



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

**UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
“DR. BERNARDO SEPÚLVEDA”
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI**

***FRECUENCIA DE DISTRIBUCIÓN DE LOS SUBTIPOS DE LEUCEMIA
LINFOBLÁSTICA AGUDA EN EL ADULTO DE ACUERDO AL
INMUNOFENOTIPO Y VALOR PRONÓSTICO DE LA COEXPRESIÓN DE
ANTÍGENOS MIELOIDES EN LA SUPERFICIE CELULAR***

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE LA ESPECIALIDAD DE:

HEMATOLOGÍA

PRESENTA:

DRA. MARÍA RUBICELA MONTIEL GONZÁLEZ

ASESOR: DRA. NANCY DELGADO LÓPEZ



MÉXICO D.F.

MARZO 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dra. Leonor A. Barile Fabris
Jefe de la División de Educación e Investigación en Salud
U. M. A. E. Hospital de Especialidades
"Dr. Bernardo Sepulveda"
Centro Médico Nacional Siglo XXI

Dr. Luis Antonio Meillón García
Profesor Titular del Curso de Hematología, UNAM
Jefe del Servicio de Hematología
U. M. A. E. Hospital de Especialidades
"Dr. Bernardo Sepulveda"
Centro Médico Nacional Siglo XXI

Dra . Nancy Delgado López
Asesor de Tesis
Médico Adscrito al Servicio de Hematología
U. M. A. E. Hospital de especialidades
"Dr. Bernardo Sepulveda"
Centro Médico Nacional Siglo XXI

Dra. María Rubicela Montiel González
Investigadora principal
U. M. A. E. Hospital de Especialidades
"Dr. Bernardo Sepulveda"
Centro Médico Nacional Siglo XXI

DEDICATORIA

DIOS

Fuente de Vida y Sabiduría: Por darme los aditamentos necesarios para el éxito

MI PAPÁ

Por sembrar la semilla de superación y permanecer con nosotros siempre.

MI MAMÁ

Por darme la oportunidad de nacer y crecer en lo mas valioso y hermoso de mi existencia “Mi familia” y por darme los valores necesarios para mi desarrollo como ser humano.

MIS HERMANOS

Por ser mi ejemplo a seguir, por ser mi soporte y mi ayuda incondicional y un especial agradecimiento a mi hermana Alejandra por todo lo que me ha brindado y por ayudarme a cumplir mi más grande sueño.

MIS SOBRINOS

A cada uno de ellos por su sonrisa y su cariño incondicional

MIS COMPAÑEROS (AS) y AMIGOS (AS)

Por ser parte de mi historia y formación. A Javier y Julian por su amistad, apoyo y enseñanza.

MIS MAESTROS (AS)

Por su tiempo, enseñanza, confianza y apoyo.

AGRADECIMIENTO

DRA. NANCY DELGADO LÓPEZ

Por ser mi Maestra y Amiga desde el inicio de la Residencia en Hematología, pero sobre todo por su apoyo y confianza, por su paciencia y cariño.

Por su tiempo, conocimientos, paciencia y dedicación para que este proyecto fuese una realidad.

MIL GRACIAS

M. C. MARIA DEL ROCÍO GODÍNEZ

M.C. LAURA RABELO CARRASCO

Por su aportación invaluable en este proyecto

ÍNDICE

Página

I.- RESUMEN.	1
II.- INTRODUCCIÓN.	2
III.- JUSTIFICACIÓN.	12
IV.- OBJETIVOS.	13
V.- HIPÓTESIS.	14
VI.- MATERIAL Y MÉTODOS.	14
VII.- RESULTADOS.	23
VIII.- DISCUSIÓN.	46
IX.- CONCLUSIÓN.	50
X.- ANEXOS.	51
XI.- BIBLIOGRAFÍA.	53

RESUMEN

FRECUENCIA DE DISTRIBUCIÓN DE LOS SUBTIPOS DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA EN EL ADULTO DE ACUERDO AL INMUNOFENOTIPO Y VALOR PRONÓSTICO DE LA COEXPRESIÓN DE ANTÍGENOS MIELOIDES EN LA SUPERFICIE CELULAR

Delgado López N., Meillón García L.A., Montiel González M.R.

Servicio de Hematología y Laboratorio de Hematología Especial, UMAE; Hospital de Especialidades "Bernardo Sepúlveda", CMN Siglo XXI. IMSS.

INTRODUCCIÓN

La Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) es una enfermedad neoplásica que resulta de mutaciones somáticas en una célula progenitora linfóide en uno de varios estadios de desarrollo. Representa el 1% de todos los cánceres en el adulto conformando el 20% de las leucemias de esta población con un pico de incidencia a los 35 años y un segundo a los 80 años. La clasificación morfológica (FAB) ha mostrado varias limitantes por el advenimiento de anticuerpos monoclonales y estudios de inmunofenotipo con citometría de flujo. La LLA se divide en linajes T y B. El linaje B se divide en 3 estadios de acuerdo a su maduración: 1) Célula pre B temprana ó Pro-B, 2) Célula pre-B, 3) Célula B madura. Expresión aberrante de antígenos mieloides asociados a LLA se han reconocido desde 1980 y la frecuencia reportada es de 3.5 – 30%, y actualmente su valor pronóstico es controvertido. Los factores pronósticos son importantes en la elección de la terapia y evaluación de la respuesta al tratamiento. Los más importantes son: edad, cuenta de leucocitos al diagnóstico, tiempo en alcanzar la remisión completa, anormalidades citogenéticas o moleculares, subtipo inmunológico y recientemente el estudio de enfermedad mínima residual. (EMR).

Por lo tanto actualmente el inmunofenotipo además de ser indispensable para el diagnóstico del subtipo de Leucemia Linfoblástica Aguda, se está convirtiendo en un arma importante para la evaluación de la respuesta al tratamiento, el seguimiento de la enfermedad y la detección temprana de recaídas.

OBJETIVO

Determinar la frecuencia de los subtipos de LLA Aguda en el adulto así como su factor pronóstico. Determinar si la coexpresión de antígenos mieloides en pacientes con LLA confiere pronóstico adverso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trató de un estudio retrospectivo y transversal en el cual se incluyeron pacientes con diagnóstico de LLA a los cuales se les realizó inmunofenotipo por citometría de flujo y se correlacionó con factores pronósticos así como evolución clínica.

RESULTADOS

Se estudiaron 33 pacientes, (16 mujeres y 17 hombres), con un promedio de edad de 38.4 años. En 1 caso fue LLA pro B, en 21 casos LLA pre B Común, en 8 casos pre B, en 1 caso B Madura y en 2 casos LLA T.. El 66.6% mostró la presencia de antígenos mieloides aberrantes en el inmunofenotipo. El CD11b fue el antígeno aberrante con mayor expresión en 13 casos (41.9%) seguido de CD13 con 8 casos (25.8%).

Lo trascendental de este estudio se observó en el análisis de la supervivencia global, ya que los pacientes sin expresión de antígenos mieloides tuvieron una mayor supervivencia global a 2 años (40%) comparado con 14.2% en aquellos pacientes con expresión aberrante. (P=0.03).

CONCLUSIONES

1. La incidencia por subtipos de LLA es similar a la reportada en la literatura con predominio de la Pre B Temprana Común.
2. Se encontró mayor expresión de antígenos mieloides en la LLA de nuestra población.
3. La expresión de antígenos mieloides puede ser un factor pronóstico adverso independiente en nuestra población.

INTRODUCCIÓN

La Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) es una enfermedad neoplásica que resulta de mutaciones somáticas en una célula progenitora linfoide en uno de varios estadios de desarrollo. (1)

Así mismo la Leucemia Linfoblástica Aguda es biológica y clínicamente un grupo heterogéneo de enfermedades caracterizado por la proliferación y acumulación maligna de células linfoides inmaduras en la médula ósea, sangre y órganos linfoides. (2)

La transformación leucémica de las células hematopoyéticas requiere pérdida de los controles de proliferación normal, un bloqueo en la diferenciación o la resistencia a las señales apoptóticas. (3)

La Leucemia Linfoblástica Aguda es la enfermedad oncológica más frecuente en los niños con aproximadamente 2,400 nuevos casos diagnosticados anualmente en los Estados Unidos, en contraste esta enfermedad representa el 1% de los cánceres en el adulto conformando 20% de las leucemias en esta población. En niños el pico de incidencia de la Leucemia Linfoblástica Aguda ocurre aproximadamente a los 2 a 3 años de edad, y hay un segundo pico en adultos a la edad de 65 años. (4)

Más del 90% de los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda tienen clínicamente anormalidades en la citometría hemática evidentes al diagnóstico. Esto usualmente refleja el grado en que la médula ósea está reemplazada por células leucémicas. Entre estas, la anemia es usualmente normocítica normocrómica y característicamente acompañada por un conteo de reticulocitos bajo y esta presente en aproximadamente un 80% de los pacientes, el conteo de leucocitos esta elevado en aproximadamente 50% de los pacientes y la trombocitopenia es extremadamente frecuente. (4)

El diagnóstico definitivo se obtiene mediante la observación directa de un frotis de aspirado de médula ósea el cual suele ser hipercelular y con sustitución de la celularidad normal por linfoblastos.

La biopsia de hueso es un estudio confirmatorio donde se aprecia la sustitución de la arquitectura normal por linfoblastos. (3)

Fibrosis o empaquetamiento de la médula ósea debido a gran cantidad de células leucémicas pueden ocasionar dificultades con la obtención del aspirado de médula ósea, necesitando biopsia de hueso o tejido viable para el diagnóstico. (3)

El mínimo porcentaje de blastos en la médula ósea requerido para establecer el diagnóstico de Leucemia Linfoblástica aguda es de 25%, si es menor de esta cantidad se trata de un linfoma linfoblástico involucrando la médula ósea. (4)

Las células de la Leucemia Linfoblástica Aguda son heterogéneas y cuentan con subclasificaciones en base a sus diferencias morfológicas bajo el microscopio de luz. El sistema más ampliamente utilizado, desarrollado por el Grupo de Trabajo Cooperativo Franco – Americano - Británico (FAB) divide al linfoblasto en 3 categorías:

1.- Linfoblastos **L1** son células de tamaño pequeño, con relación núcleo - citoplasma elevada y nucleolos pequeños y discretos en su interior.

2.- Linfoblastos **L2** es la variedad más frecuente en el adulto (60%-70%), son células que muestran considerable variación en su tamaño y tienen uno ó más nucleolos prominentes y abundante citoplasma basófilo.

3.- Linfoblastos **L3** son células de tamaño grande, exhiben basofilia citoplasmática profunda, vacuolización citoplasmática prominente y son idénticas cito - morfológicamente a las células del linfoma de Burkitt. (4)

El sistema de clasificación morfológico propuesto por el Grupo Cooperativo de Trabajo Franco - Americano - Británico ha mostrado varias limitantes en particular por el advenimiento de anticuerpos monoclonales y estudios de inmunofenotipo con citometría de flujo. (5)

Aunque la morfología y las propiedades citoquímicas de las células blásticas pueden ser usadas para distinguir entre Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) y Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA), el inmunofenotipo es esencial para establecer el diagnóstico correcto. (3)

El inmunofenotipo juega un papel importante en el diagnóstico de la leucemia aguda. El uso de anticuerpos monoclonales específicos para varios estadios de células B, células T y diferenciación mieloide permite reconocer la estirpe de la leucemia en su origen linfoide o mieloide y en muchas instancias se puede asignar el estadio de diferenciación celular B o T del cual la clona leucémica proviene o el estadio en que su diferenciación es bloqueada. (4)

El principio del inmunofenotipo por citometría de flujo mediante la utilización de anticuerpos monoclonales específicos es el reconocimiento de antígenos en las superficies celulares, antígenos intracelulares, enzimas intracelulares y material nuclear. Dichos antígenos leucocitarios son proteínas o glucoproteínas que sirven como receptores para la presentación de antígenos, citosinas, etc.,. (6)

Los anticuerpos monoclonales que distinguen los grupos de diferenciación reconocen el mismo antígeno celular pero no necesariamente el mismo epítipo. (2) Muchos antígenos leucocitarios son de especificidad baja por lo tanto un panel de anticuerpos es necesario para establecer el diagnóstico y distinguir entre las diferentes subclases inmunológicas de las células leucémicas. El panel usado habitualmente incluye por lo menos un marcador de alta sensibilidad (CD19 para células de linaje B, CD7 para células de linaje T y CD13 o CD33 para células de origen mieloide) y un marcador que es altamente específico (CD79 citoplasmático para células de estirpe B, CD3 citoplasmático para células de estirpe T y mieloperoxidasa citoplasmática para células de origen mieloide. (1)

Existe una minoría de casos (aproximadamente del 4%) que son difíciles de clasificar en los que los blastos coexpresan marcadores de origen mieloide y de origen linfoide, designándose como leucemias bifenotípicas, las cuales previamente se conocían como leucemia de linaje mixto ó híbrida. Existen criterios para diferenciar entre las Leucemias Agudas Bifenotípicas y aquellas con expresión aberrante de marcadores de otro origen,. Estos criterios se basan en el sistema de medición previamente descrito por el European Group of Immunological Classification of Leukemias. Este sistema se basa en el número y grado de especificidad de la expresión de marcadores por las células leucémicas. Los marcadores considerados más específicos son para linaje Linfoide B: CD79a, inmunoglobulina citoplasmática (Ig), inmunoglobulina de superficie (Sig) y CD22, para linaje Linfoide T: CD3, y para células de origen mieloide: Mieloperoxidasa

(MPO), confirmada por tinciones de histoquímica ó métodos inmunológicos. (7)
(Ver cuadro 1)

Cuadro 1. ESCALA DE CALIFICACIÓN PARA DEFINIR LEUCEMIA AGUDA BIFENOTÍPICA.
Tomado de **Outcome of biphenotypic acute leukemia.**
Haematologica 1999; 84:699-706

Scoring points	Lineages		
	B lymphoid	T lymphoid	Myeloid
2	CD79a (mb-1) CD22 cyt IgM	CD3 anti-TCR α/β anti-TCR γ/δ	anti-MPO*
1	CD19 CD10 CD20	CD2 CD5 CD8 CD10	CD117(c-kit) CD13 CD33 CD65s
0.5	TdT CD24	TdT CD7	CD14 CD15 CD64

Se define como leucemia bifenotípica cuando se obtiene una puntuación mayor de 2 en dos linajes diferentes; MPO (mieloperoxidasa) demostrada por histoquímica o por métodos inmunológicos.

La Leucemia Linfoblástica Aguda se divide en linajes T y B. El linaje B se divide en 3 estadios de acuerdo a su maduración: 1) Célula pre B temprana ó Pro-B, 2) Célula pre-B, 3) Célula B madura. (9) En los adultos el tipo pro- B es el de pronóstico menos favorable. (8,9)

Estudios iniciales han demostrado una asociación entre el porcentaje de respuesta al tratamiento y estos subtipos de LLA. (2)

LLA Pro B ó Pre B temprana.

Se presenta en el 50% de las leucemias linfoblásticas del adulto, y el fenotipo es **TdT+** (Transferasa deoxinucleotidil terminal), **HLA-DR+**, **CD19+**, **CD10+/-** [también llamado antígeno CALLa (Antígeno común de la Leucemia Linfoblástica Aguda)], **CD34 +/-**. (10)

LLA pre B

Comprende un 10 al 20% de las leucemias linfoblásticas del adulto. La característica definitiva es la presencia de **cadena pesada μ citoplasmática de las inmunoglobulinas** y son típicamente **CD19+**, **CD24+**, HLA-DR +/-, **CD22 +**, **CD10+/-**, TdT+/-, CD20 y CD34 son generalmente negativos. (10)

LLA B Madura

Muestra la presencia de **inmunoglobulina de superficie** principalmente **IgM**. Representan 2 – 5 % de todas las Leucemias Linfoblásticas del Adulto y es equivalente a linfoma de Burkitt en fase leucémica, su fenotipo muestra **CD19+**, **CD20+**, **CD22+**, y **CD24+**. (10)

LLA T

El fenotipo T representa el 20 al 25% de las Leucemias Linfoblásticas Agudas en el adulto. (11,12)

Diversas clasificaciones de Leucemia linfoblástica aguda de estirpe T se han propuesto basado en el patrón de expresión antigénica asociado a célula T o estadio de maduración tímica de la célula T. (11)

Las células de la Leucemia Linfoblástica de estirpe T expresan CD7 de superficie y CD3 de superficie o citoplasmático y en más de 90% de los casos expresan CD2, CD5 y TdT, además antígenos de superficie CD1a, CD3, CD4, CD8 que son detectados en menos del 45% de los casos. Células T citotóxicas o Células NK que expresan el antígeno CD56 se detecta en un número menor de casos.

LLA Pro T

Las células demuestran positividad para el **CD7** y **CD3** citoplasmático.

LLA pre T

En adición al anterior se demuestra positividad a **CD5**, **CD2+/-** y **CD8+/-**.

LLA Timico

Cualquier caso que es positivo para **CD1a** sin tener en cuenta la reactividad con otros marcadores.

LLA T madura

Demostración del **CD3 de superficie** en la ausencia de CD1a. (10, 6,11)

Se ha determinado que la presencia o ausencia de determinados marcadores influyen en la respuesta al tratamiento. Uno de los más estudiados es el CD10 encontrando que su ausencia se caracteriza por una alta prevalencia del gen MLL (Leucemia de Linaje Mixto); el cual se relaciona con pronóstico desfavorable, por lo que en estos pacientes se recomienda Transplante de Médula Ósea en la primera remisión completa. (9) En niños de 4 – 6 años con Leucemia Linfoblástica Aguda sin expresión de CD10 se ha reportado sobrevida libre de evento de 21 a 40% comparado con 45 – 73% en pacientes con blastos CD10+. (15)

Pacientes con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda de estirpe T con expresión de CD1, CD2, CD4 y CD5 fueron asociados con un aumento importante de la sobrevida comparados con pacientes que no los expresan, incluso se ha demostrado que el rango de remisión completa en esta leucemia parecer ser influenciado por el número de marcadores expresados en la célula T siendo mayor cuando se tienen más de 6-7 marcadores comparado con la expresión de 3 o menos. (2). El estudio CALGB (The Cáncer and Leukemia Group B) realizado en Alemania ha demostrado que pacientes con LLA T tienen una evolución más favorable especialmente si ellos presentan una masa mediastinal comparado con pacientes con LLA pre B. Aunque los rangos de respuesta completa (RC) para pacientes con LLA T y LLA pre B son similares, el rango de sobrevida global fue de 62% para la primera comparado al 38% con LLA pre B. La coexpresión de antígenos mieloides aberrantes sobre la superficie de la Célula pre B o Célula T no alteró el pronóstico. (13)

Diferencias biológicas claras emergen en el paciente con Leucemia Linfoblástica Aguda de acuerdo a la edad. Estudios realizados por Larson R.A., y Scharappe en los años 1990 y 2000 demostraron que los pacientes con LLA pre B, con un rango de edad entre 1 a 5 años, tienen un pronóstico más favorable con una sobrevida libre de enfermedad superior al 80%. La sobrevida libre de enfermedad disminuye a 60% en adolescentes de 15 a 18 años y a 40% en los adultos. En comparación LLA T esta asociada con una sobrevida libre de enfermedad de 60% independiente de la edad. (13)

Expresión aberrante de antígenos mieloides asociados a linfoblastos típicos se han reconocido desde 1980. La frecuencia reportada en la literatura de co expresión de antígenos mieloides asociados es de 3.5 – 30%. Inicialmente esto fue asociado con pronóstico desfavorable pero actualmente el valor pronóstico de la coexpresión es controvertido. (3)(5)

Por lo tanto la leucemia linfoblástica aguda pertenece a un amplio grupo de enfermedades con curso clínico variable y diversidad biológica y fenotípica de las células neoplásicas. (5)

Sobre los pasados 20 años, se han estado identificando factores pronósticos de esta entidad. Para ello se han tomado en cuenta pruebas como: morfología celular, tinciones citoquímicas, inmunofenotipo, citogenética y estudios moleculares. (5)(tabla 2)

Históricamente los datos pronósticos fueron obtenidos del examen físico rutinario, descripción de la bioquímica sérica, morfología de la médula ósea y conteo de la sangre periférica. Más recientemente la información obtenida del cariotipo, genética molecular e inmunofenotipo han contribuido a la comprensión de esta compleja enfermedad y su tratamiento. (2)

Actualmente un número de características clínicas y de laboratorio influyen en la respuesta al tratamiento y la sobrevida de pacientes con LLA. Los factores pronósticos son importantes en la elección de la terapia y evaluación de la respuesta a los tratamientos administrados. Los factores pronósticos más importantes son: edad, cuenta de leucocitos al diagnóstico, tiempo en alcanzar la remisión completa, anormalidades citogenéticas o moleculares, subtipo inmunológico y recientemente el estudio de enfermedad mínima residual. (14)

La Leucemia Linfoblástica Aguda en la infancia se asocia con factores desfavorables como son la hiperleucocitosis, hepatoesplenomegalia y enfermedad en el Sistema Nervioso Central, los blastos tienen habitualmente CD10 de débil expresión y frecuentemente coexpresan antígenos mieloides y linfoides. (15)

Estos factores son interrelacionados haciendo difícil de identificar los factores pronósticos aislados. (15)

Cuadro 2. FACTORES PRONOSTICOS DE LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA
 Tomado de **Hematología clínica**.
 Quinta edición; J.Sans-sabrafen.

Factores pronósticos	Favorable	Desfavorable
Edad	16-30 años	>30 años
Leucocitos	<25 000/L	≥ 25 000
Inmunofenotipo	T madura B madura	
Citogenética		t. (9:22)ó BCR-ABL t. (4:11)ó ALL/AF4
Blastos en MO el día 14 del tratamiento	<5%	>25%
Remisión completa en 4-5 semanas	Si	No

En los niños que reciben tratamiento con quimioterapia el rango de cura excede al 70%, pero los infantes menores de 12 meses de edad continúan con una sobrevida libre de eventos baja, estos infantes comprometen del 2% – 5 % de los casos de la Leucemia Linfoblástica Aguda de los niños. (15)

Así mismo el pronostico en los adultos es pobre con rangos de sobrevida a 5 años del 20 al 40%, estos resultados han permitido el desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento adaptadas al riesgo, basadas en los factores pronósticos definidos al diagnóstico y de acuerdo a la respuesta al tratamiento. (16)

A esto el trasplante de médula ósea autólogo o alógeno se ha introducido como tratamiento posremisión en subgrupos de Leucemia Linfoblástica Aguda con alto riesgo de recaída, pero así mismo este procedimiento ha incrementado la toxicidad relacionada al tratamiento de 5 – 10 % en quimioterapia intensa a 20-40% después del trasplante. (16)

En el tratamiento de la Leucemia Linfoblástica Aguda dos fases pueden ser consideradas: Inducción y consolidación. La inducción es la principal fase del tratamiento de la Leucemia Linfoblástica Aguda, las muertes que ocurren en esta etapa resultan principalmente de intolerancia del paciente al tratamiento. (16)

Con respecto a la consolidación el mayor objetivo es incrementar la proporción eficacia/toxicidad y su mayor complicación es la recaída. (16)

Los esquemas actuales de Quimioterapia intensa han mejorado el pronóstico de pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda del Adulto, logrando rangos de respuesta completa en mas de 80% de los casos y la sobrevida a largo plazo tiene un rango de 30 – 45%. (17)

Inducción de tratamiento en riesgo estándar para LLA incluye prednisona, vincristina, antracíclico (frecuentemente Daunorubicina) y L-asparaginasa. (4)

Un estudio clínico, aleatorizado, fue realizado en Japón en 1994, empleando quimioterapia combinada a base de doxorubicina, vincristina y prednisolona con o sin L-asparaginasa. Se obtuvieron rangos de remisión completa de 63.1% con el esquema sin L-asparaginasa comparado con 64.6% en el grupo con L-Asparaginasa. El tiempo de sobrevida media libre de enfermedad y la sobrevida a 7 años fue de 13.5 meses y 23.8% en el esquema sin L – asparaginasa comparado con 17 meses y 30.6% en el esquema con L – asparaginasa, lo cual no mostró significancia estadística. ($p = 0.1$). (17)

Se observaron mayor número de efectos adversos en el esquema con L-asparaginasa como son: pancreatitis, hiperbilirrubinemia, diabetes mellitus e hipofibrinogenemia pero sin significancia estadística. (17)

En el análisis del esquema original HIPER-CVAD (hyperfractionated cyclophosphamide, vincristine, doxorubicin, and dexamethasone) a 63 meses, en el que el régimen comprende 2 fases, fase de dosis intensiva que incluye 4 ciclos (1, 3, 5, y 7) alternando con altas dosis de metotrexate y arabinosido de citosina con 4 ciclos (2,4,6 y 8) como quimioterapia sistémica. En aquellos pacientes con alto riesgo para Infiltración del Sistema Nervioso Central recibieron 16 tratamientos intratecales (12 mg de metotrexate y 100 mg de Ara C) y aquellos pacientes con bajo riesgo recibieron solo 4 tratamientos intratecales. El estudio evaluó 288 pacientes con una media de edad de 40 años, obteniendo rangos de remisión completa de 92%, con un tiempo medio para obtenerla de 22 días y con una incidencia de muerte en la inducción de 5%. El periodo de sobrevida media fue de 32 meses con un rango de sobrevida y de remisión completa 5 años de 38%. Para los pacientes con cromosoma Filadelfia se otorgo Hyper-CVAD mas Imatinib en el que el rango de remisión completa es del 100% y la sobrevida estimada a 2 años fue del 85%. (18)

Investigaciones actuales y futuras deben enfocarse en mejorar los resultados en pacientes adultos con Leucemia Linfoblástica Aguda, por lo cual se esta llevando a cabo programas más intensivos, como el Transplante de Médula Ósea durante la primera remisión completa en pacientes elegibles, combinación de quimioterapia con Imatinib en pacientes con LLA Filadelfia positivo e

incorporación de terapias con anticuerpos monoclonales en pacientes cuya células leucémicas expresan el blanco molecular (Rituximab si es CD20 positivo, Alemtuzumab si es CD52 positivo y Gemtuzumab si es CD33 positivo) con el fin prolongar la remisión completa y mejorar rangos de sobrevida. (18)

Para analizar la respuesta al tratamiento se emplea actualmente el estudio de la Enfermedad Mínima Residual a través de la realización de citometría de flujo y/o reacción en cadena de la polimerasa. La detección de Enfermedad Mínima Residual por Citometría de Flujo esta basada en la identificación de marcadores celulares (inmunofenotipo) asociados a Leucemia, que no son expresados en células normales de médula ósea ó de sangre periférica. Con este método se puede identificar un blasto en 10,000 células normales teniendo una sensibilidad de 10^4 . Por definición se considera Enfermedad Mínima Residual positiva cuando se detecta al menos 10/100, 000 células en un inmunofenotipo asociado a Leucemia.(19)

Por lo tanto actualmente el inmunofenotipo además de ser indispensable para el diagnóstico del subtipo de Leucemia Linfoblástica Aguda, se esta convirtiendo en un arma importante para la evaluación de la respuesta al tratamiento, el seguimiento de la enfermedad y la detección temprana de recaídas.

JUSTIFICACIÓN

La Leucemia Linfoblástica Aguda es una enfermedad maligna caracterizada por la acumulación de linfoblastos en la médula ósea reemplazando la hematopoyesis normal. Antes de la era de quimioterapia moderna fue considerada una enfermedad fatal con una sobrevida máxima de 2 –3 meses. Actualmente dos tercios de la población infantil y aproximadamente un tercio de la población adulta con éste desórden pueden ser curados con quimioterapia.

Factores pronósticos permiten que los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda puedan ser estratificados en bajo y alto riesgo, lo cual es necesario para el reconocimiento de pacientes que requieren quimioterapia más intensa o transplante de médula ósea como terapia curativa durante la primera remisión completa.

Se ha determinado que la diferencia en resultados con respecto al tratamiento entre niños y adultos es la presencia de subtipos asociados con pronóstico adverso, dentro de los cuales se encuentra predominio de subtipos inmaduros Pro B ó Pre B así como la adquisición de marcadores moleculares adversos. Estudios que permitan detectar la presencia de factores de riesgo en pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda permitirán tratamientos oportunos para mejorar la sobrevida global de los pacientes.

Este estudio permitirá correlacionar el subtipo de la leucemia linfoblástica aguda con la evolución clínica del paciente, así como determinar si la expresión aberrante de los antígenos mieloides es un factor que se relaciona con el pronóstico.

OBJETIVOS

GENERAL

- Determinar la frecuencia de distribución de los subtipos de Leucemia Linfoblástica Aguda en el adulto.
- Determinar si el subtipo de Leucemia Linfoblástica Aguda en el adulto es un factor pronóstico.
- Determinar si la coexpresión de antígenos mieloides en pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda confiere pronóstico adverso.

ESPECIFICO

- Evaluar remisión completa, en cada subtipo de Leucemia Linfoblástica Aguda en el Adulto con y sin expresión de antígenos mieloides.
- Evaluar recaída, en cada subtipo de Leucemia Linfoblástica Aguda en el adulto con y sin expresión de antígenos mieloides.
- Evaluar mortalidad, en cada subtipo de Leucemia Linfoblástica Aguda en el Adulto con y sin expresión de antígenos mieloides.
- Evaluar sobrevida, en cada subtipo de Leucemia Linfoblástica Aguda en el Adulto con y sin expresión de antígenos mieloides.

HIPÓTESIS GENERAL

El inmunofenotipo tiene importancia para detectar subtipos de LLA de pronóstico desfavorable.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio comparativo en una cohorte retrospectiva

CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO

Retrospectivo

Transversal

Analítico

UNIVERSO DE TRABAJO

Pacientes con Leucemia linfoblástica aguda mayores de 16 años y menores de 60 años al diagnóstico inicial, en el período comprendido entre el 1 de enero del año 2005 y 31 de diciembre del año 2005 en el Servicio de Hematología del Hospital de Especialidades “Bernardo Sepúlveda” del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Se incluyeron a pacientes con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda de Novo en el año 2005 a los que se les realizó Inmunofenotipo por citometría de flujo, así mismo con la realización de paraclínicos adjuntos para determinar afección orgánica extramedular.

MÉTODOS

INMUNOFENOTIPO

Se realiza de muestra de médula ósea o sangre periférica, en el que se cuenta la cantidad de leucocitos totales en la muestra a procesar, colocando en tubos para citómetro de flujo de 250,000 a 500,000 células, posteriormente se adiciona de 5 – 10 ml de anticuerpo monoclonal específico para obtener la tinción.

Medición de fluorescencia que consiste en la tinción de las células blásticas por un grupo de anticuerpos monoclonales necesarios para diagnosticar los subtipos de Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) y el grupo de Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA). Dentro de esta lista de anticuerpos tenemos: para células B: CD10, CD19, CD20, CD21, CD22; para células T: CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8 y para serie mieloide: CD11b, CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD117 para inmadurez CD38, TdT y CD34, anticuerpos adicionales CD45 activado por citometría de flujo.

Para realizar el marcaje se utilizan tres colores por lo cual se emplean tres anticuerpos marcados con fluorocromos diferentes [FITC (fluorescein isothiocyanate), PCP (peridin-chlorophyll-protein) , PE (phycoerythrin)] dentro de esta combinación siempre se tiene que incluir el CD45 para poder seleccionar la región de blastos.

Los criterios de marcador de superficie positivo y/o la coexpresión de un antígeno fue la detección de este en por lo menos el 20% de la población blástica.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes mayores de 16 años y menores de 60 años.
- Diagnóstico de LLA por morfología e inmunofenotipo.

CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN

- Pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda con diagnóstico y tratamiento previo.
- Pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda secundario a Síndrome Mieloproliferativo.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Abandono al tratamiento.
- Toxicidad grave a quimioterapia, considerando que no puedan continuar con esquema de quimioterapia asignado.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

El grupo de estudio está conformado por un total de 33 pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda del Adulto de novo diagnosticados en el año 2005 que reciban atención en el Hospital de Especialidades “Bernardo Sepúlveda” del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico será ejecutado con datos de: clasificación de LLA por inmunofenotipo, y su correlación con la evolución clínica por edad, sexo, cuenta de leucocitos al diagnóstico, presencia o ausencia de infiltración extramedular, presencia o ausencia de marcadores mieloides en inmunofenotipo original, citogenética y tiempo en alcanzar la remisión completa.

Se analizaron los resultados mediante pruebas de correlación de Pearson y de correlación paramétrica de Spearman's, los cuales se consideraron como estadísticamente significativas con un valor de resultado de p menor de 0.5. analizándose los resultados en el programa computacional SPSS 12.0

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio es unicamente observacional y descriptivo, verificándose la evolución en base a la revisión de expedientes, no se modificó en ningún momento el tratamiento del paciente en este trabajo, por lo que no consideramos algún problema ético. Asi mismo el protocolo se sometio para su aprobación al Comité de Investigación del Hospital de Especialidades "Bernardo Sepúlveda" del Centro Medico Nacional Siglo XXI.

VARIABLES

VARIABLES INDEPENDIENTES

Inmunofenotipo

- Definición conceptual: Determinación de los marcadores antigénicos presentes en la población blástica mediante inmunofluorescencia.
- Medición: Positivo o negativo
- Tipo: Cuantitativo
- Definición operacional: Positivo si el valor del marcador de membrana fue igual o mayor del 20% de la población leucémica determinado por citometría de flujo y negativo si era menor de 20%

VARIABLE DEPENDIENTES

Remisión completa

- Definición conceptual: Resultado del primer tratamiento otorgado.
- Medición: Remisión completa y sin remisión.
- Tipo: Cualitativo
- Definición operacional: Remisión completa: cuenta de blastos en la médula osea menor de 5%, celularidad del 20%, neutrófilos mayores de $1500/\text{mm}^3$, plaquetas mayores de $100000/\text{mm}^3$ después de un ciclo de quimioterapia.
Sin remisión: Ausencia de remisión completa después de un ciclo de quimioterapia

Recaída

- Definición conceptual: Tiempo obtenido desde la documentación de remisión completa hasta la presencia de células leucémicas en médula ósea o en sitios extramedulares.
- Medición: Positivo ó negativo
- Tipo: Cualitativo
- Definición operacional: Presencia de células leucemicas (blastos) en Médula osea $\geq 5\%$ ó en sitios extramedulares (Sistema Nervioso Central, Testículo, Piel)

Mortalidad

- Definición conceptual: Tiempo obtenido desde el diagnóstico de Leucemia Linfoblastica Aguda hasta la defunción del paciente.
- Medición: Causa (actividad tumoral u otras causas)
- Tipo: Cualitativo
- Definición operacional: Defunción inherente a la actividad tumoral de la enfermedad per se o por comorbilidad asociada al paciente y/o tratamiento otorgado.

Supervivencia global.

- Definición conceptual: Tiempo transcurrido desde el diagnóstico de leucemia aguda hasta la defunción o término del estudio.
- Medición: En meses
- Tipo: Cualitativo
- Definición operacional: Se registró los meses por cada paciente hasta su defunción o hasta la fecha de corte del presente estudio.

OTRAS VARIABLES

Edad

- Definición conceptual: Tiempo transcurrido desde el nacimiento de un individuo.
- Medición: En años.
- Tipo: Cuantitativo
- Definición operacional: Se consideró adulto cuando la edad era igual o mayor a 16 años.

Sexo

- Definición conceptual: Género biológico de los diferentes estados sexuales
- Medición : Masculino y Femenino
- Tipo: Cualitativo
- Definición operacional: Masculino y Femenino

Enzima deshidrogenasa láctica (DHL)

- Definición conceptual: Enzima sérica encargada de la deshidrogenación del ácido láctico.
- Medición: Unidades/litro (U/L)
- Tipo: Cuantitativo
- Definición operacional: Se dividió en dos categorías: normal (240 a 400 U/L) o incrementada (mayor de 400 U/L)

Leucocitos al diagnóstico

- Definición conceptual: Componente hemático cuya función es la defensa contra la infección y el daño tisular.
- Medición: Cantidad por microlitro de sangre
- Tipo: Cuantitativo
- Definición operacional: Se dividió en 2 grupos : menor de 30 000, y mayor de 30 000 leucocitos/microlitro

Infiltración extramedular

- Definición conceptual: Presencia de células leucémicas fuera de la médula ósea.
- Medición: Positivo o negativo
- Tipo: Cualitativo
- Definición operacional: Positivo si existía presencia de adenopatias, hepatomegalia, esplenomegalia y/o la presencia de blastos en líquido cefaloraquídeo u otro sitio extramedular (piel ó testículo)

Negativo si no existe la presencia de adenopatias, hepatomegalia, esplenomegalia y/o presencia de blastos en líquido cefaloraquídeo u otro sitio extramedular

Cariotipo

- Definición conceptual: Es el estudio de los cromosomas de una célula metafásica, mediante el cual se pueden analizar anomalías numéricas y estructurales.
- Medición: Alteraciones numéricas y estructurales.
- Tipo: Cualitativo
- Definición operacional: Se describieron mal pronóstico [t (9:22), t (4:11), complejo], buen pronóstico [cariotipo normal, hiperdiploidias (más de 50 cromosomas)]

Biología Molecular

- Definición conceptual: Técnica de laboratorio que amplifica una pieza definida de una molécula de RNA (en este caso BCR-ABL)
- Medición: Positivo o Negativo
- Tipo: Cualitativo
- Definición operacional: Se determinó la presencia o ausencia del rearrreglo BCR/ABL.

FACTIBILIDAD DEL ESTUDIO

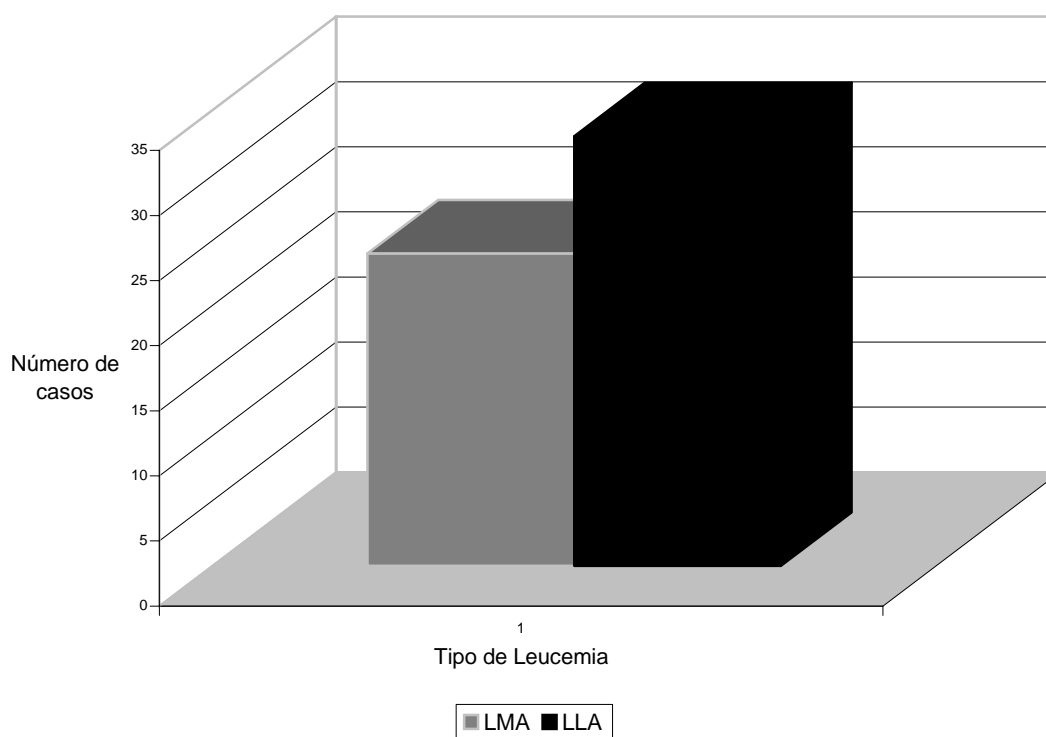
El estudio se realizó de acuerdo al cronograma de actividades en pacientes con diagnóstico de LLA morfológico a los que se realizó el estudio de inmunofenotipo por citometría de flujo, el cual se llevó a cabo por un grupo interdisciplinario que incluyó al Departamento de hematología, Departamento de radiodiagnóstico y químicos y técnicos del Departamento de Laboratorio del Hospital Especialidades “Bernardo Sepulveda” del CMN Siglo XXI.

El diagnóstico de LLA se llevó a cabo por el grupo médico de Hematología de este hospital. La realización del estudio de inmunofenotipo por citometría de flujo se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación de Hematología de este mismo centro hospitalario, por el personal adscrito.

Los estudios de ultrasonografía fueron realizados por parte del servicio de radiodiagnóstico como parte de los estudios de extensión básicos para pacientes con enfermedad hematológica

RESULTADOS

De Enero a Diciembre del 2005 en el Servicio de Hematología del Hospital de Especialidades “Bernardo Sepulveda” se diagnosticaron un total de 57 Leucemias Agudas en pacientes de 16-50 años.



LMA : Leucemia Mieloblastica Aguda
LLA: Leucemia Linfoblástica Aguda

Grafica 1. Distribución de Leucemias Agudas del Adulto en el año 2005 en el Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI.

De los 57 pacientes estudiados, 24 (42.1%) tuvieron el diagnostico de Leucemia Mieloide Aguda y 33 (57.89%) correspondieron a Leucemia Linfoblástica Aguda. (Grafica 1).

Tabla 1. Características del grupo de estudio.

Características	No.	%
Sexo		
○ Femenino	16	48.4
○ Masculino	17	51.5
Edad*		
○ < 30 años	10	30.3
○ ≥ 30 años	23	69.6
Infiltración extramedular		
○ Esplenomegalia	15	45.4
○ Hepatomegalia	8	24.2
○ Linfadenopatía	15	45.4
○ Infiltración SNC al diagnóstico	6	18.1
Cuenta de Leucocitos		
○ > 25 000- x 10 ⁹	18	54.5
Cuenta de plaquetas		
○ < 100, 000 x 10 ⁹	29	87.8
Nivel de Hb		
○ < 10 g/dL	24	72.7
DHL		
○ >400 u/L	31	93.9
Cariotipo		
○ No realizado	18	54.5
○ Buen pronóstico	10	30.3
○ Mal pronóstico	5	15.1
BCR-ABL		
○ No realizado	10	30.3
○ Positivo	5	15.1
Clasificación de la FAB		
○ L1	1	3
○ L2	31	93.9
○ L3	1	3
Inmunofenotipo		
○ T	2	6
○ B Madura	1	3
○ Pre B	8	24.2
○ Pre B Temprana	21	63.6
○ Pro B	1	3
Marcadores Mieloides		
○ Negativos	11	33.3
○ Positivos	22	66.6
○ CD11b	13	41.9
○ CD13	8	25.8
○ CD15	4	12.9
○ CD117	1	3.2
Estratificación de riesgo		
○ Bajo	0	0
○ Alto	27	81.8
○ Muy alto	6	18.1
MO posterior a IR		
○ No realizada	9	27.2
○ Refractarios	6	25
○ RC	18	75
Recaida	12	66.6.
Mortalidad		
○ 1-2meses	8	24.2
○ > 2 meses	16	4.4
○ Vivos	7	22.5

Abreviaciones: FAB, Franco – Americano – Británico. SNC, Sistema Nervioso Central, DHL, Deshidrogenasa Láctica, IR, Inducción a la remisión, RC, Remisión completa.

* Edad media 38.4 años

EDAD

Tabla 2. Casos por edad y sexo.

		Sexo	
		F	M
Edad	17.00	1	0
	19.00	1	0
	20.00	0	1
	21.00	0	1
	22.00	0	3
	<u>23.00</u>	<u>0</u>	<u>1</u>
	26.00	0	1
	28.00	1	0
	30.00	1	1
	31.00	0	1
	36.00	1	1
	39.00	1	0
	43.00	0	2
	44.00	1	1
	46.00	2	0
	47.00	1	1
	48.00	1	0
	49.00	0	1
	50.00	1	0
	52.00	1	0
	54.00	1	0
	56.00	1	1
	59.00	1	1

De los 33 casos de Leucemia Linfoblástica aguda se encontraron rangos de edad de 17 años como mínima hasta de 59 años como edad máxima, con una media de edad de 38.4 años, teniendo el pico de incidencia mayor a los 22 años con 3 casos (9%). (Tabla 2)

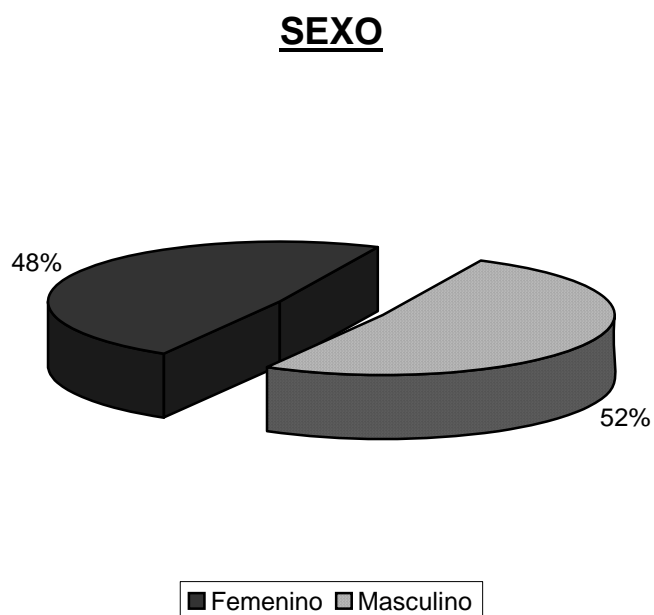


Figura 1. Incidencia por sexo.

De los 33 casos en estudio 16 casos (48%) fueron del sexo femenino con una media de edad de 42 años y 17 casos (51%) del sexo masculino, con una media de edad de 35 años. (Figura 1)

CLASIFICACION INMUNOFENOTIPO

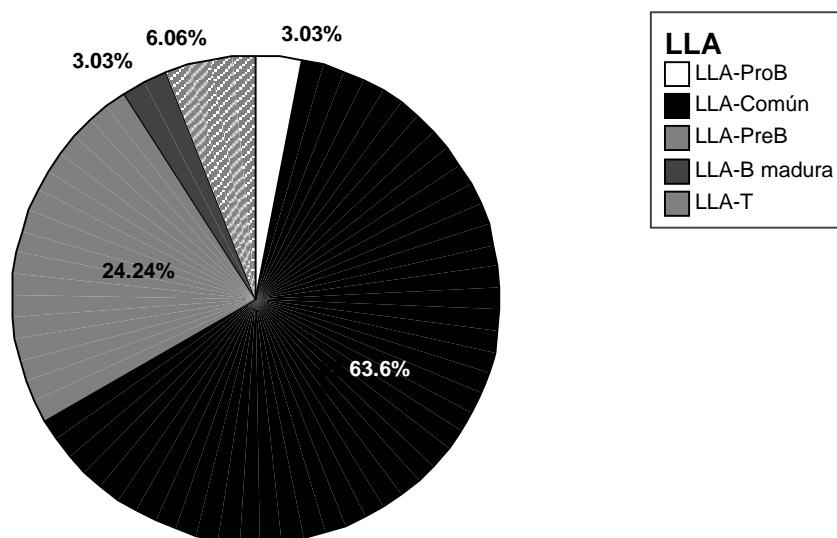


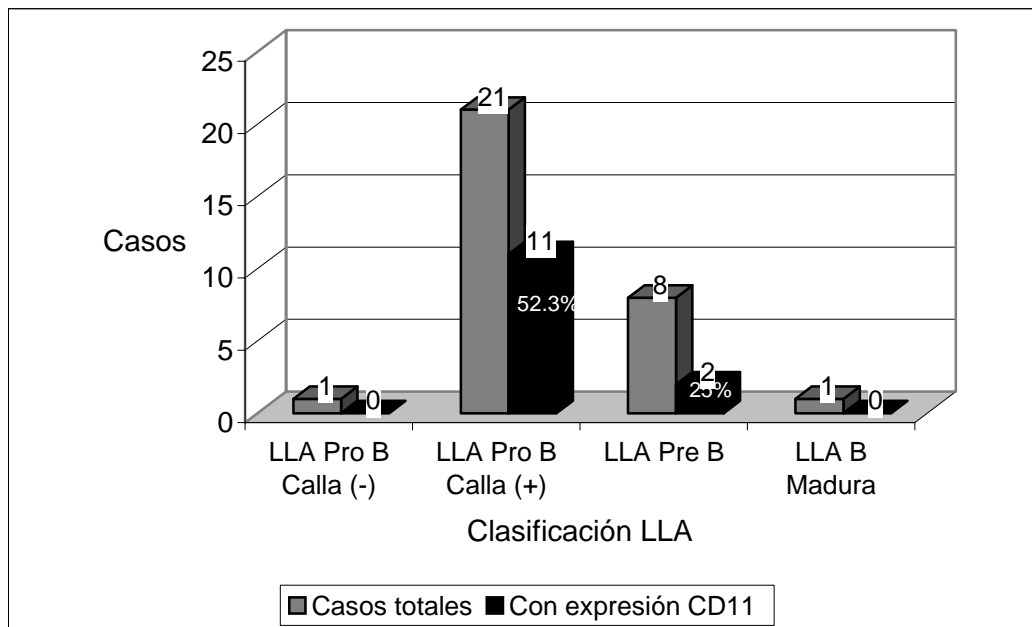
Figura 2.- Incidencia de subtipos de Leucemia Linfoblástica en Adultos.

De los 33 casos en estudio se detectaron 31 casos (93.9%) para Leucemia Linfoblástica de estirpe B y 2 casos (6.06%) para Leucemia Linfoblástica de estirpe T. En los subtipos de Leucemia Linfoblástica de estirpe B se detectó: 1 caso (3.03%) para LLA pro B, 21 casos (63.6%) para LLA Pro B (Común), 8 casos (24.2%) para LLA Pre B, y 1 caso (3.03%) para LLA B madura. (Figura 2, Tabla 3)

Tabla 3. Frecuencia de subtipos de LLA.

LLA Pro B CALLA(-)	LLA Pro B (Común) CALLA(+)	LLA Pre B	LL B Madura	LLA T
1	21	8	1	2
3.03%	63.6%	24.2%	3.03%	6.06%

LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA B
EXPRESIÓN CD11b



Grafica 2. Frecuencia de expresión de CD11b en LLA B de acuerdo al subtipo.

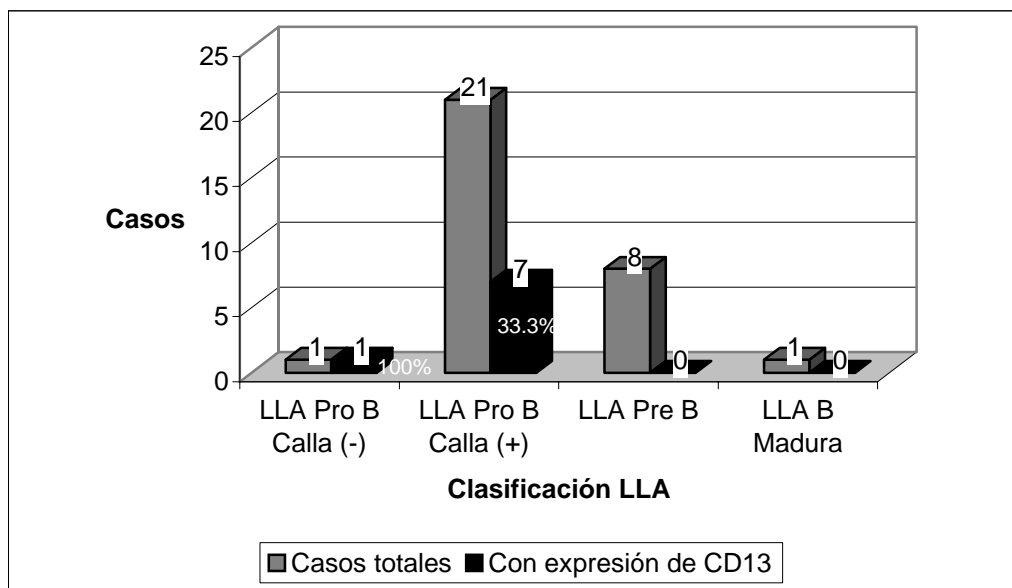
Se encontró expresión de CD11b en 13 pacientes (41.9%) del total de casos de LLA B, la mayoría en el subtipo LLA Pro B (Común) con 11 casos (35.4%) y los otros 2 casos (6.45%) en LLA Pre B. (Grafica 2, Tabla 4)

Tabla 4. Frecuencia de expresión de CD11b en LLA B del adulto.

Subtipos LLA B	No. Casos	Frecuencia expresión CD11b	%
LLA Pro B	11	0	0
LLA Pro B Calla (+)	21	11	52.3
LLA Pre B	8	2	25
LLA B Madura	1	0	0
Total Casos B	31	13	41.9

LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B

EXPRESIÓN CD13



Grafica 3. Frecuencia de expresión de CD 13 en LLA B de acuerdo al subtipo.

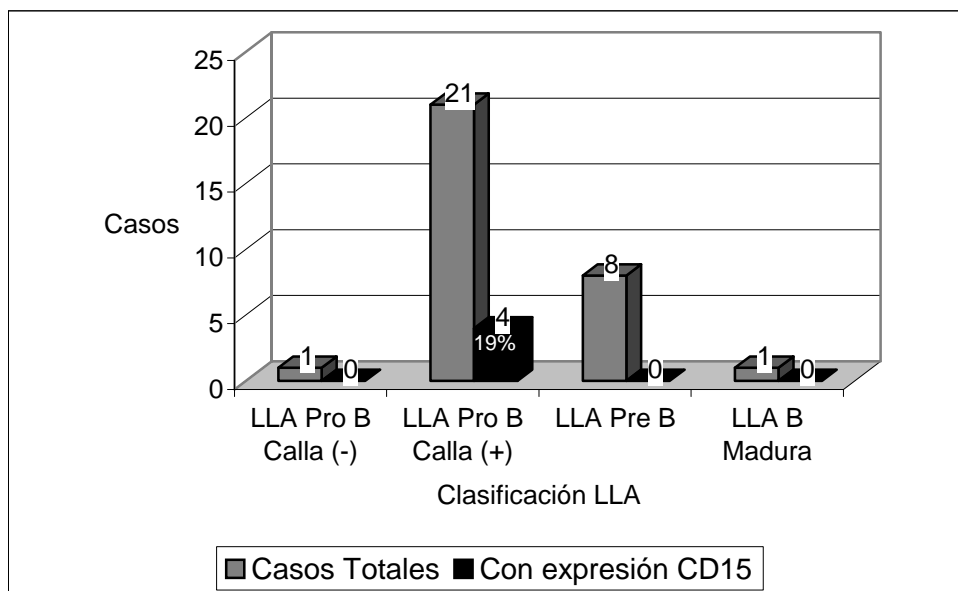
Se encontró una expresión de CD13 en 8 casos (25.8 %) del total de pacientes con LLA B. Un caso (3.2%) de LLA Pro B (cALLa negativo), y se observó expresión predominante en LLA Pro B (Común) con 7 casos (22.58%). (Grafica 3, Tabla 5).

Tabla 5. Frecuencia de expresión de CD13 en LLA B del adulto.

Subtipos LLA B	No. Casos	Frecuencia expresión CD13	%
LLA Pro B	11	1	100
LLA Pro B Calla (+)	21	7	33.3
LLA Pre B	8	0	0
LLA B Madura	1	0	0
Total Casos B	31	8	25.8

LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B

EXPRESIÓN CD15



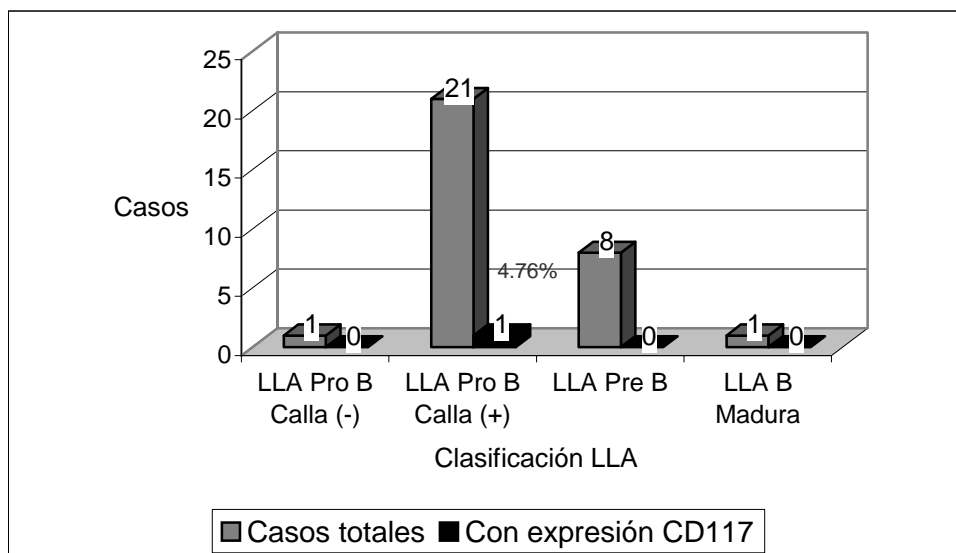
Grafica 4. Frecuencia de expresión de CD15 en LLA B de acuerdo al subtipo.

Se encontró expresión de CD15 en 4 casos (12.9 %) del total de pacientes con LLA B y todos fueron en el subtipo de LLA Pro B (Común) (19%). (Grafica 4, Tabla 6)

Tabla 6. Frecuencia de expresión de CD15 en LLA B del adulto.

Subtipos LLA B	No. Casos	Frecuencia expresión CD15	%
LLA Pro B	11	0	0
LLA Pro B Calla (+)	21	4	19
LLA Pre B	8	0	0
LLA B Madura	1	0	0
Total Casos B	31	4	12.9

LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B
EXPRESIÓN CD117



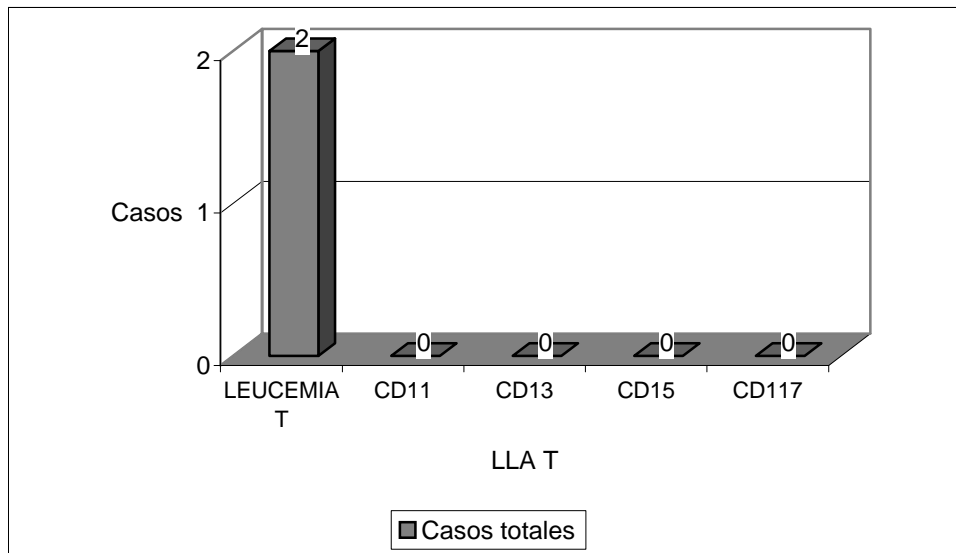
Grafica 5 . Frecuencia de expresión de CD117 en LLA B de acuerdo al subtipo.

Se encontró expresión de CD117 en un solo caso (3.22%) del total de pacientes con LLA B y este fue en el subtipo LLA Pro B (Común) . (Grafica 5, Tabla 7)

Tabla 7. Frecuencia de expresión de CD117 en LLA B del adulto.

Subtipos LLA B	No. Casos	Frecuencia expresión CD117	%
LLA Pro B	11	0	0
LLA Pro B Calla (+)	21	1	4.7
LLA Pre B	8	0	0
LLA B Madura	1	0	0
Total Casos B	31	1	3.2

LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA T

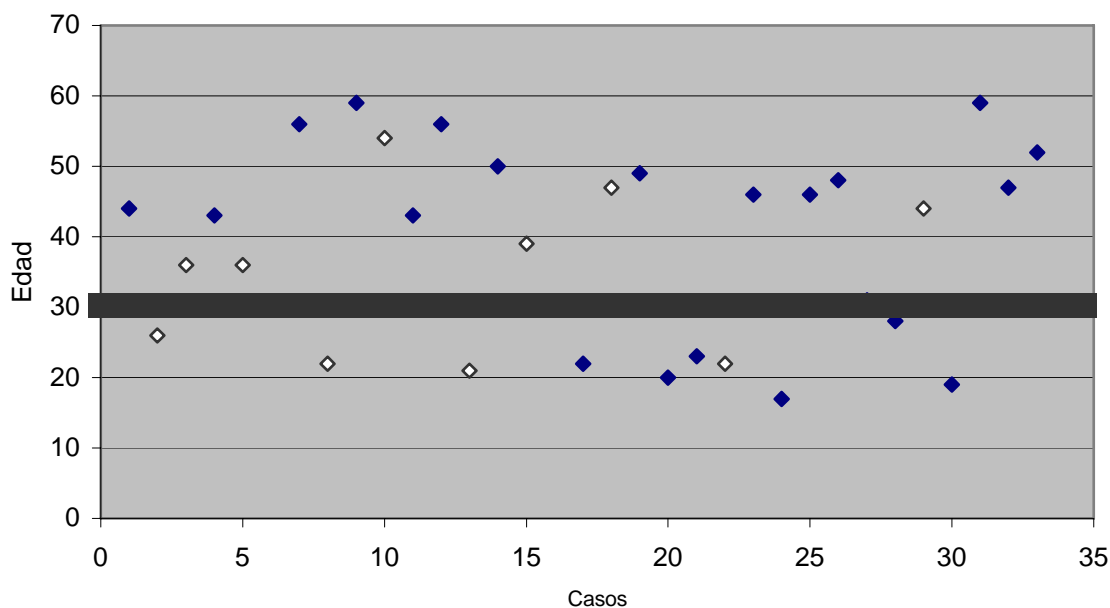


Grafica 6. Frecuencia de expresión de CD11b, CD13, CD15 y CD 117 en LLA T .

En los 2 casos de LLA T no se detectó ninguna coexpresión de marcadores mieloides .(Grafica 6)

CORRELACIÓN CON OTRAS VARIABLES

EDAD



Grafica 7. Distribución de pacientes con LLA de acuerdo a la edad.

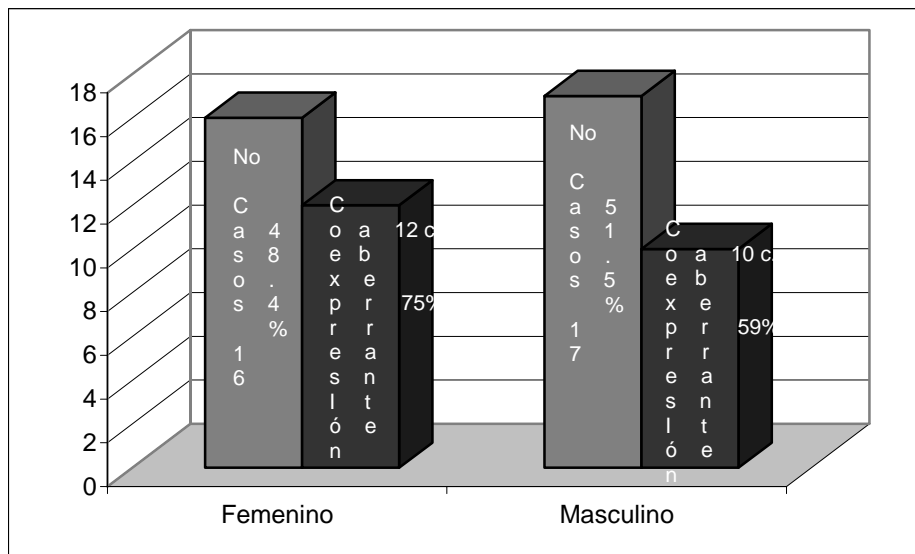
De los 33 casos en estudio, únicamente se detectaron 10 casos (30.3%) con edad menor a 30 años y 23 casos (69.6%) con edad superior a esta, la cual se considera como factor de mal pronóstico.

De los casos con coexpresión cabe denotar la presencia de CD13 exclusivamente en pacientes mayores de 30 años, el resto de las expresiones aberrantes sin predominio en este grupo etario. (Grafica 7, Tabla 8)

Tabla 8. Edad en años de pacientes con LLA con y sin expresión de marcadores mieloides.

Casos		< 30 años	≥ 30 años	Total
Sin Expresión	◇	4	7	11
Con expresión CD11b	◆	5	8	13
Con expresión CD13	◆	0	8	8
Con expresión CD15	◆	1	3	4
Con expresión CD117	◆	1	0	1
Casos totales		10	23	33

SEXO



Grafica 8. Pacientes con Leucemia Linfoblástica aguda de acuerdo a sexo.

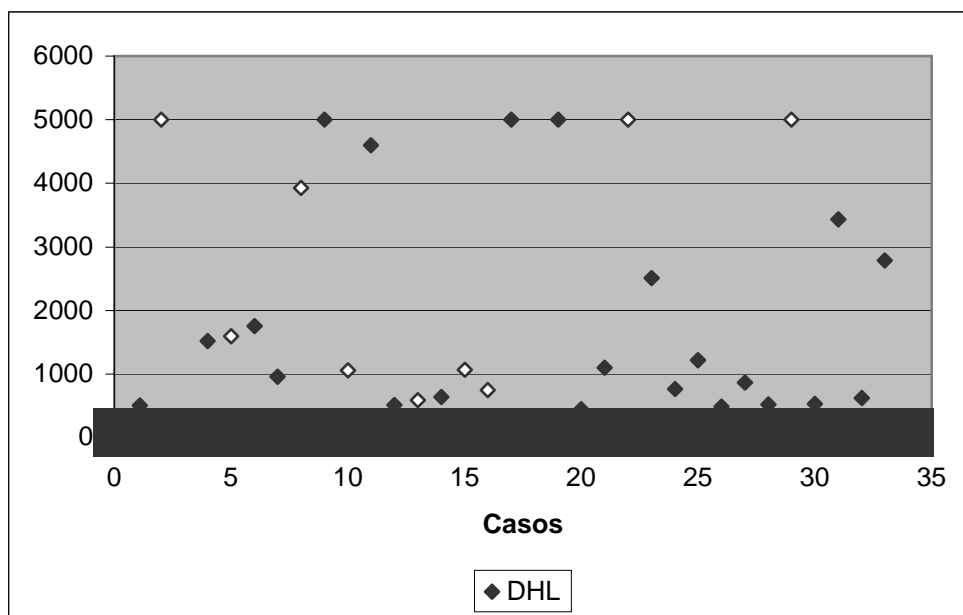
De los 33 casos en estudio, se detectaron 16 pacientes (48.4%) correspondientes al sexo femenino y 17 pacientes (51.5%) del sexo masculino. Se ha determinado que el sexo femenino es considerado de buen pronóstico en LLA principalmente en niños.

La coexpresión de CD11b en el sexo femenino se presentó en 61.5% del total de los casos que lo expresan y el CD13 en 62.5%. (Grafica 8, Tabla 9)

Tabla 9. Frecuencia por sexo de LLA con y sin expresión de marcadores mieloides.

Casos	Femenino	Masculino	Total
Sin Expresión \diamond	4	7	11
Con expresión CD11b \blacklozenge	8	5	13
Con expresión CD13 \blacklozenge	5	3	8
Con expresión CD15 \blacklozenge	1	3	4
Con expresión CD117 \blacklozenge	0	1	1
Casos totales	16	17	33

DHL



Valor normal
200-400 U/L

Gráfica 9. Distribución de pacientes con LLA de acuerdo a niveles de DHL

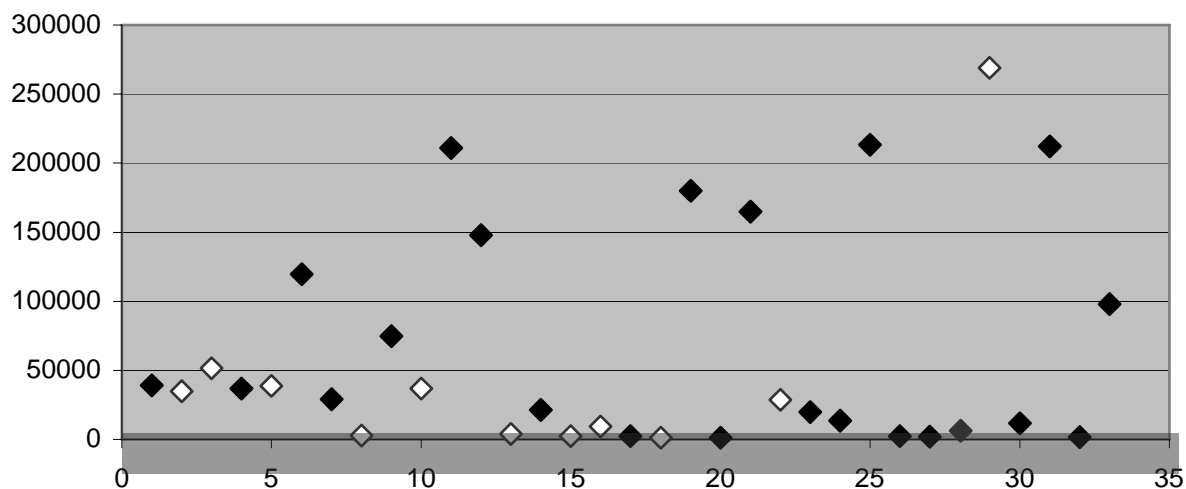
De los 33 casos en estudio, únicamente se detectaron 2 casos (6.06%) con niveles normales de DHL, por lo tanto 31 casos (91.3%) presentaron DHL incrementada como factor de mal pronóstico.

Los casos con DHL normal, no presentaron coexpresión de marcadores aberrantes. (Grafica 9, Tabla 10)

Tabla 10. Valor de DHL en pacientes con LLA con y sin expresión de marcadores mieloides.

Casos	DHL Normal	DHL Aumentada	Total
Sin Expresión 	2	9	11
Con expresión CD11b 	0	13	13
Con expresión CD13 	0	8	8
Con expresión CD15 	0	4	4
Con expresión CD117 	0	1	1
Casos totales	2	31	33

LEUCOCITOS



Grafica 10. Distribución de pacientes con LLA de acuerdo a la cifra de leucocitos al diagnóstico.

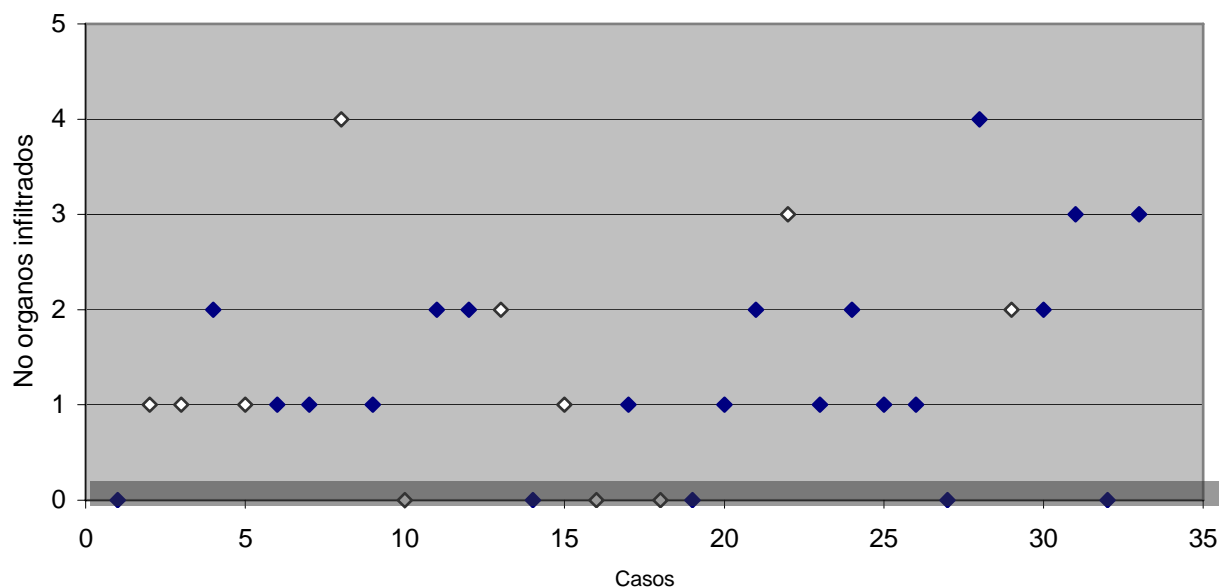
De los 33 casos en estudio, se detectaron 15 casos (45.45%) con cifra de leucocitos al diagnóstico menor de 25,000 y 18 casos (54.5%) con leucocitos superiores, misma que es considerada como factor de mal pronóstico.

Los casos con coexpresión no mostraron relación significativa con la cifra de leucocitos. (Grafica 10, Tabla 11)

Tabla 11. Cifra de leucocitos al diagnóstico de LLA con y sin expresión de marcadores mieloides.

Casos	Leucocitos al diagnóstico		Total
	< 25,000	≥ 25,000	
Sin Expresión \diamond	5	6	11
Con expresión CD11b \blacklozenge	6	7	13
Con expresión CD13 \blacklozenge	3	5	8
Con expresión CD15 \blacklozenge	2	2	4
Con expresión CD117 \blacklozenge	1	0	1
Casos totales	15	18	33

INFILTRACIÓN EXTRAMEDULAR



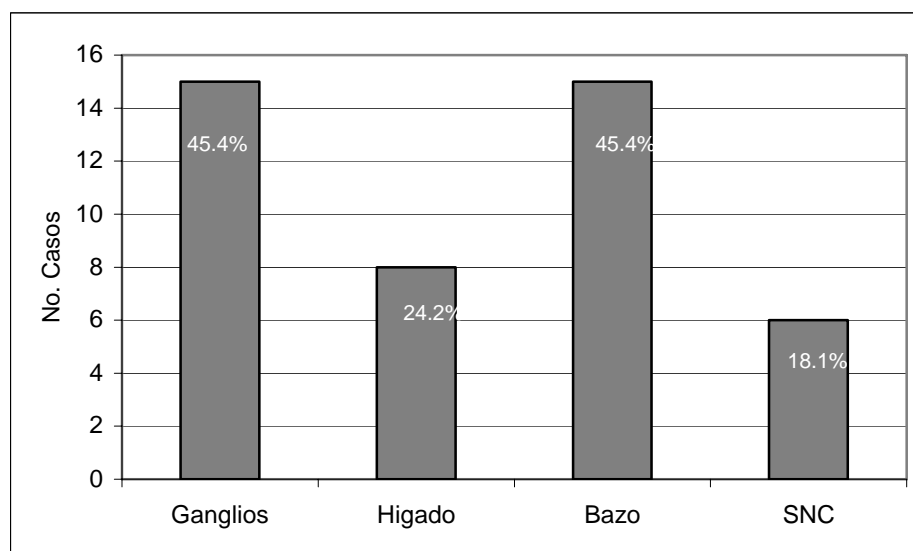
Grafica 11. Distribución de pacientes con LLA de acuerdo a la infiltración extramedular (Hígado, Bazo, Ganglios y Sistema Nervioso Central).

De los 33 casos en estudio, se detectaron 25 casos (75.75%) con infiltración extramedular, de los cuales 12 pacientes (36.36%) presentaron afección de un órgano, 8 pacientes (24.24%) dos órganos, 3 pacientes (9.09%) tres órganos y 2 pacientes (6.06%) cuatro órganos. (Grafica 11, Tabla 12)

Tabla 12. Frecuencia de infiltración extramedular en pacientes con diagnóstico de LLA con y sin expresión de marcadores mieloides.

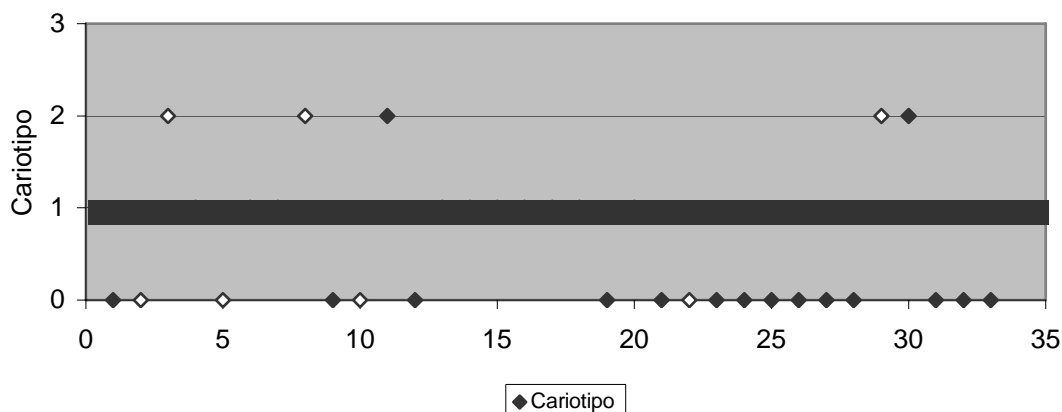
Casos	Total casos	Órganos extramedulares				Total Casos (+)
		Ganglios	Hígado	Bazo	LCR	
Sin expresión	11 ◇	6	2	5	2	8
Con expresión Cd11b	13 ◆	6	3	9	3	12
Con expresión CD13	8 ◆	3	3	3	0	5
Con expresión CD15	4 ◆	1	1	0	1	2
Con expresión CD117	1 ◆	0	0	0	0	0
Total casos	33	15	8	15	6	25

Los órganos con mayor incidencia de infiltración fueron ganglio y bazo, cada uno con 15 casos (45.45%) , seguido de hígado con 8 casos (24.24%) y al final Sistema Nervioso Central con 6 casos (18.18%), este último con mayor importancia porque amerita modificación del tratamiento estándar .
No se encontró relación entre infiltración extramedular y la presencia o no de coexpresión aberrante. (Grafica 12)



Grafica 12. Incidencia de infiltración a órganos extramedulares al diagnóstico en pacientes con LLA

CARIOTIPO



Gráfica 13. Distribución de pacientes con LLA de acuerdo al cariotipo inicial.

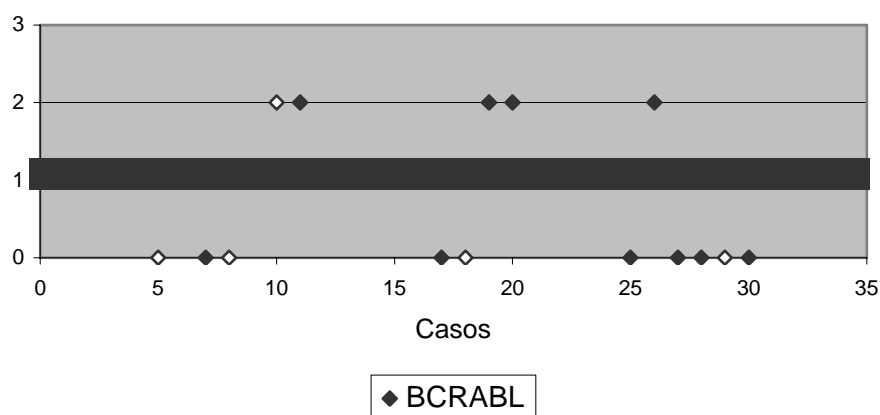
Valores asignados: 0 = sin cariotipo, 1= cariotipo de buen pronóstico (normal y/o hiperdiploidias de más de 50 cromosomas) y 2 = cariotipo de mal pronóstico [t(9:22), t(11:16), hipodiploidias y/o más de 3 alteraciones cromosómicas).

De los 33 pacientes, solo se documentó cariotipo al diagnóstico en 15 pacientes (45.45%) , de los cuales 10 cariotipos fueron de buen pronóstico (66.6%) y 5 de mal pronóstico (33.3%) . Los cariotipos de mal pronóstico por paciente fueron los siguientes: 1) hipodiploidias y trisomía del 8, 2) Del 11q23, 3) -5 parcial y t(9:22), 4) poliploidias en mas de 80 cromosomas y 5) trisomías inespecíficas en 10 células y t(11:16). No se encontró relación entre el cariotipo de mal pronóstico y la expresión aberrante de antígenos mieloides.(Gráfica 13, Tabla 13)

Tabla 13 Cariotipo al diagnóstico de LLA con y sin expresión de marcadores mieloides.

Casos	Cariotipo al diagnóstico			Total
	No realizado	Buen pronóstico	Mal pronóstico	
Sin Expresión \diamond	4	4	3	11
Con expresión CD11b \blacklozenge	7	5	1	13
Con expresión CD13 \blacklozenge	5	2	1	8
Con expresión CD15 \blacklozenge	3	1	0	4
Con expresión CD117 \blacklozenge	0	1	0	1
Casos totales	18	10	5	33

BIOLOGÍA MOLECULAR
DETECCIÓN DE BCR-ABL POR RT-PCR



Grafica 14. Distribución de pacientes con LLA de acuerdo a la búsqueda del rearrreglo génico BCR-ABL por RT-PCR.

Valores asignados: 0 = sin búsqueda del rearrreglo, 1= BCR-ABL Negativo 2 = BCR-ABL positivo.

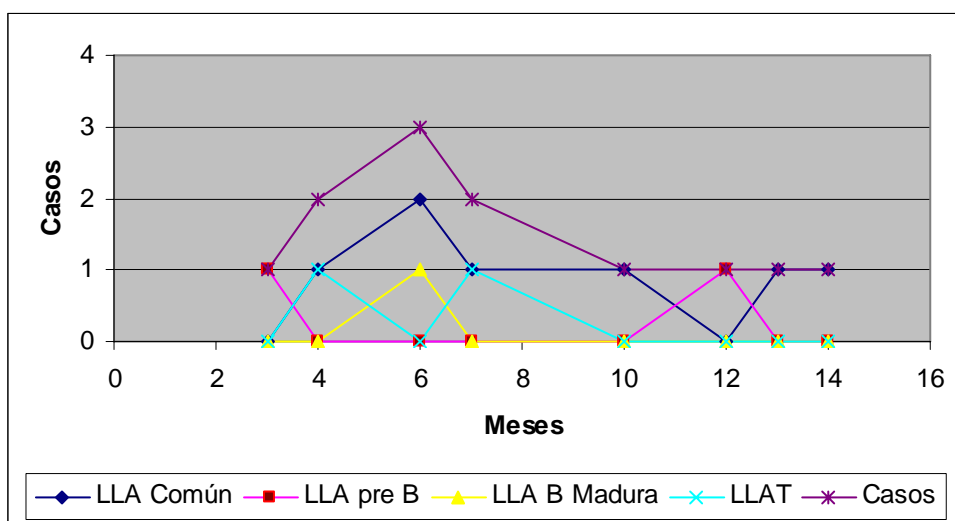
De los 33 casos en estudio, se realizó detección de rearrreglo BCR-ABL en 23 casos(69.6%). Se determinaron rearrreglos BCR-ABL (-) en 18 casos (78.2%) y rearrreglo BCR-ABL (+) en 5 casos (21.7%).

El rearrreglo BCR-ABL resulta de la fusión quimérica de la t(9:22) y en un solo paciente con rearrreglo BCR-ABL (+) se documento la presencia citogenética de dicha traslocación. (Grafica 14, Tabla 14)

Tabla 14. BCR-ABL al diagnostico de LLA con y sin expresión de marcadores mieloides.

Casos	Cariotipo al diagnostico			Total
	No realizado	BCR-ABL (negativo)	BCR-ABL (positivo)	
Sin Expresión \diamond	4	6	1	11
Con expresión CD11b \blacklozenge	5	7	1	13
Con expresión CD13 \blacklozenge	0	6	2	8
Con expresión CD15 \blacklozenge	1	2	1	4
Con expresión CD117 \blacklozenge	1	0	0	1
Casos totales	10	18	5	33

RECAIDA



Grafica 15. Incidencia de recaída en subtipos de LLA .

De los 33 casos del estudio en 9 pacientes (27.27%) no se documentó la remisión completa de la Leucemia Linfoblástica Aguda por defunción temprana en 8 casos y en 1 caso por alta voluntaria. De los restantes 24 pacientes, se observó refractariedad primaria en 6 casos (25%) y en 18 casos se documentó remisión completa posterior a la quimioterapia de inducción.

Se presentó recaída en 12 casos (66.6%) de los 18 casos en los que se demostró RC, de los cuales 10 (83.3%) fueron a médula ósea y a sistema nervioso central en 2 casos (16.6%), se observó un pico de mayor incidencia a los 6 meses de haber documentado la remisión completa de la Leucemia Linfoblástica Aguda. A los 7 meses ya habían recaído 8 pacientes (66%). (Grafica 15, Tabla 15)

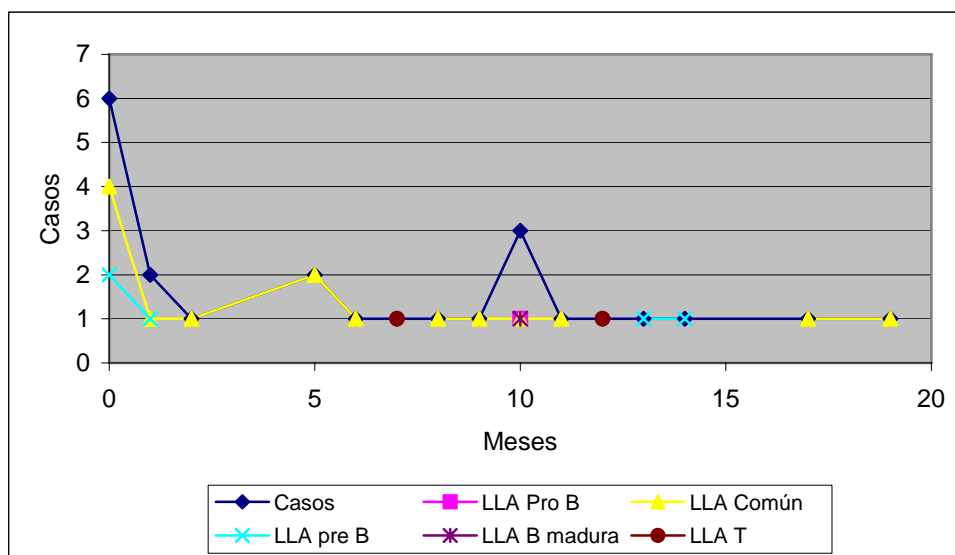
Tabla 15. Recaídas de LLA de acuerdo al subtipo.

	Casos totales	Casos vivos al termino de IR	Casos que obtuvieron RC (%)	Casos refractarios (%)	Casos con recaída (%)	Casos sin recaída (%)
LLA Pro B	1	1	-----	1(100%)	0 (0%)	0
LLA Pro B Común	21	16	12(75%)	4(25%)	7(58.3%)	5(41.6%)
LLA Pre B	8	4	3(75%)	1(25%)	2(66%)	1(33.3%)
LLA B Madura	1	1	1(100%)	0(0%)	1(100%)	0(0%)
LLA T	2	2	2(100%)	0(0%)	2(100%)	0(0%)
Total	33	24	18(75%)	6(25%)	12(66.6%)	6(33.3%)

Tabla 16. Análisis estadístico de recaída de LLA de acuerdo al subtipo.

	Pro B	Pre B Común	Pre B	B Madura	T
Recaída	<i>P = 0.370</i>	<i>P = 0.751</i>	<i>P = 0.280</i>	<i>P = 0.370</i>	<i>P = 0.194</i>

MORTALIDAD



Grafica 16. Incidencia de mortalidad en subtipos de LLA.

Del total de pacientes ingresados al estudio del 1 enero al 31 de diciembre 2005 a la fecha de corte (Febrero 2007) se han documentado 24 defunciones (77.4%) de un total de 31 pacientes, ya que dos pacientes salieron del estudio por abandono al tratamiento. Los restantes 7 pacientes (22.5%) continúan con vida a la fecha de corte.

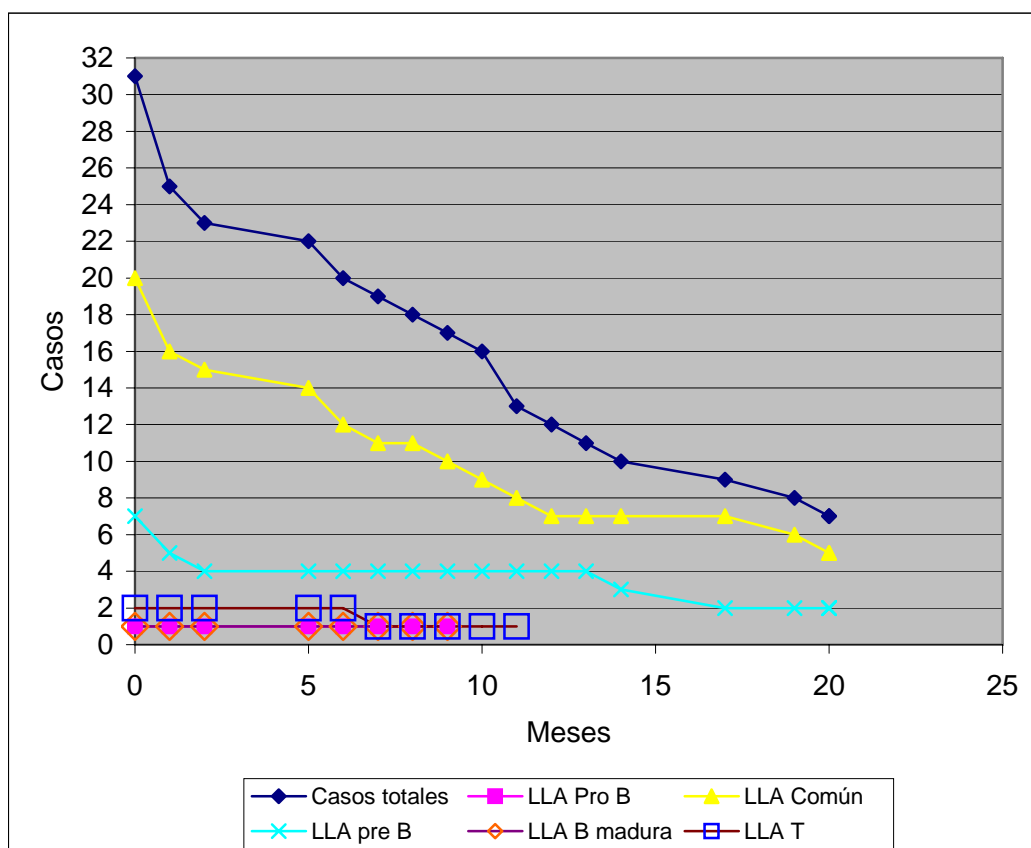
Se presentó un pico de incidencia de mortalidad en el primer mes del diagnóstico con 8 casos (25.8%), estas estuvieron asociadas a morbilidad preexistente en el paciente, complicaciones por actividad tumoral y/o toxicidad secundaria a tratamiento. Un segundo pico se observó a los 10 meses.

Tabla 17. Análisis estadístico de mortalidad de LLA de acuerdo al subtipo.

	Pro B	Pre B Común	Pre B	B Madura	T
Mortalidad	$P = 0.598$	$P = 0.677$	$P = 0.679$	$P = 0.598$	$P = 0.447$

SOBREVIDA GLOBAL

SUBTIPOS DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA



Grafica 17. Sobrevida global en subtipos de LLA.

De los 31 casos estudiados se obtuvo una supervivencia estimada a 2 años del 22.5% (7 pacientes), de los cuales 3 pacientes al corte cuentan con recaída medular y por lo tanto solo 4(12.9%) se encuentran libres de enfermedad.

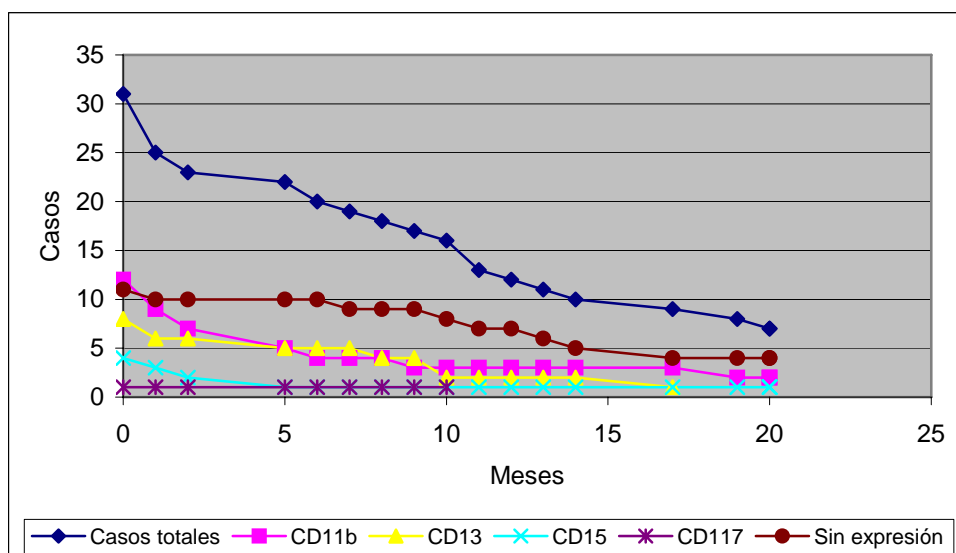
De los 7 pacientes vivos 5 (71.4%), son del subtipo LLA común y así mismo 3 de ellos están libres de enfermedad. Los restantes 2 pacientes vivos son del subtipo LLA preB.

En los subtipos pro B, B madura y T se encontró una supervivencia media estimada de 9.7 meses.

Tabla 18. Análisis estadístico de SG a 2 años de LLA de acuerdo al subtipo

	Pro B	Pre B Común	Pre B	B Madura	T
SG 2 años.	$P = 0.913$	$P = 0.840$	$P = 0.978$	$P = 0.875$	$P = 0.905$

SOBREVIDA GLOBAL COEXPRESIÓN ANTÍGENOS MIELOIDES



Grafica 18. Sobrevida global en LLA con y sin expresión de antígenos mieloides.

De los 31 casos estudiados se obtuvo una sobrevida media estimada de 8.9 meses.

De los casos sin coexpresión se documenta una sobrevida global a 2 años de 40% comparada con 14.2% de aquellos casos con expresión aberrante de antígenos mieloides.

Tabla 19. Análisis estadístico de SG a 2 años de LLA de acuerdo a la expresión aberrante de antígenos mieloides.

	Presencia antígenos aberrantes	Ausencia de antígenos aberrantes
SG 2 años.	$P = 0.033$	$P = 0.034$

DISCUSIÓN

La Leucemias agudas tienen una incidencia de 2.3% de todas las enfermedades malignas en la población mexicana. (19) A nivel mundial las leucemias agudas tienen una incidencia de 1.5/100,000 habitantes.(4)La Leucemia Aguda más frecuente en adultos es la de estirpe mieloide con una incidencia de 61% comparada con la Leucemia Linfoblástica Aguda con 36% (14). En el presente estudio se documentó una incidencia en la población de 16 – 59 años de 42% para LMA comparado con 57% para LLA mostrando diferencia en cuanto a lo mencionado en la literatura. Esto se puede explicar porque nuestro estudio no incluyó a los mayores de 60 años, en los cuales se reporta un aumento exponencial de la incidencia de LMA.

La incidencia por sexo en la LLA del adulto presenta una relación hombre : mujer de 1.4:1. (4) En nuestro estudio fue aún más equitativa con una relación de 1.06:1. Los picos de incidencia en el adulto de acuerdo a la edad se documentan a los 35 años y posteriormente después de los 80 años. (4) La incidencia presentada en nuestro hospital es a los 22 años, con una media de presentación de 38.4 años, similar a la literatura internacional.

De acuerdo a la clasificación inmunológica de la LLA, el subtipo más frecuente corresponde a la LLA común con 50% de los casos, posteriormente la LLA pre B (15%) , pro B (10%) , LLA B madura (3-4%) y la LLA de estirpe T con únicamente 1 -3% de los casos (4,6,8, 11). En nuestro estudio al igual que en la literatura mundial la LLA común fue el subtipo de Leucemia Linfoblástica Aguda más frecuente con más del 60% de los casos, seguida de la LLA pre B con 20% (mostrando un incremento en la incidencia reportada) y el 12% restante correspondió a la LLA pro B, B madura y LLA de estirpe T.

La expresión aberrante de antígenos mieloides en leucemia linfoblásticas agudas hace suponer que el origen de la célula neoplásica es una alteración en la célula pluripotencial de la cual derivan diferentes estirpes celulares. En la Leucemia Linfoblástica Aguda la incidencia de presentación de antígenos mieloides es de 3.5 – 30%, siendo los más frecuentemente expresados CD11b y CD13. (3,5) En nuestro estudio encontramos una frecuencia de expresión de antígenos mieloides superior al 78%, siendo los antígenos más expresado el CD11b (39.3%) y el CD13 (24.2%)

Esto demuestra que se requieren más estudios y con inclusión de mayor número de casos para confirmar la mayor incidencia de expresión de antígenos mieloides en nuestra población.

En la Leucemia Linfoblástica de estirpe T no existen reportes en la literatura de la frecuencia de expresión de antígenos mieloides, sin embargo en nuestro estudio no se detectó la presencia de antígenos mieloides en esta estirpe.

En la Leucemia Linfoblásticas Aguda se han realizado numerosos estudios para correlacionar las manifestaciones clínicas, parámetros bioquímicos, citogenética y actualmente alteraciones moleculares con el pronóstico de los pacientes. Actualmente se sabe que en el pronóstico de esta enfermedad participan la combinación de varios factores adversos, siendo los más importantes identificados a la fecha: edad, cuenta de leucocitos al diagnóstico, tiempo en alcanzar la remisión completa, anormalidades citogenéticas o moleculares, subtipo inmunológico, afección extramedular y recientemente el estudio de enfermedad mínima residual. (14)

Con respecto a los factores de riesgo todos nuestros pacientes fueron clasificados como de riesgo alto ó muy alto, encontrándose una incidencia en mayores de 30 años de 69.6%, DHL incrementada al diagnóstico en 91.3% de los pacientes, leucocitos superiores a 25,000 en 54.5%, afección extramedular en 75.7%, alteraciones citogenéticas de mal pronóstico en 33.3% y detección de rearrreglo génico BCR-ABL en 21.7%. De estos resultados cabe mencionar que el estudio citogenético se realizó solo el 45.4% de los pacientes y el molecular en 69.6%, por lo que no pueden ser valorados en este estudio respecto a su valor pronóstico.

El papel como factor pronóstico adverso de la expresión de antígenos mieloides en la LLA es controversial, ya que algunos autores no han encontrado correlación de estos con el pronóstico y otros por el contrario los han identificado como factores de mal pronóstico. En nuestro estudio la expresión de antígenos mieloides no tuvo correlación con otros factores pronósticos (edad, cuenta de leucocitos al diagnóstico, citogenética, biología molecular, infiltración extramedular, sexo y DHL). (3,5,12,14)

La expresión de antígenos celulares específicos obtenidos por inmunofenotipo, ha llevado a realizar múltiples estudios para identificar factores pronósticos adversos.

Entre los más significativos se encuentra la ausencia del antígeno CD10, el cual se ha relacionado con la presencia del gen MLL (Leucemia de linaje mixto). Este gen puede identificarse por biología molecular y suele asociarse a alteraciones citogenéticas como t(4:11), t(11:19) y t(9:11). (21)

En este estudio no se pudo investigar la presencia del gen MLL en las leucemias CD10 negativas, lo cual sería importante para investigaciones posteriores de contar con los recursos para este estudio.

Los actuales regímenes de quimioterapia han sido diseñados con el fin de obtener mejores porcentajes de remisión completa y mejorar los rangos de supervivencia libre de enfermedad y global, y así mismo se intenta disminuir la toxicidad asociada al tratamiento

En el presente estudio se reportó una incidencia de respuesta completa con el primer ciclo de quimioterapia de 75% y una incidencia de refractariedad primaria de 25%, este último porcentaje es mayor al reportado en la literatura internacional.

La mortalidad en los primeros 2 meses del diagnóstico se presentó con una incidencia de 25.8% , la cual estuvo relacionada a la comorbilidad de los pacientes, así como a toxicidad por quimioterapia.

La supervivencia global estimada a 5 años en la mayoría de los estudios reportados supera al 30%, (18,19%) y en nuestro estudio se documentó una supervivencia global a dos años del 22%. Por otro lado se reporta una supervivencia libre de enfermedad a 5 años superior al 35% y nuestra incidencia reportada a 2 años fue de 9.6%, cifra considerablemente inferior a lo reportado en la literatura.

Cabe mencionar que la literatura menciona que el subtipo de LLA de peor pronóstico es el pro B (CALLa negativo) y el de mejor pronóstico es el pro B (CALLa positivo) sin embargo esto no se pudo valorar en el presente estudio, debido a que solo tuvimos un caso del primero y 21 casos del segundo, lo cual resulta en cifras no comparables. Sin embargo de nuestros 7 pacientes vivos el 74.1% son pro B común.

Lo trascendental de este estudio se observó en el análisis de la supervivencia global, ya que los pacientes sin expresión de antígenos mieloides tuvieron una mayor supervivencia global a 2 años (40%) comparado con 14.2% en aquellos pacientes con expresión aberrante. (P=0.03).

De acuerdo con esto se requieren otros estudios para determinar si la coexpresión de antígenos mieloides en nuestra población es un factor de riesgo adverso independiente en la LLA , ya que en contraste a la sobrevida global, no se documento asociación con remisión completa y mortalidad.

CONCLUSIONES

1. Existe mayor incidencia de Leucemia Linfoblástica Aguda en adultos jóvenes
2. La incidencia por subtipos de LLA es similar a la reportada en la literatura con predominio de la Pre B Temprana Común.
3. Se encontró mayor expresión de antígenos mieloides en la LLA de nuestra población.
4. En la LLA T no se documentó expresión aberrante de antígenos mieloides.
5. El antígeno mieloides CD 11b al igual que en la población mundial es el antígeno aberrante de mayor expresión en la LLA.
6. Los pacientes sin expresión de antígenos mieloides tienen una mayor supervivencia global
7. La expresión de antígenos mieloides puede ser un factor pronóstico adverso independiente en nuestra población.

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Frecuencia de distribución de subtipo de leucemia linfoblástica aguda en adultos de acuerdo al inmunofenotipo y valor pronostico de la coexpresion de antigenos mieloides de superficie celular el inmunofenotipo de la leucemia linfoblástica aguda: se relaciona con el pronóstico

No. Caso _____

Fecha: _____

Nombre:

_____ No.Afil _____

Edad: _____ Sexo: (M) (F) Enfermedad hematológica u oncológica previa:(Si)
(No)

Leucocitos: _____ Hb: _____ Plaquetas: _____ DHL:

AMO: _____ % Blastos Tipo LLA FAB: _____

Adenopatías: _____ USG Hepatomegalia (S) (N) Esplenomegalia (S)
(N)

LCR Inicial (+) (-) Cariotipo: _____

Rearreglo molecular: _____

Inmunofenotipo

CD2		CD3		CD5		CD7		CD10	
CD19		CD20		CD21		CD22		CD33	
CD34		CD38		IgM		TdT		IgM C	
CD11b		CD13		CD15		CD117			
Dx:									

Protocolo de tratamiento recibido:

HCVAD _____

OPAL _____

Otros _____

Remisión completa (S) (N) 1era MO _____ Meses de
SLE _____

Recaída: (S) (N) (MO (Extramedular) Extramedular: Sitio _____
Fecha _____

Rescate: (S) (N) 2da RC :(S) (N)

TMO (S) (N) (alogenico) (Autologo)

Defunción: (S) (N) _____ Causa _____ AT (S) (N)

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ernest Beutler, Marshall A. Lichtman, Barry S. Coller, et al: Williams Hematology. Septima edition, 2006.
2. Myron S., Richard K., Carleton C., et al : Value of Immunophenotype in Intensively Treated Adult Acute Lymphoblastic Leukemia: Cancer and leukemia Group B Study 8364. Blood 93:3931-3939, 1999.
3. Ching-Hon Pui: Childhood Leukemia's. 2da edition, 2006.
4. Ronald Hoffman, Edward J. Benz, Sanford J. Shatter, : Hematology Basic Principles and Practice. Fourth Edition.2005.
5. Lo Coco F, Foa R, : Diagnostic and prognostic advances in the immunophenotype and genetic characterization of acute leukemia. Euro J Hematology 55:1-9, 1995.
6. European Group for the Immunological Characterization of Leukemia's: Proposals for the immunological classification of acute leukemia's. Leukemia 9:1783-1786, 1995.
7. Sally Killick, Estella Matutes, Ray L. Powles, et al: Outcome of biphenotypic acute leukemia. Haematologica 84:699-700, 1999.
8. Wolf-Dieter, Herald Rieder, Claus R, et al: Immunophenotypic and Genotypic features, Clinical characteristics and treatment Outcome and Adult Pro-B Acute Lymphoblastic Leukemia: Results of the German Multicenter GMALL 03/87 and 04/89. Blood. 92:1898-1908, 1998.
9. Beate Gleissner, Nicola Goekbuget, Harald Rieder, et al: CD10- pre B acute lymphoblastic leukemia (ALL) is a distinct high-risk subgroup of adult ALL associated with a high frequency of MLL aberrations: results of the German Multicenter Trials for Adult ALL. (GMALL). Blood 106:4054-4057, 2005.
10. C. Darrell Jennings and Kenneth A. Foon,: Recent advances in flow Cytometry: Application to the diagnosis of Hematologic Malignancy. Blood 90:2863-2892, 1997.
11. Winfried Gassmann, Helmut Löffler, Eckahard Thiel, et al: Morphological and cytochemical findings in 150 cases of T-lineage acute lymphoblastic leukaemia in adults. BJH 97: 372-382,1997.

12. Antonella Vitale, Anna Guarini, Cristina Ariola, et al: Adult T-cell acute lymphoblastic leukemia; biologic profile at presentation and correlation with response to induction treatment in patients enrolled in the GIMEMA LAL 0496 protocol. *Blood* 107:473-479, 2006.
13. ASH. Education Program Book, 2005.
14. Edward S Henderson, T Andrew Lister, Mel F Greaves, et al: *Leukemia*, seventh edition 2002.
15. Joane M Hilden, Patricia A Dinndorf, Sharon O Meerbaum, et al: Analysis of prognostic factors of acute lymphoblastic leukemia in infants: report on CCG 1953 from the Children's Oncology Group. *Blood* 108:441-451, 2006.
16. Quoc-Hug Lee, Xavier Thomas, Rene Ecochard, et al: Initial and late prognostic factors to predict survival in adult acute lymphoblastic leukaemia. *European Journal of Haematology* 77: 471–479, 2006.
17. Eiichi Nagura, Kiyoji Kimura, Kazumasa Yamada, et al: Nation-wide randomized comparative study of doxorubicin, vincristine and prednisolone combination therapy with and without L-asparaginase for adult acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Chemother Pharmacol* 33:359-365, 1994.
18. Hagop Kantarjian, Deborah Thomas, Susan O'Brien, et al: Long-Term Follow-Up Results of Hyperfractionated Cyclophosphamide, Vincristine, Doxorubicin and Dexamethasone (Hyper-CVAD), a Dose-Intensive Regimen, in Adult Acute Lymphocytic Leukemia. *Cancer* 101:2788-2801, 2004.
19. Mauro Krampera, Omar Perbellini, Carlo Vincenzin, et al: Methodological approach to minimal residual disease detection by flow cytometry in adult B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 91:1109-1112, 2006.
20. Mohar A, Frías-Mendivil M, Suchil-Bernal L, et al: Epidemiología descriptiva de cáncer en el Instituto Nacional de Cancerología de México. *Salud pública de México* 39:1-6, 1997.
21. Ching-Hon Pui, Mary V. Relling, James R. Downing: Acute Lymphoblastic Leukemia. *NEJM* 350:1535-1548, 2004