

# Potenciales biomarcadores proteicos de infiltración al sistema nervioso central en leucemia linfoblástica aguda infantil

Laura S. Rangel-Cova,<sup>1</sup> Silverio Soto-Álvarez,<sup>1</sup> Enrique Estudillo<sup>2</sup> y Lidia F. E. Huerta-Núñez<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Farmacología, Escuela Militar de Graduados de Sanidad, Centro de Investigación del Ejército y Fuerza Aérea Mexicana, Universidad del Ejército y Fuerza Aérea Mexicana; <sup>2</sup>Laboratorio de Reprogramación Celular, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez. Ciudad de México, México

## Resumen

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la neoplasia en niños más frecuente en el mundo y la principal causa de muerte por cáncer en menores de 18 años, por lo que es un grave problema de salud. Una de las complicaciones de la enfermedad es la infiltración de células leucémicas al sistema nervioso central (SNC), la cual únicamente se detecta en 3 a 5 % de los niños al momento del diagnóstico, debido a falta de sensibilidad y especificidad de la prueba de referencia, lo que tiene repercusiones en el pronóstico y evolución de la enfermedad, de ahí la necesidad de nuevos biomarcadores de infiltración. Por lo anterior, esta revisión se enfoca en la importancia de la proteómica del líquido cefalorraquídeo (LCR) y los biomarcadores proteicos como posibles candidatos para respaldar el diagnóstico en pacientes pediátricos con LLA que presentan infiltración al SNC, con especial énfasis en las proteínas L-selectina, IL2, sIL2R, VEGFR1, sVEGFR2, SPP1, IL7, IL7R, TIMP1, LGALS3BP, AHSG, integrina- $\alpha$ 6, A2M, HRG, C4A, KLK6, CNDP1, ApoA1 y CFH. Finalmente, también se proporciona una visión general de los métodos de análisis de los biomarcadores en el LCR utilizados para conocer más de la leucemia con afectación al SNC.

**PALABRAS CLAVE:** Biomarcadores. Espectrometría de masas. Leucemia linfoblástica aguda. Líquido cefalorraquídeo. Sistema nervioso central.

## Potential protein biomarkers of central nervous system infiltration in childhood acute lymphoblastic leukemia

## Abstract

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common neoplasia among children worldwide, and the main cause of death by cancer in patients with less than 18 years, thus representing a serious health concern. One problem of ALL is the infiltration of leukemic cells in the central nervous system (CNS), which is only detected in the 3-5% of children in their diagnostic due to a lack of sensibility and specificity, which compromises an efficient prognostic and follow-up of the disease. This drawback demands the search of novel biomarkers of infiltration. Therefore, this review focuses on 1) the relevance of cerebrospinal fluid proteomics and protein biomarkers as possible candidates to aim in the diagnostic of pediatric patients with ALL that display CNS infiltration and 2) a general perspective of the methods for analyzing biomarkers in the CSF to further comprehend the leukemia in the CNS.

**KEYWORDS:** Biomarkers. Mass spectrometry. Acute lymphoblastic leukemia. Cerebrospinal fluid. Central nervous system.

### \*Correspondencia:

Lidia F. E. Huerta-Núñez

E-mail: laboratoriofarmacologia24@gmail.com

0016-3813/© 2024 Academia Nacional de Medicina de México, A.C. Publicado por Permanyer. Este es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Fecha de recepción: 19-04-2024

Fecha de aceptación: 19-08-2024

DOI: 10.24875/GMM.24000123

Gac Med Mex. 2024;160:489-497

Disponible en PubMed

[www.gacetamedicademexico.com](http://www.gacetamedicademexico.com)

## Introducción

El cáncer es la principal causa de muerte relacionada con enfermedades en niños y adolescentes; el más común es la leucemia (28 y 13 %, respectivamente).<sup>1</sup> De acuerdo con la base de datos GLOBOCAN 2022, la leucemia es la patología oncológica predominante en la población infantil y en adolescentes (de 0 a 19 años). En el mundo, la incidencia de la leucemia ocupa el lugar décimo tercero y el décimo en mortalidad.<sup>2</sup>

Las leucemias se dividen de acuerdo con su evolución clínica en agudas y crónicas y, dependiendo de la estirpe celular afectada, en linfoides o mieloides. La leucemia linfoblástica aguda (LLA) presenta una mayor incidencia que la leucemia mieloide aguda, con una frecuencia de 80 y 20 %, respectivamente.<sup>3</sup> La LLA es un grupo heterogéneo de alteraciones hematológicas, con características de proliferación anormal de células linfoides inmaduras de estirpe B o T, con una tasa de curación de 80 %; sin embargo, un número considerable de los pacientes desarrolla resistencia al tratamiento,<sup>4,5</sup> con infiltración del sistema nervioso central (SNC), que constituye la principal razón de fracaso terapéutico<sup>6</sup> debido a que solo se detecta en 3 a 5 % de los casos al inicio del diagnóstico y en 30 a 40 % de los pacientes con recaída.<sup>7,8</sup>

La incidencia de LLA es particularmente más alta en la población latinoamericana, en la cual se ha incrementado más rápido a lo largo del tiempo en comparación con otros grupos étnicos.<sup>9</sup> Por lo tanto, esta circunstancia demanda una atención inmediata de esta enfermedad en México y otros países de Latinoamérica. Debido al predominio de LLA en la población infantil, en este manuscrito se revisaron estudios relacionados con esta patología, independientemente de la línea celular afectada, ya fueran células B o T.

En la última década, la investigación en torno a la LLA está enfocada en la identificación de los niños en riesgo de recaída por afectación del SNC,<sup>5</sup> ya que se sabe que la mayoría de las recaídas de este tipo ocurre en pacientes que en un inicio fueron diagnosticados sin infiltración al SNC, por lo que se requiere el uso de métodos de diagnóstico más sensibles,<sup>10</sup> ya que los actuales no identifican de manera confiable a los pacientes con afectación del SNC; de ahí que los niños reciben terapia intratecal profiláctica, independientemente de un resultado negativo a infiltración.<sup>11</sup>

Si bien algunas investigaciones han explorado el panorama de los biomarcadores del líquido cefalorraquídeo (LCR) en la leucemia pediátrica, las técnicas actuales se basan en la presencia o ausencia de células, por lo que es necesario realizar investigaciones sobre los biomarcadores a nivel submicroscópico, como las proteínas, que permitan identificar la afectación del SNC al inicio del diagnóstico,<sup>12</sup> así como el monitoreo de la terapia intratecal y el estudio de los cambios que presenta el proteoma del LCR.<sup>6</sup>

## Migración de células linfoblásticas al SNC

La migración y el alojamiento de las células de LLA en áreas extramedulares como el SNC es un proceso activo y mediado por moléculas expresadas por esas células. Existe evidencia de que una población de células leucémicas precursoras de linfocitos B con un perfil proteico del SNC están presentes en la médula ósea al momento del diagnóstico.<sup>7</sup> En 1973, Price y Johnson realizaron autopsias en niños que murieron por LLA; en más de 60 % de los casos encontraron infiltración al SNC. Desde entonces, se considera la hipótesis de que las células leucémicas colonizan el SNC desde el momento del diagnóstico, y que la infiltración se debe a la falta de penetración de las drogas antileucémicas en el SNC.<sup>13,14</sup>

Algunas rutas anatómicas propuestas para la entrada de células leucémicas en el SNC son las siguientes:

- Los microvasos en el parénquima cerebral, a través de la barrera hematoencefálica.
- La superficie de la piamadre, a través de la barrera sangre-leptomeninges-cerebro.
- El epitelio del plexo coroideo, a través de la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo-cerebro.

Las células leucémicas pueden ignorar estas barreras y viajar directamente al espacio subaracnoideo atravesando la superficie de los vasos de unión que conectan el cráneo y las meninges. También se ha propuesto que el sistema linfático cerebral drena los leucocitos al parénquima y al espacio subaracnoideo, por donde las células leucémicas pueden entrar y salir.<sup>8</sup>

Las células leucémicas pueden utilizar un atajo a lo largo de la superficie de las venas de unión para ingresar al espacio subaracnoideo. La diseminación de blastos dentro del SNC ocurre principalmente en las meninges y puede persistir como lesiones focales entre las aracnoides y la piamadre, y permanecer sin ser detectada por la punción lumbar.

Múltiples moléculas de adhesión, quimiocinas y sus receptores, interleucinas y sus receptores, proteínas quinasas y factores de crecimiento han sido implicados en la migración, adhesión y supervivencia de las células leucémicas en el SNC.<sup>10</sup>

Se han encontrado células leucémicas en el espacio subaracnoideo, adheridas a las membranas meníngeas y/o circulando en el LCR, lo cual puede atribuirse a una subpoblación de estas.<sup>11</sup> Las células leucémicas adheridas al estroma del plexo coroideo modifican el microambiente para asegurar su supervivencia e interaccionan con compuestos químicos presentes en el LCR que pueden identificarse y cuantificarse para proporcionar información sobre el estado de la enfermedad. Detectar las proteínas implicadas en estos procesos podría explicar una gran variedad de mecanismos biológicos, por ejemplo, la transmigración y adhesión celular en el estroma del SNC.<sup>5</sup>

## Estadificación de la enfermedad

El diagnóstico de leucemia en el SNC se basa en los resultados de la citología (citospin), el conteo de leucocitos y la sintomatología. Durante la obtención de la muestra, puede ocurrir trauma por punción de vasos sanguíneos con la aguja, que se asocia a infiltración de células blásticas al SNC, así como a incremento en las recaídas de niños con LLA (Tabla 1).<sup>5,11</sup>

## Técnicas complementarias para el diagnóstico de infiltración al SNC

La citomorfología con citospin del LCR se ha reconocido como el estándar de oro para la detección de la infiltración al SNC; sin embargo, todavía se considera un método cualitativo porque si bien presenta alta especificidad (> 95 %), tiene una sensibilidad inferior a 50 %.<sup>11,15</sup> Además de la pequeña cantidad de células presentes en la muestra de LCR, la contaminación con células de la sangre periférica y la dificultad para interpretar la morfología celular en la preparación del citospin, son factores que obstaculizan la detección de los blastos dentro del SNC.<sup>11,16</sup>

El análisis de LCR por citometría de flujo es un método novedoso de alta especificidad, técnica alternativa con mayor sensibilidad (que puede llegar a ser de hasta más de 90 %) en la detección de niveles bajos de células leucémicas<sup>11</sup> y mayor reproducibilidad para identificar células leucémicas en el SNC. La sensibilidad de la citometría de flujo y del citospin

**Tabla 1.** Estadificación del sistema nervioso central con infiltración, con base en el número de glóbulos blancos en el líquido cefalorraquídeo.<sup>5,11</sup>

Estadio SNC	Células sanguíneas blancas/ $\mu$ L	Células sanguíneas rojas/ $\mu$ L	Blastos leucémicos
SNC-1	$\leq 5$	$< 10$	Ausentes
SNC-2	$\leq 5$	$< 10$	Presentes
SNC-3	$> 5$	$< 10$	Presentes
Con punción lumbar traumática	No aplicable	$\geq 10$	Presentes
Sin punción lumbar traumática	No aplicable	$\geq 10$	Ausentes

SNC: sistema nervioso central.

depende del volumen de la muestra por analizar y del número de células presentes; en los niños, el volumen mínimo recomendado de LCR es de 1 a 3 mL y se requiere que las células estén preservadas, de otro modo se afectarán los resultados.<sup>11</sup> Se ha demostrado que la citometría de flujo multiparamétrica puede detectar bajos niveles de células leucémicas imperceptibles en la citomorfología. Finalmente, existen estudios que sugieren que la combinación de citospin y citometría de flujo mejora la sensibilidad del diagnóstico,<sup>16</sup> lo que permite discriminar entre pacientes con alto y bajo riesgo de recaída, además de que auxilia en el tratamiento dirigido al SNC.<sup>17</sup>

Debido a la baja sensibilidad de la prueba de referencia (citomorfología con citoespin) para detectar infiltración de blastos al SNC, se han explorado otras técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa en ADN libre de células en el LCR. Esta técnica suele utilizar cebadores específicos diseñados contra regiones variables en inmunoglobulinas y receptores de células T para la expansión clonal de células de la médula ósea. En un estudio se reportó que la reacción en cadena de la polimerasa ayuda a la detección de la infiltración de células leucémicas en el SNC en aproximadamente 20 a 47 % de los casos pediátricos, en comparación con 5 a 17 % mediante citospin, con resultados equivalentes a los de la citometría de flujo. Sin embargo, la baja calidad del ADN o la falta de cebadores adecuados disminuye en ocasiones la eficiencia de esta técnica.<sup>5</sup>

Una propuesta innovadora para determinar infiltración al SNC podría ser el estudio del perfil proteómico del LCR mediante espectrometría de masas, técnica analítica absoluta con alto potencial para la

investigación en la búsqueda de biomarcadores a nivel diagnóstico, pronóstico y monitoreo terapéutico.<sup>18,19</sup>

## Proteínas implicadas en la infiltración al SNC

Debido a la alta incidencia de la LLA en la población infantil y a la necesidad de encontrar un método diagnóstico más sensible y específico que la citología para identificar infiltración al SNC, se ha explorado la búsqueda de proteínas como potenciales biomarcadores, con la espectrometría de masas como principal herramienta (Tabla 2),<sup>6,12,18,20-23</sup> la cual permite el análisis cualitativo y cuantitativo del proteoma del LCR con alta resolución y precisión de masa.<sup>10</sup> Por lo anterior, en este manuscrito se revisaron estudios sobre LLA independientemente de las líneas celulares afectadas, ya fueran células B o T.

### L-selectina

L-selectina o CD62L es una molécula de adhesión celular, cuya función consiste en orientar la migración de los leucocitos y linfocitos que se dirigen a los ganglios linfáticos; se expresa en leucocitos normales y en células blásticas en la LLA y leucemia mieloide aguda. La L-selectina experimenta un proceso de regulación negativa con la liberación de un fragmento soluble en el LCR, por lo que se convierte en una herramienta de diagnóstico para identificar afectación del SNC en niños con LLA de células T.<sup>10,20</sup>

### Interleucina 2 y receptor soluble de la interleucina 2

La interleucina 2 y el receptor soluble de la interleucina 2 (sIL2R) son liberados por las células T activadas y son considerados como reguladores de la respuesta inmunitaria. En un estudio realizado con ELISA y respaldado con citología convencional y recuento de leucocitos en LCR y suero, se encontró que la elevación de la concentración de sIL2R en el LCR es un marcador importante en pacientes con LLA y su medición resulta útil para determinar la afectación del SNC. Aunque esta prueba no puede reemplazar al examen citológico del LCR, se considera un método complementario para el diagnóstico. Lee, Wonbae<sup>24</sup> observó falta de correlación entre las concentraciones del sIL2R en el LCR y suero, lo que sugiere que sIL2R no se difunde al compartimento del

LCR desde la sangre, sino que se origina a partir de los blastos leucémicos que se encuentran dentro de ese compartimento.<sup>10</sup>

### Receptores de los factores de crecimiento endotelial vascular 1 y 2

sVEGFR1 y sVEGFR2 son los receptores de los factores de crecimiento endotelial vascular 1 y 2, liberados al espacio extracelular y presentes en el LCR. El factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGF-A) se expresa en tumores sólidos y se une a sus receptores de membrana solubles sVEGFR1 y sVEGFR2, los cuales bloquean la actividad de VEGF-A.<sup>10</sup> Mediante ELISA se determinó la interacción de VEGF-A y sus receptores solubles en el desarrollo de la leucemia con afectación del SNC en pacientes con y sin leucemia del SNC donde se midieron los niveles de sVEGFR1 y sVEGFR2 en suero y LCR. Los hallazgos mostraron que sVEGFR2-CSF puede ser más potente que sVEGFR1-CSF para predecir el resultado de pacientes con leucemia.<sup>25</sup>

### Fosfoproteína 1 secretada

SPP1, fosfoproteína 1 secretada (también llamada osteopontina), es una proteína secretada por las células T activadas, las células naturales asesinas y las células tumorales. Algunos investigadores propusieron que una pequeña población de células leucémicas precursoras de linfocitos B expresa moléculas de tráfico, entre ellas SPP1, que permiten la migración de blastos hacia el SNC; en los casos de recaída se observa una expresión ligeramente mayor de SPP1.<sup>7</sup> Estudios anteriores reportaron niveles altos de SPP1 en el LCR de pacientes pediátricos con LLA, con y sin enfermedad del SNC.<sup>10,26</sup>

### Interleucina 7 y su receptor

La interleucina 7 (IL7), citocina producida por células del estroma de la médula ósea, y su receptor (IL7R), que se expresa en las células linfoides, son necesarios para el desarrollo normal de las células T y la homeostasis de las células T maduras. Su falta de expresión produce inmunodeficiencia grave y la señalización excesiva puede impulsar el desarrollo de leucemia linfóide, acelerar la enfermedad y generar resistencia a la quimioterapia.<sup>27</sup> IL7 se puede detectar en el LCR y su alta concentración se asocia a

**Tabla 2. Estudios que reportan proteínas implicadas en la leucemia linfoblástica aguda infantil**

Fuente	Medio biológico	Población y línea celular afectada	Metodología	Resultados
Altered CSF proteomic profiling of pediatric acute lymphocytic leukemia patients with CNS infiltration <sup>6</sup> China, 2019	LCR	6 pacientes pediátricos entre 1 a 11 años, con diagnóstico de LLA de células B y afectación del SNC	LC-MS/MS	Se identificaron 428 proteínas, 10 proteínas se alteraron: glicoproteína rica en histidina (HRG); peptidasa relacionada con la calicreína 6 (KLK6); carnosinasa dipeptídica-1 (CNDP1); alfa-2-macroglobulina (A2M); factor H del complemento (CFH); complemento C4A (C4A) y apolipoproteína A1 (APOA1); apolipoproteína D (APOD); WAP, folistatina/kazal, inmunoglobulina, Kunitz y Netrin 2 (WFIKKN2); proteína secretada ácida y rica en cisteína (SPARC)
Proteomic analysis of cerebrospinal fluid in pediatric acute lymphoblastic leukemia patients: a pilot study <sup>12</sup> China, 2019	LCR	6 pacientes pediátricos entre 1 y 11 años, con diagnóstico de LLA y afectación del SNC	LC-MS/MS	Se identificaron 455 proteínas no redundantes, 32 proteínas estaban reguladas positivamente y 19 proteínas estaban reguladas negativamente. Se identificaron 51 proteínas, de las cuales sobresalieron 10 proteínas: TIMP1, LGALS3BP, A2M, AHSG, FN1, HRG, ITIH4, CF I, C2, C4A
Isobaric labeling strategy utilizing 4-plex N, N-dimethyl leucine (DiLeu) tags reveals proteomic changes induced by chemotherapy in cerebrospinal fluid of children with B-cell acute lymphoblastic leukemia <sup>18</sup> Estados Unidos, 2020	LCR	9 pacientes pediátricos entre 2 y 13 años, con diagnóstico de LLA de células B	Estrategia de marcaje isobárico de 4-plex N,N dimetil leucina (DiLeu) y espectrometría de masas	Cuantificaron 3285 péptidos derivados de 341 proteínas; 63 proteínas fueron alteradas significativamente
iTRAQ-based quantitative protein expression profiling of biomarkers in childhood B-cell and T-cell acute lymphoblastic leukemia <sup>20</sup> China, 2019	Suero sanguíneo	20 pacientes pediátricos con LLA de células B. 20 pacientes pediátricos con LLA de células T. La edad promedio de los participantes fue de 4 a 8 años	LC-MS	Del grupo LLA-B: se cuantificaron 534 proteínas con al menos un péptido, con 81 proteínas diferentes. Del grupo LLA-B y LLA-T: se cuantificaron 468 proteínas, con 38 proteínas diferentes. LLA-B y LLA-T compartieron 11 proteínas expresadas de manera diferente. Posibles biomarcadores para el diagnóstico temprano de LLA-B o LLA-T: S100A8, LRG1, SPARC y sL-selectina
A panel of glycoproteins as candidate biomarkers for early diagnosis and treatment evaluation of B-cell acute lymphoblastic leukemia <sup>21</sup> Brasil, 2016	Suero sanguíneo	10 pacientes pediátricos entre 2 y 6 años, con diagnóstico de LLA sin afectación al SNC	LC-MS/MS	Se identificaron un total de 96 proteínas. Se identificaron biomarcadores candidatos para el diagnóstico temprano de LLA-B: alfa-2-glicoproteína 1 rica en leucina (LRG1), clusterina (CLU), trombina (F2), cofactor II de heparina (SERPIND1), alfa-2-macroglobulina (A2M), alfa-2-antiplasma (SERPINF2), alfa-1 antitripsina (SERPINA1), factor B del complemento (CFB) y complemento C3 (C3)
Cerebrospinal fluid proteomics in children during induction for acute lymphoblastic leukemia: a pilot study <sup>22</sup> Estados Unidos, 2015	LCR	5 pacientes pediátricos entre 1 y 11 años, con diagnóstico de LLA de células pre-B (n = 3) y células T (n = 2)	LC-MS/MS	Perfil proteómico de las alteraciones del LCR durante el tratamiento con PEG-asparaginasa: de 635 proteínas (406 proteínas con dos o más péptidos), 35 proteínas tuvieron intensidades significativamente alteradas. Se observan cambios durante la terapia en el inhibidor de proteína C (SERPINA5) y el cofactor heparina-II
A comparative proteomic study of plasma in Colombian childhood acute lymphoblastic leukemia <sup>23</sup> Colombia, 2019	Plasma sanguíneo	6 pacientes pediátricos entre 2 y 9 años, con diagnóstico de LLA de células B	Nano-LC-MS/MS	Se cuantificaron 472 proteínas en plasma sanguíneo depletado y 25 de estas se expresaron diferencialmente en LLA-B

LC-MS/MS: cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem; LCR: líquido cefalorraquídeo; LLA: leucemia linfoblástica aguda; LLA-B: leucemia linfoblástica aguda de precursores de células B; LLA-T: leucemia linfoblástica aguda de precursores de células T.



enfermedad inflamatoria del SNC; de tal forma, IL7 puede ser producida por células estromales en esa cavidad ante diferentes estímulos. Se han demostrado altos niveles de IL7R en pacientes pediátricos con LLA de precursores de células B (LLA-B) y LCR negativo para blastocitos en la prueba con citocentrífuga en el diagnóstico inicial, y que una regulación positiva de IL7R puede predecir una recaída en el SNC.<sup>28</sup> En los últimos años se han utilizado tratamientos con anticuerpos que bloquean IL7R, con lo cual se ha observado una reducción de la infiltración leucémica en el SNC.<sup>8</sup>

### ***Inhibidor de la actividad proteolítica de las metaloproteínas de matriz***

La glicoproteína TIMP1 presenta un impacto positivo en la supresión de la metástasis tumoral y la detención de la progresión del tumor. Se ha observado un aumento en la expresión de TIMP1 en niños con LLA y se propone que su mecanismo de acción podría estar relacionado con la promoción de la supervivencia celular mediante la activación de las vías de señalización de las cinasas. TIMP1 podría desempeñar un papel fundamental en la patogénesis de los linfomas no Hodgkin del SNC.<sup>12,29</sup>

### ***Proteína de unión a galectina 3***

La proteína LGALS3BP, también conocida como proteína de unión a galectina 3, desempeña un papel crucial en la modulación de las interacciones entre las células y la matriz extracelular.<sup>30</sup> Dado su papel en la metástasis en otros tipos de cáncer, LGALS3BP podría tener una función similar en la LLA y facilitar la diseminación de células leucémicas al SNC. Este proceso podría implicar la modulación de las interacciones celulares y la alteración de la matriz extracelular, facilitando así la migración de células al SNC. Comprender cómo LGALS3BP influye en la infiltración de la LLA al SNC podría ser crucial para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.<sup>12,18</sup>

### ***Glicoproteína alfa-2-HS***

AHSG, glicoproteína alfa-2-HS (también llamada fetuina A), es una glicoproteína producida principalmente por los hepatocitos. Participa en diversos procesos, incluida la endocitosis, el desarrollo del cerebro y la formación de tejido óseo, y se considera

un biomarcador potencial para la infiltración al SNC en la LLA. Se encontró una marcada disminución en la concentración de AHSG en el LCR de pacientes con LLA en comparación con sujetos de control sanos.<sup>12</sup>

### ***Integrina- $\alpha 6$***

La integrina- $\alpha 6$  que se expresa en la LLA estimula la adhesión de células epiteliales y endoteliales, presente en los procesos de diferenciación, morfogénesis y migración celular. El inhibidor de PI3K $\delta$  (proteína fosforilada 3-cinasa delta) participa en la regulación del crecimiento y la supervivencia celular, y se ha observado que inhibe la expresión de la integrina- $\alpha 6$  en las células de LLA. La señalización de integrina- $\alpha 6$  podría modular la respuesta citoesquelética en las células leucémicas, y con su interacción con PI3K $\delta$  podría controlar su migración utilizando la laminina y la regulación de la actomiosina contráctil. Por esto, se cree que la expresión de la integrina- $\alpha 6$  permite que las células usen las vías de migración neural para invadir el SNC. La señalización de la integrina- $\alpha 6$  mejora la migración de la LLA-B hacia el LCR y su expresión se considera una base molecular para la migración de las células leucémicas utilizando las venas de unión.<sup>8</sup> La membrana basal de estos vasos sanguíneos tiene laminina, una glicoproteína de alto peso molecular que presenta el receptor integrina- $\alpha 6$  que se expresa en la LLA; la interacción de integrina- $\alpha 6$  con laminina media la migración de los blastos leucémicos hacia el LCR *in vitro*.<sup>31</sup> La integrina- $\alpha 6$  en el LCR es una molécula directamente relacionada con las vías de señalización de adhesión/migración en la leucemia del SNC.<sup>8</sup>

### ***Alfa-2 macroglobulina***

A2M, alfa-2 macroglobulina, inhibe proteasas, transporta citocinas y está asociada a procesos de inflamación y cáncer. Se encontró que A2M participa en los procesos de la coagulación, y su sobreexpresión en la leucemia, junto con otras proteínas anticoagulantes, puede deberse a la estimulación por el exceso de trombina en la sangre. Esta proteína ha sido propuesta como un biomarcador candidato para el diagnóstico oportuno y evaluación del tratamiento de LLA-B.<sup>21</sup>

A2M está presente en el desarrollo de la tumorigénesis y progresión de la LLA, y es una de las proteínas con sobreexpresión que se observaron

en un estudio de análisis proteómico de LCR en pacientes pediátricos con LLA, por lo que también fue propuesta como biomarcador para diagnóstico y evaluación del tratamiento de la LLA-B.<sup>12</sup> En forma similar, dos estudios informaron una elevación en los niveles de A2M en el LCR de pacientes diagnosticados con LLA que afectaba al SNC;<sup>6,21</sup> en ambos estudios se empleó la espectrometría de masas para la evaluación. Con estos resultados se propuso que los niveles elevados de A2M se pueden utilizar como un biomarcador sólido de LLA, detectable tanto en muestras de suero como de LCR.

### ***Glicoproteína rica en histidina***

HRG, glicoproteína rica en histidina, es una glicoproteína producida por el hígado que regula numerosos procesos biológicos, los cuales abarcan funciones celulares, adhesión y proliferación celular, respuestas inmunitarias, angiogénesis, coagulación y activación plaquetaria; muchos de esos procesos desempeñan funciones fundamentales en la metástasis y la progresión de los tumores. Se ha sugerido que HRG ejerce una influencia supresora sobre la metástasis y la expansión tumoral al fomentar respuestas inmunes antitumorales. Se ha observado su expresión en LCR de pacientes pediátricos con LLA con infiltración al SNC antes y después del tratamiento de inducción.<sup>6,12,20</sup>

Un estudio mostró que la HRG podría considerarse un novedoso marcador de diagnóstico en la LLA. La proteína sérica de HRG se puede detectar mediante una prueba sencilla de ELISA en suero, lo que motiva su aplicación en estudios clínicos como un marcador potencial.<sup>32</sup>

### ***Complemento C4A***

C4A es la proteína más polimórfica y está presente en la vía del complemento y en la cascada de la coagulación; se ha observado su sobreexpresión en el perfil proteómico alterado del LCR de pacientes pediátricos con LLA e infiltración al SNC.<sup>6,12</sup>

### ***Peptidasa relacionada con la calicreína 6***

KLK6 es una enzima serina proteasa que se considera un supresor de tumores regulado epigenéticamente. Las peptidasas relacionadas con la calicreína (KLK) están involucradas en numerosos procesos relacionados con el cáncer, de tal modo que la KLK6,

uno de los 15 miembros de la familia KLK, constituye un biomarcador prometedor para el diagnóstico de diversos tipos de cáncer. La expresión de KLK6 disminuye la función de la vimentina, un marcador de la transición mesenquimatosa de las células tumorales. Se ha encontrado en el LCR de pacientes pediátricos con LLA e infiltración al SNC.<sup>6</sup>

### ***Carnosina dipeptidasa-1***

CNDP1, carnosina dipeptidasa-1, es un dipéptido endógeno que se produce naturalmente por la unión de  $\beta$ -alanina y L-histidina, sintetizada en el cerebro, secretada en el LCR y, finalmente, secretada en la sangre; además, se le han conferido propiedades antiproliferativas de diferentes células malignas, con actividad antiinflamatoria y antioxidante. CNDP1 está presente en el LCR de pacientes pediátricos con LLA e infiltración al SNC.<sup>6</sup>

### ***Apolipoproteína A1***

ApoA1, apolipoproteína A1, es un componente proteico de las lipoproteínas de alta densidad en el plasma; se ha observado que participa en el reclutamiento de neutrófilos en la inflamación para evitar una respuesta inflamatoria excesiva, por lo cual ha sido considerada un posible factor antiangiogénico para suprimir la progresión tumoral. Se ha observado su sobreexpresión en el LCR de niños con leucemia aguda con infiltración del SNC, así como su relación con procesos asociados a la coagulación y degranulación de plaquetas.<sup>6</sup>

### ***Factor H del complemento***

CFH, factor H del complemento, es una glicoproteína reguladora del complemento en plasma y sobre la superficie de células y tejidos; está relacionado con la cascada de la coagulación. Se ha observado que inhibe la migración de células endoteliales y la angiogénesis. Además, regula indirectamente los efectos angiogénicos de los componentes del complemento (C3a y C5), lo que permite una menor expresión del factor de crecimiento endotelial vascular relacionado con tumores sólidos. Esta glicoproteína fue observada en el perfil proteómico alterado del LCR de pacientes pediátricos con LLA e infiltración al SNC.<sup>6</sup>

## Conclusiones

El uso de espectrometría de masas en la proteómica sigue evolucionando. Estos avances han permitido identificar potenciales biomarcadores de infiltración de células malignas en el LCR de pacientes que padecen LLA. Las proteínas L-selectina, IL2, sIL2R, VEGFR1, sVEGFR2, SPP1, IL7, IL7R, TIMP1, LGALS3BP, AHSG, integrina- $\alpha$ 6, A2M, HRG, C4A, KLK6, CNDP1, ApoA1 y CFH muestran potencial como biomarcadores a nivel de diagnóstico en la LLA. Sin embargo, deben someterse a un riguroso proceso de comprobación y validación clínica antes de ser aplicados en la práctica clínica, por lo que es necesario que se sigan investigando.

Tomando en cuenta la información respecto a los potenciales biomarcadores de infiltración al SNC en la LLA mencionados, es importante que se continúen estudios con enfoques traslacionales que permitan determinar con mayor solidez su grado de especificidad, sensibilidad y reproducibilidad, para que las proteínas con potencial de biomarcador de infiltración lleguen a la práctica clínica y coadyuven en el diagnóstico y pronóstico de casos de LLA con infiltración al SNC.

Los avances que se logren al respecto y los que se lleguen a descubrir incrementarán las posibilidades de identificar oportunamente la infiltración al SNC, para tomar decisiones más eficientes respecto a los tratamientos, de tal forma que sean menos tóxicos para el paciente y contribuyan a disminuir el índice de mortalidad en este tipo de cáncer.

## Financiamiento

Los autores agradecen el apoyo financiero del Programa Presupuestario A022: "Investigación y desarrollo militar en coordinación con universidades públicas, instituciones públicas de educación superior y/o demás centros públicos de investigación superior", de la Secretaría de la Defensa Nacional.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

## Responsabilidades éticas

**Protección de personas y animales.** Los autores declaran que para esta investigación no se realizaron experimentos en seres humanos ni en animales.

**Confidencialidad de los datos.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes. Además, los autores reconocieron y siguieron las recomendaciones según las guías SAGER dependiendo del tipo y naturaleza del estudio.

**Derecho a la privacidad y consentimiento informado.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

**Uso de inteligencia artificial para generar textos.** El autor declara que no utilizó ningún tipo de inteligencia artificial generativa en la redacción de este manuscrito ni para la creación de figuras, gráficos, tablas o sus correspondientes pies o leyendas.

## Bibliografía

1. American Cancer Society. Cancer facts & figures 2024. Atlanta: American Cancer Society; 2024.
2. Global Cancer Observatory [Internet]. Cancer today. Disponible en: <http://gco.iarc.fr/today/home>
3. Gözdaşoğlu S. Infant leukemia. En: Li W, editor. Leukemia [Internet]. Brisbane (AU): Exon Publications; 2022. DOI: 10.3625/exon-publications-leukemia-infant-leukemia
4. Lejman M, Chalupnik A, Chilimoniuk Z, Dobosz M. Genetic biomarkers and their clinical implications in B-cell acute lymphoblastic leukemia in children. *Int J Mol Sci.* 2022;23(5):2755. DOI: 10.3390/ijms23052755
5. Thastrup M, Duguid A, Miran C, Schmiegelow K, Halsey C. Central nervous system involvement in childhood acute lymphoblastic leukemia: challenges and solutions. *Leukemia.* 2022;36(12):2751-2768. DOI: 10.1038/s41375-022-01714-x
6. Mo F, Ma X, Liu X, Zhou R, Zhao Y, Zhou H. Altered CSF proteomic profiling of paediatric acute lymphocytic leukemia patients with CNS infiltration. *J Oncol.* 2019;2019:3283629. DOI: 10.1155/2019/3283629
7. van der Velden VH, de Launay D, de Vries JF, de Haas V, Sonneveld E, Voerman JS, et al. New cellular markers at diagnosis are associated with isolated central nervous system relapse in paediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol.* 2016;172(5):769-781. DOI: 10.1111/bjh.13887
8. Lenk L, Alsadeq A, Schewe DM. Involvement of the central nervous system in acute lymphoblastic leukemia: opinions on molecular mechanisms and clinical implications based on recent data. *Cancer Metastasis Rev.* 2020;39(1):173-187. DOI: 10.1007/s10555-020-09848-z
9. Quiroz E, Aldoss I, Pullarkat V, Rego E, Marcucci G, Douer D. The emerging story of acute lymphoblastic leukemia among the Latin American population — biological and clinical implications. *Blood Rev.* 2019;33:98-105. DOI: 10.1016/j.blre.2018.08.002
10. Ikonomidou C. Cerebrospinal fluid biomarkers in childhood leukemias. *Cancers (Basel).* 2021;13(3):438. DOI: 10.3390/cancers13030438
11. Thastrup M, Marquart HV, Schmiegelow K. Flow cytometric detection of malignant blasts in cerebrospinal fluid: a biomarker of central nervous system involvement in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Biomolecules.* 2022;12(6):813. DOI: 10.3390/biom12060813
12. Guo L, Ren H, Zeng H, Gong Y, Ma X. Proteomic analysis of cerebrospinal fluid in pediatric acute lymphoblastic leukemia patients: a pilot study. *Onco Targets Ther.* 2019;12:3859-3868. DOI: 10.2147/OTT.S193616
13. Price RA, Johnson WW. The central nervous system in childhood leukemia. I. The arachnoid. *Cancer.* 1973;31(3):520-533. DOI: 10.1002/1097-0142(197303)31:3<520::aid-cnrcr2820310306>3.0.co;2-2
14. Frishman-Levy L, Izraeli S. Advances in understanding the pathogenesis of CNS acute lymphoblastic leukaemia and potential for therapy. *Br J Haematol.* 2017;176(2):157-167. DOI: 10.1111/bjh.14411
15. Chamberlain MC, Glantz M, Groves MD, Wilson WH. Diagnostic tools for neoplastic meningitis: detecting disease, identifying patient risk, and determining benefit of treatment. *Semin Oncol.* 2009;36(4 Suppl 2):S35-S45. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2009.05.005
16. Xue L, Shang Q, Lu A, Zuo Y, Ding M, Zhang L, et al. Diagnostic value and prognosis significance of cerebrospinal fluid examination by flow cytometry in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Technol Cancer Res Treat.* 2023;22:15330338231181025. DOI: 10.1177/15330338231181025
17. Thastrup M, Marquart HV, Levinsen M, Grell K, Abrahamsson J, Albertsen BK, et al. Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology (NOPHO). Flow cytometric detection of leukemic blasts in cerebrospinal fluid predicts risk of relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia: a Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology study. *Leukemia.* 2020;34(2):336-346. DOI: 10.1038/s41375-019-0570-1



18. Yu Q, Zhong X, Chen B, Feng Y, Ma M, Diamond CA, et al. Isobaric labeling strategy utilizing 4-Plex N,N-Dimethyl Leucine (DiLeu) tags reveals proteomic changes induced by chemotherapy in cerebrospinal fluid of children with B-cell acute lymphoblastic leukemia. *J Proteome Res.* 2020;19(7):2606-2616. DOI: 10.1021/acs.jproteome.0c00291
19. Kourti M, Aivaliotis M, Hatzipantelis E. Proteomics in childhood acute lymphoblastic leukemia: challenges and opportunities. *Diagnostics (Basel).* 2023;13(17):2748. DOI: 10.3390/diagnostics13172748
20. Yu R, Zhang J, Zang Y, Zeng L, Zuo W, Bai Y, et al. iTRAQ-based quantitative protein expression profiling of biomarkers in childhood B-cell and T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Manag Res.* 2019;11:7047-7063. DOI: 10.2147/CMAR.S210093
21. Cavalcante MS, Torres-Romero JC, Lobo MD, Moreno FB, Bezerra LP, Lima DS, et al. A panel of glycoproteins as candidate biomarkers for early diagnosis and treatment evaluation of B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Biomark Res.* 2016;4:1. DOI: 10.1186/s40364-016-0055-6.
22. Priola GM, Foster MW, Deal AM, Richardson BM, Thompson JW, Blatt J. Cerebrospinal fluid proteomics in children during induction for acute lymphoblastic leukemia: a pilot study. *Pediatr Blood Cancer.* 2015;62(7):1190-1194. DOI: 10.1002/pbc.25420
23. Calderón-Rodríguez SI, Sanabria-Salas MC, Umaña-Pérez A. A comparative proteomic study of plasma in Colombian childhood acute lymphoblastic leukemia. *PLoS One.* 2019;14(8):e0221509. DOI: 10.1371/journal.pone.0221509
24. Lee W, Kim SJ, Lee S, Kim J, Kim M, Lim J, et al. Significance of cerebrospinal fluid sIL-2R level as a marker of CNS involvement in acute lymphoblastic leukemia. *Ann Clin Lab Sci.* 2005;35(4):407-412.
25. Tang YT, Jiang F, Guo L, Si MY, Jiao XY. The soluble VEGF receptor 1 and 2 expression in cerebral spinal fluid as an indicator for leukemia central nervous system metastasis. *J Neurooncol* 2013;112(3):329-338. DOI: 10.1007/s11060-013-1066-x
26. Incesoy-Özdemir S, Sahin G, Bozkurt C, Oren AC, Balkaya E, Ertem U. The relationship between cerebrospinal fluid osteopontin level and central nervous system involvement in childhood acute leukemia. *Turk J Pediatr.* 2013;55(1):42-49.
27. Oliveira ML, Akkapeddi P, Ribeiro D, Melão A, Barata JT. IL-7R-mediated signaling in T-cell acute lymphoblastic leukemia: an update. *Adv Biol Regul.* 2019;71:88-96. DOI: 10.1016/j.jbior.2018.09.012
28. Alsadeq A, Lenk L, Vadakumchery A, Cousins A, Vokuhl C, Khadour A, et al. IL7R is associated with CNS infiltration and relapse in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2018;132(15):1614-1617. DOI: 10.1182/blood-2018-04-844209
29. Scrideli CA, Cortez MA, Yunes JA, Queiróz RG, Valera ET, da Mata JF, et al. mRNA expression of matrix metalloproteinases (MMPs) 2 and 9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMPs) 1 and 2 in childhood acute lymphoblastic leukemia: potential role of TIMP1 as an adverse prognostic factor. *Leuk Res.* 2010;34(1):32-37. DOI: 10.1016/j.leukres.2009.10.007
30. Grassadonia A, Tinari N, Iurisci I, Piccolo E, Cumashi A, Innominato P, et al. 90K (Mac-2 BP) and galectins in tumor progression and metastasis. *Glycoconj J.* 2002;19(7-9):551-556. DOI: 10.1023/B:GLYC.0000014085.00706.d4
31. Yao H, Price TT, Cantelli G, Ngo B, Warner MJ, Olivere L, et al. Leukaemia hijacks a neural mechanism to invade the central nervous system. *Nature.* 2018;560(7716):55-60. DOI: 10.1038/s41586-018-0342-5
32. Ahmed MB, Almogbel E, Khirry I, Hassan S, Salem T, Saeed A. Diagnostic and prognostic significance of histidine-rich glycoprotein in acute lymphoblastic leukemia. *Open J Blood Dis.* 2017;7:16-28. DOI: 10.4236/ojbd.2017.71002