentan una evolución desfavorable, con desenlaces de recaídas y muertes ocurridas en fases muy tempranas del tratamiento, por lo menos tres veces más frecuentes que en otras regiones, a pesar del uso de los mismos esquemas de quimioterapia. Más aún, en aquéllos clasificados con criterios clínicos como riesgo estándar, la frecuencia de recaída es mayor al 55%, lo que denota la participación de múltiples factores biológicos y/o ambientales adicionales en la determinación de pronósticos fatales y subraya la necesidad de investigación científica exhaustiva para su detección oportuna, estratificación de riesgo e intervención terapéutica integral basada en el conocimiento y adecuada a la identidad de las poblaciones. Dado que el control de las enfermedades sistémicas requiere abordajes sistémicos, el Proyecto Nacional de Investigación e Incidencia (Pronaii) en leucemia infantil, emprendió una cruzada para la transformación del conocimiento en atención, a fin de incrementar sus tasas de curación y las expectativas de calidad de vida, instrumentando enfoques interdisciplinarios y herramientas científicas y tecnológicas de vanguardia para abordar la complejidad de la leucemia, con énfasis en las poblaciones vulnerables de las zonas de mayor marginación en el territorio mexicano, las cuales muestran una preocupante reducción de probabilidad de sobrevivir a la enfermedad.

Este capítulo abordará principalmente el enfoque integral del laboratorio de citómica del cáncer infantil en materia de diagnóstico integral basado en nuestra población infantil y a

la luz de los conocimientos actuales. Es destacable que este laboratorio de alta tecnología, el primero en América Latina, se ha establecido en una zona rural de alta vulnerabilidad, con adherencia rigurosa a los principios de inclusión, equidad y derecho universal a los beneficios de la ciencia.

BIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO

Las leucemias agudas se caracterizan por una producción oligoclonal descontrolada de células precursoras hematopoyéticas en la médula ósea (MO), lo que interfiere con su diferenciación normal y provoca una alteración en la producción de células maduras del sistema sanguíneo e inmunitario (Arriaga-Pizano y cols., 2019). El origen y los mecanismos de evolución de las leucemias están bajo la lupa de la investigación biomédica/médica y han sido uno de los más grandes desafíos de la ciencia. Aunque se asume que las causas son multifactoriales y la progresión, multinivel, a la fecha se han identificado una combinación de factores genéticos de riesgo que explican menos del 10% de los casos, entre los que se incluyen algunos síndromes hereditarios y la exposición a altos niveles de radiación ionizante o agentes carcinogénicos.

Es la intersección de la genética aberrante de las células iniciadoras de la leucemia, el microambiente inflamatorio en el que se desarrollan nichos pro-tumorales y el contexto inmunológico comprometido de los individuos, la que determina el riesgo de crecimiento pre-leucémico. Además, la exposición a agentes tóxicos ambientales, la exposición prenatal a insecticidas y herbicidas, contaminación del aire, deficiencias nutricionales, estados de supresión inmunológica, exceso de peso corporal, consumo de alcohol, enfermedades infecciosas continuas, entre otros factores cooperadores, pueden contribuir a la carga del cáncer infantil en condiciones de recursos limitados (Flores-Lujano y cols., 2024; Karalexi y cols., 2021; Raaschou-Nielsen y cols., 2018; Ren y cols., 2022; Snyder, 2012; Terwilliger y Abdul-Hay, 2017).

Como es abordado a profundidad en otros capítulos de esta obra, la relevancia del diagnóstico integral de LA que incluya el análisis integral de datos clínicos, morfológicos, inmunofenotípicos, citogenéticos y moleculares, radica en la inmediata predicción de riesgo de desenlaces desfavorables para su intervención asertiva (Juárez-Avendaño y cols., 2020) (**Fig. 4.1**). Un diagnóstico temprano, oportuno y preciso, es esencial para la apropiada clasificación tumoral, estratificación de riesgo y el diseño de planes de tratamiento adecuados para cada caso, previniendo al máximo la toxicidad terapéutica y maximizando la eficiencia con menor intensidad en los casos de riesgo estándar, en contraste con aquéllos de riesgo alto, para los que la intensificación de tratamiento, los tratamientos de segunda línea, la inmunoterapia o terapia celular basada en trasplante hematopoyético, son puestos a consideración, en concordancia con el monitoreo de respuesta en los pacientes (Romo-Rodríguez y cols., 2024).

Aunque a la presentación de sospecha de enfermedad, su confirmación ha sido históricamente basada en la abundancia y características morfológicas de las células leucémicas en la MO, la reciente clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de Tumores Hematopoyéticos y de Tejidos Linfoideos, hace uso extensivo de la inmunofenotipificación y de estudios citogenéticos y moleculares, aumentando crucialmente la especificidad y exactitud, y convirtiendo a este conjunto de pruebas en el estándar para el diagnóstico, la investigación, los registros de cáncer y la monitorización de salud pública a nivel mundial (Bain, 2017).

La clasificación del linaje de las leucemias se establece principalmente a través de las características inmunofenotípicas de las células leucémicas. Adicionalmente, algunas características biológicas como fusiones, rearreglos y mutaciones genéticas, son incluidas en la nomenclatura cuando están son identificadas, ya que los perfiles moleculares que conforman pueden definir subtipos que confieren riesgo (Juárez-Avendaño y cols., 2020; Khoury y cols., 2022).

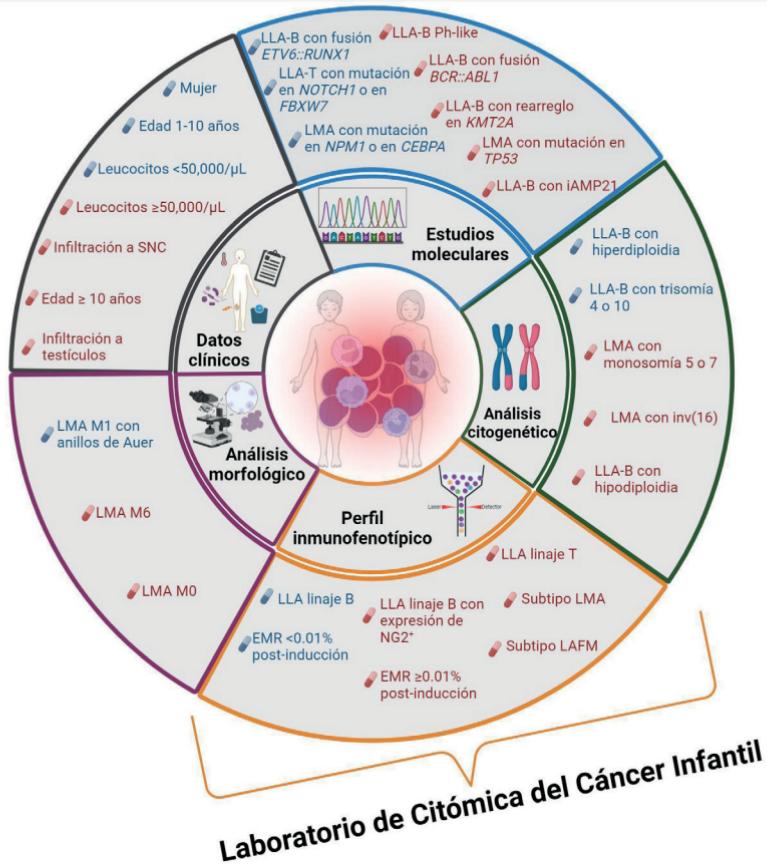


Figura 4.1. Diagnóstico y pronóstico integral de las leucemias agudas de la edad pediátrica. En el anillo central se presentan los diversos enfoques utilizados para el diagnóstico de LA en pacientes pediátricos, mientras que en el anillo externo son reveladas las variables asociadas al pronóstico, acorde a cada uno de los enfoques de análisis utilizados. Los parámetros asociados a un menor riesgo se resaltan en letras color azul y aquellos asociados a un riesgo alto, en rojo. Imagen creada con BioRender®.

Criterios importantes para la estratificación del riesgo del paciente incluyen variables clínicas, biológicas, genéticas y relacionadas con la respuesta al tratamiento (Dai y cols., 2021; Juárez-Avendaño y cols., 2020). Al diagnóstico, los pacientes se clasifican como de riesgo estándar o de riesgo alto, siguiendo los criterios establecidos por el Instituto

Nacional del Cáncer. Los pacientes de riesgo estándar son aquellos que debutan con edades entre 1 y 10 años, presentan cuentas leucocitarias inferiores a $50,000/\mu\text{L}$ ($50 \times 10^9/\text{L}$), los blastos leucémicos tienen un origen de linaje B (leucemia linfoblástica aguda de células B, LLA-B) y no presentan infiltración en el sistema nervioso central (SNC) ni en los testículos, en tanto que para ser clasificado como de riesgo alto, basta con que uno de los criterios mencionados anteriormente sea discordante (Kaplan, 2019). Además, se ha observado que el sexo femenino se asocia con pronóstico favorable (Bain, 2017a).

La respuesta temprana al tratamiento, evaluada mediante enfermedad medible residual (EMR) es, en la actualidad, el factor pronóstico más poderoso en LA de la edad pediátrica (Hein y cols., 2022).

Espectro clínico

El predominio de las células leucémicas sobre los progenitores hematopoyéticos normales puede conducir a la supresión directa de la hematopoyesis funcional o a la remodelación de los nichos microambientales, lo que contribuye a la falla de la MO (Balandrán y cols., 2016).

Las manifestaciones clínicas de las leucemias se deben, directa o indirectamente, a la proliferación de las células leucémicas y su infiltración en los tejidos, lo que provoca alteraciones en su función normal. La presentación de la enfermedad puede ser inespecífica, con una combinación de signos y síntomas asociados con las citopenias o con la infiltración leucémica en la MO, así como en otros órganos como el bazo, hígado, testículos y SNC. Estos signos y síntomas incluyen palidez, fiebre, pérdida de peso, sudoración nocturna, fatiga, disnea, faringitis, petequias, hematomas, dolor óseo, hepatomegalia, esplenomegalia, linfoadenopatía, hipertrofia de encías, manifestaciones cutáneas e infecciones. Los casos sospechosos de LA generalmente requieren un análisis inicial de hemo-

grama completo en sangre periférica. Si se encuentran anomalías, como anemia, trombocitopenia y neutropenia, se procede a investigar en muestras de aspirados de MO para confirmar o descartar la sospecha. Además, los hallazgos radiológicos, como masas mediastinales, son de gran relevancia y sugieren fuertemente la posibilidad de leucemia linfoblástica aguda de células T (LLA-T) (Bain, 2017; Kaplan, 2019; Terwilliger y Abdul-Hay, 2017).

Análisis morfológico

El primer avance significativo en el diagnóstico de las LA se produjo con la clasificación Franco-American-Británica (FAB), la cual estableció criterios morfológicos y citoquímicos de las células leucémicas, incluyendo la relación núcleo/citoplasma, el tamaño celular y la presencia de nucléolos y vacuolas. Bajo dichos criterios, el diagnóstico se establece cuando las células malignas constituyen al menos el 30% de las células nucleadas. Para definir el origen del precursor hematopoyético afectado, se consideran como leucemias mieloblasticas agudas (LMA) aquellos casos en los que al menos el 3% de los blastos muestran reacciones positivas a la mieloperoxidasa (MPO) o al negro de Sudán B. Las LMA se clasifican en ocho categorías (M0 a M7), mientras que las linfoblásticas se dividen en tres (L1 a L3). Las categorías M4 y M5 de LMA están asociadas con una mayor hepatomegalia y esplenomegalia, así como infiltración en la piel y encías. Por otro lado, las LMA M0 y M6 están vinculadas a anomalías citogenéticas complejas y un peor pronóstico que otras categorías. En niños con LMA M1, la presencia de anillos de Auer se asocia con un mejor pronóstico (Bain, 2017; Cuéllar-Mendoza y cols., 2020). Los casos sin propiedades mieloides son clasificados como linfoblásticos. La clasificación FAB se sigue empleando en circunstancias donde el análisis inmunofenotípico y genético no está fácilmente disponible, y en este contexto es importante que la citoquímica complementa el análisis morfológico (Bain, 2017).

Inmunofenotipificación por citometría de flujo

La inmunofenotipificación por citometría de flujo multi-paramétrica es una técnica esencial para el diagnóstico, clasificación, pronóstico y monitorización de las LA (Arriaga-Pizano y cols., 2019; Orfao y cols., 2019). Esta técnica de análisis de células individuales permite identificar múltiples conjuntos fenotípicos dentro de una mezcla en suspensión (Robinson, 2022). Se basa en la evaluación de características celulares específicas, como el tamaño celular, la complejidad citoplasmática o la granularidad, utilizando las propiedades de dispersión de la luz. Además, se analizan rasgos inmunológicos mediante la medición de diversos antígenos, tanto superficiales como intracelulares, los cuales se identifican utilizando anticuerpos conjugados con fluorocromos (Del Principe y cols., 2019). Para clasificar a la LA se utilizan los perfiles inmunofenotípicos de las células neoplásicas y se comparan con su contraparte normal, permitiendo la asignación a un linaje celular hematopoyético y etapa de diferenciación o maduración, así como la identificación de fenotipos aberrantes. Los inmunofenotipos aberrantes son los patrones de expresión de los antígenos que difieren del proceso normal de maduración hematopoyética, y pueden incluir infidelidad de linaje, ausencia o sobreexpresión de antígenos y asincronismo madurativo. Además, algunos perfiles inmunofenotípicos específicos han sido asociados a pronóstico y/o anormalidades citogenéticas y moleculares únicas (Arriaga-Pizano y cols., 2019; Cuéllar-Mendoza y cols., 2020; Van Dongen y cols., 2012). Por ejemplo, la detección del marcador NG2 en casos de LLA-B, se expresa específicamente en casos con el re-arreglo KMT2A, relacionado con un pronóstico desfavorable como resistencia a la terapia y recaídas a SNC (Prieto y cols., 2018).

Se reconocen dos principales categorías de LA: las de precursores linfoides, denominadas leucemias linfoblásticas agudas (LLA), que se subdividen según su origen en linaje B (LLA-B) o de linaje T (LLA-T), y las de precursores mieloides denominadas leucemias mieloblásticas agudas (LMA).

nadas leucemias mieloblásticas agudas (LMA). Un pequeño número de casos no muestra una clara evidencia de diferenciación hacia un solo linaje o expresa antígenos de diferenciación específicos de más de uno, estos se clasifican como leucemias agudas de linaje ambiguo/fenotipo mixto (LALA/LAFM), respectivamente (Van Dongen y cols., 2012).

Los antígenos comúnmente empleados para la identificación de LLA-B son CD19 y CD79a citoplásmico, mientras que para las LLA-T son los antígenos CD3 (citoplasmático y de superficie) y CD7. En contraste, las LMA se reconocen mediante la ausencia de los marcadores linfoides descritos y la presencia de mieloperoxidasa citoplásmica, CD13 y CD117. Para determinar el grado de diferenciación, se evalúan antígenos como CD34, CD45 y TdT. Mientras que, para la maduración, se observan antígenos como CD10, inmunoglobulinas de superficie y cadenas μ citoplásmicas para LLA-B, y CD11b, CD16, CD64, CD14, CD300e, CD71, entre otros, para LMA (Arriaga-Pizano y cols., 2019; Juárez-Avendaño y cols., 2021).

La inmunofenotipificación es una técnica clave para la identificación de leucemias con expresión de proteínas multilinaje (LAFM), las cuales están asociadas con muy pobre respuesta a quimioterapia. Se considera que el fenotipo mixto puede indicar un origen muy troncal o primitivo de las células leucémicas que son quimio-resistentes debido a la baja replicación, a la capacidad de adaptación a la terapia por diferenciación y cambio de fenotipo y por la alta expresión de genes de multidrogoresistencia (Charles y Boyer, 2017).

Además, el mismo enfoque tecnológico es de gran valor para la monitorización de la respuesta al tratamiento, con la sensibilidad para detectar células patológicas residuales y distinguirlas de las células inmaduras normales en regeneración dentro de la MO de pacientes con LA durante la terapia. Ya que la recaída de la enfermedad es un indicador pronóstico crucial de desenlaces desfavorables, la identificación de un pequeño número de células tumorales re-

siduales que determinan la enfermedad medible residual (EMR) durante la terapia permite distinguir a los pacientes que responden bien a la terapia de aquellos que requieren re-intensificación. Detectar un 0.01% o más células tumorales residuales tiene un significado clínico importante, ya que indica que el paciente tiene un mayor riesgo de recaída en comparación con aquellos con niveles de EMR inferiores al 0.01% (Juárez-Avendaño y cols., 2021; Kruse y cols., 2020; Shaver y Seegmiller, 2017).

Sin lugar a duda, la inmunofenotipificación multiparamétrica mediante citometría de flujo ha demostrado ser una herramienta valiosa para el diagnóstico, pronóstico y monitoreo de la respuesta al tratamiento en pacientes con LA y otras enfermedades hematológicas. Los avances tecnológicos recientes han permitido el desarrollo de la citometría de masas, una técnica capaz de evaluar simultáneamente más de 50 marcadores celulares, tanto superficiales como intracelulares, en cada célula individual. Esta técnica elimina el problema de sobrelapamiento de señales al emplear anticuerpos monoclonales conjugados con metales y permite analizar diferentes muestras en un solo tubo, reduciendo así la variabilidad entre muestras. Además, posibilita un análisis de alta dimensionalidad de las poblaciones celulares, permitiendo la identificación de poblaciones de muy baja frecuencia asociadas a la recaída de la enfermedad. Sin embargo, su uso, hasta ahora ha estado limitado a la investigación (Good y cols., 2018; Sefland y cols., 2024).

Análisis citogenético y molecular

Las anomalías genéticas se evalúan mediante técnicas como los microarreglos de ADN, citogenética molecular y la hibridación *in situ* fluorescente (FISH, por sus siglas en inglés). Las anomalías de LLA-B más frecuentes incluyen reordenamientos ETV6::RUNX1, BCR::ABL y E2A::PBX1 y MLL::AF4, así como hiper- e hiperdiploidía (Malouf y Ottersbatch 2018). La translocación $t(12;21)(p13;q22)/ETV6::RUNX1$ (TEL::AML1)

es el reordenamiento más común reportado en LLA con buen pronóstico, con cifras del 10.5% en México, las cuales se consideran bajas en comparación con población caucásica (Mata-Rocha y cols., 2022). Por otro lado, la translocación t(9;22) (q34;q11.2)/BCR::ABL1 ocurre con una frecuencia muy baja en niños (3-5%) confiriendo un mal pronóstico (Aricó M et al. 2000; Malouf and Ottersbatch 2018). La fusión BCR::ABL ha revelado su capacidad oncogénica para iniciar leucemia, tiene diferentes puntos de ruptura: p190BCR/ABL e1a2/e3a2 y p210BCR/ABL b2a2/b3a2, donde las leucemias infantiles exhiben p190 con mayor frecuencia (Heirsterkamp et al 1990). En cuanto a la clasificación pronóstica basada en citogenética para LLA-B se considera de buen pronóstico la alta hiperdiploidía, t(12;21)(p13;q22), de riesgo intermedio t(1;19)(q23;p13)/TCF3::PBX1, t(5;14)(q31;q32)/IL3::IgH y de mal pronóstico las hipodiploidías, t(9;22)(q34;q11), iAMP21, t(17;19)(q22;p13)/TCF3::HLF, T(v;11q23)/KMT2A (Agarwal y cols., 2021). La genética de los mexicanos juega un papel crucial en la biología y evolución de la leucemia. Los rearreglos de CRLF2 y iAMP21, que confieren un riesgo alto, están ampliamente representados en nuestras poblaciones (Rivera-Luna y cols., 2022).

En los casos de LLA-T, se ha observado que las mutaciones en NOTCH1 y FBXW7 están relacionadas con un pronóstico favorable, mientras que las mutaciones en NRAS, KRAS o PTEN se asocian con un pronóstico desfavorable (Bain, 2017a).

En Oaxaca, una de las regiones de la Nación más vulnerables y con altos índices de morbilidad y mortalidad infantil por leucemia, cerca del 50% de los pacientes con LLA-B presentan translocaciones de alto riesgo y mal pronóstico. Las translocaciones más prevalentes son t(9;22) en 20.7% de los casos, seguidas de t(4;11) en 17.2% y t(6;11) en 13.8%, mientras que los pacientes con LMA presentan t(15;17) en 40.6% y t(8;21) en 21.9%. Por el contrario, se registró una expresión homogénea de t(3;21) y t(6;11) para los casos de LLA-T y LAFM, respectivamente (Juárez-Avendaño y cols.,

2020). Un número creciente de casos, denominados Ph-like, con perfil transcriptómico similar a los que tienen Cromosoma Filadelfia (Ph) positivo, pero carecen de la oncoproteína, y muestran anomalías en IKZF1, TCF3, EBF1, PAX5 y VPREB1, han sido también registrados (Den Boer y cols., 2009; Mullighan et al. 2009).

Las LA representan entidades altamente heterogéneas con identidad única. Los reordenamientos genéticos adquiridos se detectan mediante métodos citogenéticos (Heim y Mitelman, 1992) o análisis moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Frayling 2002). Como ejemplo, en pacientes con LMA, el 45% no presenta anomalías citogenéticas, pero más del 85% de estos pacientes tiene mutaciones detectables a pesar de presentar un cariotipo normal (Falini y cols., 2007; Marcucci y cols., 2005; Schnittger y cols., 2005). La frecuencia de mutaciones en un cariotipo normal de LMA son 45%-55% para NPML1, 35%-45% para FLT3-ITD, 5%-10% para MLL-PTD, cerca del 10% para CEBPA, del 5-10% para NRAS y 5%-8% para FLT3-TKD (Teitell y Pandolfi, 2009). Además, la identificación de LMA con anomalías genéticas definidas elimina la necesidad de cumplir con el requisito del 20% de células leucémicas para el establecimiento del diagnóstico, con las excepciones de los casos de LMA con fusión de BCR::ABL1 o LMA con mutación en CEBPA. En el primer caso, el porcentaje mínimo de blastos es necesario para evitar la superposición con la leucemia mieloide crónica (LMC) (Khoury y cols., 2022). Por otro lado, la LLA puede presentar alteraciones en los genes de regulación transcripcional del desarrollo linfoide (p. ej., PAX5, IKZF1, EBF1, ETV6, LM02), que participan en la supresión tumoral y regulación del ciclo celular (TP53, RB1, CDKN2A/CDKN2B), que participan en la señalización del receptor de citocinas (CRLF2, EPOR, IL7R), quinasa (ABL1, ABL2, CSF1R, JAK2, PDGFRB) y Ras (KRAS, NF1, NRAS, PTPN11), o en la señalización linfoide (BTLA, CD200) y modificación epigenética (EZH2, CREBBP, SETD2, MLL2, NSD2) (Mullighan y cols., 2007).

EL LABORATORIO DE CITÓMICA DEL CÁNCER INFANTIL AL SERVICIO DE LAS INFANCIAS VULNERABLES DE MÉXICO QUE PADECEN LEUCEMIA

Indicadores de vulnerabilidad tales como el índice de pobreza, la carencia de acceso a los servicios de salud, el rezago educativo y la alimentación insuficiente, destacan la influencia del entorno socio-ambiental en la salud y en los resultados de las intervenciones sanitarias, por lo que es crucial intensificar las acciones para lograr equidad en la atención integral. De las poblaciones identificadas con mayor vulnerabilidad en nuestro país, destacan aquellas asentadas en los Estados de Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Puebla, Tlaxcala y Veracruz (CONEVAL 2016-2022). Solo por mencionar algunas características altamente relevantes de estas regiones, de acuerdo con los resultados del Pronaii de Epidemiología, la región de la Mixteca, predominantemente habitada por comunidades indígenas, presenta una alta incidencia de leucemia infantil (Flores-Lujano 2024). Estos grupos étnicos se consideran particularmente vulnerables en comparación con la población general, debido a sus usos y costumbres, además de las limitaciones significativas en el acceso a servicios de salud y tratamientos médicos, exacerbando su situación de riesgo. El 73.2% de la población en la región de la Mixteca vive en condiciones de pobreza, mientras que el 28.1% se encuentra en condición de pobreza extrema (Gobierno del Estado de Oaxaca 2022). Como el lector puede imaginar, la lejanía de las comunidades, las barreras de comunicación derivadas del limitado dominio del español (9.9% de la población en Puebla habla una lengua indígena, 2.2% en Tlaxcala y 31.2% en Oaxaca), y el limitado acceso a servicios de salud puede prolongar sustantivamente el tiempo entre los primeros síntomas y el inicio del tratamiento, lo que inexorablemente afecta de manera adversa el éxito del tratamiento y la supervivencia de los niños que padecen leucemia (**Fig. 4.2A**) (Dai et al 2022, Flores-Lujano 2024).

En general, la oportunidad de la atención se ve afectada en tres segmentos consecutivos: el retraso en el paciente o su familia, la demora en el diagnóstico, a nivel de consultorio o laboratorio,

y el retraso en la prescripción y administración de tratamiento. En el primer segmento, la carencia de educación básica relacionada a los aspectos más relevantes de la enfermedad, incluido el cáncer, así como de información sobre los primeros y más comunes signos y síntomas de la leucemia infantil, repercute desfavorablemente en el inicio del algoritmo de atención y da paso a que la actividad maligna progrese. Concientizar y crear campañas sobre la detección a tiempo del cáncer infantil dirigidas a las comunidades, a los padres de familia, cuidadores y profesionales de la salud en México es más relevante que nunca. La participación de la sociedad salva vidas. Acerca de la demora en el diagnóstico, desafortunadamente, a la fecha no existen pruebas de tamizaje que permitan seleccionar poblaciones de potencial riesgo de desarrollar leucemia. Sin embargo, el diagnóstico temprano es esencial para reducir la mortalidad (Gardie y cols., 2023) y representa uno de los desafíos más críticos en salud pública, especialmente en países en desarrollo, como México. Es indispensable, además, implementar métodos estandarizados y armonizados, que favorezcan los registros, el análisis de la carga de enfermedad, y las intervenciones multicéntricas, accesibles y universales. Finalmente, referente al retraso en el tratamiento, es claro que en sistemas de salud con recursos limitados, las carencias de abasto se intensifican, reduciendo las tasas de supervivencia. Por tanto, resulta crucial garantizar un suministro constante de medicamentos, así como una red de comunicación nacional o regional que permita la rápida movilización acorde a las condiciones urgentes donde el tiempo es un factor determinante para el desenlace.

En nuestro país, aproximadamente el 99.3% de los pacientes con leucemia infantil son atendidos en instituciones públicas, cuyos hospitales carecen de servicios de inmunofenotipificación para diagnóstico, estratificación y monitoreo de tratamiento, por lo que a menudo se subrogan estudios a laboratorios privados. La ausencia de un protocolo estandarizado de manejo de muestras y diagnóstico retrasa significativamente la identificación precisa de la enfermedad (Núñez-Enriquez 2024).

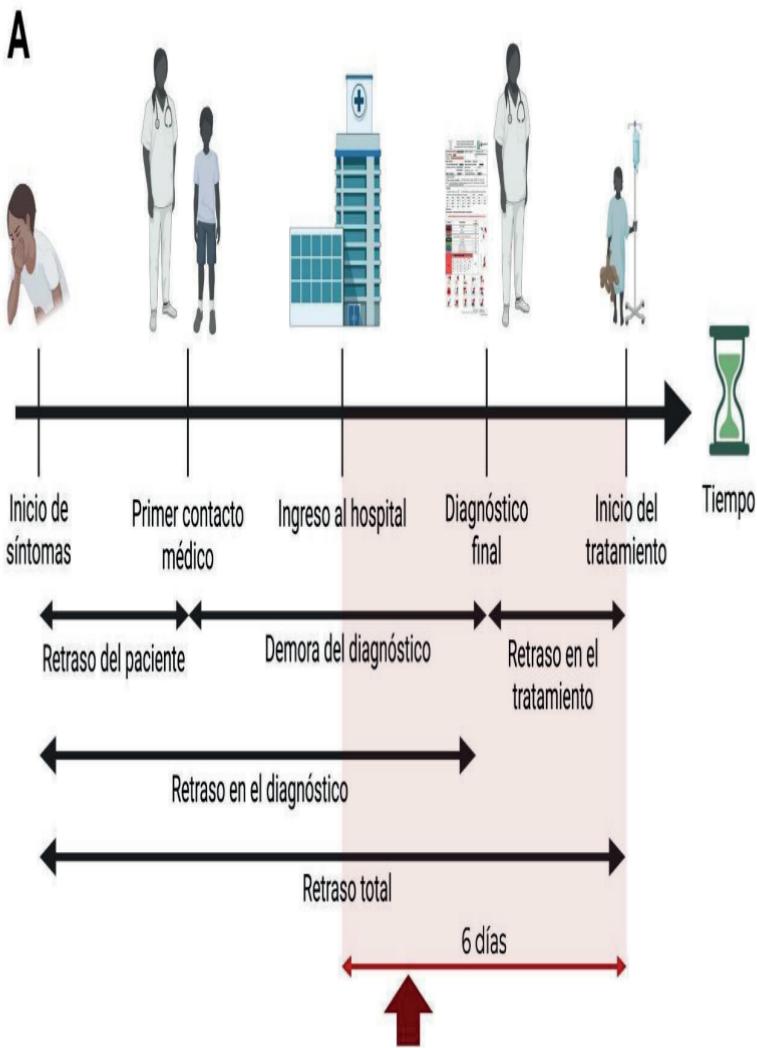
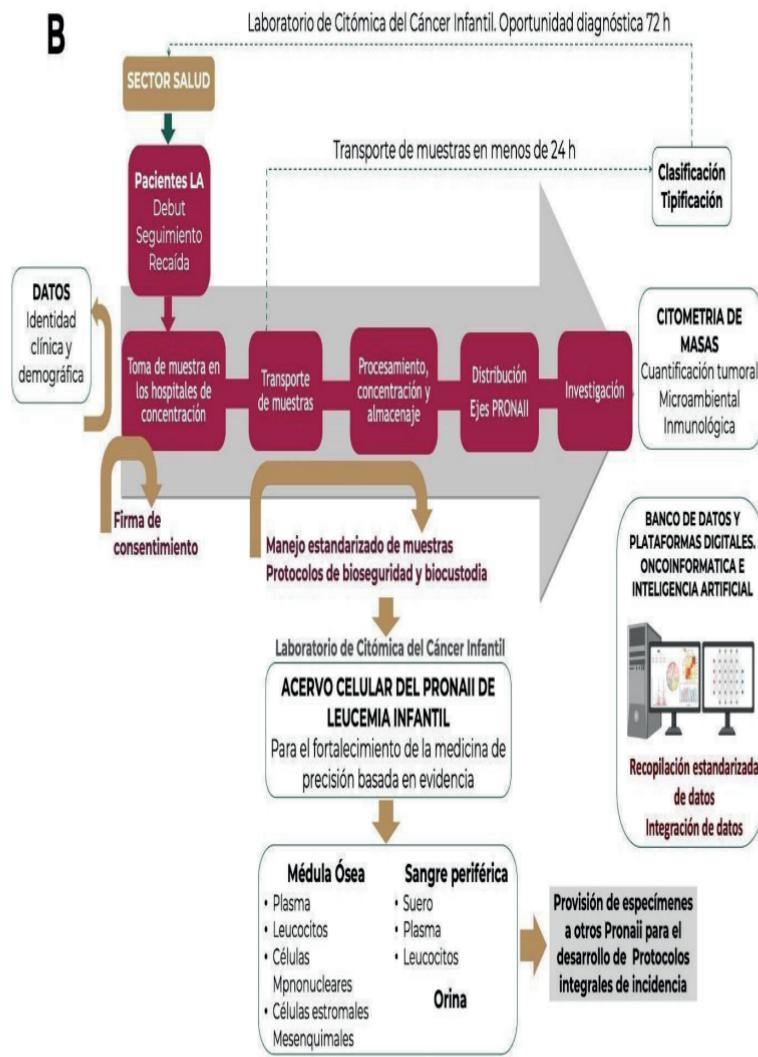


Figura 2. Ruta de atención del Pronaii de leucemia infantil y su impacto en la oportunidad diagnóstica y la reducción del tiempo de inicio del tratamiento. El retraso en la atención (A) determina en gran medida, el desenlace clínico del paciente y puede incluir retraso del paciente, que es el tiempo transcurrido desde la aparición de los primeros síntomas hasta el primer contacto médico; demora en el diagnóstico, es el tiempo desde el primer contacto médico hasta el diagnóstico, mientras que el retraso en el tratamiento abarca desde el diagnóstico final de LA hasta el inicio del tratamiento. El retraso en el diagnóstico se refiere al tiempo entre la aparición de los primeros síntomas y la confirmación diagnós-



tica. Finalmente, el retraso total es el tiempo acumulado desde el inicio de los síntomas hasta el comienzo del tratamiento quimioterapéutico. Fuente: (Dai et al., 2022; Núñez-Enriquez et al., 2024). Para resolver dicha problemática e incidir en las tasas de supervivencia, la implementación de una ruta sistemática de atención ha sido esencial para asegurar el manejo de cada muestra, así como para la concentración, gestión y análisis de la información. Las siete etapas garantizan el seguimiento adecuado de los pacientes, orientan las investigaciones y fundamentan la toma de decisiones clínicas (B). Imagen modificada de Núñez-Enriquez et al., 2024, creada con BioRender®.

Por ello, el Pronaii en leucemia infantil, como un nuevo sistema de investigación especializada exhaustiva y prospectiva, tuvo un pilotaje inicial en las poblaciones vulnerables de menores mexicanos que nacen o desarrollan leucemia en la región de Puebla, Tlaxcala y Oaxaca. El Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil, insignia del proyecto en virtud de sus alcances en la accesibilidad al diagnóstico avanzado y la revolución en los abordajes pronósticos para la estratificación certera de los pacientes.

Ruta de atención del Pronaii de leucemia infantil

A través de un algoritmo sistematizado desde la llegada del paciente al hospital hasta la emisión del reporte estandarizado al médico tratante, la ruta de atención del Pronaii de Leucemia Infantil ha mejorado significativamente la capacidad y oportunidad diagnóstica de la leucemia en menores de las regiones vulnerables de Oaxaca, Puebla y Tlaxcala, brindando a los pacientes una atención integral, con los mayores estándares de calidad y con cobertura total en la región (Fig. 4.2).

Se ha fortalecido la colaboración con la participación de instituciones de salud, así como, investigadores y alrededor de 100 profesionales del sector, que ha contribuido a reducir el impacto de la enfermedad en la comunidad. El Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil ha logrado un gran paso en la armonización del diagnóstico y pronóstico oportuno, uniformizando factores clave entre las diferentes instituciones de salud beneficiadas. Esto incluye asegurar la viabilidad de las muestras mediante un transporte adecuado. Todas las muestras se someten a paneles estandarizados para la inmunofenotipificación extendida, acorde al tipo de leucemia (infoblastica o mieloide), utilizando 53 marcadores celulares al debut de la enfermedad. Adicionalmente, para evaluar la respuesta al tratamiento, se realizan pruebas de EMR asegurando una alta sensibilidad en la detección de células residuales. Los informes emitidos permiten una visualización precisa de la población tumoral, siendo de gran utilidad para los médicos tratantes. Esta aproximación promueve una asignación y seguimiento adecuados del tratamiento, reduciendo la toxicidad.

dad de la quimioterapia y las recaídas, así como el número de muertes relacionadas con la enfermedad (Dalle et al 2020; Kim 2020; Othus y cols., 2016).

Uno de los logros ha sido la generación y entrega de informes detallados a los médicos tratantes en 72 horas desde la recepción de la muestra en el laboratorio. Esta rapidez en el diagnóstico y la comunicación de resultados es crucial para decisiones terapéuticas oportunas y personalizadas. Antes de la implementación de esta ruta, el tiempo promedio para iniciar el tratamiento tras la llegada del paciente al hospital era de 12 días, el cual se ha reducido a sólo seis días en 2023 (Núñez-Enríquez 2024) (**Fig. 4.2**). Este avance permite una clasificación y un inicio del tratamiento temprano en pacientes con leucemia fundamental para mejorar el pronóstico de los niños afectados.

Acervo celular de leucemia infantil para beneficio de la población mexicana

La creación de un acervo celular de leucemia infantil, único en México por su amplia gama de muestras de pacientes pediátricos con diversos subtipos y etapas de leucemia, representa una herramienta fundamental para revisar continuamente aspectos de patología y biología de alta relevancia para la predicción/prevención de riesgo o tratamiento e impulsar la Medicina de precisión. Su disponibilidad y utilización adecuada permiten avanzar en el conocimiento científico, mejorar el diagnóstico y tratamiento de los pacientes y contribuir a la mejora de la salud y calidad de vida de quienes padecen la enfermedad.

El acervo celular del Pronaii de Leucemia Infantil se compone de los remanentes de muestras de aspirado de médula ósea (MO) previamente utilizadas para el diagnóstico, sangre periférica (SP) y orina, de casos incluidos en los protocolos de investigación Pronaii, en estricto apego a las normas éticas institucionales e internacionales. Las muestras se someten a un procedimiento de procesamiento, etiquetado y almacenamiento, y en el caso de células estromales mesenquimales (CEM), a un riguroso sistema de diferenciación y crecimiento. Este acervo ha sido la semilla para estudios genéticos, mi-

croambientales e inmunológicos, apuntalando el conocimiento en oncología pediátrica.

La ruta de atención integral ha resultado en la mejora, precisión y uniformidad en el diagnóstico y pronóstico de las LA a través del Pronaii. El Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil se ha convertido en un laboratorio de referencia nacional del programa OncoCREAN (Centros de Referencia Estatal para la atención del Niño y de la Niña con Cáncer) del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), incrementando la oportunidad diagnóstica a 26 Estados de la República Mexicana, asegurando que todos los pacientes reciban un tratamiento adecuado y oportuno.

Huellas inmunofenotípicas en busca de un atlas nacional

Como ha sido detallado previamente, la citometría de flujo es una de las herramientas más poderosas para descifrar la identidad de los subtipos de leucemias al debut y recaída. Con la participación de una red de hospitales públicos de la Secretaría de Salud, del IMSS y del ISSSTE, el laboratorio de citómica del cáncer infantil ha tenido la oportunidad de diagnosticar con los máximos estándares de calidad y la construcción de paneles multiparamétricos estandarizados a los niños, niñas y adolescentes de la región. A través de la investigación de 53 marcadores celulares, la búsqueda de huellas citómicas en población mexicana ha sembrado las primeras semillas de un atlas nacional para leucemias linfoblásticas de B y de T y LMA de prevalencia en población vulnerable.

SISTEMAS PERSONALIZADOS PARA EL ESTUDIO DEL CONTEXTO MICRO Y MACROAMBIENTAL: CITOMETRÍA DE MASAS Y TECNOLOGÍA DE ORGANOIDES

Las tecnologías ómicas han transformado la perspectiva integral de las enfermedades complejas, bajo un modelo en el que se estudian personas, perfiles y comportamientos biológicos, resul-

tado del procesamiento de grandes cantidades de datos. La Citómica, que combina la citometría de flujo y la espectrometría de masas, es de indudable utilidad para la ponderación de riesgo, así como para la predicción de respuesta a tratamiento. Su importancia recae en la capacidad de análisis de alto rendimiento de poblaciones heterogéneas de pacientes a nivel de células individuales y su asociación con desenlaces clínicos en las diferentes etapas de la enfermedad. Tomando en cuenta que las leucemias agudas tienen consecuencias críticas para la producción y funciones sanguíneas, inmunológicas y sistémicas de los pacientes, los enfoques citómicos integrativos y la capacidad de medición de hasta 130 parámetros simultáneamente (incluyendo la composición de la superficie celular, las vías de señalización intracelular activadas como resultado de sus propiedades intrínsecas y las inducidas por el entorno ambiental, mutaciones, respuesta a la inhibición selectiva por fármacos, entre otros), persiguen identificar las propiedades fenotípicas y funcionales del tumor y sus células iniciadoras (madre o troncales), comprender el microambiente patogénico y el contexto inmunológico inductor, y detectar de manera ultrasensible clones residuales reemergentes que determinen la recaída y muerte, para el diagnóstico oportuno, la rigurosa estratificación de riesgo, el tratamiento basado en evidencia y la evaluación de la enfermedad medible residual. Alertar sobre tumores que exhiben quimio resistencia y facilitar la redirección apropiada de terapias es uno de los caminos esenciales hacia la supervivencia libre de enfermedad. En el Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil se caracteriza de forma integral y personalizada la identidad tumoral, el contexto microambiental e inmunológico por citometría de masas, con paneles consistentes de 43 marcadores celulares, que incluyen antígenos de expresión membranal, intracitoplásrica, vías de señalización y moléculas de activación e interacción intercelular (Figura 4), con énfasis en la intercomunicación microambiental, determinante en gran medida de la progresión leucémica.

Al conjunto de componentes celulares y factores solubles que rodean al tumor se le denomina microambiente leucémico (Hernández-Barrientos, Pelayo, Mayani, 2023; Morrison

y Scadden, 2014; Purizaca, Meza y Pelayo, 2012;). Éste, junto con las células leucémicas intercambian señales de forma bidireccional que pueden conducir a la evasión de la respuesta inmune, proliferación descontrolada de blastos malignos y alteración en la respuesta a la quimioterapia (Bakker y cols., 2016). Además, las señales provenientes de factores ambientales externos, pueden modificar el microambiente tumoral y los nichos hematopoyéticos normales (Jin y cols., 2016; Nematiollahi y cols., 2023). Entre los factores ambientales que podrían resultar dañinos destacan los metales pesados, pues pueden unirse específicamente a macromoléculas esenciales, incrementar la producción de especies reactivas, promover daño genotóxico y señalización proinflamatoria (Balali-Mood y cols., 2021).

Puebla registra una de las tasas más altas de leucemia infantil en México (RCNA, 2019), una situación que coincide con la presencia de áreas con elevados niveles de contaminación ambiental. Entre estas áreas se destaca la Cuenca del Alto Atoyac que abarca municipios de Puebla y Tlaxcala (Perez-Castresana y cols., 2018). Diferentes compuestos químicos derivados de pesticidas (organofosforados y organoclorados), así como elementos traza (metales pesados y metaloides) han sido hallados en aguas contaminadas del Río Atoyac en Puebla (Mora y cols., 2021; Perez-Castresana y cols., 2019). Además, el arsénico, plomo y cobre han sido detectados en productos lácteos (Castro-González y cols., 2017). Cerca del 41% de los casos de LA en menores de 19 años residen en la Cuenca del Alto Atoyac de los estados de Tlaxcala y Puebla, y el 58% de estos casos son de alto riesgo. Además, la relación entre las tasas elevadas de mortalidad por leucemias agudas en personas de 0 a 19 años y los niveles de contaminación más altos por metales y arsénico detectados en el río alcanza niveles significativos en regiones de los estados de Puebla y Tlaxcala (Conahcyt, 2023). Esta correlación sugiere la posibilidad de que los factores ambientales en esta región puedan estar influyendo en la incidencia de leucemia entre la población infantil.

La inflamación y el microambiente juegan un papel muy importante en el desarrollo y mantenimiento de la leucemia, a través de señales extrínsecas que pueden cooperar en la señalización y expansión de las células iniciadoras de la leucemia promoviendo la enfermedad (Vilchis-Ordóñez y cols., 2021). Si bien la inflamación tiene muchas funciones que benefician la activación del sistema inmune como defensa o reparación, también muestra efectos perjudiciales si se prolonga por mucho tiempo, pues podría inducir daño por falla medular o leucemia (Burocziova y cols., 2023; Rodríguez y cols., 2021). La inflamación promovida por los metales pesados (Rani y cols., 2014; Williams y cols., 2004) y otros mecanismos asociados podrían funcionar como factores oncopromotores de la LA. En este contexto, el Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil ha implementado una metodología para profundizar en el contexto microambiental y su interacción con el macroambiente.

Los organoides leucémicos son una herramienta útil para estudiar tanto el contexto micro como el macroambiental de las LA. Estos son modelos tridimensionales tipo avatar, que son personalizados, es decir, utilizan células propias del paciente y contienen todo el contexto genético y tumoral, incluyendo los principales componentes de la MO en la leucemia, el tumor en un ambiente hipóxico (Balandrán y cols., 2021; Isern y cols., 2013), rodeado y fortalecido por las células estromales mesenquimales (CEM) (Crippa y Bernardo, 2018). Los organoides tienen múltiples aplicaciones, como el análisis de respuesta a fármacos o a agentes tóxicos (Balandrán y cols., 2021; Yuan Li, Yu, 2023). Además, a partir de este sistema, se proponen dos nichos leucémicos particulares, uno denominado nicho inflamatorio, el cual fomenta la proliferación de las células leucémicas y otro, denominado nicho supresor, el cual se propone como el lugar en el cual se alojan las células que dan origen a la leucemia y que probablemente también están involucradas en la recaída, pues este nicho alojaría células quimioresistentes y con menor tasa de proliferación, lo cual fomentaría la evasión y escape ante tratamientos quimioterapéuticos (Balandrán y cols., 2021).

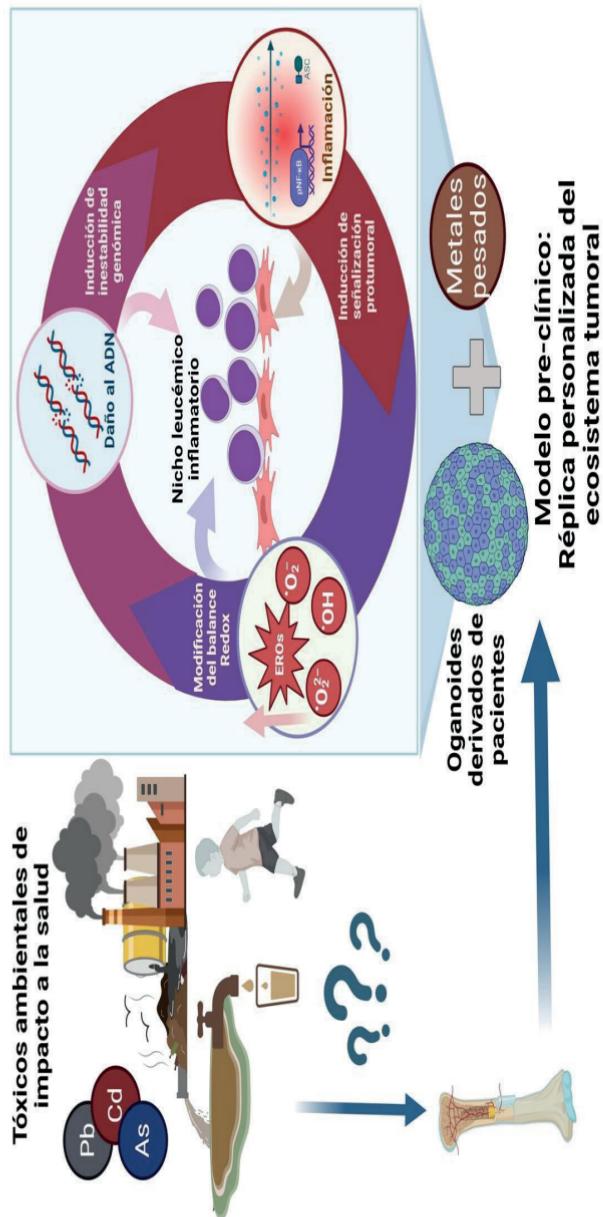


Figura 4.3. Tecnología de organoides en el estudio del impacto ambiental sobre el microambiente tumoral. La contaminación ambiental generada por actividades antropogénicas e industriales facilita la exposición a agentes tóxicos, sobre todo en población pediátrica. Los organoides derivados de células de pacientes sufren incremento de EROs, daño al ADN e inflamación ante la exposición aguda a metales pesados. Imagen creada con BioRender®.

Adicionalmente, es posible analizar el impacto ambiental externo en el nicho leucémico. La exposición aguda a metales pesados de prevalencia regional como el cadmio es suficiente para inducir un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) y ruptura del ADN en células leucémicas (CD45+ CD19+), activando señales proinflamatorias. Por su parte, las CEM del nicho no leucémico parecen proteger a las células hematopoyéticas del efecto tóxico del cadmio. Investigaciones recientes y en progreso sugieren modificaciones en el microambiente leucémico ocasionadas por factores ambientales presuntamente potenciadores de la leucemia que favorecen la formación de nichos inflamatorios y el desbalance redox (Fig. 4.3).

De esta manera, los modelos personalizados se posicionan como herramientas útiles en la medicina de precisión, pues podrían predecir fenotipos de quimiorresistencia, evaluar el potencial daño ambiental, o inclusive probar nuevos blancos terapéuticos.

NUEVOS ALGORITMOS DE SUB-ESTRATIFICACIÓN CENTRADOS EN EL PACIENTE, SU COMUNIDAD Y SU ENTORNO

Considerando el acceso limitado a pruebas citogenéticas y moleculares dentro de los sistemas de salud pública, las cuales se utilizan para asignar los casos a grupos de riesgo, en el Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil se han logrado identificar perfiles inmunofenotípicos pronósticos en la población pediátrica mexicana, destacando un perfil distintivo de LLA-B en niños mayores de 10 años. Este perfil está asociado con un aumento de seis veces en el riesgo de presentar EMR detectable. Esta estratificación de riesgo va más allá del inmunofenotipo del tumor, ya que considera el contexto inmunológico y el microambiente. El perfil se caracteriza por células leucémicas de linaje B (CD34+ CD19+) y una expresión aberrante de marcadores mieloides (MPO y CD33), las cuales crecen

a expensas de la diferenciación hematopoyética normal en un contexto microambiental potencialmente supresor (Romo-Rodríguez y cols., 2024).

El Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil cuenta con el primer citómetro de masas en México y América Latina, esta tecnología de alto rendimiento permite medir más de 40 marcadores proteicos simultáneamente, ofreciendo una oportunidad única de examinar la heterogeneidad intratumoral y vincular el pronóstico del paciente a poblaciones celulares de muy baja frecuencia predictivas de recaída (Lo y cols., 2023). Aunque en la LLA-B no se observa claramente una jerarquía fenotípica de células troncales, se ha reconocido que las células iniciadoras de leucemia (CILs) son una subpoblación rara con propiedades de célula troncal, potencialmente responsables de la quimiorresistencia y la recaída (Balandrán y cols., 2021). Dada la complejidad y heterogeneidad biológica de las LA, las estrategias de detección no solo deben ser lo suficientemente sensibles, sino además contar con amplitud fenotípica para identificar clonas reemergentes. Actualmente, se está trabajando en identificar una huella predictiva para la estratificación del riesgo de casos de leucemia infantil provenientes de zonas vulnerables en nuestro país.

La identificación de casos de alto riesgo mediante estos nuevos algoritmos de sub-estratificación permitirá distinguir de forma rutinaria y en etapas muy tempranas a aquellos pacientes que requieran un trasplante de células troncales y progenitoras hematopoyéticas. Además, el uso de organoides derivados de pacientes facilita la evaluación *ex vivo* de la compatibilidad microambiental entre el receptor y el donador, indispensable para la capacidad de las CTPHs del donador para la diferenciación multilinaje en el microambiente tumoral del paciente. Este sistema servirá como una herramienta de predicción preclínica, capaz de predecir tanto el potencial de reconstitución hematopoyética normal como el riesgo de reemergencia de células leucémicas que puedan restablecer el tumor post trasplante.

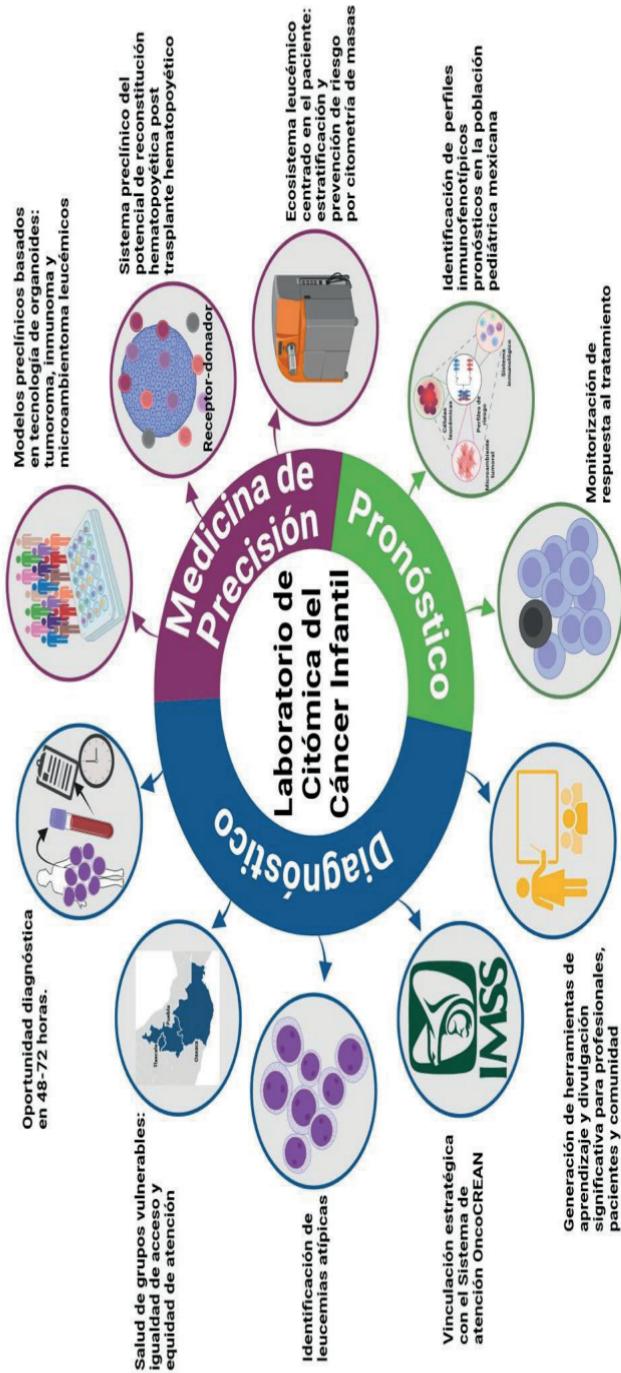


Figura 4.4. Impacto del Laboratorio de Citomática del Cáncer Infantil en la atención integral de leucemia aguda. El Laboratorio ha alcanzado importantes objetivos en la atención integral de pacientes pediátricos con leucemias agudas, se detallan los logros obtenidos en el diagnóstico y pronóstico enfocados hacia la medicina de precisión. Imagen creada con BioRender®.

CONCLUSIONES

La precisión diagnóstica es crucial para la elección del tratamiento adecuado de las leucemias infantiles, por lo que su implementación definirá el cambio de rumbo de estas patologías en las regiones de mayor vulnerabilidad.

El Laboratorio de Citómica del Cáncer Infantil ha hecho un avance sin precedente en los primeros pasos hacia la atención integral de los pacientes mexicanos, con un impacto máximo en la oportunidad diagnóstica (48-72 horas), el registro de nuevos casos, identificación de leucemias atípicas, la orientación para el manejo clínico, brindando diagnósticos y seguimientos precisos que benefician a la población vulnerable y han permitido la reducción de la mortalidad temprana (**Fig. 4.4**). Es vital ampliar estas estrategias de atención a otros Estados de alta marginación, como Chiapas, Tabasco, Veracruz y Guerrero, asegurando que todos los niños y adolescentes reciban un diagnóstico oportuno y en quienes se consagre el derecho universal a los beneficios de la ciencia.

REFERENCIAS

- Abou Dalle, I., Jabbour, E., & Short, N. J. (2020). Evaluation and management of measurable residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Therapeutic advances in hematology*, 11, 2040620720910023. <https://doi.org/10.1177/2040620720910023>
- Agarwal, M., Seth, R., y Chatterjee, T. (2021). Recent Advances in Molecular Diagnosis and Prognosis of Childhood B Cell Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia (B-ALL). *Indian journal of hematology & blood transfusion : an official journal of Indian Society of Hematology and Blood Transfusion*, 37(1), 10–20. <https://doi.org/10.1007/s12288-020-01295-8>
- Aricò, M., Valsecchi, M. G., Camitta, B., Schrappe, M., Chessells, J., Baruchel, A., Gaynon, P., Silverman, L., Janka-Schaub, G., Kamps, W., Pui, C. H., & Masera, G. (2000). Outcome of treatment in children with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *The New England journal of medicine*, 342(14), 998–1006.

- <https://doi.org/10.1056/NEJM200004063421402>
- Arriaga-Pizano, L., Ramírez-Ramírez, D., Prieto-Chávez, J. L., Pelayo, R., y Ruiz-Argüelles, A. (2019). Reporte de la Primera Reunión Nacional de Consenso para la Inmunofenotipificación de Leucemias Agudas. *Gaceta Médica de México*, 155, 20–29. <https://doi.org/10.24875/GMM.18004418>
- Bain, B. J. (2017). The Nature of Leukaemia, Cytology, Cytochemistry and the Morphological Classification of Acute Leukaemia. In *Leukaemia Diagnosis* (pp. 1–68). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119210511.ch1>
- Bain, B. J. (2017a). Acute Lymphoblastic Leukaemia and Acute Leukaemia of Ambiguous Lineage. In *Leukaemia Diagnosis* (pp. 249–294). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119210511.ch4>
- Bakker, E., Qattan, M., Mutti, L., Demonacos, C., & Krstic-Demonacos, M. (2016). The role of microenvironment and immunity in drug response in leukemia. *Biochimica et biophysica acta*, 1863(3), 414–426. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2015.08.003>
- Balali-Mood, M., Naseri, K., Tahergorabi, Z., Khazdair, M. R., & Sadeghi, M. (2021). Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic. *Frontiers in pharmacology*, 12, 643972. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.643972>
- Balandrán, J. C., Dávila-Velderrain, J., Sandoval-Cabrera, A., Zamora-Herrera, G., Terán-Cerqueda, V., García-Stivalet, L. A., Limón-Flores, J. A., Armenta-Castro, E., Rodríguez-Martínez, A., Leon-Chavez, B. A., Vallejo-Ruiz, V., Hassane, D. C., Pérez-Tapia, S. M., Ortiz-Navarrete, V., Guzman, M. L., y Pelayo, R. (2021). Patient-Derived Bone Marrow Spheroids Reveal Leukemia-Initiating Cells Supported by Mesenchymal Hypoxic Niches in Pediatric B-ALL. *Frontiers in immunology*, 12, 746492. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.746492>
- Balandrán, J. C., Vadillo, E., Dozal, D., Reyes-López, A., Sandoval-Cabrera, A., Laffont-Ortiz, M. D., Prieto-Chávez, J. L., Vilchis-Ordoñez, A., Quintela-Nuñez del Prado, H., Mayani, H., Núñez-Enríquez, J. C., Mejía-Aranguré, J. M., López-Martínez, B., Jiménez-Hernández, E., y Pelayo, R. (2016). Analysis of Normal Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Contents in Childhood Acute Leukemia Bone Marrow. *Archives of Medical Research*, 47(8), 629–643. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2016.12.004>
- Burocziava, M., Grusanovic, S., Vanickova, K., Kosanovic, S., y Alberich-Jorda, M. (2023). Chronic inflammation promotes cancer progression as a second hit. *Experimental hematology*, 128, 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2023.09.002>
- Cancer TODAY, International Agency for Research on Cancer. (2022, April 22). Globocan 2022. https://gco.iarc.who.int/today/en/data-viz/pie?mode=population&group_populations=0&age_end=3
- Castro-González, N. P., Calderón-Sánchez, F., Moreno-Rojas, R., Moreno-Ortega, A., y Tamariz-Flores, J. V. (2017). Health risks in rural populations due to heavy metals found in agricultural soils irrigated

- with wastewater in the Alto Balsas sub-basin in Tlaxcala and Puebla, Mexico. International journal of environmental health research, 27(6), 476–486. <https://doi.org/10.1080/09603123.2017.1386767>
- Charles, N. J., y Boyer, D. F. (2017). Mixed-phenotype acute leukemia: Diagnostic criteria and pitfalls. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 141(11), 1462–1468. <https://doi.org/10.5858/arpa.2017-0218-RA>
- Conahcyt, 2023. Disponible en: <chrome-extension://efaidnbmnnibp-cajpcglclefindmkaj/https://cdn.conahcyt.mx/enis/toxicologia/re-sa-atozac/inicio/descargables/informe-caa.pdf>
- Crippa, S., & Bernardo, M. E. (2018). Mesenchymal Stromal Cells: Role in the BM Niche and in the Support of Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *HemaSphere*, 2(6), e151. <https://doi.org/10.1097/HS9.0000000000000151>
- Cuéllar-Mendoza, M. E., Chávez-Sánchez, F. R., Dorantes-Acosta, E., Arsuaga-Jiménez, B. M., y Zapata-Tarrés, M. (2020). Aberrant immunophenotypes in acute lymphoblastic leukemia. In *Boletín Medico del Hospital Infantil de Mexico* (Vol. 77, Issue 6, pp. 287–292). Publicaciones Permanyer. <https://doi.org/10.24875/BMHIM.20000171>
- Dai, Q., Zhang, G., Yang, H., Wang, Y., Ye, L., Peng, L., Shi, R., Guo, S., He, J., y Jiang, Y. (2021). Clinical features and outcome of pediatric acute lymphoblastic leukemia with low peripheral blood blast cell count at diagnosis. *Medicine (United States)*, 100(4). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000024518>
- Dai, Q., Liu, R., Wang, Y., Ye, L., Peng, L., Shi, R., Guo, S., He, J., Yang, H., Zhang, G., & Jiang, Y. (2022). Longer Time Intervals From Symptom Onset to Diagnosis Affect the Overall Survival in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 44(6), 285–292. <https://doi.org/10.1097/MPH.0000000000002344>
- Del Principe, M. I., De Bellis, E., Gurnari, C., Buzzati, E., Savi, A., Consalvo, M. A. I., y Venditti, A. (2019). Applications and efficiency of flow cytometry for leukemia diagnostics. In *Expert Review of Molecular Diagnostics* (Vol. 19, Issue 12, pp. 1089–1097). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/14737159.2019.1691918>
- Den Boer, M. L., van Slegtenhorst, M., De Menezes, R. X., Cheok, M. H., Buijs-Gladdines, J. G., Peters, S. T., Van Zutven, L. J., Beverloo, H. B., Van der Spek, P. J., Escherich, G., Horstmann, M. A., Janka-Schaub, G. E., Kamps, W. A., Evans, W. E., & Pieters, R. (2009). A subtype of childhood acute lymphoblastic leukaemia with poor treatment outcome: a genome-wide classification study. *The Lancet. Oncology*, 10(2), 125–134. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(08\)70339-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(08)70339-5)
- Falini, B., Nicoletti, I., Martelli, M. F., y Mecucci, C. (2007). Acute myeloid leukemia carrying cytoplasmic/mutated nucleophosmin (NPM $_c$ + AML): biologic and clinical features. *Blood*, 109(3), 874–885. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-07-012252>

Flores-Lujano, J., Allende-López, A., Duarte-Rodríguez, D. A., Alarcón-Ruiz, E., López-Carrillo, L., Shamah-Levy, T., Cebrián, M. E., Baños-Lara, Ma. del R., Casique-Aguirre, D., Elizarrarás-Rivas, J., López-Aquino, J. A., Garrido-Hernández, M. Á., Olvera-Caraza, D., Terán-Cerqueda, V., Martínez-José, K. B., Aristil-Chery, P. M., Alvarez-Rodríguez, E., Herrera-Olivares, W., Ruiz-Arguelles, G. J., ... Núñez-Enriquez, J. C. (2024). Epidemiology of childhood acute leukemias in marginalized populations of the central-south region of Mexico: results from a population-based registry. *Frontiers in Oncology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1304263>

Frayling I. M. (2002). Methods of molecular analysis: mutation detection in solid tumours. *Molecular pathology* : MP, 55(2), 73–79. <https://doi.org/10.1136/mp.55.2.73>

Fundación IMSS. 5 minutos para saber cómo detectar el cáncer a tiempo. Disponible en línea en: <https://5minutos.fundacionimss.org.mx/>

Gardie, Y., Wassie, M., Wodajo, S., Giza, M., Ayalew, M., Sewale, Y., Feleke, Z., & Dessie, M. T. (2023). Delay in diagnosis and associated factors among children with cancer admitted at pediatric oncology ward, University of Gondar comprehensive specialized hospital, Ethiopia: a retrospective cross-sectional study. *BMC cancer*, 23(1), 469. <https://doi.org/10.1186/s12885-023-10873-8>

GLOBOCAN 2020. En: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Disponible en: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=total&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=3&nb_items=7

Gobierno del Estado de Oaxaca. Diagnóstico Región Mixteca. Plan estatal de desarrollo 2022-2028 del Gobierno del Estado de Oaxaca. Disponible en línea en: http://www.ped.oaxaca.gob.mx/ped/archivos/mixteca/_bienestar/presentaciones/DIAGN%C3%93STICO%20MIXTECA.pdf

Good, Z., Sarno, J., Jager, A., Samusik, N., Aghaeepour, N., Simonds, E. F., White, L., Lacayo, N. J., Fantl, W. J., Fazio, G., Gaipa, G., Biondi, A., Tibshirani, R., Bendall, S. C., Nolan, G. P., & Davis, K. L. (2018). Single-cell developmental classification of B cell precursor acute lymphoblastic leukemia at diagnosis reveals predictors of relapse. *Nature medicine*, 24(4), 474–483. <https://doi.org/10.1038/nm.4505>

Heim, S., y Mitelman, F. (1992). Cytogenetic analysis in the diagnosis of acute leukemia. *Cancer*, 70(6 Suppl), 1701–1709. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19920915\)70:4+](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19920915)70:4+)

Hein, K., Short, N., Jabbour, E., y Yilmaz, M. (2022). Clinical Value of Measurable Residual Disease in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood and lymphatic cancer : targets and therapy*, 12, 7–16. <https://doi.org/10.2147/BLCTT.S270134>

- Heisterkamp, N., Jenster, G., ten Hoeve, J., Zovich, D., Pattengale, P. K., & Groffen, J. (1990). Acute leukaemia in bcr/abl transgenic mice. *Nature*, 344(6263), 251–253. <https://doi.org/10.1038/344251a0>
- Hernández-Barrientos, D., Pelayo, R., & Mayani, H. (2023). The hematopoietic microenvironment: a network of niches for the development of all blood cell lineages. *Journal of leukocyte biology*, 114(5), 404–420. <https://doi.org/10.1093/jleuko/qiad075>
- IEPDS. (2016-2022). Disponible en línea: : <https://www.coneval.org.mx/EvaluacionDS/PP/IEPDS/Paginas/IEPDS-2022.aspx>
- Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME) (2021) Disponible en línea: <https://www.healthdata.org/>
- Isern, J., Martín-Antonio, B., Ghazanfari, R., Martín, A. M., López, J. A., del Toro, R., Sánchez-Aguilera, A., Arranz, L., Martín-Pérez, D., Suárez-Lledó, M., Marín, P., Van Pel, M., Fibbe, W. E., Vázquez, J., Scheding, S., Urbano-Ispizúa, Á., y Méndez-Ferrer, S. (2013). Self-renewing human bone marrow mesenspheres promote hematopoietic stem cell expansion. *Cell reports*, 3(5), 1714–1724. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.03.041>
- Jin, M. W., Xu, S. M., An, Q., y Wang, P. (2016). A review of risk factors for childhood leukemia. *European review for medical and pharmacological sciences*, 20(18), 3760–3764.
- Juárez-Avendaño, G., Luna-Silva, N. C., Chargoy-Vivaldo, E., Juárez-Martínez, L. A., Martínez-Rangel, M. N., Zárate-Ortiz, N., Martínez-Valencia, E., López-Martínez, B., Pelayo, R., y Balandrán, J. C. (2020). Poor Prognosis Biomolecular Factors Are Highly Frequent in Childhood Acute Leukemias From Oaxaca, Mexico. *Technology in cancer research and treatment*, 19, 1533033820928436. <https://doi.org/10.1177/1533033820928436>
- Juárez-Avendaño, G., Méndez-Ramírez, N., Luna-Silva, N. C., Gómez-Almaguer, D., Pelayo, R., & Balandrán, J. C. (2021). Molecular and cellular markers for measurable residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Marcadores celulares y moleculares para la enfermedad residual medible en la leucemia linfoblástica aguda*. *Boletín medico del Hospital Infantil de Mexico*, 78(3), 159–170. <https://doi.org/10.24875/BMHIM.20000155>
- Kaplan, J. A. (2019). Leukemia in children. *Pediatrics in Review*, 40(7), 319–331. <https://doi.org/10.1542/pir.2018-0192>
- Karalexi, M. A., Tagkas, C. F., Markozannes, G., Tseretopoulou, X., Hernández, A. F., Schüz, J., Halldorsson, T. I., Psaltopoulou, T., Petridou, E. T., Tzoulaki, I., & Ntzani, E. E. (2021). Exposure to pesticides and childhood leukemia risk: A systematic review and meta-analysis. *Environmental pollution* (Barking, Essex : 1987), 285, 117376. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117376>
- Khoury, J. D., Solary, E., Abla, O., Akkari, Y., Alaggio, R., Apperley, J. F., Bejar, R., Berti, E., Busque, L., Chan, J. K. C., Chen, W., Chen, X., Chng, W. J., Choi, J. K., Colmenero, I., Coupland, S. E., Cross, N. C. P., De Jong, D., Elghetany, M. T., ... Hochhaus, A. (2022). The 5th edition of

- the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. In Leukemia (Vol. 36, Issue 7, pp. 1703–1719). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01613-1>
- Kim I. S. (2020). Minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia: technical aspects and implications for clinical interpretation. *Blood research*, 55(S1), S19–S26. <https://doi.org/10.5045/br.2020.S004>
- Kruse, A., Abdel-Azim, N., Kim, H. N., Ruan, Y., Phan, V., Ogana, H., Wang, W., Lee, R., Gang, E. J., Khazal, S., y Kim, Y. M. (2020). Minimal residual disease detection in acute lymphoblastic leukemia. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 3). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms21031054>
- Kulkarni, K. P., Arora, R. S., y Marwaha, R. K. (2011). Survival outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia in India: a resource-limited perspective of more than 40 years. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 33(6), 475–479. <https://doi.org/10.1097/MPH.0b013e31820e7361>
- Lo, Y. C., Liu, Y., Kammersgaard, M., Koladiya, A., Keyes, T. J., y Davis, K. L. (2023). Single-cell technologies uncover intra-tumor heterogeneity in childhood cancers. *Seminars in immunopathology*, 45(1), 61–69. <https://doi.org/10.1007/s00281-022-00981-1>
- Malouf, C., & Ottersbach, K. (2018). Molecular processes involved in B cell acute lymphoblastic leukaemia. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 75(3), 417–446. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2620-z>
- Marcucci, G., Mrózek, K., y Bloomfield, C. D. (2005). Molecular heterogeneity and prognostic biomarkers in adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics. *Current opinion in hematology*, 12(1), 68–75. <https://doi.org/10.1097/01.moh.0000149608.29685.d1>
- Mata-Rocha, M., Rangel-López, A., Jimenez-Hernandez, E., Nuñez-Enríquez, J. C., Morales-Castillo, B. A., Sánchez-Escobar, N., Sepúlveda-Robles, O. A., Bravata-Alcántara, J. C., Nájera-Cortés, A. S., Pérez-Saldivar, M. L., Flores-Lujano, J., Duarte-Rodríguez, D. A., Oviedo de Anda, N. A., Romero Tlalolini, M. L. A., Alaez Verson, C., Martín-Trejo, J. A., Muñoz Medina, J. E., Gonzalez-Bonilla, C. R., Hernandez Cueto, M. L. A., Bekker-Méndez, V. C., ... Mejía-Aranguré, J. M. (2022). Low Prevalence of ETV6::RUNX1 Fusion Gene in a Hispanic Population. *Frontiers in pediatrics*, 10, 837656. <https://doi.org/10.3389/fped.2022.837656>
- Mora, A., García-Gamboa, M., Sánchez-Luna, M. S., Gloria-García, L., Cervantes-Avilés, P., y Mahlknecht, J. (2021). A review of the current environmental status and human health implications of one of the most polluted rivers of Mexico: The Atoyac River, Puebla. *The Science of the total environment*, 782, 146788. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146788>
- Morrison, S. J., y Scadden, D. T. (2014). The bone marrow niche for haem-

- matopoietic stem cells. *Nature*, 505(7483), 327–334. <https://doi.org/10.1038/nature12984>
- Mullighan, C. G., Goorha, S., Radtke, I., Miller, C. B., Coustan-Smith, E., Dalton, J. D., Girtman, K., Mathew, S., Ma, J., Pounds, S. B., Su, X., Pui, C. H., Relling, M. V., Evans, W. E., Shurtleff, S. A., y Downing, J. R. (2007). Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*, 446(7137), 758–764. <https://doi.org/10.1038/nature05690>
- Mullighan, C. G., Su, X., Zhang, J., Radtke, I., Phillips, L. A., Miller, C. B., Ma, J., Liu, W., Cheng, C., Schulman, B. A., Harvey, R. C., Chen, I. M., Clifford, R. J., Carroll, W. L., Reaman, G., Bowman, W. P., Devidas, M., Gerhard, D. S., Yang, W., Relling, M. V., ... Children's Oncology Group (2009). Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *The New England journal of medicine*, 360(5), 470–480. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808253>
- Muñoz-Aguirre, P., Huerta-Gutiérrez, R., Zamora, S., Mohar, A., Vega-Vega, L., Hernández-Ávila, J. E., Morales-Carmona, E., Zapata-Tarres, M., Bautista-Arredondo, S., Perez-Cuevas, R., Rivera-Luna, R., Reich, M. R., y Lajous, M. (2021). Acute Lymphoblastic Leukemia Survival in Children Covered by Seguro Popular in Mexico: A National Comprehensive Analysis 2005–2017. *Health systems and reform*, 7(1), e1914897. <https://doi.org/10.1080/23288604.2021.1914897>
- Nematollahi, P., Arabi, S., Mansourian, M., Yousefian, S., Moafi, A., Mostafavi, S. N., Naeini, A. A., Ebrahimi, A., Ebrahimpour, K., Amin, M. M., Kavosh, A., Radfar, N., Naimi, A., y Kelishadi, R. (2023). Environmental Risk Factors for Pediatric Acute Leukemia: Methodology and Early Findings. *International journal of preventive medicine*, 14, 103. https://doi.org/10.4103/ijpvm.ijpvm_348_22
- Núñez-Enríquez, J. C., Gil-Hernández, A. E., Jiménez-Hernández, E., Fajardo-Gutiérrez, A., Medina-Sansón, A., Flores-Lujano, J., Espinosa-Hernández, L. E., Duarte-Rodríguez, D. A., Amador-Sánchez, R., Peñaloza-González, J. G., Torres-Nava, J. R., Espinosa-Elizondo, R. M., Flores-Villegas, L. V., Merino-Pasaye, L. E., Pérez-Saldivar, M. L., Dorantes-Acosta, E. M., Cortés-Herrera, B., Solís-Labastida, K. A., Núñez-Villegas, N. N., Velázquez-Aviña, M. M., ... Mejía-Aranguré, J. M. (2019). Overweight and obesity as predictors of early mortality in Mexican children with acute lymphoblastic leukemia: a multicenter cohort study. *BMC cancer*, 19(1), 708. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5878-8>
- Núñez-Enríquez, J. C., Romo-Rodríguez, R., Gaspar-Mendoza, P., Zamora-Herrera, G., Torres-Pineda, L., Amador-Cardoso, J., López-Blanco, J. A., Alfaro-Hernández, L., López-García, L., Rosas-Cruz, A., Alberto-Aguilar, D. R., Trejo-Pichardo, C. O., Ramírez-Ramírez, D., Cruz-Maza, A., Flores-Lujano, J., Luna-Silva, N., Martínez-Martell, A., Martínez-Jose, K., Ramírez-Ramírez, A., ... Pelayo, R. (2024). Implementation of a roadmap for the comprehensive diagnosis, fo-

- llow-up, and research of childhood leukemias in vulnerable regions of Mexico: results from the PRONAI Strategy. *Frontiers in Oncology*, 14, 1304690. <https://doi.org/10.3389/FONC.2024.1304690> BIBTEX
- OPS. Diagnóstico precoz del cáncer infantil. Disponible en línea en: <https://www.paho.org/es/campanas/diagnostico-precoz-cancer-infantil>
- Orfao, A., Matarraz, S., Pérez-Andrés, M., Almeida, J., Teodosio, C., Borkowska, M. A., y van Dongen, J. J. M. (2019). Immunophenotypic dissection of normal hematopoiesis. In *Journal of Immunological Methods* (Vol. 475). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2019.112684>
- Othus, M., Wood, B. L., Stirewalt, D. L., Estey, E. H., Petersdorf, S. H., Appelbaum, F. R., Erba, H. P., & Walter, R. B. (2016). Effect of measurable ('minimal') residual disease (MRD) information on prediction of relapse and survival in adult acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 30(10), 2080–2083. <https://doi.org/10.1038/leu.2016.120>
- Pérez Castresana G., Tamariz Flores V., López Reyes L., Hernández Aldana F., Castelán Vega R., Morán Perales J.L., García Suastegui W.A., Díaz Fonseca A., Handal Silva A. (2018). Atoyac River Pollution in the Metropolitan Area of Puebla, México. *Water*, 10(3):267. <https://doi.org/10.3390/w10030267>
- Pérez Castresana G., Castañeda Roldán E., García Suastegui W.A., Morán Perales J.L., Cruz Montalvo A., Handal Silva A. (2019). Evaluation of Health Risks Due to Heavy Metals in a Rural Population Exposed to Atoyac River Pollution in Puebla, Mexico. *Water*, 11(2):277. <https://doi.org/10.3390/w11020277>
- Prieto, C., López-Millán, B., Roca-Ho, H., Stam, R. W., Romero-Moya, D., Rodríguez-Baena, F. J., Sanjuan-Pla, A., Ayllón, V., Ramírez, M., Bordini, M., De Lorenzo, P., Valsecchi, M. G., Stanulla, M., Iglesias, M., Ballerini, P., Carcaboso, M., Mora, J., Locatelli, F., Bertaina, A., ... Menéndez, P. (2018). NG2 antigen is involved in leukemia invasiveness and central nervous system infiltration in MLL-rearranged infant B-ALL. *Leukemia*, 32(3), 633–644. <https://doi.org/10.1038/leu.2017.294>
- Purizaca, J., Meza, I., & Pelayo, R. (2012). Early lymphoid development and microenvironmental cues in B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Archives of medical research*, 43(2), 89–101. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2012.03.005>
- Raaschou-Nielsen, O., Hvidtfeldt, U. A., Roswall, N., Hertel, O., Poulsen, A. H., y Sørensen, M. (2018). Ambient benzene at the residence and risk for subtypes of childhood leukemia, lymphoma and CNS tumor. *International journal of cancer*, 143(6), 1367–1373. <https://doi.org/10.1002/ijc.31421>
- RCNA, 2019. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/632369/RNCA_2019.pdf
- Rani, A., Kumar, A., Lal, A., y Pant, M. (2014). Cellular mechanisms of cadmium-induced toxicity: a review. *International journal of envi-*

- ronmental health research, 24(4), 378–399. <https://doi.org/10.1080/09603123.2013.835032>
- Ren, H. M., Liao, M. Q., Tan, S. X., Cheng, C., Zhu, S., Zheng, L., Ma, J. R., Mu, Y. J., Li, W. L., Zhang, S. W., OuYang, R. Q., Li, S. N., Cui, Y. F., Ke, X. Y., Luo, Z. Y., Xiong, P., Liu, J., Li, L. P., Liang, X. F., ... Han, L. Y. (2022). Global, Regional, and National Burden of Cancer in Children Younger Than 5 Years, 1990–2019: Analysis of the Global Burden of Disease Study 2019. *Frontiers in Public Health*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.910641>
- Rivera-Luna, R., Perez-Vera, P., Galvan-Diaz, C., Velasco-Hidalgo, L., Olaya-Vargas, A., Cardenas-Cardos, R., Aguilar-Ortiz, M., y Ponce-Cruz, J. (2022). Triple-hit explanation for the worse prognosis of pediatric acute lymphoblastic leukemia among Mexican and Hispanic children. *Frontiers in oncology*, 12, 1072811. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1072811>
- Rivera-Luna, R., Shalkow-Klincovstein, J., Velasco-Hidalgo, L., Cárdenas-Cardos, R., Zapata-Tarrés, M., Olaya-Vargas, A., Aguilar-Ortiz, M. R., Altamirano-Alvarez, E., Correa-Gonzalez, C., Sánchez-Zubieta, F., y Pantoja-Guillen, F. (2014). Descriptive Epidemiology in Mexican children with cancer under an open national public health insurance program. *BMC cancer*, 14, 790. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-790>
- Rivera-Luna, R., Zapata-Tarres, M., Shalkow-Klincovstein, J., Velasco-Hidalgo, L., Olaya-Vargas, A., Finkelstein-Mizrahi, N., Cárdenas-Cardos, R., y Aguilar-Ortiz, M. R. (2017). The burden of childhood cancer in Mexico: Implications for low- and middle-income countries. In *Pediatric Blood and Cancer* (Vol. 64, Issue 6). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/pbc.26366>
- Robinson, J. P. (2022). Flow cytometry: past and future. In *BioTechniques* (Vol. 72, Issue 4, pp. 159–169). Future Science Ltd. <https://doi.org/10.2144/btn-2022-0005>
- Rodríguez, A., Zhang, K., Färkkilä, A., Filiatrault, J., Yang, C., Velázquez, M., Furutani, E., Goldman, D. C., García de Teresa, B., Garza-Mayén, G., McQueen, K., Sambel, L. A., Molina, B., Torres, L., González, M., Vadillo, E., Pelayo, R., Fleming, W. H., Grompe, M., Shimamura, A., ... D'Andrea, A. D. (2021). MYC Promotes Bone Marrow Stem Cell Dysfunction in Fanconi Anemia. *Cell stem cell*, 28(1), 33–47.e8. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.09.004>
- Romo-Rodríguez, R., Zamora-Herrera, G., López-Blanco, J. A., López-García, L., Rosas-Cruz, A., Alfaro-Hernández, L., Trejo-Pichardo, C. O., Alberto-Aguilar, D. R., Casique-Aguirre, D., Vilchis-Ordoñez, A., Solis-Poblano, J. C., García-Stivalet, L. A., Terán-Cerqueda, V., Luna-Silva, N. C., Garrido-Hernández, M. Á., Cano-Cuapio, L. S., Ayala-Contreras, K., Domínguez, F., del Campo-Martínez, M. de los Á., ... Pelayo, R. (2024). Subclassification of B-acute lymphoblastic leukemia according to age, immunophenotype and microenvironment, predicts MRD risk in Mexican children from vulnera-

- ble regions. *Frontiers in Oncology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1304662>
- Schnittger, S., Schoch, C., Kern, W., Mecucci, C., Tschulik, C., Martelli, M. F., Haferlach, T., Hiddemann, W., y Falini, B. (2005). Nucleophosmin gene mutations are predictors of favorable prognosis in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *Blood*, 106(12), 3733–3739. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-06-2248>
- Seftland, Ø., Gullaksen, S. E., Omsland, M., Reikvam, H., Galteland, E., Tran, H. T. T., Spetalen, S., Singh, S. K., Van Zeeburg, H. J. T., Van De Loosdrecht, A. A., Gjertsen, B. T. (2024). Mass cytometric single cell immune profiles of peripheral blood from acute myeloid leukemia patients in complete remission with measurable residual disease. *Cytometry. Part B, Clinical cytometry*, 10.1002/cyto.b.22197. Advance online publication. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.22197>
- Shaver, A. C., y Seegmiller, A. C. (2017). B Lymphoblastic Leukemia Minimal Residual Disease Assessment by Flow Cytometric Analysis. In *Clinics in Laboratory Medicine* (Vol. 37, Issue 4, pp. 771–785). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2017.07.005>
- Snyder R. (2012). Leukemia and benzene. *International journal of environmental research and public health*, 9(8), 2875–2893. <https://doi.org/10.3390/ijerph9082875>
- Teitell, M. A., y Pandolfi, P. P. (2009). Molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. *Annual review of pathology*, 4, 175–198. <https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.4.110807.092227>
- Terwilliger, T., y Abdul-Hay, M. (2017). Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood Cancer Journal*, 7(6), e577. <https://doi.org/10.1038/bcj.2017.53>
- Van Dongen, J. J. M., Lhermitte, L., Böttcher, S., Almeida, J., Van Der Velden, V. H. J., Flores-Montero, J., Rawstron, A., Asnafi, V., Lécrevisse, Q., Lucio, P., Mejstrikova, E., Szczepaski, T., Kalina, T., De Tute, R., Brüggemann, M., Sedek, L., Cullen, M., Langerak, A. W., Mendonça, A., ... Orfao, A. (2012). EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia*, 26(9), 1908–1975. <https://doi.org/10.1038/leu.2012.120>
- Vilchis-Ordoñez, A., Ramírez-Ramírez, D., Pelayo, R. (2021). The triad inflammation-microenvironment-tumor initiating cells in leukemia progression. *Current Opinion in Physiology*, 19, 211-218. <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2020.10.010>
- Ward, E., DeSantis, C., Robbins, A., Kohler, B., y Jemal, A. (2014). Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. *CA: a cancer journal for clinicians*, 64(2), 83–103. <https://doi.org/10.3322/caac.21219>
- Williams, R. D., Boros, L. G., Kolanko, C. J., Jackman, S. M., y Eggers, T. R. (2004). Chromosomal aberrations in human lymphocytes exposed to the anticholinesterase pesticide isofenphos with mechanisms of leukemogenesis. *Leukemia research*, 28(9), 947–958. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2003.12.014>

- Yuan, J., Li, X., & Yu, S. (2023). Cancer organoid co-culture model system: Novel approach to guide precision medicine. *Frontiers in immunology*, 13, 1061388. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1061388>
- Zapata-Tarrés, M., Carlos Balandrán, J., Rivera-Luna, R., y Pelayo, R. (2021). Childhood Acute Leukemias in Developing Nations: Successes and Challenges. *Current Oncology Reports*, 23–56. <https://doi.org/10.1007/s11912-021-01043-9> Published

Capítulo 5

Armonización del reporte del inmunofenotipo: estrategia colaborativa para el acceso equitativo



Lourdes Andrea Arriaga Pizano,
Gina Martínez Flisser,
Jessica Lakshmi Prieto Chávez,
Laura Cecilia Zárraga Vargas,
Beatriz Pérez Romano

INTRODUCCIÓN

La leucemia es una de las formas más frecuentes de cáncer en la infancia y la adolescencia, de hecho, representa el 29% de todos los casos de cáncer en menores de 20 años. En México, así como en el resto del mundo, el subtipo de leucemia más frecuente es la leucemia linfooblástica aguda (LLA), seguida de la leucemia mieloide aguda (LMA) (Moreira y cols., 2023). En este tipo de leucemias, las células que se transforman (células leucémicas) son las células progenitoras hematopoyéticas, que son las responsables de dar origen a los diferentes linajes celulares que conforman el sistema hematopoyético. De forma que, dependiendo del tipo de linaje celular al que pertenezca la célula transformada (linaje linfoide o mieloide), será el subtipo de leucemia.

Estas poblaciones de células precursoras, conocidas como blastos, normalmente sólo se encuentran en la médula ósea. Dependiendo de su perfil fenotípico, como lo es la presencia o ausencia de determinadas proteínas, se puede determinar si es un precursor temprano o tardío (estadio de diferenciación), así como al tipo de linaje celular al que pueden diferenciarse, pudiendo distinguir si son células que darán origen a los eritrocitos, linfocitos, monocitos y granulocitos (Boris y cols., 2024; Di Giuseppe & Wood, 2019; Weinberg y cols., 2023; Wood, 2022).

Si al evaluar una muestra de médula ósea de una persona encontramos que los blastos representan más del 20% de las células observadas, que tienen características morfológicas que no corresponden a lo reportado como normal por la literatura o si estos se encuentran fuera de la médula ósea, como es en la sangre circulante, el sistema nervioso central o los testículos, se puede sospechar de una leucemia, por lo que será necesario profundizar el análisis de estas células a fin de lograr un diagnóstico diferencial (Li, 2022).

Una de las estrategias más utilizadas consiste en analizar si los blastos presentan o no ciertas proteínas, procedimiento conocido como evaluación del inmunofenotipo o inmunofe-

notipificación. Estas proteínas funcionan como marcadores o etiquetas, que permiten al personal de laboratorio y médicos identificar no solo el tipo de célula, sino también en qué etapa de maduración se encuentran los blastos. Es decir, la combinación de estos marcadores presentes o ausentes funciona como una especie de credencial celular que le da una identidad precisa a los blastos y que, al compararla con lo reportado en la literatura, los especialistas pueden determinar si ese blasto es sano o no (blasto leucémico), así como si aún con inmunofenotipo normal, el número de estos blastos es el que debe de ser (Boris y cols., 2024; DiGiuseppe & Wood, 2019; Weinberg y cols., 2023; Wood, 2022).

La información del inmunofenotipo, sumada con otras características de los blastos (número y morfología evaluada por microscopio, por ejemplo), permite a los médicos estimar qué tan agresiva será la leucemia y así clasificar a los pacientes en grupos con diferente nivel de riesgo y pronóstico inicial. Esta clasificación se ajusta con mayor precisión durante el seguimiento de la respuesta al tratamiento, que es donde se evalúa si los blastos leucémicos son afectados o eliminados por las intervenciones terapéuticas. Orientando así las decisiones médico-terapéuticas con el objetivo de alcanzar el mejor resultado posible para la persona paciente (Li, 2022).

En la actualidad, si los pacientes son diagnosticados y tratados de forma oportuna mediante una estrategia terapéutica adecuada al tipo de leucemia, se puede lograr que el 90% de las y los niños sobrevivan a los 5 años después del diagnóstico. Desafortunadamente, en México se han reportado tasas de supervivencia generales (SG) a 5 años del 67% para la LLA de células B, del 54% para la LLA de células T y con tasas incluso mucho menores para la LMA (Moreira y cols., 2023).

Conocer el tipo y subtipo de leucemia es fundamental para poder dar seguimiento a la respuesta del paciente al tratamiento. Si bien el objetivo del tratamiento es acabar con los blastos leucémicos afectando lo menos posible a los normales, esto es a veces complicado, pues los fármacos emplea-

dos son desafortunadamente muy tóxicos. Por lo tanto, el mayor desafío al tratar a las leucemias y lograr altas tasas de sobrevida, es lograr el equilibrio entre administrar la terapia más adecuada en tipo, cantidad y tiempo para eliminar por completo a los blastos leucémicos sin darles oportunidad de sobrevivir, pero sin afectar en demasía a los blastos sanos del paciente. Actualmente, la detección y cuantificación de los blastos leucémicos que sobreviven en la médula ósea durante y después del tratamiento (conocida como Enfermedad Mediante Residual, EMR), es una estrategia que ha permitido a los médicos conocer si el tratamiento está funcionando pero sobre todo les permite calcular la probabilidad de que los blastos leucémicos puedan volver a ser la población dominante en la médula ósea, es decir la probabilidad de que el paciente presente una recaída (Szczepański y cols., 2001).

En la actualidad, conocer el inmunofenotipo de las células leucémicas es importante para poder implementar nuevos abordajes terapéuticos, como son las inmunoterapias que incluyen a las llamadas células CAR-T (del inglés Chimeric Antigen Receptor T-Cell) y que son terapias muy alentadoras, sobre todo para pacientes que, tras recibir los tratamientos habituales como la quimioterapia, siguen presentando células leucémicas y que se consideraban casos perdidos (Pui, 2020).

De forma tal que, en las leucemias, hacer un diagnóstico de precisión es muy importante para implementar el tratamiento y con ello poder mejorar las posibilidades de supervivencia de los pacientes. Siendo esto último uno de los retos más importantes para países en desarrollo como México, dadas las disparidades que tenemos de acceso a la atención en salud (Hunger & Mullighan, 2015) y que resaltan la necesidad de estrategias colaborativas (multi, inter y/o transdisciplinarias) que aborden estas inequidades (Haileamlak, 2016).

¿QUÉ ES EL INMUNOFENOTIPO?

Es el nombre acuñado a la técnica o metodología que se utiliza para poder buscar en las células, de forma individual, la presencia

o ausencia de los marcadores que nos permiten identificarlas y clasificarlas como normales o anormales. Inmunofenotipo es una palabra compuesta que se refiere a una reacción inmunológica, donde las células son expuestas a anticuerpos, los cuales reconocen a los marcadores específicos o determinantes antigenicos. Los anticuerpos son moléculas que producen las células del sistema inmunológico para poder defendernos, por ejemplo, cuando nos infectamos con algún microorganismo. Pero también el sistema de defensa puede generar estos anticuerpos contra cualquier molécula que le resulte extraña. Además de que tienen la particularidad de ser específicos, característica que es aprovechada en investigación para montar sistemas de ensayo en los que se puedan reconocer a las moléculas que usamos como marcadores celulares. A la expresión de marcadores celulares o proteínas antigenicas en conjunto, las cuales son el resultado de la transcripción del genotipo, se le denomina fenotipo, de manera que al utilizar la reacción inmunológica de antígeno-anticuerpo para establecer el fenotipo de las células se le llama inmunofenotipo o tipificación inmunológica. El análisis del inmunofenotipo se puede hacer por microscopía mediante inmunohistoquímica, sin embargo, el análisis a través de citometría de flujo es más sensible, debido a que permite analizar múltiples marcadores en miles a millones de células en unos cuantos segundos, todas interrogadas de forma individual (Viall, 2020). Así, mediante la inmunofenotipificación por citometría podemos realizar un análisis celular multiparamétrico de forma rápida, sensible y específica, como se exemplifica en la **figura 5.1**.

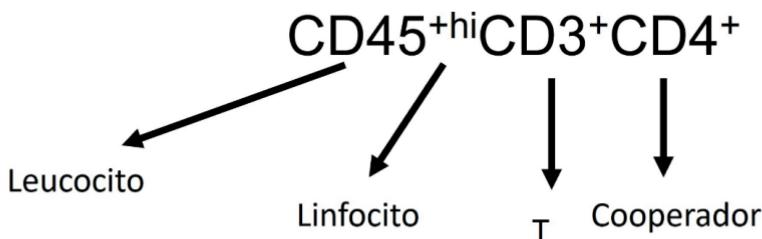


Figura 5.1. Ejemplo del reporte de inmunofenotipo con tres marcadores para un subtipo de leucocitos. (Elaboración de las autoras).

ASPECTOS GENERALES DE LA CITOMETRÍA

La citometría es una herramienta esencial en el ámbito de la biomedicina que nos permite evaluar, rápidamente y de manera objetiva, múltiples características de partículas individuales, como pueden ser las células en suspensión. Una de sus ventajas más importantes, es que con esta técnica podemos realizar el análisis de un gran número de células en muy poco tiempo, llegando a obtener fácilmente la información de hasta 10,000 células por segundo, es por ello que podemos llegar a visualizar la información de múltiples células en muy poco tiempo.

El principio en el que se basa la citometría es analizar la interacción de las partículas en suspensión con fuentes de luz, al hacerlas pasar alineadas y de una en una por delante de esta fuente luminosa. Los detectores capturan las señales luminosas correspondientes a diferentes características celulares, como tamaño, complejidad de las células o partículas y la presencia de marcadores específicos, que identificamos mediante fluorescencias. Los datos obtenidos se procesan para generar histogramas y gráficos de dispersión de puntos que permiten identificar, caracterizar y cuantificar subpoblaciones celulares (Adan y cols., 2017). Esto en conjunto se puede lograr gracias a los tres diferentes subsistemas que componen a todos los citómetros de flujo; sistema de fluidos, óptico y electrónico.

El sistema de fluidos; que permite el transporte de las células o partículas, las cuales viajan alineadas una a una y sin tocarse, lo cual se genera mediante un flujo laminar o bien a través de alineación por ondas acústicas, de manera que estas puedan ser interrogadas de forma individual, como si fuera una encuesta. Así, cuando llegan al punto donde serán “encuestadas”, que se conoce como punto de interrogación, podrán interactuar con una o varias fuentes de luz que nos permitirán saber más sobre ellas. El punto de interrogación es donde el sistema de direccionamiento se encuentra con el siguiente subsistema: el sistema óptico (Adan y cols., 2017).

El sistema óptico se compone de las fuentes luminosas, que generalmente son láseres de diferentes longitudes de onda, así como los lentes y filtros ópticos que reflejan y filtran los fotones de luz dispersados en la celda o punto de interrogación, dependiendo de su número de longitud de onda, a este sistema de fuente de luz, filtros y espejos en conjunto, se le conoce como configuración óptica del sistema o mesa óptica. La mesa óptica es la que determina las longitudes de onda que podemos analizar en ese citómetro dado. Actualmente, existen dos tipos principales de diseños de mesa óptica en citometría; el más comúnmente usado se conoce como convencional, en el que se filtran sólo los puntos máximos de emisión de las fluorescencias a analizar. Por otro lado, contamos también con la citometría espectral, en la cual se captura la fluorescencia en todo el espectro de luz del fluorocromo, lo que permite utilizar al mismo tiempo fluorocromos que por citometría convencional no seríamos capaces de diferenciar, aumentando de esta manera el número de parámetros que podemos analizar a la vez (Nolan & Condello, 2013).

Finalmente, el sistema electrónico se encarga de captar, amplificar y convertir los fotones, provenientes de las señales luminosas, en señales electrónicas equivalentes, es decir, en datos numéricos. Se guarda al menos un número por cada detector para cada célula analizada, lo que se almacena en una base de datos en un formato conocido como Listmode data (LMD) en el orden en el que se fueron generando, por evento y por detector (Leary, 2001). Esta base de datos, junto con más información sobre nuestras muestras y el citómetro en el que trabajamos, se integra en un archivo conocido como "fcs", por sus siglas en inglés *Flow Cytometry Standard* (Seamer, 2001). Los eventos capturados en este archivo con la extensión .fcs se pueden desplegar en distintos tipos de gráficos, como histogramas, gráficas de puntos o gráficas de reducción de dimensionalidad, donde se podrá visualizar la información agrupada de acuerdo con su similitud en cuanto a los patrones de expresión de sus marcadores.

Cada célula que pasa por el láser se analiza en términos de la luz que desvía al ser incidida por el rayo láser y la fluorescencia que emite. La desviación de la luz sucede cuando la célula o partícula interrumpe el paso del láser que la va a interrogar; la luz desviada puede ser captada por dos detectores dedicados para ello: el detector de dispersión frontal (FSC, por sus siglas en inglés *"forward scatter"*) y el detector de dispersión lateral (SSC, por sus siglas en inglés *"side scatter"*), como se muestra en la **figura 5.2**. El tamaño de las células es proporcional a la desviación que ocasionan al pasar frente al láser, lo que se identifica en el detector FSC, por lo que esta señal es la que asociamos al tamaño relativo de la célula. Por otro lado, todos los componentes internos de la célula, así como su irregularidad, hacen que la luz se desvíe o disperse en múltiples direcciones. De forma tal, que la luz colectada en un ángulo de 90° respecto al haz láser (también conocida como dispersión de luz lateral) es proporcional a la complejidad o granularidad de la célula y se mide en el detector de SSC. Como ya mencionamos, estas no son medidas cuantitativas, ya que no podemos saber directamente con las determinaciones de desviación de la luz cuántos micrómetros exactamente mide una célula, pero sí podemos saber relativamente cuando una célula es más grande o pequeña que otra o más o menos compleja que otra (Adan y cols., 2017).

Además de determinar el tamaño y la complejidad relativas de las células, por citometría de flujo podemos determinar su fluorescencia natural o añadida en el laboratorio. Para esto, nos valemos del uso de fluorocromos, que son moléculas que pueden encontrarse en la naturaleza, como en microorganismos, algas, plantas y animales, o que se pueden generar de forma sintética en un laboratorio. Lo que hace particulares a estas moléculas es que tienen la capacidad de absorber energía, en forma de luz, a una longitud de onda específica; casi inmediatamente la liberan, a una longitud de onda mayor y, por lo tanto, de menor energía, momento en el que emiten la luz fluorescente.

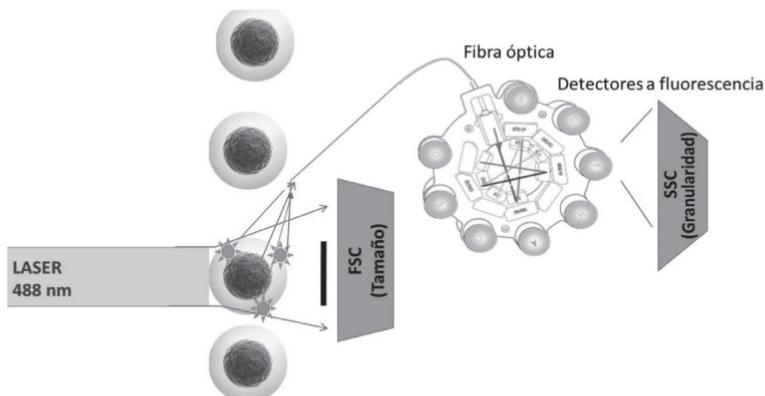


Figura 5.2. Evaluación de células mediante citometría convencional (Elaboración de las autoras).

Los fluorocromos pueden encontrarse de forma natural en las células que estemos analizando, pero también se pueden unir químicamente a proteínas o anticuerpos monoclonales, que identifican específicamente a moléculas en nuestras células (Holmes y cols., 2001). Cuando las células marcadas o "teñidas" con estos anticuerpos fluorocromados pasan por los láseres en el citómetro, los fluorocromos se excitan absorbiendo la energía proveniente del láser y emiten luz fluorescente. Como se muestra en la Figura 2, la configuración de la mesa óptica nos permite medir varios parámetros o señales antigenicas a la vez, lo que, en la práctica quiere decir, medición de varias fluorescencias en forma simultánea. Si asignamos una fluorescencia por anticuerpo, en un citómetro con capacidad para detectar ocho fluorescencias, podremos rastrear hasta ocho marcadores diferentes ya que acoplamos una fluorescencia para cada anticuerpo.

MARCADORES Y PANELES EN EL DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA

Para poder identificar diferentes subtipos celulares, en función de la expresión de moléculas de superficie o intracelular

lares, se emplean anticuerpos monoclonales que las pueden reconocer de forma inequívoca. Sin embargo, dado que hay muchas moléculas que reconocer, también hay una cantidad muy variada de anticuerpos. Para evitar confusiones y poderles dar un seguimiento más certero, en 1984 se desarrolló un protocolo en el llamado Taller sobre antígenos de diferenciación de leucocitos humanos (*Human Leukocyte Differentiation Antigens, [HDL] Workshop*, por sus siglas en inglés), que estableció una nomenclatura para cada uno de los antígenos que son reconocidos específicamente por diferentes anticuerpos monoclonales (Bernard & Boumsell, 1984). Estos antígenos se denominan clústeres de diferenciación, también conocidos como marcadores CD. Esta estrategia de reconocimiento leucocitario se amplió a varios tipos celulares, de manera que actualmente se han reconocido cerca de 400 CD en células humanas (Engel y cols., 2015).

Hoy en día podemos identificar y caracterizar a las diferentes células gracias a la expresión de estos CD, y sus inmunofenotipos nos permiten tener información respecto a qué tipo de células son, en qué estado de maduración están, en qué condiciones de activación se encuentran y si están funcionando correctamente, o si presentan algún patrón de expresión atípico del tipo celular que pueda sugerir la presencia de alguna patología.

En citometría utilizamos anticuerpos fluorocromados para identificar a los CD en los distintos espacios celulares. En el ámbito clínico, estos anticuerpos monoclonales fluorocromados deben de cumplir ciertas funciones, por ejemplo: permitir la identificación de diferentes linajes celulares, que nos ayuden a distinguir entre linfocitos y células mieloides; identificar si las células son maduras o no, lo cual es crucial para determinar el estadio de diferenciación en el que se encuentran las células sanguíneas; detectar si las células son normales o no, de forma que permita diferenciar entre células sanas y células leucémicas; así como guiar y monitorear el tratamiento de la leucemia (Davis y cols., 2007).

La forma y número en que agrupamos los anticuerpos fluorocromados para que estos nos permitan identificar y caracterizar los distintos linajes celulares, se denomina “paneles” de anticuerpos, que van a variar en el número y tipo de CD que pueden detectar y, por lo tanto, en número de conjugados anticuerpo-fluorocromo. En el caso de los paneles para inmunofenotipo de leucemia, comparten ciertos CD

que permiten distinguir el grado de inmadurez de las células, empleando; CD34, CD38 y CD45; o bien diferenciar el tipo de linaje celular, por ejemplo, marcadores como CD19, CD20, CD22, CD79a, clgM, TdT, CD10 para el caso de las células B; CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, para el caso de las células T; CD13, CD14, cMPO para las células mieloides, o más precisos como CD235a para los eritrocitos (Wangen y cols., 2014) o CD61, CD41, y CD2 para los megacarioblastos (Craig & Foon, 2008).

Actualmente la mayoría de los paneles incluyen CD nombrados como marcadores de fenotipo asociado a leucemia (LAP, del inglés leukemia-associated phenotype). Por ejemplo, para el caso de las LLA de linaje B, el subtipo de leucemia más frecuente en niños, estos LAP incluyen los marcadores CD9, CD21, CD66c, CD58, CD81, CD123, CD304, NG2 entre otros factores que suelen evaluarse para la monitorización de la leucemia durante el tratamiento. El seguimiento de este inmunofenotipo permite la detección de células leucémicas después de iniciado y concluido el tratamiento, siendo muy útiles para la detección temprana de la recaída, lo que se conoce como enfermedad medible residual (EMR) (Della Starza y cols., 2019; Koh y cols., 2010; Kruse y cols., 2020).

Algunos LAP, así como otros CD se asocian con mutaciones genéticas específicas (Hrusak & Porwit-MacDonald, 2002). Por ejemplo, la baja expresión de CD9 y CD81 en células con translocación t(9;22) y contrasta con su mayor expresión en células con translocación t(1;19). La hiperdiploidía se relaciona con la expresión de CD123 y CD66c, mientras que la expresión de NG2 se asocia con rearreglos en el gen KMT2A (Boris y cols., 2024; Emerenciano y cols., 2011; López-Millan

y cols., 2019), lo que a su vez se ha relacionado con la falta de expresión del antígeno TdT (Klairmont y cols., 2021), que, si bien no forma parte de los LAP, si es un CD muy empleado en los paneles de inmunofenotipificación de leucemias pues permite distinguir entre leucemias y linfomas.

Como podemos ver, los avances en la identificación de marcadores mediante paneles analizados por citometría de flujo han transformado el diagnóstico de la leucemia. La continua investigación y desarrollo en este campo promete seguir aportando mejoras significativas en el manejo y seguimiento de estas enfermedades.

IMPORTANCIA DEL CONTROL DE CALIDAD Y CONSENSOS

La incorporación del inmunofenotipo por citometría de flujo como herramienta clínica para el diagnóstico diferencial de patologías hematológicas requirió de un enfoque riguroso para garantizar la precisión y confiabilidad de los resultados.

Al inicio del uso de la citometría se aplicaron los criterios del control de calidad empleados en el laboratorio clínico general, para el análisis de las moléculas o antígenos en suspensión, sin embargo, al ser técnicas con principios muy diferentes, fue menester reconsiderar dichos criterios de evaluación.

De modo que, en primer lugar, empleando las buenas prácticas de laboratorio, se establecieron recomendaciones para la toma, transporte y procesamiento de las muestras a fin de asegurar su integridad y calidad para su posterior análisis (fase preanalítica). De forma simultánea, se dio paso a la selección de los CD que conforman un panel para la inmunofenotipificación de leucemias, inicialmente de acuerdo con el conocimiento y criterio de cada investigador, quienes publicaban sus hallazgos y posteriormente surgieron laboratorios enfocados en el diseño de paneles estandarizados y validados, a fin de lograr una mayor precisión, reproducibilidad y comparabilidad de los resultados obtenidos por los diferentes laboratorios

clínicos. Adicionalmente, ante la gran variedad de citómetros en el mercado fue necesario establecer, lineamientos para la preparación del citómetro de flujo, la adquisición de las muestras (fase analítica) y el análisis de datos incluyendo guías o recomendaciones para el análisis de datos obtenidos y la forma de reporte de los resultados obtenidos (fase posanalítica), (Shapiro y cols., 1983), como se describe en la **figura 5.3**.

Así pues, el instituto de estándares para el laboratorio clínico (CLSI) ha emitido guías como la H43-A2, para la realización del análisis clínico en células neoplásicas, mediante citometría de flujo, y la guía H62 para la validación de los ensayos realizados mediante citometría de flujo (*Clinical & Laboratory Standards Institute: CLSI Guidelines.*, s.f.); seguir estas guías técnicas nos permite obtener resultados confiables, que brindan información comparable, que utilizan la nomenclatura correcta y por lo tanto darán información veraz y oportuna al médico tratante de pacientes con leucemia.

Técnicamente y dependiendo el país que se trate, existen sistemas de certificación y acreditación de los laboratorios y los métodos empleados, respectivamente, para alcanzar dichas distinciones se debe cumplir con la implementación de sistemas de evaluación externa de la calidad. Debido a que dichas evaluaciones son costosas y escasas, se puede iniciar con la realización de evaluación interlaboratorio.

Las pautas a seguir en el laboratorio de citometría para el diagnóstico clínico suelen ser discutidas por grupos profesionales interesados en el tema, como sociedades de citometristas y diversas organizaciones nacionales y extranjeras relacionadas con el diagnóstico de las leucemias así como también la presentación y discusión en diversos foros y encuentros periódicos, lo que han permitido la actualización de estas recomendaciones y alcanzar consensos, todo ello ante la necesidad constante de actualizaciones, producto del incremento de las capacidades de los citómetros para analizar cada vez más fluorescencias y por tanto el crecimiento de los paneles, así como por la creación y disponibilidad de nuevos programas y estrategias para el análisis.

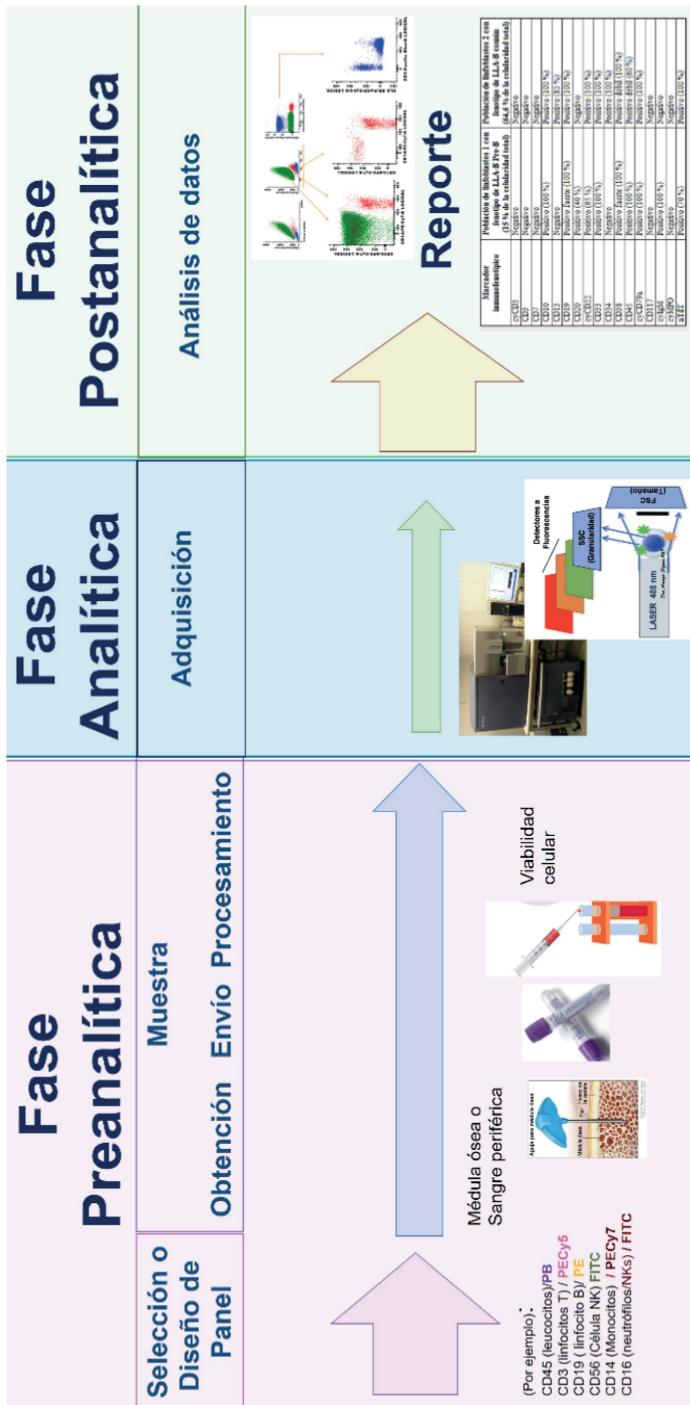


Figura 5.3. Flujo de trabajo en citometría para immunofenotípico (Elaboración de las autoras).

Entre los consensos que son referentes en la actualización de estas recomendaciones se encuentran los realizados en BETHESDA (Stetler-Stevenson y cols., 2007), los de la Organización Mundial de la Salud (Swerdlow SH, 2017), el *European LeukemiaNet* (Bene y cols., 2011), el grupo AIEOP-BFM (Dworzak y cols., 2018), el consorcio Euroflow. (van Dongen y cols., 2012), entre otros.

En México se han realizado varios esfuerzos entre los grupos que realizan inmunofenotipo por citometría para la tipificación de leucemia, algunos en coordinación con los grupos especializados, como la Asociación Mexicana del Estudio de la Hematología (AMEH), Academia Nacional de Medicina (ANM), Asociación Mexicana de Hemato-Oncología Pediátrica (AMHOP), la Sociedad Mexicana de Inmunología (SMI). En cuanto a consensos a nivel latinoamericanos y/o nacional se han realizado tres reuniones y publicado sus reportes, habiendo ocurrido el más reciente en 2019 (Arriaga-Pizano y cols., 2019). Diferentes grupos y proyectos han continuado trabajando con la revisión sistemática de diferentes aspectos, primordialmente de la fase pre analítica y postanalítica. Entre estos grupos de análisis y discusión para la mejora se encuentra la comunidad de ASI leucemia Infantil, que se deriva del Pronaii (Programa Nacional de Investigación e Incidencia) 300364 financiado por el CONAHCYT (hoy SECIHTI) de México.

ARMONIZACIÓN DEL REPORTE DE INMUNOFENOTIPO: ASI LEUCEMIA INFANTIL

El Proyecto Nacional de Investigación e Incidencia de armonización nacional de sistemas de registro y diagnóstico por citometría de flujo para la leucemia infantil, número (Pronaii 303064), se centra en la armonización de los sistemas de registro y diagnóstico para la leucemia infantil mediante el uso de la citometría de flujo. Siendo nuestro principal objetivo obtener un reporte armonizado del inmunofenotipo, de tal suerte que podamos asegurar que cualquier paciente con leucemia infantil en México tenga acceso a resultados de in-

munofenotipo que sean confiables y útiles para la toma de decisiones en clínica.

La armonización del reporte del inmunofenotipo tiene el potencial de mejorar significativamente la asertividad y rapidez del diagnóstico de la leucemia infantil en México. Al controlar de forma sistemática los protocolos y procedimientos, se puede reducir la variabilidad en los resultados de los laboratorios, lo cual permitirá asegurar que todos los pacientes reciban un diagnóstico preciso y oportuno sin importar su ubicación. Esto es crucial para iniciar el tratamiento lo antes posible y mejorar la sobrevida de los pacientes (Borowitz y cols., 2008).

Este tipo de esfuerzos se podrían lograr mediante estrategias impositivas o incluyentes, teniendo esta última la ventaja de asegurar la adopción del modelo y mayor colaboración. Como se muestra en la **figura 5.4**, en este proyecto hemos optado por esta segunda opción; una estrategia incluyente y colaborativa.

La creación de una comunidad facilita el intercambio de conocimientos y experiencias entre profesionales de la salud especialistas en distintas áreas. Esta comunidad sirve como una plataforma para la colaboración, el apoyo mutuo y la mejora continua. A través de foros de discusión, grupos de trabajo y eventos de colaboración, los participantes pueden compartir mejores prácticas, resolver problemas comunes y avanzar en el objetivo colectivo de mejorar el diagnóstico y tratamiento de la leucemia infantil en México (Tolotti y cols., 2022; Zwaan y cols., 2015). Por todo ello, en este Pronaii 303064 decidimos generar una comunidad colaborativa que denominamos ASI leucemia Infantil; "ASI" es el acrónimo de Armonización de Sistemas de Inmunofenotipificación.

Con la colaboración entre citometristas, especialistas en la clínica y especialistas que se enfocan en la investigación biomédica, para sugerir la implementación de estándares y protocolos uniformes en todo el país, se pretende generar un cambio significativo al mejorar la precisión y rapidez del diagnóstico, estandarizar los procesos de laboratorio y, sobre todo, garantizar la calidad de los reportes de inmunofenotipo.

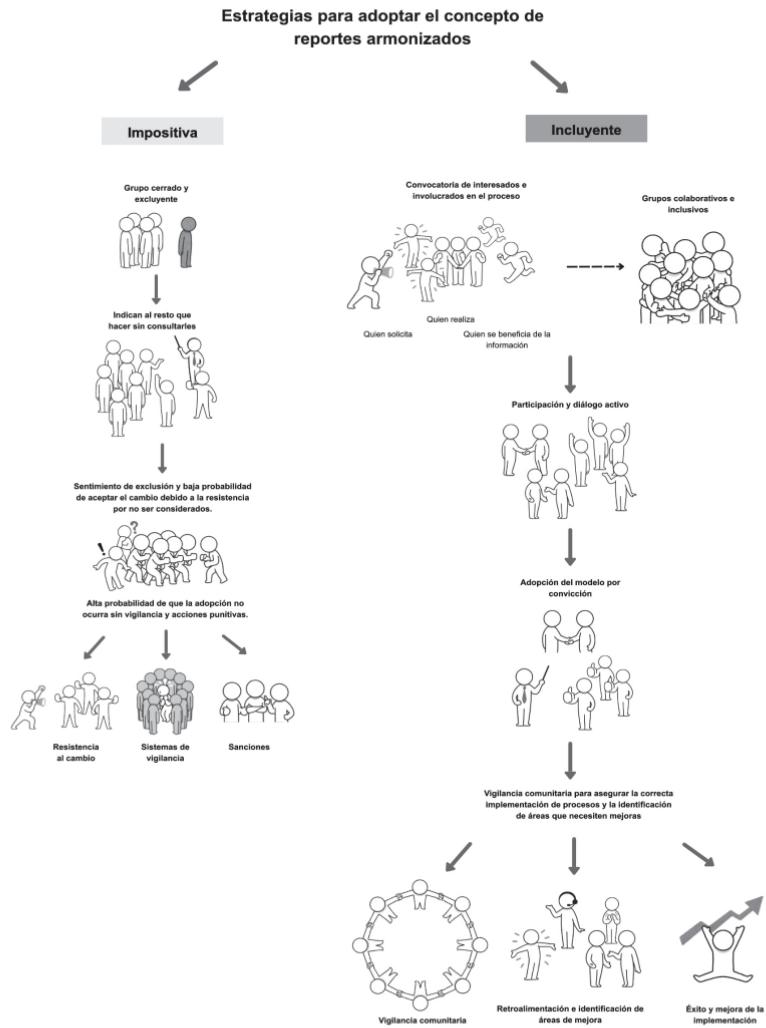


Figura 5.4. Tipos de estrategias de armonización. (Elaboración de las autoras).

La colaboración en la armonización es indispensable para enfrentar los desafíos en la adopción de nuevas directivas en sistemas de salud, los cuales son complicados por factores culturales, organizacionales y económicos. Estos acuerdos, similares a las políticas públicas, dependen del interés e incidencia de los actores involucrados, y su éxito está determi-

nado por el nivel de participación de estos. Para fortalecer la participación, es crucial identificar y caracterizar a los actores mediante estrategias como el mapeo de actores, que permite evaluar sus intereses, capacidades e incentivos, influyendo así en la toma de decisiones y la implementación efectiva de acciones (Huddy JR y cols., 2021, Voinov A, Bousquet F. 2010).

Aunado a lo anterior existe una gran diversidad de condiciones de trabajo en los diferentes grupos que realizan inmunofenotípos, así como en las múltiples plataformas que existen disponibles en el país, por lo que se realizaron entrevistas a actores clave que permitieron hacer un mapeo de actores al identificar el nivel de interés e incidencia de especialistas médicos y de laboratorio, personas en administración de laboratorios, hospitales u organizaciones no gubernamentales, para posteriormente clasificarlos en cuatro grupos que facilitaron la creación de una estrategia que simplifica la obtención de información sobre el estado de la citometría en México, las barreras existentes y coadyuva a la armonización a través de 5 líneas de acción:

- 1. Formación de mesas de trabajo específicas:** equipos dedicados a abordar diferentes aspectos del proyecto, divididas en dos grandes rubros: de armonización y por otro lado de diseminación del conocimiento.
- 2. Creación de un panel de expertos:** grupo de expertos en hematología, oncología pediátrica y citometría de flujo que guían y evalúan el progreso del proyecto.
- 3. Estrategia de comunicación efectiva:** utilización de seminarios web, clínicas de citometría y plataformas de información para mantener a todos los actores informados y comprometidos.
- 4. Identificación de nuevos actores:** involucrar a una gama diversa de partes interesadas, incluyendo organizaciones filantrópicas y grupos de defensa.
- 5. Fortalecimiento de la comunidad:** fomentar la colaboración y el intercambio de conocimientos entre profesionales de la salud y organizaciones relacionadas (Boaz y cols., 2018; O'Haire y cols., 2011).

La discusión sobre los temas necesarios para acordar los puntos del reporte armonizado se ha llevado a cabo en las mesas de trabajo antes mencionadas que incluyen, para el rubro de armonización: mesas de preanalíticos, analíticos, post-analíticos y diseño de paneles; y para el rubro de diseminación del conocimiento mesas de perfiles, autoevaluación, formación, alianzas y divulgación.

Mantener informados y comprometidos a todos los actores involucrados, es clave para el avance del proyecto por lo que se ha desarrollado una estrategia de comunicación integral. Esta estrategia incluye seminarios web regulares, clínicas de citometría donde los profesionales pueden compartir experiencias y resolver dudas, y plataformas de información especializadas que proporcionan acceso a protocolos y datos actualizados. También se ha desarrollado una plataforma de autoevaluación (App ASI) para que los laboratorios puedan medir su progreso y calidad de manera continua.

La identificación de nuevos actores es esencial para el éxito de proyectos como ASI (Lloyd-Williams y cols., 2020; O'Haire y cols., 2011), esta se ha realizado a través de estudios de mercado, entrevistas, recomendaciones, plataformas de redes sociales y colaboraciones con entidades como la Academia Nacional de Medicina de México (Academia Nacional de Medicina de México, 2023). Hemos involucrado a una gama diversa de partes interesadas, incluyendo organizaciones filantrópicas, grupos de defensa y otros actores relevantes, pues la diversidad de perspectivas y experiencias es fundamental para enriquecer el proyecto y asegurar que se aborden todas las necesidades y desafíos (Danger y cols., 1986; Zapata-Tarres y cols., 2021).

La formación continua es un componente crítico para el éxito del proyecto. A través de programas de capacitación especializados, se busca fortalecer las habilidades y conocimientos de los profesionales de la salud en el uso de la citometría de flujo y la interpretación de inmunofenotipos. Esto incluye la realización de talleres, cursos en línea y programas de

certificación que aseguren que todos los participantes estén adecuadamente preparados para implementar y mantener los estándares de armonización (Zerón-Gutiérrez, 2017).

Un beneficio clave de la armonización es el aumento de la equidad en el acceso a tratamientos avanzados. Al proporcionar un reporte uniforme y de alta calidad en todo el país, se asegura que todas las infancias con leucemia tengan acceso a las mismas oportunidades de tratamiento, independientemente de su ubicación geográfica. Atender a las diferentes fases de trabajo, requeridas para un inmunofenotipo útil y eficiente, exige esfuerzos transdisciplinarios e incide en diferentes grupos involucrados de una u otra manera en la atención de infancias con leucemia (**Fig. 5.5**), quienes serán las principales beneficiadas por el reporte armonizado.

CONCLUSIÓN

La armonización del reporte del inmunofenotipo es una estrategia colaborativa esencial para mejorar el diagnóstico y tratamiento de la leucemia infantil en México. A través de un modelo mixto de investigación, que incluye ciencia colaborativa acompañada de la capacitación continua y la aplicación del reporte armonizado, se puede asegurar un acceso equitativo a diagnósticos precisos y tratamientos avanzados para todas las infancias con leucemia en el país. Este esfuerzo tiene como objetivo incidir en aumentar las tasas de supervivencia y la calidad de vida de las y los pacientes, así como fortalecer el sistema de salud en su conjunto, creando un modelo que podría ser replicado en otros países con desafíos similares y/o en otras tecnologías que acompañan el manejo de enfermedades complejas.

Si te interesa y/o estás involucrada en cualquiera de las fases del inmunofenotipo por citometría de flujo, aprovecha nuestra plataforma de autoevaluación:
<https://autoevaluaciones.asileucemianfantil.org/>

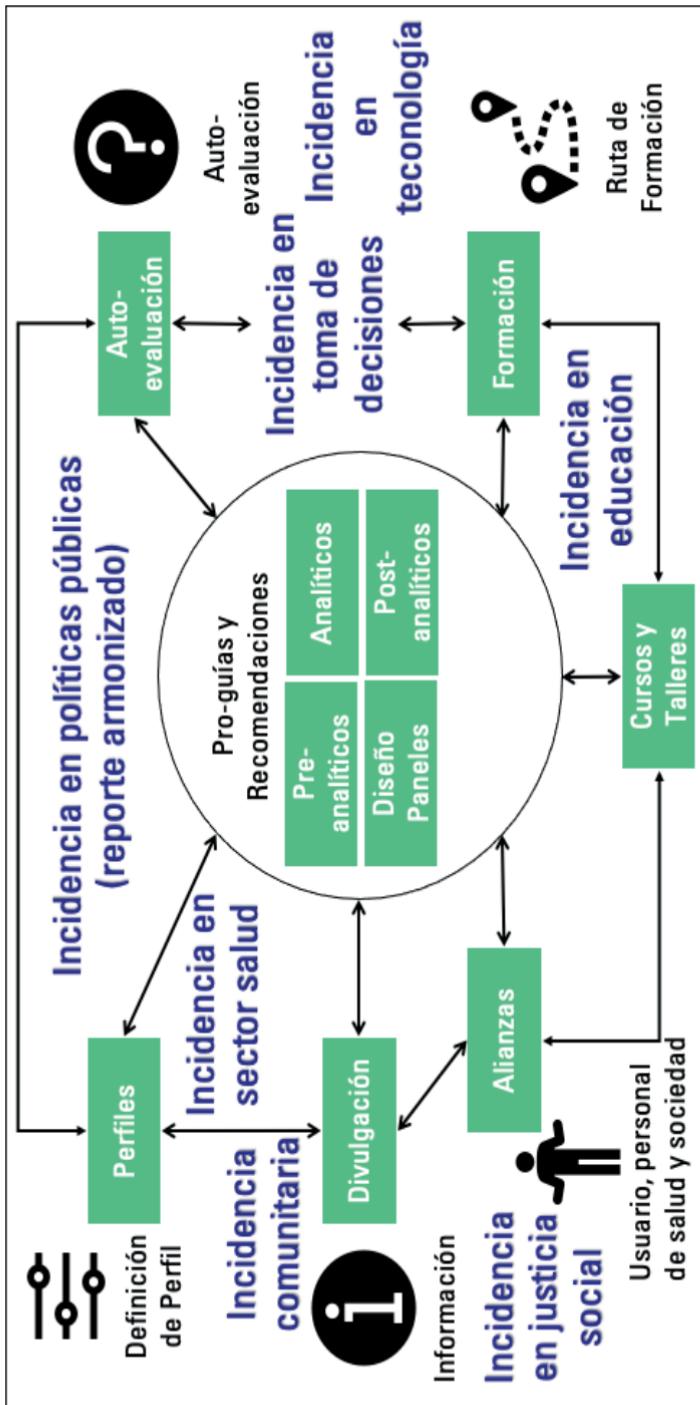


Figura 5.5. Comunidad colaborativa e incidencia de ASI leucemia infantil. (Elaboración de las autoras).

REFERENCIAS

- Academia Nacional de Medicina de México. (2023). 1. Introducción. Dra. Lourdes A. Arriaga Pizano [Vídeo]. <https://www.youtube.com/watch?v=HKc6iqda7P8>
- Adan, A., Alizada, G., Kiraz, Y., Baran, Y., & Nalbant, A. (2017, Mar). Flow cytometry: basic principles and applications. *Crit Rev Biotechnol*, 37(2), 163-176. <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1128876>
- AMEH, A. (2019). Interpretación clínica de los estudios de citometría de flujo para tipificar hemopatías malignas. YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=v=0Ga3P07KGWY>
- Arriaga-Pizano, L., Ramirez-Ramirez, D., Prieto-Chavez, J., Pelayo, R., Ruiz-Arguelles, A., Ruiz-Delgado, G. J., & Marin y Lopez, R. A. (2019). [Reporte de la Primera Reunión Nacional de Consenso para la Inmunofenotipificación de Leucemias Agudas]. *Gac Med Mex*, 155(1), 20-29. <https://doi.org/10.24875/GMM.18004418>
- Bene, M. C., Nebe, T., Bettelheim, P., Buldini, B., Bumbea, H., Kern, W., La-combe, F., Lemez, P., Marinov, I., Matutes, E., Maynadie, M., Oelschlagel, U., Orfao, A., Schabath, R., Solenthaler, M., Tschurtschenthaler, G., Vladareanu, A. M., Zini, G., Faure, G. C., & Porwit, A. (2011, Apr). Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. *Leukemia*, 25(4), 567-574. <https://doi.org/10.1038/leu.2010.312>
- Bernard, A., & Boumsell, L. (1984, Oct 27). [Human leukocyte differentiation antigens]. *Presse Med*, 13(38), 2311-2316. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6239187> (Les antigenes de différenciation leucocytaire humains.)
- Boaz, A., Hanney, S., Borst, R., O'Shea, A., & Kok, M. (2018, Jul 11). How to engage stakeholders in research: design principles to support improvement. *Health Res Policy Syst*, 16(1), 60. <https://doi.org/10.1186/s12961-018-0337-6>
- Boris, E., Theron, A., Montagnon, V., Rouquier, N., Almeras, M., Moreaux, J., & Bret, C. (2024, Jan). Immunophenotypic portrait of leukemia-associated-phenotype markers in B acute lymphoblastic leukemia. *Cytometry B Clin Cytom*, 106(1), 45-57. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.22153>
- Borowitz, M. J., Devidas, M., Hunger, S. P., Bowman, W. P., Carroll, A. J., Carroll, W. L., Linda, S., Martin, P. L., Pullen, D. J., Viswanatha, D., Willman, C. L., Winick, N., Camitta, B. M., & Children's Oncology Group, G. (2008, Jun 15). Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study. *Blood*, 111(12), 5477-5485. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-01-132837>
- Clinical & Laboratory Standards Institute: CLSI Guidelines. (s.f.). <https://Clinical%20and%20Laboratory%20StandardsInstitute%20CLSI,%20Standard@clsi.org/>

- Craig, F. E., & Foon, K. A. (2008, Apr 15). Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood*, 111(8), 3941-3967. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-11-120535>
- Danger, J. M., Leboulenger, F., Guy, J., Tonon, M. C., Benyamina, M., Martel, J. C., Saint-Pierre, S., Pelletier, G., & Vaudry, H. (1986, Sep 29). Neuropeptide Y in the intermediate lobe of the frog pituitary acts as an alpha-MSH-release inhibiting factor. *Life Sci*, 39(13), 1183-1192. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(86\)90350-4](https://doi.org/10.1016/0024-3205(86)90350-4)
- Davis, B. H., Holden, J. T., Bene, M. C., Borowitz, M. J., Braylan, R. C., Cornfield, D., Gorczyca, W., Lee, R., Maiese, R., Orfao, A., Wells, D., Wood, B. L., & Stetler-Stevenson, M. (2007). 2006 Bethesda International Consensus recommendations on the flow cytometric immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia: medical indications. *Cytometry B Clin Cytom*, 72 Suppl 1, S5-13. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.20365>
- Della Starza, I., Chiaretti, S., De Propris, M. S., Elia, L., Cavalli, M., De Novi, L. A., Soscia, R., Messina, M., Vitale, A., Guarini, A., & Foa, R. (2019). Minimal Residual Disease in Acute Lymphoblastic Leukemia: Technical and Clinical Advances. *Front Oncol*, 9, 726. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00726>
- Dworzak, M. N., Buldini, B., Gaipa, G., Ratei, R., Hrusak, O., Luria, D., Rosenthal, E., Bourquin, J. P., Sartor, M., Schumich, A., Karawajew, L., Mejstrikova, E., Maglia, O., Mann, G., Ludwig, W. D., Biondi, A., Schrappe, M., Basso, G., & International, B. F. M. F. n. (2018, Jan). AIEOP-BFM consensus guidelines 2016 for flow cytometric immunophenotyping of Pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Cytometry B Clin Cytom*, 94(1), 82-93. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.21518>
- Emerenciano, M., Renaud, G., Sant'Ana, M., Barbieri, C., Passetti, F., Pombo-de-Oliveira, M. S., & Brazilian Collaborative Study Group of Infant Acute, L. (2011, Aug). Challenges in the use of NG2 antigen as a marker to predict MLL rearrangements in multi-center studies. *Leuk Res*, 35(8), 1001-1007. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2011.03.006>
- Engel, P., Boumsell, L., Balderas, R., Bensussan, A., Gattei, V., Horejsi, V., Jin, B. Q., Malavasi, F., Mortari, F., Schwartz-Albiez, R., Stoeckinger, H., van Zelm, M. C., Zola, H., & Clark, G. (2015, Nov 15). CD Nomenclature 2015: Human Leukocyte Differentiation Antigen Workshops as a Driving Force in Immunology. *J Immunol*, 195(10), 4555-4563. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1502033>
- Haileamlak, A. (2016, May). The Challenge of Childhood Cancer in Developing Countries. *Ethiop J Health Sci*, 26(3), 199-200. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27358539>
- Holmes, K. L., Lantz, L. M., & Russ, W. (2001, May). Conjugation of fluorochromes to monoclonal antibodies. *Curr Protoc Cytom*, Chapter 4, Unit 4 2. <https://doi.org/10.1002/0471142956.cy0402s00>
- Hrusak, O., & Porwit-MacDonald, A. (2002, Jul). Antigen expression pa-

- tters reflecting genotype of acute leukemias. *Leukemia*, 16(7), 1233-1258. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402504>
- Hunger, S. P., & Mullighan, C. G. (2015, Oct 15). Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *N Engl J Med*, 373(16), 1541-1552. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1400972>
- Huddy JR, Ni MZ, Barlow J, Hanna GB. Original research: Qualitative analysis of stakeholder interviews to identify the barriers and facilitators to the adoption of point-of-care diagnostic tests in the UK. *BMJ Open* [Internet]. 2021 Apr 13 [cited 2021 Sep 11];11(4). Available from: [/pmc/articles/PMC8051412/](https://pmc/articles/PMC8051412/)
- Klairmont, M. M., Zhou, Y., Cheng, C., Pui, C. H., Jeha, S., Gruber, T. A., Liu, Y., Inaba, H., & Choi, J. K. (2021, Nov). Clinicopathologic and prognostic features of TdT-negative pediatric B-lymphoblastic leukemia. *Mod Pathol*, 34(11), 2050-2054. <https://doi.org/10.1038/s41379-021-00853-3>
- Koh, K. N., Park, M., Kim, B. E., Im, H. J., Park, C. J., Jang, S., Chi, H. S., & Seo, J. J. (2010, Nov). Prognostic significance of minimal residual disease detected by a simplified flow cytometric assay during remission induction chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Korean J Pediatr*, 53(11), 957-964. <https://doi.org/10.3345/kjp.2010.53.11.957>
- Kruse, A., Abdel-Azim, N., Kim, H. N., Ruan, Y., Phan, V., Ogana, H., Wang, W., Lee, R., Gang, E. J., Khazal, S., & Kim, Y. M. (2020, Feb 5). Minimal Residual Disease Detection in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Int J Mol Sci*, 21(3). <https://doi.org/10.3390/ijms21031054>
- Leary, J. F. (2001, May). Listmode data processing. *Curr Protoc Cytom*, Chapter 10, Unit 10 13. <https://doi.org/10.1002/0471142956.cy1003s00>
- Lloyd-Williams, F., Hyseni, L., Guzman-Castillo, M., Kypridemos, C., Collins, B., Capewell, S., Schwaller, E., & O'Flaherty, M. (2020, Aug 10). Evaluating stakeholder involvement in building a decision support tool for NHS health checks: co-producing the WorkHORSE study. *BMC Med Inform Decis Mak*, 20(1), 182. <https://doi.org/10.1186/s12911-020-01205-y>
- Lopez-Millan, B., Sanchez-Martinez, D., Roca-Ho, H., Gutierrez-Aguera, F., Molina, O., Diaz de la Guardia, R., Torres-Ruiz, R., Fuster, J. L., Ballerini, P., Suessbier, U., Nombela-Arrieta, C., Bueno, C., & Menendez, P. (2019, Jul). NG2 antigen is a therapeutic target for MLL-rearranged B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 33(7), 1557-1569. <https://doi.org/10.1038/s41375-018-0353-0>
- Nolan, J. P., & Condello, D. (2013, Jan). Spectral flow cytometry. *Curr Protoc Cytom*, Chapter 1, 1 27 21-21 27 13. <https://doi.org/10.1002/0471142956.cy0127s63>
- O'Haire, C., McPheeters, M., Nakamoto, E., LaBrant, L., Most, C., Lee, K., Graham, E., Cottrell, E., & Guise, J. M. (2011). In Engaging Stakeholders To Identify and Prioritize Future Research Needs. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21977526>

Perez-Saldivar, M. L., Fajardo-Gutierrez, A., Bernaldez-Rios, R., Martinez-Avalos, A., Medina-Sanson, A., Espinosa-Hernandez, L., Flores-Chapa Jde, D., Amador-Sanchez, R., Penalosa-Gonzalez, J. G., Alvarez-Rodriguez, F. J., Bolea-Murga, V., Flores-Lujano, J., Rodriguez-Zepeda Mdel, C., Rivera-Luna, R., Dorantes-Acosta, E. M., Jimenez-Hernandez, E., Alvarado-Ibarra, M., Velazquez-Avina, M. M., Torres-Nava, J. R., Duarte-Rodriguez, D. A., Paredes-Aguilera, R., Del Campo-Martinez Mde, L., Cardenas-Cardos, R., Alamilla-Galicia, P. H., Bekker-Mendez, V. C., Ortega-Alvarez, M. C., & Mejia-Aranguren, J. M. (2011, Aug 17). Childhood acute leukemias are frequent in Mexico City: descriptive epidemiology. *BMC Cancer*, 11, 355. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-11-355>

Pronaii ASI Leucemia Infantil. (2022a). 1er Webinar ASI LI - Pronaii Leucemia Infantil: Una estrategia multidisciplinaria nacional [Vídeo]. https://www.youtube.com/watch?v=N8_0VZ2oKDs

Pronaii ASI Leucemia Infantil. (2022b). 3er. WEBINAR ASI «Utilidad del inmunofenotipo en la toma de decisiones médicas en leucemia infantil» [Vídeo]. <https://www.youtube.com/watch?v=hBeDnMDQuI8>

Pronaii ASI Leucemia Infantil. (2023a). 6º WEBINAR ASI - «Compensando los errores en inmunofenotipos multicolor». [Vídeo]. https://www.youtube.com/watch?v=F4INXY3_raE

Pronaii ASI Leucemia Infantil. (2023b). 9º WEBINAR ASI - St Jude: «Citometría de flujo diagnóstica para leucemias pediátricas». [Vídeo]. https://www.youtube.com/watch?v=9jfWA_-aZdQ

Pui, C. H. (2020, Dec). Precision medicine in acute lymphoblastic leukemia. *Front Med*, 14(6), 689-700. <https://doi.org/10.1007/s11684-020-0759-8>

Seamer, L. (2001, May). Data file standard for flow cytometry, FCS 3.0. *Curr Protoc Cytom*, Chapter 10, Unit 10 12. https://doi.org/10.1007/978-3-642-57049-0_6

Shapiro, H. M., Feinstein, D. M., Kirsch, A. S., & Christenson, L. (1983, Jul). Multistation multiparameter flow cytometry: some influences of instrumental factors on system performance. *Cytometry*, 4(1), 11-19. <https://doi.org/10.1002/cyto.990040103>

Stetler-Stevenson, M., Davis, B., Wood, B., & Braylan, R. (2007). 2006 Bethesda International Consensus Conference on Flow Cytometric Immunophenotyping of Hematolymphoid Neoplasia. *Cytometry B Clin Cytom*, 72 Suppl 1, S3. <https://doi.org/10.1002/cyto.b.20362>

Swerdlow SH, C. E., Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J. (2017). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/WHO-Classification-Of-Tumours-Of-Haematopoietic-And-Lymphoid-Tissues-2017>

Tolotti, A., Barello, S., Vignaduzzo, C., Liptrott, S. J., Valcarenghi, D., Nania, T., Sari, D., & Bonetti, L. (2022, Sep 15). Patient Engagement in Oncology Practice: A Qualitative Study on Patients' and Nurses' Perspectives. *Int J Environ Res Public Health*, 19(18). <https://doi.org/10.3390/ijerph191810831>

- org/10.3390/ijerph191811644
- van Dongen, J. J., Orfao, A., & EuroFlow, C. (2012, Sep). EuroFlow: Resetting leukemia and lymphoma immunophenotyping. Basis for companion diagnostics and personalized medicine. *Leukemia*, 26(9), 1899-1907. <https://doi.org/10.1038/leu.2012.121>
- Voinov A, Bousquet F. Modelling with stakeholders. *Environ Model Softw*. 2010 Nov 1;25(11):1268-81.
- angen, J. R., Eidenschink Brodersen, L., Stolk, T. T., Wells, D. A., & Loken, M. R. (2014, Apr). Assessment of normal erythropoiesis by flow cytometry: important considerations for specimen preparation. *Int J Lab Hematol*, 36(2), 184-196. <https://doi.org/10.1111/ijlh.12151>
- Zapata-Tarres, M., Balandran, J. C., Rivera-Luna, R., & Pelayo, R. (2021, Mar 23). Childhood Acute Leukemias in Developing Nations: Successes and Challenges. *Curr Oncol Rep*, 23(5), 56. <https://doi.org/10.1007/s11912-021-01043-9>
- Zerón-Gutiérrez, L. E., & Montaño-Fernández, G. (2017). La capacitación del personal de salud y la mejora en la atención. *Redalyc.org*. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=457750970001>
- Zwaan, C. M., Kolb, E. A., Reinhardt, D., Abrahamsson, J., Adachi, S., Aplenc, R., De Bont, E. S., De Moerloose, B., Dworzak, M., Gibson, B. E., Hasle, H., Leverger, G., Locatelli, F., Ragu, C., Ribeiro, R. C., Rizzari, C., Rubnitz, J. E., Smith, O. P., Sung, L., Tomizawa, D., van den Heuvel-Eibrink, M. M., Creutzig, U., & Kaspers, G. J. (2015, Sep 20). Collaborative Efforts Driving Progress in Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*, 33(27), 2949-2962. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.62.8289>

Capítulo 6

La transcriptómica y la genómica como herramientas en el estudio de la leucemia linfoblástica aguda B



Carmen Alaez Verson,
Joaquín García Solorio,
Fernanda Flores Espino,
Marco Jiménez Olivares,
Carolina Molina Garay,
Karol Carrillo Sánchez,
Víctor J. Sánchez Martínez,
Alejandra Cervera Taboada

INTRODUCCIÓN

La leucemia linfoblástica aguda de tipo B (LLA-B) es el cáncer más común en la infancia, constituye al menos el 25% del diagnóstico anual de cáncer en niños menores de 15 años. Las tasas de curación y de supervivencia a 5 años se han incrementado en los últimos 50 años. Hoy, en países desarrollados, la tasa de curación se estima en 80%, mientras que la tasa de supervivencia a 5 años es del 90% en menores de 15 años y del 75% en el grupo de 15 a 19 años (Malard & Mohty, 2020).

Esta mejora en las tasas de curación y supervivencia ha sido el resultado de diversos factores como son: la realización de ensayos clínicos aleatorizados y multicéntricos, cuidadosamente diseñados, que han permitido la optimización de los regímenes de quimioterapia; la utilización de medidas de soporte encaminadas a disminuir la morbi-mortalidad asociada al tratamiento; la generación de conocimiento científico que ha permitido una mejor comprensión de la biología del padecimiento; y una mejoría en la estratificación del riesgo, que permite agrupar a los pacientes de acuerdo a la presencia de ciertos biomarcadores adquiridos por la célula leucémica; así como la evaluación temprana de la respuesta al tratamiento medida a través de la determinación de la enfermedad residual medible (Duffield y cols., 2023; Malard & Mohty, 2020).

Avances tecnológicos en el área de la genómica, como la secuenciación masiva en paralelo, conocida como NGS (por sus siglas en inglés Next Generation Sequencing) han sido de particular importancia para la expansión del conocimiento científico. Esta tecnología permite evaluar múltiples regiones genéticas simultáneamente, generando una gran cantidad de información a un costo relativamente bajo si se considera el volumen de información generada en cada experimento (Brady y cols., 2022; Malard & Mohty, 2020).

La aplicación de la secuenciación masiva en el área médica ha revolucionado la forma de hacer investigación y diagnóstico en diversos campos como son la oncología, el diagnóstico de enfermedades de base genética, la medicina forense, el estudio

de las enfermedades infecciosas, así como la evaluación del impacto de la variabilidad genética en el metabolismo de los fármacos y en el desarrollo de reacciones adversas entre otros. En particular para LLA-B, la secuenciación masiva ha sido empleada para la evaluación y caracterización de las alteraciones genéticas y del perfil de expresión de genes en grandes series de pacientes pediátricos, en su mayoría provenientes de poblaciones de origen europeo o asiático. Estos estudios han permitido descubrir nuevas alteraciones genéticas adquiridas por la célula leucémica, así como identificar aquellas que ocurren recurrentemente evaluando su impacto clínico (Mandelker y cols., 2017; Mullighan y cols., 2007; Tran y cols., 2022).

Las alteraciones genéticas recurrentes en LLA-B son muy variadas. Una alteración muy común son las aneuploidías (hiperdiploidías o hipodiploidías), que son alteraciones en el número de cromosomas presentes en la célula leucémica. También, ocurren rearreglos cromosómicos que son generalmente el resultado de una translocación entre dos cromosomas. Algunos rearreglos resultan en la expresión de una proteína quimérica, llamada también "proteína de fusión" y que es el resultado de la expresión de dos genes en un sólo producto proteico. Adicionalmente, ocurren pérdidas (deleciones) o ganancias (amplificaciones) de material genético en ciertos genes, eventos que colectivamente se denominan "alteraciones del número de copias". Por otro lado, las alteraciones genéticas relacionadas a la LLA-B también pueden ser cambios de una o más bases en la secuencia del ADN que repercuten de diversas formas sobre la proteína codificada por el gen, como por ejemplo ocasionando una pérdida o ganancia de función o alteraciones del procesamiento del ARN. Finalmente, todas las alteraciones pueden dar como resultado cambios en los perfiles de expresión de distintos genes (Brady y cols., 2022; Gu y cols., 2019; Mullighan y cols., 2007). Contar con tecnología que permite identificar estas alteraciones nos permite evaluar cuál es su impacto en la evolución de los pacientes. Principalmente estudiamos el efecto de cada una de estas alteraciones genéticas sobre diversas variables clínicas como son la ocurrencia de

recaída, la presencia de enfermedad residual medible al término de la inducción, así como la evaluación de la respuesta a ciertos esquemas de tratamiento, y el impacto en supervivencia global. Gracias a estos estudios se ha podido establecer que algunas de estas alteraciones pueden ser utilizadas como biomarcadores de utilidad clínica para refinar el diagnóstico, la clasificación del riesgo o como predictores de la respuesta al tratamiento con ciertas moléculas que van dirigidas a alteraciones específicas (llamadas comúnmente “terapia blanco”) (Brady y cols., 2022; Roberts y cols., 2014). Este conocimiento molecular ha sido incorporado en la práctica clínica para la clasificación de los pacientes con LLA-B. En este sentido la clasificación de la Organización Mundial de Salud para las leucemias agudas (**Cuadro 6.1**) incluyó la presencia de alteraciones genéticas que permiten asignar a los pacientes en grupos que se benefician de un manejo clínico diferenciado de acuerdo al riesgo conferido por la alteración en conjunto con otras variables clínicas. Es por ello de vital importancia contar con herramientas diagnósticas, como son el análisis transcriptómico y genómico basado en NGS, que nos permitan identificar estas alteraciones de forma rápida y eficiente en los pacientes con LLA-B, a fin de proporcionar al médico tratante la información necesaria para una toma de decisiones terapéuticas mucho más precisa (Alaggio y cols., 2022).

UTILIDAD DEL ANÁLISIS TRANSCRIPTÓMICO EN EL ABORDAJE DIAGNÓSTICO DE LA LLA-B

La secuenciación masiva puede ser empleada para analizar el ARN, a este tipo de secuenciación se conoce como RNA-seq, ya que se utiliza el ARN como el material biológico de partida. El ARN se obtiene de las células y se convierte a cADN para ser secuenciado. El análisis de RNA-seq más detallado, consiste en analizar el transcriptoma completo, lo que significa cuantificar el nivel de expresión de todos los genes en la muestra de estudio, así como inspeccionar las secuencias de estos genes para identificar cambios en la mismas (Hong y cols., 2020).

Cuadro 6.1. Clasificación de las Leucemias/linfomas linfoblásticos de tipo B

Leucemias/Linfomas Linfoblásticos tipo B
Leucemia/linfoma linfoblástico tipo B, sin especificación
Leucemia/linfoma linfoblástico tipo B con alta hiperdiploidía
Leucemia/linfoma linfoblástico tipo B con hipodiploidía
Leucemia/linfoma linfoblástico tipo B con iAMP21
Leucemia/linfoma linfoblástico tipo B con la fusión BCR::ABL1
Leucemia/linfoma linfoblástico tipo B con rasgos BCR::ABL1-like (Ph-like)
Leucemia/linfoma linfoblástico tipo B con rearreglos de KMT2A
Leucemia/linfoma linfoblástico tipo B con la fusión ETV6::RUNX1
Leucemia/linfoma linfoblástico tipo B con rasgos ETV6::RUNX1-like
Leucemia/linfoma linfoblástico tipo B con la fusión TCF3::PBX1
Leucemia/linfoma linfoblástico tipo B con la fusión IGH::IL3
Leucemia/linfoma linfoblástico tipo B con la fusión TCF3::HLF
Leucemia/linfoma linfoblástico tipo B con otras alteraciones genéticas definidas
LLA-B con otras alteraciones genéticas:
DUX4 , MEF2D, ZNF384 o NUTM1 reordenados, fusión IG::MYC, PAX5 alterado o PAX5 p.(Pro80Arg)

Adaptado de: *The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms* (Alaggio y cols., 2022).

Por ejemplo, en el caso de LLA-B, se analiza el transcriptoma a partir del ARN purificado de la muestra de médula ósea obtenida durante el abordaje diagnóstico y antes de la iniciación del tratamiento. Esta metodología permite, en un ensayo único, la identificación simultánea y con alta sensibilidad de rearreglos cromosómicos expresados, mutaciones en la secuencia del ADN, siempre y cuando estas se encuentren expresadas, así como determinación de perfiles de expresión característicos de cada uno de los subgrupos de pacientes como por ejemplo los Ph-like o los del grupo PAX5-alterado. Adicionalmente es posible cuantificar la expresión individual de genes de interés, haciendo de esta plataforma una de las más eficientes y clínicamente relevantes en el ámbito del diagnóstico (Gu y cols., 2019; Roberts y cols., 2014).

En nuestro país, la selección del tratamiento y la estratificación de riesgo se basan, fundamentalmente, en los factores clínicos y el inmunofenotipo, lo que indudablemente contribuye a los resultados desfavorables en cuanto a curación y mortalidad, la búsqueda extensa de alteraciones genéticas no es una práctica de rutina en las instituciones de salud encargadas del tratamiento de la LLA. Algunos estudios realizados en pacientes pediátricos mexicanos han explorado la frecuencia de ciertos reordenamientos empleando metodología de sondas Taqman o hibridación *in situ* con sondas FISH (Pérez-Vera y cols., 2008) y en algunos casos NGS. Los resultados han demostrado una frecuencia alta de rearreglos de mal pronóstico y una baja frecuencia de los de buen pronóstico, como ETV6::RUNX1, lo que ha sugerido que la LLA-B en nuestra población pudiera tener componentes genéticos específicos que contribuyen a la mayor incidencia y morbi-mortalidad (Bekker-Méndez y cols., 2014; Daniel-Cravioto y cols., 2009).

La incorporación de plataformas diagnósticas basadas en secuenciación masiva en el abordaje de los pacientes con LLA-B permite identificar rápida y eficientemente biomarcadores de valor pronóstico como los genes de fusión y predictivos de la respuesta al tratamiento permitiendo una mejor clasificación de la enfermedad es por ello que como parte de nuestro trabajo en el Pronaii: "abordaje genómico integral de la leucemia linfoblástica aguda (LLA-B) en pacientes pediátricos", nos propusimos desarrollar y establecer una plataforma de diagnóstico genómico, basada en la utilización de secuenciación masiva en paralelo para el análisis del ARN y del ADN obtenidos de una muestra de médula ósea de pacientes pediátricos con LLA-B.

Esta plataforma fue implementada exitosamente y nos ha permitido caracterizar molecularmente las alteraciones más frecuentes que se encuentran en nuestros pacientes pediátricos con LLA-B así como establecer la correlación entre estas alteraciones y ciertas variables clínicas.

A lo largo de este capítulo compartiremos algunos de los resultados más relevantes obtenidos como resultado del análisis genómico y transcriptómico realizado en pacientes pediátricos mexicanos con LLA-B.

Identificación de fusiones en pacientes pediátricos mexicanos con LLA-B

Realizamos el análisis transcriptómico de 254 pacientes con LLA-B provenientes de 17 centros de atención. Se logró identificar un gen de fusión en el 49.6% de los casos, proporción mucho mayor que la identificada en otros estudios realizados en población pediátrica mexicana que utilizaron metodologías como el PCR en tiempo real o FISH. Estas metodologías, exploran un número limitado de genes de fusión predeterminados por el diseño del ensayo. Estos resultados demuestran que la secuenciación masiva produce la mayor eficiencia diagnóstica para la identificación de fusiones de relevancia clínica. La distribución por tipo de fusión en nuestros pacientes se muestra en la **figura 6.1**.

En nuestra población de pacientes el subtipo Ph-like asociado a mal pronóstico fue el más frecuente (24%). Este resultado contrasta con lo reportado en pacientes de origen europeo, donde la alteración más frecuente es la fusión ETV6::RUNX1 considerada de buen pronóstico. En nuestra serie esta alteración es la segunda más frecuente representando sólo 17% de los casos positivos.

En población de origen hispánico, se ha reportado una frecuencia alta del subtipo Ph-like. Este subtipo fue identificado en 2009 por dos grupos de investigación independientes, analizando perfiles de expresión génica. Los pacientes dentro de este subgrupo tienen riesgo alto y pobre supervivencia y muestran un patrón de expresión de genes similar a la de los pacientes con la fusión BCR::ABL1, pero sin presentar esta fusión (de allí el nombre Ph-like). Posteriormente se identificó que presentan rearreglos genéticos o mutaciones puntuales que desregulan genes que codifican tirosinas cinasas o genes que codifican receptores de citocinas, entre ellos CRLF2, JAK2, EPOR, ABL1, ABL2, PDGFRB.

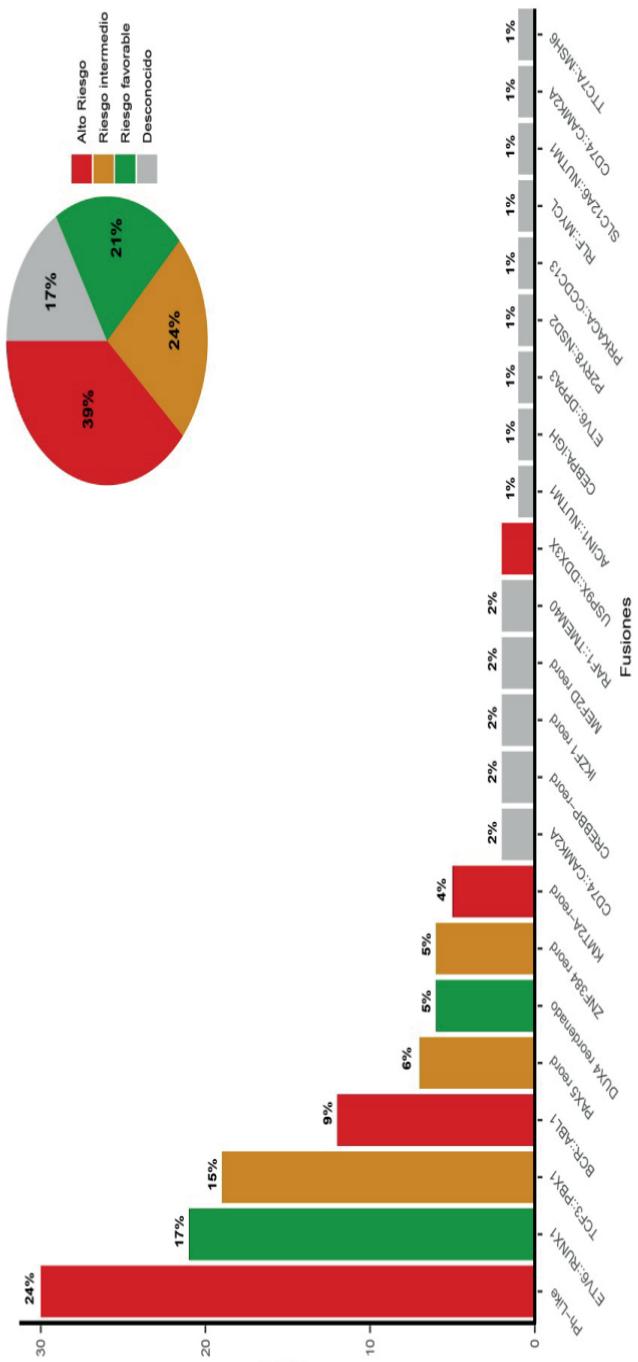


Figura 7.1. Distribución de fusiones en los casos positivos. El color de las barras representa el riesgo conferido exclusivamente por la fusión, de acuerdo a la información existente (Shah B y cols., 2024) y sin considerar la presencia de otras variables clínicas que puedan modificar el riesgo conferido por la alteración molecular:

La supervivencia global (SG) a 5 años se encuentra disminuida en nuestros pacientes Ph-like y esta disminución se observa, aún cuando el paciente fue clasificado como de riesgo alto por el médico tratante debido a la presencia de otros factores clínicos. Estos resultados concuerdan con lo reportado internacionalmente donde los pacientes con Ph-like presentan características clínicas adversas como hiperleucocitosis al diagnóstico, enfermedad residual medible positiva al final de la inducción e incremento del riesgo de falla al tratamiento y recaída y una evolución clínica que empeora con la edad. Se ha sugerido que para mejorar la sobrevida en este subgrupo de pacientes se requiere la incorporación de terapia blanco a los esquemas convencionales de quimioterapia.

Actualmente existen protocolos internacionales en desarrollo, que emplean dasatinib (inhibidor de ABL1/2) y ruxolitinib (inhibidor para CRLF2/JAK2) como terapia blanco, combinados con la quimioterapia estándar para pacientes con Ph-like que tienen fusiones que involucran a los genes ABL1/ABL2 y CRLF2/JAK2 respectivamente, el impacto en la supervivencia de la adición de terapia blanco se verá en un futuro próximo. Con el objetivo de conocer la proporción de nuestros pacientes Ph-like que pudieran beneficiarse de uno u otro tratamiento analizamos la distribución de fusiones dentro del grupo Ph-like en función de la terapia blanco asociada. La mayor proporción de los pacientes requiere tratamiento con ruxolitinib (inhibidor para CRLF2/JAK2). Estos resultados ayudan a la planeación de la adquisición de estas moléculas dentro del sistema de salud una vez que esté aprobado su uso en rutina. Cabe mencionar que estos medicamentos ya se encuentran dentro del catálogos de medicamentos oncológicos del sector salud ya que su uso está indicado en otros padecimientos oncohematológicos, sin embargo, la indicación terapéutica, no comprende aún a los pacientes pediátricos pediátricos con Ph-like (Roberts y cols., 2014). La realización de ensayos clínicos prospectivos multicéntricos en pacientes pediátricos serán de gran utilidad para evaluar el beneficio de estos medicamentos en nuestra población.

Hoy en día la identificación del subtipo Ph-Like está considerada en clasificación de la OMS (Alaggio y cols., 2022) para la LLA y comprende la evaluación de más de 30 fusiones además de la identificación de mutaciones puntuales en ciertos genes (Ej. JAK1, JAK2 etc.). Estas fusiones y mutaciones pueden ser identificadas mediante secuenciación masiva de forma más rápida y eficiente que con otras metodologías que evalúan alteraciones individuales, de allí la importancia de la plataforma de diagnóstico implementada como resultado del trabajo del Pronaaii.

Niveles de expresión del gen CRLF2

La sobreexpresión del gen CRLF2 ha sido asociado a mal pronóstico en pacientes con LLA-B. Normalmente este biomarcador se identifica mediante citometría de flujo, sin embargo, también es posible cuantificar los niveles de expresión de CRLF2 a partir de los datos del análisis transcriptómico utilizado para la identificación de fusiones (Schmäh y cols., 2017).

Es por ello que implementamos un algoritmo de clasificación que permite agrupar a los pacientes conforme a su nivel de expresión de CRLF2 en tres niveles: bajo, medio y alto. El 12.5% de los pacientes analizados presentaron un nivel alto de expresión de CRLF2, mientras que el 43.5% tuvieron una expresión media y el 44% expresión baja. Dentro del grupo de mayor expresión de CRLF2, identificamos al menos una de las siguientes alteraciones que explica el nivel de expresión alto: 1) las fusiones CRLF2::P2RY8, CRLF2::IGH o USP9X::DDX3X, 2) duplicaciones internas en el gen CRLF2 o un aumento en su número de copias, y 3) una mutación que produce en un cambio de fenilalanina por cisteína en el aminoácido 232 p.(Phe232Cys) de CRLF2. En el grupo de expresión media dos pacientes presentaron la fusión CRLF2::P2RY8. Se ha descrito que esta fusión puede elevar la expresión de CRLF2, pero no a un nivel tan alto como lo hace la fusión CRLF2::IGH. En el grupo de expresión baja no se detectaron eventos como fusiones, mutaciones o duplicaciones internas que causen sobreexpresión de CRLF2 lo cual concuerda con el bajo nivel de expresión identificado.

ANÁLISIS GENÓMICO EN EL ESTUDIO DE LA LLA-B

La secuenciación masiva aplicada al análisis del ADN (análisis genómico) obtenido de la muestra de médula ósea de pacientes con LLA-B ha permitido identificar mutaciones somáticas de relevancia clínica que impactan la supervivencia global, la presencia de enfermedad residual medible o la respuesta al tratamiento con terapia blanco entre otras variables. También ha permitido identificar variantes germinales (aquellas heredadas de los padres) que impactan el riesgo de desarrollar leucemia, una segunda neoplasia o que influyen en la respuesta al tratamiento y en el riesgo de desarrollar toxicidad con el uso de ciertos medicamentos. A continuación explicamos algunos de los hallazgos obtenidos durante el análisis genómico realizado en nuestro Pronaii.

Identificación de variantes somáticas y evaluación de su impacto clínico en supervivencia global de pacientes pediátricos mexicanos con LLA-B

El marcador IKZF1plus es un biomarcador complejo asociado a mal pronóstico en la literatura internacional. Este perfil se define por la presencia de una delección en el gen IKZF1, acompañada por delección en uno o más de los siguientes genes PAX5, CDKN2A, CDKN2B (sólo delecciones homocigóticas) o en la región PAR1. Utilizando los datos generados a partir de la secuenciación masiva realizada en 206 pacientes donde se evaluaron las alteraciones en 112 genes entre los que se encuentran los mencionados anteriormente determinamos la frecuencia e impacto sobre la supervivencia global del perfil IKZF1plus en nuestros pacientes (Stanulla y cols., 2018).

La frecuencia del biomarcador IKZF1plus en nuestro grupo de pacientes fue de 21.8%, cifra considerablemente mayor a lo reportado internacionalmente que oscila entre 2% y 13% en diferentes estudios. Identificamos seis combina-

ciones de genes alterados dentro del subgrupo IKZF1plus, siendo las dos más frecuentes, la delección de IKZF1 acompañada de la delección de CDKN2A/2B y la delección de IKZF1, acompañada de la delección de CDKN2A/2B y PAX5, estas dos combinaciones están presentes en más del 60% de los pacientes que tuvieron el biomarcador IKZF1plus (Garcia-Solorio y cols., 2024).

Los pacientes IKZF1plus positivos tuvieron una edad significativamente mayor al diagnóstico que los IKZF1plus negativos y fueron clasificados generalmente como de riesgo alto. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la distribución por sexo, el porcentaje de blastos en la médula ósea o el recuento de leucocitos al momento del diagnóstico entre los pacientes con el perfil IKZF1plus y aquellos que no lo presentaban(Garcia-Solorio y cols., 2024).

También evaluamos el impacto de la presencia del biomarcador IKZF1plus en la supervivencia global (SG) a cinco años. El grupo IKZF1plus mostró una SG significativamente menor a los 5 años, en comparación con el grupo N0-IKZF1plus ($p=0.009$). La SG también fue significativamente menor aún menor cuando el paciente con IKZF1plus fue clasificado como de riesgo alto por el médico tratante al momento del diagnóstico, debido a la presencia de otras variables clínicas asociadas a mal pronóstico(Garcia-Solorio y cols., 2024).

El análisis multivariado de regresión de Cox tuvo en cuenta además de la presencia del perfil IKZF1plus, otros factores clínicos adicionales, como la edad del paciente, el sexo, el recuento de glóbulos blancos, el porcentaje de células blásticas y la clasificación de riesgo en el momento del diagnóstico. El análisis reveló que tener el perfil IKZF1plus aumenta significativamente el riesgo de muerte en 3.7 veces ($HR = 3.7227$, $p = 0.02$), destacando su papel como factor independiente de predicción de mal pronóstico. Las otras variables incluidas en el modelo no demostraron un efecto estadísticamente significativo sobre el resultado(- Garcia-Solorio y cols., 2024).

Adicionalmente evaluamos la frecuencia y el tipo de mutaciones presentes en los genes IKZF1, PAX5, CDKN2A y CDKN2B que componen el perfil IKZF1plus y que se han reportado frecuentemente alterados en otras series de pacientes con LLA-B. El 35.9% de los pacientes estudiados tuvieron mutaciones en IKZF1 siendo las delecciones las alteraciones más frecuentes, presentes en el 86.5% de los casos positivos. La más común afecta a los exones 4 a 7 de IKZF1 (isoforma IK6) (39%), seguida por la delección completa del gen (31.2%). Mientras que la delección de los exones 1 a 8 se identificó sólo en el 7.9% de los casos. También se detectaron variantes estructurales concomitantes con las delecciones en el 54.7% de los pacientes con delecciones. En siete individuos sólo se identificó la variante estructural, en seis de ellos, la fracción alélica de la variante fue menor a 10% sugiriendo la presencia de dicha alteración sólo en una subclona y no en la clona leucémica principal. Se identificaron también algunos pacientes con más de una alteración como mutaciones de secuencia acompañadas en algunos casos de una delección o una variante estructural. La mayoría de estas mutaciones estaban ubicadas en la región que codifica el dominio de unión al ADN de la proteína codificada por IKZF1. La mutación puntual p.(Asn159Tyr), propuesta como un posible subgrupo nuevo de la LLA sólo fue identificada en dos casos, sugiriendo una baja frecuencia en nuestra población (García-Solorio y cols., 2024).

El 26.6% de los pacientes presentaron al menos una alteración de PAX5 (PAX5MUT). Estas alteraciones comprenden variaciones en el número de copias causadas por delecciones o ganancias de material genético parciales o totales y mutaciones de secuencias. Las delecciones fueron el tipo de alteración más frecuentemente identificado en PAX5 (75% de los casos con PAX5MUT). En el 63.4% de los casos, la delección afectó a varios exones del gen, más comúnmente del exón 2 al 5 o del exón 2 al 6 (14% de cada uno). En el 36.6% la delección afectó al gen completo (exones 1-10). En cuatro pacientes se identificó una amplificación intracromo-

sómica parcial del gen PAX5. Se identificaron un total de 17 mutaciones en la secuencia en PAX5 en 15 pacientes: cuatro mutaciones sin sentido, cinco mutaciones de cambio de sentido, una de ellas corresponde a p.(Pro80Arg), que se considera característica de un subgrupo particular de pacientes, siete mutaciones que originan cambios del marco de lectura del gen y una variante intrónica.¹ En ocho de ellos también estuvo presente una segunda alteración en PAX5: cuatro delecciones, dos mutaciones de secuencia y dos ganancias de material(Garcia-Solorio y cols., 2024).

En un paciente se identificó una variante de PAX5 con sospecha de ser de origen germinal heredada. Este caso se analizó por separado y se explica más adelante en este texto, ya que efectivamente la variante resultó heredada de la madre quien también padeció leucemia en la infancia y es el primer caso reportado en México de leucemia hereditaria.

En el 35.9% de los casos se identificó una delección que afecta simultáneamente a los genes CDKN2A y CDKN2B, los cuales se encuentran contiguos en el cromosoma, en la mayoría de los casos CDKN2B se eliminó total o parcialmente. La delección más frecuente en CDKN2A comprende de los exones 1 al 3 y se identificó en el 85.1% de los pacientes. En segundo lugar, estuvo la delección del exón 1, que se identificó en el 14.9% de los pacientes con delección en CDKN2A. Para CDKN2B, se identificaron delecciones de los exones 1 y 2 en el 87.7%, seguidas de la delección solo del exón 2 en el 12.3% de los casos(Garcia-Solorio y cols., 2024).

Una vez identificadas las mutaciones en cada uno de los genes se comparó la distribución por sexo, la edad y el re-

1. Nota al pie de página: las mutaciones sin sentido ocurren cuando el cambio de base genera la creación de un codón de paro prematuro en esa posición lo que acorta la proteína y probablemente la vuelva no funcional. La mutación con cambio de sentido son los cambios de bases que resultan en que se codifique un aminoácido distinto en esa posición. Los cambios de marco de lectura se dan cuando ocurre una delección o inserción de una o más bases, de cualquier longitud siempre que no sea en múltiplos de 3, que cambian la codificación de todos los aminoácidos a partir de ese punto.

uento de leucocitos en el momento del diagnóstico, el porcentaje de blastos y la asignación de riesgo entre pacientes positivos y negativos para mutaciones IKZF1, PAX5, CDKN2A/2B. La frecuencia de pacientes de alto riesgo y de mayores de 10 años al diagnóstico fue significativamente mayor en el grupo IKZF1 mutado. Mientras que los pacientes con CDKN2A/2B mutado tuvieron un recuento mayor de leucocitos al diagnóstico que los pacientes negativos para esta alteración ($p = 0.01$). Además, una proporción significativamente mayor de pacientes tenía más de 50% de blastos en el momento del diagnóstico en el grupo CDKN2A/2B mutado (98.6%) que en el grupo CDKN2A/2B negativo (89.7%) ($p = 0.05$). La presencia de mutaciones en PAX5 se asoció con una clasificación de alto riesgo al diagnóstico, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa (Garcia-Solorio y cols., 2024).

Sólo los grupos con IKZF1 ($p=0.02$) y CDKN2A/2B ($p=0.006$) mutados mostraron una disminución significativa de la SG a 5 años. Para determinar si el impacto negativo en la SG era conferido por la presencia de pacientes positivos para IKZF1plus en ambos grupos, excluimos a los pacientes con IKZF1plus del análisis de SG. Después de eliminar a estos pacientes, no se observaron diferencias significativas en la SG entre los grupos CDKN2A/2B o IKZF1 mutados y aquellos sin mutaciones en estos genes demostrando que la presencia del perfil IKZF1plus es el mayor contribuyente a la pobre SG(Garcia-Solorio y cols., 2024).

Identificación de la primera familia mexicana con una forma familiar de LLA-B

Aunque la mayoría de los casos de LLA son esporádicos, se han descrito formas familiares, heredadas como rasgos autosómicos dominantes, con penetrancia incompleta. El aumento del uso de metodologías de secuenciación genómica en el estudio de casos de LLA-B familiares y esporádicos ha llevado a la identificación de nuevos síndromes de

predisposición genética, asociados con un alto riesgo de desarrollar la enfermedad. Variantes patogénicas germinales en genes como PAX5, IKZF1 y ETV6 que se transmiten de padres a hijos, aumentan el riesgo de desarrollar LLA-B, a veces acompañado de síntomas crónicos como trombocitopenia, como en el caso de las enfermedades relacionadas con ETV6 (Gu y cols., 2019; Hyde & Liu, 2013; Noetzli y cols., 2015).

Adicionalmente, síndromes que incrementan el riesgo de desarrollar cáncer hereditario, como el Síndrome de Li-Fraumeni, y algunas condiciones genéticas aumentan el riesgo de malignidades hematológicas en niños. Los pacientes con predisposición hereditaria han sido considerados en la clasificación de la OMS como "leucemias agudas que ocurren en el contexto de un síndrome de predisposición hereditaria a cáncer" y deben ser identificados durante el proceso de abordaje diagnóstico inicial. Familiares del paciente, portadores de la variante, se encuentran también en riesgo de desarrollar cáncer y deben recibir asesoramiento genético para establecer medidas de vigilancia encaminadas a la detección precoz y a la reducción de exposiciones ambientales que aumentan el riesgo de desarrollar la enfermedad (Momota y cols., 2010; West y cols., 2014; Zhang y cols., 2015).

Durante la secuenciación de ADN para la identificación de mutaciones somáticas, realizada en nuestro trabajo, identificamos una paciente con una LLA-B de alto riesgo y una mutación en PAX5, cuya frecuencia alélica sugería que pudiera ser de origen germinal (García-Solorio y cols., 2024).

La historia familiar mostró que la madre de la paciente tuvo LLA-B de alto riesgo a los 16 meses de edad. Recibió quimioterapia y fue dada de alta a la edad de nueve años sin evidencia de recurrencia desde entonces. La presencia de leucemia en la paciente y su madre sugería una transmisión germinal de la enfermedad. Para confirmarlo realizamos secuenciación de exoma completo a partir del ADN obtenido de ambos individuos. Se identificó la variante heterocigota de PAX5

NM_016734.3:c.963del; p.(Ala322LeufsTer11) en el paciente y en su madre. No se identificaron otras variantes patogénicas en genes relacionados con síndromes de predisposición a cáncer, ni en otros genes que confieran riesgo para neoplasias hematológicas (García-Solorio y cols., 2024).

La variante p.(Ala322LeufsTer11) está clasificada como probablemente patogénica según los criterios del Colegio Americano de Genética Médica y Genómica. La delección de una base resulta en un cambio de marco de lectura del gen y en un codón de paro prematuro que provoca la pérdida del 15% de la secuencia (60 aminoácidos) del dominio de transactivación situado en el extremo carboxílico de la proteína codificada por PAX5. Es posible que esta variante origine la degradación del ARN por codón de paro prematuro, causando pérdida de función. De no ser así, la variante podría ocasionar que se produzca una proteína PAX5 anormal con un dominio de transactivación truncado y una cola de diez aminoácidos que no corresponde a la proteína PAX5 de tipo natural o silvestre. Esta proteína resultante, muy probablemente no sería funcional. La frecuencia poblacional de esta variante es muy baja ($f = 0.000037$) de acuerdo a la base de datos gnomAD, sólo ha sido identificada en nueve individuos asiáticos y europeos de un total de 242,998. Está ausente de los genomas de gnomAD y de una base de datos 470 individuos mexicanos disponible en a través de la plataforma Franklin de Genoxx² (García-Solorio y cols., 2024).

La variante p.(Ala322LeufsTer11) no ha sido reportada como una variante patogénica germinal en la base de datos ClinVar,

2. The Genome Aggregation Database (gnomAD) es un recurso creado por una coalición internacional de científicos con el fin de armonizar datos de secuenciación de genomas y exomas de grandes proyectos de secuenciación y hacer que las estadísticas de estos datos estén disponibles para la comunidad científica más amplia. En su versión 4 (v4) conjunta información de 730,947 exomas y 76,215 genomas completos de individuos no relacionados. Franklin es una plataforma que integra información pública sobre poblaciones, variantes y enfermedades y utiliza aprendizaje computacional para predecir el efecto de las variantes. ClinVar es una base de datos libre para la clasificación de variantes sobre su efecto en enfermedades y respuesta a fármacos sustentada por literatura científica.

ni en la versión profesional de la Base de Datos de Mutaciones del Genoma Humano por lo que es una variante nueva. Es la primera variante de desplazamiento de marco de lectura en PAX5 que aumenta el riesgo de LLA-B. Las variantes que causan pérdida de función son infrecuentes en el gen PAX5; se observa una restricción significativa para variantes de pérdida de función en la base de datos gnomAD(García-Solorio y cols., 2024).

La contribución de los síndromes germinales a la susceptibilidad de la leucemia podría estar subestimada en nuestra población ya que no se buscan sistemáticamente en los pacientes pediátricos con leucemia; a menos que una historia familiar, sugestiva de leucemia o anomalías hematológicas origine la sospecha. La existencia de variantes de novo o de baja penetrancia, enfermedades de aparición tardía e históricas familiares incompletos, contribuye a una falta de sospecha clínica en ciertos casos. Reconocer la predisposición hereditaria en pacientes pediátricos y adultos con cáncer es crucial para la detección temprana, prevención, tratamiento y manejo de los riesgos de salud asociados para mejorar los resultados en los individuos afectados y sus familias. Además, en pacientes con predisposición hereditaria a neoplasias hematológicas, se debería realizar la búsqueda de la variante patógena en donantes potencialmente relacionados si se considera un trasplante de médula ósea como parte del tratamiento de la enfermedad(García-Solorio y cols., 2024).

Es necesario aumentar la conciencia sobre los síndromes de predisposición neoplásica con un entendimiento más integral de los riesgos genéticos heredados en pacientes con leucemia. Incluir genes de predisposición para neoplasias hematológicas y tumores sólidos en los paneles multigénicos basados en secuenciación masiva que se utilizan para el perfilamiento tumoral así como la realización de estudios de secuenciación pareados con la secuenciación del ADN obtenido de tejido sano, son acciones que podrían contribuir a alcanzar este objetivo.

Variantes germinales que modifican la capacidad para metabolizar tiopurinas

La mercaptoperina es una tiopurina que se utiliza ampliamente en los protocolos de tratamiento de la LLA, durante la fase de mantenimiento, pero puede provocar mielosupresión severa, que origina la suspensión del tratamiento y provoca alto riesgo de infecciones, que en su conjunto ponen en riesgo la vida del paciente. Adicionalmente, esta complicación encarece el costo del tratamiento ya que requiere hospitalización en cuidados intensivos (Relling y cols., 2019).

El metabolismo de este fármaco es modificado por los alelos presentes en los genes TPMT y NUDT15 que codifican enzimas que participan en el mismo. Ciertas variantes genéticas presentes en la población y que se heredan en línea germinal, afectan la actividad enzimática y se asocian a un alto riesgo de desarrollar toxicidad a las dosis de tiopurinas empleadas habitualmente. La deficiencia de TPMT es la causa primaria de intolerancia a las tiopurinas en europeos y africanos, mientras que la deficiencia en NUDT15 explica la mayor parte de la mielotoxicidad en hispánicos y asiáticos (Relling y cols., 2019).

En las guías de práctica clínica internacionales para la LLA-B, se recomienda la determinación de los alelos presente en ambos genes, para identificar la capacidad metabólica del paciente y realizar un ajuste de dosis de mercaptoperina de acuerdo al genotipo de cada paciente. El ajuste de dosis se encuentra establecido en la guía de farmacogenómica, publicada para este fin. Un ajuste de dosis personalizado, disminuye el riesgo de desarrollar mielotoxicidad y las complicaciones asociadas (Relling y cols., 2019).

Durante el trabajo del Pronaii identificamos el genotipo presente en ambos genes en más de 215 pacientes pediátricos con LLA-B. En el gen NUDT15 se identificaron 4 diplotipos (*1/*1, *1/*2, *1/*3 y *1/*4) y 3 tipos metabólicos (metabolizadores normales, intermedios e indeterminados) en la po-

blación de estudio. El 81.7% de los pacientes corresponden a metabolizadores normales con genotipo *1/*1. El resto corresponde a pacientes con un metabolismo alterado en este gen: en el 11.5% se identificó el genotipo *1/*2 y en el 1.0% el genotipo *1/*3, ambos asociados a un metabolismo intermedio. Finalmente, en el 5.8% de los pacientes se identificó el genotipo *1/*4 que corresponde a un fenotipo metabolizador indeterminado hasta el momento.

Al comparar la frecuencia de los alelos de NUDT15 obtenida en nuestro pacientes con la reportada en estudios internacionales, observamos que la frecuencia varía por región geográfica y grupo étnico. La mayor frecuencia de alelos de tasa metabólica alterada en NUDT15 se encuentra en poblaciones asiáticas, donde han sido reconocidos como la causa principal de la mielotoxicidad por tiopurinas. Mientras que, en Europa, y Medio Oriente, las prevalencias son menores al 1%. En contraste, las poblaciones latinoamericanas mestizas muestran frecuencias que oscilan entre el 5.8% y el 18.3%, siendo la frecuencia reportada en nuestro estudio la más alta del continente americano hasta la fecha.

En el gen TPMT, identificamos la presencia de 3 diplotipos (*1/*1, *1/*3A y *1/*3C) y 2 tipos metabólicos (metabolizadores normales e intermedios) en la población de pacientes con LLA-B. El 90.23% de los pacientes corresponden a metabolizadores normales (genotipo *1/*1); el resto corresponden a metabolizadores alterados de los cuales el 8.84% presentó el diplotipo *1/*3A y el 0.93% el diplotipo *1/*3C, ambos asociados a una capacidad metabólica intermedia. La frecuencia de metabolizadores alterados es similar a lo reportado en población mestiza mexicana sana (8.5%) como resultado de estudios realizados en población abierta. Demostrando que la presencia de estas variantes alélicas no confiere riesgo para el desarrollo de la leucemia en nuestra población, solamente confieren riesgo de mielotoxicidad cuando se usan tiopurinas como la mercaptoperurina.

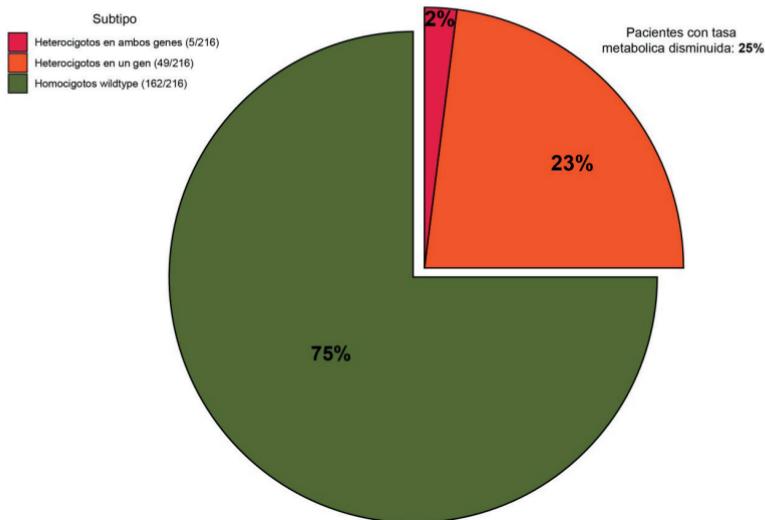


Figura 6.2. Distribución de los pacientes con LLA-B de acuerdo con la tasa metabólica alterada en cualquiera de los dos genes.

6

El análisis comparativo de las frecuencias de los alelos de TPMT en poblaciones provenientes de diferentes regiones geográficas, sugiere que los alelos de baja tasa metabólica están presentes en la población mexicana actual, debido al proceso de mestizaje con poblaciones de origen europeo y africano, donde estos alelos muestran la mayor frecuencia, mientras que en poblaciones asiáticas la frecuencia es muy baja.

En resumen, combinando la frecuencia de metabolizadores alterados en ambos genes, evidenciamos que el 25% de los pacientes con LLA-B analizados presentan riesgo de toxicidad por una tasa metabólica disminuida, al ser portadores de al menos un alelo asociado a una actividad enzimática disminuida, ausente o indeterminada en cualquiera de los dos genes (Fig. 6.2). En el 2.31% de los casos se presentaron variantes alélicas asociadas a metabolismo alterado en ambos genes simultáneamente. Para estos casos no existe una recomendación sobre el ajuste de dosis y se sugiere evitar el medicamento si es posible, o utilizar dosis muy bajas y mantener una vigilancia muy estrecha para detectar tempranamente síntomas de mielotoxicidad.

CONCLUSIONES

La clasificación actual de la LLA-B se fundamenta en la identificación de alteraciones genéticas o perfiles de expresión que sirven como biomarcadores con utilidad clínica para mejorar la estratificación de riesgo y facilitar la elección del tratamiento. La clasificación se actualiza regularmente, integrando los hallazgos de estudios genómicos y transcriptómicos. Por ejemplo, la clasificación de la OMS en 2016 reconocía 8 subtipos moleculares y 2 provisionales, mientras que en 2022 se identificaron 13 subtipos moleculares y al menos 6 entidades provisionales. Por otro lado, el Consenso Internacional para la clasificación de LLA reconoce al menos 21 subtipos y 5 provisionales.

La sobrevida global en la LLA-B pediátrica ha mostrado un notable aumento a nivel mundial, alcanzando tasas del 90-95% en los últimos años (Malard G Mohty, 2020). Sin embargo, en México, esta cifra se sitúa en un rango mucho más bajo, aproximadamente del 60%-65%. Esta disparidad representa un desafío multifacético que involucra factores socioeconómicos, como el acceso limitado a la atención médica, lo que impacta tanto en la detección temprana como en la disponibilidad de tratamientos efectivos (Moreira y cols., 2023; Muñoz-Aguirre y cols., 2021). Además, se suman factores propios de la enfermedad, como la frecuente presencia de alteraciones moleculares asociadas a un mal pronóstico, el riesgo elevado de toxicidad al tratamiento debido a ciertos polimorfismos germinales frecuentes, y una clasificación subóptima de la enfermedad, principalmente basada en variables clínicas e inmunofenotipos. La identificación sistemática de biomarcadores de utilidad clínica en nuestros pacientes a través de plataformas genómicas es crucial para mejorar los resultados en la enfermedad y fomentar la investigación diversa y equitativa. Asimismo, un entendimiento biológico más profundo de la enfermedad en nuestros pacientes podría mejorar significativamente las tasas de sobrevida y curación, abordando así la prioridad constante de reducir la mortalidad por leucemia infantil en nuestro país.

REFERENCIAS

- Alaggio, R., Amador, C., Anagnostopoulos, I., Attygalle, A. D., Araujo, I. B. de O., Berti, E., Bhagat, G., Borges, A. M., Boyer, D., Calaminici, M., Chadburn, A., Chan, J. K. C., Cheuk, W., Chng, W.-J., Choi, J. K., Chuang, S.-S., Coupland, S. E., Czader, M., Dave, S. S., ... Xiao, W. (2022). The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia, 36(7), 1720–1748. <https://doi.org/10.1038/s41375-022-01620-2>
- Bekker-Méndez, V. C., Miranda-Peralta, E., Núñez-Enríquez, J. C., Olarte-Carrillo, I., Guerra-Castillo, F. X., Pompa-Mera, E. N., Ocaña-Mondragón, A., Rangel-López, A., Bernáldez-Ríos, R., Medina-Sanson, A., Jiménez-Hernández, E., Amador-Sánchez, R., Peñaloza-González, J. G., de Diego Flores-Chapa, J., Fajardo-Gutiérrez, A., Flores-Lujano, J., Rodríguez-Zepeda, M. del C., Dorantes-Acosta, E. M., Bolea-Murga, V., ... Mejía-Aranguré, J. M. (2014). 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 Research International, 2014, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2014/210560>
- Brady, S. W., Roberts, K. G., Gu, Z., Shi, L., Pounds, S., Pei, D., Cheng, C., Dai, Y., Devidas, M., Qu, C., Hill, A. N., Payne-Turner, D., Ma, X., Iacobucci, I., Baviskar, P., Wei, L., Arunachalam, S., Hagiwara, K., Liu, Y., ... Mullighan, C. G. (2022). The genomic landscape of pediatric acute lymphoblastic leukemia. Nature Genetics, 54(9), 1376–1389. <https://doi.org/10.1038/s41588-022-01159-z>
- Daniel-Cravioto, A., Gonzalez-Bonilla, C. R., Mejia-Arangure, J. M., Daniel-Cravioto, A., Gonzalez-Bonilla, C. R., Mejia-Arangure, J. M., Perez-Saldivar, M. L., Fajardo-Gutierrez, A., Jimenez-Hernandez, E., Hernandez-Serrano, M., & Bekker-Mendez, V. C. (2009). Genetic rearrangement MLL/AF4 is most frequent in children with acute lymphoblastic leukemias in Mexico City. Leukemia & Lymphoma, 50(8), 1352–1360. <https://doi.org/10.1080/10428190903015636>
- Duffield, A. S., Mullighan, C. G., & Borowitz, M. J. (2023). International Consensus Classification of acute lymphoblastic leukemia/lymphoma. Virchows Archiv, 482(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s00428-022-03448-8>
- García-Solorio, J., Martínez-Villegas, O., Rodríguez-Corona, U., Molina-Garay, C., Jiménez-Olivares, M., Carrillo-Sánchez, K., Mendoza-Caamal, E. C., Muñoz-Rivas, A., Villegas-Torres, B. E., Cervera, A., Flores-Lagunes, L. L., & Alaez-Verson, C. (2024). Case report: A familial B-acute lymphoblastic leukemia associated with a new germline pathogenic variant in PAX5. The first report in Mexico. Frontiers in Oncology, 14. <https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1355335>
- Garcia-Solorio, J., Núñez-Enriquez, J. C., Jiménez-Olivares, M., Flo-

- res-Lujano, J., Flores-Espino, F., Molina-Garay, C., Cervera, A., Cásique-Aguirre, D., Peñaloza-Gonzalez, J. G., Baños-Lara, Ma. D. R., García-Soto, Á., Galván-Díaz, C. A., Olaya-Vargas, A., Aguilar, H. F., Mata-Rocha, M., Garrido-Hernández, M. Á., Solís-Poblan, J. C., Luna-Silva, N. C., Cano-Cuapio, L. S., ... Alaez-Verson, C. (2024). IKZF1plus is a frequent biomarker of adverse prognosis in Mexican pediatric patients with B-acute lymphoblastic leukemia. *Frontiers in Oncology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1337954>
- Gu, Z., Churchman, M. L., Roberts, K. G., Moore, I., Zhou, X., Nakitandwe, J., Hagiwara, K., Pelletier, S., Gingras, S., Berns, H., Payne-Turner, D., Hill, A., Iacobucci, I., Shi, L., Pounds, S., Cheng, C., Pei, D., Qu, C., Newman, S., ... Mullighan, C. G. (2019). PAX5-driven subtypes of B-progenitor acute lymphoblastic leukemia. *Nature Genetics*, 51(2), 296–307. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0315-5>
- Hong, M., Tao, S., Zhang, L., Diao, L.-T., Huang, X., Huang, S., Xie, S.-J., Xiao, Z.-D., & Zhang, H. (2020). RNA sequencing: new technologies and applications in cancer research. *Journal of Hematology & Oncology*, 13(1), 166. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-01005-x>
- Hyde, R. K., & Liu, P. P. (2013). Germline PAX5 mutations and B cell leukemia. *Nature Genetics*, 45(10), 1104–1105. <https://doi.org/10.1038/ng.2778>
- Malard, F., & Mohty, M. (2020). Acute lymphoblastic leukaemia. *The Lancet*, 395(10230), 1146–1162. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)33018-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)33018-1)
- Mandelker, D., Zhang, L., Kemel, Y., Stadler, Z. K., Joseph, V., Zehir, A., Pradhan, N., Arnold, A., Walsh, M. F., Li, Y., Balakrishnan, A. R., Syed, A., Prasad, M., Nafa, K., Carlo, M. I., Cadoo, K. A., Sheehan, M., Fleischut, M. H., Salo-Mullen, E., ... Offit, K. (2017). Mutation Detection in Patients With Advanced Cancer by Universal Sequencing of Cancer-Related Genes in Tumor and Normal DNA vs Guideline-Based Germline Testing. *JAMA*, 318(9), 825. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.11137>
- Momota, H., Nariata, Y., Miyakita, Y., Hosono, A., Makimoto, A., & Shibusi, S. (2010). Acute lymphoblastic leukemia after temozolomide treatment for anaplastic astrocytoma in a child with a germline TP53 mutation. *Pediatric Blood & Cancer*, 55(3), 577–579. <https://doi.org/10.1002/pbc.22542>
- Moreira, D. C., González-Ramella, O., Echavarría Valenzuela, M., Carriollo, A. K., Faughnan, L., Job, G., Chen, Y., Villegas, C., Ellis Irigoyen, A., Barra Urbays, R., Ramírez Martínez, M., Altamirano Alvarez, E., León Espitia, J. A., López Facundo, N. A., Colunga Pedraza, J. E., Reyes Gutierrez, F. de M., Aguilar Román, A. B., Tamez Gómez, E. L., Portillo Zavala, C. S., ... Friedrich, P. (2023). Evaluation of factors leading to poor outcomes for pediatric acute lymphoblastic leukemia in Mexico: a multi-institutional report of 2,116 patients. *Frontiers in Oncology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1255555>
- Mullighan, C. G., Goorha, S., Radtke, I., Miller, C. B., Coustan-Smith, E.,

- Dalton, J. D., Girtman, K., Mathew, S., Ma, J., Pounds, S. B., Su, X., Pui, C.-H., Relling, M. V., Evans, W. E., Shurtliff, S. A., & Downing, J. R. (2007). Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*, 446(7137), 758–764. <https://doi.org/10.1038/nature05690>
- Muñoz-Aguirre, P., Huerta-Gutierrez, R., Zamora, S., Mohar, A., Vega-Vega, L., Hernández-Ávila, J. E., Morales-Carmona, E., Zapata-Tarres, M., Bautista-Arredondo, S., Perez-Cuevas, R., Rivera-Luna, R., Reich, M. R., & Lajous, M. (2021). Acute Lymphoblastic Leukemia Survival in Children Covered by Seguro Popular in Mexico: A National Comprehensive Analysis 2005–2017. *Health Systems and Reform*, 7(1), e1914897. <https://doi.org/10.1080/23288604.2021.1914897>
- Noetzli, L., Lo, R. W., Lee-Sherick, A. B., Callaghan, M., Noris, P., Savoia, A., Rajpurkar, M., Jones, K., Gowan, K., Balduini, C. L., Pecci, A., Gnan, C., De Rocco, D., Doubek, M., Li, L., Lu, L., Leung, R., Landolt-Marticorena, C., Hunger, S., ... Di Paola, J. (2015). Germline mutations in ETV6 are associated with thrombocytopenia, red cell macrocytosis and predisposition to lymphoblastic leukemia. *Nature Genetics*, 47(5), 535–538. <https://doi.org/10.1038/ng.3253>
- Pérez-Vera, P., Salas, C., Montero-Ruiz, O., Frías, S., Dehesa, G., Jarquín, B., & Rivera-Luna, R. (2008). Analysis of gene rearrangements using a fluorescence in situ hybridization method in Mexican patients with acute lymphoblastic leukemia: experience at a single institution. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 184(2), 94–98. <https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2008.04.003>
- Relling, M. V., Schwab, M., Whirl-Carrillo, M., Suarez-Kurtz, G., Pui, C., Stein, C. M., Moyer, A. M., Evans, W. E., Klein, T. E., Antillon-Klussmann, F. G., Caudle, K. E., Kato, M., Yeoh, A. E. J., Schmiegelow, K., & Yang, J. J. (2019). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for Thiopurine Dosing Based on `<scp>TPMT</scp>` and `<scp>NUDT</scp>` 15 Genotypes: 2018 Update. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 105(5), 1095–1105. <https://doi.org/10.1002/cpt.1304>
- Roberts, K. G., Li, Y., Payne-Turner, D., Harvey, R. C., Yang, Y.-L., Pei, D., McCastlain, K., Ding, L., Lu, C., Song, G., Ma, J., Becksfort, J., Rusch, M., Chen, S.-C., Easton, J., Cheng, J., Boggs, K., Santiago-Morales, N., Iacobucci, I., ... Mullighan, C. G. (2014). Targetable Kinase-Activating Lesions in Ph-like Acute Lymphoblastic Leukemia. *New England Journal of Medicine*, 371(11), 1005–1015. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1403088>
- Schmäh, J., Fedders, B., Panzer-Grümayer, R., Fischer, S., Zimmermann, M., Dagdan, E., Bens, S., Schewe, D., Moericke, A., Alten, J., Bleckmann, K., Siebert, R., Schrappe, M., Stanulla, M., & Cario, G. (2017). Molecular characterization of acute lymphoblastic leukemia with high CRLF2 gene expression in childhood. *Pediatric Blood & Cancer*, 64(10). <https://doi.org/10.1002/pbc.26539>

- Shah B, Mattison RJ, Abboud R, Abdelmessieh P, Aldoss I, Burke PW, DeAngelo DJ, Dinner S, Fathi AT, Gauthier J, Haddadin M, Jain N, Jonas B, Kirby S, Liedtke M, Litzow M, Logan A, Long M, Luger S, Mangan JK, Massaro S, May W, Oluwole O, Park J, Przespolewski A, Rangaraju S, Saygin C, Schwartz M, Shami P, Tomlinson B, Webster J, Awotiwon A, Stehman K. NCCN Guidelines Version 2.2024 Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Natl Compr Canc Netw.* 2024;22(8):563-576. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2024.0051>.
- Stanulla, M., Dagdan, E., Zaliova, M., Mörck, A., Palmi, C., Cazzaniga, G., Eckert, C., Te Kronnie, G., Bourquin, J.-P., Bornhauser, B., Koehler, R., Bartram, C. R., Ludwig, W.-D., Bleckmann, K., Groeneweld-Krentz, S., Schewe, D., Junk, S. V., Hinze, L., Klein, N., ... International BFM Study Group. (2018). IKZF1plus Defines a New Minimal Residual Disease-Dependent Very-Poor Prognostic Profile in Pediatric B-Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 36(12), 1240–1249. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.74.3617>
- Tran, T. H., Langlois, S., Meloche, C., Caron, M., Saint-Onge, P., Rouette, A., Bataille, A. R., Jimenez-Cortes, C., Sontag, T., Bittencourt, H., Laverdière, C., Lavallée, V.-P., Leclerc, J.-M., Cole, P. D., Gennarini, L. M., Kahn, J. M., Kelly, K. M., Michon, B., Santiago, R., ... Sinnett, D. (2022). Whole-transcriptome analysis in acute lymphoblastic leukemia: a report from the DFCI ALL Consortium Protocol 16-001. *Blood Advances*, 6(4), 1329–1341. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2021005634>
- West, A. H., Godley, L. A., & Churpek, J. E. (2014). Familial myelodysplastic syndrome/acute leukemia syndromes: a review and utility for translational investigations. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1310(1), 111–118. <https://doi.org/10.1111/nyas.12346>
- Zhang, J., Walsh, M. F., Wu, G., Edmonson, M. N., Gruber, T. A., Easton, J., Hedges, D., Ma, X., Zhou, X., Yergeau, D. A., Wilkinson, M. R., Vadodaria, B., Chen, X., McGee, R. B., Hines-Dowell, S., Nuccio, R., Quinn, E., Shurtleff, S. A., Rusch, M., ... Downing, J. R. (2015). Germline Mutations in Predisposition Genes in Pediatric Cancer. *New England Journal of Medicine*, 373(24), 2336–2346. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1508054>

Capítulo 7

Identificación de biomarcadores de mal pronóstico en leucemia linfoblástica aguda B



Michael Schnoor,
M. Víctor M. Correa Lara,
Joseph Adomako,
Hilda Vargas Robles

¿QUÉ ES LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA DE CÉLULAS B (LLA-B)?

El tejido hematopoyético en la médula ósea de nuestros huesos produce los tres linajes sanguíneos: glóbulos rojos (eritrocitos), glóbulos blancos (leucocitos) y plaquetas, en un proceso llamado hematopoyesis. Dentro de la médula ósea se lleva a cabo también el proceso de proliferación, diferenciación y maduración de los leucocitos a partir de células troncales hematopoyéticas (CTH) (Davine y Larson, 1994). La hematopoyesis está finamente regulada a través de genes que determinan la expresión de receptores en la membrana celular cuya función es activar vías de señalización que participan en la regulación de la proliferación, maduración, adhesión, migración, y muerte celular, así como de factores de transcripción que regulan el desarrollo y la función de las CTH y definen el linaje celular (Domínguez-Pantoja y cols., 2015). Como todo proceso biológico, la hematopoyesis es susceptible de daño tanto por la exposición a factores externos como la radiación ionizante, infecciones por ciertos virus, tratamientos de quimioterapia, contaminantes ambientales como el benceno, y plaguicidas entre otros; y por factores internos como alteraciones genéticas que pueden llegar a desarrollar enfermedades como la leucemia (Zapata-Tarrés, y cols., 2021).

Leucemia es un término general para nombrar el cáncer de las células de la sangre, causada por la rápida producción de leucocitos anormales. Existen diferentes tipos de leucemias según el tipo de célula afectada; la leucemia linfocítica se refiere a la transformación maligna de las CTH que dará origen a los linfocitos B o T leucémicos. La leucemia mieloide se refiere a la transformación maligna de las CTH que dará origen al linaje mieloide que incluye monocitos, mastocitos, basófilos, neutrófilos, y eosinófilos. Las leucemias pueden ser agudas o crónicas. Las leucemias agudas son tumores malignos de células hematopoyéticas inmaduras, que se multiplican rápidamente.

mente y que si no se tratan a tiempo pueden provocar la muerte en semanas, mientras que las leucemias crónicas son células parcialmente maduras y de crecimiento lento (Nemkov, y cols., 2018).

La leucemia linfoblástica aguda de precursores de células B (LLA-B) es el cáncer más común en niños y adolescentes. LLA-B es un tipo de cáncer generado por la transformación maligna y proliferación no controlada de los precursores de células B, llamados linfoblastos. Se caracteriza por una diferenciación anormal y sobrevida prolongada de estas células dentro de la médula ósea (> del 20% de blastos en la médula ósea), desplazando a las células normales y alterando su hematopoyesis (Devine y Larson, y cols., 1994; Juárez-Avendaño y cols., 2021). Los síntomas característicos de la LLA-B son anemia, cansancio, hemorragias, hematomas espontáneos, infecciones y fiebre, resultado de la disminución en la producción y movilización de eritrocitos, plaquetas y linfocitos B normales. Cabe mencionar que los linfoblastos malignos pueden salir de la médula ósea a circulación sanguínea e infiltrar diversos órganos incluyendo el sistema nervioso central, ganglios linfáticos, hígado, bazo, testículos y la piel, provocando hepatomegalia, esplenomegalia, adenomegalia, dolor de cabeza, estado mental alterado, alteración visual y auditiva (Devine y Larson, y cols., 1994). Es importante mencionar que esta infiltración de órganos es un mal pronóstico de sobrevida (Fen, y cols., 2019), y es esencial identificar pacientes con alto riesgo de desarrollar estas complicaciones de mal pronóstico para poder adaptar su tratamiento y mejorar sus chances de sobrevivir la enfermedad.

Dada la gran relevancia de la LLA-B para la salud pública, el Conahcyt ha establecido programas como el Proyecto Nacional de Investigación e Incidencia (Pronaii) de Leucemias Infantiles, que tiene como objetivo identificar las razones por las altas incidencias, mejorar el tratamiento, y reducir las muertes prematuras en niños con leucemia en regiones vulnerables del país.

TRATAMIENTOS DE LA LLA-B

Para diseñar un plan de tratamiento para un paciente recién diagnosticado con LLA-B, es crucial realizar una clasificación inicial basada en el riesgo de recaída, que define el pronóstico del paciente. Esta clasificación se realiza considerando varios factores, como la edad, el recuento total de leucocitos en sangre periférica, la afectación del sistema nervioso central (SNC) o los testículos al momento del diagnóstico, la presencia de mutaciones específicas (cambios en la información contenida en el material genético), y la respuesta al tratamiento inicial. Los pacientes se clasifican en tres grupos de riesgo: estándar, alto y muy alto. El grupo de riesgo determina la intensidad del tratamiento, siendo los grupos de mayor riesgo los que reciben tratamientos más agresivos (Malard & Mohty, 2020).

La quimioterapia de inducción tiene como objetivo erradicar la enfermedad y restaurar la hematopoyesis normal, con el fin de lograr una remisión completa, que se define como un porcentaje $<5\%$ de linfoblastos en médula ósea, identificados por microscopia, sin linfoblastos circulantes en sangre periférica ni enfermedad extramedular y una enfermedad medible residual (EMR) negativa. La EMR se define por un porcentaje de $<0.01\%$ de linfoblastos en médula ósea identificados por una técnica conocida como citometría de flujo. Este tratamiento se basa en una combinación de medicamentos que generalmente incluye un glucocorticoide, vincristina, L-asparaginasa y una antraciclina. Los glucocorticoides inducen apoptosis (muerte celular) en los linfoblastos disminuyendo la carga de la enfermedad. La vincristina inhibe la formación de microtúbulos, lo que impide la mitosis (división celular), la L-asparaginasa degrada la asparagina, un aminoácido esencial para la supervivencia de los linfoblastos y las antraciclinas inhiben la replicación del ADN (duplicación del material genético), que induce la apoptosis de los linfoblastos. Una vez alcanzada la remisión completa, el segundo paso del régimen de tratamiento es la consolidación, también llamada

fase de intensificación, que tiene como objetivo profundizar la remisión, que consiste en varios ciclos cortos y secuenciales de quimioterapia administrados cada 2 semanas. Los medicamentos utilizados en esta fase suelen incluir catarabina, dosis altas de metotrexato, vincristina, asparaginasa, mercaptopurina, y glucocorticoides, durante un período de 12 semanas. Posteriormente, como parte de la consolidación, se lleva a cabo una fase de intensificación tardía, que incluye una combinación similar de fármacos utilizados durante la inducción. El trasplante de células hematopoyéticas (TCH) sigue siendo el tratamiento de consolidación de excelencia en pacientes de alto riesgo si existe un donante compatible.

Finalmente, el tratamiento de mantenimiento consiste en la administración diaria de mercaptopurina y semanal de metotrexato, con o sin vincristina, y pulsos de glucocorticoides cada uno a tres meses. Esta fase se prolonga durante 2 a 3 años después de la inducción (Malard & Mohty, 2020; Truong y cols., 2021).

En los países desarrollados, aproximadamente el 90% de los niños con LLA-B logran la supervivencia a largo plazo con el enfoque actual de tratamiento, y solo un pequeño porcentaje presenta una enfermedad que no responde al tratamiento inicial (refractaria), o que recurre después de lograr una remisión completa (recaída). Sin embargo, en México, se observa una mayor frecuencia de recaídas (26.2%). Este grupo es de especial interés debido a la considerable reducción en la supervivencia a largo plazo (Hunger y cols., 2012), con una tasa de mortalidad en México 1.8 veces superior a la media mundial.

La recaída es una complicación severa de la LLA con mal pronóstico

El pronóstico de los pacientes pediátricos con LLA-B en recaída es desfavorable, ya que solo entre el 30% y el 50% de los pacientes logra la supervivencia a largo plazo. La duración de

la primera remisión completa y el sitio de recaída son factores determinantes. La recaída temprana, es decir, dentro de los 36 meses posteriores a la remisión completa, se asocia con desenlaces menos favorables. Por otro lado, una recaída aislada del SNC es más favorable que la recaída combinada del SNC y la médula ósea o la recaída aislada de la médula ósea. El TCH en pacientes con un donante disponible es la primera opción de tratamiento para la recaída temprana de la LLA-B, logrando una remisión completa más prolongada en comparación con la quimioterapia sola, aunque las tasas de supervivencia a 5 años aún son inferiores al 50%, esto a consecuencia de los efectos secundarios al trasplante como la enfermedad inerto contra huésped (EICH) y el persistente riesgo de recaída donde dependiendo del riesgo, la supervivencia libre de enfermedad a los 5 años puede variar entre 33% al 68%. La eficacia de la terapia con células T con receptor de antígeno químérico (CAR-T) y otras terapias blanco con anticuerpos monoclonales (terapia dirigida contra una proteína específica de superficie) sigue siendo incierta en términos de mantener la remisión a largo plazo sin un TCH (Malard & Mohty, 2020; Teachey & Hunger, 2013).

El pronóstico de la LLA-B empeora considerablemente con la segunda recaída en comparación con la primera, y el tratamiento se basa en la terapia previamente recibida. Si bien el TCH es crucial para el tratamiento tras la primera recaída, su acceso en México enfrenta desafíos significativos. Entre estos desafíos se encuentran la falta de infraestructura necesaria para realizar el trasplante en regiones vulnerables y la carencia de recursos adecuados para evaluar el riesgo de recaída y la necesidad de trasplante. El tiempo transcurrido entre el trasplante (si se ha realizado) y la recaída posterior es un factor pronóstico fundamental, con mejores resultados para aquellos que recaen después de un período prolongado y se someten a un segundo trasplante en remisión. Otra opción de tratamiento es la terapia con células CAR-T, pero aún no ha sido aprobada a nivel nacional por la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (Cofepris) y cuya dis-

ponibilidad en México es limitada. Debido a estos factores, la supervivencia a largo plazo en casos de recaídas múltiples ha sido históricamente baja, y en muchos casos se ofrece terapia paliativa para aliviar los síntomas (Sedig y cols., 2021).

Como se mencionó anteriormente un porcentaje significativo de los pacientes con LLA-B pediátrica recaerán, resultando en un pronóstico malo. Sin embargo, los avances recientes de las investigaciones en el campo de las leucemias han permitido el descubrimiento de biomarcadores que prometen mejorar la precisión en la estratificación del riesgo de recaída y, finalmente, mejorar el resultado clínico general.

Importancia de biomarcadores para identificar pacientes de mal pronóstico con riesgo de sufrir recaída

La identificación de biomarcadores novedosos para pacientes de mal pronóstico y riesgo de recaída es esencial, especialmente en México, donde la infraestructura para analizar estos marcadores es limitada en las instituciones públicas. Esto implica una clasificación inicial insuficiente, lo que afecta la personalización del tratamiento y, consecuentemente, los resultados clínicos. En este contexto, es crucial buscar nuevos factores pronósticos específicos para la población mexicana, pues existen diferencias en la prevalencia y el impacto de ciertos biomarcadores genéticos y inmunofenotípicos en comparación con otras poblaciones. La recurrencia de la leucemia y la mortalidad en México, que superan la media mundial, subrayan la necesidad de desarrollar y aplicar tecnologías de biología molecular y citometría de flujo en estudios nacionales. La implementación de estos biomarcadores permitiría individualizar las terapias, anticipar riesgos específicos de recaída y mejorar la supervivencia y calidad de vida en los pacientes con LLA-B en el país. Entre las anomalías más significativas encontramos las alteraciones numéricas y estructurales de los cromosomas. Los cromosomas son estructuras que se encuentran dentro del núcleo de las células y que contienen todo el material genético. De forma normal, cada cé-

lula contiene 46 cromosomas. La hiperdiploidía, caracterizada por la presencia de más de 46 cromosomas, es la alteración más frecuente en la población pediátrica con LLA-B. La hiperdiploidía alta (>50 cromosomas) presente en un 30% de LLA-B infantil se asocia con un mejor pronóstico y mayores tasas de curación, aunque aún existe un riesgo significativo de recaída. Por otro lado, la hiperdiploidía baja (46-50 cromosomas) presente en un 10-11% de LLA-B infantil se vincula con peores desenlaces clínicos. La hipodiploidía caracterizada por la pérdida de uno o más cromosomas, presente en un 5% de LLA-B infantil, tiene un pronóstico precario, especialmente en pacientes con hipodiploidia casi haploide (24-29 cromosomas) e hipodiploidia baja (30-39 cromosomas) (Alaggio y cols., 2022).

Otras alteraciones frecuentes son los genes de fusión, que ocurre como resultado de la unión anómala de dos segmentos del material genético y pueden ser consecuencia de una traslocación cromosómica (unión anómala de dos segmentos de los cromosomas). La fusión ETV6::RUNX1, resultado de la translocación de los cromosomas 12 y 21 está presente en 25 a 30% de las LLA-B pediátricas, y es una de las alteraciones genéticas más frecuentes a nivel mundial. En México, su prevalencia es baja en 10.5% (Mata Rocha y cols., 2022) y se asocia con un pronóstico excelente, incluso en presencia de otras anomalías genéticas. La fusión BCR::ABL1 resultado de la translocación de los cromosomas 9 y 22, también conocida como LLA-B Philadelphia (Ph+), presente en el 3.3% de las LLA-B infantiles en la población mexicana (Mata Rocha y cols., 2022), se asocia con un incremento en la vía de señalización de tirosina-cinasas como MAPK, JAK y PI3K/AKT, resultando en un incremento en la proliferación y supervivencia celular. Sin embargo, a pesar de los avances terapéuticos recientes (inhibidores de tirosina-cinasas), la LLA-B (Ph+) sigue teniendo un pronóstico malo. Los genes de fusión TCF3::HLF y IgH::IL3 tienen un pronóstico particularmente malo. La fusión TCF3::HLF resultado de la translocación de los cromosomas 17 y 19, presente en el 1% de la LLA-B pediátrica, se asocia con una pa-

tología conocida como coagulación intravascular diseminada (CID), y la fusión IgH::IL3, resultado de la translocación de los cromosomas 5 y 14 presente en cerca del 2% de la LLA-B pediátrica y se asocia con una producción incrementada de IL3 y eosinófilos (Alaggio y cols., 2022; Lejman y cols., 2022).

El gen KMT2A tiene más de 90 versiones de fusión y está presente en el 80% de los bebés con LLA-B. Se asocian con un pronóstico pobre, especialmente en lactantes. La fusión del gen CRLF2 se observa en el 5% de los casos de LLA-B pediátrica especialmente en la LLA-B asociada al síndrome de Down y se asocia con un mal pronóstico. Finalmente, la fusión del gen DUX4 se observa en el 4-7 % de los casos de LLA-B pediátrica y se relaciona con un pronóstico excelente. La detección y descripción de los biomarcadores genéticos, requiere de aplicación de tecnologías de biología molecular como la secuenciación de nueva generación, secuenciación del genoma completo, secuenciación del transcriptoma (RNA-seq) y análisis de delección-duplicación. (Alaggio y cols., 2022; Lejman y cols., 2022).

Otro tipo de biomarcadores, conocidos como biomarcadores inmunofenotípicos, provienen de la identificación específica de proteínas en la superficie o dentro de las células. Este método de diagnóstico, denominado inmunofenotipificación, se realiza mediante citometría de flujo. Estos biomarcadores tienen un importante valor pronóstico, principalmente por su capacidad para predecir ciertos tipos de mutaciones. Entre los más relevantes inmunofenotipos alterados se encuentran la presencia de la proteína de membrana CD371 asociada con la fusión del gen DUX4 (buen pronóstico), y la expresión de CD25 asociada con la LLA-B Ph+ (pronóstico malo). La alta expresión de CD45 en la superficie de las células LLA-B tiene un pronóstico malo en la LLA-B. Por otro lado, la expresión de CD19 y CD22 es clave para el éxito de la terapia con anticuerpos monoclonales como el blinatumomab dirigido contra CD19, y la terapia con CAR-T como el tisagenlecleucel dirigido contra CD19 o contra CD22 (Ohki y cols., 2020).

Como se mencionó anteriormente, en México, se observa una mayor frecuencia de recaídas (26.2%) y una mayor tasa de mortalidad (1.8 veces superior a la media mundial), por lo que es fundamental desarrollar nuevos biomarcadores específicos para la población mexicana que permitan individualizar el tratamiento y mejorar los resultados clínicos.

NUEVOS BIOMARCADORES IDENTIFICADOS EN NUESTRO PRONAI

El pronóstico de la LLA-B también depende del comportamiento y de la capacidad migratoria de los linfoblastos. La migración es un proceso esencial para colonizar la médula ósea y diseminarse a otros órganos del cuerpo. Esta característica distintiva de la enfermedad depende de la habilidad de las células leucémicas para generar fuerza de tracción a través del citoesqueleto de actina.

La cortactina es una proteína que se une al citoesqueleto de actina, participando en diversas funciones celulares que implican la reordenación del citoesqueleto (Schnoor y cols., 2018). El citoesqueleto de actina preserva la forma de la célula y realiza funciones como la adhesión y migración celular (Bandela y cols., 2022). Está compuesto por filamentos de actina que pueden formar redes ramificadas, generando así la fuerza necesaria para el movimiento celular. La cortactina es esencial para la generación y estabilización de estas redes ramificadas de actina y, por ende, para la migración celular (Fregoso y cols., 2023).

Debido a su importancia en la migración celular, la cortactina ha sido estudiada en muchas células, pero nunca en el contexto de la LLA-B. Nuestro grupo de trabajo demostró que la cortactina se expresa en niveles elevados en las células B de pacientes con LLA-B en comparación con individuos sanos. El análisis de los datos clínicos destacó una asociación entre los niveles elevados de cortactina y la recaída en pacientes con LLA-B de alto riesgo y resistentes a los medicamentos. Además, demostramos que los

niveles elevados de cortactina promueven una mayor migración de los linfoblastos. En ratones inmunodeficientes, se inyectaron células leucémicas humanas con y sin expresión de cortactina. Después de tres semanas, se analizaron los distintos órganos de los ratones para determinar la presencia de células leucémicas. Este método, conocido como xenotrasplante, mostró que sólo las células leucémicas que expresaban cortactina tenían la capacidad de infiltrar órganos (Velázquez-Avila y cols., 2018). Por lo anterior, hemos descubierto que la cortactina participa en la progresión de la LLA-B y que sus altos niveles pueden estar relacionados con un mal pronóstico. El análisis de los niveles de cortactina en pacientes pediátricos con LLA-B podría permitir una predicción más precisa del riesgo del paciente y la identificación de las células responsables de la recaída y resistencia a quimioterapia (**Fig. 7.1**). Con lo anterior proponemos a la cortactina como un nuevo biomarcador para identificar a pacientes con alto riesgo de recaída e infiltración a órganos.

Es importante señalar que la cortactina está regulada por varios factores. Entre ellos, la eliminación de grupos acetilo, que facilita la unión de la cortactina a los filamentos de actina, promoviendo así la migración celular. Este proceso, llamado desacetilación, es mediado por la actividad de diferentes enzimas como la histona-desacetilasa 6 (HDAC6) (Kanno y cols., 2012). Datos preliminares de nuestro laboratorio demuestran que los niveles de HDAC6 también están aumentados en los linfoblastos de la LLA-B (**Fig. 7.1**). A partir de este hallazgo, decidimos inhibir la función de HDAC6 en una línea celular de linfoblastos, denominada REH, y en linfoblastos de pacientes en cultivo. Descubrimos que la inhibición de HDAC6 alteraba la capacidad de los linfoblastos para migrar en comparación con los linfoblastos con HDAC6 activa. Esto se confirmó usando linfoblastos que carecían de HDAC6 en comparación con linfoblastos con niveles intactos de HDAC6. Las células leucémicas deficientes en HDAC6 mostraron una capacidad reducida para migrar, lo que sugiere que HDAC6 apoya la migración de los linfoblastos al desacetilar la cortactina, aumentando su afinidad por el citoesqueleto de actina.

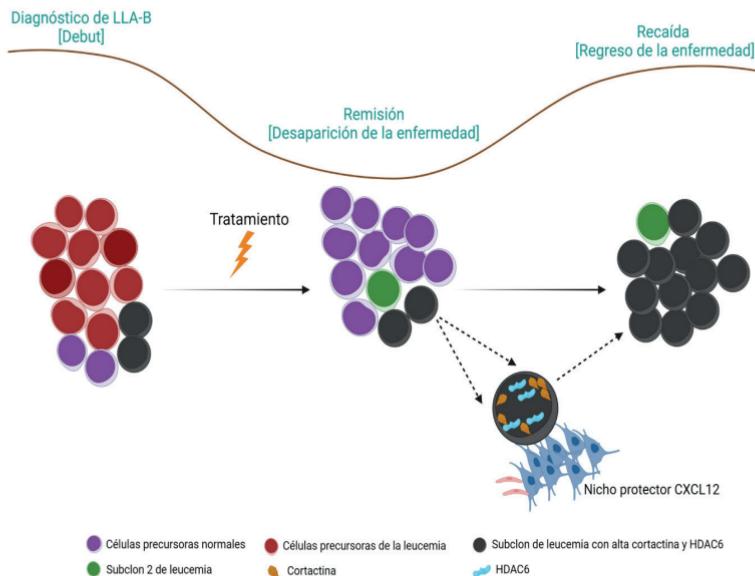


Figura 7.1. Los niveles altos de cortactina y HDAC6 se asocian con la recaída de LLA-B. En el momento de la presentación de la leucemia, los linfoblastos [rojo] se producen en grandes cantidades, mientras que la producción de células normales [púrpura] se reduce. Tras la aplicación de un tratamiento como la quimioterapia, los linfoblastos se destruyen y se produce una reconstitución gradual de las células normales. Sin embargo, los linfoblastos dotados de altos niveles de cortactina y HDAC6 [negro] pueden migrar bajo la influencia de la quimiocina CXCL12 a áreas de la médula ósea [nicho] donde están altamente protegidos de la destrucción por la quimioterapia. Por tanto, se vuelven resistentes a la quimioterapia. Estas células comienzan a multiplicarse después de un tiempo y pueden provocar la reaparición de la enfermedad después de una remisión completa, lo que se conoce como recaída. La quimioterapia puede provocar más anomalías dentro de las células que conduzcan al desarrollo de nuevas clonas de linfoblastos [verde]. La curva muestra la manifestación de la enfermedad durante el inicio, la remisión (durante el tratamiento exitoso) y de la recaída de la enfermedad.

Es importante destacar que también detectamos una correlación positiva entre el aumento de los niveles de HDAC6 y la recaída en pacientes con LLA-B, lo que sitúa a HDAC6 como un posible nuevo biomarcador de recaída y con un potencial objetivo terapéutico para prevenir la progresión de la enfermedad.

CONCLUSIONES

En México, la leucemia linfoblástica aguda (LLA) representa un desafío significativo en el ámbito de la salud, siendo una de las formas más comunes de cáncer infantil. La disponibilidad limitada de recursos y la variabilidad en la atención médica pueden influir en los resultados de los pacientes. Es fundamental abordar la LLA desde una perspectiva integral que incluya diagnóstico temprano, acceso a tratamientos adecuados y seguimiento continuo. Los biomarcadores desempeñan un papel crucial en el pronóstico de la LLA en México. Estos indicadores biológicos permiten una evaluación más precisa de la enfermedad y ayudan a identificar a los pacientes con mayor riesgo de recaída o resistencia al tratamiento. La identificación y caracterización de biomarcadores específicos pueden mejorar la estratificación del riesgo y guiar decisiones terapéuticas personalizadas, lo que resulta en mejores resultados para los pacientes. Entre estos biomarcadores, la cortactina y HDAC6 han surgido como potenciales marcadores pronósticos en la LLA-B. Los niveles elevados de cortactina y HDAC6 se han asociado con un aumento en las recaídas y una mayor capacidad de migración de células leucémicas. Su papel en la regulación del citoesqueleto de actina y la migración celular los convierten en blancos prometedores para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, que pueden llevar a la identificación de nuevas terapias dirigidas y mejorar los resultados clínicos para los pacientes con LLA -B en México.

REFERENCIAS

- Alaggio R., Amador, C., Anagnostopoulos, I., Attygalle, AD., Araujo, IBO., Berti, E., Bhagat, G., Borges, AM., Boyer, D., Calaminici, M., Chadburn, A., Chan, JKC., Cheuk, W., Chng, WJ., Choi, JK., Chuang, SS., Coupland, SE., Czader, M., Dave, SS., de Jong, D., Du, MQ., Elenitoba-Johnson, KS., Ferry, J., Geyer, J., Gratzinger, D., Guitart, J., Gujral, S., Harris, M., Harrison, CJ., Hartmann, S., Hochhaus, A., Jansen, PM., Karube, K.,

- Kempf, W., Khoury, J., Kimura, H., Klapper, W., Kovach, AE., Kumar, S., Lazar, AJ., Lazzi, S., Leoncini, L., Leung, N., Leventaki, V., Li, XQ., Lim, MS., Liu, WP., Louissaint, A Jr., Marcogliese, A., Medeiros, LJ., Michal, M., Miranda, RN., Mitteldorf, C., Montes-Moreno, S., Morice, W., Nardi, V., Naresh, KN., Natkunam, Y., Ng, SB., Oschlies, I., Ott, G., Parrens, M., Pulitzer, M., Rajkumar, SV., Rawstron, AC., Rech, K., Rosenwald, A., Said, J., Sarkozy, C., Sayed, S., Saygin, C., Schuh, A., Sewell, W., Siebert, R., Sohani, AR., Tooze, R., Traverse-Glehen, A., Vega, F., Vergier, B., Wechalekar, AD., Wood, B., Xerri, L., Xiao, W. (2022). The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. Leukemia. 36(7):1720-1748. <https://doi: 10.1038/s41375-022-01620-2>. Erratum in: Leukemia. 2023 Sep;37(9):1944-1951. <https://doi: 10.1038/s41375-023-01962-5>.
- Bandela, M., Belvitch, P., Garcia, J. G. N., & Dudek, S. M. (2022). Cortactin in Lung Cell Function and Disease. International Journal Of Molecular Sciences, 23(9), 4606. <https://doi.org/10.3390/ijms23094606>
- Devine, SM., Larson, RA. (1994). Acute leukemia in adults: recent developments in diagnosis and treatment. CA Cancer J Clin. 44(6):326-52. <https://doi: 10.3322/canjclin.44.6.326>.
- Domínguez Pantoja, M., Romero-Ramírez, H., Rodríguez Alba, JC. (2015). Células Madre Hematopoyéticas: origen, diferenciación y función. <https://www.medigraphic.com/pdfs/veracruzana/muv-2015/muv151d.pdf>
- Fen, Z., Yuxi, W., Runming, J., Hongbo, Ch. (2019). New attempts for central nervous infiltration of pediatric acute lymphoblastic leukemia. Cancer and Metastasis Reviews, 38:657-671. <https://doi: 10.1007/s10555-019-09827-z>.
- Fregoso, F. E., Boczkowska, M., Rebowski, G., Carman, P. J., Van Eeuwen, T., & Dominguez, R. (2023). Mechanism of synergistic activation of Arp2/3 complex by cortactin and WASP-family proteins. Nature Communications, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-42229-y>
- Hunger, S. P., Lu, X., Devidas, M., Camitta, B. M., Gaynon, P. S., Wiernick, N. J., Reaman, G. H., & Carroll, W. L. (2012). Improved Survival for Children and Adolescents With Acute Lymphoblastic Leukemia Between 1990 and 2005: A Report From the Children's Oncology Group. Journal Of Clinical Oncology, 30(14), 1663-1669. <https://doi.org/10.1200/jco.2011.37.8018>
- Juárez-Avendaño, G., Méndez-Ramírez, N., Luna-Silva, N., Gómez-Almaguer, D., Pelayo, R., Balandrán, JC. (2021). Molecular and cellular markers for measurable residual disease in acute lymphoblastic leukemia. Bol Med Hosp Infant Mex. 78(3):159-170. <https://doi: 10.24875/BMHIM.20000155>.
- Kanno, K., Kanno, S., Nitta, H., Uesugi, N., Sugai, T., Masuda, T., Wakabayashi, G., & Maesawa, C. (2012). Overexpression of histone deacetylase 6 contributes to accelerated migration and invasion ac-

- tivity of hepatocellular carcinoma cells. *Oncology Reports*, 28(3), 867-873. <https://doi.org/10.3892/or.2012.1898>
- Lejman, M., Chałupnik, A., Chilimoniuk, Z., & Dobosz, M. (2022). Genetic Biomarkers and Their Clinical Implications in B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *International Journal Of Molecular Sciences*, 23(5), 2755. <https://doi.org/10.3390/ijms23052755>
- Malard, F., & Mohty, M. (2020). Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*, 395(10230), 1146-1162. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(19\)33018-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(19)33018-1)
- Mata-Rocha M, Rangel-López A, Jimenez-Hernandez E, Nuñez-Enríquez JC, Morales-Castillo BA, Sánchez-Escobar N, Sepúlveda-Robles OA, Bravata-Alcántara JC, Nájera-Cortés AS, Pérez-Saldivar ML, Flores-Lujano J, Duarte-Rodríguez DA, Oviedo de Anda NA, Romero Tlalolini MLA, Alaez Verson C, Martín-Trejo JA, Muñoz Medina JE, Gonzalez-Bonilla CR, Hernandez Cueto MLA, Bekker-Méndez VC, Jiménez-Morales S, Medina-Sansón A, Amador-Sánchez R, Peñalozza-González JG, Torres-Nava JR, Espinosa-Elizondo RM, Cortés-Herrera B, Flores-Villegas LV, Merino-Pasaye LE, Gutierrez-Rivera ML, Velazquez-Aviña MM, Santillan-Juarez JD, Gurrola-Silva A, Hernández Echáurregui GA, Hidalgo-Miranda A, Arellano Galindo J, Rosas-Vargas H, Mejía-Aranguré JM. Low Prevalence of ETV6::RUNX1 Fusion Gene in a Hispanic Population. *Front Pediatr*. 2022 May 24;10:837656. <https://doi.org/10.3389/fped.2022.837656>.
- Nemkov, T., D'Alessandro, A., Reisz, J. A. (2018). Metabolic underpinnings of leukemia pathology and treatment. *Cancer Reports*. e1139. <https://doi:10.1002/cnr2.1139>
- Ohki, K., Takahashi, H., Fukushima, T., Nanmoku, T., Kusano, S., Mori, M., Nakazawa, Y., Yuza, Y., Migita, M., Okuno, H., Morimoto, A., Yoshino, H., Kato, M., Hayashi, Y., Manabe, A., Ohara, A., Hasegawa, D., Inukai, T., Tomizawa, D., Koh, K., Kiyokawa, N; Tokyo Children's Cancer Study Group (TCCSG). (2020). Impact of immunophenotypic characteristics on genetic subgrouping in childhood acute lymphoblastic leukemia: Tokyo Children's Cancer Study Group (TCCSG) study L04-16. *Genes, Chromosomes & Cancer*. 59(10), 551-561. <https://doi.org/10.1002/gcc.22858>
- Schnoor, M., Stradal, T. E., & Rottner, K. (2018). Cortactin: Cell Functions of A Multifaceted Actin-Binding Protein. *Trends In Cell Biology*, 28(2), 79-98. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2017.10.009>
- Sedig, L. K., Spruit, J. L., Southwell, J., Paul, T. K., Cousino, M. K., McCaffery, H., Pituch, K., & Hutchinson, R. (2021). Palliative care is not associated with decreased intensity of care: Results of a chart review from a large children's hospital. *Pediatric Blood & Cancer*, 69(3). <https://doi.org/10.1002/pbc.29391>
- Teachey, D. T., & Hunger, S. P. (2013). Predicting relapse risk in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *British Journal Of Haematology*, 162(5), 606-620. <https://doi.org/10.1111/bjh.12442>
- Truong, T. H., Jinca, C., Mann, G., Arghirescu, S., Buechner, J., Merli, P., & Whitlock, J. A. (2021). Allogeneic Hematopoietic Stem Cell

- Transplantation for Children With Acute Lymphoblastic Leukemia: Shifting Indications in the Era of Immunotherapy. *Frontiers In Pediatrics*, 9. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.782785>
- 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. (2018). 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>
- Zapata-Tarrés, M., Balandrán, J. C., Rivera-Luna, R., & Pelayo, R. (2021). Childhood Acute Leukemias in Developing Nations: Successes and Challenges. *Current Oncology Reports*, 23(5). [http://doi:10.1007/s11912-021-01043-9](https://doi:10.1007/s11912-021-01043-9)

Capítulo 8

Nuevas estrategias terapéuticas para leucemias agudas quimiorresistentes

Oxana Dobrovinskaya,
Miguel Olivas Aguirre,
Liliana Torres López,
Igor Pottosin,



LA QUIMIORRESISTENCIA EN LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA: UN RETO TERAPÉUTICO

Hoy en día la quimioterapia combinada es la estrategia principal para el tratamiento de la leucemia linfooblástica aguda (LLA) (Inaba & Pui, 2021). Esta consiste en el uso de varios fármacos, capaces de exterminar las células leucémicas o frenar su crecimiento y división. Los mecanismos de acción de los fármacos quimioterapéuticos convencionales incluyen la inhibición de la formación del huso mitótico (vincristina), el bloqueo de la síntesis del ADN (metotrexato, citarabina) y proteínas (asparaginasa), el daño al ADN (etopósido, daunorrubicina, doxorrubicina) y la linfoxicidad (esteroides). En algunos casos, las células leucémicas se oponen a los efectos citotóxicos de los quimioterapéuticos, es decir que son quimiorresistentes. Se considera que la quimiorresistencia es la principal causa del fracaso en el tratamiento de la LLA. Hoy en día los protocolos quimioterapéuticos son más eficientes contra la LLA de linaje B (LLA-B) la cual representa la mayoría de los casos de LLA (85%-90%), alcanzando tasas de curación de hasta 90% en niños de países desarrollados. Al contrario, la LLA de linaje T (LLA-T), que representa solo el 10-15% de todos los casos de LLA en niños, tiene mal pronóstico debido a su alta quimiorresistencia y pocas alternativas terapéuticas (Lato y cols., 2021).

En algunas ocasiones la LLA reaparece después del tratamiento, esta situación se conoce como recaída o recurrencia (Hunger & Raetz, 2020). Se propone que las recaídas están causadas por la reactivación de las pocas células más resistentes que escaparon al efecto de fármacos.

En los casos de quimiorresistencia y recaídas, la aplicación de un protocolo más agresivo para eliminar las células leucémicas puede causar efectos secundarios graves y contribuir a la morbilidad.

Varios mecanismos pueden contribuir en el desarrollo de la quimiorresistencia (Olivas-Aguirre y cols., 2021b; Olivas-Agui-

rre y cols., 2023; Pottosin y cols., 2023; Torres-López y cols., 2023). Algunos de ellos son la disminución de la captación y el aumento de la excreción de fármacos, las alteraciones en el metabolismo celular o la reprogramación metabólica de las células cancerígenas que les permiten usar de una manera muy eficiente y flexible las diferentes fuentes de energía, como la glucosa, los aminoácidos (glutamina), los lípidos o los ácidos grasos. Adicionalmente, en el caso del daño de macromoléculas y organelos celulares generado por los fármacos, la célula cancerígena puede destruir y reciclar los componentes dañados, usarlos para la síntesis de nuevas moléculas y sobrevivir. Importantemente, un tipo de cáncer puede presentar simultáneamente varios mecanismos para escaparse del tratamiento. Además, el microambiente de la célula tumoral puede metabolizar los fármacos y proteger a las células cancerosas.

Por lo tanto, es importante entender los mecanismos de la quimiorresistencia, específicos para la LLA, y aplicar este conocimiento para superarla.

LA HISTORIA DETRÁS DEL DESARROLLO DE UN NUEVO MEDICAMENTO ANTILEUCÉMICO

El camino de un compuesto desde el laboratorio al paciente es un proceso que puede durar varios años, donde cada etapa es indispensable para generar un fármaco funcional y seguro (Olivas-Aguirre y cols., 2022).

La fase de descubrimiento es la primera etapa en este camino, donde los estudios básicos tienen como objetivo comprender mejor un tipo de cáncer en particular. El objetivo central es entender las aberraciones en las células cancerosas, las cuales por un lado contribuyen a la malignidad y quimiorresistencia, pero por otro pueden ser nuevas dianas terapéuticas para los fármacos citotóxicos que impactan principalmente el tumor sin mayor efecto a los tejidos sanos.

La fase preclínica está enfocada en hacer las pruebas del nuevo fármaco en cultivos celulares *“in vitro”* y en modelos ani-

males *“in vivo”*. En esta etapa también se realiza la búsqueda de la fórmula y la vía de administración más eficaz, y se realizan los estudios de farmacocinética y toxicología del fármaco. Los fármacos con propiedades prometedoras se proponen posteriormente para la fase clínica.

La fase clínica inicia solamente tras varios años de investigación básica y con el visto bueno de la agencia reguladora. En esta fase se hacen las pruebas de cómo actúa el compuesto propuesto en las personas.

Para las primeras dos fases, se requiere un modelo *in vitro* adecuado. Para nuestros estudios empleamos linfoblastos leucémicos derivados de sangre periférica o médula ósea de un paciente con LLA. Normalmente, estas células se derivan de las muestras que sobran después del diagnóstico. Pueden ser las células obtenidas recientemente (cultivos primarios) o, al contrario, muestras que se mantienen en el laboratorio por mucho tiempo, y se llaman líneas celulares. Las células de muestras primarias poseen la ventaja de derivarse directamente de un paciente, lo que permite usarlas para la búsqueda de terapias individualizadas. Sin embargo, en su mayoría, estas muestras son muy escasas y no sobreviven por tiempos largos en el laboratorio. Por esta razón, los ensayos preclínicos en su mayoría se realizan usando varias líneas celulares, caracterizadas y certificadas, que se propagan con facilidad con el uso de protocolos estandarizados, lo que asegura la alta reproducibilidad de los resultados. La mayoría de las líneas celulares leucémicas han sido derivadas de pacientes en recaídas y representan los casos quimiorresistentes (Valle-Reyes y cols., 2021).

El microambiente de los nichos leucémicos, en médula ósea y en sitios extramedulares como el tejido adiposo, puede proteger a las células leucémicas contra la quimioterapia y favorecer el desarrollo de células quimiorresistentes (Pottosin y cols., 2023). Por lo tanto, se propone realizar pruebas preclínicas en cocultivos de células leucémicas con células estromales de médula ósea o células adiposas, para aproximarse a las condiciones de un nicho leucémico (Pottosin y cols., 2023).

RESISTENCIA A GLUCOCORTICOIDES: UN DESAFÍO CLÍNICO Y UNA OPORTUNIDAD TERAPÉUTICA

El cuerpo humano produce hormonas esteroideas denominadas glucocorticoides, que poseen la capacidad de suprimir la viabilidad de los linfocitos sanos y leucémicos (Cain & Cidlowski, 2017). Basado en esto, se han generado glucocorticoides sintéticos con mayor potencia y permanencia como la dexametasona (DEX), la prednisona y la prednisolona, los cuales se emplean en múltiples etapas del tratamiento de la LLA con mucho éxito (Inaba y cols., 2010). La respuesta a glucocorticoides representa un factor pronóstico (Pui & Evans, 2006; Pui & Evans, 2013). Sin embargo, algunos pacientes exhiben limitada o nula sensibilidad a los glucocorticoides. Tal resistencia está asociada con un mayor riesgo de desarrollar una recaída y un desenlace fatal. Por lo tanto, es fundamental entender los mecanismos subyacentes a la resistencia a glucocorticoides, a fin de mejorar la eficacia del tratamiento en pacientes con leucemias de alto riesgo.

Analizamos críticamente la evidencia científica de los efectos de los glucocorticoides en células leucémicas, tomando como referencia un glucocorticoide sintético ampliamente usado, la DEX (Olivas-Aguirre y cols., 2021b), y observamos que los mecanismos de resistencia a los glucocorticoides son multifactoriales y pueden variar entre pacientes. Para comprenderlos, es fundamental considerar que estos fármacos ejercen su efecto al unirse a receptores específicos en el interior de la célula. Esta unión activa la expresión de genes responsables de la muerte celular. Sin embargo, algunas células leucémicas pueden presentar receptores de glucocorticoides disfuncionales, incapaces de desencadenar esta respuesta. Otras células tienen la capacidad de eliminar el fármaco del interior celular, mientras que algunas simplemente limitan la transcripción de los genes necesarios para inducir la muerte celular. Estas variaciones en la respuesta a los glucocorticoides destacan la necesidad de investigar más a fondo los mecanismos de resistencia para desarrollar estrategias terapéuticas más efectivas.

Usando un análogo fluorescente de la DEX y técnicas avanzadas de microscopía confocal y citometría de flujo, hemos podido monitorear la dinámica de la DEX dentro de las células leucémicas (Olivas-Aguirre y cols., 2023) y observamos que las células de LLA resistentes a los glucocorticoides incorporan menores cantidades de la DEX y son capaces de expulsar la DEX efectivamente. Habitualmente, los glucocorticoides actúan a través del núcleo. Efectivamente, hemos observado la acumulación de la DEX en el núcleo. Pero sorprendentemente observamos que alternativamente los principales sitios de la acumulación de la DEX en este caso fueron las mitocondrias. Las mitocondrias son organelos bioenergéticos, los cuales además de ser sitios metabólicos, controlan el metabolismo celular, elementos del sistema de señalización por calcio y son ejecutores de la muerte celular.

En células de LLA, la administración de la DEX inhibe el consumo de la glucosa y la glutamina, fuentes esenciales de energía para una célula cancerosa. Sin embargo, las células de LLA se adaptan a esta condición aumentando la oxidación de los ácidos grasos por las mitocondrias, llevándolas a un estado hiperfuncional que produce grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno.

El exceso de estas moléculas puede generar daño y muerte celular. Para evitarlo, las células de LLA implementan un proceso que se denomina mitofagia (mito: mitocondria y del griego fagos: comer). Es decir, las células de LLA "digieren" las mitocondrias alteradas. Dependiendo del contexto, la mitofagia protege las células LLA resistentes a glucocorticoides o contribuye en el proceso de muerte de las células sensibles. Por otro lado, al bloquear el proceso de mitofagia se promueve el efecto citotóxico de la DEX de igual manera en las células LLA sensibles o resistentes. Otra estrategia para superar la resistencia al DEX está basada en nuestro hallazgo de que las células resistentes tratadas con la DEX compensan la deficiencia en metabolismo de glucosa y glutamina por un aumento del metabolismo de los ácidos grasos. Así, empleando conjuntamente etomoxir, un fármaco que limita el trans-

porte y el uso de ácidos grasos, las células de LLA resistentes se convierten en células sensibles a la DEX (Olivas-Aguirre y cols., 2023). El papel importante que juegan las mitocondrias en la quimiorresistencia de las células LLA se demuestra por el efecto sinérgico de la DEX con agentes como el cannabidiol (CBD) o la curcumina, los cuales inhiben la actividad bioenergética de las mitocondrias (Olivas-Aguirre y cols., 2019a, 2019b, 2021c, 2023).

En conjunto, nuestros datos comprueban que el tratamiento con glucocorticoides no debe ser desestimado en pacientes que exhiban resistencia, ya que las adaptaciones que generan las células leucémicas pueden ser explotadas clínicamente empleando conjuntamente fármacos dirigidos contra la mitocondria (Olivas-Aguirre y cols., 2021c), al metabolismo lipídico y a la mitofagia (Olivas-Aguirre y cols., 2023). Estos hallazgos representan un hito en la generación de alternativas terapéuticas para el paciente leucémico de alto riesgo.

LA ERA DE LOS CANNABINOIDES: AVANCES Y DESAFÍOS EN LA TERAPIA ANTILEUCÉMICA

El interés global en el CBD se debe a sus propiedades terapéuticas y la ausencia de efectos psicoactivos, es decir no altera el ánimo, la percepción o la conciencia del individuo. No obstante, los mecanismos celulares de acción del CBD han sido desconocidos por mucho tiempo. Nuestro estudio ha contribuido al entendimiento de los efectos anticancerígenos del CBD sobre leucemias B, T y mieloides, así como cáncer de mama y cáncer cervicouterino (Olivas-Aguirre y cols., 2019a). Importantemente, las células de LLA-T que representan las LLA más quimiorresistentes, demostraron una mayor susceptibilidad al CBD en comparación con otros tipos de cáncer. Hemos encontrado que el CBD causa la muerte de los linfoblastos leucémicos, alterando la morfología y la funcionalidad de las mitocondrias tras las primeras horas de administración. Cabe mencionar, que las células de LLA poseen pocas mitocondrias y dependen críticamente de la función mitocondrial,

lo cual hace a las células de LLA particularmente vulnerables a los agentes dirigidos a las mitocondrias. Observamos que las mitocondrias son las dianas principales para el CBD en las células LLA-T, pero ¿qué hace el CBD en la mitocondria? Logramos precisar el mecanismo de acción del CBD. A través de experimentos predictivos y evidencia publicada de otros investigadores identificamos a VDAC (voltage-dependent anion channel, por sus siglas en inglés) como el blanco molecular directo para el CBD. La proteína VDAC ocupa una posición única, siendo la responsable del tráfico de iones y de metabolitos entre el interior de la mitocondria y el citosol. Observamos que la unión del CBD induce a un estado semicerrado del canal VDAC, el cual es altamente selectivo para Ca^{2+} pero es impermeable para los metabolitos aniónicos como ATP. La combinación de estos factores favorece la entrada del Ca^{2+} a la mitocondria que resulta en su sobrecarga e inducción de una válvula de escape, un enorme poro en las dos membranas mitocondriales que colapsa la función mitocondrial y permite la salida de los "mensajeros de la muerte", como el citocromo c. Así el CBD provoca la muerte de las células LLA.

A nivel mundial, nuestra investigación revela por primera vez el mecanismo celular para el efecto antileucémico del CBD, destacando a la mitocondria leucémica como un posible blanco terapéutico. Con base en esto, hemos explorado la factibilidad de la inclusión del CBD en los protocolos quimioterapéuticos para el paciente leucémico (Olivas-Aguirre y cols., 2022). Considerando que además de su actividad antileucémica, el CBD también exhibe sinergia con múltiples quimioterapéuticos convencionales, posee efectos analgésicos, es útil contra infecciones oportunistas y favorece el apetito del paciente bajo quimioterapia.

Finalmente, el camino del CBD a la clínica está actualmente acortado, considerando que el uso pediátrico y seguridad de CBD ha sido aprobado por la FDA en algunas otras enfermedades neurológicas, como las convulsiones asociadas con el síndrome de Lennox-Gastaut, el síndrome de Dravet o el complejo de esclerosis tuberosa en pacientes de 1 año de

edad o más.. Concluimos en que los esfuerzos actuales deberán enfocarse en mejorar los sistemas de administración del CBD a fin de mejorar su biodisponibilidad y eficacia contra los distintos tipos de cáncer.

TAMOXIFENO: UN FÁRMACO DE REPOSICIONAMIENTO PARA LA LLA

El reposicionamiento farmacológico está enfocado en la búsqueda de nuevas aplicaciones de medicamentos que ya han sido aprobados para el tratamiento de otras enfermedades. Esta estrategia tiene varias ventajas, debido a que ya existe la información sobre la farmacocinética, la biodisponibilidad, la formulación y la seguridad para el fármaco candidato para el reposicionamiento, lo cual recorta su camino hacia el paciente.

Nosotros estudiamos las propiedades antileucémicas del tamoxifeno (TAM), el cual ha sido usado tradicionalmente como coadyuvante en el tratamiento de la quimioterapia en pacientes con cáncer de mama, los cuales expresan receptores nucleares de estrógeno (RE- α). En el tejido mamario, el estradiol (un tipo de estrógeno) se une a los RE- α y favorece el crecimiento del tejido. En tumores de mama, el TAM bloquea la unión del estradiol a su receptor, evitando que el tumor siga creciendo.

Sin embargo, se ha reportado que este fármaco afecta también a diferentes tipos de glóbulos blancos, incluidos linfocitos y nos interesamos en buscar si los linfoblastos leucémicos expresaban receptores de estrógeno nucleares RE- α y RE- β , o el receptor de estrógenos de membrana, acoplado a la proteína G (GPER) el cual es poco estudiado. En nuestro laboratorio, descubrimos que los linfocitos T (CD4 $^{+}$) derivados de donadores no leucémicos, expresan los 3 tipos de receptores de estrógeno, mientras que los linfoblastos derivados de la LLA-T (líneas celulares) solamente expresan a GPER, pero en menor nivel que los linfocitos sanos.

Empleando una de las líneas celulares más utilizadas para el estudio de las leucemias resistentes, las células Jurkat, las cuales no responden al tratamiento con el DEX, encontramos que el TAM es capaz de disminuir su viabilidad y la proliferación celular, deteniendo su ciclo celular, cambiando la expresión de genes relacionados con muerte celular y la autofagia. En ese sentido, encontramos que el TAM es un buen inductor de autofagia y que, al tratar a las células con TAM, las Jurkat inicialmente resistentes a DEX se vuelven sensibles (Torres-López y cols., 2019).

El monitoreo del cambio de potencial de la membrana mitocondrial y de la dinámica de Ca^{2+} en células leucémicas, así también los ensayos *in silico* evidenciaron que el TAM, similar al inmunosupresor ciclosporina A, es capaz de interactuar con una proteína mitocondrial llamada ciclotifilina D e impide la formación del poro de permeabilidad. Este poro se forma debido a la sobrecarga de Ca^{2+} , inducida, por ejemplo, por el CBD. El uso secuencial del TAM con el CBD provoca la sobrecarga sostenida del Ca^{2+} mitocondrial. La combinación del TAM con el CBD demuestra el sinergismo en su efecto antileucémico (Olivas-Aguirre y cols., 2021a).

Actualmente, estudiamos la modulación de la autofagia como posible estrategia para combatir la resistencia a glucocorticoides. Nuestro estudio preliminar, demuestra que el agonista selectivo del GPER (G-1) es capaz de causar citotoxicidad en las células de LLA. Sin embargo, G-1 actúa de forma independiente del receptor, alterando la dinámica de los microtúbulos que conforman el citoesqueleto de las células (Torres-López y cols., 2022).

FÁRMACOS DIRIGIDOS A LA PLASTICIDAD METABÓLICA TUMORAL: UNA OPORTUNIDAD PARA MEJORAR EL PROTOCOLO DE LA LLA DE ALTO RIESGO

La capacidad de las células cancerosas para combinar y cambiar diferentes vías metabólicas se denomina "*plasticidad metabólica*". Nuestros estudios evidencian que la plasticidad

metabólica contribuye a la quimiorresistencia en la LLA, un desafío que tenemos que combatir.

La mitocondria ejerce funciones bioenergéticas y es el regulador central del proceso de reprogramación y plasticidad metabólica. Además, las mitocondrias son elementos básicos para el anabolismo tumoral, controlan la homeostasis redox y del Ca^{2+} , participan en la regulación transcripcional y gobiernan la muerte celular. Los fármacos que inhiben la función mitocondrial (mitocans) comprometen la plasticidad metabólica y disminuyen la quimiorresistencia. En modelos de LLA, el CBD demostró sinergia con fármacos convencionales como la DEX y la doxorrubicina (Olivas-Aguirre y cols., 2022; Olivas-Aguirre y cols., 2023). Como ya se mencionó en el capítulo correspondiente, la inhibición del transporte de ácidos grasos a mitocondria con etomoxir sensibilizó a la DEX las células de LLA-T resistentes, mientras que en las células de LLA-T sensibles a la DEX, el etomoxir y la DEX demostraron sinergia (Olivas-Aguirre y cols., 2023).

La autofagia es también una estrategia importante para la quimiorresistencia en la LLA (Torres-López & Dobrovinskaya, 2023). La autofagia no solamente elimina las macromoléculas y los organelos dañados, sino que por su reciclaje sirve como fuente de energía para la producción de ATP y para los procesos biosintéticos, contribuyendo a la plasticidad metabólica. Nuestros datos evidencian que existe un nivel “óptimo” de autofagia, para resistir la citotoxicidad de los fármacos. Tanto la inhibición como la estimulación farmacológica de la autofagia pueden ayudar a superar la quimiorresistencia (Torres-López y cols., 2019; Olivas-Aguirre y cols., 2023).

En conclusión, el papel de la reprogramación metabólica y la autofagia/mitofagia, que son los mecanismos importantes de quimiorresistencia en la LLA, deben considerarse en un contexto más amplio, incluyendo más fenotipos de leucemia, para revelar los mecanismos subyacentes en detalle y evaluar su capacidad traslacional.

REFERENCIAS

- Cain, D. & Cidlowski, J. (2017). Immune regulation by glucocorticoids. *Nature Reviews Immunology*, 17(4), 233–247 (2017). <https://doi.org/10.1038/nri.2017.1>
- Hunger, S.P. & Raetz, E.A. (2020). How I treat relapsed acute lymphoblastic leukemia in the pediatric population. *Blood*, 136(16), 1803–1812. <https://doi.org/10.1182/blood.2019004043>
- Inaba, H. & Pui, C.H. (2010) Glucocorticoid use in acute lymphoblastic leukaemia. *The Lancet. Oncology*, 11(11), 1096–106. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(10\)70114-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(10)70114-5).
- Inaba, H. & Pui C.H. (2021). Advances in the Diagnosis and Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Journal of clinical medicine*, 10(9):1926. <https://doi.org/10.3390/jcm10091926>
- Lato, M.W., Przysucha, A., Grosman, S., Zawitkowska, J., & Lejman M. (2021). The New Therapeutic Strategies in Pediatric T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4502. <https://doi.org/10.3390/ijms22094502>
- Olivas-Aguirre, M., Torres-López, L., Valle-Reyes, J. S., Hernández-Cruz, A., Pottosin, I., & Dobrovinskaya, O. (2019a). Cannabidiol directly targets mitochondria and disturbs calcium homeostasis in acute lymphoblastic leukemia. *Cell Death and Disease*, 10(10). <https://doi.org/10.1038/s41419-019-2024-0>
- Olivas-Aguirre, M., Pérez-Chávez, J., Torres-López, L., Hernández-Cruz, A., Pottosin, I., & Dobrovinskaya, O. (2023). Dexamethasone-Induced Fatty Acid Oxidation and Autophagy/Mitophagy Are Essential for T-ALL Glucocorticoid Resistance. *Cancers*, 15(2). <https://doi.org/10.3390/cancers15020445>
- Olivas-Aguirre, M., Pottosin, I., & Dobrovinskaya, O. (2019b). Mitochondria as emerging targets for therapies against T cell acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Leukocyte Biology*, 105(5), 935–946. <https://doi.org/10.1002/JLB.5VMR0818-330RR>
- Olivas-Aguirre, M., Torres-López, L., Gómez-Sandoval, Z., Villatoro-Gómez, K., Pottosin, I., & Dobrovinskaya, O. (2021a). Tamoxifen sensitizes acute lymphoblastic leukemia cells to cannabidiol by targeting cyclophilin-D and altering mitochondrial Ca²⁺ homeostasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16). <https://doi.org/10.3390/ijms22168688>
- Olivas-Aguirre, M., Torres-López, L., Pottosin, I., & Dobrovinskaya, O. (2021b). Overcoming Glucocorticoid Resistance in Acute Lymphoblastic Leukemia: Repurposed Drugs Can Improve the Protocol. *Frontiers in Oncology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.617937>
- Olivas-Aguirre, M., Torres-López, L., Pottosin, I., & Dobrovinskaya, O. (2021c). Phenolic compounds cannabidiol, curcumin and quercetin cause mitochondrial dysfunction and suppress acute lymphoblastic leukemia cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms22010204>

- Olivas-Aguirre, M., Torres-López, L., Villatoro-Gómez, K., Perez-Tapia, S. M., Pottosin, I., & Dobrovinskaya, O. (2022). Cannabidiol on the Path from the Lab to the Cancer Patient: Opportunities and Challenges. *Pharmaceuticals*, 15(3), 11–19. <https://doi.org/10.3390/ph15030366>
- Pottosin, I., Olivas-Aguirre, M., & Dobrovinskaya, O. (2023). In vitro simulation of the acute lymphoblastic leukemia niche: a critical view on the optimal approximation for drug testing. *Journal of Leukocyte Biology*, 114(1), 21–41. <https://doi.org/10.1093/jleukb/qiad039>
- Pui, C.H. & Evans, W.E. (2006) Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *The New England Journal of Medicine*, 354(2), 166–178. <https://doi.org/10.1056/NEJMra052603>
- Pui, C.H. & Evans, W.E. (2013) A 50-year journey to cure childhood acute lymphoblastic leukemia. *Seminars in Hematology*, 50(3), 185–196. <https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2013.06.007>
- Torres-López, L., & Dobrovinskaya, O. (2023). Dissecting the Role of Autophagy-Related Proteins in Cancer Metabolism and Plasticity. *Cells*, 12(20), 2486. <https://doi.org/10.3390/cells12202486>
- Torres-López, L., Maycotte, P., Liñán-Rico, A., Liñán-Rico, L., Donis-Maturano, L., Delgado-Enciso, I., Meza-Robles, C., Vásquez-Jiménez, C., Hernández-Cruz, A., & Dobrovinskaya, O. (2019). Tamoxifen induces toxicity, causes autophagy, and partially reverses dexamethasone resistance in Jurkat T cells. *Journal of Leukocyte Biology*, 105(5), 983–998. <https://doi.org/10.1002/JLB.2VMA0818-328R>
- Torres-López, L., Olivas-Aguirre, M., Villatoro-Gómez, K., & Dobrovinskaya, O. (2022). The G-Protein–Coupled Estrogen Receptor Agonist G-1 Inhibits Proliferation and Causes Apoptosis in Leukemia Cell Lines of T Lineage. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10(February), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.811479>
- Valle-Reyes, S., Dobrovinskaya, O., Pelayo, R., & Schnoor, M. (2021). Acute Lymphoblastic Leukemia Cell Lines in Immunology Research. *Trends in Immunology*, 42(3), 182–185. <https://doi.org/10.1016/j.it.2020.12.007>



Capítulo 9

Células T con receptor de antígeno quimérico (CAR-T) para el tratamiento de leucemia aguda linfoblástica en la infancia



Alberto Olaya Vargas,
Juan Carlos Bustamante Ogando,
Alejandrina Hernández López,
Angelica Meneses Acosta,
Marta Zapata Tarrés,
Astrid Zoé López Valdez,
María Cervantes Delgado

INTRODUCCIÓN

A lo largo de la evolución de las especies, en la lucha por sobrevivir, los organismos desarrollaron mecanismos de defensa que poco a poco llevaron a complejos sistemas inmunes capaces de reconocer lo propio de lo ajeno. Es así como hace aproximadamente 416 millones de años, con el surgimiento de los primeros organismos vertebrados mandibulados (gnatostomos) surgieron también los linajes celulares precursores de los linfocitos T y B, bases del exitoso sistema inmune adaptativo. Hasta ahora se sabe que todos los organismos vertebrados mandibulados más evolucionados, entre ellos nuestra especie, el *Homo sapiens sapiens*, cuentan con los elementos esenciales del sistema inmune adaptativo: inmunoglobulinas (Ig), receptor de células T (TCR), y genes del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) (Hirano, y cols., 2011).

En la inmunidad adaptativa participan células inmunitarias especializadas como las células T que tienen un rol esencial en el proceso de la inmunidad antitumoral. Su activación requiere múltiples señales, que incluyen: el reconocimiento por parte del Receptor de Células T (TCR) de un péptido antígenico del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) en la superficie de una Célula Presentadora de Antígeno (APC); factores co-estimuladores y la señalización por citocinas.

La terapia celular adoptiva (TCA) es un tipo de inmunoterapia basada en la infusión de linfocitos T tras ser expandidos/multiplicados y/o modificados *in vitro* potenciando así el sistema inmune del individuo. La TCA se ha utilizado para mediar la respuesta del rechazo a aloinjertos y al tratamiento de tumores. Los primeros ensayos clínicos exitosos en los cuales se utilizó este tipo de inmunoterapia fueron en 1980, en pacientes con melanoma metastásico utilizando linfocitos autólogos que infiltran el tumor (TIL por sus siglas en inglés "*tumour-infiltrating lymphocytes*") y en pacientes con leucemia con recaída tratados con infusiones de linfocitos alogénicos. Las técnicas de transferencia de genes fueron desarrolladas en 1990, con el fin de redireccionar la especificidad de los

linfocitos T a través de receptores químéricos, los cuales están diseñados para tener una respuesta inmune en contra de antígenos tumorales (June y cols., 2018). En el caso de las neoplasias hematológicas, la ventaja observada en pacientes a los cuales se les administraban infusiones de linfocitos T alogénicos era el efecto de este injerto-contra-leucemia (GVL graft-versus-leukaemia). Sin embargo, a su vez se observaba como contraparte la presencia de enfermedad injerto contra huésped, ante lo cual era necesario identificar y separar aquellos linfocitos T beneficiosos de aquéllos perjudiciales. Uno de los objetivos de finales del siglo XX, fue la búsqueda para seleccionar y amplificar de manera natural estos linfocitos T. Para esto, el advenimiento de la replicación utilizando vectores virales dio lugar a nuevas posibilidades en el campo de la terapia celular con el potencial de modificar genéticamente linfocitos T (Sadelain, y cols., 2017).

La TCA incluye la inmunoterapia de células T con receptor de antígeno químérico (terapia de células T con CAR). Este tipo de inmunoterapia es usada para combatir enfermedades como el cáncer, ya que presenta numerosas ventajas sobre células que expresen un TCR nativo como:

1. Las células CAR-T pueden reconocer antígenos tumorales de manera independiente del antígeno leucocitario humano (HLA), lo que permite su uso en el tratamiento de una amplia gama de pacientes, independientemente del tipo de HLA. Además, las células CAR-T pueden superar la capacidad del tumor de evadir los mecanismos de detección inmunológica mediante la desregulación de las moléculas HLA en la superficie celular.
2. Los CAR-T pueden reconocer no sólo antígenos proteicos, sino también antígenos tales como los carbohidratos y glicolípidos, lo que permite a la célula CAR-T responder a un mayor rango de objetivos comparado con los TCR nativos.
3. La habilidad de generar una gran cantidad de células T específicas antitumorales en un periodo de tiempo relativamente corto hace su uso en el escenario clínico.

Los CAR-T han evolucionado para ser cada vez más efectivos y seguros, dando lugar a distintas generaciones de CAR-T, siendo las de primera generación las que estaban diseñadas para contener un solo dominio de señalización (derivado de la cadena CD3f). Dicha cadena provee una señal primaria que resulta en la activación de células T, lisis de la célula objetivo, secreción de citocinas y función antitumoral *in vivo*. Sin embargo, el efecto antitumoral de la primera generación CAR-T fue limitado: las células T con sólo una señal resultaron en anergia, pobre secreción de citocinas, pobre proliferación y, eventualmente, apoptosis. Para cambiar esto, la segunda generación de CAR-T fue desarrollada para incorporar un dominio co-estimulador (señal 2), el cual era capaz de generar tanto la señal 1 como la señal 2 al encontrar el antígeno tumoral objetivo. Los primeros ensayos clínicos que usaron células CAR-T de primera generación no demostraron beneficio clínico significativo, mientras que la segunda generación mostró una proliferación más potente y persistente. En un estudio con 6 pacientes con linfoma de células B se demostró por primera vez la superioridad de las células CAR-T de segunda generación contra las de primera generación (Savoldo) (Zhu, y cols., 2016). Actualmente se desarrollan en CAR-T de 3^a, 4^a y hasta 5^a generación con diferentes características, buscando incrementar su eficacia y disminuyendo los mecanismos de escape inmunológico.

INDICACIONES PARA CÉLULAS CAR-T

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el cáncer más frecuente en la infancia y adolescencia. Representa hasta 25% de los cánceres pediátricos y el 72% de los casos de leucemia en esta población, con una incidencia anual de 3-4 casos por cada 100 mil personas menores de 15 años de edad. Actualmente, con supervivencias por arriba del 90% en países de alto ingreso, del 15% al 20% presentan recaída durante el curso de la enfermedad. De ellos, únicamente del 60% al 80% logran una segunda respuesta completa con protocolos de quimioterapia intensa. Este resultado varía en función de la

temporalidad en la que se presente esta recaída (temprana o tardía), el sitio de recaída (médula ósea aislada, extramedular aislada o mixta) y el uso del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas como parte del tratamiento de consolidación. En aquellos pacientes con recaída y sin factores de riesgo para recaída, con la quimioterapia convencional seguida del trasplante se puede alcanzar hasta 80% de cura, más en aquellos pacientes con recaída posterior al trasplante solamente se ha observado un 15% de supervivencia y, únicamente 30% de aquellos pacientes son considerados candidatos para un segundo trasplante (Kröger y cols., 2022).

En pediatría, mejorar estos porcentajes de supervivencia es de vital importancia, por lo que, se contempla el uso de linfocitos T con CAR bajo las siguientes indicaciones:

- LLA refractaria a tratamiento.
- Recaída de LLA refractaria a tratamiento.
- Segunda recaída de LLA.
- Recaída posterior al trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas.
- LLA de muy alto riesgo que deben de manejarse con trasplante alogénico pero que no son candidatos a éste.

Actualmente se evalúa el diseño de ensayos clínicos para su uso como terapias de primera línea de tratamiento.

LLA-B en recaída o refractaria (R/R)

LLA-B R/R se refiere a leucemia linfoblástica aguda de células B en recaída o refractaria. Esto implica que la enfermedad ha regresado después del tratamiento (recaída) o que no ha respondido al tratamiento inicial (refractaria). Las guías de Reino Unido sobre LLA-B en Recaída 2021, versión 1.1 define la recaída de la siguiente manera (O'Connor y cols., 2021).

- **Recaída en médula ósea:** detección de $\geq 1\%$ de blastos en la médula ósea mediante dos técnicas independientes: citometría de flujo, métodos moleculares y/o marcadores genéticos específicos de leucemia.

- **Recaída a sistema nervioso central:** detección de ≥ 5 glóbulos blancos/microlitro en líquido cefalorraquídeo o estudios de imagen (resonancia magnética o tomografía) sugestivos de leucemia confirmados histológicamente.
- **Recaída testicular:** aumento de volumen testicular con células leucémicas confirmadas por biopsia analizada por citometría de flujo y/o detección de marcadores genéticos específicos de leucemia.
- **Recaída extramedular:** la detección de células leucémicas mediante citometría de flujo / inmunohistoquímica y/o detección de marcadores genéticos específicos de leucemia en cualquier otro sitio.
- **Recaída combinada:** recaída extramedular, como se definió anteriormente, con detección de $\geq 1\%$ de blastos en la médula ósea.

RÉGIMEN DE INMUNO DEPLECIÓN

La cuenta leucocitaria total previa a la infusión de acuerdo con muchas guías es de 500 células/ μL o una cuenta de CD3 $^{+}$ de 150 células/ μL previo al inicio de la aféresis, siendo el mínimo recomendado de 100 células/ μL (Hay y cols., 2019).

Es poco lo que se ha publicado en cuanto a regímenes de quimioterapia para lograr una óptima linfodeplección previa a la infusión de células CAR-T. En el 87% de los pacientes tratados dentro del protocolo ELIANA, donde utilizaron la quimioterapia como tratamiento puente previo, los fármacos utilizados fueron a libre elección de cada centro de estudio. Lo que se ha logrado concluir es que la exposición a ≥ 2 ciclos de quimioterapia mieloablativa da lugar a un mayor riesgo de infecciones de grado ≥ 3 . (Frey, n.d.)

El uso de fludarabina como parte del régimen de acondicionamiento, en dosis que van en un rango desde 11 hasta 70 mg (con una media de 41 mg), logrando un área bajo la curva (AUC) de 13.8 mg·h/L, se ha asociado con una reducción en la recaída de la enfermedad y con un impacto positivo en la

supervivencia global de los pacientes. Sin embargo, el mecanismo por el cual se logra esto aún no se ha determinado (Fabrizio y cols., 2022).

La elección del régimen de quimioterapia para conseguir la linfodepleción en estos pacientes es variable y depende del criterio del investigador. Actualmente no hay un régimen establecido sin embargo debe ser suficientemente efectiva para lograr la mielosupresión deseada en un solo ciclo, evitando toxicidades que retrasen la infusión de CAR-T.

RESULTADOS EN LEUCEMIA Y LINFOMAS EN PEDIATRÍA

Dentro del panorama terapéutico actual, la terapia con células CAR-T, representa la vanguardia más avanzada para la recaída y enfermedad refractaria en leucemia linfoblástica aguda de células B (LLA-B) y linfoma No Hodgkin de células B (B-NHL). Como toda terapia novedosa de vanguardia, actualmente se presenta una transición de la etapa no-clínica a la clínica y la información en este apasionante campo está aún forjándose en múltiples protocolos de investigación a nivel mundial. Escapa del propósito de este capítulo abarcar todos los estudios clínicos que se están realizando en el mundo actualmente, sin embargo, se mencionan los resultados clínicos obtenidos en estudios emblemáticos y recientes en población adulta; analizando aquí datos como el porcentaje de pacientes que alcanzaron la remisión completa (CR), supervivencia (OS), supervivencia libre de evento (EFS), principales complicaciones, dificultades y tendencias futuras.

Resultados de terapia celular CAR-T en leucemia linfoblástica aguda de células B (LLA-B)

La LLA-B es una enfermedad hematológica común con un pobre pronóstico para la mayoría de los pacientes. Actualmente, el trasplante de médula ósea es el mejor tratamiento.

Las terapias iniciales de células CAR-T contra CD19 obtuvieron resultados insatisfactorios en el tratamiento de la LLA-B refractaria o en recaída (R/R), pues más de la mitad de los pacientes presentó recaída posterior a su administración. Sin embargo, la terapia de células CAR-T combinada con el trasplante alogénico de células progenitoras pudo incrementar la supervivencia.

En el ensayo clínico de fase II ELIANA (NCT02435849), realizado entre 2015 y 2019, se trató a 79 pacientes pediátricos y adultos jóvenes con leucemia linfoblástica aguda de células B en recaída o refractaria (LLA-B R/R) utilizando, terapia celular CAR-T anti-CD19 (Tisagenlecleucel). La tasa de respuesta general (ORR) alcanzó el 82%, aunque no se desglosaron los porcentajes específicos de remisión completa (CR) y remisión completa con recuperación hematológica incompleta. La supervivencia libre de recaída (RFS) fue del 58% a los 24 meses y del 52% a los 36 meses. En promedio, la supervivencia libre de eventos (EFS) fue de 24 meses para todos los pacientes que recibieron la terapia, con una EFS a los 36 meses del 44%. Se reportaron 24 recaídas en total, de las cuales seis (25%) ocurrieron más de 12 meses después de la infusión. La supervivencia global (OS) aún no se ha determinado, pero la estimación más reciente a los 36 meses es del 63%. Entre los pacientes que respondieron, el tiempo promedio para la recuperación de células B fue del 35.3%, y la probabilidad de aplasia persistente de células B a los 12 y 24 meses post-infusión fue del 71% y 59%, respectivamente. Los efectos adversos principales incluyeron infecciones (20.4%) y trastornos cutáneos (6.1%). (Laetsch y cols., 2023).

En otro estudio multicéntrico pediátrico fase II que incluyó 75 pacientes con LLA-B R/R entre 2015 y 2017, se infundió terapia celular CAR-T anti-CD19 (tisagenlecleucel). La media de edad fue de 11 años (2 a 23 años), media de tratamientos previos: 3, (rango 1 a 8), 46 pacientes (61%) recibieron trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas. 72 de 75 pacientes recibieron quimioterapia para linfodeplección (96%). La dosis media ajustada a peso fue de $3.1 \times 10^6 \times \text{kg}$ (rango 0.2×10^6 a 5.4×10^6 células por kg). De los 75 pacientes

que recibieron infusión de tisagenlecleucel, se reportó una tasa de remisión general del 81% [45 pacientes (60%) alcanzaron una CR y 16 (21%) alcanzaron CR con recuperación hematológica incompleta]. Todos los pacientes que tuvieron una buena respuesta general, con o sin recuperación hematológica, tuvieron una enfermedad mínima residual (EMR) negativa; 95% de los pacientes tenían su EMR negativa para el día 28. La tasa de EFS fue del 73% a 6 meses y del 50% a 12 meses. La tasa de OS fue del 90% a los 6 meses y del 76% a los 12 meses posteriores a la infusión. Todos los pacientes que respondieron al tratamiento presentaron aplasia de células B. El CRS ocurrió en 58 de 75 pacientes (77%); 35 de 75 pacientes (47%) fueron admitidos a Terapia Intensiva para el manejo de CRS. 30 de 75 pacientes (40%) presentaron algún evento neurológico. 31 de 75 pacientes (41%) presentaron trombocitopenia grado 3 ó 4; 53% neutropenia grado 3 o 4; y, 45% presentó infecciones. 19 pacientes fallecieron (1 por hemorragia cerebral en el contexto de coagulopatía y CRS, 18 pacientes fallecieron por progresión de la LLA-B) (Maude, y cols., 2018).

En otro estudio que incluyó 30 pacientes adultos con LLA-B que recibieron terapia inmunológica con células CAR-T anti-CD19, la media de supervivencia fue de 7.5 meses y 13 pacientes (43%) alcanzaron una respuesta completa. Se hace notar que 7 de 12 pacientes (58.3%) tratados con terapia celular CAR-T que no alcanzaron una respuesta completa, recibieron posteriormente Blinatumumab/inotuzumab y alcanzaron una respuesta completa. Por lo tanto, se requieren nuevas estrategias terapéuticas para poder reducir el riesgo asociado al tratamiento y mejorar el pronóstico (Chen y cols., 2022).

Se ha observado que los pacientes con LLA-B son propensos a presentar recaídas después de recibir inmunoterapia contra CD19. Por ello, en la búsqueda de nuevas estrategias se ha considerado el marcador celular de pobre pronóstico en LLA-B: CD72. La incorporación de nano cuerpos sintéticos específicos contra CD72 en los CAR-T ha demostrado una robusta actividad

contra células B malignas, lo que ofrece nuevas opciones para el tratamiento. Además, si bien la terapia de células CAR-T monoespecífica contra CD19 está limitada en ciertas condiciones; dichas limitaciones pueden ser superadas por las células CAR-T bi-específicas contra CD19 y CD22. En un estudio de 6 pacientes con R/R LLA-B que recibieron terapia celular CAR-T bi-específicas, todos alcanzaron CR con EMR negativa. Los pacientes con LLA-B que recibieron trasplante alogénico de células hematopoyéticas, sólo aquellos que alcanzaron una segunda remisión sin EMR alcanzaron una supervivencia a largo plazo satisfactoria. Todos los pacientes con LLA-B alcanzaron una rápida erradicación tumoral y respuesta completa con EMR (-) después del tratamiento con terapia celular CAR-T.

Se ha observado que uno de los principales efectos adversos del uso de la terapia celular CAR-T es la elevación de citocinas, que está directamente relacionada a la carga tumoral durante la infusión de células CAR-T. Ciertos pacientes pueden llegar a requerir esteroides para aminorar la toxicidad mediada por citocinas. Un estudio indicó que, entre 30 pacientes con LLA-B R/R, 27 (90%) alcanzó CR, el EFS a 6 meses fue de 67% y la OS fue de 78%. Sin embargo, 27% de los pacientes presentó síndrome de liberación de citocinas severo, que fue aliviado tras la administración de anticuerpos anti-IL-6. Esto puede deberse a la alta carga tumoral previa a la infusión de terapia celular CAR-T (Chen y cols., 2022). Los pacientes con LLA-B son propensos a desarrollar el Síndrome de Liberación de Citocinas (CRS) después de la terapia con CAR-T. Los esteroides o inhibidores de IL-6 pueden tratar el CRS de manera efectiva. La proteína C-reactiva sérica es un indicador confiable para evaluar la severidad del CRS. La recaída de pacientes con LLA tras un tratamiento con terapia celular CAR-T monoespecífica puede estar relacionada al escape del antígeno tumoral. La terapia celular CAR-T bie-specífica contra CD19 y CD22 (CTA101) basada en tecnología CRISPR/Cas9 tiene ventajas como nueva terapia; 5 de 6 pacientes con LLA-B R/R aceptados para infusión de CTA101 alcanzaron CR o CR con recuperación hematológica incompleta y EMR negativa, una CR de 83.3% (Chen y cols., 2022).

Resultados de terapia celular CAR-T en leucemia linfooblástica aguda de células T (LLA-T)

A pesar de los alentadores resultados del tratamiento con terapia celular CAR-T en LLA-B, el tratamiento de LLA-T persiste con desafíos significativos. La LLA-T es una malignidad hematológica causada por una transformación maligna y expansión clonal de precursores de linaje T en la médula ósea y en el timo. Ésta ocurre principalmente en niños y adolescentes y, tiene una mayor tasa de recurrencia, menor tasa de remisión y una más baja tasa de supervivencia a largo plazo que la LLA-B. El CD7 es un objetivo terapéutico prometedor debido a su amplia expresión en casi todas las malignidades de células T. Estudios han indicado que la terapia celular CAR-T anti-CD7 tiene un importante rol en el tratamiento de la LLA-T. 20 participantes recibieron terapia celular CAR-T anti-CD7 y 90% (18 pacientes) alcanzaron CR. La mayoría de los pacientes experimentó reacciones adversas como el síndrome de liberación de citocinas (CRS), la mayoría de las reacciones fue reversible y sólo un paciente murió de neumonía fúngica relacionada a hemorragia pulmonar. Otro estudio confirmó que de 14 pacientes con LLA-T R/R y 6 pacientes con Linfoma Linfooblástico tratados con terapia celular CAR-T anti-CD7, 19 pacientes alcanzaron CR con EMR negativa para el día 28; mientras que otro estudio reportó que un paciente con LLA-T recibió terapia celular CAR-T anti CD7 a razón de $5 \times 10^6/\text{kg}$ y la sangre y médula ósea del paciente alcanzaron remisión. Otro paciente con LLA-T recibió terapia celular CAR-T autóloga anti-CD7 y alcanzó remisión en el día 17, aunque experimentó sintomatología de citopenias del día 14 al 21, este paciente aceptó HSCT después de alcanzar la CR, lo que sugiere que la terapia celular CAR-T anti-CD7 puede ser una estrategia segura y efectiva para el tratamiento con LLA-T (Chen y cols., 2022).

Un importante tema en el uso de células CAR-T anti-CD7 es el “fratricidio”, término que se refiere a la eliminación de células CAR-T terapéuticas por parte de otras células CAR-T debido a que también expresan CD7. El fenómeno de fratricidio impli-

ca una reducción en la actividad antitumoral y en la supervivencia de las células CAR-T y, por lo tanto, tienen un éxito terapéutico limitado. Actualmente, se investiga cómo evitar el fenómeno de fraticidio, y algunas de las líneas de investigación son: las técnicas basadas en nano cuerpos; la selección de células CAR-T naturalmente resistentes al fraticidio; y, el uso de anticuerpos o bloqueadores de expresión proteica por edición genética usando el sistema CRISPR/Cas9 para intentar reducir la expresión de CD7 en las células CAR-T (Karsten y cols., 2023).

Así, en un estudio usando un fragmento de nano cuerpo anti-CD7 acoplado con un retículo endoplásmico/dominio de retención Golgi, se demostró que las células transducidas con CD7-CAR fueron capaces de prevenir el fraticidio y lograr expansión. Estas células demostraron potencial antitumoral en malignidades CD7-positivas en un modelo xenográfico derivado de paciente (Chen y cols., 2022).

Png y cols., conjugaron el bloqueador de expresión proteica (PEBL) con el fragmento CD7. Este PEBL-anti-CD7 elimina la expresión de CD7 en células T, lo que efectivamente inhibe el fraticidio mediado por células CAR-T sin dañar la proliferación de células T o la habilidad de secreción de interferón- γ y factor de necrosis tumoral. Las células PEBLs-CAR-T son citotóxicas para las células leucémicas CD7⁺ *in vitro* y en modelos xenográficos derivados del paciente. Xie et al han demostrado cómo células CAR-T-CD7 basadas en CRISPR y células CAR-T con edición del locus del receptor constante Alpha (TRAC), pueden proliferar eficientemente y matar células LLA-T *in vitro ex vivo*.

Resultados de terapia celular CAR-T en linfoma no Hodgkin (NHL).

El linfoma No Hodgkin (NHL) es una enfermedad heterogénea y la mayoría de los NHLs son de tipo B (70%-85%). A pesar de los avances en regímenes de quimioterapia y nuevos

tratamientos, esta enfermedad aún es incurable. La terapia celular con células CAR-T anti-CD19 axicabtagene ciloleucel (Axi-Cel) tiene un efecto significativo en pacientes con linfoma refractario de células B grandes. Después del fallo de la terapia convencional, 111 pacientes recibieron terapia con Axi-Cel, y se observó que: la tasa de respuesta fue del 82%, la tasa de CR fue del 54%; 42% de los pacientes tuvieron una remisión sostenida y la OS de todos los pacientes fue del 52% a 18 meses de seguimiento. Los efectos adversos más frecuentes fueron neutropenia (78%), anemia (43%) y trombocitopenia (38%). Los pacientes que recibieron terapia celular CAR-T con Axi-Cel tuvieron un alto nivel de respuesta duradera (Chen y cols., 2022).

Un estudio a largo plazo indicó que 60% de los pacientes con linfoma de células B tratados con terapia celular CAR-T anti CD19 (CTL019) estaban aún en remisión después de 5 años y los efectos clínicos del CTL019 no se vieron afectados, aunque diferentes pacientes aceptaron diferentes regímenes de linfodepleción. Por otra parte, CD28 y 4-1BB pueden activar diferentes vías de señalización y combinarlas para solucionar las limitaciones de usar únicamente coestimulación. Un total de 16 pacientes con linfoma refractario/Recaída aceptó la infusión de terapia celular CAR-T 2G (monoletal anti-CD28) y 3G CAR-T (anti-CD28 y 4-1BB). De estos, 3 pacientes alcanzaron CR y 3 pacientes PR. CRS ocurrió en 6 pacientes, pero los síntomas fueron leves y no requirieron terapia anti-IL-6. Lo que indica que CD28 combinado con 4-1BB puede producir un efecto terapéutico satisfactorio en pacientes con linfoma. Una célula CAR-T que sea capaz de reconocer el receptor CXCR5 con alta afinidad puede unirse a células de B-NHL, pues el CXCR5 es altamente expresado en la superficie de las células de los linfomas. La aplicación de células CAR-T anti-CXCR5 en modelos de linfomas en ratones demostró que éstas son capaces de matar las células B malignas. Ésta es una nueva y promisoria estrategia para el tratamiento de B-NHL (Chen y cols., 2022).

La terapia celular CAR-T en B-NHL puede causar varias reacciones adversas y el pronóstico de los pacientes no es tan satisfactorio como en ALL; la menor tasa de respuesta puede estar relacionada a la barrera física del tumor y su microambiente inhibitorio. Además, varios pacientes recayeron después del tratamiento, lo que puede estar relacionado con la limitada persistencia de las células CAR-T y a escape de antígeno CD19 (Chen y cols., 2022; Karsten, y cols., 2023).

Estudios sugieren que cerca de la mitad de los pacientes con linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) en recaída o refractarios experimentaron efectos adversos severos tras la terapia celular CAR-T. Axi-Cel y tisagenlecleucel son nuevas terapias celulares CAR-T que combinan células CAR-T con una proteína de fusión entre interferón y un anticuerpo monoclonal anti-CD20, junto con un inhibidor o sensibilizador que tiene efectos regulatorios de apoptosis. La tasa de remisión en estos pacientes puede alcanzar el 83%, y la tasa de remisión completa (CR) está entre el 40% y el 58%. Además, los efectos adversos de las células CAR-T se vieron significativamente reducidos (Chen y cols., 2022).

Aunque el efecto de las células CAR-T en NHL es impresionante, la terapia con un solo objetivo aún tiene sus limitaciones. La causa más común es el escape inmune del tumor debido a la pérdida antigénica, por lo que las células CAR-T de múltiples objetivos podrían alcanzar un mejor efecto terapéutico.

RECAÍDA A SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SNC)

Actualmente, se ha observado que entre el 80% y el 100% de los pacientes tienen una respuesta completa, y del 30% al 50% mantienen una supervivencia global a 5 años. Entre los tipos de recaída de la LLA, el 20% al 40% se presentan de manera aislada o combinada en el SNC. La recaída en el SNC ha sido uno de los criterios de exclusión en los ensayos clínicos de células CAR-T dirigidas a CD19 debido a la neurotoxicidad severa que esto podría involucrar. Sin embargo, se ha observado que estas células pueden penetrar en el SNC y tener una toxicidad aceptable; aunque los estudios al respecto son muy limitados (Rives, 2021).

Uno de estos estudios, publicado en *The Lancet Hematology* (2021), analizó cinco protocolos llevados a cabo en el *Children's Hospital of Philadelphia* para valorar la "actividad" y seguridad del uso de las células CAR-T en pacientes con SNC positivo, comparando los resultados con aquellos pacientes que únicamente presentaban enfermedad en la médula ósea e identificando posibles factores que pudiesen afectar el resultado global. En este análisis se incluyeron 195 pacientes de 1 a 29 años de edad con LLA refractaria o con recaída y CD19+. Los resultados mostraron que 66 pacientes (34%) tenían SNC positivo, y se les clasificó en dos subgrupos: LLA con afección combinada (médula ósea y SNC) y SNC aislado (22%). Se observó que la proporción de pacientes con respuesta completa era similar a la de los pacientes con recaída aislada en la médula ósea (64/66: 97% vs. 121/129: 94%), sin diferencias significativas en la supervivencia libre de eventos (60% vs. 60%, $p=0.5$) o en la supervivencia global (83% vs. 71%, $p=0.39$). Hasta ahora, los factores asociados con un mayor riesgo de neurotoxicidad severa son la carga tumoral/leucémica y las enfermedades neurológicas preexistentes. Sin embargo, su incidencia es un factor independiente del estatus del SNC previo al inicio de la infusión (Leahy, y cols., 2021).

FACTORES PRONÓSTICOS DE RECAÍDA

Un alto porcentaje de los pacientes presenta pérdida del funcionamiento de las células CAR-T en meses posteriores a su infusión, siendo la recuperación de la aplasia un marcador sugestivo de ello (>0.01% blastos en médula y/o sangre periférica). Una de las limitaciones de la recaída posterior a la infusión es la existencia de otro perfil de pacientes en quienes, a pesar de la persistencia de las células CAR-T en el organismo, puede haber un escape a la detección de CD19, siendo producto de mutaciones/variantes en CD19 que no son reconocibles (Hay y cols., 2019; Kröger y cols., 2022). El 73% de los pacientes presentan recaída en los primeros 6 meses posterior al uso de la terapia celular, 68% con blastos CD19+ vs 27% con blastos CD19-, teniendo esta última asociación directa al uso de fludarabina (Hay, y cols., 2019).

En un análisis combinado de los protocolos ELIANA y ENSIGN, en el cual se utilizó la EMR en sangre periférica y/o médula ósea posterior a la infusión con Tisagenlecleucel en pacientes con leucemia linfoblástica aguda como predictor de recaída, se comparó la sensibilidad de la EMR mediante citometría de flujo vs secuenciación de siguiente generación (blastos 10-4 vs \geq 10-6), siendo la secuenciación en médula ósea el marcador más sensible y temprano para la detección de aquéllos pacientes con riesgo de recaída. Su interpretación está superditada al hecho de que la terapia celular da lugar a remisiones profundas, por lo que cualquier grado de enfermedad detectable es un indicador de falta de respuesta al tratamiento, lo cual ayuda a distinguir qué grupo de pacientes se benefician únicamente de la terapia celular, de aquéllos que ameritan consolidación ya sea con TCPH u otros regímenes de quimioterapia. Se tomaron en cuenta tres puntos de corte, 28 días posterior a la infusión (EFS y OS 4.6 y 16 meses para aquellos con EMR positiva a este punto de corte). Un grupo de pacientes tuvo una respuesta tardía (EMR positiva), 3 meses y 6 meses, siendo el primer año de tratamiento crucial para dicha determinación, observando que aquellos pacientes con pérdida de la aplasia de linfocitos B o EMR detectable en los primeros 6 meses posterior a la infusión tienen los peores desenlaces. La EMR (sensibilidad \geq 10-4) obtenida de médula ósea analizada mediante secuenciación de siguiente generación, la aplasia de linfocitos B y la incidencia del síndrome de liberación de citocinas (CRS) se asocian a una incidencia acumulada para recaída (Pulsipher y cols., 2022). De acuerdo con ensayos clínicos llevados a cabo, tanto en pacientes pediátricos como adultos, la quimioterapia altamente aplasiante seguida de la infusión de células CAR-T autólogas da lugar a respuesta completa en tasas que van del 63 al 93%. En un estudio fase 1/2 llevado a cabo en un Centro de Investigación del Cáncer en la ciudad de Seattle, Washington, se tomaron en cuenta 53 pacientes de \geq 18 años, con una mediana de seguimiento de 30.9 meses. 14 pacientes (26%) recibieron quimioterapia sistémica como terapia puente previo a la leucoaféresis. Nuevamente en este estudio se observa el importante papel que

tiene la elección del método a través del cual se realiza el seguimiento de los pacientes, siendo la EMR mediante secuenciación negativa un importante marcador. Tres semanas posteriores a la infusión se observó una mejor supervivencia libre de evento y una supervivencia global (Hay, y cols., 2019).

Asimismo, la carga tumoral previa a la infusión de linfocitos autólogos tiene un impacto significativo en el éxito del tratamiento con células CAR-T. Un claro ejemplo son los pacientes con LLA con aspirado de médula ósea previo a la infusión en M2-M3 quienes tienen peores resultados en términos de supervivencia libre de eventos (2.4 meses) y supervivencia global (8 meses) (EFS $p=0.0001$ y OS $p=0.01$) (Jacoby y cols., 2022). Lo que sugiere que un manejo más intensivo podría ser necesario para aquellos con una carga tumoral alta para mejorar las tasas de respuesta y los resultados clínicos después de la terapia CAR-T.

Otro de los factores que se ha asociado a la respuesta persistente es la adición del fragmento 4-1BB como dominio co-estimulante, el cual lleva a una memoria central, comparando el resultado con CD28 (con el cual se han demostrado recaídas de hasta 50% en pacientes que previamente lograron EMR negativa). Se observó que aquellos que utilizaban 4-1BB la recaída se presentaba únicamente en un 30%, lo cual ha llevado a optar por este dominio al momento del diseño de receptor químérico, siendo éste el único aprobado para su uso en pacientes pediátricos (Jacoby y cols., 2022). Este panorama contrasta con estudios preclínicos en adultos con brexucabtagene autoleucel, en quienes el receptor químérico basado en CD28 parece reducir la incidencia de recaídas de tipo CD19-; sin embargo, una de las limitantes en este estudio es que la duración de la respuesta se puede ver afectada por la expansión y persistencia en el modelo *in vivo* (Jacoby, y cols., 2022; Kröger y cols., 2022).

El antecedente de tratamientos complejos como TCPH, terapia blanca, etc., no tiene impacto en la respuesta al tratamiento con células CAR-T; es decir, no es significativo ni en la EFS ni OS. Sin embargo, la consolidación con TCPH sigue siendo base importante del tratamiento en estos pacientes para prevenir la recaída (Jacoby y cols., 2022). Se ha intentado el

uso del score CAR-HAMATOTOX (HT) como factor predictivo de toxicidad y supervivencia en pacientes en tratamiento con idecabtagene vicleucel y ciltacabtagene autoleucel, donde se estudió como modelo pronóstico en pacientes con mieloma múltiple con recaída o enfermedad refractaria. Sin embargo, una de las limitaciones de este estudio es que el objetivo de las CAR-T cells para tratamiento del mieloma múltiple es BCMA (antígeno de maduración de linfocitos B) expresado en linfocitos B maduros y mínimamente en células derivadas de la médula ósea, a diferencia de las células CAR-T contra CD19, lo cual representa menor toxicidad (Pulsipher y cols., 2022).

OTRAS RECOMENDACIONES

Evitar todos los medicamentos que evitan la proliferación y/o persistencia de linfocitos T, tales como: quimioterapia linfotóxica, esteroides, inhibidores de tirosina cinasa, uso de ciertos anticuerpos (alemtuzumab y ATG), a menos que sean parte del manejo de toxicidad severa secundaria al uso de células CAR-T (Buechner y cols., 2022).

REFERENCIAS

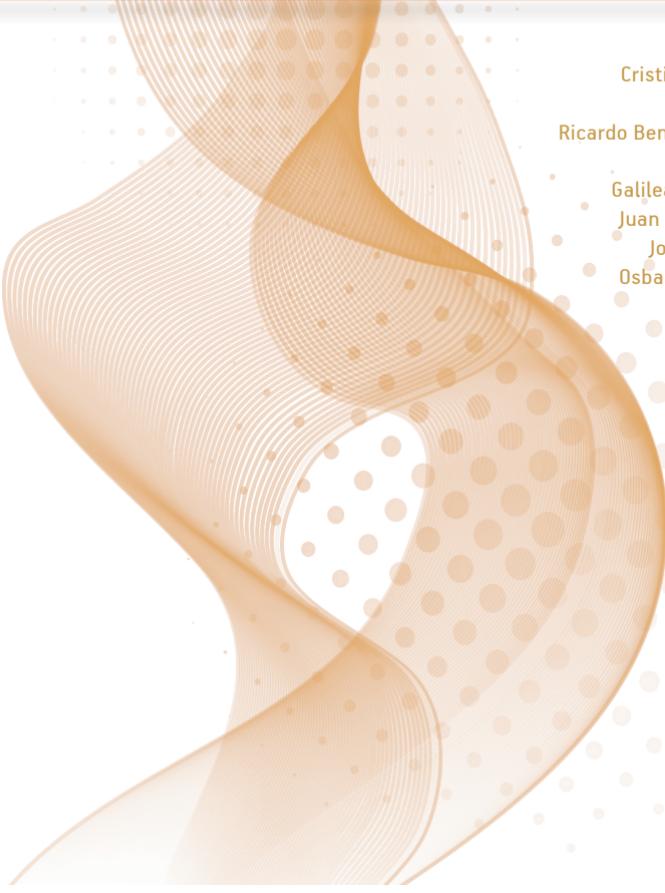
- Buechner, J., Caruana, I., Künkele, A., Rives, S., Vettenranta, K., Bader, P., et al. (2022). Chimeric antigen receptor T-cell therapy in paediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: Curative treatment option or bridge to transplant? *Frontiers in Pediatrics*, 9, 784024. DOI: 10.3389/fped.2021.784024
- Chen, L., Xie, T., Wei, B., & Di, D. L. (2022). Current progress in CAR-T cell therapy for tumor treatment (Review). *Oncology Letters*, 24(4), 358. DOI: 10.3892/ol.2022.13478
- Fabrizio, V. A., Boelens, J. J., Mauguen, A., Baggott, C., Prabhu, S., Egeler, E., et al. (2022). Optimal fludarabine lymphodepletion is associated with improved outcomes after CAR T-cell therapy. *Blood Advances*, 6(7), 1961-1968. DOI: 10.1182/bloodadvances.2021006418
- Frey, N. V. (n.d.). The bottom line: A bridge to CAR. *Transplantation and Cellular Therapy*. Hospital of the University of Pennsylvania,

- Abramson Cancer Center, Cell Therapy and Transplant, Philadelphia, PA. DOI: 10.1016/j.jtct.2022.05.014
- Gardner, R. A., Finney, O., Annesley, C., Brakke, H., Summers, C., Leger, K., et al. (2017). Intent-to-treat leukemia remission by CD19 CAR T cells of defined formulation and dose in children and young adults. *Blood*, 129(25), 3322-3331. DOI: 10.1182/blood-2017-02-769208
- Hay, K. A., Gauthier, J., Hirayama, A. V., Voutsinas, J. M., Wu, Q., Li, D., et al. (2019). Factors associated with durable EFS in adult B-cell ALL patients achieving EMR-negative CR after CD19 CAR T-cell therapy. *Blood*, 133(15), 1652-1663. DOI: 10.1182/blood-2018-11-883710
- Hirano, M., Das, S., Guo, P., & Cooper, M. D. (2011). The evolution of adaptive immunity in vertebrates. In *Advances in Immunology* (pp. 125-157). Elsevier. DOI: 10.1016/B978-0-12-387664-5.00004-2
- Jacoby, E., Bielorai, B., Hutt, D., Itzhaki, O., Adam, E., Bar, D., et al. (2022). Parameters of long-term response with CD28-based CD19 chimeric antigen receptor-modified T cells in children and young adults with B-acute lymphoblastic leukaemia. *British Journal of Haematology*, 197(4), 475-481. DOI: 10.1111/bjh.18105
- June, C. H., & Sadelain, M. (2018). Chimeric antigen receptor therapy. *The New England Journal of Medicine*, 379(1), 64-73. DOI: 10.1056/NEJMra1706169
- Karsten, H., Matrisch, L., Cichutek, S., Fiedler, W., Alsdorf, W., & Block, A. (2023). Broadening the horizon: Potential applications of CAR-T cells beyond current indications. *Frontiers in Immunology*, 14, 1285406. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1285406
- Kröger, N., Gribben, J., Chabannon, C., Yakoub-Agha, I., & Einsele, H. (2022). (Eds.) Springer International Publishing. *The EBMT/EHA CAR-T Cell Handbook*. DOI: 10.1007/978-3-030-94353-0
- Laetsch, T. W., Maude, S. L., Rives, S., Hiramatsu, H., Bittencourt, H., Bader, P., et al. (2023). Three-year update of tisagenlecleucel in pediatric and young adult patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia in the ELIANA trial. *Journal of Clinical Oncology*, 41(9), 1664-1669. DOI: 10.1200/JCO.22.00642
- Leahy, A. B., Newman, H., Li, Y., Liu, H., Myers, R., DiNofia, A., et al. (2021). CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for CNS relapsed or refractory acute lymphocytic leukaemia: A post-hoc analysis of pooled data from five clinical trials. *The Lancet Haematology*, 8(10), e711-e722. DOI: 10.1016/S2352-3026(21)00238-6
- Maude, S. L., Laetsch, T. W., Buechner, J., Rives, S., Boyer, M., Bittencourt, H., et al. (2018). Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *The New England Journal of Medicine*, 378(5), 439-448. DOI: 10.1056/NEJMoa1709866
- O'Connor, D., Bonney, D., Cummins, M., van Delft, F., Ghorashian, S., Halsey, C., Hough, R., McLelland, V., Moorman, A., Moppett, J., Samarasinghe, S., & Vora, A. (2021). UK relapsed ALL guideline v 1.1. March 2021.

- Pulsipher, M. A., Han, X., Maude, S. L., Laetsch, T. W., Qayed, M., Rives, S., et al. (2022). Next-generation sequencing of minimal residual disease for predicting relapse after tisagenlecleucel in children and young adults with acute lymphoblastic leukemia. *Blood Cancer Discovery*, 3(1), 66-81. DOI: 10.1158/2643-3230.BCD-21-0095
- Rives, S. (2021). CAR T cells in CNS-relapsed leukaemia: One step forward. *The Lancet Haematology*, 8(10), e675-e676. DOI: 10.1016/S2352-3026(21)00281-7
- Sadelain, M., Rivière, I., & Riddell, S. (2017). Therapeutic T cell engineering. *Nature*, 545(7655), 423-431. DOI: 10.1038/nature22395
- Zhu, Y., Tan, Y., Ou, R., Zhong, Q., Zheng, L., Du, Y., et al. (2016). Anti-CD19 chimeric antigen receptor-modified T cells for B-cell malignancies: A systematic review of efficacy and safety in clinical trials. *European Journal of Haematology*, 96(4), 389-396. DOI: 10.1111/ejh.12602

Capítulo 10

Ciencia de datos, inteligencia artificial y su incidencia en leucemia infantil



Brenda Loaiza,
Cristian Padron Manrique,
Diego Orozco Flores,
Ricardo Benjamín Olvera Acosta,
Perla Alvarado,
Galilea Resendis González,
Juan José Oropeza Valdés,
Jorge Meléndez Zajgla,
Osbaldo Resendis Antonio

INTRODUCCIÓN

Coloquialmente, la leucemia es conocida como el cáncer de la sangre, y, al igual que otros tumores, se caracteriza por una proliferación descontrolada de células que alteran el funcionamiento normal de nuestro organismo. En este caso, estas células desreguladas en su crecimiento son los leucocitos del tipo mieloide (leucemia mieloide LM) o linfoides (Leucemia linfoblástica LL), que a su vez pueden ser de linfocitos B o T (**Fig. 10.1**). La leucemia infantil es un problema de salud mundial. Las tasas más altas de leucemia en Estados Unidos se encuentran en niños hispanos, 40 % de la incidencia total de las leucemias en niños entre 1 y 14 años (Steliarova-Foucher y cols., 2017). Un aspecto importante a considerar es que en países de altos ingresos más del 80% de los casos de cáncer infantil son curados, mientras que en países de ingresos bajos y medios menos del 30% se curan, y presentan alta frecuencia de recaídas y mortalidad temprana (Feng y cols., 2021).

Las leucemias agudas ocurren cuando los linfocitos proliferan de manera tan descontrolada que interfieren con la producción de los diversos tipos celulares en la médula ósea (MO), causando otras enfermedades como anemia. Las células cancerosas, que en el caso de la Leucemia se conocen como blastos, también tienen la capacidad de invadir y acumularse en otros sitios vitales de nuestro organismo como el bazo, el hígado o los nódulos linfáticos, afectando su función (Jiménez-Hernández y cols., 2015).

La gran variedad de células sanguíneas que se producen en la MO surge a partir de la célula troncal hematopoyética (CTH), que pueden diferenciarse principalmente en dos lina-

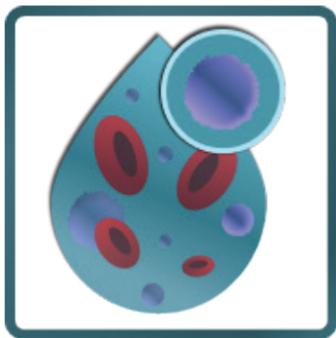


Figura 10.2.

jes: el mieloide y el linfoide. La LL se genera cuando ocurre un bloqueo en la diferenciación de las células linfoides, debido principalmente a alteraciones en genes relacionados con la progresión del ciclo celular y la diferenciación. Además, la proliferación de los diversos progenitores linfoides de células B da origen a la gran diversidad de subtipos de LL de acuerdo al estadio de diferenciación del que se derivaron (**Fig. 10.2**). (Mullighan, 2012).

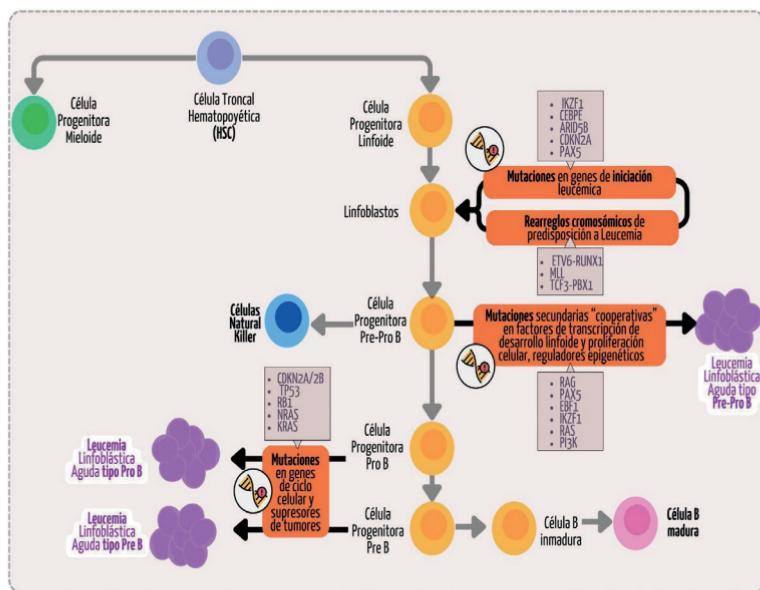


Figura 10.1. Representación de la Patogénesis de la LLA. Las alteraciones genéticas asociadas al desarrollo de LLA se han identificado desde las etapas iniciales en el proceso de diferenciación, principalmente los arreglos cromosómicos como ETV6::RUNX1, MLL, TCF3::PBX1. También se ha evidenciado la contribución de mutaciones iniciales en genes de autorrenovación celular y el desarrollo linfoide tales como: IKZF1, CEBPE, ARID5B, CDKN2A y PAX. Se cree que la generación de otras mutaciones secundarias, también participa en la interrupción del desarrollo linfoide, tratándose así, de un proceso cooperativo en la transformación maligna. Otras alteraciones genéticas importantes para la progresión de la leucemia ocurren en genes relacionados con el ciclo celular, principalmente las ciclinas dependientes de cinasas CDKN2A/2B, genes supresores de tumores como TP53, RB1 y proteínas reguladoras de la cromatina como CREBBP (Mullighan, 2012).

Desde un punto de vista médico, hay un gran avance en la identificación de este padecimiento. Por ejemplo, la identificación de las proteínas de membrana asociadas al linaje hematológico (inmunofenotipo), es fundamental para el diagnóstico y clasificación de la Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA). Estas proteínas se han usado como marcadores celulares y se asocian a la patogenicidad de la enfermedad. Los linfoblastos B son positivos para marcadores de células B, incluidos CD19, CD79a citoplasmático y CD22, CD24, PAX5 y TdT citoplasmáticos y de superficie; y muestran expresión variable de CD10, CD20 y CD34 (Juárez-Avendaño *et al.*, 2021).

Por otra parte, la citometría de flujo (FCM) es una herramienta muy útil para identificar el inmunofenotipo celular, a través de parámetros como el tamaño y la forma celular. Además, con la adición de anticuerpos fluorescentes que reconocen marcadores específicos, se puede dar una mejor estratificación de la LLA, y con ello un diagnóstico más preciso para los pacientes. La FCM ha contribuido significativamente en la detección de la enfermedad residual medible (ERM), es decir, la presencia de blastos leucémicos después del tratamiento inicial con quimioterapia conocido como inducción a la remisión (Juárez-Avendaño *et al.*, 2021). Debido a las implicaciones positivas de esta tecnología, la Sociedad Internacional de Citometría Clínica ha desarrollado métodos analíticos para mejorar la detección de subpoblaciones leucémicas en diferentes etapas de la enfermedad.

Por otro lado, las alteraciones genéticas se han relacionado ampliamente con la patogénesis de la leucemia. Durante la replicación del ADN la generación de mutaciones en esta molécula, así como cambios en su secuencia genética, pueden modificar la estructura final de la proteína. Si bien muchas de estas mutaciones son silenciosas, es decir, no tienen consecuencias negativas en procesos biológicos, otras pueden tener repercusiones funcionales relevantes para los procesos fisiológicos celulares.

Con el desarrollo de la microscopía en la década de los años 80, los estudios citogenéticos revelaron que las principales alteraciones genéticas encontradas en leucemia son a nivel cromosomal y se conocen como aberraciones cromosómicas. El conteo y análisis estructural de los cromosomas, conocido como cariotipo, en los blastos leucémicos mostraron principalmente alteraciones en el número de cromosomas (ploidías), así como cambios estructurales: translocaciones, delecciones o inversiones (**Fig. 10.3**). Estos hallazgos tuvieron un gran impacto en el diagnóstico de la enfermedad y el pronóstico de los pacientes permitiendo la adecuación de terapias en función del riesgo. La hiperdiploidía con número mayor de 50 cromosomas representa el 25–30% de los casos de LLA y se relaciona con mejor pronóstico, mientras que translocaciones como la t(9;22) y la t(4;11) se asocian a peor pronóstico (Martín Ramos y cols., 2001).

Los reordenamientos cromosómicos provocan la desregulación de oncogenes o la expresión de genes de fusión quiméricos, como el cromosoma Filadelfia BCR::ABL1 (translocación t(9;22)(q34;q11), que resulta en la activación constitutiva de una tirosina cinasa que promueve la proliferación celular. La presencia de éstos rearreglos cromosómicos ha sido asociada al pronóstico de la enfermedad y se han observado diferencias significativas en las frecuencias entre poblaciones de diferente ancestría. Para la población hispana, la translocación t(12;21) (p13;q22), mejor conocida como ETV6::RUNX1, es una de las más comunes en la LLA pediátrica. Esta translocación se relaciona con un buen pronóstico para los pacientes portadores y es poco frecuente respecto a poblaciones caucásicas, esto según estudios realizados en población latina en donde se comparó la frecuencia en latinos en California (13%) con blancos no hispanos (30%) (Woo y cols., 2014). En nuestro país, esta translocación varía entre un 7 y un 13% en niños mexicanos, y también se han reportado diferencias en BCR-ABL (13.5%), y en el gen quimérico E2A-PBX1 (11.5%), que tiene una mayor frecuencia en LLA en adultos (Jiménez-Morales y cols., 2008; Bekker-Méndez y cols., 2014; Mata-Rocha y cols., 2022).

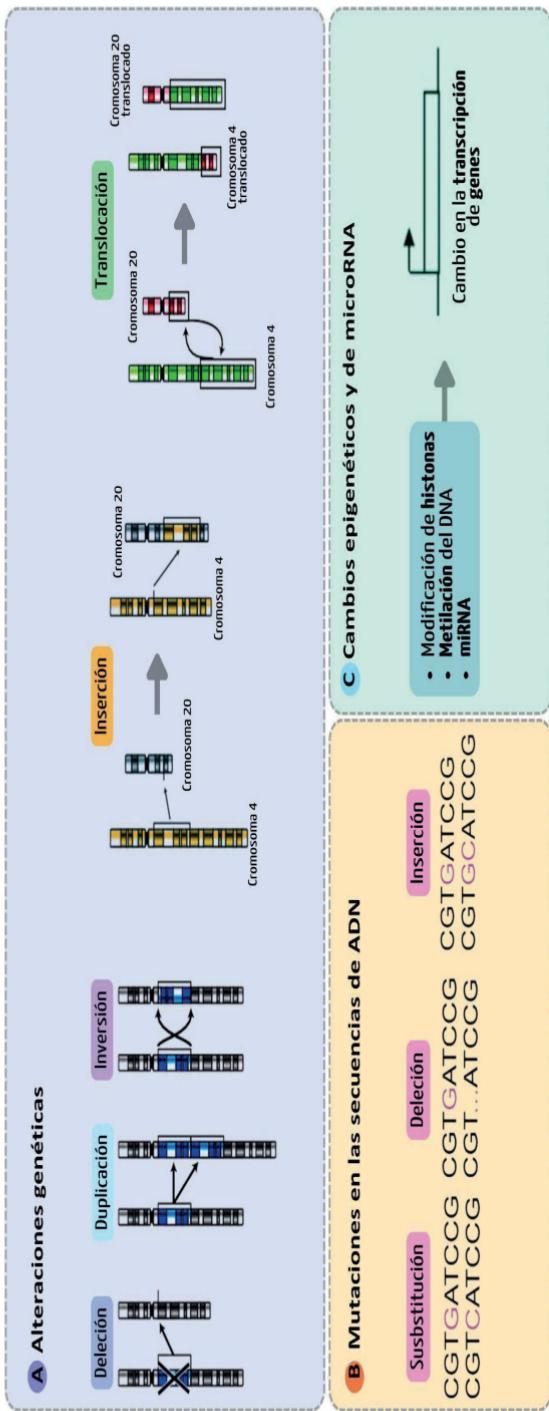


Figura 10.3. Alteraciones genéticas. Las mutaciones en el ADN pueden ser variantes genéticas estructurales A), o puntuales en regiones específicas B). A) Las variantes estructurales involucran la eliminación, duplicación, adición o intercambio de varias pares de bases, o incluso de fragmentos cromosómicos. B) Las variantes puntuales ocurren con el cambio de un solo nucleótido de la secuencia de ADN. C) Existen alteraciones en la expresión de genes que no involucran cambios en la secuencia de ADN, se conocen como cambios epigenéticos y pueden ser metilaciones o acetilaciones del ADN o modificaciones a las histonas que son las proteínas sobre las que se enrolla el ADN para formar los cromosomas (Ramírez-Bello 2015).

Además de las alteraciones genéticas, en el proceso de transformación leucémica (leucemogénesis), nuestro sistema inmunológico juega un papel fundamental. Algunas hipótesis plantean que la estimulación crónica del sistema inmunológico, como la presencia de alergias o infecciones en las primeras etapas de vida, podría ser un factor de riesgo provocando mutaciones pro-oncogénicas aleatorias que favorecen la transformación celular maligna. Mientras que otras hipótesis plantean que los estímulos al sistema inmunológico deberían mejorar su capacidad para detectar y eliminar células neoplásicas (Schüz y Erdmann 2016).

LLA EN MÉXICO

En América Latina el tipo de leucemia infantil con mayor incidencia es la leucemia linfoblástica aguda (LLA), particularmente la de células B (Calderon-Hernandez y cols., 2023; Flores-Lujano y cols., 2022). Estudios genómicos recientes en población hispana han evidenciado la presencia de alteraciones genéticas desfavorables con mayor frecuencia respecto a poblaciones caucásicas, africanas o asiáticas. Para el caso de niños mexicanos con LLA subtipo Pre B, el 35% presenta un fenotipo conocido como Ph-like, haciendo referencia al cromosoma Filadelfia (Harvey y cols., 2010). Esta clasificación se caracteriza por ser la de peor pronóstico y presentar altos índices de ERM. La presencia de blastos resistentes al tratamiento quimioterapéutico provoca que más del 80% de los pacientes presenten recaídas y una baja tasa de sobrevida global de la enfermedad (Martínez-Anaya y cols., 2022).

Los pacientes Ph-like presentan alteraciones genéticas en genes relacionados con el proceso leucemogénico como los receptores de citocinas (CRLF2) y las vías de proliferación y diferenciación celular RAS y Jak2-Stat5. Sin embargo, a pesar de la gran diversidad de alteraciones en dichas vías de señalización celular, los pacientes podrían beneficiarse de tratamientos específicos tales como los inhibidores de cinasas, enzimas que transfieren grupos fosfato generando respuestas positivas en la señalización celular (Roberts y cols., 2018).

Otro marcador genético que se ha encontrado en al menos 20% de niños mexicanos, comparado con menos del 10% de niños de otro origen ancestral y que está asociado a un pronóstico desfavorable en pacientes con LLA-B, es la delección en el gen IKZF1, relacionado con el desarrollo linfoide. Esta alteración se conoce como IKZF1plus cuando se acompaña de delecciones en otros genes de riesgo como PAX5, CDKN2A/2B, o PAR; además estas aberraciones genéticas se han asociado con otras variables de alto riesgo como la edad, mayor cuenta de leucocitos y mayor porcentaje de blastos al diagnóstico, así como con el desarrollo de la ERM (García-Solorio y cols., 2024).

Debido a sus altas tasas de mortalidad, la LLA se ha convertido en prioridad para la investigación científica en México y varios esfuerzos están en desarrollo (Jiménez-Morales y cols., 2017). Por ejemplo, el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnología (Conahcyt) está llevando a cabo proyectos transdisciplinarios que atienden a pacientes de las regiones más vulnerables del país: particularmente Tlaxcala, Puebla y Oaxaca. Específicamente, el Proyecto Nacional de Investigación e Incidencia (Pronaii) de leucemia infantil, cuyos avances conforman varios capítulos de este libro. De forma relevante, este proyecto incluye un consorcio de varias instituciones nacionales enfocadas a la salud y la investigación médica (tales como el Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) y el Centro de Investigación Biomédica de Oriente (Cibior-IMSS) en Puebla, por citar algunos, cuyo objetivo es contribuir significativamente a la mejora del diagnóstico, pronóstico de alta precisión, tratamiento, así como descubrimiento de nuevos blancos terapéuticos, y con ellos dar una nueva orientación en las políticas públicas en salud. Este consorcio integra una alianza con infraestructura de primer nivel que pretende incidir en la detección temprana de casos, seguimiento eficaz y facilitación de tratamientos adecuados para la leucemia infantil en México.

Etiología de la LLA infantil

Desde los inicios de su estudio, el desarrollo de Leucemia infantil se ha relacionado con la exposición a radiación ionizante y sustancias carcinógenas como el benceno y el formaldehído (Checkoway y cols., 2012). Por ejemplo, el uso masivo de pesticidas en el sudeste asiático coincide con las altas tasas y la mayor frecuencia de leucemia. Además, recientes estudios epidemiológicos indican que la exposición a campos electromagnéticos de baja frecuencia aumenta el riesgo de leucemia infantil, como se observó en un estudio realizado en la Ciudad de México donde se encontró que en las zonas de alta incidencia de LLA-B, los niños se encontraban expuestos a más de 0.3 μ T y que una exposición a más de 0.4 μ T podría asociarse con el desarrollo de leucemia, como también se ha reportado en China (Núñez-Enríquez, y cols., 2020; Shi y cols., 2022). Además, en nuestro país, se han postulado asociaciones relevantes entre exposición a pesticidas (Perez-Saldivar y cols., 2008) y partículas suspendidas menores a 2.5 μ m (PM2.5) (Calderon-Hernandez y cols., 2023) y el desarrollo de leucemia infantil.

En este contexto, el origen de la LLA es multifactorial y complejo, por lo que su estudio es un tema por explorar que requiere de un nuevo paradigma en la investigación capaz de incluir estas variables a mayor escala de precisión. Para lograr un análisis integral que contribuya a una mejor comprensión de la enfermedad se requieren al menos dos objetivos. Primero, la construcción de sistemas computacionales de bases de datos capaces de integrar información de forma masiva y sistemática de información heterogénea asociados a los pacientes. Segundo, el desarrollo de métodos de inteligencia artificial (IA) para el posterior análisis de datos y la búsqueda de patrones asociados al origen y desarrollo de la leucemia infantil. En las siguientes secciones presentaremos una descripción sobre algunos avances del estudio de la leucemia infantil en México alrededor de estos últimos objetivos.

INTEGRACIÓN DE BASES DE DATOS

El término base de datos alude a una colección de información organizada y estructurada, de tal forma que es fácil analizarla y tratarla. Así, el diseño, desarrollo, gestión, actualización, y análisis de las bases de datos son fundamentales para el estudio de enfermedades complejas, tales como la leucemia infantil. La organización sistemática de datos de naturaleza diversa (epidemiológicos, socioeconómicos, demográficos, antropométricos, clínicos, bioquímicos, genéticos y medioambientales) es extremadamente valiosa para la toma de decisiones en la clínica mediante la identificación de patrones asociados a la progresión de la enfermedad, la efectividad de los tratamientos y la identificación de factores de riesgo (**Fig. 10.4**). Para lograr esta tarea, diseñar sistemas digitales de información colaborativos entre personal de la salud, facilita el intercambio de información y el desarrollo de tratamientos estratificados o personalizados. El seguimiento de pacientes con estas herramientas tecnológicas facilita la consulta de información a lo largo del tiempo, y permite un seguimiento trazable de la enfermedad.



Figura 10.4.

Tipos de bases de datos según su estructura

En el contexto de la ciencia de datos, existen dos arquitecturas que definen cómo se estructuran, organizan y gestionan los datos. El concepto de Modelo de Datos implica el proceso de seleccionar una de estos esquemas, esto en función de la extensión y naturaleza del tipo de datos que deseamos organizar, (**Cuadro 10.1**). A continuación describimos un poco más cada arquitectura.

Cuadro 10.1. Comparativa de las bases de datos relacionales y No relacionales (Cattell, R, 2011)

RELACIONAL	NO RELACIONAL
<ul style="list-style-type: none"> • El volumen de los datos no crece exponencialmente, lo hace poco a poco. • El procesamiento de los datos lo realiza un sólo equipo de cómputo. • Cuando no tenemos intervalos intensos de uso del sistema por parte de los usuarios 	<ul style="list-style-type: none"> • El crecimiento de los datos es rápidamente y en momentos puntuales. • La necesidad de procesamiento no se puede prever, y es altamente demandante. • Se tienen intervalos intensos de uso de la base de datos y en múltiples ubicaciones.

Bases de datos relacionales

Son las más utilizadas y la forma de organizar la información es mediante tablas, columnas y filas utilizando un esquema estructurado para definir relaciones entre tablas (Elmasri, R., & Navathe, S. B., 2016). Esta arquitectura permite realizar consultas complejas a través de un lenguaje estructurado de consulta SQL por sus siglas en inglés *Structured Query Language* es un lenguaje estándar para definir, manipular y consultar con este tipo de bases de datos (*International Organization for Standardization*, 2023). Este lenguaje especializado en bases de datos está en gran actividad en la comunidad científica, y su más reciente actualización hasta la publicación de este libro es la norma ISO/IEC 9075-1:2023. El uso de bases de datos relacionales es adecuado para ambientes donde la relación entre los datos y la integridad de la información son prioridad. Los exponentes de manejadores de bases de datos más representativos son:

- MySQL y *Oracle de la Corporación Oracle*.
- MariaDB de derivado de MySQL con licencia GPL (*General Public License*).
- PostgreSQL de código abierto, publicado bajo la licencia PostgreSQL.

Bases de datos no relacionales (nosql)

Esta arquitectura organizacional de bases de datos permite trabajar con datos no estructurados o semi estructurados (Strauch, C., 2011), no siguen un esquema tabular y están orientadas al manejo de grandes volúmenes de información como pueden ser documentos, agrupaciones clave-valor, columnas y redes representadas por grafos (Sadalage, P. J., & Fowler, M., 2013). El uso de este tipo de bases de datos se realiza en ambientes que requieren alta escalabilidad y para grandes volúmenes de datos y su implementación requiere más elementos de configuración. A continuación, se mencionan algunos representantes de manejadores de bases de datos según el tipo de dato que soportan:

- MongoDB (documentos) desarrollado por *Mongo DB Inc.*
- Redis (clave-valor) patrocinado por *Redis Labs*.
- Apache Cassandra (columnas) soportada por la *Apache Software Foundation*.
- Neo4j (grafos) desarrollada por Neo4j, Inc. y licenciada tanto bajo *Affero General Public License (AGPL v3)* como bajo licencia comercial.

Recolección de datos

La recolección de datos resulta de acciones conjuntas con tecnologías de la información que contribuyan a la identificación, monitoreo y tratamiento de las LLA (Pui C.H. & Evans W.E, 2006). Desde México un esfuerzo importante se encuentra en desarrollo a través del Proyecto Nacional de Investigación e Incidencia de Leucemia Infantil (Pronaii) impulsado por Conahcyt. Este programa integra un nuevo sistema de investigación especializada, la cual reúne a 20 instituciones nacionales de investigación y 9 instituciones internacionales, 10 hospitales de concentración, 2 laboratorios clínicos y 3 sociedades académicas para la prevención y el tratamiento de la Leucemia Infantil. Un avance de estas acciones conjuntas se puede revisar en el sitio web <https://leucemia.in>

megeg.gob.mx (Instituto Nacional de Medicina Genómica), el cual fue desarrollado en el Instituto Nacional de Medicina Genómica en conjunto con el Laboratorio de Oncoinmunología y Citómica del Cáncer Infantil del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Las buenas prácticas en la recolección de datos implican implementar controles de calidad durante el proceso de colecta, mantener una buena documentación y gestión de los metadatos (Kuhn, K. A., & Giuse, D. A. (2001)), en algunos casos se utilizan herramientas para sistematizar la colecta. Es de vital importancia el cumplimiento de las normativa como la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SSA3-2012 del Expediente Clínico y la NOM-024-SSA3-2012 (Secretaría de Salud, 2012) sistemas de información de registro electrónico para la salud, que establece los criterios científicos, éticos, tecnológicos y administrativos obligatorios en la elaboración, integración, uso, manejo, archivo, conservación, propiedad, titularidad y confidencialidad del expediente clínico, así como regular los Sistemas de Información de Registro Electrónico para la Salud.

Modelado de bases de datos

Independientemente del manejador de bases de datos que se elija, o si el proyecto es para una institución de carácter pública o el sector privado, la etapa de modelado de datos es de vital importancia ya que en este proceso se decide y diseña la estructura y el marco necesario para su implementación. Específicamente, este proceso implica la recolección de los datos, organizar los datos tomando en cuenta las relaciones entre estos, el modelado lógico (Teorey, T. J., Lightstone, S., & Nadeau, T., 2011) y la implementación en un sistema informático.

Los objetivos del modelado es proveer eficiencia, consistencia, integridad a los datos y las consultas que se tengan que hacer sobre dicha información, así como facilitar el desempeño y escalabilidad. Durante este proceso, se

recomienda incluir a la mayoría del personal involucrado en el proyecto (tanto en la captura de los datos como en los objetivos del proyecto) con la finalidad de reducir errores (Rob, P., & Coronel, C., 2019), redundancias, o falta de información que se pueda traducir en una mala toma de decisiones.

Sistema de gestión de bases de datos

Los Sistemas de Gestión de Bases de Datos, por sus siglas en inglés *DataBase Management System* (DBMS), son software que permite implementar las bases de datos definidas en la etapa de diseño. Mediante un lenguaje estructurado por el manejador se puede definir, crear, mantener y controlar las bases de datos en ambientes controlados que procuran la confidencialidad, integridad y accesibilidad. Según una encuesta de Stack Overflow (2023), realizada a 90,000 desarrolladores de base de datos, los diez DBMS más utilizados son PostgreSQL (45.5%), MySQL (41.9%), SQLite (30.9%), MongoDB (25.5%), Microsoft SQL Server (25.5%), Redis (20.4%), MariaDB (17.6%), Elasticsearch (13.3%), Oracle (9.8%) y Dynamodb (8.8%). A la fecha, se recomienda el uso del DBMS PostgreSQL ya que además de que se integra con facilidad a herramientas de análisis de datos y aprendizaje automático como R y Python, también tiene una ventaja al apegarse al lenguaje estándar SQL y mantener una documentación detallada con un enfoque comunitario. En el caso de instituciones de gobierno, la Coordinación de Estrategia Digital Nacional (Gobierno de México, 2022), dependencia encargada de la política digital en México, también recomienda el uso de María DB y LMDB.

Tendencias en servicios de gestión de datos

La constante evolución de las tecnologías, las nuevas necesidades, y el crecimiento desmedido de información

traen consigo nuevos retos y desafíos en organización, manejo, búsqueda, y actualización de las bases de datos. Si bien PostgreSQL es uno de los DBMS relacionales más utilizado al día de la publicación de este libro, existe una tendencia a utilizar bases de datos como servicio de pago en la nube de algunos proveedores como Amazon, Google y Microsoft (Hellerstein, J. M., Stonebraker, M., & Hamilton, J., 2007). A pesar de que el uso de estos servicios en la nube tiene algunas ventajas, una cuestión de evaluación estriba en la privacidad de la información. Particularmente, estas opciones implican compartir el riesgo de fuga de información al aumentar una capa de seguridad y requerir capacitación extra para su implementación por lo que habrá que evaluar con detenimiento esta opción (Zissis, D., & Lekkas, D., 2012). Otra necesidad que está marcando tendencia en el área de ciencia de datos es el almacenamiento y análisis de grandes volúmenes de datos lo que se conoce como Big Data y Analítica de Datos. En este caso, para almacenar, recuperar y analizar datos masivos se han implementado tecnologías con capacidad de procesamiento distribuido, a gran escala y en tiempo real. Ejemplo de estas tecnologías son Apache Hadoop (White, T., 2015), Apache Spark y Apache Kafka.

Conclusiones al respecto de la recolección e integración de bases de datos

Las nuevas tecnologías de la información aplicadas a bases de datos aportan nuevas oportunidades para el cuidado de la salud, pero también nuevos retos intelectuales en campos interdisciplinarios. Sin duda el Proyecto Nacional de Investigación e Incidencia de Leucemia Infantil contribuirá al control integrador de una de las enfermedades sistémicas más graves que enfrenta México en la actualidad. La recolección de datos y su integración en una base de datos es un proceso crítico para el uso de los mismos lo cual debe hacerse con un enfoque a la seguridad y la calidad de la información. (Fig.10.5).

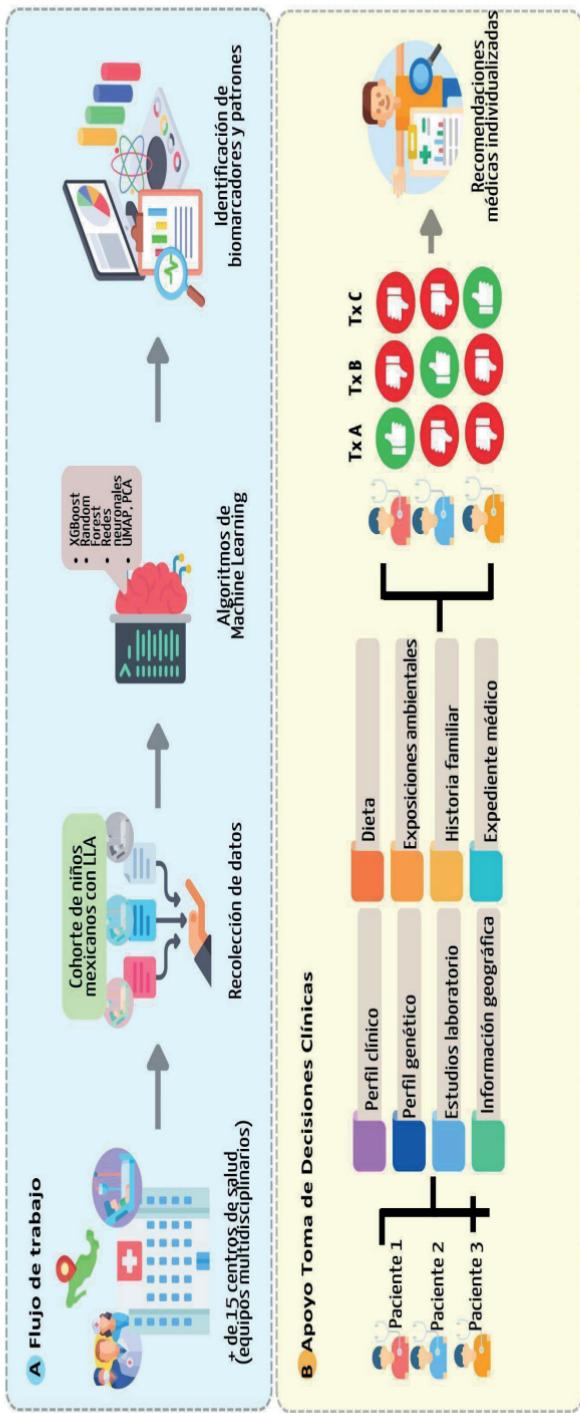


Figura 10.5. Flujo de información hasta la recomendación médica. En panel (A) se muestra uno de los posibles flujos de trabajo que se requieren implementar para el almacenamiento de datos y su correspondiente análisis a través de métodos de Machine Learning. En panel (B) se muestra la ejecución de la medicina de precisión, en donde las construcciones de modelos de Inteligencia Artificial permiten clasificar los pacientes en base a sus variables (tales como su perfil clínico, genético, dieta y otras mediciones), para clasificar los tratamientos y eventualmente identificar el mejor tratamiento para el paciente adecuado (Hood & Price, 2023).

INTELIGENCIA ARTIFICIAL

El aprendizaje de máquina (ML por sus siglas en inglés, *Machine Learning*), es una rama de la inteligencia artificial (AI) enfocada a desarrollar algoritmos que emulan los mecanismos del aprendizaje humano. Estos algoritmos son cruciales y útiles en la toma de decisiones en situaciones que requieren el procesamiento de grandes volúmenes de datos. En el contexto del tratamiento y estudio de la leucemia, la AI se ha utilizado para aprender de datos como variables clínicas, historiales médicos e imágenes de microscopía, mejorando el diagnóstico y la personalización de tratamientos. (Fig. 10.6).

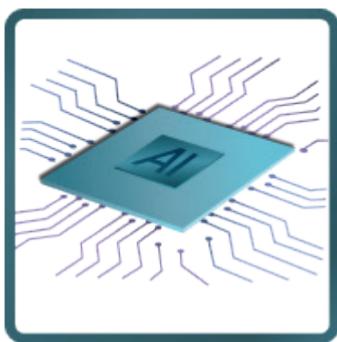


Figura 10.4.

Diversidad de los datos en la investigación de la leucemia

Es esencial entender los tipos de datos con los que pueden trabajar estos algoritmos, especialmente en el contexto de la leucemia. En este contexto, podemos distinguir tres categorías principales: datos tabulares, de texto e imágenes. Entre los datos tabulares, tenemos los clínicos y de laboratorio, como conteos sanguíneos y resultados de pruebas clínicas y genéticas, que ayudan a predecir la progresión de la enfermedad y la respuesta al tratamiento. Además, el seguimiento de estos datos a lo largo del tiempo puede revelar patrones y correlaciones significativas. Por otra parte, las tecnologías genómicas de alto rendimiento (ómicas) permiten estudiar datos biológicos a nivel molecular, como la genómica y la proteómica, para entender las alteraciones que caracterizan la leucemia, facilitando diagnósticos más precisos y tratamientos personalizados. Los datos de texto, tanto estructurados como no estructurados, requieren de procesamiento del lenguaje

natural (PLN) para extraer información relevante de registros médicos, informes de patología y publicaciones de investigación, lo que es vital para mantenerse al día con los avances en el tratamiento de la leucemia (Wang y cols., 2023). Finalmente, las imágenes médicas, como resonancias magnéticas y microscopías de células sanguíneas, se analizan mediante técnicas de visión por computadora y aprendizaje profundo para identificar patrones relacionados con subtipos específicos de leucemia (Khan y cols., 2021). Identificar la naturaleza de estos datos es relevante para la selección del algoritmo de aprendizaje a utilizar y las posibles predicciones que de estos podemos esperar.

Fundamentos del aprendizaje automático: entrenamiento, validación y la búsqueda de generalización

Cuando hablamos de que una máquina aprende, nos referimos a cómo los algoritmos informáticos mejoran automáticamente su capacidad de predecir, clasificar nuevos datos, es decir, ganan experiencia. Este proceso se llama entrenamiento. Durante esta etapa, el algoritmo hace predicciones basadas en los datos que tiene. Si comete un error, ajusta sus parámetros para mejorar la próxima vez. Si no comete errores, sigue refinando su técnica para mantener su precisión incluso cuando recibe nuevos tipos de datos o situaciones que no había encontrado antes (Alpaydin, 2010).

Ahora, la intención de estos métodos es que puedan generalizar el conocimiento (es decir aprender), esto con el fin de tener un buen desempeño al utilizar datos externos a los datos utilizados en el entrenamiento. Esto se logra mediante la implementación de una división de los datos en dos subconjuntos: un conjunto de entrenamiento y un conjunto de validación (usualmente el 70%-80% y el 20%-30% respectivamente). El conjunto de entrenamiento se usa para calibrar los parámetros del modelo, mientras que el conjunto de validación se emplea para evaluar el desempeño del modelo.

en datos que no ha visto antes. Este proceso es crucial para evitar el sobreajuste y asegurar que el modelo sea realmente efectivo en situaciones reales.

El sobreajuste ocurre cuando un modelo de aprendizaje automático se ajusta demasiado bien a los datos de entrenamiento, aprendiendo detalles y ruidos específicos de este conjunto hasta el punto de que afecta negativamente su capacidad para funcionar bien con nuevos datos. Es decir, el modelo se vuelve excelente para predecir o clasificar solo los datos con los que fue entrenado, pero no generaliza bien a datos nuevos o externos (Goodfellow y cols., 2016). Evitar el sobreajuste es fundamental para desarrollar modelos robustos y confiables. Al final, las consecuencias de un sobreajuste en estudios de leucemia podrían ser especialmente problemáticas. Si el modelo se entrena únicamente con datos específicos y no generaliza correctamente, al enfrentarse a nuevos datos de pacientes con leucemia, los resultados podrían ser poco confiables en cuanto a la predicción del fenotipo de la enfermedad. Esto significa que las predicciones del modelo podrían ser incorrectas o inconsistentes, lo que tendría implicaciones serias en la planificación y la efectividad del tratamiento.

Aplicaciones del aprendizaje de máquina supervisado en el manejo de la leucemia: clasificación y regresión.

Generalmente, en el aprendizaje de máquina (ML por sus siglas en inglés, *Machine Learning*) se distinguen dos tipos principales de esquemas: supervisado y no supervisado. En el aprendizaje supervisado, los datos de entrenamiento incluyen una etiqueta que se desea predecir, la cual puede ser un valor categórico o continuo. En el contexto de la leucemia, se ha empleado el aprendizaje supervisado para dos funciones principales: la clasificación y la regresión (Murphy, 2012). Por ejemplo, la clasificación se utiliza para identificar categorías, como determinar si un paciente tiene un riesgo alto o bajo de desarrollar cáncer, clasificándolos en grupos según su histo-

rial médico. Por otro lado, la regresión se emplea para prever valores numéricos específicos. Por ejemplo, en pacientes con leucemia, un modelo de regresión podría estimar la cantidad de meses que un paciente probablemente permanecerá en remisión después del tratamiento. Potencialmente, estas estrategias facilitan que los médicos ofrezcan diagnósticos más precisos y personalicen los tratamientos, mejorando significativamente la gestión de la salud del paciente.

Hay diferentes tipos de métodos de ML que pueden realizar tareas de regresión o clasificación. Por ejemplo, los árboles de decisión y las redes neuronales permiten clasificar a los pacientes y descubrir patrones complejos en los datos, mejorando la precisión de los diagnósticos. Las máquinas de soporte vectorial (SVM) y la regresión logística son efectivas para predecir la probabilidad de eventos clínicos, como la recaída, ayudando a personalizar los tratamientos. Modelos de Ensemble, como *Random Forests* y *Gradient Boosting*, aumentan la precisión y robustez en el análisis de datos complejos. Además, técnicas avanzadas de aprendizaje profundo (*Deep Learning*) y procesamiento de lenguaje natural (NLP), incluidos los modelos como ChatGPT, revolucionan el análisis de textos clínicos. ChatGPT, basado en la arquitectura de Transformers, es capaz de entender y generar lenguaje humano con alta precisión, facilitando la extracción de información médica relevante de textos extensos y mejorando la comunicación entre médicos y pacientes (Chen y cols., 2023). Esto podría en un futuro, optimizar la comprensión de la leucemia, usando la literatura científica ya publicada y permitir tratamientos más personalizados y efectivos, mejorando así la gestión de la enfermedad y la calidad de vida de los pacientes.

Explorando los métodos no-supervisados en la investigación de la leucemia: agrupamiento y reducción de dimensionalidad.

Un método no supervisado implica trabajar con datos que no están etiquetados, es decir, no se tiene información previa so-

bre la categoría correcta de cada ejemplo en el conjunto de datos. Este tipo de aprendizaje se enfoca en identificar patrones y estructuras intrínsecas en los datos sin una guía explícita sobre el resultado esperado (Wu et al. 2021). En este contexto, destacan los métodos de agrupamiento (Clustering), los cuales permiten identificar grupos naturales dentro de los datos en cuestión. Por ejemplo, la agrupación de pacientes con características similares en su historial médico o patrones de progresión de la enfermedad. Notablemente, esta estrategia puede revelar subtipos de leucemia previamente desconocidos y facilitar el diseño de tratamientos personalizados.

Por otro lado, la reducción de dimensionalidad simplifica los datos manteniendo la información esencial, beneficiando la visualización y comprensión de las relaciones entre biomarcadores en pacientes con leucemia (Gachon y cols., 2024). La alta dimensionalidad puede afectar la eficiencia de los métodos de clasificación y agrupación debido a la maldición de la dimensionalidad, un fenómeno que hace que los datos se dispersen en un espacio de mayor volumen a medida que aumenta el número de dimensiones, lo que dificulta la diferenciación entre puntos. Técnicas como el análisis de componentes principales (PCA), *Uniform Manifold Approximation and Projection* (UMAP), y los autoencoders ayudan a mitigar estos problemas al reducir la dimensionalidad y preservar las características más informativas, mejorando la interpretabilidad y eficacia de los modelos en la gestión de enfermedades complejas como la leucemia.

Finalmente, la gestión efectiva de la calidad de los datos clínicos y datos generados por tecnologías de alto rendimiento (ómicos), que son conocidos por ser ruidosos y complejos, se ha logrado mediante la aplicación de métodos supervisados y no supervisados de aprendizaje automático. Estas técnicas han demostrado ser herramientas valiosas para extraer tendencias importantes de estos datos. Por ejemplo, la imputación de datos ayuda a estimar valores faltantes, mientras que la reducción de ruido utiliza algoritmos de filtrado y suavizado para mejorar la calidad de los datos al eliminar el ruido. Sin

estos enfoques, abordar la complejidad y el ruido inherentes a estos conjuntos de datos sería considerablemente más desafiante, lo que dificultará la extracción de conocimiento crucial para la investigación y el tratamiento médico efectivo. Sin embargo, su aplicación en el estudio de la leucemia promete ser una estrategia importante en el diagnóstico y pronóstico de los pacientes (Elsayed y cols., 2023).

Aplicaciones de IA en el manejo de LLA

La incorporación de IA en el diagnóstico y tratamiento de LLA ha transformado de manera significativa la precisión y velocidad en la gestión de esta enfermedad. Estudios recientes evidencian que el uso de aprendizaje profundo y algoritmos de IA permite identificar células leucémicas con gran precisión en imágenes de sangre y médula ósea, así como sus índices hematológicos, lo que acelera el diagnóstico y aumenta la especificidad en la detección de subtipos específicos de LLA. Esto resulta fundamental para la toma de decisiones terapéuticas personalizadas y efectivas (Cheng y cols., 2024; Shafique & Tehsin., 2018). Las tecnologías de IA también resultan especialmente valiosas en sistemas de salud con recursos limitados, pues reducen la dependencia de especialistas y optimizan el uso de los recursos mejorando la calidad del servicio en entornos hospitalarios con alta demanda. Además, la IA permite la creación de modelos predictivos que estiman el tiempo de supervivencia y evalúan la respuesta al tratamiento en pacientes pediátricos con LLA. Al personalizar las opciones terapéuticas en función de factores individuales como la genética, el ambiente y el estilo de vida, estos sistemas no solo optimizan los resultados clínicos, sino que también mejoran la calidad de vida de los pacientes al reducir los efectos secundarios a largo plazo (Jayashanka & Wijesinghe, 2018; Haque y cols., 2024). Conjuntamente, la IA pudiera tener un papel en el monitoreo continuo y predictivo en la evolución de los pacientes con LLA, siendo capaz de identificar patrones de recaída y facilitar intervenciones tempranas. Estas capacidades de predicción ayudan a mantener un seguimiento menos invasivo.

vo y personalizado, mejorando la adherencia al tratamiento y reduciendo las complicaciones a largo plazo (Mehrbakhsh y cols., 2024; Chulián y cols., 2020). En países como México, donde el acceso a atención médica especializada puede ser limitado, estos sistemas pudieran ofrecer la posibilidad de brindar un cuidado integral incluso fuera del entorno hospitalario, aumentando la efectividad y alcance de los sistemas de salud. A la fecha, el Pronaii de leucemia linfoblástica aguda infantil ha generado un avance significativo en la generación de datos asociados a este padecimiento. Durante el periodo de actividad del Pronaii se ha construido una base de datos con algunos pacientes y sus variables generadas obtenidas con el Centro de Investigación Biomédica de Oriente (CIBIO) asociado al Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Para un futuro próximo, queda con propósito desarrollar los siguientes objetivos: 1. La integración global de los datos generados por las otras instituciones asociadas al Pronaii, 2. La construcción de un modelo de AI para identificar y predecir las estrategias de tratamiento, y 3. La aplicación de estos modelos para el beneficio de la población con LLA. Sin duda, las herramientas de IA basadas en grandes volúmenes de datos brindarán a los médicos una visión completa y profunda de la enfermedad, posibilitando una medicina de precisión que se adapta a las necesidades específicas de cada paciente y se alinea con los avances en el campo de la oncología pediátrica.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El avance vertiginoso de las tecnologías genómicas, en conjunto con las nuevas tecnologías de la información ha impactado en el desarrollo de la medicina personalizada o bien la medicina de precisión en el tratamiento de enfermedades complejas. La LLA infantil no es la excepción. El desarrollo combinado de datos epidemiológicos, genéticos, clínicos y aquellos asociados a las tecnologías ómicas (tales como microbioma, proteoma, metaboloma y RNAseq de célula única) abren una ventana de oportunidad para optimizar los tratamientos en beneficio de la infancia, principalmente en países

en vías de desarrollo. Sin embargo, esto conlleva un reto mayor, la integración de sistemas computacionales capaces de recolectar los datos, almacenarlos ordenadamente, y el desarrollo de técnicas de inteligencia artificial para su posterior análisis. Varios retos se vislumbran al inicio de la medicina, entre ellos destacan la infraestructura computacional para el almacenamiento, recuperación y análisis de los datos clínicos, epidemiológicos y genómicos de los pacientes. Además de la conformación de expedientes clínicos electrónicos del paciente, el desarrollo de algoritmos de Inteligencia Artificial para el análisis sistemático es otro de los retos actuales. Sin lugar a duda, para concretar el beneficio se requiere de la colaboración interinstitucional de varias dependencias de salud y el compromiso de las autoridades en salud para implementar acciones concretas en beneficio de la población infantil. Estas implementaciones, en estados avanzados en algunos otros países, son un reto de gran calado en el desarrollo de la medicina personalizada en nuestra América Latina.

REFERENCIAS

- Alpaydin, E. (2010). *Introduction to machine learning*. MIT Press.
- Bekker-Méndez V.C., Miranda-Peralta E., Núñez-Enríquez J.C., Olarte-Carrillo I., Guerra-Castillo F.X., Pompa-Mera E.N., Ocaña-Mondragón A., Rangel-López A., Bernáldez-Ríos R., Medina-Sanson A., Jiménez-Hernández E., Amador-Sánchez R., Peñaloza-González J.G., de Diego Flores-Chapa J., Fajardo-Gutiérrez A., Flores-Lujano J., Rodríguez-Zepeda M. del C., Dorantes-Acosta E.M., Bolea-Murga V., Núñez-Villegas N., Velázquez-Aviña M.M., Torres-Nava J.R., Reyes-Zepeda NC, González-Bonilla C., Mejía-Aranguré J.M. (2014). 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.* 210560.
- Calderon-Hernandez, J., Jarquin-Yáñez, L., Reyes-Arreguin, L., Diaz-Padilla, L. A., Gonzalez-Compean, J. L., Gonzalez-Montalvo, P., Riveira-Gomez, R., Villanueva-Toledo, J. R., Pech, K., Arrieta, O., & Leal,

- Y. A. (2023). Childhood acute lymphoblastic leukemia survival and spatial analysis of socio-environmental risks in Mexico. *Frontiers in Oncology*, 13, 1236942.
- Cattell, R. (2011). Scalable SQL and NoSQL Data Stores. *ACM SIGMOD Record*, 39(4), 12–27.
- Checkoway, H., Boffetta, P., Mundt, D. J., & Mundt, K. A. (2012). Critical review and synthesis of the epidemiologic evidence on formaldehyde exposure and risk of leukemia and other lymphohematopoietic malignancies. *Cancer Causes & Control: CCC*, 23(11), 1747–1766.
- Chen, S., Li, Y., Lu, S., Van, H., Aerts, H. J. W. L., Savova, G. K., & Bittner, D. S. (2023). Evaluation of ChatGPT Family of Models for Biomedical Reasoning and Classification. *arXiv preprint arXiv:2304.02496*.
- Cheng, Z. J., Li, H., Liu, M., Fu, X., Liu, L., Liang, Z., Gan, H., & Sun, B. (2024). Artificial intelligence reveals the predictions of hematological indexes in children with acute leukemia. *BMC cancer*, 24(1), 993.
- Chulián, S., Martínez-Rubio, Á., Pérez-García, V. M., Rosa, M., Blázquez Goñi, C., Rodríguez Gutiérrez, J. F., Hermosín-Ramos, L., Molinos Quintana, Á., Caballero-Velázquez, T., Ramírez-Orellana, M., Castillo Robleda, A., & Fernández-Martínez, J. L. (2020). High-Dimensional Analysis of Single-Cell Flow Cytometry Data Predicts Relapse in Childhood Acute Lymphoblastic Leukaemia. *Cancers*, 13(1), 17.
- Elmasri, R., & Navathe, S. B. (2016). *Fundamentals of Database Systems* (7.^a ed.). Pearson.
- Elsayed, B., Elhadary, M., Elshoeibi, R. M., Elshoeibi, A. M., Badr, A., Metwally, O., ElSherif, R. A., Salem, M. E., Khadadah, F., Alshurafa, A., Mudawi, D., & Yassin, M. (2023). Deep learning enhances acute lymphoblastic leukemia diagnosis and classification using bone marrow images. *Frontiers in Oncology*, 13, 1330977.
- Feng, Q., de Smith, A. J., Vergara-Lluri, M., Muskens, I. S., McKean-Cowdin, R., Kogan, S., Brynes, R., & Wiemels, J. L. (2021). Trends in Acute Lymphoblastic Leukemia Incidence in the United States by Race/Ethnicity From 2000 to 2016. *American Journal of Epidemiology*, 190(4), 519–527.
- Flores-Lujano, J., Duarte-Rodríguez, D. A., Jiménez-Hernández, E., Martín-Trejo, J. A., Allende-López, A., Peñaloza-González, J. G., Pérez-Saldivar, M. L., Medina-Sanson, A., Torres-Nava, J. R., Solís-Labastida, K. A., Flores-Villegas, L. V., Espinosa-Elizondo, R. M., Amador-Sánchez, R., Velázquez-Aviña, M. M., Merino-Pasaye, L. E., Núñez-Villegas, N. N., González-Ávila, A. I., Del Campo-Martínez, M. de L. Á., Alvarado-Ibarra, M., Mejía-Aranguré, J. M. (2022). Persistently high incidence rates of childhood acute leukemias from 2010 to 2017 in Mexico City: A population study from the MIGICCL. *Frontiers in Public Health*, 10, 918921.
- Gachon, E., Bigot, J., Cazelles, E., Bidet, A., Vial, J.-P., Dumas, P.-Y., &

- Mimoun, A. (2024). Low dimensional representation of multi-patient flow cytometry datasets using optimal transport for minimal residual disease detection in leukemia. arXiv. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2407.17329>
- García-Solorio, J., Martínez-Villegas, O., Rodríguez-Corona, U., Molina-Garay, C., Jiménez-Olivares, M., Carrillo-Sánchez, K., Mendoza-Caamal, E. C., Muñoz-Rivas, A., Villegas-Torres, B. E., Cervera, A., Flores-Lagunes, L. L., & Alaez-Verson, C. (2024). Case report: A familial B-acute lymphoblastic leukemia associated with a new germline pathogenic variant in . The first report in Mexico. *Frontiers in Oncology*, 14, 1355335.
- Gobierno de México, (2022). Desarrollo de software. <https://wikiguias.atencion.gob.mx/desarrollo-de-software>.
- Goodfellow, I., Bengio, Y., & Courville, A. (2016). Deep learning. MIT Press. Disponible en <http://www.deeplearningbook.org>
- Haque R, Al Sakib A, Hossain MF, Islam F, Ibne Aziz F, Ahmed MR, Kannan S, Rohan A, Hasan MJ. Advancing Early Leukemia Diagnostics: A Comprehensive Study Incorporating Image Processing and Transfer Learning. *BioMedInformatics*. 2024; 4(2):966-991.
- Hellerstein, J. M., Stonebraker, M., & Hamilton, J. (2007). Architecture of a Database System. *Foundations and Trends® in Databases*, 1(2), 141-259.
- Hood, L., & Price, N. (2023). The Age of Scientific Wellness: Why the Future of Medicine Is Personalized, Predictive, Data-Rich, and in Your Hands. Harvard University Press.
- International Organization for Standardization. (2023). ISO/IEC 9075-1:2023 Information technology — Database languages — SQL — Part 1: Framework (SQL/Framework). ISO/IEC.
- Jayashanka R, Wijesinghe C, Weerasinghe A, Pieris D. Machine Learning Approach to Predict the Survival Time of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Patients. 2018 Presented at: 2018 18th International Conference on Advances in ICT for Emerging Regions (ICTer); September 26-29, 2018; Colombo, Sri Lanka p. 426-432
- Jiménez-Hernández, E., Jaimes-Reyes, E. Z., Arellano-Galindo, J., García-Jiménez, X., Tiznado-García, H. M., Dueñas-González, M. T., Martínez Villegas, O., Sánchez-Jara, B., Bekker-Méndez, V. C., Ortíz-Torres, M. G., Ortíz-Fernández, A., Marín-Palomares, T., & Mejía-Aranguré, J. M. (2015). Survival of Mexican Children with Acute Lymphoblastic Leukaemia under Treatment with the Protocol from the Dana-Farber Cancer Institute 00-01. *BioMed Research International*, 2015, 576950.
- Jiménez-Morales, S., Hidalgo-Miranda, A., & Ramírez-Bello, J. (2017). [Acute lymphoblastic leukemia: a genomic perspective]. *Boletín médico del Hospital Infantil de Mexico*, 74(1), 13-26.
- Jiménez-Morales, S., Miranda-Peralta, E., Saldaña-Alvarez, Y., Pérez-Vera, P., Paredes-Aguilera, R., Rivera-Luna, R., Velázquez-Cruz,

- R., Ramírez-Bello, J., Carnevale, A., & Orozco, L. (2008). BCR-ABL, ETV6-RUNX1 and E2A-PBX1: prevalence of the most common acute lymphoblastic leukemia fusion genes in Mexican patients. *Leukemia research*, 32(10), 1518–1522.
- Juárez-Avendaño, G., Méndez-Ramírez, N., Luna-Silva, N. C., Gómez-Almaguer, D., Pelayo, R., & Balandrán, J. C. (2021). Molecular and cellular markers for measurable residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 78(3), 159–170.
- Khan, S., Sajjad, M., Hussain, T., Ullah, A., & Imran, A. S. (2021). A review on traditional machine learning and deep learning models for WBCs classification in blood smear images. *IEEE Access*, 9, 10657–10673.
- Kuhn, K. A., & Giuse, D. A. (2001). From Hospital Information Systems to Health Information Systems: Problems, Challenges, Perspectives. *Methods of Information in Medicine*, 40(4), 275–287.
- Mata-Rocha, M., Rangel-López, A., Jimenez-Hernandez, E., Nuñez-Enríquez, J. C., Morales-Castillo, B. A., Sánchez-Escobar, N., Sepúlveda-Robles, O. A., Bravata-Alcántara, J. C., Nájera-Cortés, A. S., Pérez-Saldivar, M. L., Flores-Lujano, J., Duarte-Rodríguez, D. A., Oviedo de Anda, N. A., Romero Tlalolini, M. L. A., Alaez Verson, C., Martín-Trejo, J. A., Muñoz Medina, J. E., Gonzalez-Bonilla, C. R., Hernandez Cueto, M. L. A., Bekker-Méndez, V. C., ... Mejía-Aranguré, J. M. (2022). Low Prevalence of ETV6:RUNX1 Fusion Gene in a Hispanic Population. *Frontiers in pediatrics*, 10, 837656.
- Martínez-Anaya, D., Moreno-Lorenzana, D., Reyes-León, A., Juárez-Figueroa, U., Dean, M., Aguilar-Hernández, M. M., Rivera-Sánchez, N., García-Islas, J., Vieyra-Fuentes, V., Zapata-Tarrés, M., Juárez-Villegas, L., Paredes-Aguilera, R., Vega-Vega, L., Rivera-Luna, R., Juárez-Velázquez, M. D. R., & Pérez-Vera, P. (2022). Characterization of Philadelphia-like Pre-B Acute Lymphoblastic Leukemia: Experiences in Mexican Pediatric Patients. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(17).
- Martín Ramos, M. L., Fernández Martínez, F. J., & Barreiro Miranda, E. (2001). Alteraciones cromosómicas en la leucemia linfoblástica aguda. *Anales de Pediatría*, 55(1), 45–52.
- Mehrakhsh, Z., Hassanzadeh, R., Behnampour, N., Tapak, L., Zarrin, Z., Khazaei, S., & Dinu, I. (2024). Machine learning-based evaluation of prognostic factors for mortality and relapse in patients with acute lymphoblastic leukemia: a comparative simulation study. *BMC medical informatics and decision making*, 24(1), 261.
- Mullighan, C. G. (2012). The molecular genetic makeup of acute lymphoblastic leukemia. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, 2012, 389–396.
- Murphy, K. P. (2012). Machine learning: A probabilistic perspective.

MIT Press.

- Núñez-Enríquez, J. C., Correa-Correa, V., Flores-Lujano, J., Pérez-Saldivar, M. L., Jiménez-Hernández, E., Martín-Trejo, J. A., Espinoza-Hernández, L. E., Medina-Sanson, A., Cárdenas-Cardos, R., Flores-Villegas, L. V., Peñaloza-González, J. G., Torres-Nava, J. R., Espinosa-Elizondo, R. M., Amador-Sánchez, R., Rivera-Luna, R., Dosta-Herrera, J. J., Mondragón-García, J. A., González-Ulibarri, J. E., Martínez-Silva, S. I., Espinoza-Anrubio, G., ... Mejía-Aranguré, J. M. (2020). Extremely Low-Frequency Magnetic Fields and the Risk of Childhood B-Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia in a City With High Incidence of Leukemia and Elevated Exposure to ELF Magnetic Fields. *Bioelectromagnetics*, 41(8), 581–597.
- Perez-Saldivar, M. L., Ortega-Alvarez, M. C., Fajardo-Gutierrez, A., Bernaldez-Rios, R., Del Campo-Martinez, M. de L. A., Medina-Sanson, A., Palomo-Colli, M. A., Paredes-Aguilera, R., Martínez-Avalos, A., Borja-Aburto, V. H., Rodriguez-Rivera, M. de J., Vargas-Garcia, V. M., Zarco-Contreras, J., Flores-Lujano, J., & Mejía-Arangure, J. M. (2008). Father's occupational exposure to carcinogenic agents and childhood acute leukemia: a new method to assess exposure (a case-control study). *BMC Cancer*, 8, 7.
- Pui CH, Evans WE. (2006). Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 12, 166-78.
- Ramírez-Bello J. (2015). Papel de la variabilidad genética en las enfermedades mendelianas y multifactoriales. *Gaceta Médica de México*, 5.
- Roberts KG, Reshmi SC, Harvey RC, Chen IM, Patel K, Stonerock E, Jenkins H, Dai Y, Valentine M, Gu Z, Zhao Y, Zhang J, Payne-Turner D, Devidas M, Heerema NA, Carroll AJ, Raetz EA, Borowitz MJ, Wood BL, Mattano LA Jr, Maloney KW, Carroll WL, Loh ML, Willman CL, Gastier-Foster JM, Mullighan CG, Hunger SP. Genomic and outcome analyses of Ph-like ALL in NCI standard-risk patients: a report from the Children's Oncology Group. *Blood*. 2018 Aug 23;132(8):815-824.
- Rob, P., & Coronel, C. (2019). *Database Systems: Design, Implementation, and Management* (13^a ed.). Cengage Learning.
- Schüz, J., & Erdmann, F. (2016). Environmental Exposure and Risk of Childhood Leukemia: An Overview. *Archives of Medical Research*, 47(8), 607–614.
- Secretaría de Salud. (2012). NORMA Oficial Mexicana NOM-004-SSA3-2012, Del expediente clínico. Diario Oficial de la Federación.
- Shafique, S., & Tehsin, S. (2018). Acute Lymphoblastic Leukemia Detection and Classification of Its Subtypes Using Pretrained Deep Convolutional Neural Networks. *Technology in cancer research & treatment*, 17, 1533033818802789.
- Shi, Y., Chen, C., Huang, Y., Xu, Y., Xu, D., Shen, H., Ye, X., Jin, J., Tong, H., Yu, Y., Tang, X., Li, A., Cui, D., & Xie, W. (2022). Global disease burden and trends of leukemia attributable to occupational risk

- from 1990 to 2019: An observational trend study. *Frontiers in Public Health*, 10, 1015861.
- Stack Overflow. (2023). 2023 Developer Survey. <https://survey.stackoverflow.co/2023/#most-popular-technologies-database>
- Steliarova-Foucher, E., Colombet, M., Ries, L. A. G., Moreno, F., Dolya, A., Bray, F., Hesseling, P., Shin, H. Y., Stiller, C. A., & IICC-3 contributors. (2017). International incidence of childhood cancer, 2001-10: a population-based registry study. *The Lancet Oncology*, 18(6), 719–731.
- Strauch, C. (2011). NoSQL Databases. Stuttgart Media University.
- Teorey, T. J., Lightstone, S., & Nadeau, T. (2011). Database Modeling and Design: Logical Design (5^a ed.). Morgan Kaufmann.
- Valle-Reyes, S., Dobrovinskaya, O., Pelayo, R., & Schnoor, M. (2021). Acute Lymphoblastic Leukemia Cell Lines in Immunology Research. *Trends in Immunology*, 42(3), 182–185.
- Wang, M., Yu, Y.-C., Liu, L., Schoen, M. W., Kumar, A., Vargo, K., Colditz, G., Thomas, T., & Chang, S.-H. (2023). Natural language processing-assisted classification models to confirm monoclonal gammopathy of undetermined significance and progression in veterans' electronic health records. *JCO Clinical Cancer Informatics*, (7).
- White, T. (2015). Hadoop: The Definitive Guide (4^a ed.). O'Reilly Media.
- Woo, J. S., Alberti, M. O., & Tirado, C. A. (2014). Childhood B-acute lymphoblastic leukemia: a genetic update. *Experimental hematology & oncology*, 3, 16.
- Wu, X., Liu, X., & Zhou, Y. (2021). "Review of Unsupervised Learning Techniques." In Proceedings of 2021 Chinese Intelligent Systems Conference, pp. 576–590. Springer, Singapore.
- Zisis, D., & Lekkas, D. (2012). Addressing cloud computing security issues. *Future Generation Computer Systems*, 28(3), 583–592.



Este libro se terminó de imprimir
el 12 de enero de 2026
en los talleres de
ZarPra Ediciones
Dr. Jiménez Nº 248, Col. Doctores
Tel.: 557163-6639,
México, CDMX.

El tiraje consta de 300 ejemplares



EDITORAS

*Diana Casique Aguirre, Rosana Pelayo
Lourdes A. Arriaga Pizano*

COLABORADORES

*Juan Carlos Núñez Enríquez, Janet Flores Lujano,
Juan Manuel Mejía Aranguré, Diana Tinoco Montejano,
Fátima Lizbeth Sánchez Jiménez, Juvenal Rasgado Gurrión,
Marco Antonio Benavides Montero, Ana Elenka Ortiz Reyes,
Héctor Mayani, María Antonieta Chávez González, César Galván Díaz,
Briceida López Martínez, Alberto Olaya Vargas, Israel Parra Ortega,
Marta Zapata Tarrés, Rubí Romo Rodríguez,
Dulce Rosario Alberto Aguilar, Jessica Lakshmi Prieto Chávez,
Laura Cecilia Zárraga Vargas, Beatriz Pérez Romano,
Gina Martínez Flisser, Carmen Alaez Verson,
Joaquín García Solorio, Fernanda Flores Espino,
Marco Jiménez Olivares, Carolina Molina Garay, Karol Carrillo Sánchez,
Víctor J. Sánchez Martínez, Alejandra Cervera Taboada,
Michael Schnoor, M. Víctor M. Correa Lara, Joseph Adomako,
Hilda Vargas Robles, Miguel Olivas Aguirre, Liliana Torres López,
Igor Pottosin, Oxana Dobrovinskaya,
Juan Carlos Bustamante Ogando, Alejandrina Hernández López,
Angelica Meneses Acosta, Astrid Zoé López Valdez,
María Cervantes Delgado, Brenda Loaiza, Cristian Padron Manrique,
Diego Orozco Flores, Ricardo Benjamín Olvera Acosta, Perla Alvarado,
Galilea Resendis González, Juan José Oropeza Valdez,
Jorge Meléndez Zajgla, Osbaldo Resendis Antonio*



ISBN 978-970-966676-7-7



9 789709 667677