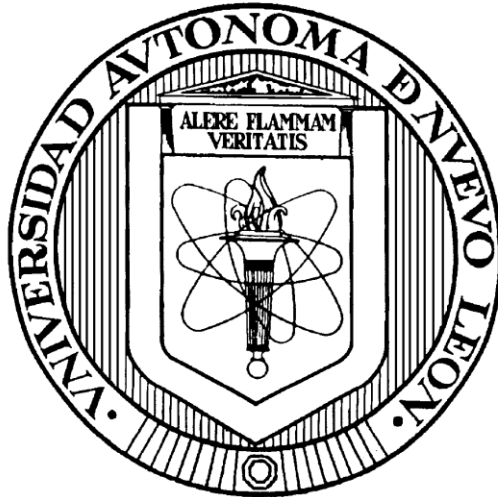


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA U.A.N.L.



***IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IgG e IgE ANTI- L-ASPARAGINASA EN
PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA EN TRATAMIENTO
PARA INDUCCIÓN DE LA REMISIÓN***

Por:

M.C.P. GABRIELA GALINDO RODRÍGUEZ

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN MEDICINA.**

Abril del 2010

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por regalarme la vida y la posibilidad de realizar éste trabajo que me ha permitido un gran aprendizaje y desarrollo profesional.

Agradezco en forma muy especial a mi Director de Tesis el *Dr. en Ciencias. Mario Cesar Salinas Carmona*, Quien desde el pregrado ha sido mi Maestro en toda la extensión de la palabra, y me proporcionó su tiempo, dedicación, su paciencia y asesoría incondicional para lograr llegar a ésta meta profesional tan importante en mi vida.

Agradezco a la *Dra. med Sandra González Díaz* quien como Jefa del Centro Regional de Alergia donde laboro, y co-directora de tesis su apoyo para la continuación y terminación de ésta tesis.

Agradezco a mis Co-Directores de Tesis los doctores: Dra. en Ciencias Maria de los Ángeles Castro Lerma, Dra. en Medicina Lourdes Garza Ocañas y al Dr. en Medicina. Jorge Esquivel Valerio, quienes siempre estuvieron dispuesto a colaborar conmigo con su asesoría, consejos y entusiasmo.

Agradezco a los doctores: Raúl Cavazos, Humberto Treviño y Alberto Heredia por su desinteresado apoyo y colaboración en el desarrollo de este proyecto.

DEDICATORIA.

La presente tesis como prácticamente todas mis actividades incluyendo las académicas y profesionales las dedico a mi esposo, pues gracias a su amor y comprensión infinito, y que siempre me ha apoyado en cada una de mis iniciativas tanto en mi vida profesional como personal y me ha dado la fortaleza y la confianza para triunfar sobre todo con su razonada y sabia opinión oportuna, lo que me ha permitido alcanzar las metas que me he trazado. Gracias.

Lo dedico también a mis hijos José Carlos y Gaby que son los motores que me hacen seguir adelante y con entusiasmo en los aspectos profesionales, académicas y de vida. Gracias.

También quiero dedicar este trabajo a mis queridos padres quienes no solo me dieron la vida y siempre me apoyaron y me alentaron para seguir adelante en mis estudios y superar todas las dificultades que se han presentado en mi camino, sino que con su ejemplo me han dado las herramientas para el triunfo. Siempre los tendré conmigo. Gracias

INDICE DE ABREVIATURAS

LLA	Leucemia linfoblástica aguda.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
SNC	Sistema nervioso central.
<u>E. coli</u>	<i>Escherichia coli</i>
IgG	Inmunoglobulina G.
IgE	Inmunoglobulina E
G-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos (por sus siglas en ingles)
ELISA	Ensayo inmuno-enzimático
PBS	Amortiguador salino de fosfatos
PC	Pruebas Cutáneas
OPD	Dihidrocloruro de fenilendiamina
ANOVA	análisis de varianza

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes.....	1
1.1.1 La leucemia linfoblástica aguda	1
1.1.2 El papel de la L-asparaginasa en el tratamiento de la LLA.	4
1.1.3 Farmacocinética y farmacodinamia de la L-asparaginasa. ..	6
1.1.3.1 Sensibilización a la enzima L-asparaginasa.....	7
1.2 Importancia.	13
1.3 Originalidad.....	13
1.4 Justificación.....	13
2. HIPÓTESIS	14
3. OBJETIVOS	15
3.1. Objetivo general.....	15
3.2. Objetivos específicos.....	15
4. PACIENTES Y MÉTODOS	16
4.1. Sujetos.....	16
4.2. Criterios de inclusión.....	16
4.3. Criterios de exclusión.....	17
4.4. Criterios de eliminación.....	17
4.5. Pruebas cutáneas.....	17
4.6. Obtención de la muestra para determinar IgG anti-L-asparaginasa	19
4.7. Determinación de IgG anti-L-asparaginasa	19
4.8. Anticuerpos IgG anti-L-asparaginasa	19

4.9. Estandarización del ensayo	20
4.10 Análisis Estadístico.....	22
4.11. Aspectos Éticos.....	23
4.12. Personal Profesional.....	24
4.13 Recursos materiales.....	24
4.14. Financiamiento.....	24
5. RESULTADOS.....	25
5.1 Características de la población.....	25
5.2. Características de los pacientes estudiados.....	26
5.3. Pruebas Específicas Para L-Asparaginasa.....	29
5.3.1. Pruebas cutáneas epicutáneas (Prick).....	29
5.3.2. Pruebas cutáneas intradérmicas.....	30
5.4. Estado Actual de la enfermedad.....	36
5.5. Riesgo de la enfermedad y presencia de anticuerpos.....	37
5.6. Recaídas y desarrollo de anticuerpos anti-l-asparaginasa.....	41
5.7 Influencia del género en la respuesta de anticuerpos anti L- aspapraginasa.....	47
5.8. Estado actual de la enfermedad y producción de anticuerpos específicos.....	50
6. DISCUSIÓN.	54
7. CONCLUSIONES.	59
8. BIBLIOGRAFÍA.	60
9. APÉNDICES.	66
1 Forma de consentimiento informado.....	67
2 Forma de registro de enfermedades alérgicas	70
3 Hoja de pruebas cutáneas.....	72
4 Hoja de interpretación de Pruebas cutáneas	73
RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO.....	72

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Reacciones alérgicas a la L- asparaginasa.....	7
2. Clasificación de los mecanismos de hipersensibilidad.....	9
3. Características demográficas.....	25
4. Pacientes con alergia a medicamentos	26
5. Número de recaídas.....	36

LISTA DE FIGURAS

1. Población alérgica a la L-asparaginasa	27
2. Número de dosis administradas de L-asparaginasa	28
3. Pruebas cutáneas por Prick test para L-asparaginasa.....	29
4. Pruebas cutáneas intradérmicas con L-asparaginasa	30
5. Pruebas cutáneas para L-asparaginasa.....	31
6. PC y antecedentes personales de atopía	32
7. Pruebas cutáneas y anticuerpos IgG positivas para L-asparaginasa ...	33
8. Pruebas cutáneas e IgG negativas para la L-asparaginasa	34
9. Correlación entre pruebas cutáneas y anticuerpos IgG anti-asparaginasa	35
10. Pacientes en recaída	36
11. Correlación entre riesgo y presencia de IgG	37

12. Correlación entre riesgo y pruebas cutáneas	38
13. Correlación entre pruebas cutáneas, anticuerpos IgG anti-asparaginasa positivos y riesgo.....	39
14. Pacientes con IgG anti-L-asparaginasa	40
15. Correlación entre pruebas cutáneas y presencia o ausencia de recaídas	41
16. Correlación entre recaídas totales y pruebas cutáneas	42
17. Correlación entre anticuerpos IgG anti-asparaginasa y recaídas	43
18. Correlación entre IgG anti-asparaginasa y recaídas totales.....	44
19. Correlación entre pruebas cutáneas + anticuerpos IgG anti-asparaginasa positivos y recaídas.....	45
20. Correlación entre pruebas cutáneas + anticuerpos IgG anti-asparaginasa positivos y recaídas totales.....	46
21. Correlación entre genero y pruebas cutáneas.....	47
22. Correlación entre genero y anticuerpos IgG anti-asparaginasa.....	48
23. Correlación entre genero y pruebas cutáneas + anticuerpos IgG anti-asparaginasa positivos.....	49
24. Correlación entre estado de la enfermedad y anticuerpos IgG anti-asparaginasa.....	50
25. Correlación entre estado de la enfermedad y pruebas cutáneas....	51
26. Correlación entre estado de la enfermedad y pruebas cutáneas mas anticuerpos IgG anti-asparaginasa positivos.....	52

27. Sobrevida de pacientes con LLA y presencia de anticuerpos IgG e IgE	53
--	-----------

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes generales.

1.1.1. Leucemia linfoblástica aguda.

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el tipo más común de cáncer en la infancia, comprende aproximadamente el 80% de las leucemias agudas en pediatría y el 20% de los casos en adultos.¹ El rango de edad, en que la LLA se presenta con mayor frecuencia en los países desarrollados, es en niños de 2 a 5 años.² Un estudio reciente en la Ciudad de México reveló que el rango de edad con mayor incidencia de LLA es también entre los 2 y 5 años, presentando un pico a los 3 años de hasta 63.2 casos por millón.³

En los países desarrollados la tasa de curación es superior al 80%, lo que contrasta con un porcentaje menor en los países en vías de desarrollo, en los cuales esta tasa es muy heterogénea.^{2,4}

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en su clasificación de enfermedades hematopoyéticas malignas y de tejidos linfoides, reconoce dos entidades diagnósticas: LLA de células B y LLA de células T, las cuales poseen características clínicas, morfológicas, inmunofenotípicas, citogenéticas y moleculares diferentes.^{1, 2,5}

La etiología de la LLA incluye la adquisición de múltiples alteraciones genéticas consecutivas en las células preleucémicas. En los subtipos mas comunes de LLA la primera alteración puede ocurrir in útero; como evidencia de lo anterior se ha documentado la presencia del gen *TEL/AML1* en la sangre neonatal. Esta anomalía genética se presenta en células preleucémicas y no leucémicas.⁶ Debido a que estudios epidemiológicos han demostrado que muchos de los niños que presentan un defecto genético típicamente asociado a leucemia nunca la desarrollan,^{2,5,7} se postuló la teoría de los Dos Impactos o “Two Hit Model”, ya que se piensa que se requiere de un segundo evento extrauterino para el inicio de la LLA.²

Existen otras alteraciones a nivel genético, por ejemplo la hiperdiploidía, que se consideran de buen pronóstico, especialmente si existen copias extra de los cromosomas 4,10 o 17.^{5,8} Estas células se caracterizan por acumular grandes cantidades de metotrexate, que se emplea de rutina en el tratamiento de la enfermedad, además son muy sensibles a los antimetabolitos y a la enzima L-asparaginasa.^{5,9} Otra anomalía frecuente es la presencia del gen MLL, cuya anomalía, localizada en el cromosoma 11q23, ocurre en aproximadamente el 80% de los niños con la enfermedad.^{5,7} Todas las células con anomalías del gen MLL son altamente resistentes a los glucocorticoides in vitro e in vivo, además presentan resistencia a la L-asparaginasa, lo que implica un mal pronóstico.¹⁰ La translocación (9;22) (q34;q11), tiene como consecuencia una fusión entre el gen BCR del cromosoma 22 y el gen ABL del cromosoma 9 (BCR-ABL), que da como resultado una actividad anómala de la cinasa de tirosina, aumentando la proliferación celular y disminuyendo la apoptosis. Se

presenta con mayor frecuencia en adultos y es de mal pronóstico.^{5, 7,11}

Antes de iniciar el tratamiento de la LLA se deben de estudiar diversas características con la finalidad de ubicarla dentro de una categoría. La LLA se clasifica en la actualidad en riesgo bajo, estándar y alto, de acuerdo a la edad, la cuenta leucocitaria, el inmunofenotipo, el genotipo, la respuesta temprana al tratamiento y la presencia o ausencia de enfermedad extramedular, siendo la mas frecuente la LLA de precursores de células B.¹²

Los protocolos de tratamiento para la LLA incluyen varias fases: inducción a la remisión, tratamiento dirigido al sistema nervioso central (SNC), consolidación, intensificación temprana o reinducción, fase de mantenimiento, e intensificaciones.^{2,5}

La inducción a la remisión tiene como objetivo erradicar más del 99% de las células leucémicas, así como restaurar la hematopoyesis. Se utilizan tres a cuatro drogas sistémicas dependiendo de la categoría de riesgo: un glucocorticoide, vincristina y L-asparaginasa, antraciclina o ambas.²

La segunda fase incluye la quimioterapia intratecal o profilaxis del SNC, 1 o 2 veces por semana, así como drogas sistémicas, entre las que se incluyen dosis altas de metrotexate y 6-mercaptopurina; existen además protocolos que incluyen ciclofosfamida y citarabina en la fase de consolidación.⁵

En la etapa de reinducción se utilizan drogas similares a las usadas en la fase de inducción a la remisión; esta etapa del tratamiento ha mostrado su valor al disminuir la incidencia de recaídas. Se ha visto que esta fase es efectiva con la utilización de cuatro drogas, incluyendo dexametasona, vincristina, daunorrubicina o adriamicina y L-asparaginasa. Además se incluyen 2 dosis de

quimioterapia intratecal.^{2,13}

La etapa de mantenimiento consiste en el tratamiento diario con 6-mercaptopurina, así como metotrexate semanal por un periodo de 2 a 2.5 años.⁵

Las intensificaciones se administran durante la fase de mantenimiento, el primero y segundo año del diagnóstico.

El trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas es la forma mas intensa de tratamiento para la LLA, casi siempre se reserva para pacientes cuya enfermedad cuenta con ciertas características especiales, como poseer el cromosoma Filadelfia (Ph), caracterizado por conferir un mal pronóstico, y con poca respuesta al tratamiento inicial.²

1.1.2. El papel de la L-asparaginasa en el tratamiento de la LLA.

Existen diversos protocolos de tratamiento para la LLA, los cuales incluyen entre sus drogas mas importantes a la enzima L-asparaginasa,¹⁴ esto se debe a su habilidad de provocar una gran apoptosis en los linfoblastos, inhibiendo su síntesis proteica.¹⁴

El descubrimiento de las propiedades antitumorales de la L-asparaginasa se remonta 50 años atrás, cuando se observó su efecto en pruebas realizadas en modelos animales.¹⁵ Tiempo después se logró aislar la asparaginasa de bacterias, gracias a lo cual se cuenta con diversas fuentes de la enzima, como la de *Escherichia coli* y las provenientes de *Erwinia carotovora* y *Erwinia chrysanthemi*.¹⁵ Existe en el mercado una presentación de acción prolongada de la enzima, unida a polietilenglicol, llamada asparaginasa pegilada o PEG-

asparaginasa.

La L-asparaginasa de *E. coli* ha sido un medicamento clave en el tratamiento de la LLA; esta enzima es un tetrámero que consiste en cuatro unidades idénticas, cada una de las cuales cuenta con 326 aminoácidos de longitud, con un peso de 134 kDa.^{15,16} Múltiples estudios han confirmado que la utilización de este medicamento en tratamientos mas extensos conduce a un mejor resultado que los tratamientos cortos.^{15, 17,18}

La utilidad de la L-asparaginasa en el tratamiento de la LLA radica en su habilidad para catalizar la desaminación de la asparagina y la glutamina, aminoácidos esenciales para la síntesis de proteínas, los cuales no pueden ser sintetizados efectivamente por los linfoblastos.^{15,19} La glutamina es el principal donador del grupo amino para la síntesis de novo de la asparagina en el hígado, al disminuir los niveles de la primera se mantienen niveles bajos de asparagina en suero, lo cual es primordial en un buen tratamiento, particularmente para pacientes con LLA de alto riesgo.¹⁴

La L-asparaginasa de *E.coli* puede ser administrada por vía intramuscular (i.m.) o intravenosa (i.v.). Está comprobado que la administración iv es considerablemente más tóxica que la i.m. Aunque ambas son igualmente efectivas.²⁰

Cabe mencionar que en Europa se utiliza la PEG-asparaginasa vía i.v. , ya que se ha demostrado que esta presentación de la enzima unida al polietilenglicol no es menos tóxica si se aplica por vía i.m., además de que hay una disminución mas rápida de asparagina en suero, y por consiguiente es más eficiente para evitar que sobrevivan células leucémicas resistentes.¹⁵

1.1.3. Farmacocinética y farmacodinamia de la L-asparaginasa.

Existen distintos factores que afectan la actividad de la L-asparaginasa, como por ejemplo la depuración de la enzima en suero, la resistencia de las células tumorales, la formación de anticuerpos anti-asparaginasa, así como la formación de asparagina de *ново* por el hígado, y la ingesta nutricional del aminoácido.^{15, 21,22}

La L-asparaginasa de *E. coli* posee una vida media de 26 a 30 horas, mientras que la de *Erwinia* es de 16 horas; ambas son eliminadas relativamente rápido en comparación con los 5.5 a 7 días que posee la vida media de la PEG-asparaginasa.^{15,21} Un aspecto importante es que la asparaginasa de *Erwinia* es menos tóxica que la de *E.coli*, pero hasta cierto punto menos efectiva, ya que se ha observado que ocurren mas recaídas al sistema nervioso central con ésta que con la de *E. coli*.²³

Las dosis de la enzima varían mucho entre los diversos protocolos, esquemas habituales son: Asparaginasa de *E. coli* a 10,000 UI/m², PEG-asparaginasa a dosis de 2500 UI/m² y la de *Erwinia* a dosis de 20,000 UI/m².¹⁵

El origen bacteriano de la asparaginasa tiene como consecuencia una indeseada antigenicidad que puede dar lugar a la formación de anticuerpos anti-asparaginasa.^{14,24-26} La presencia de anticuerpos anti-asparaginasa se ha registrado hasta en 70% de los niños y 79% en los adultos^{15,27}

1.1.3.1. Sensibilización a la enzima L-Asparaginasa.

Además de la formación de anticuerpos, se pueden encontrar reacciones alérgicas, incluyendo las anafilácticas hasta en un 40% de los niños.^{19,28} (Tabla 1)

Tabla 1. Reacciones alérgicas a la L- asparaginasa

<i>Reacciones locales o generalizadas</i>
Dolor
Edema
Urticaria
Eritema
Rash macular
Prurito
Insuficiencia respiratoria grave
Fiebre
Angioedema
Pérdida de la conciencia
Anafilaxia

Existe considerable controversia con respecto a la relación entre la formación de anticuerpos IgG anti-asparaginasa, la alergia al medicamento mediada por IgE, la conducta terapéutica a seguir, la evolución y respuesta clínica en caso de formación de anticuerpos. Estas reacciones adversas pueden estar mediadas por anticuerpos de las clases IgG, IgE, el complemento, o más de uno a la vez.^{27,29}

Por otra parte, se ha demostrado la actividad de anticuerpos IgE en pacientes

con LLA mediante la liberación de histamina de los leucocitos después de su incubación in vitro con L-asparaginasa.²⁷ Esta parece ser la base de la reacción alérgica y probablemente de la reacción anafiláctica al medicamento.

La alergia es una reacción de hipersensibilidad a un antígeno mediada inmunológicamente, manifestándose como inflamación tisular y disfunción orgánica, esta tienen una base genética, pero las manifestaciones clínicas de la enfermedad dependen tanto de la respuesta inmune como de la exposición al antígeno.^{30,31} Algunas de las reacciones indeseadas a la enzima L-asparaginasa se encuentran dentro de la clasificación de hipersensibilidad (Tabla 2), especialmente los tipos I y III.³² Algunas de las manifestaciones pueden ser mediadas por IgE y otras probablemente por activación inespecífica de las células cebadas.³³

Tabla 2. Clasificación de los mecanismos de hipersensibilidad

<p><i>Tipo I o hipersensibilidad inmediata</i></p> <p>Mediada por IgE, la cual al unirse al alérgeno activa la degranulación de las células cebadas. La reacción ocurre en minutos y su manifestación clínica depende del efecto de los mediadores en los sitios de acción y en los órganos. La respuesta alérgica mediada por IgE consta de dos subgrupos, atopía y anafilaxia, esta última es la forma más severa de alergia sistémica. Un ejemplo sería la alergia a la picadura de abeja.</p>
<p><i>Tipo II o hipersensibilidad mediada por anticuerpos</i></p> <p>Incluye anticuerpos de la clase IgG e IgM, los cuales se unen a receptores celulares y activan la cascada del complemento, destruyendo la célula a la cual se unieron. Un ejemplo sería la anemia hemolítica autoinmune.</p>
<p><i>Tipo III o hipersensibilidad mediada por complejos inmunes</i></p> <p>Ocurre cuando un antígeno se une a IgG o IgM, formando complejos inmunes los cuales se pueden depositar en tejidos o en el endotelio vascular, dañándolos, ya sea por activación del complemento, generación de anafilotoxinas o quimiotaxis de polimorfonucleares. El ejemplo mas característico es la enfermedad del suero.</p>
<p><i>Tipo IV, mediada por células T o hipersensibilidad tardía</i></p> <p>Tarda de 1 a 2 días en aparecer, está mediada por células T activadas, las cuales liberan citocinas y activan macrófagos. El ejemplo mas conocido es la dermatitis por contacto.</p>

Se ha estudiado la presencia de anticuerpos IgG anti-asparaginasa en pacientes que han recibido la enzima, incluyendo pacientes con reacciones adversas y aquellos que no sufrieron evento adverso alguno. Los resultados demuestran una correlación entre la presencia de títulos elevados al medicamento y el desarrollo de hipersensibilidad,^{24,26} sin embargo, no todos los pacientes en los que se desarrollan títulos elevados de anticuerpos anti-asparaginasa presentan manifestaciones clínicas, ni se ha establecido un criterio definitivo en cuanto a la influencia de estos anticuerpos y la reacción al tratamiento de inducción.

Un punto interesante, es que recientemente se investigó la farmacocinética de la dexametasona en el tratamiento de la LLA, droga usada extensamente en conjunto con la L-asparaginasa en la terapia antileucémica.⁵ Los resultados obtenidos mostraron que la dexametasona no solo es una droga que posee una farmacocinética muy variable, sino que sugieren que los pacientes alérgicos a la asparaginasa pudieran tener una doble desventaja, ya que no solo sufren de una actividad disminuida de la enzima, sino que además la tasa de eliminación de la dexametasona está aumentada, por lo que su efecto farmacológico se ve disminuido.³⁴

En los países desarrollados al presentarse una reacción adversa a la enzima se opta por sustituir la L-asparagina de *E. Coli* por la de *Erwinia chrysanthemi* o *carotovora*, lo cual no afecta el pronóstico del tratamiento de la LLA a largo plazo,^{19,28} pero tiene el inconveniente de un costo muy elevado, por lo que casi no se utiliza en nuestro país, optándose en cambio por suspender la administración de la enzima para evitar las complicaciones asociadas. Algunos

estudios han mostrado claramente que existe una depuración más rápida de la asparaginasa, así como una disminución en su actividad enzimática, en pacientes con hipersensibilidad o que presentan títulos elevados de anticuerpos IgG anti-asparaginasa.¹⁴

Por lo anterior se ha tratado de conocer si existe una relación entre la presencia de anticuerpos IgG anti-asparaginasa, las reacciones alérgicas a la misma, y el resultado del tratamiento. Diversos estudios han mostrado resultados contradictorios, algunos revelando que los pacientes que desarrollan anticuerpos IgG anti-asparaginasa tienen mayor probabilidad de presentar una reacción alérgica y mayor incidencia de complicaciones, aún sustituyendo *E. coli*-asparaginasa por *Erwinia*-asparaginasa,¹⁴ mientras que otros concluyen que los pacientes que tuvieron reacciones alérgicas a la asparaginasa de *E. coli* y cambiaron por la presentación de *Erwinia* no sufrieron ningún impacto negativo en el tratamiento de su enfermedad.^{19,28}

Estudios previos han demostrado que al presentarse reacciones alérgicas a la PEG-asparaginasa se pueden dar reacciones cruzadas con pruebas cutáneas positivas entre asparaginasa y factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) ya que ambos provienen de *E. coli*.²⁹

En México, así como en otros países en vías de desarrollo, al presentarse un evento adverso a la L-asparaginasa por lo general se suspende la utilización de la misma, ya que en la mayoría de los casos, y principalmente en las instituciones públicas de salud, no se cuenta con los recursos económicos para cambiar el tratamiento a L-asparaginasa de *Erwinia*. Por lo anterior se puede plantear la posibilidad de desensibilizar a un paciente, en lugar de cambiar de

medicamento,³⁵ lo que resulta mas económico y sería mejor que suspender la administración de la enzima, lo que impacta negativamente en el pronóstico.

La rápida desensibilización a medicamentos se ha utilizado con agentes quimioterapéuticos, ya que regímenes alternativos pueden estar limitados por la sensibilidad tumoral y la necesidad de administrar fármacos de primera línea. La rápida desensibilización ofrece la oportunidad de administrar la dosis completa del medicamento al cual se presentó una reacción alérgica previa.³⁶ El método consiste en una serie de pasos, cada uno con el fin de administrar pequeñas dosis del mismo e ir aumentando hasta llegar a dosis terapéuticas completas en un tiempo promedio de 4 a 12 horas. Cualquier reacción durante la desensibilización debe ser tratada deteniendo la infusión, administrando un antihistamínico, oxígeno, y en casos graves un esteroide, así como la posibilidad de utilizar epinefrina. Una vez que la reacción cede, se continua con la infusión en la dosis en la cual se detuvo el procedimiento.^{36,37}

En un estudio se intentó desensibilizar a una paciente que desarrolló una reacción anafiláctica a la *E. coli*-asparaginasa, empleando un protocolo en el cual la enzima se administró por vía i.v. aumentando su concentración hasta llegar a las dosis terapéuticas. Se logró terminar con el esquema previamente establecido sin observarse reacciones adversas.³⁵

Otro punto a destacar es que en múltiples protocolos de tratamiento, en caso de una recaída de LLA, se utiliza la L-asparaginasa de *E coli*, sin saber si pudiesen existir anticuerpos previamente formados, los cuales disminuyen la actividad del medicamento, o si se desarrolló hipersensibilidad al mismo, en cuyo caso en la siguiente administración pudiese ocurrir un evento adverso grave.

1.2. Importancia del presente trabajo.

Por los antecedentes citados se propone medir la presencia de anticuerpos IgG anti-L-asparaginasa mediante un ensayo inmuno-enzimático (ELISA), así como realizar pruebas cutáneas para detectar la presencia de IgE específica contra L-asparaginasa en pacientes que hayan recibido la enzima, con la finalidad de investigar cual es la incidencia de producción en un mismo paciente de anticuerpos IgG e IgE anti-asparaginasa en la LLA de la infancia, y si estos anticuerpos influyen en la respuesta a la inducción a la remisión de la enfermedad o a la hipersensibilidad o resistencia.

1.3. Originalidad.

No se conoce la asociación entre la presencia simultánea de anticuerpos IgG e IgE anti-L-asparaginasa y la respuesta a la terapia de inducción de la remisión y la evolución clínica.

1.4. Justificación

- Es necesario conocer si la presencia de anticuerpos contra la enzima L-asparaginasa afecta el curso clínico de la enfermedad y determinar si un título dado de anticuerpos IgG anti-L-asparaginasa guarda relación con la resistencia a la terapia de inducción a la remisión, así como la importancia de estandarizar una conducta clínica adecuada para tratar al paciente que desarrolla hipersensibilidad a la enzima.

CAPÍTULO 2

HIPÓTESIS

Los pacientes con LLA-B pueden producir simultáneamente anticuerpos IgG e IgE anti-L-asparaginasa y desarrollan hipersensibilidad o resistencia al tratamiento que influye en la respuesta a la terapia de inducción a la remisión.

CAPÍTULO 3

OBJETIVOS

3.1 Objetivo general.

Identificar a los pacientes con LLA que desarrollan inmunidad (anticuerpos IgG) y/o alergia (anticuerpos IgE) a la enzima L-asparaginasa y determinar si influyen de manera independiente o en su conjunto en la respuesta clínica en la etapa de inducción a la remisión.

3.2 Objetivos específicos.

- 3.2.1. Desarrollar y estandarizar un ensayo inmunoenzimático (ELISA) para determinar anticuerpos IgG anti-L-asparaginasa
- 3.2.2. Identificar y cuantificar anticuerpos IgG anti-L-asparaginasa mediante un ensayo inmunoenzimático.
- 3.2.3. Identificar anticuerpos IgE anti-L-asparaginasa mediante pruebas cutáneas.
- 3.2.4. Determinar la existencia de ambos anticuerpos, IgG e IgE, en un mismo paciente.
- 3.2.5. Correlacionar la presencia de anticuerpos IgG e IgE con la respuesta clínica al tratamiento en la etapa de inducción a la remisión.

CAPÍTULO 4

PACIENTES Y MÉTODOS

4.1. Sujetos.

Pacientes menores de 18 años con diagnóstico de LLA tipo B que completaron las etapas de inducción y/o reinducción a la remisión, con no mas de un año de haber recibido la última dosis de L-asparaginasa y en los que sus padres o tutores aceptaron la participación en el estudio.

Se incluyeron como controles negativos; 10 individuos sanos que nunca recibieron L-asparaginasa.

Se obtuvieron datos generales del paciente, como: nombre, edad, sexo, clasificación inmunológica de la enfermedad, esquema de administración y fecha de última aplicación de L-asparaginasa, reacciones adversas y estado actual de la enfermedad.

4.2. Criterios de inclusión.

- a) Pacientes menores de 18 años con diagnóstico de LLA-B.
 - b) Pacientes que completaron las etapas de inducción y/o de reinducción a la remisión.
 - c) Que los padres o tutores aceptaron la participación en el estudio.
- (Apéndice 1)

4.3. Criterios de exclusión.

- a) Pacientes que no aceptaron participar en el estudio.
- b) Pacientes que recibieron antihistamínicos h1 o h2
- c) Pacientes con antecedentes de choque anafiláctico con la enzima L-asparaginasa.

4.4. Criterios de eliminación.

- a) Quienes no cumplieran con todos los parámetros a estudiar.

Al ser seleccionados los pacientes para participar en el estudio se realizó lo siguiente:

- 1) Se obtuvo la autorización para la inclusión en el estudio mediante la firma de una carta de consentimiento informado (Apéndice 1).
- 2) Se obtuvieron los datos generales del paciente (Apéndice 2)
- 3) La historia personal y familiar de atopía (Apéndice 2)
- 4) La fecha de última aplicación de la enzima (Apéndice 2)
- 5) Se tomó muestra de sangre para Biometría Hemática e IgG
- 6) Se identificaron las reacciones adversas a L-asparaginasa y su tipo
- 7) Se determinó el estado actual de la enfermedad.

4.5. Pruebas cutáneas.

Realización de las pruebas cutáneas

Se realizaron 2 tipos de pruebas: epicutáneas o “prick test” e intradérmica, para valorar la sensibilidad tipo I para la L-asparaginasa.

A) Prick test: se aplicó una gota de L-asparaginasa (dilución 1:100 equivalente a 50 unidades), sobre la piel, en la que efectuó una ligera punción con una lanceta con aplicador marca Duotip (Lincoln Diagnostic, Inc. Decatur, Illinois.). La muestra se dejó en contacto con la piel por un periodo de 15 minutos y se registró la reacción a la enzima, midiendo el diámetro máximo de la pápula y eritema, en milímetros.

Control negativo: solución salina normal.

Control positivo: una solución de fosfato de histamina a una concentración de 0.1 %.

B) Prueba cutánea intradérmica: consistió en la inyección intradérmica de una dilución de 1:100 de L-asparaginasa en solución salina estéril, se observó durante un periodo de 15 minutos y se registró el máximo diámetro de la pápula y el eritema.

La dilución de la L-asparaginasa para la prueba cutánea fue la siguiente:

1. De un frasco ampolla con 10,000 unidades en 2 mL, se tomaron 100 μ L = 500 unidades de asparaginasa.
2. Se diluyeron los 100 μ L en 900 μ L de solución salina estéril = 50 unidades en cada 100 μ L (volumen =1 mL)
3. Se tomaron 100 μ L de esta dilución y nuevamente se diluyeron 1,900 μ L de solución salina estéril = 2.5 unidades en cada 100 μ L.

- El control negativo para la prueba intradérmica fue solución salina normal

- El control positivo para la prueba intradérmica fue solución de fosfato de histamina en solución acuosa a una concentración de 0.01%.

Se documentó la respuesta clínica y hematológica de la LLA al finalizar la etapa de inducción a la remisión, y/o reinducción comparando los datos clínicos con los resultados de las pruebas *in vitro* e *in vivo*.

4.6 Obtención de la muestra para determinar IgG anti-L-asparaginasa.

Se tomó una muestra de 5.0 mL. de sangre periférica, se centrifugó a 3000 r.p.m. se obtuvo el suero y se congeló a una temperatura de -18 a -20°C hasta que se llevó a cabo el ensayo inmunoenzimático.

4.7 Determinación de IgG anti-L-asparaginasa.

El suero se utilizó para identificar la presencia de anticuerpos IgG anti-asparaginasa (anti human IgG, gamma Chain specific, Sigma St. Louis MO.), mediante un ensayo inmuno-enzimático (ELISA). Esta prueba se estandarizó, el análisis fue cuantitativo y se utilizaron controles positivo y negativo.

4.8 Anticuerpos IgG anti-L-asparaginasa.

Control positivo

Se utilizó un suero policlonal contra la L-asparaginasa producido en ratón. Este suero se generó al inmunizar intraperitonealmente con 15 mg. de L-asparaginasa en adyuvante incompleto de Freund a 10 ratones de la cepa BALB/c de entre 6 a 8 semanas de vida. Los ratones se reinmunizaron en los

días 15 y 30 con 10 mg. de L-asparaginasa en la misma solución de Freund. Los ratones se sangraron en el día 35 post-inmunización del plexo vascular retro orbitario con la ayuda de una pipeta Pasteur, la sangre se centrifugó a 3000 r.p.m. y los sueros se conservaron a menos 20° C hasta su uso.

Control negativo

Como control negativo de la prueba se utilizó el suero de ratones sanos sin inmunizar.

4.9 Estandarización del ensayo.

En la estandarización de la técnica de ELISA se empleó como antígeno la enzima (L-asparaginasa), que se administra a los pacientes en el tratamiento de la LLA (Leunase, Kyowa Hakko Kogyo Co. Japón). Para determinar la concentración ideal de antígeno se probaron diferentes concentraciones de L-asparaginasa (5 ng. hasta 1 mg).

1. La L-asparaginasa se suspendió en una solución amortiguadora de PBS, pH 7.2.
3. Se agregaron 200 μ L de la solución a cada pozo, utilizando placas de poliestireno de 96 pozos, incubándose toda la noche a 4 °C.
4. Se eliminó el sobrenadante de cada pozo y se procedió a realizar 5 lavados, cada uno de 5 minutos en agitación a 200 r.p.m. con una solución de lavado (PBS pH 7.2 con tween 20, 1:1,000).

- 5.** Los sitios de fijación inespecífica de la placa, se bloquearon con leche descremada al 5% en PBS pH 7.2, se agregaron 200 μ L de esta solución bloqueadora a cada pozo y se incubó a 37 °C por 2 horas.
- 6.** Posteriormente se eliminó la solución y se repitieron los lavados en las condiciones descritas anteriormente.
- 7.** Se agregaron 100 μ L de suero de los pacientes y de los controles, y se dejó incubar por una hora a 37 °C.
- 8.** Se eliminó el sobrenadante de los pozos y se repitieron los lavados.
- 9.** Se agregaron 150 μ L de anticuerpo IgG anti-IgG conjugado con peroxidasa, incubándose por 1 hora a 37 °C.
- 10.** Se lavó nuevamente con las condiciones previamente descritas.
- 11.** Se adicionaron 100 μ L de la solución substrato-cromógeno (dihidrocloreto de fenilendiamina, OPD) con peróxido de hidrógeno y se dejó incubar por 20 minutos.
- 12.** La reacción se detuvo con 100 μ L de ácido sulfúrico 1 M y la placa se leyó empleando un espectrofotómetro a 595 nm de longitud de onda y se midió la absorbancia.

Los datos recolectados se analizaron mediante una prueba T de student para determinar la especificidad y sensibilidad del ensayo.

4. 10. Análisis Estadístico.

Se calcularon las variables cualitativas de frecuencia absoluta y relativa (por porcentajes). Las variables cuantitativas se calcularon con el valor de la media y la desviación estándar.

En variables de distribución diferente a la normal (no-paramétricas) se llevaron a cabo pruebas comparativas mediante pruebas de distribución z (porcentajes) así como pruebas de distribución empleando Chi cuadrada (χ^2),

a) Se realizó estadística descriptiva con medidas de tendencia central y de dispersión (media \pm desviación estándar).

b) Se compararon resultados con Chi cuadrada.

c) Se elaboraron tablas de contingencia entre el estado clínico del paciente y los valores categorizados de IgG, IgE y la reacción cutánea, por medio de la correlación de Spearman.

En el procesamiento electrónico de datos y métodos de estadística se utilizó el programa SPSS 15.0

4.11 Aspectos Éticos.

4.11.1. Clasificación de la Investigación:

Investigación sin riesgo para el paciente

4.11.2. Riesgos previsibles y probables:

El estudio no puso en ningún tipo de riesgo al paciente, ya que la literatura reporta solo efectos indeseables mínimos locales en un escaso número de pacientes sometidos a pruebas cutáneas.

- 4.11.3. Se facilitó protección frente a riesgo físico/ emocional.
- 4.11.4. Se proporcionó a cada paciente una carta de consentimiento donde se explicaron los fines y beneficios esperados del estudio, la garantía de atención a las dudas solicitando después de la comprensión del documento, que firmaran dando su consentimiento si deseaban participar en el estudio. (Anexo 1)
- 4.11.5. Este protocolo fue evaluado y aprobado por el Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario “Dr. José E González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

4.12 Personal Profesional.

M.C.P. Gabriela Galindo Rodríguez.

Médico Especialista en Alergia e Inmunología Clínica y Candidato a Doctor en Medicina.

Dr. en Ciencias Mario Cesar Salinas Carmona. Profesor y Jefe del Departamento de Inmunología de la Facultad de Medicina, Director de Tesis.

4.13 Recursos materiales.

Instalaciones de la Consulta Externa del Servicio de Hematología, del Servicio de Alergia e Inmunología Clínica y del Departamento de Inmunología del Hospital Universitario “Dr. José E González” de la UANL.

4.14 Financiamiento.

Recursos propios de los Servicios de Hematología y Alergia e Inmunología clínica y del Departamento de Inmunología del Hospital Universitario “Dr. José E González” de la UANL.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS

5.1 Características de la población.

Se estudiaron 51 pacientes, con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda que recibieron tratamiento con L-asparaginasa en el Servicio de Hematología del Hospital Universitario “Dr. José E. González”, que reunieron todos los criterios de inclusión para éste estudio. De éstos, 24 de sexo femenino (47%) y 27 de sexo masculino (53%). El rango de edad fue de 2-16 años con una mediana de 5 años. (Tabla 3)

Tabla 3. Principales características demográficas de los pacientes

Pacientes estudiados con LLA	51	
Edad	Mediana: 5 años	Rango :2-16 años
Sexo masculino	n = 27 (53%)	
Sexo femenino	n = 24 (47%)	
Número de dosis de L-asparaginasa al momento del estudio	Mediana: 8 dosis	Rango: 5-14 dosis
Meses desde el diagnóstico al momento del estudio :	Mediana:36 meses	Rango:6-130 meses
Meses desde la última dosis de L-asparaginasa al momento del estudio :	Mediana:25 meses	Rango:0-84 meses

5.2 Características de los pacientes estudiados

El 39 % (20) refirió antecedentes personales positivos de atopía y el 61% (31) negativos ($\chi^2= 2.373$ $p= 0.123$) 17 (33%) pacientes refirieron historia de alergia a medicamentos, $\chi^2= 5.667$ $p=0.017$.

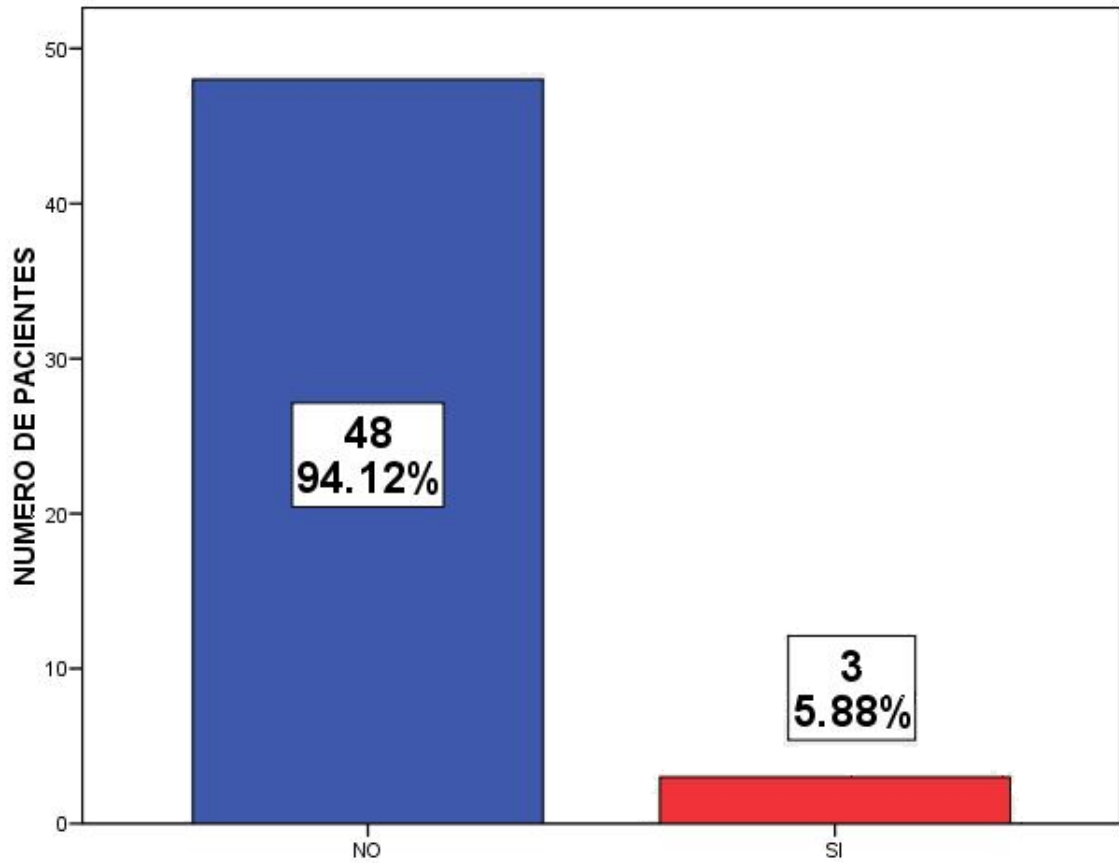
Los medicamentos a los cuales refirieron alergia se muestran en la tabla 4.

Un paciente fue alérgico a dos medicamentos; penicilina y L –asparaginasa

Tabla 4. Alergia a medicamentos

MEDICAMENTO	NUMERO DE PACIENTES
PENICILINA	5
L-ASPARAGINASA	3
VANCOMICINA	1
SEUDOEFEDRINA	1
PREDNISONA	1
NO ESPECIFICADO	7

De los 51 pacientes que recibieron L-asparaginasa solo 3 (6%) refirieron haber presentado alguna manifestación alérgica y 48 (94%) no $\chi^2= 39.706$ $p= 0.001$, como lo muestra la figura 1



$\chi^2= 39.706$

$p= 0.001$

Figura 1. Población alérgica a la L-asparaginasa

De acuerdo a la clasificación de riesgo de los pacientes con LLA 28 (55%) de ellos se clasificaron como de riesgo alto, es decir reunían varias de las siguientes condiciones: sexo masculino, menor de 1 año o mayor de 10, cuenta leucocitaria mayor a 50,000 por mm³ y antígeno común de la LLA negativo y 23 (45%) fueron de riesgo habitual ($\chi^2= 0.490$ $p= 0.484$).

De los pacientes estudiados 27 (53%) se encontraban en la etapa de mantenimiento de la enfermedad, 16(31%) en vigilancia y 8 (16%) en recaída ($\chi^2= 10.706$ $p= 0.005$)

Todos los pacientes estudiados habían recibido de 5 a 14 dosis de L-asparaginasa, la gran mayoría recibió las dosis recomendadas para el buen control de la enfermedad, que son de 6-8 dosis, 26 pacientes recibieron 6 (45%) dosis y 21 (41%) 8, como se puede ver en la figura 2

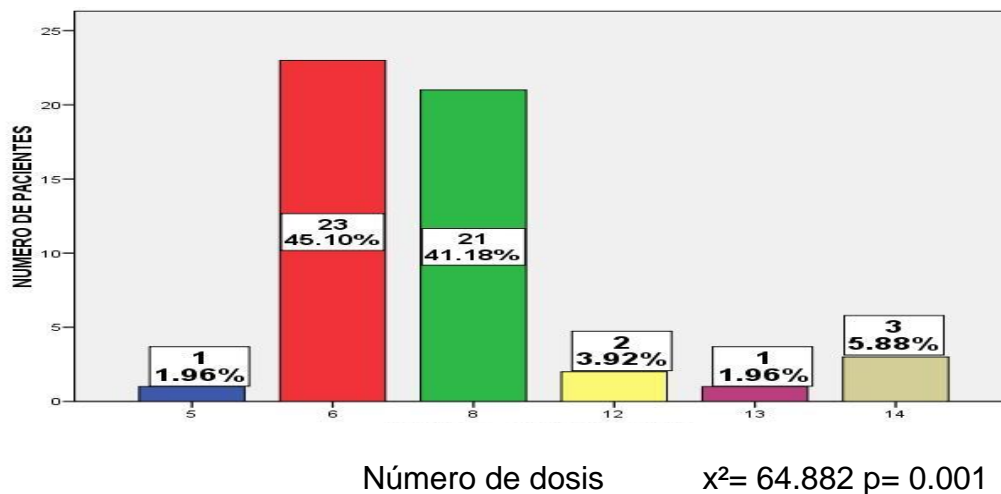


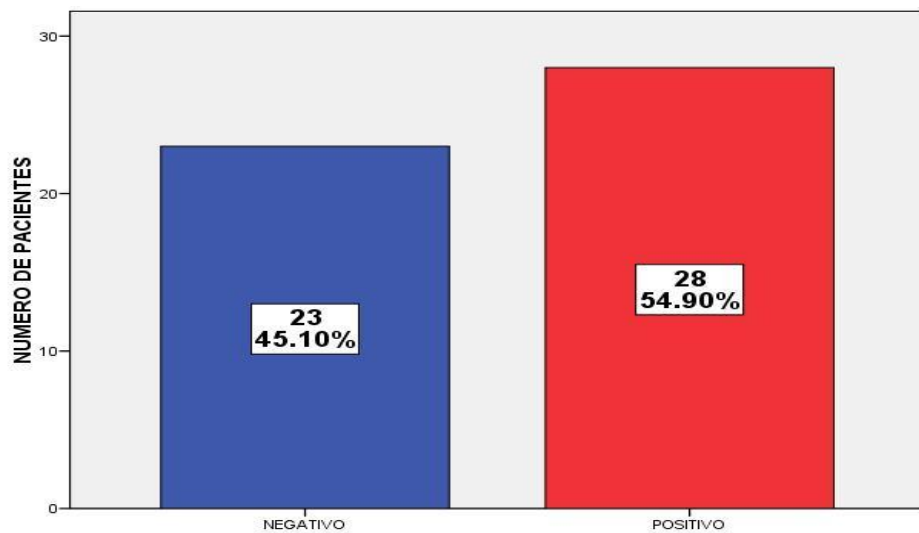
Figura 2. Número de dosis de L-asparaginasa administradas

5.3 Pruebas específicas para L-asparaginasa.

5.3.1 Pruebas cutáneas intradérmicas y epicutáneas (Prick)

Posteriormente a la colección de la información y de las muestras de sangre para la detección de anticuerpos IgG anti L-asparaginasa se procedió a realizar las pruebas cutáneas por el método de Prick test. Con este método 28 pacientes dieron la prueba positiva y 23 negativa, como se observa en la figura

3



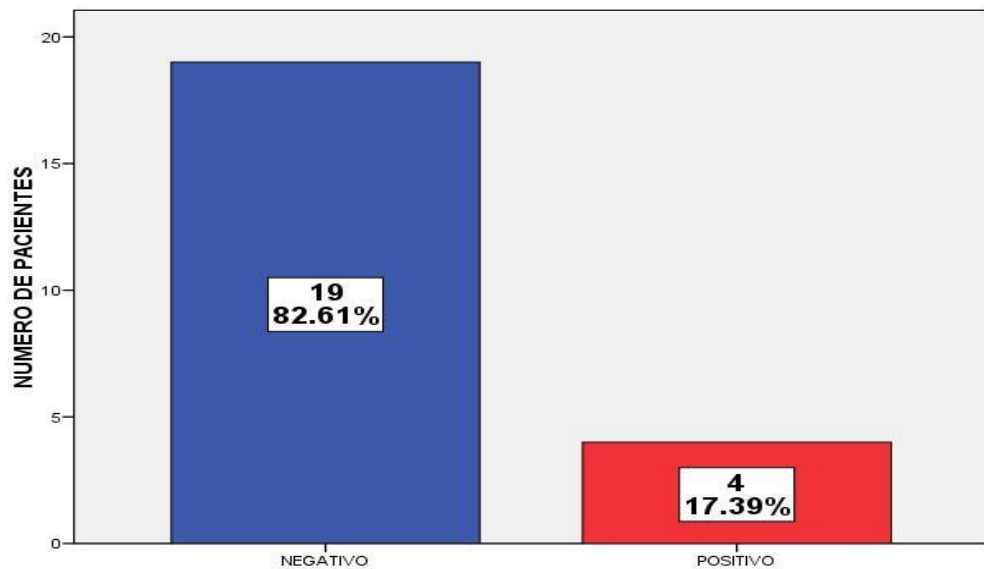
$$x^2 = 0.490$$

$$p = 0.484$$

Figura 3. Pruebas cutáneas por Prick test para L-asparaginasa

5.3.2.- Pruebas cutáneas intradérmicas.

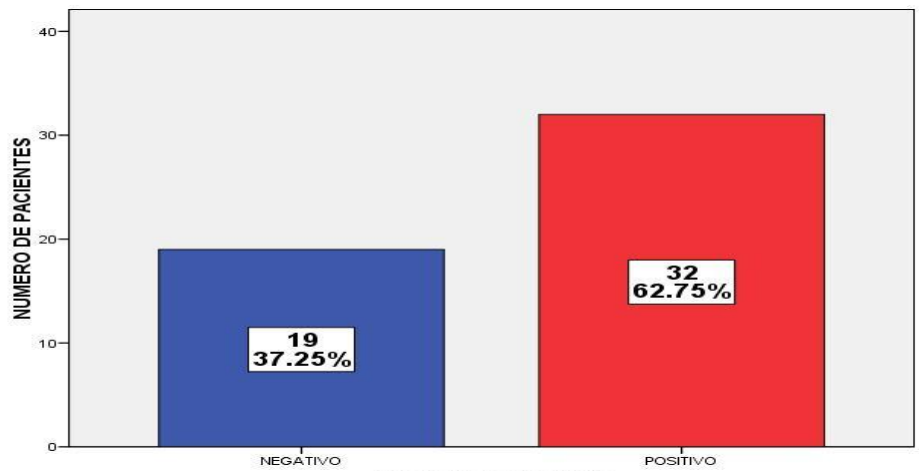
De los 51 pacientes a los que se les realizaron las pruebas cutáneas 28 (55 %) dieron resultados positivos, y 23 (45 %) negativos; a estos últimos se les realizaron pruebas cutáneas intradérmicas y con este método solo 4 resultaron positivos, lo que se muestra en la figura 4



$$\chi^2 = 9.783 \quad p = 0.002$$

Figura 4. Pruebas cutáneas intradérmicas con L-asparaginasa

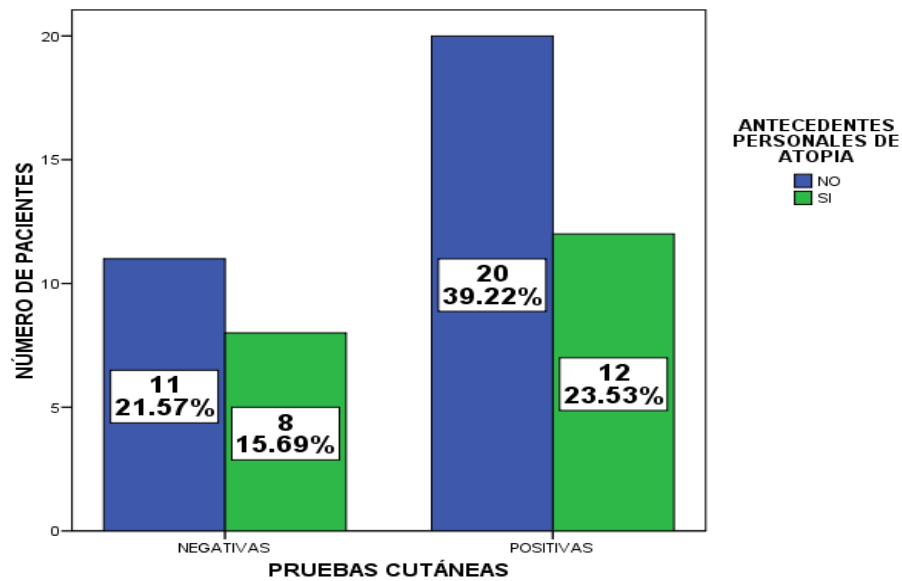
Al evaluar en forma general ambos métodos de pruebas cutáneas (intradérmicas y prick) se observó que 32 pacientes en total mostraron una respuesta positiva a la L-asparaginasa y 19 dieron una respuesta cutánea negativa, como se muestra en la figura 5



$$\chi^2 = 3.314 \quad p = 0.069$$

Figura 5.- Prick test e intradermoreacción para L-asparaginasa

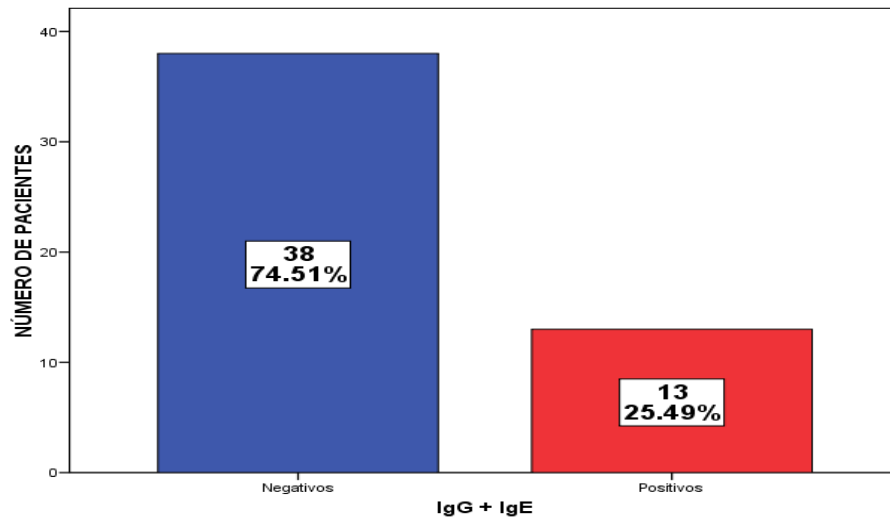
La presencia de antecedentes personales de atopía es determinante para el desarrollo de la respuesta alérgica y se puede comprobar en la figura 6, donde se aprecia que 23% de los pacientes tenía antecedentes personales de atopía y pruebas cutáneas para L-asparaginasa positivas



P= 0.751

Figura 6. PC y antecedentes personales de atopía

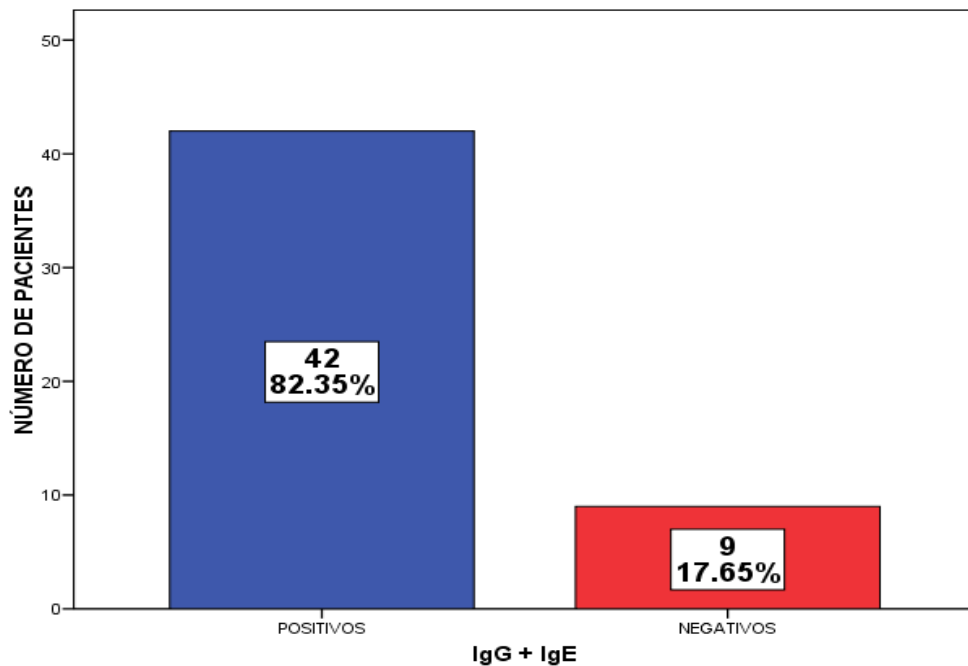
Se observó que existe una diferencia estadísticamente significativa al comparar pacientes con una prueba cutánea positiva y presencia de anticuerpos IgG anti-L-asparaginasa y los que no, $p = 0.001$ como se observa en la figura 7



$$x^2 = 12.255 \quad p = 0.001$$

Figura 7. Pruebas cutáneas y anticuerpos IgG positivos para L-asparaginasa.

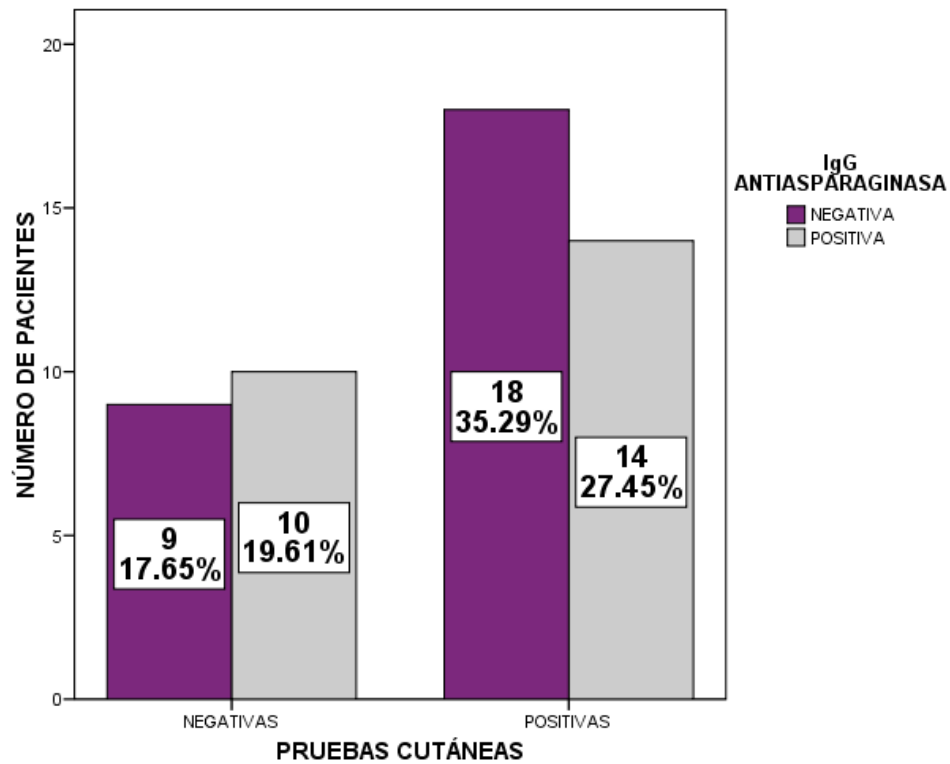
Al seleccionar solo aquellos pacientes que no desarrollaron anticuerpos IgG y cuyas pruebas cutáneas fueron negativas y compararlos con los que no reunían este criterio la diferencia también fue estadísticamente significativa ($p = 0.001$), como se ve en la figura 8.



$\chi^2 = 21.353$ $p = 0.001$

Figura 8. Pruebas cutáneas e IgG negativos para L-asparaginasa

Al buscar alguna correlación entre la presencia de IgG y pruebas cutáneas, no se encontró, como se observa en la figura 9

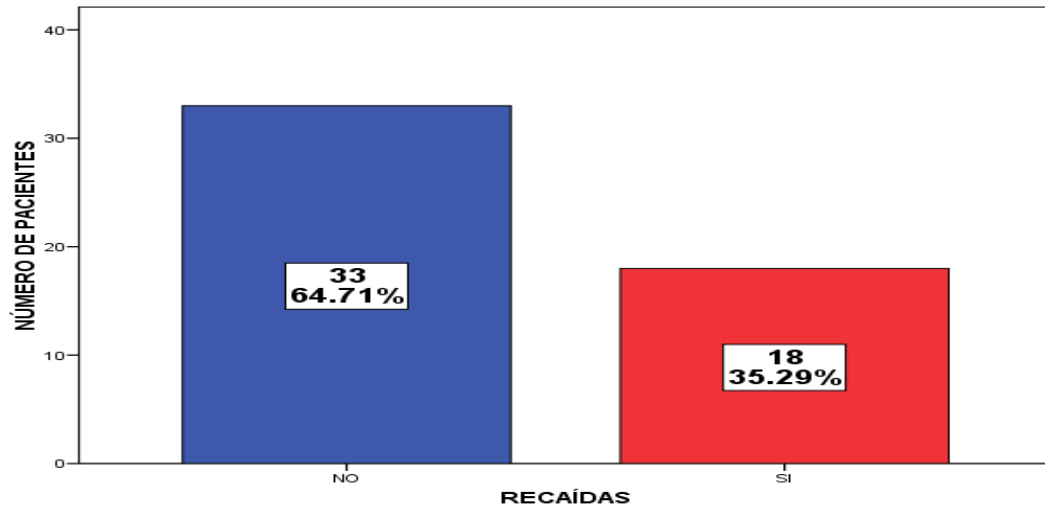


P= 0.548

Figura 9. Correlación entre pruebas cutáneas y anticuerpos IgG anti L-asparaginasa.

5.4. Estado actual de la enfermedad.

De los 51 pacientes, 18 (35%) se encontraban en recaída de LLA al momento del estudio, como lo muestra la figura 10.



$$x^2= 4.412 \text{ p}= 0.036$$

Figura 10. Pacientes en recaída

La mayoría de los 18 pacientes que se encontraron en recaída (n=13) solo habían presentado 1 recaída, como lo muestra la tabla 5.

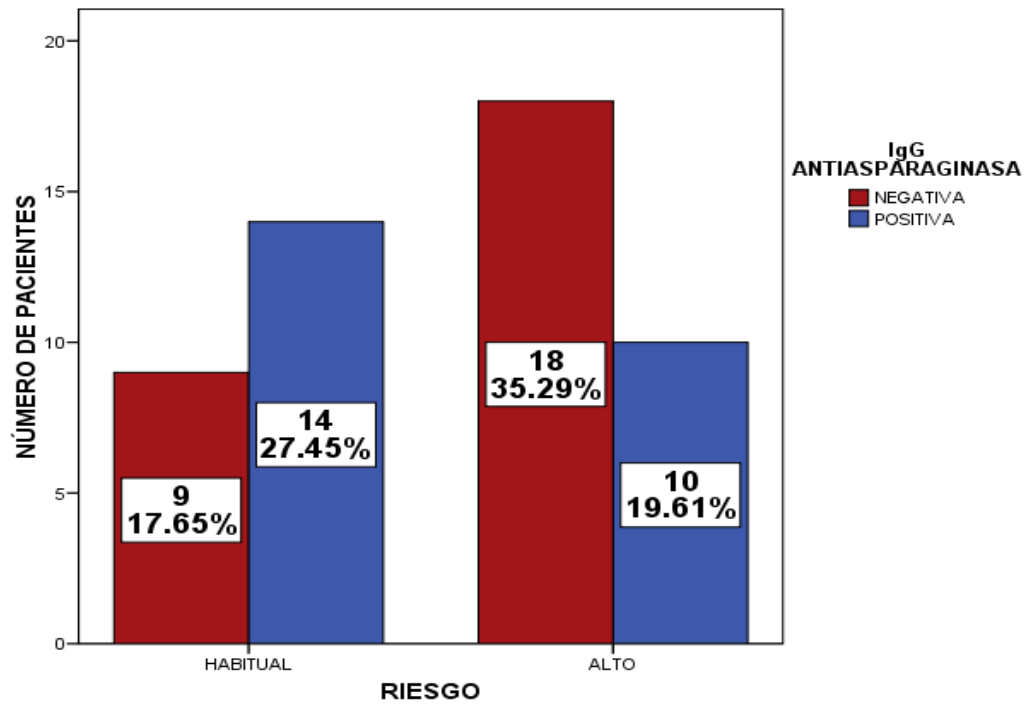
Tabla 5. Número de recaídas

No. de pacientes	No. de recaídas
13	1
2	2
1	3
2	4

$$x^2= 73.216 \text{ p}= 0.001$$

5.5. Riesgo de la enfermedad y presencia de anticuerpos

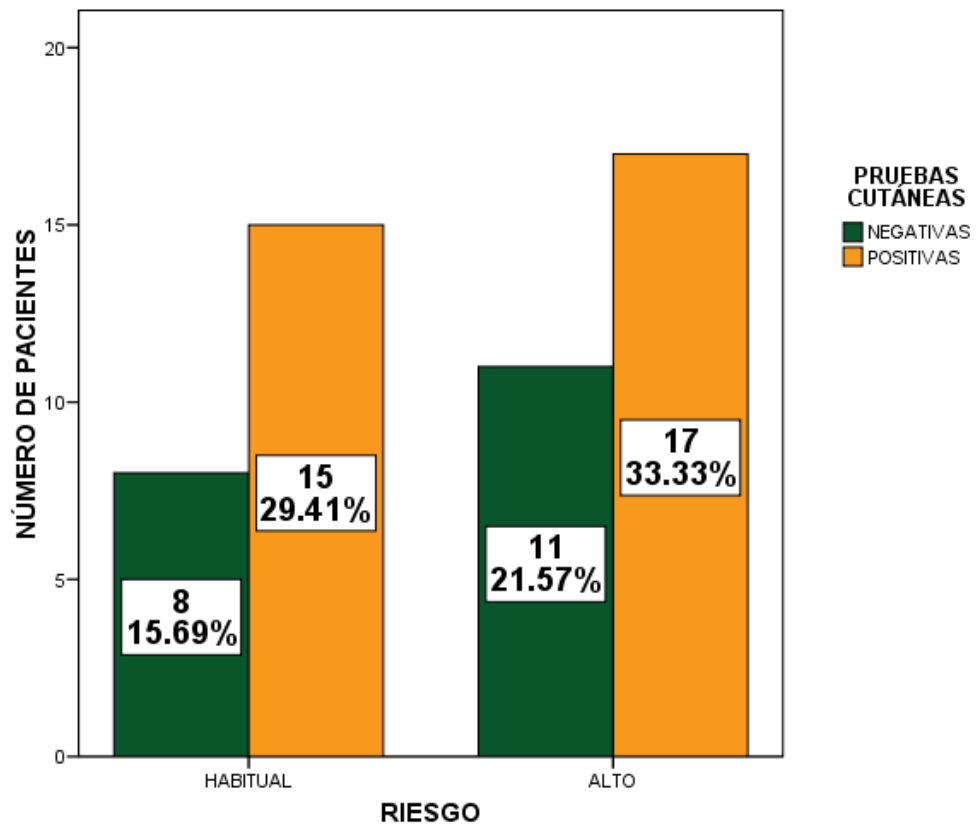
Al buscar correlación entre el riesgo de la enfermedad y la presencia de anticuerpos IgG para L-asparaginasa, no se encontró correlación en ninguno de los grupos estudiados, como se muestra en la figura 11.



P=0.076

Figura 11. Riesgo y anticuerpos IgG anti-L-asparaginasa.

Tampoco se encontró correlación entre riesgo de la enfermedad y pruebas cutáneas para L-asparaginasa como lo muestra la figura 12



P= 0.747

Figura 12. Tipo de riesgo y pruebas cutáneas.

Sin embargo, al estudiar la correlación entre la presencia de ambos tipos de anticuerpos y riesgo de la enfermedad, esta correlación si se encontró presente, como lo demuestra la figura 13

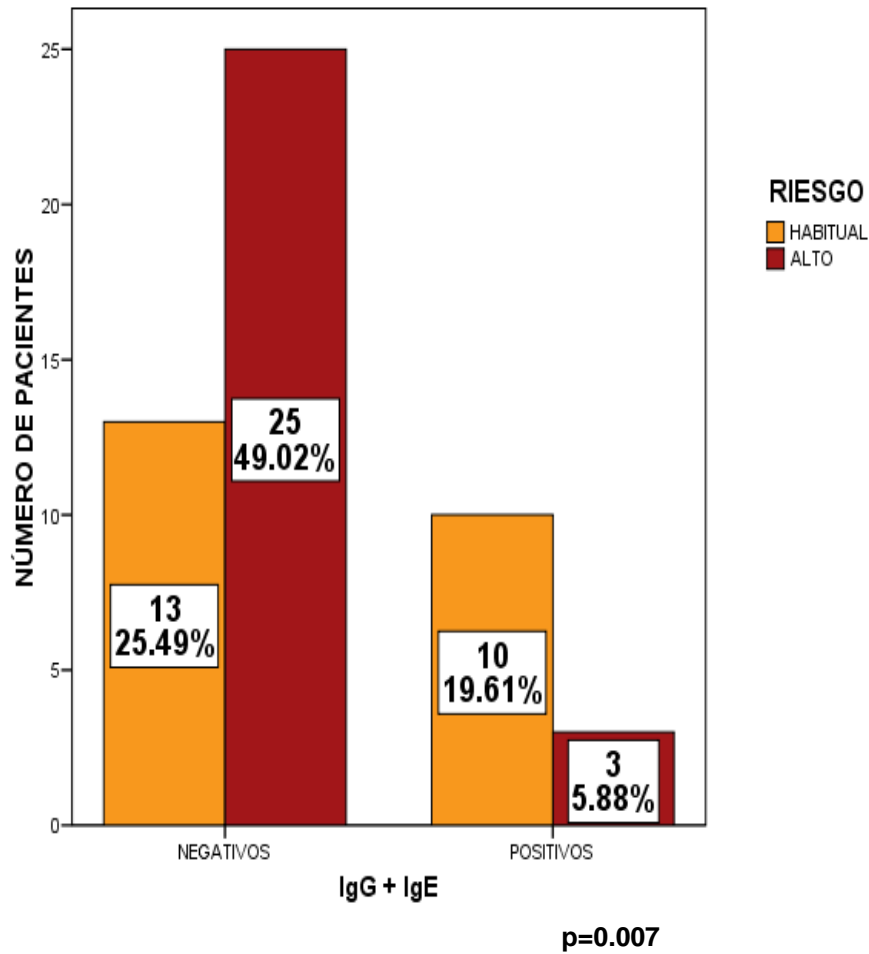
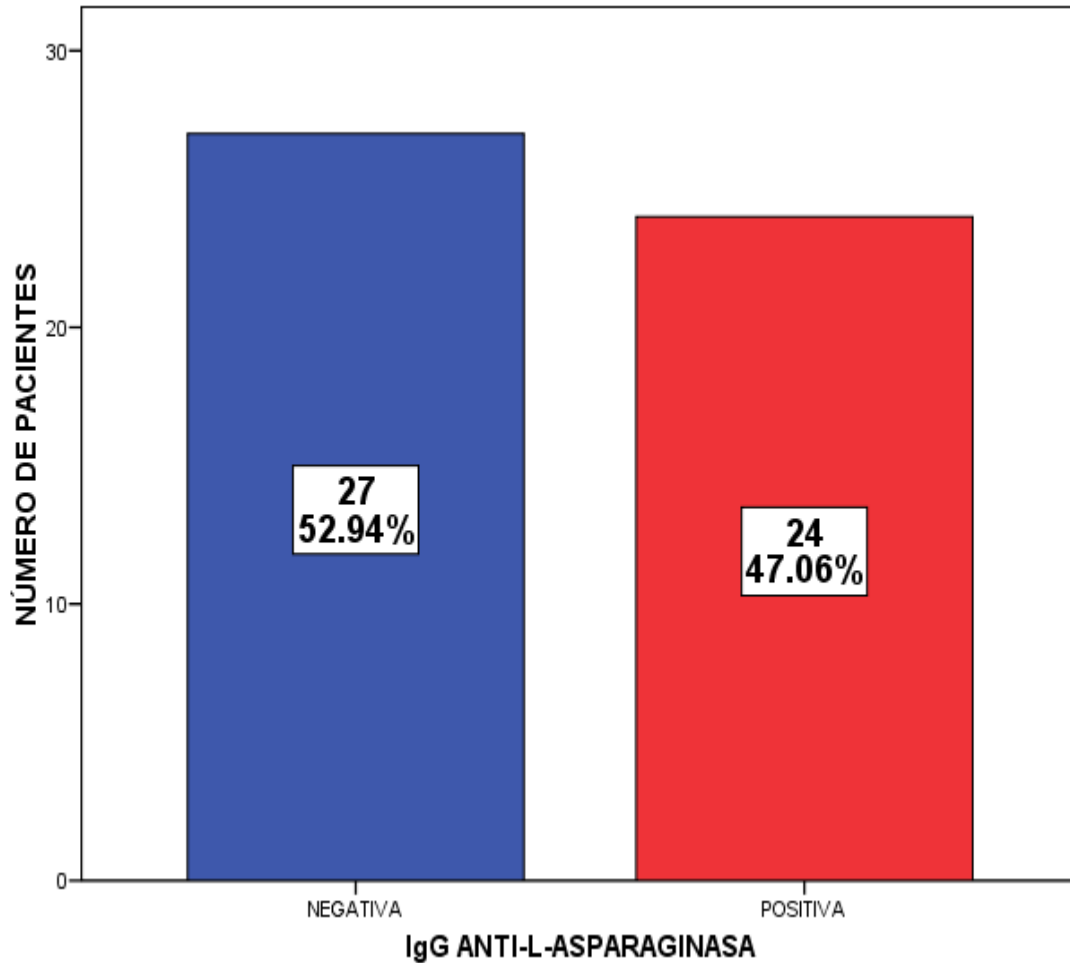


Figura 13. Riesgo y anticuerpos IgG e IgE anti-L-asparaginasa

Es de hacer notar que casi la mitad de los pacientes formaron anticuerpos IgG anti L-asparaginasa, como lo muestra la figura 14

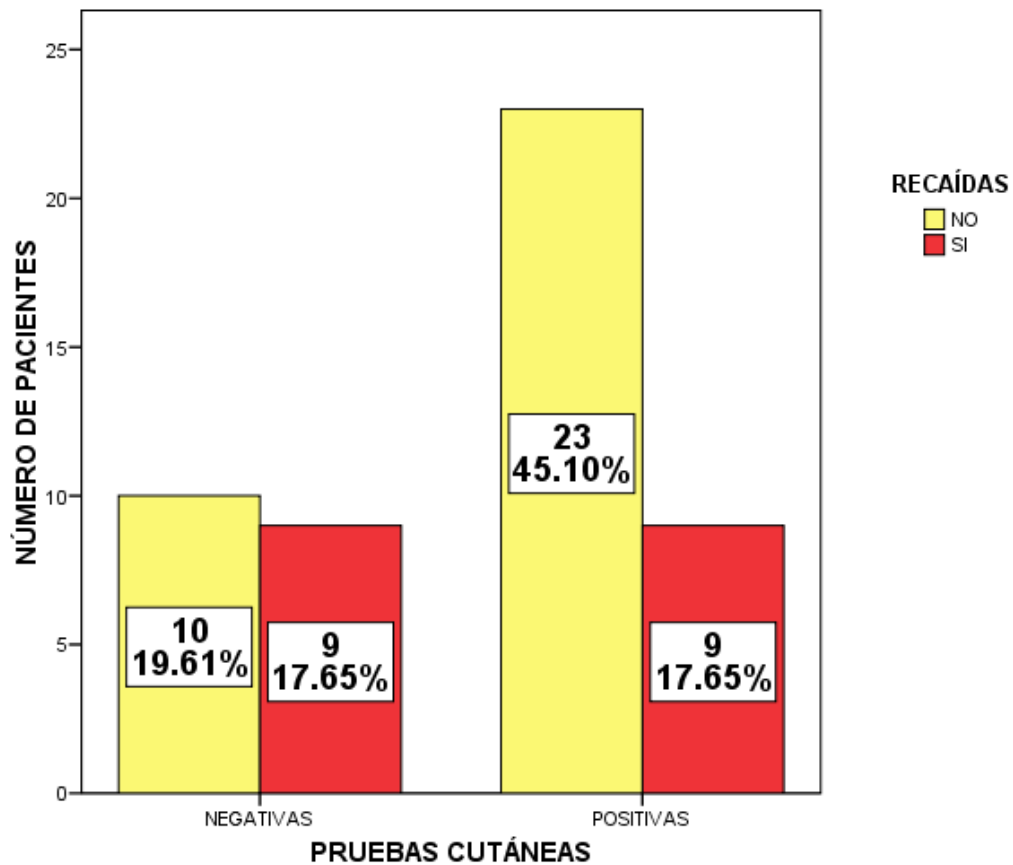


$\chi^2 = 0.176$
 $p = 0.674$

Figura 14. Pacientes con IgG anti-L-asparaginasa.

5.6.- Recaídas y desarrollo de anticuerpos anti-L-asparaginasa

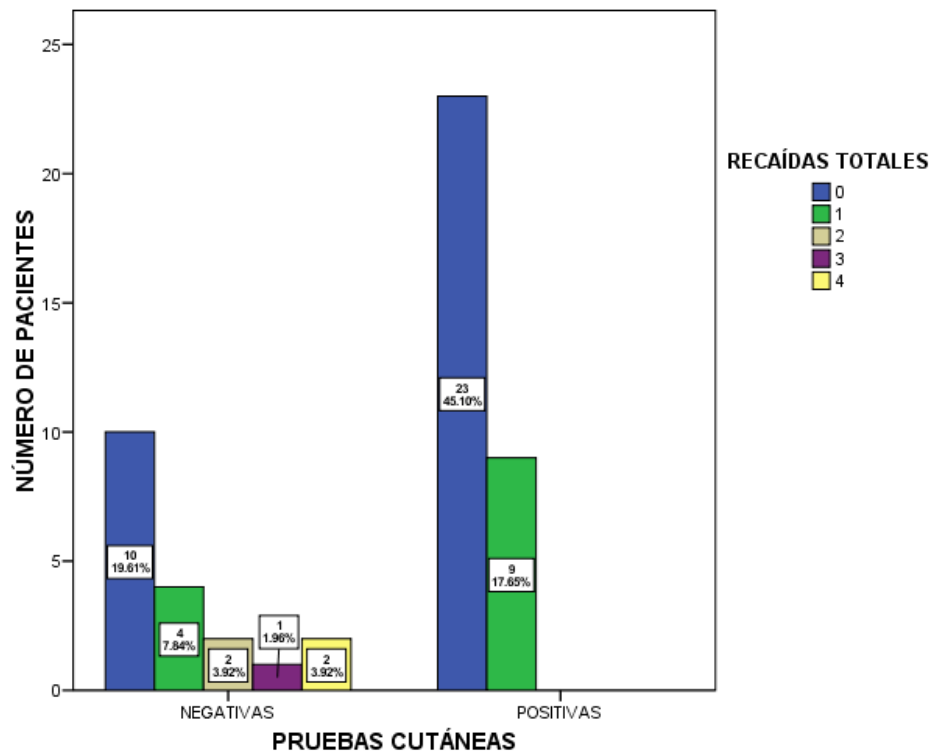
Como se mencionó con anterioridad, 18 pacientes presentaron recaídas. Al estudiar la correlación entre la presencia de recaídas y pruebas cutáneas se observó que 23 pacientes con prueba cutánea positiva no presentaron recaídas al momento del estudio, como se muestra en la figura 15



P=0.171

Figura 15. Pruebas cutáneas y recaídas.

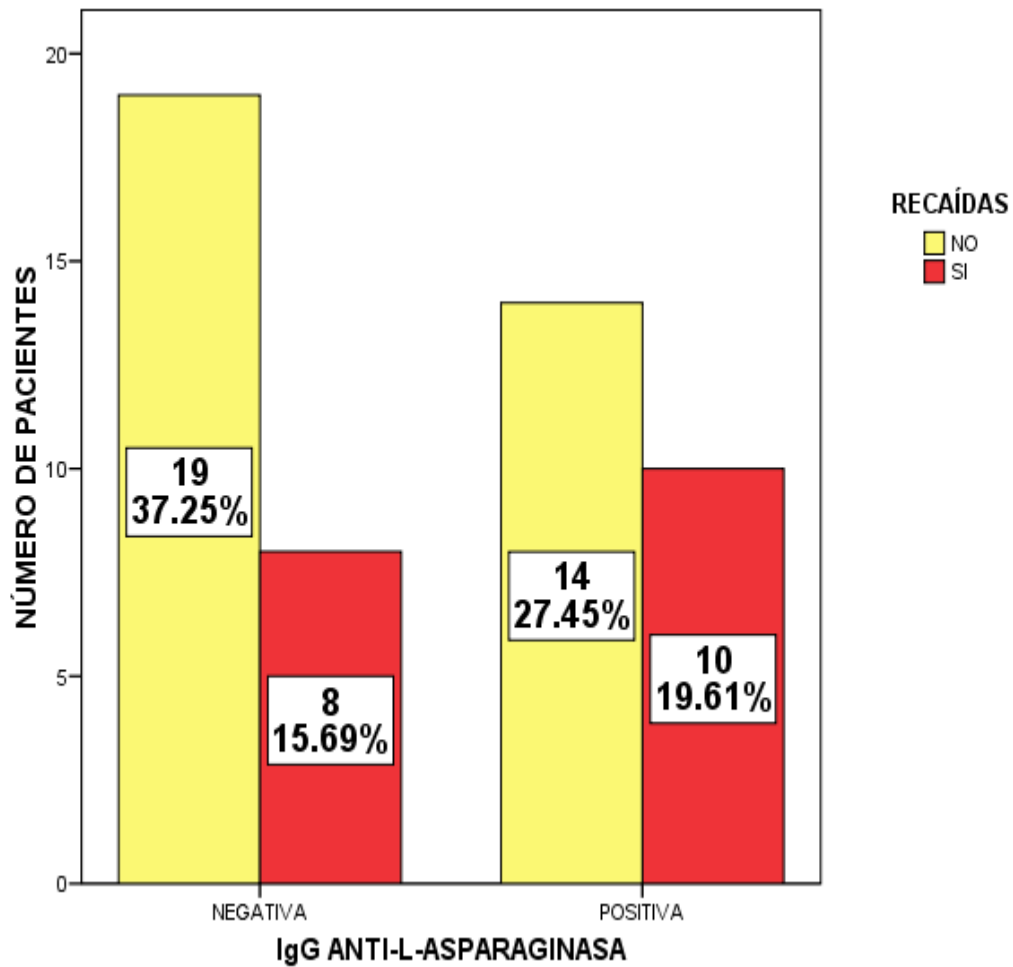
De los pacientes que tuvieron pruebas cutáneas positivas 9 tuvieron una recaída, como se ve en la figura 16.



P= 0.061

Figura 16. Número de recaídas y pruebas cutáneas.

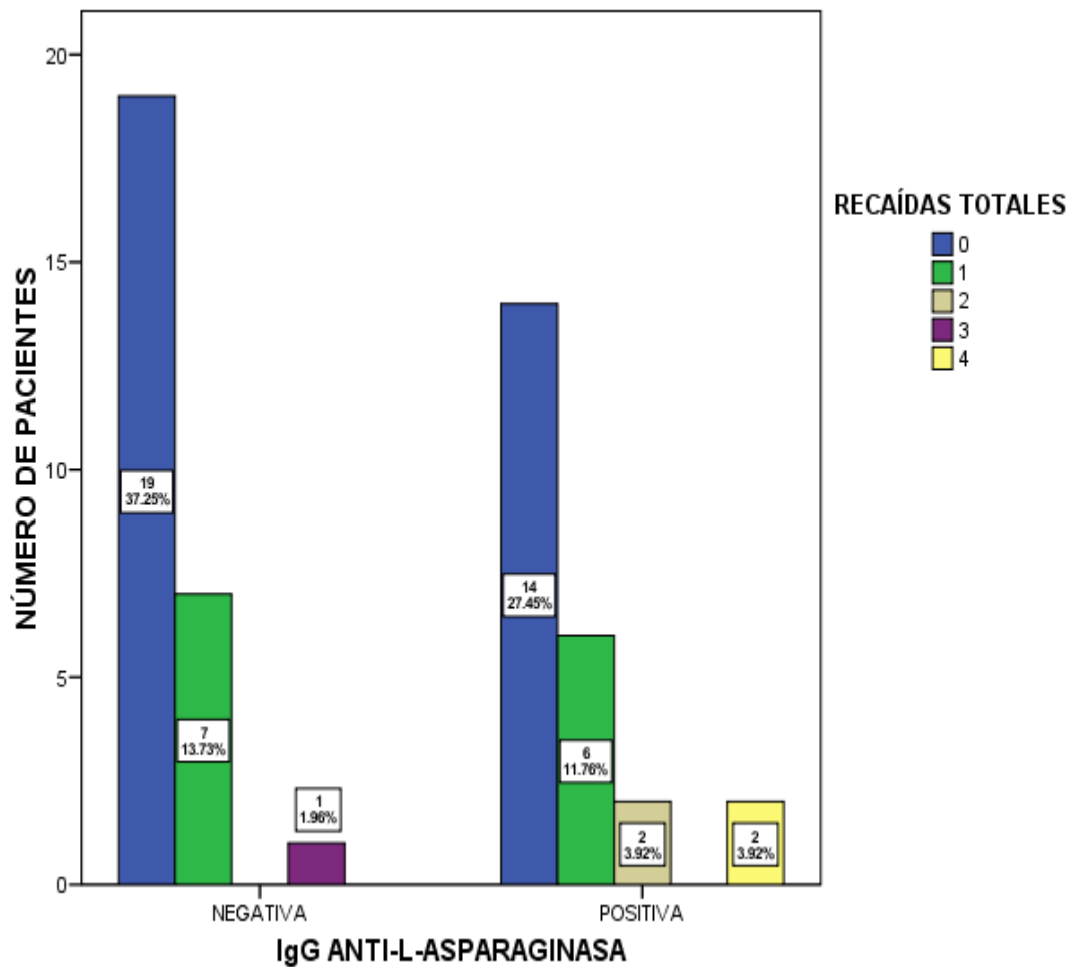
Al medir la correlación entre pruebas cutáneas y desarrollo de anticuerpos IgG, se observó que, a diferencia de los pacientes con pruebas cutáneas positivas y ausencia de recaídas, en este grupo los pacientes que formaron IgG y el número que presentaron o no recaídas fue semejante (figura 17)



P=0.379

Figura 17. Anticuerpos IgG anti- L-asparaginasa y recaídas.

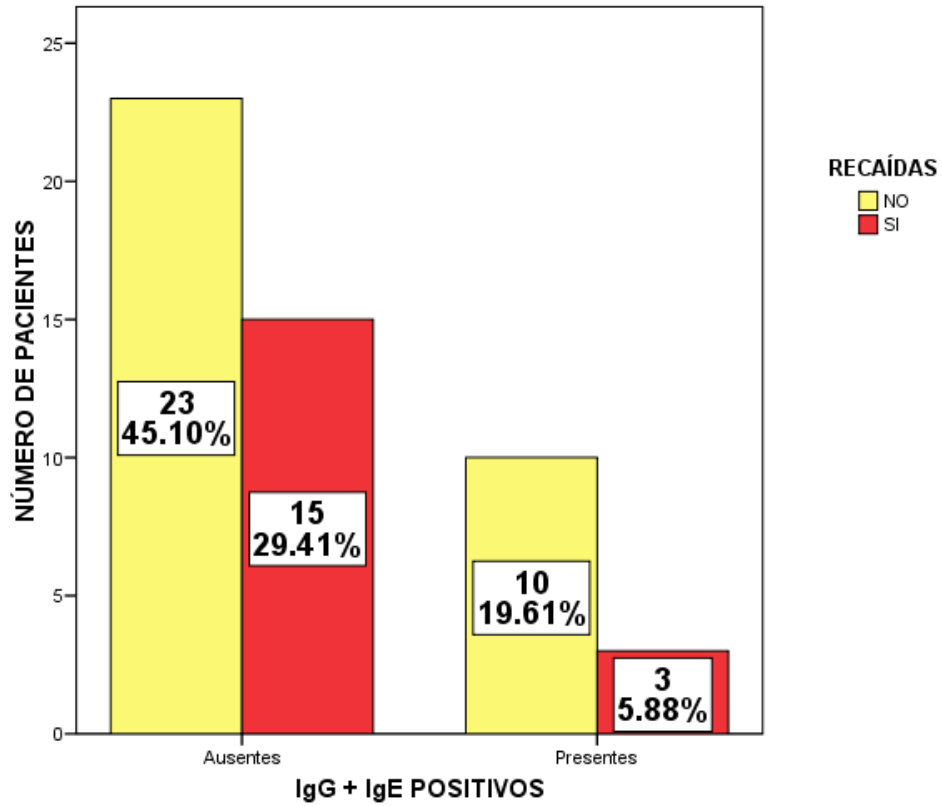
La gráfica es muy diferente en la correlación entre la presencia de anticuerpos IgG y recaídas totales, como se observa en la figura 18, en la que muestra que los pacientes con presencia de anticuerpos IgG presentaron hasta 4 recaídas, a diferencia de los que tuvieron una prueba cutánea positiva, quienes presentaron como máximo 1 recaída



P= 0.268

Figura 18. Número de recaídas y anticuerpos IgG anti-L-asparaginasas.

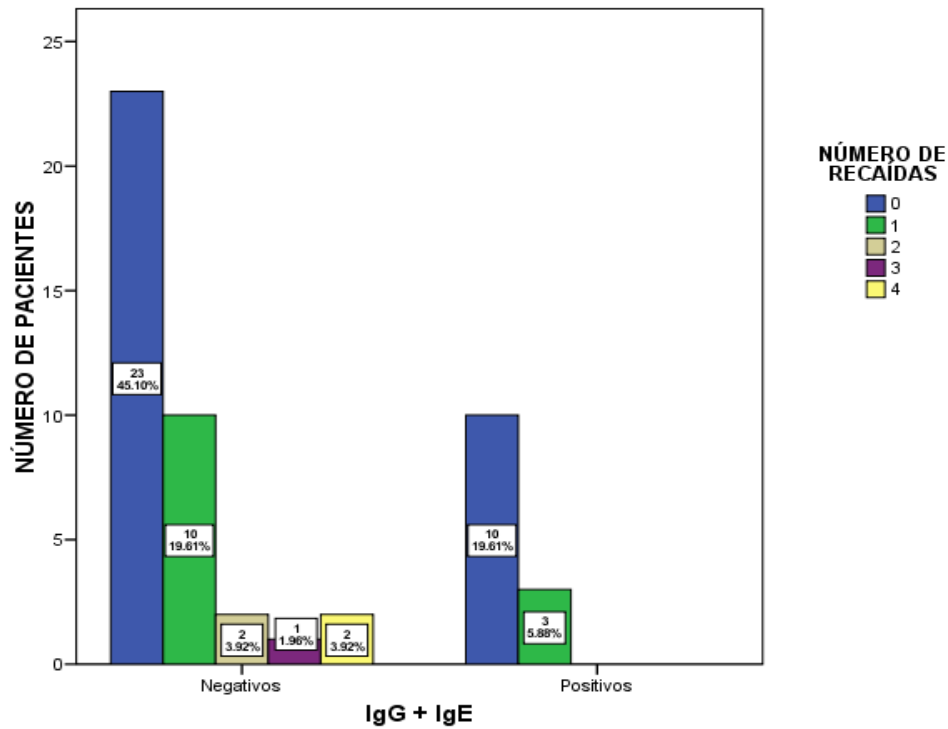
Se observó una diferencia entre los pacientes en que se detectaron anticuerpos IgG e IgE anti-L-asparaginasa y la ausencia de recaídas, con aquellos en los que no se detectaron ninguno de los dos isotipos de anticuerpos. (Figura 19)



P=0.150

Figura 19. Anticuerpos IgG e IgE anti- L-asparaginasa y recaídas.

No se observaron diferencias entre los pacientes con anticuerpos IgE e IgG positivos y el número de recaídas. (Figura 20)

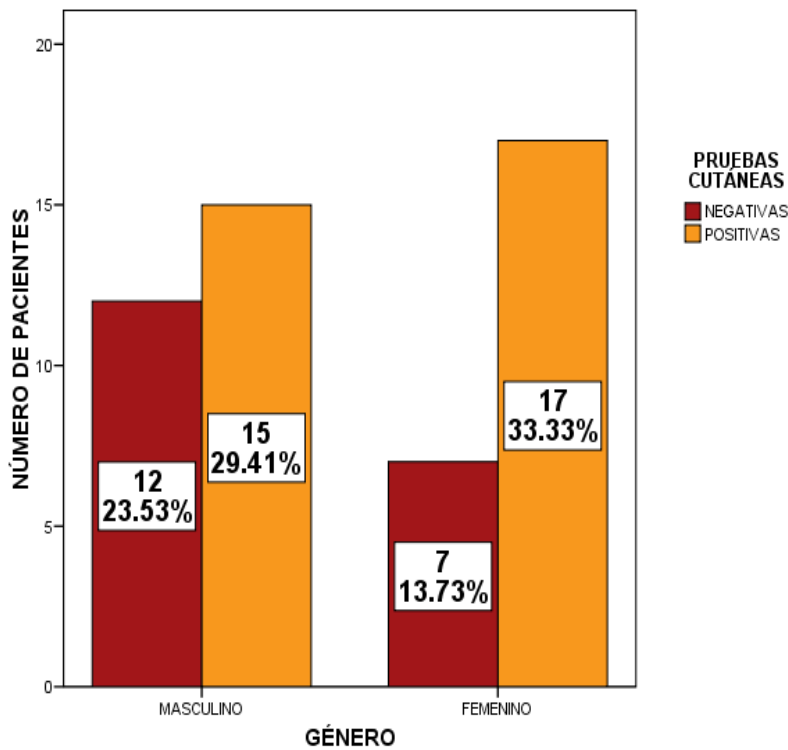


P=0.174

Figura 20. Anticuerpos IgG e IgE anti- L-asparaginasa y número de recaídas.

5.7 Influencia del género en la respuesta de anticuerpos anti L-asparaginasa.

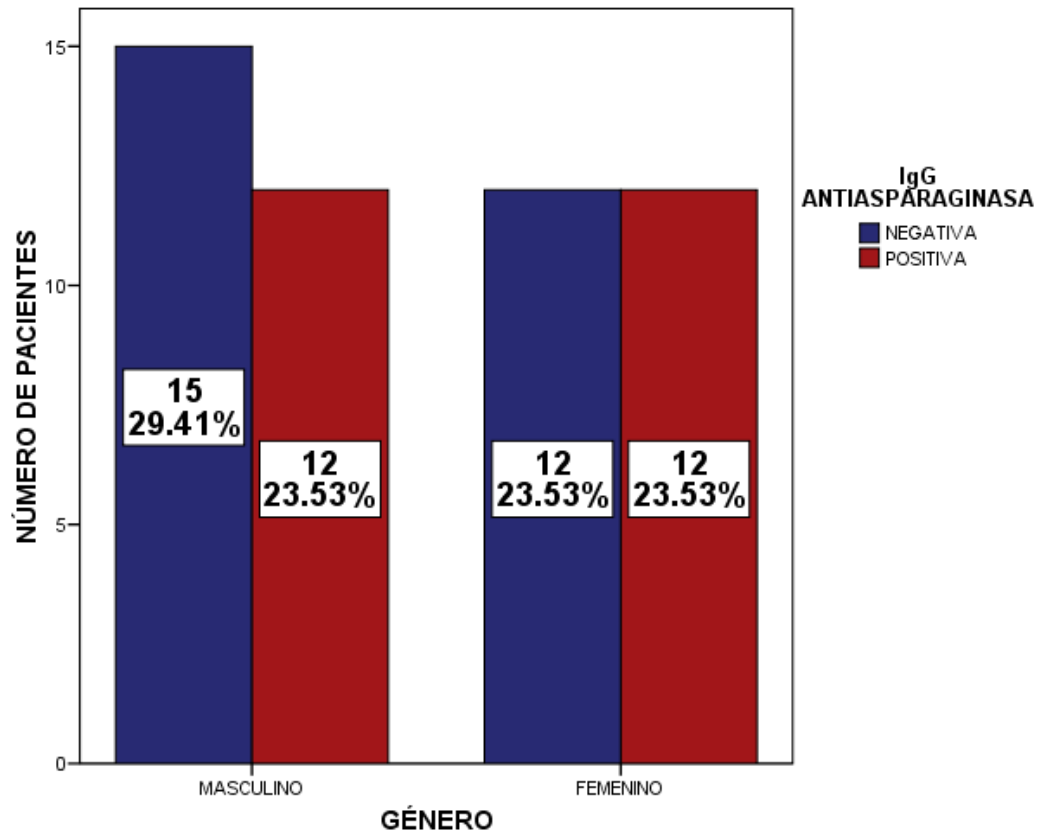
El pertenecer a determinado género, no tuvo ninguna influencia en relación con la respuesta inmune, ya que a diferencia de la típica respuesta mediada por IgE, en donde se observa que durante la infancia el sexo masculino es principalmente afectado en una relación 2 a 1, en este caso no existió tal diferencia, como se observa en la figura 21 que muestra que no hay diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia de PC para L asparaginasa.



P=0.269

Figura 21. Género y pruebas cutáneas.

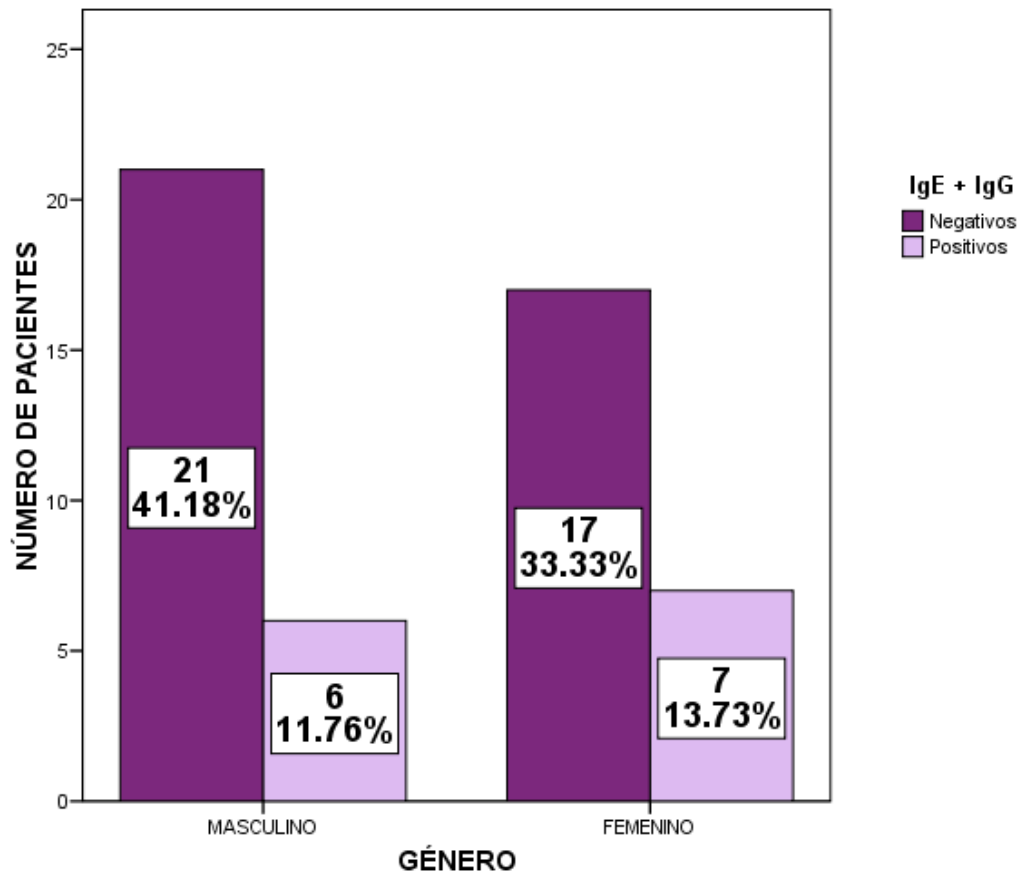
En cuanto a la relación entre producción de anticuerpos del isotipo IgG y sexo, esta tampoco se vio afectada, como lo muestra la figura 22



P= 0.699

Figura 22. Género y anticuerpos IgG anti-L-asparaginasa.

La figura 23 muestra IgG y PC, y su correlación con el género

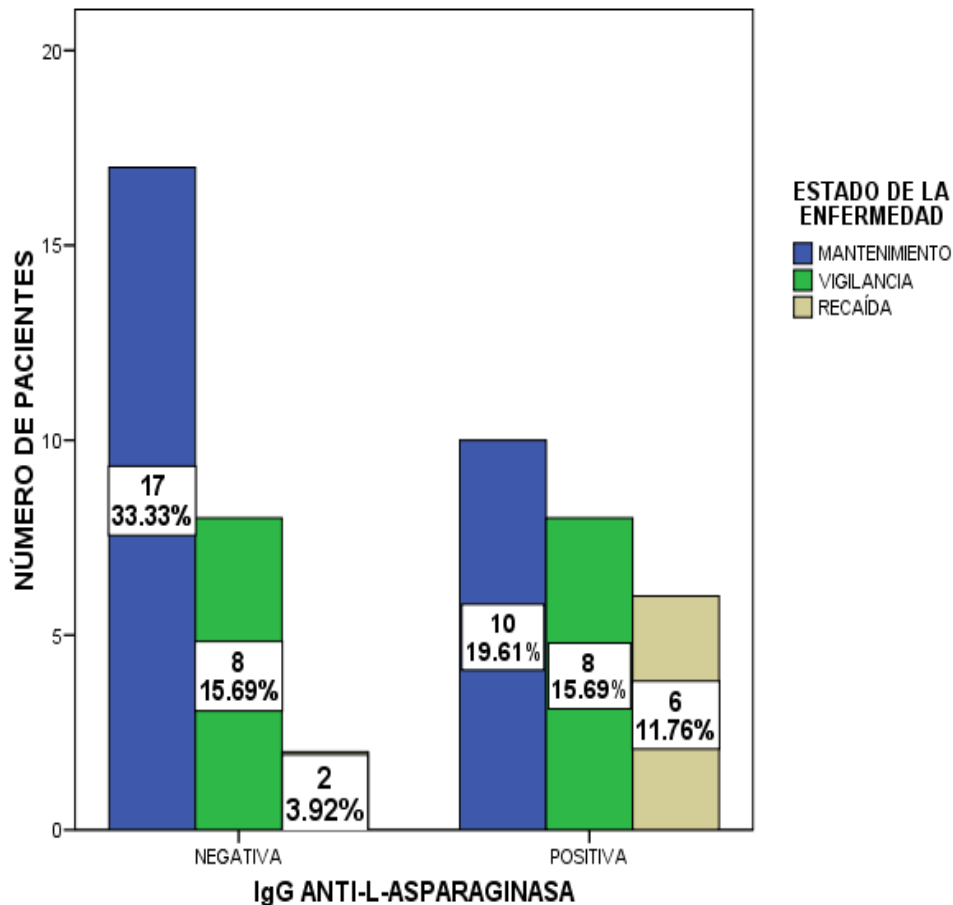


P= 0.579

Figura 23. Género y anticuerpos IgG e IgE anti-L-asparaginasa.

5.8. Estado actual de la enfermedad y producción de anticuerpos específicos

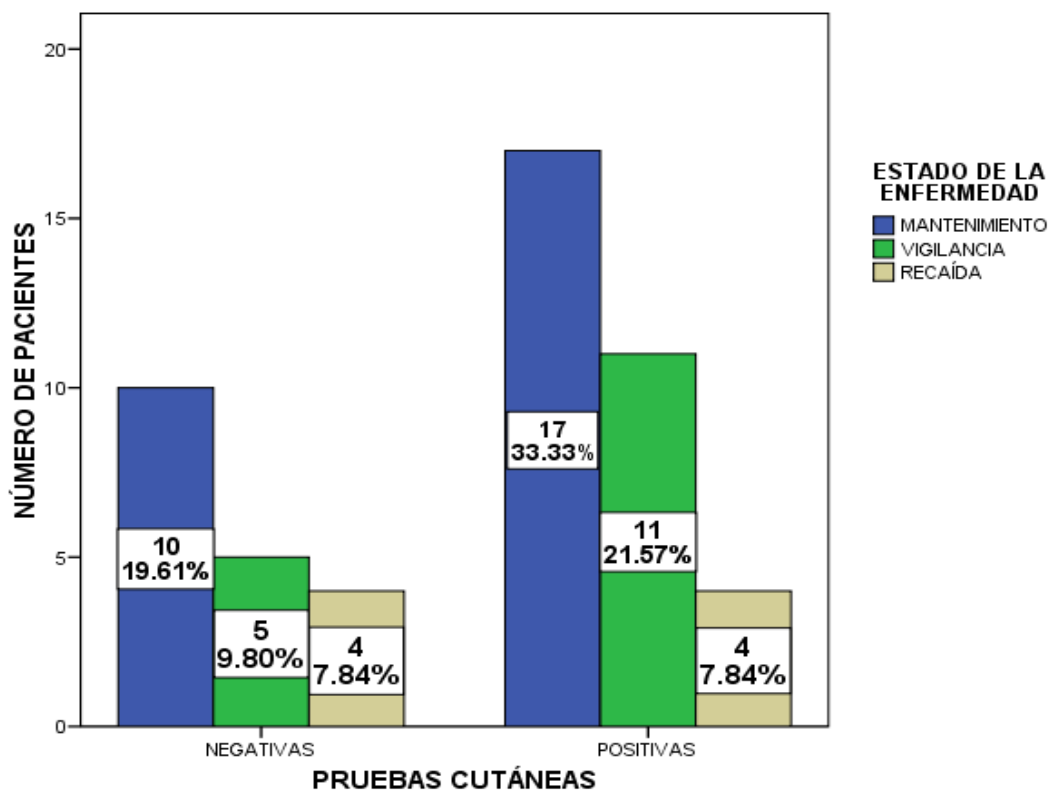
Como se describió con anterioridad, 18 de los pacientes estudiados presentaron durante su evolución alguna recaída, de los cuales 8 se encontraban en franca recaída al momento del estudio, como se puede observar en la gráfica 24, que muestra la correlación con el desarrollo de anticuerpos IgG; estado actual de la enfermedad y de estos 8 solo 6 produjeron anticuerpos IgG y se encontraban en recaída



P= 0.076

Figura 24. Estado de la enfermedad y anticuerpos IgG anti L-asparaginasa.

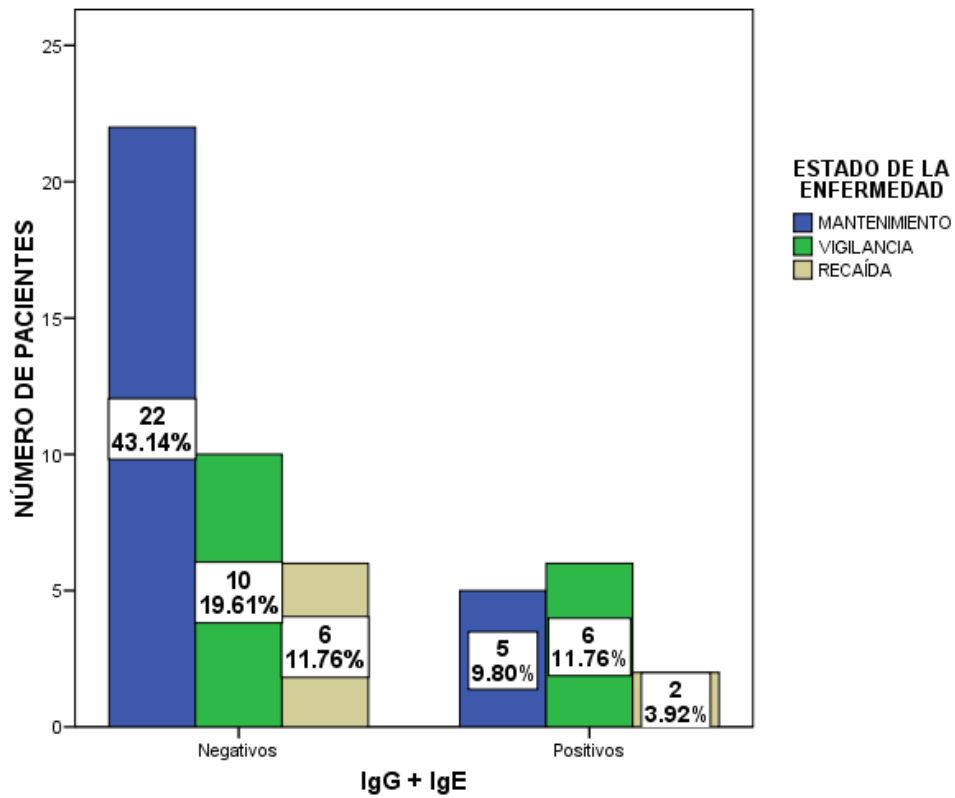
En relación a la respuesta específica a la prueba cutánea y el estado de la enfermedad de los 8 pacientes que se encontraban en recaída al momento del estudio, solo 4 de ellos tuvieron una prueba cutánea negativa, es decir no hubo diferencia entre los grupos, como lo muestra la figura 25



P= 0.774

Figura 25. Estado de la enfermedad y pruebas cutáneas.

Al buscar alguna correlación entre el estado de la enfermedad y la respuesta a L-asparaginasa por pruebas cutáneas y producción de anticuerpos IgG simultáneamente no se encontró diferencia entre los diferentes estadios de la enfermedad y la producción simultánea de ambas respuestas, como se observa en la figura 26



P= 0.344

Figura 26. Estado de la enfermedad y anticuerpos IgG e IgE anti-L-asparaginasa.

En relación a la sobrevida, es de hacer notar que aquellos pacientes que presentaron ambos tipos de anticuerpos IgG e IgE, tuvieron una sobrevida mayor sin recaídas y esta diferencia fue estadísticamente significativa (figura 27) $p= 0.04$

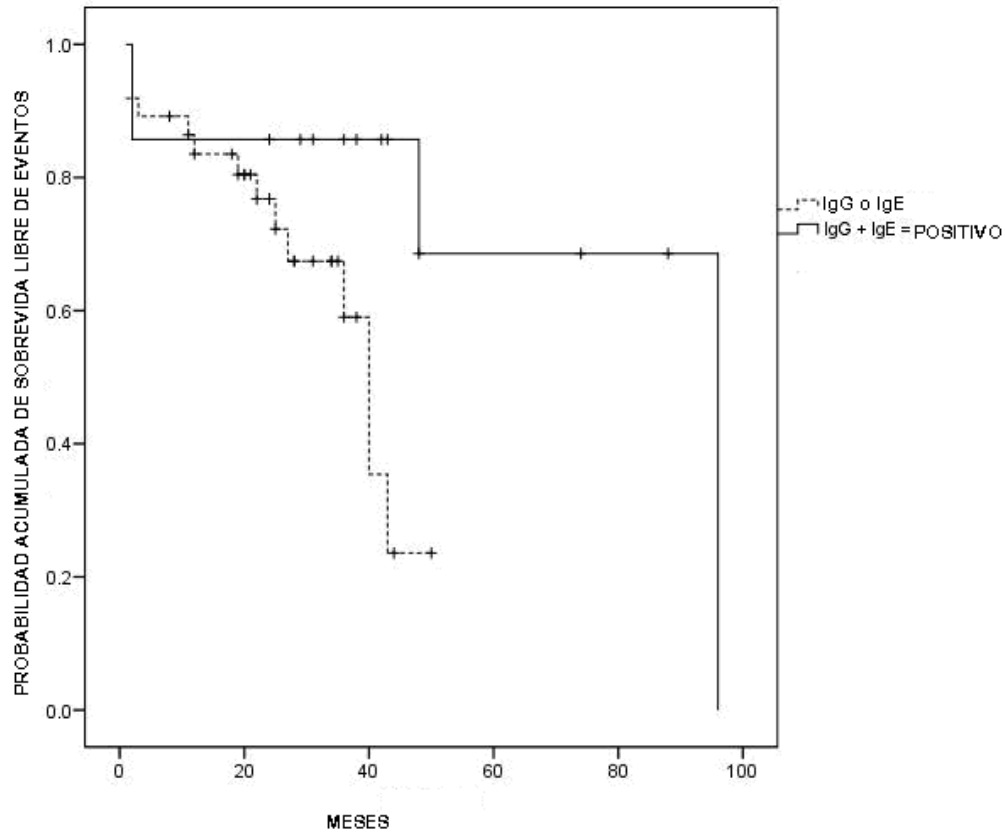


Figura 27. Sobrevida de pacientes con LLA y anticuerpos IgG e IgE anti-L-asparaginasa.

CAPÍTULO 6

DISCUSIÓN

Las reacciones adversas a la L-asparaginasa pueden ser mediadas por IgG, IgE, o los dos anticuerpos de manera simultánea. En el presente estudio se investigó la presencia de IgG e IgE anti L-asparaginasa en un grupo de 51 niños con diagnóstico de LLA, los episodios de respuesta alérgica a la enzima, así como el curso clínico y la respuesta al tratamiento.

Algunos aspectos indeseables de la administración de L-asparaginasa son el desarrollo de reacciones de hipersensibilidad tipo I y/o III. Las reacciones tipo I, mediadas por IgE y en algunas ocasiones por la activación inespecífica de células cebadas, se han demostrado en estudios realizados previamente.³²

También se ha comprobado la actividad de los anticuerpos IgE específicos anti-L-asparaginasa en pacientes con LLA mediante pruebas in vitro, al incubar suero de pacientes con la enzima y demostrar la liberación de histamina,²⁷ lo que puede ser la causa de la reacción alérgica de las reacciones anafilácticas a la administración de la enzima.

Algunos estudios han encontrado relación entre la producción de IgG anti-L-asparaginasa y la respuesta al tratamiento y un mayor riesgo de respuesta anafiláctica y alérgica, aún después de cambiar a L-asparaginasa derivada de *Erwinia*.

Un estudio reciente, en el cual se investigó la farmacocinética de la dexametasona en conjunto con L-asparaginasa durante la terapia de inducción en pacientes con LLA, mostró que los pacientes con alergia clínica tenían una doble desventaja, ya que experimentaban una menor actividad de la enzima y un aumento en la tasa de eliminación de la dexametasona, disminuyendo su efecto farmacológico.^{34, 35}

Cuando se presenta una reacción adversa a L-asparaginasa de *E coli* la indicación terapéutica es cambiar a L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* o *carotovora*, sin impacto negativo a largo plazo en el tratamiento.^{19, 28} También se puede realizar un protocolo de desensibilización en quienes han sufrido reacciones alérgicas severas durante la inducción o la reinducción a la remisión^{36, 37}. Recientemente se aprobó la L-asparaginasa pegylada como tratamiento de primera línea para pacientes con LLA de riesgo estándar, ya que solo el 12 % desarrollan IgG anti-L-asparaginasa, comparado con el 28 % de los que reciben L-asparaginasa derivada de *E coli*³⁸.

De los 51 pacientes estudiados, el grupo de alto riesgo (28) estuvo sobre-representado debido al hecho de que su tasa de recaída fue mayor y consecuentemente ellos tuvieron una probabilidad de ser tratados y monitorizados por periodos más largos que los de riesgo habitual.

En el presente estudio se encontró que dos terceras partes de los pacientes expuestos a la L-asparaginasa desarrollaron anticuerpos IgG, hallazgo similar a otros reportes,^{6,12} y no se encontró correlación entre el título de anticuerpo y reacciones alérgicas.

La presencia de IgG anti-L-asparaginasa estuvo significativamente asociada a recaídas ($p=0.02$) como lo fue la presencia de IgE detectada por las pruebas cutáneas ($p=0.04$). La determinación de IgE ha sido reportada previamente, en un estudio se encontró que la IgE específica no se detectaba consistentemente en niños con altos o bajos niveles de IgG₄ anti-L-asparaginasa.³⁹ Aunque la prueba cutánea para la L-asparaginasa se recomienda, este procedimiento aún no está validado,⁴⁰ además de que tiene sus limitaciones debido a la variabilidad en la especificidad y sensibilidad. Solo se han publicado dos estudios en los cuales se midió específicamente IgE anti-L-asparaginasa en suero⁴¹ y solo uno incluyó la prueba cutánea para la L-asparaginasa⁴² y en este mismo estudio solo se incluyeron niños que presentaron datos de hipersensibilidad y únicamente se realizaron por el método de Prick, con un 63% de resultados positivos. En el presente estudio la prevalencia encontrada también fue de 63%, (32 de 51 pacientes), pero en nuestro caso las pruebas cutáneas se realizaron con el método de prick test e intradermoreacción. Solo 3 de los 51 pacientes estudiados presentaron manifestaciones clínicas de hipersensibilidad, lo que sugiere una producción de IgE de comportamiento clínicamente silencioso, es decir sin manifestaciones clínicas. La baja frecuencia de las reacciones alérgicas en los pacientes estudiados pudiera estar relacionada al régimen de L-asparaginasa administrado, ya que el protocolo empleado en este estudio incluye una dosis de 6,000 unidades por metro cuadrado de superficie corporal, comparado con las 10,000 unidades por metro cuadrado descritos en otros reportes.^{21,41,43} Otra posible explicación, a la baja frecuencia de reacciones alérgicas, es el menor número de dosis

administradas con una mediana de 8 (rango de 5-15) comparada con una mediana de 13.5 dosis (rango 4-20) en otros reportes²⁶ en los cuales tanto la dosis como el número de dosis estuvieron directamente relacionadas con el desarrollo de reacciones de hipersensibilidad.²⁶

A diferencia de estudios previos,^{4, 26, 41,44} en los que se encontró una influencia negativa de la presencia de los anticuerpos IgG, en nuestro estudio la correlación entre la presencia de anticuerpos IgG anti L-asparaginasa y las recaídas fue significativa.

Otro hallazgo del estudio fue que la presencia de IgE, evaluada por pruebas cutáneas, no estuvo asociada a una mayor tasa de recaídas, sino que se documentó una asociación entre la ausencia de IgE y el riesgo de recaídas adicionales: aquellos niños que presentaron una primera recaída y que tuvieron las pruebas cutáneas negativas tuvieron un riesgo estadísticamente significativo de sufrir recaídas adicionales: 55% comparado con 0% de recaídas en el grupo que tuvo pruebas cutáneas positivas para la L-asparaginasa, $p < 0.01$. Una posible explicación a este hecho es que los pacientes con múltiples recaídas pudieran tener pruebas cutáneas negativas como parte de un estado de inmunosupresión más grave reflejando un estado anérgico, lo que a su vez pudiera modificar la capacidad de vigilancia inmunológica, debilitando el proceso de vigilancia tumoral del paciente para eliminar las clonas residuales de células leucémicas. Otra posible explicación es que los pacientes con pruebas cutáneas positivas, que son dependientes de un mecanismo mediado por IgE, desarrollaron un mecanismo más eficiente para eliminar las células

leucémicas residuales, lo cual pudiera explicar la sensibilización silenciosa sin manifestaciones clínicas de alergia.

CAPÍTULO 7

CONCLUSIONES

Se **acepta** la primera parte de la hipótesis: Los pacientes con LLA –B pueden producir simultáneamente anticuerpos IgG e IgE anti-L-asparaginasa Y

Se **rechaza** la segunda parte de la hipótesis: estos anticuerpos pueden influir en la respuesta a la terapia de inducción a la remisión.

1. Los resultados del prick test y la intradermoreacción a L-asparaginasa no tuvieron relación con la respuesta a la terapia de inducción a la remisión en niños con LLA
2. Los antecedentes personales de atopía **NO** correlacionaron con la presencia de una prueba cutánea positiva a L-asparaginasa, ni con la presencia de anticuerpos IgG anti L-asparaginasa.
3. El desarrollo de anticuerpos IgG anti-L-asparaginasa **NO** estuvo asociado a la recaída o al número de recaídas en los pacientes con LLA.
4. En los niños con recaída la ausencia de IgE se asoció a un mayor riesgo de sufrir recaídas adicionales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Diguseppe JA. Acute lymphoblastic leukemia: diagnosis and detection of minimal residual disease following therapy. *Clin Lab Med.* 2007;27:533-549, vi.
2. Pui CH, Robison LL, Look AT. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet.* 2008;371:1030-1043.
3. Bernaldez-Rios R, Ortega-Alvarez MC, Perez-Saldivar ML, et al. The age incidence of childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia in Mexico City. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2008;3:199-203.
4. Ribeiro R, Pui CH. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in low- and middle-income countries: challenges and opportunities. *Leuk Lymphoma.* 2008;49:373-376.
5. Pieters R, Carroll WL. Biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Clin North Am.* 2008;55:1-20, ix.
6. Hong D, Gupta R, Ancliff P, et al. Initiating and cancer-propagating cells in TEL-AML1-associated childhood leukemia. *Science.* 2008;319:336-339.
7. Pui CH, Relling MV, Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med.* 2004;350:1535-1548.
8. Heerema NA, Sather HN, Sensel MG, et al. Prognostic impact of trisomies of chromosomes 10, 17, and 5 among children with acute lymphoblastic leukemia and high hyperdiploidy (> 50 chromosomes). *J Clin Oncol.* 2000;18:1876-1887.
9. Kaspers GJ, Smets LA, Pieters R, Van Zantwijk CH, Van Wering ER, Veerman AJ. Favorable prognosis of hyperdiploid common acute lymphoblastic

leukemia may be explained by sensitivity to antimetabolites and other drugs: results of an in vitro study. *Blood*. 1995;85:751-756.

10. Pieters R, Schrappe M, De Lorenzo P, et al. A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (Interfant-99): an observational study and a multicentre randomised trial. *Lancet*. 2007;370:240-250.

11. Gleissner B, Thiel E. Molecular genetic events in adult acute lymphoblastic leukemia. *Expert Rev Mol Diagn*. 2003;3:339-355.

12. Pui CH, Evans WE. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 1998;339:605-615.

13. Buchanan GR, Rivera GK, Boyett JM, Chauvenet AR, Crist WM, Vietti TJ. Reinduction therapy in 297 children with acute lymphoblastic leukemia in first bone marrow relapse: a Pediatric Oncology Group Study. *Blood*. 1988;72:1286-1292.

14. Panosyan EH, Seibel NL, Martin-Aragon S, et al. Asparaginase antibody and asparaginase activity in children with higher-risk acute lymphoblastic leukemia: Children's Cancer Group Study CCG-1961. [see comment]. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. 2004;26:217-226.

15. Avramis VI, Panosyan EH. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of asparaginase formulations: the past, the present and recommendations for the future. *Clin Pharmacokinet*. 2005;44:367-393.

16. Schwartz JH, Reeves JY, Broome JD. Two L-asparaginases from *E. coli* and their action against tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1966;56:1516-1519.

17. Clavell LA, Gelber RD, Cohen HJ, et al. Four-agent induction and intensive asparaginase therapy for treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med.* 1986;315:657-663.
18. Schorin MA, Blattner S, Gelber RD, et al. Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia: results of Dana-Farber Cancer Institute/Children's Hospital Acute Lymphoblastic Leukemia Consortium Protocol 85-01. *J Clin Oncol.* 1994;12:740-747.
19. Woo MH, Hak LJ, Storm MC, et al. Hypersensitivity or development of antibodies to asparaginase does not impact treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol.* 2000;18:1525-1532.
20. Nesbit M, Chard R, Evans A, Karon M, Hammond GD. Evaluation of intramuscular versus intravenous administration of L-asparaginase in childhood leukemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* 1979;1:9-13.
21. Asselin BL, Whitin JC, Coppola DJ, Rupp IP, Sallan SE, Cohen HJ. Comparative pharmacokinetic studies of three asparaginase preparations. *J Clin Oncol.* 1993;11:1780-1786.
22. Fernandes AI, Gregoriadis G. The effect of polysialylation on the immunogenicity and antigenicity of asparaginase: implication in its pharmacokinetics. *Int J Pharm.* 2001;217:215-224.
23. Moghrabi A, Levy DE, Asselin B, et al. Results of the Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium Protocol 95-01 for children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2007;109:896-904.

24. Cheung NK, Chau IY, Coccia PF. Antibody response to Escherichia coli L-asparaginase. Prognostic significance and clinical utility of antibody measurement. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* 1986;8:99-104.
25. Zalewska-Szewczyk B, Andrzejewski W, Bodalski J. Development of anti-asparaginase antibodies in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2004;43:600-602.
26. Woo MH, Hak LJ, Storm MC, et al. Anti-asparaginase antibodies following E. coli asparaginase therapy in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 1998;12:1527-1533.
27. Peterson RG, Handschumacher RE, Mitchell MS. Immunological responses to L-asparaginase. *J Clin Invest.* 1971;50:1080-1090.
28. Wacker P, Land VJ, Camitta BM, et al. Allergic reactions to E. coli L-asparaginase do not affect outcome in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group Study.[see comment]. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology.* 2007;29:627-632.
29. Stone HD, Jr., DiPiro C, Davis PC, Meyer CF, Wray BB. Hypersensitivity reactions to Escherichia coli-derived polyethylene glycolated-asparaginase associated with subsequent immediate skin test reactivity to E. coli-derived granulocyte colony-stimulating factor. *Journal of Allergy & Clinical Immunology.* 1998;101:429-431.
30. Kay AB. Allergy and allergic diseases. First of two parts. *N Engl J Med.* 2001;344:30-37.
31. Kay AB. Allergy and allergic diseases. Second of two parts. *N Engl J Med.* 2001;344:109-113.

32. Fabry U, Korholz D, Jurgens H, Gobel U, Wahn V. Anaphylaxis to L-asparaginase during treatment for acute lymphoblastic leukemia in children--evidence of a complement-mediated mechanism. *Pediatr Res.* 1985;19:400-408.
33. Weiss RB. Hypersensitivity reactions. *Semin Oncol.* 1992;19:458-477.
34. Pieters R, Carroll WL. Biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Clin North Am.* 2008;55:1-20, ix.
35. Yang L, Panetta JC, Cai X, et al. Asparaginase may influence dexamethasone pharmacokinetics in acute lymphoblastic leukemia.[see comment]. *Journal of Clinical Oncology.* 2008;26:1932-1939.
36. Bonno M, Kawasaki H, Hori H, Umemoto M, Komada Y, Sakurai M. Rapid desensitization for L-asparaginase hypersensitivity. *Journal of Allergy & Clinical Immunology.* 1998;101:571-572.
37. Castells MC, Tennant NM, Sloane DE, et al. Hypersensitivity reactions to chemotherapy: Outcomes and safety of rapid desensitization in 413 cases. *J Allergy Clin Immunol.* 2008.
38. Dinndorf PA, Gootenberg J, Cohen MH, Keegan P, Pazdur R. FDA drug approval summary: pegaspargase (oncaspar) for the first-line treatment of children with acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Oncologist.* 2007;12:991-998.
39. Cheung NK, Chau IY, Coccia PF. Antibody response to Escherichia coli L-asparaginase. Prognostic significance and clinical utility of antibody measurement. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* 1986;8:99-104.

40. Lee C, Gianos M, Klaustermeyer WB. Diagnosis and management of hypersensitivity reactions related to common cancer chemotherapy agents. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2009;102:179-187; quiz 187-179, 222.
41. Korholz D, Wahn U, Jurgens H, Wahn V. [Allergic reactions in treatment with L-asparaginase. Significance of specific IgE antibodies]. *Monatsschr Kinderheilkd.* 1990;138:23-25.
42. Killander D, Dohlwitz A, Engstedt L, et al. Hypersensitive reactions and antibody formation during L-asparaginase treatment of children and adults with acute leukemia. *Cancer.* 1976;37:220-228.
43. Graham ML. Pegaspargase: a review of clinical studies. *Adv Drug Deliv Rev.* 2003;55:1293-1302.
44. Zalewska-Szewczyk B, Andrzejewski W, Małynarski W, Jedrychowska-Dańska K, Witas H, Bodalski J. The anti-asparagines antibodies correlate with L-asparagines activity and may affect clinical outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia & Lymphoma.* 2007;48:931-936.
45. Castells M. Rapid desensitization for hypersensitivity reactions to chemotherapy agents. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2006;6:271-277.
46. Stone HD, Jr., DiPiro C, Davis PC, Meyer CF, Wray BB. Hypersensitivity reactions to Escherichia coli-derived polyethylene glycolated-asparaginase associated with subsequent immediate skin test reactivity to E. coli-derived granulocyte colony-stimulating factor. *Journal of Allergy & Clinical Immunology.* 1998;101:429-431.
47. Peterson RG, Handschumacher RE, Mitchell MS. Immunological responses to L-asparaginase. *J Clin Invest.* 1971;50:1080-1090.

APÉNDICES

- 1. CARTA DE CONSENTIMIENTO**
- 2. FORMA DE REGISTRO DE ENFERMEDADES ALÉRGICAS**
- 3. HOJA DE PRUEBAS CUTÁNEAS.**
- 4. INTERPRETACIÓN DE LAS PRUEBAS CUTÁNEAS**

APÉNDICE 1

FORMA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO:

IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IgG e IgE ANTI- L-ASPARAGINASA EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA EN TRATAMIENTO PARA INDUCCIÓN DE LA REMISIÓN

El propósito de este estudio será el determinar si ocurre la formación de algún tipo de anticuerpo que pudiera influir a la respuesta al tratamiento de inducción a la remisión.

Para esta investigación estudiaremos 51 pacientes con el diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda que acudan al servicio de Hematología del Hospital Universitario de la UANL. A quienes se les realizará prueba cutánea para L-asparaginasa y se analizará su sangre en busca de un anticuerpo específico contra la enzima L-asparaginasa.

1. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO.

Si acepta participar en el estudio el médico le pedirá acudir a una cita durante la cual se le explicará en forma detallada todos los objetivos del estudio y los procedimientos a realizar. Por favor siéntase en la libertad de preguntar todo lo que considere necesario y de negarse a participar si así lo decide. Usted deberá de dar su autorización por escrito para participar en esta investigación.

Con el fin de precisar si se produce algún tipo de anticuerpo contra la L-asparaginasa será necesario la realización de pruebas cutáneas, las cuales consisten en la aplicación de la L-asparaginasa en forma de gota sobre la piel

del antebrazo y realizar una ligera presión sobre la piel con un dispositivo especialmente diseñado para eso (Duotip) y esperar 15 minutos para ver la reacción que consistirá en la formación de una pequeña roncha. Adicionalmente se inyectará una pequeña cantidad con aguja de tuberculina en la piel, interpretándose la respuesta a las pruebas en los 15 minutos siguientes, en los que permanecerá bajo la vigilancia del médico responsable del estudio.

2.- Riesgos asociados al estudio

Los riesgos de realizar pruebas diagnosticas para las reacciones alérgicas, como las pruebas cutáneas, pueden ser de tipo localizado al sitio de la aplicación, con la formación de roncha grande y comezón, eventualmente pueden ser generalizadas, o acompañarse de baja de presión arterial; estos últimos efectos son muy raros y se tratan de manera simple.

3.- Beneficios asociados a su participación en el estudio

Los beneficios que obtendrá de este estudio serán el detectar si existe la formación de algún tipo de anticuerpo que pudiera afectar posteriormente la respuesta clínica al tratamiento.

4.- Confidencialidad y revisión del expediente clínico

Los resultados de este estudio de investigación podrán ser presentados en publicaciones especializadas o reuniones de carácter científico. Sin embargo, durante estas presentaciones no se descubrirá su identidad ya que toda la información permanecerá anónima.

Entiendo que estoy en mi derecho de solicitar cualquier aclaración y obtener información sobre la investigación que solicite en cualquier momento del

desarrollo de la misma. Además, entiendo que estoy en la libertad de retirarme en el momento que desee y si tomara esta decisión no me afectará en futuros tratamientos que requiera en el Hospital Universitario “Dr. José E. González” de la UANL.

Entiendo que la información obtenida de la investigación será manejada en forma confidencial y que en ningún momento violará mi privacidad.

Además, el Hospital Universitario “Dr. José E. González” de la U. A .N. L, estará en la disposición de brindarme tratamiento médico o quirúrgico sin costo, en caso que resultara dañado directamente por cualquiera de los procedimientos del proyecto de investigación y en caso de daño permanente, tendré derecho a ser indemnizado de acuerdo al daño sufrido.

Nombre del paciente Firma del paciente

Nombre de testigo Firma de testigo

Nombre del médico Firma del médico

Monterrey, N. L. a _____ de _____ 200_____

APÉNDICE 2

Forma de registro de enfermedades alérgicas

Servicio de alergia de la facultad de Medicina y el Hospital Universitario

Nombre del
Paciente _____

Tiempo de diagnóstico de LLA _____ Tiempo de tratamiento _____

1.-Sexo: M F

2.- Edad _____

3.- Grado de escolaridad

- a) primaria
- b) secundaria
- c) preparatoria o técnica
- d) licenciatura
- e) Ninguna

4.- Ha presentado alguna vez síntomas como:

Moco nasal por las mañanas	si	no
Estornudos	si	no
Nariz tapada	si	no
Comezón de nariz y ojos	si	no
Tos con ejercicio	si	no
Pillido al respirar	si	no
Ronchas con algunas medicina con que _____	si	no
Ronchas con algunas comida con cual _____	si	no

5.- Alguien en su familia ha presentado

Asma si no quien _____

Alergia a las medicinas si no
quien _____

Alergia a las comidas si no
quien _____

Catarro crónico si no
quien _____

Ronchas si no
quien _____

Alergia en los ojos si no
quien _____

6- ¿Ha presentado alguna vez alguna reacción a medicamentos?

Si No

7-.Cual:

- a) ronchas, angioedema y prurito
- b) fiebre
- c) taquicardia
- d) irritación gástrica
- e) vomito y diarrea
- f) otros

APÉNDICE 3

HOJA DE PRUEBAS CUTÁNEAS

Resultados de pruebas cutáneas

Nombre del paciente _____

Fecha ____/____/____ Edad _____

Prick test

1:100

1:10

1

Intradérmica

100 µL

APÉNDICE 4

INTERPRETACIÓN DE PRUEBAS CUTÁNEAS

	<u>ERITEMA</u>	<u>RONCHA</u>
Negativa	menos de 5 mm	menos de 3 mm
Positiva	más de 6 mm	más de 3 mm

Practice Parameters for Allergy Diagnostic Testing

Ann Allergy Dec 1995; 75:S543-625.

Allergy Diagnostic Testing-An Updated Practice Parameter-March 2008

Ann Allergy 100; March 2008:S1-S148

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

M.C.P. Gabriela Galindo Rodríguez

Candidato para el Grado de Doctor en Medicina

Tesis: IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IgG e IgE ANTI- L-ASPARAGINASA EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA EN TRATAMIENTO PARA INDUCCIÓN DE LA REMISIÓN

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud.

Biografía

Datos personales: Nacida en Santa Catarina N.L. México el 12 de Abril de 1959

Educación. Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León México. Médico Cirujano y Partero: Junio 1982. Especialidad en Alergia e Inmunología Clínica. 1985. Hospital Universitario “Dr. José E. González” de la UANL. Post doctoral fellowship en alergia pediátrica en la Universidad de California en sandiego 1989

Experiencia Profesional: Profesor Asociado “B” de tiempo completo de la Universidad Autónoma de Nuevo León desde 1989.

Cédula Profesional: 956152.

Cédula de Especialidad: AEIE34940.

Membresías:

- a. Colegio de Alergia e Inmunología Clínica de Nuevo León A.C desde 1989.
- b. Colegio Mexicano de Inmunología Clínica y Alergia desde 1989.
- c. Sociedad Latinoamericana de Alergia e Inmunología Clínica.
- d. Miembro de la WAO (World Allergy Organization)
- e. Internacional Fellow de la Academia americana de alergia asma e inmunología clínica (AAAAI)
- f. Miembro del colegio americano de alergia asma e inmunología clínica (ACAAI)

Artículos publicados: 11 artículos.

Otras distinciones:

- 1990-2008 Jurado de Exámenes Profesionales de la Carrera de Médico Cirujano y Partero de la Facultad de Medicina de la UANL.
- 1993-2008 Jurado para Exámenes de Especialidad de Alergia y Exámenes de oposición para residentes de la especialidad en la Facultad de Medicina UANL. .
- 2001-2002 Presidenta del Colegio de Alergia e Inmunología Clínica de Nuevo León A.C.
- 2005-2007 Tesorera del Colegio Mexicano de Alergia Asma Inmunología Clínica A.C.
- 2007-2009 Segunda secretaria del Colegio Mexicano de Pediatras especialistas en alergia
- 2001-2008 Coordinadora del Programa de Especialización en alergia e inmunología clínica del Hospital Universitario de la de la Facultad de Medicina UANL.

CERTIFICACIONES:

- Certificación por el Consejo Nacional de Inmunología Clínica y Alergia desde 1991
- Última Certificación Junio 2009- 2014.