

---

## TALLERES

---



# Farmacogenómica: Aplicaciones en Leucemia Linfoblástica Aguda en Pediatría

Aráoz V.

E-mail [veritoaraoz@gmail.com](mailto:veritoaraoz@gmail.com)

Laboratorio de Biología Molecular del Servicio de Genética. Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P Garrahan". Buenos Aires.



TALLERES

ASPECTOS  
BIOMOLECULARES DE  
LAS LEUCEMIAS AGUDAS

Nº Extraordinario, Vol. 16: 111  
Octubre, 2012

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la enfermedad maligna más frecuente en pediatría, de etiología compleja y multifactorial. En los últimos cuarenta años se ha logrado un notable progreso en el tratamiento de esta patología, alcanzándose en la actualidad una probabilidad de sobrevida libre de eventos de más del 80%. Este progreso terapéutico fue logrado gracias a la optimización de los tratamientos con el uso de poliquimioterapia y una mejor estratificación de los pacientes en grupos de riesgo de acuerdo a factores pronósticos. Variantes genéticas en moléculas que participan de los procesos farmacocinéticos y farmacodinámicos podrían también modular la respuesta a fármacos usados en el tratamiento de LLA, sobre todo aquellos de estrecho margen terapéutico.

La farmacogenética/farmacogenómica es la disciplina que tiene como objetivo encontrar estos biomarcadores que permitan optimizar la selección de las drogas y sus dosis, de manera de maximizar la eficacia terapéutica y minimizar los efectos tóxicos.

Se han descrito varias moléculas pueden influir en el tratamiento de LLA, entre ellas, la enzima tiopurina metiltransferasa (TPMT), involucrada en el metabolismo de la 6-mercaptopurina (6-MP) y la enzima MTHFR, implicada en la farmacodinamia del metotrexato (MTX). La actividad de la TPMT muestra un comportamiento trimodal: aproximadamente el 89% de los individuos posee actividad enzimática normal, un 10% presenta actividad intermedia y menos del 1% tiene actividad nula o no detectable. Diferentes estudios mostraron que la presencia de variantes en *TPMT* asociadas a una dis-

minución de la actividad de esta enzima aumenta en el paciente el riesgo de presentar toxicidad hematológica severa cuando se administran dosis convencionales de 6-MP. Por otra parte, con respecto a las variantes en *MTHFR*, en un estudio en niños con LLA tratados en el Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P Garrahan", se observó que la presencia de al menos un alelo T para la variante C677T aumentaba el riesgo de leucopenia y neutropenia severa en los pacientes que recibían 2 g/m<sup>2</sup>/día de MTX durante la fase de consolidación.

Actualmente, el acceso a nuevas tecnologías ha permitido realizar un enfoque más abarcativo a partir de estudios de asociación de genoma ampliado conocidos como GWAS, del inglés *Genome Wide Association Studies*. Estos estudios están basados en el análisis simultáneo de numerosos marcadores distribuidos a lo largo del genoma con el fin de identificar cuál o cuáles de estas variantes podrían estar asociadas a una respuesta alterada a una droga. Esta estrategia ha permitido reconocer nuevos genes responsables de respuestas adversas a drogas que pueden estar relacionados, o no, con el proceso metabólico de un fármaco. Por ejemplo, se han descrito variantes en el gen del transportador de aniones orgánicos, *SLCO1B1*, que influirían en el *clearance* del MTX.

Finalmente, a partir del reconocimiento de las bases genéticas de la respuesta a drogas, se ha iniciado el camino hacia un modelo de medicina personalizada. La detección de las diferentes variantes genéticas y su aplicación en la práctica asistencial contribuirá a la optimización de los tratamientos de LLA y otorgará a los pacientes una mejor calidad de vida.

# Leucemias agudas con fenotipo ambiguo: la citometría de flujo como recurso necesario

**Cismondi V.**

*E-mail valecismondi@hotmail.com*

*Laboratorio de Citometría de Flujo. FUNDALEU. Bs. As.*



**TALLERES**

**ASPECTOS  
BIOMOLECULARES DE  
LAS LEUCEMIAS AGUDAS**

Nº Extraordinario, Vol. 16: 112-113  
Octubre, 2012

Las leucemias agudas de linaje ambiguo son leucemias en las cuales las características morfológicas, citoquímicas e inmunofenotípicas de la población blástica no permiten la asignación de un linaje celular determinado. Son un subgrupo que representa aproximadamente el 4-5% de las leucemias agudas y han sido nombradas a lo largo de los años con diferentes términos: de linaje indeterminado, de fenotipo mixto, híbridas, bifenotípicas, con fenotipo ambiguo.

El primer intento para estandarizar el diagnóstico de estas leucemias fue hecho por el grupo EGIL en 1995, quien propuso un sistema de scoring, basado en el inmunofenotipo. Este score fue integrado en la clasificación de la WHO 2001 pero en muchos casos daba lugar a una asignación de linaje equivocada ya sea por inespecificidad del antígeno utilizado en el score o por la utilización de un panel incompleto de anticuerpos en el estudio inmunofenotípico.

En la clasificación de la WHO en 2008 se redefinieron los criterios para clasificar estas leucemias incluyéndose en el grupo de Leucemias Agudas con Fenotipo Ambiguo 7 categorías. Bajo el nombre de Leucemias Agudas con fenotipo mixto (MPAL) se agruparon las leucemias antiguamente llamadas bilineales (dos poblaciones de blastos con diferente linaje) y las bifenotípicas (una población de blastos con coexpresión de antígenos de diferentes linajes) y se subclasificaron de acuerdo a los linajes celulares compartidos (ej. mieloide /B, mieloide/T, etc.) Se crearon además, otras dos categorías para las MPAL

con características genéticas determinadas: t(9,22) y t(v; 11q23); y se definieron otros dos tipos de leucemias raras: leucemia aguda indiferenciada que puede ser identificada solamente después de un extensa inmunofenotipificación que permita excluir otras entidades, y leucemia/linfoma linfoblástico de células NK.

El diagnóstico y la clasificación de las leucemias agudas se basa en la integración de la morfología, el inmunofenotipo, el cariotipo y los estudios moleculares. En el caso de las leucemias con fenotipo ambiguo, la citometría de flujo multiparamétrica (CMF) es el método preferido para establecer el diagnóstico, especialmente cuando es necesario demostrar coexpresión antigénica (ej. MPO, CD3citoplasmático, CD79a) Es un método rápido, exacto y altamente sensible que puede ser utilizado además en el monitoreo del tratamiento, es decir el estudio de enfermedad mínima residual.

En los estudios de CMF existen aspectos técnicos que deben ser estrictamente controlados para arribar a un buen resultado. Una correcta inmunofenotipificación implica: la estandarización del citómetro, la utilización de un panel completo de anticuerpos que permita analizar todos los linajes celulares presentes en la médula ósea, la adquisición de un gran número de células, un software de análisis adecuado, el conocimiento del citometrista de los patrones de expresión fenotípica normales y patológicos y la redacción de un informe inteligible. En un futuro cercano, con la

estandarización de esta metodología y la unificación de diferentes criterios de análisis, se podrá obtener resultados interlaboratorios comparables.

Este grupo de leucemias de baja frecuencia de presentación requiere de un mayor número de estudios para su mejor caracterización biológica y clínica y para el desarrollo de protocolos de tratamiento; y la correcta aplicación de la CMF podría probablemente ayudar en un futuro a la redefinición y clasificación de estas entidades.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Acute leukaemias of ambiguous lineage. Borowitz M.J, Bené M.C, Harris N.L, Porwitt A, Matutes E. WHO classification of Tumours and Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 2008; Chapter 5, 87-107.
2. Acute leukemias of ambiguous lineage. Béné MC, Porwit A. *Semin Diagn Pathol* 2012 Feb; 29:12-18.
3. Biphenotypic, bilineal, ambiguous or mixed lineage: strange leukemias. Bené MC. *Haematol* 2009; 94:891-893.
4. Steensma DP. Oddballs: acute leukemias of mixed phenotype and ambiguous origin. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2011; 25:1235-1253.
5. van den Ancker W, Terwijn M, Westers TM, Merle PA, van Beckhoven E, Dräger AM, Ossenkoppele GJ, van de Loosdrecht AA. Acute leukemias of ambiguous lineage: diagnostic consequences of the WHO 2008 classification. *Leukemia*. 2010; 24:1392-1396.
6. Gerr H, Zimmermann M, Schrappe M, Dworzak M, Ludwig WD, Bradtke J, Moericke A, Schabath R, Creutzig U, Reinhardt D. Acute leukaemias of ambiguous lineage in children: characterization, prognosis and therapy recommendations. *Br J Haematol* 2010; 149:84-92.
7. Weinberg OK, Arber DA. Mixed-phenotype acute leukemia: historical overview and a new definition. *Leukemia* 2010; 24:1844-1851.
8. Wood B y col. 2006 Bethesda International Consensus Recommendations on the Immunophenotypic Analysis of Hematolymphoid Neoplasia by Flow Cytometry: optimal reagents and reporting for the flow cytometric diagnosis of hematopoietic neoplasia. *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)* 2007; 2B: S14- S22.
9. J J M van Dongen, L Lhermitte, S Böttcher, J Almeida, V H J van der Velden, J Flores-Montero, A Rawstron, V Asnafi, Q Lécresse, P Lucio, E Mejstrikova, T Szczepański, T Kalina, R de Tute, M Brüggemann, L Sedek, M Cullen, A W Langerak, A Mendonça, E Macintyre, M Martin-Ayuso, O Hrusak, M B Vidrales and A Orfa.. On behalf of the EuroFlow Consortium (EU-FP6, LSHB-CT-2006-018708). EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia* accepted article preview 3 May 2012; doi: 10.1038/leu.2012.120.

## Perfiles fenotípicos asociados a alteraciones genotípicas en leucemias agudas

Marín C.

E-mail [marincaro@yahoo.es](mailto:marincaro@yahoo.es)

Laboratorio de Citometría de Flujo. PROGRAMA PROVINCIAL DE SIDA DE MENDOZA. Hospital Central de Mendoza. Mendoza



**TALLER**

**ASPECTOS  
BIOMOLECULARES DE LAS  
LEUCEMIAS AGUDAS**

Nº Extraordinario, Vol. 16: 114  
Octubre, 2012

El fenotipo de las células leucémicas no refleja un bloqueo en la diferenciación hematopoyética normal. La mayoría de las células leucémicas muestran rasgos inmunofenotípicos que no son detectados en células precursoras de médula ósea normal denominados *fenotipos aberrantes*.

Estos fenotipos aberrantes de las células leucémicas pueden deberse a la presencia de anormalidades genéticas que alteran el patrón normal de expresión de antígenos de superficie.

De este modo, la expresión aberrante de diferentes marcadores sobre precursores B de Leucemias Linfoblásticas Agudas (LLA-B) pueden reflejar alteraciones genotípicas como t(4;11), t(12;21), t(9;22) y t(1;19); y sobre blastos de Leucemias Mieloides Agudas (LMA) pueden asociarse con inv(16), t(8;21) y t(15;17) entre otros.

La caracterización inmunofenotípica de los blastos se basa no sólo en la presencia o ausencia de antígenos, sino además en la homogeneidad/heterogeneidad y en la intensidad de expresión de los mismos.

La existencia de análisis multiparamétricos que permiten estudiar en forma simultánea una vasta cantidad de antígenos y ser analizados por CMF nos provee información sobre patrones de expresión antigénica, facilitando la identificación de perfiles fenotípicos particulares que permiten la caracterización de células leucémicas.

Desde el punto de vista clínico es fundamental el diagnóstico rápido y la clasificación de todos los tipos de leucemias. La literatura demuestra que varios genotipos de LA pueden predecirse desde el inmunofenotipo con distintos grados de precisión.

La citometría puede describir inmunofenotipos simples y complejos que pueden relacionarse con genotipos específicos, existiendo siempre excepciones en la correlación entre fenotipos/genotipos descriptos.

La CMF no reemplaza los estudios citogenéticos, biología molecular o FISH, pero puede indicar la dirección en que éstos se deben realizar, brindando una herramienta rápida, simple, sensible y específica que puede ser utilizada para el screening de estas patologías.

# Reflexiones de la intervención social con niños con enfermedad oncológica

Otero M.

E-mail oteromiriam@yahoo.com.ar

Hospital Pedro Elizalde. Bs. As.



TALLERES

PEDIATRÍA: ASPECTOS  
PSICO-SOCIALES

Nº Extraordinario, Vol. 16: 115  
Octubre, 2012

Partimos de la definición del sujeto de la intervención: el niño como ser bio-psico-socio-espiritual, con sentido de trascendencia y capacidad de pensarse a sí mismo. (Víctor Frankl). Trabajar con el ser (esencia) y no solo con el "estado del ser" (temporal).

Luego nos referimos a la enfermedad y sus metáforas: el imaginario y la representación social de la misma, lo que nos explica el carácter subjetivo del modo de enfermar.

A la consulta llegan familias en crisis: la irrupción de una enfermedad (aguda o crónica) supone cambios en la dinámica familiar, y propone una reestructuración de su percepción y funcionamiento.

El niño: atravesado por pérdidas: su entorno familiar y escolar, sus actividades lúdicas y sociales, su autoestima, su imagen corporal, su control, su autosuficiencia.

Intervención social: a través de entrevistas diagnósticas con el objetivo de conocer el sistema familiar, impacto de la enfermedad y actitud frente a la misma; capacidad de organización y resolución de conflictos, recursos internos y externos (red social), nivel de entendimiento y comprensión de la realidad; situación socioeconómica y habitacional.

Estrategias de intervención: espacio de la entrevista, instancia de reflexión para descubrir y maximizar potencialidades, priorizar problemáticas, en consenso con la familia, fortalecer la comunicación y la información sobre la enfermedad y respetar la subjetividad, la temporalidad y la cultura de cada familia.

Cosmovisión: promoción de los aspectos sanos: escolaridad, recreación, socialización.

Situaciones frecuentes a trabajar: impacto psicosocial de la enfermedad en la familia, padecimiento de los hermanos, desarraigo, claudicación familiar, aparición de conductas desadaptativas (adicciones, violencia, afecciones psicopatológicas, deserción escolar) dificultades vinculares, adherencia terapéutica

Seguimiento: es el trabajo a corto, mediano y /o largo plazo intra y extra institucional.

Se propone visualizar y evaluar logros y/u obstáculos que atraviesa la familia en las distintas etapas del tratamiento, detectar signos de claudicación familiar, o la aparición de situaciones disfuncionales; articular con la red de sostén local; monitorear la continuidad del tratamiento y promover la autonomía del paciente.

# Aspectos psicológicos del cáncer en los niños y sus familias. Estrategias de intervenciones

**Villanueva S.**

*E-mail silvillanueva@hotmail.com*

*Hospital Ricardo Gutiérrez. Bs. As.*



**TALLERES**

**PEDIATRÍA: ASPECTOS  
PSICO-SOCIALES**

Nº Extraordinario, Vol. 16: 116  
Octubre, 2012

Durante la última década se han experimentado avances muy significativos en el tratamiento de los diferentes cánceres de la infancia. Esta situación ha dado lugar a una supervivencia cada vez mayor lo que ha originado que debamos ocuparnos no sólo del tratamiento médico del niño con cáncer sino también contemplar los aspectos psicológicos, el ajuste psicosocial y la calidad de vida tanto del enfermo como de su familia. La formación de equipos interdisciplinarios, médicos, psicólogos, asistentes socia-

les, abogados, etc., ha demostrado su eficacia en la comprensión de las distintas etapas evolutivas de los niños, y sus capacidades cognitivas para comprender su enfermedad, como así también las características psicosociales de las familias.

Se intenta trabajar desde los distintos aspectos sobre aquellas dificultades que se van presentando a lo largo de todo el tratamiento en sus diferentes etapas, desde el diagnóstico, la remisión, hasta la recaída o el desenlace.

# Derechos de los niños y adolescentes

Cortelezzi S.

E-mail [susana.cortelezzi@speedy.com.ar](mailto:susana.cortelezzi@speedy.com.ar)

Hospital Ricardo Gutiérrez. Bs. As.



**TALLERES**

**PEDIATRÍA: ASPECTOS  
PSICO-SOCIALES**

Nº Extraordinario, Vol. 16: 117  
Octubre, 2012

La primera cuestión a responder es qué es un niño? Al sancionarse la reforma de la Constitución Nacional de 1994 fue incorporada mediante la ley 23.849 la "Convención de los Derechos del Niño" que a partir de ése momento y por imperio del art. 75 inc. 22 de la CN dicha Convención tiene jerarquía superior a las leyes y debe velar por el "interés superior del niño".

Según el art. 1 de la citada Convención "Para los efectos de la presente Convención se entiende por niño todo ser humano menor de dieciocho años de edad, salvo que, en virtud de la ley que le sea aplicable, haya alcanzado antes la mayoría de edad".

Hecha esta distinción debemos recordar además que para nuestra legislación Civil los menores dividen en menores impúberes los que aun no han cumplido la edad de 14 años y adultos los que fueren de esta edad hasta los 18 años cumplidos.

Pero no debemos dejar de considerar que el principio es que el acceso a la capacidad es gradual, por lo que los menores adultos pueden concretar un número de actos mucho mayor, que no viene al casi enumerar. Pero si debemos tener presente que los

niños son vulnerables, es decir no tienen capacidad de dar un consentimiento informado y dependen de otros para hacerlo. El consentimiento informado - base de la relación entre el médico y el paciente - es un compromiso legal y ético, por ello frente al sujeto pediátrico sólo se puede establecer un compromiso ético. Debido a esta condición el consentimiento parental debe complementarse con el asentimiento del niño y éste concepto de asentimiento surgió dentro del contexto de oncología pediátrica. Pero este concepto de asentimiento conlleva a una posibilidad de disasentimiento, el cual posee un valor ético que debe ser valorado y también por los padres del sujeto.

En la ciudad de Buenos Aires, existe la ley 3301 "Sobre Protección de los Sujetos de Investigación en Salud", que hace referencia al tema del consentimiento informado. La Ley de Derecho de los Niños Nº 26529/09 dispone en sus diversos artículos cuestiones de interés inherentes al tema. Existen también Tratados Internacionales además de la Convención de los Derechos del Niño referidos a esta misma problemática.

