

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**



**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E
INVESTIGACION
SECRETARIA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA**

**“INDICE DE ADN COMO FACTOR PRONÓSTICO
INDIVIDUAL EN LEUCEMIA AGUDA LINFOBLASTICA EN
NIÑOS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA DE
1999 A 2004”**

T E S I S

PARA OBTENER DIPLOMA EN ESPECIALISTA EN :

HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

P R E S E N T A

DRA ADRIANA CHAVEZ CARREÑO

**TUTOR DE TESIS :
DR. ROGELIO PAREDES AGUILERA
DRA. NORMA LOPEZ SANTIAGO**



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.

INDICE

Pags.

| | |
|--------------------------------------|----|
| * Índice | 1 |
| * Antecedentes y marco teórico | 2 |
| * Citometría de Flujo | 5 |
| * Índice de ADN | 8 |
| * Planteamiento del problema | 13 |
| * Justificación | 14 |
| * Objetivos | 15 |
| * Material y métodos | 15 |
| * Tipo de estudio | 15 |
| * Variables | 16 |
| * Población | 19 |
| * Criterios de inclusión | 19 |
| * Criterios de exclusión | 20 |
| * Instrumento de recolección | 20 |
| * Tamaño de muestra | 20 |
| * Análisis | 20 |
| * Anexo 1 | 22 |
| * Resultados | 23 |
| * Conclusiones | 32 |
| * Bibliografía | 34 |

“INDICE DE ADN COMO FACTOR PRONOSTICO INDIVIDUAL EN LEUCEMIA AGUDA LINFOBLASTICA EN NIÑOS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA DE 1999 A 2004”

ANTECEDENTES Y MARCO TEORICO

La Leucemia Linfoblástica aguda es la enfermedad maligna mas común en la infancia, y es también una de las enfermedades neoplásicas con los progresos terapéuticos mas significativos durante las ultimas 3 décadas. El progreso se ha llevado a cabo entre otras cosas debido a que se han reconocido diversos factores de riesgo pronósticos que permiten el ajuste del tratamiento de acuerdo con el riesgo de recaída que han permitido identificar a una población de niños con pronóstico favorable, intermedio y pronóstico desfavorable. (8,9)

Dentro de los principales factores de riesgo encontramos: edad, sexo, hiperleucocitosis con o sin gran visceromegalia (hepato/esplenomegalia por debajo de la cicatriz umbilical); otros como: niveles de hemoglobina, cuenta leucocitaria y cuenta plaquetaria, elevación de la deshidrogenada láctica, alteraciones de las inmunoglobulinas, citomorfología, arreglos numéricos o estructurales por citogenética, índice de DNA, y presencia de alteraciones moleculares. Todos éstos permiten al clínico establecer un pronóstico y por lo tanto un tratamiento más selectivo al paciente. (8,9)

La edad menor de un año y mayor de 10 años son de mal pronóstico, ya que la remisión completa continúa cambia de acuerdo a la edad del paciente; se sabe que la Remisión completa continúa es menor de 20% en niños menores de 1 año; 40% en niños de mas de 10 años y 60% en niños entre 1 y 10 años al diagnóstico (p: <.0001). (1,9)

Otro factor es el sexo, sabiendo que la sobrevida libre de enfermedad en pacientes masculinos es 38% menor que en las niñas a los 2 y 5 años del

diagnóstico, esto por el riesgo de infiltración testicular ($p: <0.0001$); con un riesgo relativo M:F = 1.8. (1)

La infiltración al sistema nervioso central, que generalmente es asintomática, es un factor pronóstico desfavorable.

La cuenta leucocitaria por arriba de 100,000/ml en leucemias mieloides y por arriba de 50,000/ml en leucemias linfoides establecen un mal pronóstico para el paciente. La mejor remisión completa continua se obtiene en pacientes con cuenta leucocitaria menor de 5,000 (30%) y la peor supervivencia se exhibe en pacientes con leucocitos por arriba de 100,000 a 200,000. La diferencia en cuanto a Remisión completa a 10 años es de 27% en aquellos con cuentas mayores a 65% en aquellos con cuenta leucocitaria menor. (1)

Durante algún tiempo se mencionó que la hemoglobina menor de 7gr/dl, podría considerarse de mal pronóstico, aunque se concluyó su falta de valor real, no así la trombocitopenia menor de 30,000/mm³ considerada como factor desfavorable por ser factor predisponente para infiltración a sistema nervioso central.(9)

Niveles bajos de IgG se asocian a respuesta deficiente a tratamiento de inducción a la remisión. Los niveles séricos bajos de IgG, IgA e IgM se correlacionan con pobre sobrevida libre de enfermedad y por tanto con mal pronóstico.(9)

Otros, como la citomorfología en medula ósea, describe que la leucemia linfoblástica aguda L1 es la mas común en pediatría y de pronóstico favorable; la L2 con pronóstico desfavorable (mas desfavorable que las LAL L1) asociado a 10% de linfoblastos y la L3 de mal pronóstico.

El inmunofenotipo también es un factor pronóstico que permite establecer un tratamiento para cada una de las variedades, por ejemplo: las leucemias pre B son de mejor pronóstico, las leucemias B de peor pronóstico aunque otros autores

consideran que las LAL de células T son las de pronóstico más desfavorable (no así para el grupo BFM).

Se ha señalado que la presencia de antígeno común para leucemia linfoblástica (CD10) es de pronóstico favorable en comparación a las leucemias CD10 negativas. La presencia de antígenos mieloides CD13 y CD15 en leucemia constituyen un factor pronóstico desfavorable.

En las leucemias suelen producirse distintas alteraciones citogenéticas; de éstas, las más frecuentes son las alteraciones numéricas y las translocaciones (t). En 1978, Secker y Walker se percataron que la ploidía de los cariotipos de las células leucémicas era un factor pronóstico importante en la leucemia de la infancia. Los niños con más de 50 cromosomas en sus cariotipos de células leucémicas era un factor pronóstico importante en la leucemia de la infancia. Los niños con más de 50 cromosomas en sus cariotipos de células leucémicas tenían un pronóstico relativamente favorable. Los cariotipos de éstos pacientes generalmente tenían números modales de 51 a 60 cromosomas, con una media de 55 cromosomas por célula leucémica. Por otra parte, aproximadamente 1% de los niños con leucemia linfoblástica presentan células leucémicas que muestran hipodiploidía con menos de 45 cromosomas. Estos pacientes corren un riesgo alto de no responder al tratamiento. En la actualidad se conocen varias traslocaciones específicas que se asocian con un tipo particular de leucemia y su estudio molecular ha permitido identificar algunos genes que pueden intervenir en el proceso de leucemogénesis y en los mecanismos de regulación de la proliferación y diferenciación de células hematopoyéticas. La traslocación t(12;21) (p12;q22) que condiciona la fusión del gen TEL y AML 1 y que frecuentemente expresa inmunofenotipo de CD10+ tiene por lo general un pronóstico favorable; mientras que las traslocaciones t(8;14) asociada a morfología L3 y que hasta finales del decenio de 1980 se consideraban de pronóstico malo, estudios más recientes indican una mejoría notable en la supervivencia. La t(1;19) se presenta en 5-6% de los niños y en estudios recientes se ha visto que aplicando terapéutica más intensiva, el pronóstico

mejora. La $t(9;22)$ y $t(4;11)$ se consideran de pésimo pronóstico independientemente de otros factores como la edad y la cuenta leucocitaria. (2)

CITOMETRIA DE FLUJO

La citometría de flujo es una técnica de análisis celular que implica medir las características de dispersión de luz y fluorescencia que poseen las células conforme se las hace pasar a través de un rayo de luz. Para su análisis por citometría de flujo, las células deben encontrarse individualmente en suspensión en un fluido. Al atravesar el rayo de luz, las células interaccionan con este causando dispersión de la misma, basándose en la difracción de la luz en sentido frontal, se puede evaluar el tamaño de las células que pasan y al medir la reflexión de la luz de manera lateral se evalúa la granularidad o complejidad de estas. Además, si previamente a su análisis se coloca a las células en presencia de anticuerpos monoclonales marcados con moléculas fluorescentes, se pueden evaluar que células poseen los antígenos complementarios a los anticuerpos monoclonales usados.

El uso de moléculas fluorescentes distintas (distintos colores de fluorescencia) permite analizar la presencia de varios marcadores de manera simultánea. (3)

Durante el período que pretendemos estudiar, el Instituto Nacional de Pediatría contaba con el citómetro de flujo Epics XL2 (1998-2006) y actualmente se utiliza el Cytomycs FC500. Estos sistemas de citometría de flujo aplican los principios de la citometría de flujo para analizar una muestra de sangre total teñida y lisada para identificar distintas poblaciones celulares determinadas por los anticuerpos monoclonales y fluorocromos específicos utilizados. Tienen cuatro tipos de protocolos (protocolo de normalización, compensación, verificación y configuración) que normalizan automáticamente el citómetro, ajustan los parámetros de compensación, envían los parámetros del citómetro a los protocolos de determinación y verifican la configuración del citómetro y el rendimiento de los anticuerpos.

Los protocolos de normalización ajustan automáticamente la dispersión frontal y lateral y los altos voltajes y ganancias de la fluorescencia para colocar la población pico de fluoroesferas Flow-Set™ en intensidades concretas. Estas intensidades concretas se indican en el protocolo de normalización de las intensidades de dispersión y fluorescencia para analizar muestras teñidas con los reactivos de anticuerpos monoclonales CYTO-STAT tetraCHROME, parámetros se cargan del archivo de configuración. Los protocolos de compensación se ejecutan con los voltajes de Flow-Set y se utilizan para calcular los coeficientes de compensación de FITC, RD1, ECD y PC5. Los ajustes de compensación de color se realizan con el kit de células CYTO-COMP™ teñidas con el kit QuickCOMP 4. Los protocolos de verificación se realizan mediante la tinción de los anticuerpos monoclonales con reactivos para verificación de la configuración, la preparación de las muestras y las prestaciones de los anticuerpos. Y, los protocolos de configuración guardan los parámetros del citómetro determinados a partir de los tubos de compensación AS tetraCXP Flow-Set y AS FL. Además existen protocolos bloqueados que minimizan la subjetividad o variabilidad durante el análisis de muestras de rutina. Los resultados obtenidos con protocolos bloqueados se consideran aptos para diagnósticos in vitro y no precisan una validación por el usuario antes de informar los resultados. Además existen las regiones de cebado que se utilizan como medida de control de calidad para asegurar que los picos de población se acumulen en una región. Si la población esperada no se acumula adecuadamente o no aparece en la región, se inicia un cebado automático. (16)

El procedimiento de análisis de muestras es el siguiente: Posterior a haber tomado muestra de medula ósea al paciente (3 ml de sangre en 2 ml de heparina) se rotulan dos tubos de ensayo de 12 x 75mm, se pipetea: 10 µl de CYTO-STAT tetraCHROME CD45/CD4/CD8/CD3 en el primer tubo de ensayo y 10 µl de CYTO-STAT tetraCHROME CD45/CD56/CD19/CD3 en el segundo tubo de ensayo, se pipetea 100 µl de sangre total en cada tubo evitando que la sangre toque la parte superior o el lateral del tubo de ensayo. Se agita suavemente en el vórtex y se incuba según las instrucciones del prospecto. Se procesa en una estación de

trabajo Q-Prep, Multi-Q-Prep o TQ-Prep. Antes del análisis, se agita en el vórtex el vial de las fluoroesferas Flow-Count y se añaden 100 µl a cada tubo de ensayo. Se analizan las muestras en las dos horas siguientes a la adición de las fluoroesferas Flow-Count. (16)

En 1999, se estandarizó en el Instituto, la metodología para la determinación de DNA, analizando 153 muestras de sangre periférica de niños sanos, ajustándose el equipo con perlas DNA-check y glóbulos rojos de pollo. La determinación del DNA se realizó utilizando la técnica de Vindelov y cols descrita en 1983 que se basa en la tinción específica del DNA con yoduro de propicio (19,20). Para estandarizar la metodología en el laboratorio, se emplearon muestras de sangre periférica de niños sanos y glóbulos rojos de pollo (ya que estos tienen la tercera parte del contenido de DNA de un humano) como control para el equipo de CF. (19).

Una vez estandarizada la técnica y considerando los criterios de inclusión para la selección de los pacientes con Leucémica, a la par se procesó la muestra de los pacientes leucémicos en el CF, analizándose en el programa Multicycle para obtener el IDNA. Esta estandarización se realizó con 153 muestras de sangre periférica de niños sanos del Instituto Nacional de Pediatría y glóbulos rojos de pollo como control del equipo de CF. El equipo utilizado fue un EPICS-PROFILE XL2, se realizó la alineación con perlas de DNA Check (Coulter) electrónicamente para que el canal modal para los núcleos en Go/G1 fuera de 200 (en la escala de fluorescencia de 0 a 1023). El equipo se ajustó para que la mayoría de los experimentos se colectaran en un mínimo de 10,000 eventos, a una velocidad de flujo de 50-70 eventos por segundo y subsecuentemente se analizó utilizando el programa de análisis específico para DNA. La cuantificación del DNA se realizó de acuerdo a la técnica de Vindelov ya mencionada, ajustando el equipo como se indicó anteriormente y se calculó el IDNA para las 60 muestras de AMO de los niños con LAL. Como se mencionó se procesó una muestra del donador sano y el estándar de glóbulos rojos de pollo, cada vez que se analizó una muestra

problema. Se evaluaron los IDNA de los 153 niños sanos utilizando estadística descriptiva para determinar la normalidad con la prueba Kolmogorov-Smirnov a través de histogramas de frecuencia con el programa Statistical Software. En cuanto al control de los glóbulos rojos de pollo la media de intensidad de fluorescencia obtenida para el pico Go/G1 se observó en el canal 30 con un coeficiente de variación de 3.9. En cuanto a los controles sanos se encontró el pico localizado aproximadamente en el canal 100. A partir del valor medio del IDNA se obtuvo el intervalo de confianza con 2 desviaciones estándar (DE) que agrupa al 95.5% de la población y donde el valor medio de la intensidad de fluorescencia fue de 103.8 ± 0.326 con un coeficiente de variación de 4.88. Además debido a que considerando la importancia de establecer la determinaron del IDNA como un método de laboratorio clínico, que está sujeto al presupuesto institucional, se pensó en la alternativa de emplear una u otra de las técnicas disponibles en el laboratorio. Por lo que se realizó la determinación del IDNA de 50 muestras de sangre periférica de donadores sanos por las dos técnicas (Vindelov y Coulter). El análisis estadístico no mostró diferencias importantes entre ambos métodos ($p= 0.2326$) Lo anterior coincide con la reunión de consenso realizada en USA en 1983 (21) en donde se determinó que el coeficiente de variación de las células diploides normales en un histograma debería ser de $<8\%$ para poder realizar una identificación adecuada de las poblaciones aneuploides de DNA. (17,21)

ÍNDICE DE ADN

El índice de DNA es una técnica mediante la cual se mide el contenido de DNA del núcleo celular. En los pacientes con leucemia éste se estudia en las células leucémicas, lo que permite calcular el número de cromosomas que contienen. Debido a que este procedimiento se realiza mediante citometría de flujo, técnica relativamente sencilla y rápida, esto permite conocer en forma temprana si las células leucémicas presentan o no hiperdiploidías, factor que ya ha demostrado su utilidad para el pronóstico en pacientes con leucemia; mientras se sigue el

procedimiento para establecer el cariotipo mediante bandas G (análisis citogenético clásico). Debido a que los pacientes inician tratamiento una vez que se realiza el diagnóstico morfológico y se establece la clasificación inmunológica de las células leucémicas, y recordando que la determinación útil es en las células leucémicas, una vez que el paciente ha logrado una citorreducción adecuada o incluso la remisión completa (menos de 5% de blastos en MO) deja de tener utilidad una nueva determinación.

El índice de ADN se define como la diferencia entre la cantidad de ADN de una población normal y una anormal. De acuerdo a la nomenclatura internacional para citometría del ADN se define como un promedio entre el contenido de ADN leucémico a estudiar y el contenido de ADN en células normales en fase G0/G1.

$$\text{Índice de ADN: } \frac{\text{Contenido de DNA leucémico}}{\text{Contenido de DNA en células normales en fase G0/G1}}$$

El índice de DNA medido a través de citometría de flujo permite medir los linfoblastos que se encuentran en fase "S" del ciclo celular. De tal manera que cuando el índice es mayor de 1.16 se identifica a los pacientes con hiperdiploidía (>50 cromosomas) cuando el índice de DNA esta por debajo de 1.16 los pacientes presentan hipodiploidia (<45 cromosomas), sin embargo el peor pronóstico son aquellos pacientes con numero de cromosomas haploide , los cuales representan < del 1% de todos los pacientes con LAL. (4,5,6).

Los pacientes con hiperdiploidía o índice de ADN >1.16 son de mejor pronóstico debido a que tienen:

- Mayor % de células en fase S (células que están en proceso de realizar nuevo ADN)
- Mayor sensibilidad a quimioterapia fase específica
- Mayor sensibilidad a antimetabolitos (los blastos acumulan poliglutamatos de metotrexate)

- Menor habilidad para infiltración extramedular (18)

El IADN se realizará al diagnóstico, previo a cualquier tratamiento, ya que mide la cantidad de ADN en los linfoblastos, los cuales con tratamiento disminuirán o desaparecerán (citorreducción), por lo que NO se da seguimiento con esta prueba.

Según el índice de ADN, el análisis de las aberraciones citogenéticas se han incluido en la estratificación de la LAL en niños por varios años. En analogía con los hallazgos citogenéticos, la hiperdiploidía, definida como un índice de ADN mayor o igual a 1.16 medida con citometría de flujo, se ha asociado con pronóstico favorable ya que se asocia con otros factores pronósticos favorables (incluyendo una cuenta leucocitaria menor, edad entre 2 y 10 años y un inmunofenotipo precursor de células B tempranas) mientras que la hipodiploidía o índice de ADN menor de 1.0, se ha encontrado como factor pronóstico adverso en LAL en niños. El contenido de ADN expresado como índice de ADN se ha determinado y definido de acuerdo con la nomenclatura internacional para citometría de ADN. (4,5,6)

Las alteraciones numéricas se pueden clasificar en:

| Riesgo | Número de cromosomas | Índice de ADN |
|-----------------------|--|-------------------|
| Bajo | ➤ o igual 50 cromosomas con presencia de <u>trisomía 4, 10 o 17</u> | > o igual a 1.16 |
| Habitual o Intermedio | ➤ 50 cromosomas, con <u>trisomía 4,6,10, 17</u> o de <u>47 a 50 cromosomas</u> | 1.0-1.15 |
| Alto | <u>45 a 47 cromosomas</u> | <u>0.81 a 1.0</u> |
| Extremadamente alto | < 45 cromosomas | <0.81 |

Clínicamente, el análisis inmunofenotípico es una parte importante para el diagnóstico y la clasificación de las leucemias agudas ya que la base primaria de la estrategia del tratamiento depende de parámetros antigénicos. Además el análisis de las leucemias agudas provee información pronóstica no disponible por otras técnicas, así como una forma de monitorización del progreso de los pacientes después de la quimioterapia o trasplante de médula ósea ayudando en la detección de la enfermedad mínima residual.

Algunos estudios reportan que cerca de 25 a 30% de los pacientes con LAL de células B tiene un índice de ADN leucémico mayor o igual a 1.16, considerándose como factor pronóstico favorable ya que permite el uso de quimioterapia menos intensiva.

La ploidía cromosómica determinada por citometría de flujo o análisis del cariotipo es uno de los predictores pronósticos más útiles.

Un índice de ADN igual o mayor a 1.16, correspondiente a un número modal de 53 o más cromosomas por célula leucémica mediante análisis citogenético es un factor pronóstico extremadamente favorable

Otros estudios muestran que la ploidía cromosómica es el factor pronóstico más importante determinado por análisis multivariados.

Niños con cariotipo con hiperdiploidía (número modal de 50 o más) sin anomalías estructurales tienen significativamente mejor supervivencia libre de evento que niños con cariotipos con pseudodiploidia, hipodiploidia o cerca de la haploidía. La Hiperdiploidía está asociada con otros factores pronósticos favorables, incluyendo una cuenta leucocitaria menor, edad entre 2 y 10 años y un inmunofenotipo precursor de células B tempranas.

La incidencia de ADN atípico en leucemias y otras neoplasias hematopoyéticas es menor que en los tumores sólidos. En LAL, las líneas celulares aneuploides se han identificado en aproximadamente 25 a 50% de los casos reportados.

Muchos investigadores han identificado el ADN con aneuploidía como un factor pronóstico en LAL en niños. En cuanto a esto Look y colaboradores encontraron que pacientes con LAL e índice de ADNA mayor de 1.16 tienen mejor pronóstico, encontrando además que el IADN tiene significancia pronostica independiente de otros parámetros utilizados, incluyendo la cuenta leucocitaria, raza y edad.

Características clínicas observadas en pacientes con IDNA mayor a 1.16

| | |
|-------------------------------|----------------------------------|
| 1.- Raza | Blanca |
| 2.- Edad | Entre 2 y 9 años |
| 3.-Cuenta leucocitaria | < 25,000 |
| 4.- Inmunofenotipo | Precursor de células B tempranas |
| 5.- Sobrevida libre de evento | Mejor |

●Varios estudios previos, confirman esto:

Según Look, en su estudio de 205 niños con índice de ADN igual o mayor a 1.16, éstos fueron considerados como pronóstico favorable debido a que la inducción a la remisión fue mejor (encontrándose que la tasa de inducción a la remisión fue del 94%). (10)

De acuerdo a Smets los pacientes con LAL hiperdiploide tienen una sobrevida mayor (90.6%) comparados con el 82% de sobrevida de pacientes no-hiperdiploideos, pero no existe significancia estadística ($p=0.08$)

Martin comparó dos categorías en su estudio, dividiéndolas como: favorable (diploide e hiperdiploide alta) y no favorable (pseudodiploide, hiperdiploide bajo e hipodiploide) notando diferencias altamente significativas:

*Diploidía normal: alta incidencia de células T y la mayor sobrevida libre del evento (Buen pronóstico).

*Pseudodiploidía: el más numeroso, 20 casos de alteraciones citogenéticas.

*Hiperdiploidía Alta (>50 cromosomas): se asoció con el curso benigno de la enfermedad y el índice de mortalidad mas bajo. Recaída en pacientes con alteraciones estructurales.

*Hiperdiploidía (47-50 cromosomas): alta incidencia de recaída.

*Hipodiploidia: Alta incidencia de alteraciones cromosómicas.

Hussein determinó como factores pronósticos desfavorables: edad superior a 10 años, infiltración a sistema nervioso central, fenotipo T e IADN menor de 1.16. Encontró IADN igual o mayor a 1.16 en 15% de los pacientes, encontrándose fenotipo LAL precursor células B en 73.4% y LAL-T en 26.6%. 135 mostraron remisión completa. Se presentó mejor respuesta a la inducción en el grupo LAL precursor de células B que en LAL-T.

Pui demuestra que el uso de la citometría de flujo permite la comparación del contenido de ADN (IADN) pero no distingue células pseudodiploides con traslocaciones así como otras anormalidades. No es lo suficientemente sensible para detectar ganancias o pérdidas pequeñas del ADN. Se presentaron traslocaciones y mayor falla en la terapia en hipodiploides comparadas con hiperploidías. La hipodiploidía es poco frecuente (7.6%) pero está claramente asociado a respuesta adversa al tratamiento. Tanto hipodiploides como pseudodiploides mostraron respuestas pobres al tratamiento. (12,13)

Trueworthy notó que el índice de ADN, la cuenta leucocitaria y la edad son suficientes para clasificar a los pacientes con LAL-B dentro de un riesgo y factor pronóstico, así como para el empleo de la terapéutica indicada. Asoció el contenido de ADN con respecto a la edad de los pacientes (a mayor edad menor contenido de ADN) así como con la cuenta leucocitaria. (17)

La sobrevida libre del evento fue mayor en el grupo con IADN igual o superior a 1.16. (17)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA (PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN)

P D I

* ¿Cuál es la utilidad diagnóstica del Índice de ADN utilizado como factor pronóstico para supervivencia en niños con LAL en el INP de 1999 al 2004?

Justificación

En el caso de las leucemias agudas linfoblásticas, por años se han utilizado diversos factores pronósticos ayudándonos al manejo de las mismas, además de estratificar a los pacientes como de riesgo alto y riesgo habitual. Los principales factores pronósticos usados durante años: edad, sexo y cuenta leucocitaria ($p:0.000.1$). En el caso de la edad, se considera de mal pronóstico menor al año y mayor de 10 años, ya que la remisión completa continúa cambia de acuerdo a la edad del paciente, se sabe que es menor de 20% en niños menores de 1 año; 40% en niños de mas de 10 años y 60% en niños entre 1 y 10 años al diagnóstico ($p: <.0001$)(1); además la supervivencia libre de enfermedad a 5 años cambia de acuerdo a las edades, en el grupo de los menores de 1 año se encuentra en 40%, los niños de entre 1-9 en 60%, y los mayores de 10 años en 45%. Se sabe también que las tasas de supervivencia libre de enfermedad a largo plazo para los menores de 1 año, 1-9, y 10 o más se encuentran en 20, 61, 41% respectivamente (7).

En cuanto a la cuenta leucocitaria mayor de 50,000/ml en leucemias linfoides establece un mal pronóstico para el paciente. La mejor remisión completa continua se obtiene en pacientes con cuenta leucocitaria menor de 5,000 (30%) y la peor supervivencia se exhibe en pacientes con leucocitos por arriba de 100,000 a 200,000. La diferencia en cuanto a Remisión completa a 10 años es de 27% en aquellos con cuentas mayores a 65% en aquellos con cuenta leucocitaria menor (1). Sather demuestra que la cuenta leucocitaria y la edad tienen una fuerte relación, notando que el grupo de menores de 1 año tienen cuenta mayor a 50,000/ml comparado con solo 13% en el grupo de edad favorable, 1-9 (7).

El Índice de ADN, se ha utilizado recientemente, para clasificar a las leucemias en Riesgo bajo (mayor o igual a 1.16), Riesgo habitual o intermedio (1 a 1.15), Riesgo Alto (0.82 a 0.99), Riesgo extremadamente alto (menor a 0.81). Varios autores han observado que este factor pronóstico podría englobar el resto de los factores más frecuentemente utilizados; por lo que se podría utilizar únicamente el IADN

para clasificar a los pacientes y definir un pronóstico y así mismo determinar el tratamiento de éstos dependiendo de la clasificación.

En este hospital desde 1999 se ha medido el IADN a través de la citometría de flujo, aunque el iADN se ha considerado como un factor de valor pronóstico individual, en nuestro medio no se ha analizado su utilidad como factor aislado, y se sigue tomando necesariamente asociado al cariotipo. Hasta este momento no se ha utilizado como factor determinante para modificar la clasificación de riesgo y consecuentemente el tratamiento de los pacientes con Leucemia linfoblástica aguda, por lo que la importancia de este estudio será establecer el impacto real que el iADN representa en el pronóstico de pacientes con LAL que actualmente tienen un seguimiento mínimo de 32 meses hasta 5 años.

Los resultados de éste estudio permitirán que el hematólogo pediatra tenga un panorama más amplio al momento de iniciar el tratamiento de los pacientes con ésta enfermedad y tendrá la posibilidad de ofrecer al paciente y a sus familiares un pronóstico fundamentado en una investigación con alto rigor metodológico.

Objetivos

* Objetivo general:

Eficacia del IADN medido mediante citometría de flujo como factor pronóstico en niños con LAL en el INP de 1999 al 2004.

*Objetivos individuales:

Determinar la eficacia pronóstica del IADN y edad en niños con LAL en el INP de 1999 al 2004.

Determinar la eficacia pronóstica del IADN y cuenta leucocitaria en niños con LAL en el INP de 1999 al 2004.

Material y métodos

Diseño

Tipo de estudio

Estudio de cohorte, retrospectivo.

Este estudio se dividirá en dos fases:

Fase 1: Se revisarán expedientes del INP desde 1999 al 2004 de pacientes con leucemia linfoblástica que hayan recibido el mismo esquema de tratamiento durante este tiempo y con los criterios de inclusión abajo mencionados para así conocer el IADN en nuestros pacientes, de nuestro instituto, realizado con nuestros equipos y con nuestra prevalencia, ya que no existen estudios mexicanos que nos reporte como se comportan (en cuanto a evolución: sobrevida, recaída, muerte) los pacientes en nuestro medio.

Fase 2: Estudio prospectivo, donde se conocerá el índice de concordancia interobservador en cuanto a la realización del IADN en el Instituto Nacional de Pediatría con el citómetro de flujo Cytomics FC 500 que es el que actualmente se utiliza y realizar nuevamente la estandarización de la metodología, aunque la compañía Beckman Coulter ya estudió la exactitud del método, encontrando un grado de coincidencia entre el sistema tetraCXP de Cytomics FC 500 y el sistema tetraONE para el citómetro de flujo EPICS® XL2 (CV en el instituto de 4.88) lo que apoya la hipótesis de que los sistemas son equivalentes en sus prestaciones. (16)

Variables

- Edad al diagnóstico**
- Sexo**
- Cuenta leucocitaria al diagnóstico**
- Infiltración a SNC**
- Infiltración a testículo**
- Masa mediastinal**
- Clasificación citomorfológica**
- Clasificación inmunológica**

•IADN al diagnóstico

•Respuesta temprana al tratamiento

Definiciones operacionales:

*EDAD: Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo.

Escala de medición: Cuantitativa

Categoría de la medición: <1 año, 1 a 10 años, >10 años.

*SEXO: Referencia a género como masculino y femenino.

Escala de medición: Nominal.

Categoría de la medición: Femenino/Masculino

*CUENTA LEUCOCITARIA: Cantidad de leucocitos en sangre periférica

Escala de medición: Nominal

Categoría de la medición: 10,000, 10,000 a 50,000, más de 50,000

*INDICE DE ADN: Se define de acuerdo a la nomenclatura internacional por citometría del ADN como un promedio entre el contenido de DNA leucémico a estudiar y el contenido de ADN en células normales en fase G0/G1.

Índice de ADN:

Contenido de ADN leucémico_____

Contenido de ADN en células normales en fase G0/G1

Escala de medición: Nominal

Categoría de la medición: < 0.81 , 0.81-1.0, 1.0-1.15, > o igual a 1.16

*INFILTRACION A SNC: Invasión de células malignas (leucémicas) a través de la barrera hematoencefálica hacia el SNC, diagnosticado por la presencia de > o igual 5 leucocitos en LCR + la presencia de cualquier número de blastos.

Escala de medición: Cualitativa

Categoría de la medición: Presente/Ausente

***INFILTRACION A TESTICULO:** Invasión o detección de células malignas, en este caso leucémicas a nivel testicular, puede ser unilateral o bilateral.

Escala de medición: Cualitativa

Categoría de la medición: Presente/Ausente

*** MASA MEDIASTINAL:** Aumento de volumen a nivel del espacio localizado en la porción central del tórax, entre ambas cavidades pleurales; incluye a todas las vísceras con excepción de los pulmones.

Se divide en tres compartimientos: anterior, medio y posterior.

Escala de medición: Cualitativa

Categoría de la medición: Presente/Ausente

***CLASIFICACION CITOMORFOLOGICA:** Distinción de 3 diferentes subtipos de leucemia dependiendo de las características del blasto. Se dividen en: L1, L2, L3

| 8. Características citomorfológicas del linfoblasto según criterios del grupo Franco-Americano-Británico para LAL | | | |
|---|------------------|------------------|--------------------|
| Característica citológica | Tipo L1 | Tipo L2 | Tipo L3 |
| Tamaño | Pequeño | Grande | Grande |
| Cromatina | Homogénea | Heterogénea | Homogénea |
| Nucleolo | Regular 1 a 2 | Grande 1 a 3 | Prominente 1 a más |
| Citoplasma | Escaso | Moderado | Moderado-abundante |
| Basofilia | Discreta | Variable | Profunda |
| Vacuolas | Ausentes-escasas | Ausentes-escasas | Prominentes |

Escala de medición: Nominal

Categoría de la medición: L1, L2, L3

***CLASIFICACION INMUNOLOGICA:** Expresión de cluster de diferenciación de acuerdo al linaje presentado por la célula leucémica.

-LAL precursor de célula B

*** preB temprana: CD22+, CD79ac+, CD19+, HLA DR+, TdT+, cIGu-, sIG-;**

***preB: CD19+, CD10+, CD20+, cIGu+;**

***preB transicional: CD19+, CD10+, CD20+, cIGu+, sIG+, k y l -;**

***B madura: CD19+, CD10+, CD20+, sIG+, sIGk+, sIGl+**

-LAL T (CD2+,CD3+, CD4+, CD5+, CD7+

Escala de medición: Ordinal

Categoría de la medición: LAL precursor de célula B (pre B temprana, preB, preB transicional, B madura) / LAL células T.

***RESPUESTA TEMPRANA AL TRATAMIENTO: Ausencia de evidencia clínica y microscópica de enfermedad. MO = M1 (menos de 5% blastos en el día 14), MO = M3 (Mas de 25% blastos en el día 14)**

Escala de medición: Nominal

Categoría de la medición: Menos de 5% blastos en día 14/ Más de 25% blastos en día 14

Población

P Objetivo

Niños y niñas de 0 a 16 años con dx LAL

P Elegible

Que hayan ingresado con éste diagnostico al servicio de Hematología del INP desde 1999 al 2004

•Criterios de Inclusión

Niños y niñas

de 0 a 16 años

con diagnóstico de LAL,

que hayan ingresado al servicio de Hematología del INP desde 1999 al 2004

a los que se les haya realizado la determinación del IADN al diagnóstico, previo a tratamiento alguno y que hayan recibido el tratamiento específico.

●Criterios de Exclusión

Pacientes con:

Leucemia mieloblástica,

A los que no se les haya realizado el IADN,

Con otra patología oncológica agregada,

Con tratamiento previo en otro hospital o cualquier tratamiento ya que modifica el IADN al dx.

Con Sx de Down, endocrinopatías, cardiopatías complejas y otras patologías que influyan en que el paciente no siga el tratamiento en forma adecuada.

Pacientes que hayan fallecido en remisión

Método

Instrumento de recolección de información:

La información se recabará en tablas con el siguiente formato. Ver Anexo 1.

●Tamaño de la muestra

Se incluirán todos los pacientes con LAL tratados en el INP desde 1999 hasta 2004 a los que se les haya realizado IDNA, por lo que al final calcularemos el poder estadístico de la muestra

Análisis estadístico

La Información que se obtenga se recopilará en las tablas realizadas para este fin. Se utilizará estadística univariada, para las variables cualitativas: tasas y proporciones, para las variables cuantitativas medias, medianas, desviación estándar. Se calculará la normalidad y simetría de la distribución de las variables de impacto con la prueba de Kolmogorov Smirnov. En caso de no normalidad, se transformarán las variables en cuestión a su logaritmo natural. Si persiste la no normalidad se trabajará con estadística no paramétrica.

Las pruebas de hipótesis que se considerarán serán χ^2 y en su caso prueba exacta de Fisher para variables cualitativas. En el caso de variables cuantitativas se utilizará t-student o ANOVA.

La utilidad diagnóstica se evaluará con Sensibilidad, Especificidad, Valor predictivo negativo y positivo y Razones de Verosimilitud negativa y positiva.



ANEXO 1

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

IDNA COMO FACTOR PRONÓSTICO INDIVIDUAL EN NIÑOS CON LAL DE 1994 A 2004.

Nombre: |_|_|_|_|

No. Expediente: |_|_|_|_|_|_|_|_|

Sexo: 1|F| 2|M|

Fecha de Nacimiento: |_|_|_|_|_| [dd][mm][aaaa]

Fecha del dx: |_|_|_|_|_| [dd][mm][aaaa]

Leucocitos: |_____|

|_| 0|<10,000| 1|10,000-50,000| 2|>50,000|

Porcentaje de blastos en Sangre: |__|

Blastos mm3: |__|

Porcentaje de blastos en Médula ósea: |__|

Leucocitos día 14: |__|

Blastos día 14: |__|

Respuesta temprana al tratamiento: |__| 0|Mala| 1|Buena|

Inmunofenotipo: |__| 1|Células B| 2|Células T| 3|Indiferenciada|

IDNA: |__| 1|<0.81| 2|0.81-1.0| 3|1.0-1.15| 4|> o igual 1.16|

Cariotipo: |__| 0|Ausente| 1|Presente|

Cariotipo: Tipo |_____|

Evolución: |__| 1|Supervivencia| 2|Recaída| 3|Muerte|

Remisión completa continua |____| [meses]

Cese de quimioterapia |____| [meses]

Recaída: |__| 0|Temprana| 1|Tardía|

Fecha Última Consulta: |_|_|_|_|_| [dd][mm][aaaa]

Infiltración:

|__| SNC 0|Ausente| 1|Presente|

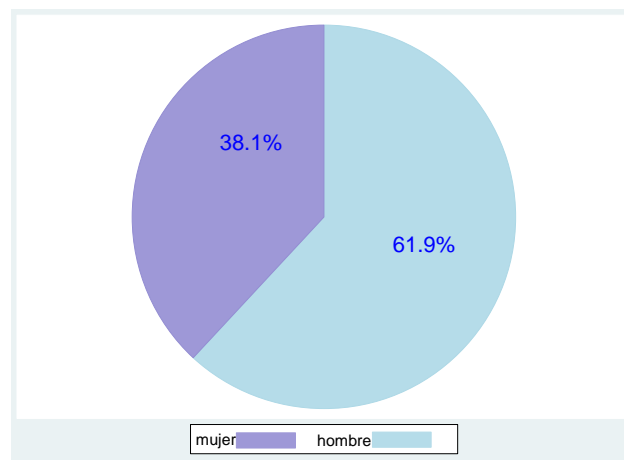
|__| Testículo 0|Ausente| 1|Presente|

Observaciones |_____|

“INDICE DE ADN COMO FACTOR PRONOSTICO INDIVIDUAL EN LEUCEMIA AGUDA LINFOBLASTICA EN NIÑOS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA DE 1999 A 2004”

Resultados

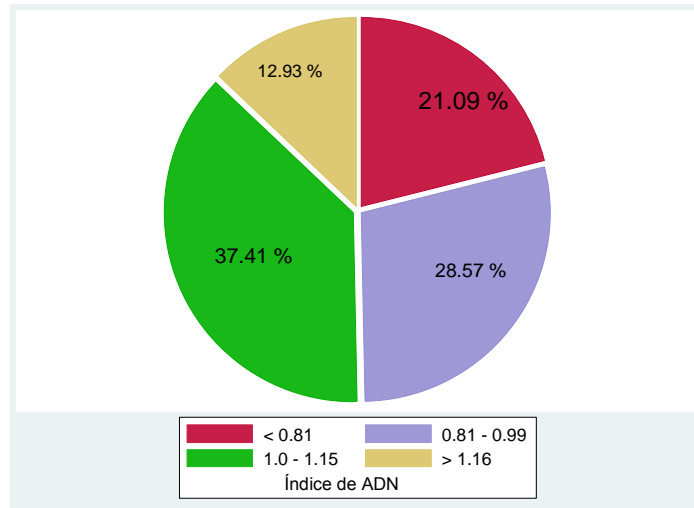
El análisis incluyó a 147 pacientes del Instituto Nacional de Pediatría (INP) con edades entre los 7 meses hasta los 15 años (180 meses) con una media de 88.45 meses (desv. est. 51.07). La distribución por sexo fue de 61.9% para hombres y de 38.1% para mujeres. (gráfica 1)



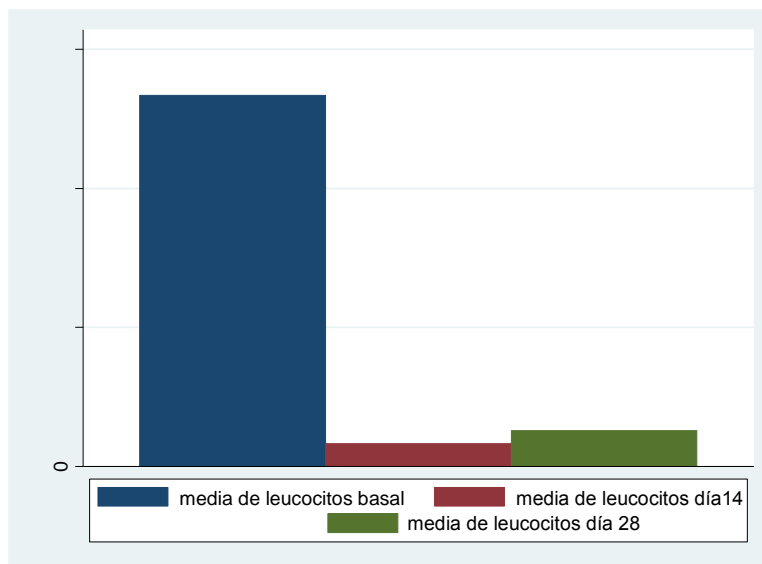
Gráfica 1. Distribución por sexo de los niños con leucemia aguda linfoblástica del Instituto Nacional de Pediatría (INP).

El 92.52% de los pacientes tuvo una respuesta temprana al tratamiento, con una media de supervivencia de 38.04 meses (desv. est. 27.06). El índice de ADN se distribuyó de la siguiente manera entre la población estudiada: menor a 0.81 en el 21.09% de los pacientes, entre 0.81 y 0.99 en el 28.57% de los pacientes, entre 1 a 1.15 en el 37.41% de los pacientes y mayor a 1.16 en el 12.93% de los pacientes. (gráfica 2)

Gráfica 2. Distribución de los niveles del índice de ADN entre los niños con leucemia aguda linfoblástica del Instituto Nacional de Pediatría (INP).



Gráfica 3. Distribución del promedio de la cuenta leucocitaria (al diagnóstico, día 14 de tratamiento y día 28 de tratamiento) durante el seguimiento de los niños con leucemia aguda linfoblástica del INP (1999 a 2004).



Dentro del análisis estadístico de esta investigación, se obtuvieron medidas de tendencia central para el análisis univariado. Para el análisis de las variables cualitativas se obtuvieron tasas y proporciones y para las variables cuantitativas se obtuvieron medias, medianas y desviación estándar. Para comprobar significancia estadística se utilizaron pruebas de χ^2 y para los valores esperados menores a cinco se utilizó la prueba exacta de Fisher.

En la tabla 1 se observan estadísticas descriptivas de las variables de interés de acuerdo a buena¹ y mala² evolución de los pacientes encontrando los siguientes resultados.

Tabla 1. Estadísticas descriptivas de las variables de interés en el estudio de los niños con leucemia aguda linfoblástica del INP (1999 a 2004).

| Variables | Total % (n=147) | Buena ¹ Evolución (n=65) | Mala ² Evolución (n=66) | P* |
|--|--------------------|--|---------------------------------------|---------|
| Sexo | | | | |
| Hombre | 61.90 | 48.75 | 51.25 | 0.803 |
| Mujer | 38.10 | 50.98 | 49.02 | |
| Cuenta leucocitaria al diagnóstico | | | | |
| >50,000 | 22.45 | 25.93 | 74.07 | 0.006 |
| <50,000 | 77.55 | 55.77 | 44.23 | |
| Blastos en médula ósea al diagnóstico | | | | |
| Médula ósea en M1 | 0.68 | 100 | 0 | 1.000** |
| Médula ósea en M2 | 0.68 | 0 | 100 | |
| Médula ósea en M3 | 98.64 | 49.61 | 50.39 | |
| Cuenta leucocitaria al día 14 | | | | |
| >50,000 | 6.8 | 0 | 100 | 0.003** |
| <50,000 | 93.2 | 53.28 | 46.72 | |
| Blastos en médula ósea al día 14 | | | | |
| Médula ósea en M1 | 99.31 | 49.61 | 50.39 | 0.315 |
| Médula ósea en M2 | 0.69 | 100 | 0 | |
| Médula ósea en M3 | 0 | 0 | 0 | |
| Cuenta leucocitaria al día 28 | | | | |
| >50,000 | 2.72 | 33.33 | 66.67 | 1.000** |
| <50,000 | 97.28 | 50 | 50 | |
| Blastos en médula ósea al día 28 | | | | |
| Médula ósea en M1 | 100 | 50 | 50 | |
| Médula ósea en M2 | 0 | 0 | 0 | |
| Médula ósea en M3 | 0 | 0 | 0 | |
| Respuesta temprana a tratamiento | | | | |
| No | 7.48 | 10 | 90 | 0.009 |
| Si | 92.52 | 52.89 | 47.11 | |
| Índice ADN | | | | |
| < 0.81 | 21.09 | 60.71 | 39.29 | 0.230 |
| 0.81 - 0.99 | 28.57 | 51.35 | 48.65 | |
| 1.0 - 1.15 | 37.41 | 38.78 | 61.22 | |
| > ó = 1.16 | 12.93 | 58.82 | 41.18 | |

¹ Buena Evolución definida por remisión completa continúa, cese del tratamiento o curación

² Mala Evolución definida por contar con los demás criterios: recaída, falla al tratamiento, o muerte del paciente.

* Valores p obtenidos con prueba de χ^2

** Valores p obtenidos con prueba exacta de Fisher por contener valores esperados <5.

En cuanto al buen o mal pronóstico respecto a la cuenta leucocitaria al diagnóstico, observamos que el 55.7% de los pacientes que tuvieron cuenta leucocitaria por debajo de 50,000 mostraron buena evolución, mientras que 74.1% de los que pacientes que tuvieron leucocitos >50,000 tuvieron mala evolución. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p= 0.006$).

También se encontraron diferencias significativas en cuanto al buen o mal pronóstico respecto a la cuenta leucocitaria al día 14. Observamos que el 53.3% de los pacientes que tuvieron leucocitos <50,000 mostraron buena evolución, mientras que 100% de los que pacientes que tuvieron leucocitos altos >50,000 tuvieron mala evolución.

Además, también se encontraron diferencias significativas en cuanto al buen o mal pronóstico respecto a la respuesta temprana al tratamiento. Observamos que el 90% de los pacientes que no tuvieron respuesta temprana al tratamiento mostraron mala evolución, mientras que el 52.9% de los pacientes que si tuvieron respuesta temprana al tratamiento mostraron buena evolución.

Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en la evolución relacionada al sexo, cuenta de blastos en médula ósea al diagnóstico y día 14, así como cuenta leucocitaria al día 28.

En cuanto al índice de ADN se observó que dentro de los pacientes que presentaron buena evolución el 58.8% presentaron un índice mayor a 1.16, mientras que en los pacientes con mala evolución este porcentaje fue de 41.2%. Para los pacientes con buena evolución el 38.8% presentaron un índice de ADN entre 1 y 1.15, mientras que entre los que presentaron mala evolución el porcentaje fue de 61.2%. La gran mayoría de los sujetos se clasificaron en la categoría intermedia. Sin embargo estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Referente a las variables cuantitativas, se encontró que sí existen diferencias significativas en cuanto al buen o mal pronóstico respecto a la sobrevida en meses (tabla 2).

Tabla 2. Estadísticas descriptivas de variables numéricas en el estudio de los niños con leucemia aguda linfoblástica del INP (1999 a 2004).

| Variables | Total μ (sd) | Buena Evolución μ (sd) | Mala Evolución μ (sd) | p* |
|--------------------|---------------------|-------------------------------|------------------------------|--------|
| Edad en meses | 88.45 (51.07) | 83.6 (44.89) | 90.74 (53.69) | 0.4107 |
| Sobrevida en meses | 38.04 (27.06) | 58.84 (18.33) | 24.12 (20.92) | <0.001 |

* Valores p obtenidos con prueba de χ^2

Observamos que el promedio de la sobrevida en los pacientes con buena evolución es de 58.8 meses (desv. est. 18.33) y en los pacientes con mala evolución es de 24.1 meses ($p < 0.001$).

En cuanto al buen o mal pronóstico respecto a la edad, se encontró que el promedio de ésta fue de 83.6 meses (desv. est. 44.89) para los pacientes con buena evolución, y para los de mala evolución fue de 90.74 meses. Sin embargo estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Para el análisis de medidas de asociación se obtuvieron modelos de regresión logística ajustando por las variables de interés, tomando a la variable de evolución como variable de respuesta y el índice de ADN como variable explicativa (tabla 3).

Tabla 3. Efecto de las diferentes variables de interés en la evolución de los niños de 7 meses a 15 años de edad con Leucemia Aguda Linfoblástica del Instituto Nacional de Pediatría de 1999 al 2004.

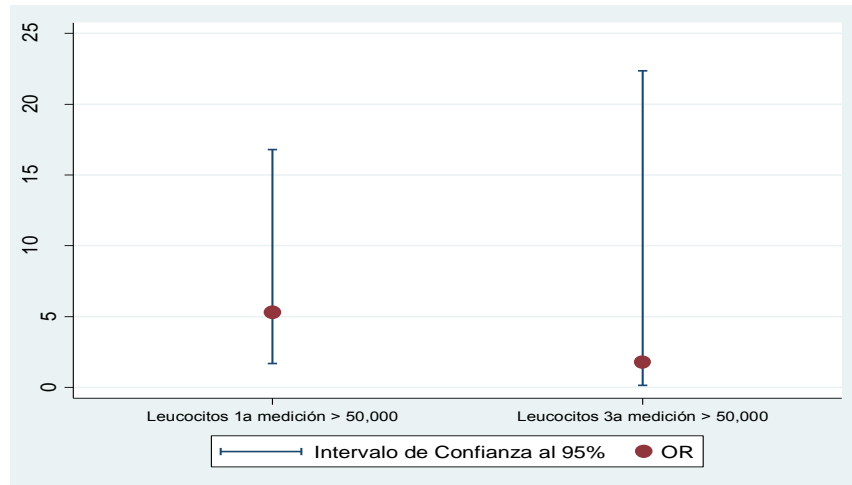
| Variables | Evolución del paciente | | | valor p |
|-----------------------------------|------------------------|----------------------|---------|---------|
| | OR* | IC 95 % ⁺ | | |
| Sexo | 1.01 | 0.4536 | 2.2155 | 0.995 |
| Edad en meses | 1.00 | 0.9915 | 1.0111 | 0.793 |
| Leucocitos al diagnóstico >50,000 | 5.31 | 1.6826 | 16.8097 | 0.004 |
| Leucocitos al día 28 > 50,000 | 1.78 | 0.1431 | 22.3734 | 0.652 |
| Respuesta temprana a tratamiento | 0.09 | 0.0101 | 0.8163 | 0.032 |
| Índice DNA | | | | |
| 0.81 - 0.99 | 1.32 | 0.4459 | 3.9496 | 0.611 |
| 1.0 - 1.15 | 3.00 | 1.0254 | 8.7861 | 0.045 |
| > ó = 1.16 | 1.08 | 0.2618 | 4.4630 | 0.914 |

*Odds Ratio (Razón de Momios) del modelo de regresión logística múltiple.

⁺ Intervalo de Confianza al 95%.

Se encontró evidencia de una asociación altamente significativa ($p=0.004$) entre la cuenta leucocitaria al diagnóstico mayor a 50 mil leucocitos y la evolución del paciente. El contar con una cuenta leucocitaria al diagnóstico mayor a 50 mil se asocia a tener 5 veces mayor posibilidad de presentar una mala evolución. (gráfica 4)

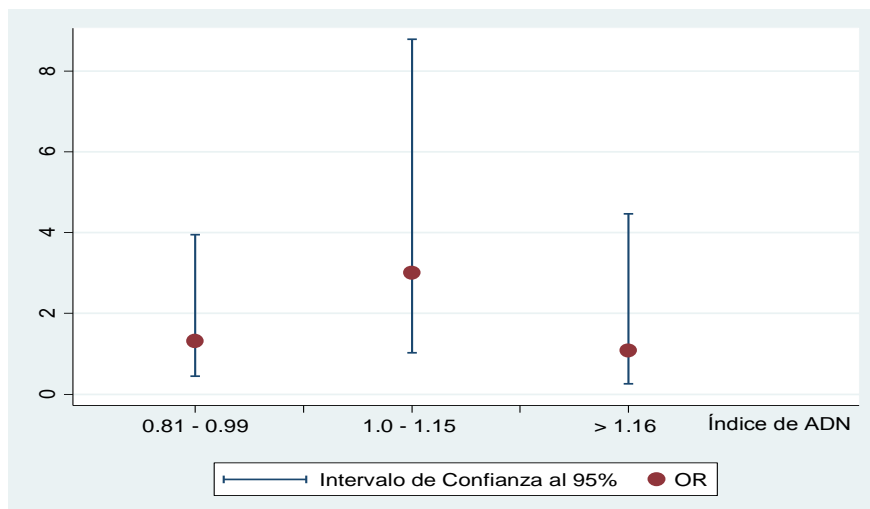
Gráfica 4. Comparación entre los OR's de la cuenta leucocitaria al diagnóstico y cuenta leucocitaria al día 28 mayor a 50 mil y la evolución del paciente en los niños con leucemia aguda linfoblástica del INP.



También se encontró evidencia significativa ($p=0.032$) sobre la respuesta temprana al tratamiento. Ésta se asocia a una mejor evolución del paciente, es decir que el presentar una respuesta temprana al tratamiento por parte de los pacientes se asocia a obtener una disminución del 9% en la posibilidad de presentar mala evolución.

Respecto al índice de ADN, los pacientes que presentaron un índice de 1 a 1.15 tienen 3 veces mayor posibilidad de presentar una mala evolución en comparación con los pacientes que presentaron un índice de ADN menor a 0.81. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p=0.040$). (gráfica 5)

Gráfica 5. Comparación entre los OR's del índice de ADN en comparación con el índice de ADN <0.81 en los niños con leucemia aguda linfoblástica del INP.



En cuanto a las variables de sexo, edad, leucocitos al día 28, e índice de ADN del resto de las categorías, no se encontró evidencia estadísticamente significativa para la asociación de éstas con la evolución de los pacientes.

Tabla 4. Estadísticas descriptivas de las variables de interés en el estudio de los niños con leucemia aguda linfoblástica del INP (1999 a 2004) en hombre y mujeres.

| Variables | ÍNDICE DE ADN | | | | p* |
|----------------------------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------|
| | < 0.81 | 0.81 - 0.99 | 1.0 - 1.15 | >= 1.16 | |
| TOTAL DE PACIENTES | 31 (21%) | 42 (28.57%) | 55 (37.41%) | 19 (12.92%) | |
| Edad | | | | | |
| menores a un año | 0 | 3(7%) | 1 | 0 | 0.103 |
| 1-10 años | 18 (58%) | 30 (71.42%) | 36 (68%) | 16 (73%) | |
| mayor a 10 años | 13 (42%) | 9 (21%) | 18 (31%) | 3 (27%) | |
| Leucocitos al diagnóstico | | | | | |
| <50,000 | 22 (72%) | 27 (64%) | 47 (84%) | 18 (90%) | 0.269 |
| 50,000 – 100,000 | 1 (3.3%) | 8 (19%) | 6 (13%) | 1(10%) | |
| >100,000 | 8 (26.3%) | 7(16.6%) | 2 (3%) | 0 | |
| Evolución | | | | | |
| Curado | 17 (54%) | 19 (45%) | 19 (34.54%) | 11 (58%) | 0.163 |
| Remisión | 0 | 8(19%) | 16 (29%) | 1 (5%) | |
| Muerte | 14 (45%) | 15 (35%) | 20 (36%) | 7 (36%) | |

Analizando globalmente tanto hombres como mujeres (tabla 4) se encontró que de 147 pacientes 31 pacientes (21%) tuvieron IDNA <0.81, 42 pacientes (28.57%)

IDNA 0.81-0.99, 55 pacientes (37.41%) IDNA 1.0-1.15, y 19 pacientes (12.92%) IDNA mayor o igual a 1.16.

En los pacientes con IDNA <0.81 se encontró que el 58% de ellos tenían edad entre 1 y 10 años, con cuentas leucocitarias por debajo de 50,000, y que 54% llegaron a cese en contra de un 45% que fallecieron.

En los pacientes con IDNA de 0.81-0.99, 71% tenían edad entre 1-10 años, con cuentas leucocitarias menores a 50,000, y con curación del 45%.

En los pacientes con IDNA de 1.0-1.15 la mayoría estaban en el rango de edad de entre 1 y 10 años, con cuentas leucocitarias bajas en un 84%, y cabe mencionar que el 36% de los pacientes fallecieron en contra de un 34% que llegaron a cese y 29% que aun están en remisión.

En los pacientes con IDNA mayor a 1.16 el 73% tenían edad en 1 y 10 años, con cargas leucocitarias bajas y 58% de ellos alcanzaron el cese de tratamiento contra sólo 36% que fallecieron secundarios a infección más no a recaída.

La tasa de remisión para el global de los pacientes fue de 61% , con una sobrevida libre de evento de 59 meses.

Tabla 5. Estadísticas descriptivas del IDNA en contra de edad, leucocitos y evolución del paciente en el estudio de los niños con leucemia aguda linfoblástica del INP (1999 a 2004) en hombres.

| Variables | ÍNDICE DE ADN | | | | P* |
|----------------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|---------------|-------|
| | < 0.81 | 0.81 - 0.99 | 1.0 - 1.15 | >= 1.16 | |
| Sexo | | | | | |
| Hombre | 17 (18.68%) | 25 (27.47%) | 38 (41.76%) | 11 (12.09%) | 0.549 |
| Edad | | | | | |
| menores a un año | 0 | 1 (4%) | 0 | 0 | 0.103 |
| 1-10 años | 12 (70.5%) | 21 (84%) | 26 (68%) | 8 (73%) | |
| mayor a 10 años | 5 (29.5%) | 3 (12%) | 12 (31%) | 3 (27%) | |
| Leucocitos al diagnóstico | | | | | |
| <50,000 | 12 (70%) | 19 (76%) | 32 (84%) | 10 (90%) | 0.269 |
| 50,000 – 100,000 | 1 (6%) | 3 (12%) | 5 (13%) | 1 (10%) | |
| >100,000 | 4 (24%) | 3 (12%) | 1 (3%) | 0 | |
| Evolución | | | | | |
| Curado | 9 (53%) | 12 (48%) | 12 (31.57%) | 7 (63%) | 0.163 |
| Remisión | 0 | 5 (20%) | 10 (26%) | 0 | |
| Muerte | 8 (47%) (4 recaídas y | 8 (32%) (2 recaídas y | 16 (42%) (10 recaídas y 6 | 4 (37%) (4 | |

Analizando las variables de interés en contra del IDNA (tabla 5) encontramos lo siguiente: 91 pacientes eran hombres y 56 pacientes mujeres.

En cuanto a los hombres encontramos lo siguiente: 18% de ellos tenían IDNA <0.81, 27% IDNA 0.81-0.99, 41% IDNA de 1.0-1.15, y 12% IDNA mayor o igual a 1.16, siendo los de mayor número los de índice de 1-1.15; esto es importante recalcarlo debido a las implicaciones estadísticas que comentaremos más adelante.

En cuanto al IDNA <0.81, observamos que de los 17 pacientes con éste IDNA el 70% tenían edad entre 1 -10 años y sólo el 29% edad mayor a 10 años, mientras que la cuenta leucocitaria al diagnóstico que más se presentó en estos pacientes fue menor a 50,000. En cuanto a la evolución no hubo diferencia estadísticamente significativa, encontrando que 53% de estos pacientes llegaron a cese (curación) y el 47% fallecieron; de éstos últimos el 50% de ellos por recaída.

Respecto al IDNA de 0.81-0.99, observamos que de los 25 pacientes, el 84% de ellos presentaban una edad al diagnóstico de entre 1 -10 años, cuentas leucocitarias en un 76% menores a 50,000 y que 48% de ellos llegaron al cese de tratamiento, 20% se encuentran aun en tratamiento, pero en remisión y 32% fallecieron (con sólo 20% de recaídas en este IDNA).

El IDNA de 1.0-1.15, que fue en el que mayor número de pacientes observamos, 68% de ellos presentaban edad entre 1-10 años y 84% contaban con leucocitos <50,000 al diagnóstico, pero 42% fallecieron, siendo este IDNA el que mayor número de muertes tuvo así como recaídas (42% vs sólo 31% de pacientes curados) y casi un 62% de presentación de recaídas.

Así mismo, la edad de presentación de 1-10 años se observó también con IDNA mayor o igual a 1.16 con cargas leucocitarias de menos de 50,000 pero con una buena evolución de hasta el 63% de curación en los pacientes contra sólo 37% de muertes. Vale la pena hacer notar que los pacientes que fallecieron no contaban con factores de riesgo, y las muertes se relacionaron a infección y no a recaídas.

Tabla 6. Estadísticas descriptivas del IDNA en contra de edad, leucocitos y evolución del paciente en el estudio de los niños con leucemia aguda linfoblástica del INP (1999 a 2004) en mujeres.

| Variables | ÍNDICE DE ADN | | | | P* |
|--------------|---------------|-------------|-------------|------------|-------|
| | < 0.81 | 0.81 - 0.99 | 1.0 - 1.15 | >= 1.16 | |
| Sexo | | | | | |
| Mujer | 14(25%) | 17 (30.36%) | 17 (30.36%) | 8 (14.29%) | 0.549 |

| | | | | | |
|----------------------------------|---|---|--|-----------|-------|
| Edad | | | | | |
| Menores a un año | 0 | 2 (11.76%) | 1 (5%) | 0 | 0.072 |
| 1-10 años | 6 (42%) | 9 (52.94%) | 10 (58.82%) | 8 (100%) | |
| mayor a 10 años | 8 (57%) | 6 (35.29%) | 6 (35.29%) | 0 | |
| | | | | | |
| Leucocitos al diagnóstico | | | | | |
| <50,000 | 10 (71.42%) | 8 (47.05%) | 15 (88.23%) | 8 (100%) | 0.021 |
| 50,000 – 100,000 | 0 | 5 (29.41%) | 1 (5.8%) | 0 | |
| >100,000 | 4 (28.57%) | 4 (23.52%) | 1 (5.8%) | 0 | |
| | | | | | |
| Evolución | | | | | |
| Curado | 8 (57.14%) | 7 (41.17%) | 7 (41.17%) | 4 (50%) | 0.086 |
| Remisión | 0 | 3 (17.64%) | 6 (35.29%) | 1 (12.5%) | |
| Muerte | 6 (42.85%) (2 recaídas y 4 infecciones) | 7 (41.17%) (2 recaídas y 4 infecciones) | 4 (23.52%) (1 recaída y 3 infecciones) | 3 (37.5%) | |

En el grupo de las 56 mujeres, 25% tenían IDNA <0.81, 30% IDNA 0.81-0.99, 30% IDNA 1.0-1.15, y sólo 14% IDNA mayor o igual a 1.16. Siendo los de mayor proporción el IDNA de 0.81-0.99 y el IDNA de 1.0-1.15.

En cuanto al IDNA <0.81, 57% tenían edad mayor a 10 años, con leucocitos al diagnóstico menores a 50,000 y evolucionaron hacia el cese y curación 57% de ellos, mientras que el 42% fallecieron (2 de ellos por recaída y 4 por infecciones).

En el IDNA 0.81-0.99, la mayor proporción la encontramos en los pacientes de 1-10 años, con un 52%, mientras que el 47% de los pacientes con este IDNA tuvieron leucocitos menores de 50,000 al diagnóstico. La proporción de curación y muerte fueron similares con 41.17% respectivamente, pero con una remisión del 17% (lo que incrementa la buena evolución en estos pacientes).

En el IDNA de 1.0-1.15, 58 % de los pacientes tenían un rango de edad entre 1 y 10 años , con leucocitos menores a 50,000 en el 88% y con una curación similar al IDNA anterior de 41%, pero con mejor remisión que los pacientes anteriores de hasta 35% y sólo 23% de los pacientes fallecieron (10% por recaída únicamente, el resto por infección).

En cuanto al IDNA mayor o igual a 1.16, el 100% de los pacientes tenían una edad entre 1 y 10 años, y el 100% de ellos tenían carga leucocitaria por debajo de 50,000, con una curación de hasta el 50%, remisión del 12% y muerte en un 37.5% (de éstos todos fallecieron por infección y no por recaída).

Todo esto correlaciona con la literatura mundial que refiere los pacientes con este IDNA tienen características clínicas muy particulares como son : edad entre 1 y 10 años, leucocitos menores a 50,000, e inmunofenotipo precursor de células B, con muy buen pronóstico y sobrevida de hasta 90% y remisión del 94%. La presentación en la población infantil de acuerdo a la literatura mundial es de un 15% mientras que en nuestro estudio fue del 14%, también similar.

Para un mejor análisis se realizó estadística descriptiva de las variables de interés separadas por sexo (Tabla 6 y 7) de cada uno de los índices de ADN, encontrando lo siguiente:

Tabla 4. Estadísticas descriptivas de las variables de interés en el estudio de los niños con leucemia aguda linfoblástica del INP (1999 a 2004) en hombres.

| Variables | ÍNDICE DE ADN | | | | p* |
|---|---------------|-------------|------------|---------|-------|
| | < 0.81 | 0.81 - 0.99 | 1.0 - 1.15 | >= 1.16 | |
| Sexo | | | | | |
| hombre | 18.68 | 27.47 | 41.76 | 12.09 | 0.549 |
| Edad | | | | | |
| menores a un año | 0 | 100 | 0 | 0 | 0.103 |
| 1-10 años | 16.13 | 33.88 | 37.10 | 12.90 | |
| mayor a 10 años | 25.00 | 10.71 | 53.57 | 10.71 | |
| Leucocitos al diagnóstico | | | | | |
| <50,000 | 16.44 | 26.03 | 43.84 | 13.7 | 0.269 |
| 50,000 – 100,000 | 10 | 30 | 50 | 10 | |
| >100,000 | 50 | 37.50 | 12.5 | 0 | |
| Respuesta temprana a tratamiento | | | | | |
| sí | 19.05 | 29.76 | 40.48 | 10.71 | 0.171 |
| Evolución | | | | | |
| Curado | 23.08 | 30.77 | 30.77 | 15.38 | 0.163 |
| Remisión | 0.00 | 38.46 | 61.54 | 0.00 | |
| Muerte | 19.23 | 19.23 | 50.00 | 11.54 | |

* Valores p obtenidos con prueba exacta de Fisher por contener valores esperados <5.

En la tabla 4 se observan estadísticas descriptivas de las variables de interés de acuerdo al sexo de los pacientes y a su índice de ADN, encontrando los siguientes resultados en los hombres.

Los hombres presentaron una proporción del 19% para presentar un IDNA <0.81 contra un 12% de pacientes con IDNA mayor o igual a 1.16. Encontrando que la

mayor cantidad de pacientes (41.76%) tenían un IDNA de 1.0-1.15 y sólo el 27% un IDNA 0.81-0.99. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0.549$).

En cuanto a la edad de los pacientes, el 100% de los menores a 1 año de edad, presentaron un índice de ADN entre 0.81 – 0.99. Para los pacientes de entre 1 y 10 años, el 37% se encontró con un IDNA de 1.0 - 1.15, mientras que solo 12.90% de los pacientes tenían IDNA mayor o igual a 1.16 en este rango de edad y 16.13% tenían IDNA menor a 0.81. Entre los mayores de 10 años 54% de los pacientes tenían IDNA entre 1.0-1.15, 25% un IDNA <0.81 , 10% IDNA 0.81-0.99 y 10% IDNA mayor o igual a 1.16. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0.103$). Llama la atención que los pacientes de 1 año en adelante presentan un IDNA de 1.0-1.15 en mayor proporción y no un IDNA >1.16 como lo reportado en la literatura.

Al categorizar la cuenta leucocitaria al diagnóstico, los pacientes con leucocitos menores a 50,000 presentaron un IDNA de 1.0-1.15 en un 44% vs sólo un 13.7% con IDNA igual o mayor a 1.16. Los pacientes con cuenta leucocitaria entre 50,000 – 100,000 presentaron una proporción del 50% para este mismo IDNA, y finalmente los pacientes con una cuenta mayor a 100,000 leucocitos presentaron una proporción del 50% para IDNA <0.81 . Sin embargo esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0.269$).

Por otro lado, tampoco se encontraron diferencias significativas en la respuesta temprana al tratamiento, encontrando que el 40% de los pacientes que sí tuvieron una respuesta temprana presentaron un IDNA de 1.0-1.15; haciéndose notar que los pacientes con IDNA igual o mayor a 1.16 tuvieron una respuesta temprana al tratamiento en solo un 10.71%; proporción mucho menor aún que los pacientes con respuesta temprana al tratamiento con IDNA <0.81 (19.05%).

Para la evolución, el 50% de los pacientes que fallecieron tuvieron un IDNA de 1.0-1.15, mientras que sólo un 11.54% de los que fallecieron se encontraron con un IDNA mayor o igual a 1.16. Los pacientes con IDNA <0.81 y de 0.81 a 0.99 tuvieron una proporción del 19.23% respectivamente. En cuanto a los que presentan remisión a la fecha, 61% de los pacientes en remisión a la fecha presentan un IDNA de 1.0-1.15, y el resto 38.46% presentan un IDNA de 0.81-0.99. En el caso de los pacientes curados, 30% presentaron IDNA de 0.81-0.99 y 30% IDNA de 1.0-1.15; llama la atención que sólo un 15.38% de los pacientes con IDNA mayor o igual a 1.16 presentaron curación con una proporción mucho menor que los pacientes con IDNA <0.81 . Sin embargo estas diferencias tampoco fueron estadísticamente significativas ($p=0.163$).

Tabla 5. Estadísticas descriptivas de las variables de interés en el estudio de los niños con leucemia aguda linfoblástica del INP (1999 a 2004) en mujeres.

| Variables | ÍNDICE DE ADN | | | | p* |
|---|---------------|-------------|------------|---------|-------|
| | < 0.81 | 0.81 - 0.99 | 1.0 - 1.15 | >= 1.16 | |
| Sexo | | | | | |
| Mujer | 25.00 | 30.36 | 30.36 | 14.29 | 0.549 |
| Edad | | | | | |
| Menores a un año | 0.00 | 66.67 | 33.33 | 0.00 | 0.072 |
| 1-10 años | 19.35 | 25.81 | 29.03 | 25.81 | |
| mayor a 10 años | 36.36 | 31.82 | 31.82 | 0.00 | |
| Leucocitos categorizados 1a medición | | | | | |
| <50,000 | 24.39 | 19.51 | 36.59 | 19.51 | 0.021 |
| 50,000 – 100,000 | 0 | 83.33 | 16.67 | 0 | |
| >100,000 | 44.44 | 44.44 | 11.11 | 0 | |
| Respuesta temprana a tratamiento | | | | | |
| sí | 26.92 | 28.85 | 30.77 | 13.46 | 0.664 |
| Evolución | | | | | |
| Curado | 30.77 | 26.92 | 26.92 | 15.38 | 0.086 |
| Remisión | 0.00 | 30.00 | 60.00 | 10.00 | |
| Muerte | 40.00 | 33.33 | 6.67 | 20.00 | |

* Valores p obtenidos con prueba exacta de Fisher por contener valores esperados <5.

Para las mujeres, el 30% presentó un IDNA 0.81-0.99, y 30% IDNA 1.0-1.15. El menor número de pacientes (14.29%) tenían IDNA >1.16 y sólo el 25% IDNA <0.81. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa (p= 0.549).

Para la edad de las pacientes mujeres, el 67% de las menores a 1 año de edad, presentaron un índice de ADN entre 0.81 – 0.99 vs un 30.36% que presentaron IDNA 0.81-0.99, ninguna presentó IDNA > o igual a 1.16. Para las pacientes entre 1 y 10 años, el 29% se encontró con IDNA de 1.0 - 1.15 mientras que el resto de las mujeres se dividieron equitativamente en el resto de los IDNA y para las mayores de 10 años con una proporción del 36% con IDNA < 0.81. Esta diferencia si fue estadísticamente significativa ($p= 0.072$).

Al categorizar la cuenta leucocitaria al diagnóstico, las pacientes mujeres con leucocitos menores a 50,000 presentaron en un 37% un IDNA de 1.0-1.15. Un 83% de las pacientes con cuenta leucocitaria entre 50,000 – 100,000 tenían IDNA de 0.81-0.99, y finalmente un 44% de las pacientes con una cuenta mayor a 100,000 presentaron IDNA de <0.81 y 0.81-0.99 respectivamente. En cuanto a las pacientes con IDNA mayor o igual a 1.16 presentaron cuentas leucocitarias menores a 50,000 en sólo 19.51%, misma proporción que las pacientes con IDNA 0.81-0.99. Esta diferencia también fue estadísticamente significativa ($p= 0.021$).

Por el otro lado, dentro de la respuesta temprana al tratamiento, se encontró que el 31% de las pacientes que obtuvieron respuesta temprana al tratamiento tenían IDNA de 1.0-1.15. Sólo el 13.46% de las pacientes con IDNA mayor o igual a 1.16 tuvieron respuesta temprana, mientras que el resto de los índices (incluido IDNA <0.81) tuvieron proporciones similares con leves variaciones. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p= 0.664$).

En cuanto a la evolución, 40% de las pacientes catalogadas con IDNA <0.81 fallecieron, vs sólo un 6% con IDNA de 1.0-1.15. 20% de las mujeres con IDNA mayor o igual a 1.16 fallecieron. 60% de las mujeres que presentaron remisión tenían IDNA entre 1.0-1.15, sólo 10% IDNA mayor o igual a 1.16 y ninguna tenía IDNA <0.81. Por último, en cuanto a las mujeres curadas, no hubo diferencia importante entre un IDNA y otro, 30.77% de las pacientes curadas tenían IDNA <0.81, 26.92% IDNA 0.81-0.99, 26.92% IDNA 1.0-1.15, la menor proporción de pacientes curadas se observó en el IDNA mayor o igual a 1.16 (15.38%). Siendo éstas estadísticamente significativas ($p=0.086$).

En cuanto a la relación entre Índice de ADN, Inmunofenotipo y cariotipo vs evolución se observó lo siguiente: solo 64 de los 147 pacientes (43%) contaban con determinación de cariotipo. 41 (64%) de éstos pacientes del sexo masculino y 23 (36%) pacientes del sexo femenino, divididos de la forma siguiente: 13 pacientes con IDNA <0.81, 14 pacientes con IDNA 0.81-0.99, 30 pacientes con IDNA 1.0-1.15, y 8 pacientes con IDNA mayor o igual a 1.16 (Tabla 6)

De los pacientes con IDNA menor a 0.81, 15% (2 pacientes) presentaron hipodiploidía, 1 de ellos con inmunofenotipo LAL precursor de células B CD 10+ y carga leucocitaria mayor a 100,000 y el otro con marcador aberrante. El primero de ellos evolucionando a cese y el segundo a muerte. 15% (2 pacientes) presentaron hiperdiploidía a pesar de tener IDNA menor a 0.81 los cuales evolucionaron favorablemente a curación y se observó que ninguno presentó

factores de riesgo agregados. 53% de los pacientes presentaron diploidía con inmunofenotipo precursor de células B CD 10+ presentando la siguiente evolución: 57% (4 pacientes) fallecieron, 3 de ellos catalogados como de alto riesgo por edad y 1 de ellos con cuenta leucocitaria alta; 28% (2 pacientes) evolucionaron a cese y 14% (1 paciente) presentó recaída. 1 paciente presentó traslocación 4: 11 evolucionando a muerte y otro con traslocación 13: 21 actualmente en cese.

En cuanto a los pacientes con IDNA de 0.81-0.99, 72% de los pacientes presentaron diploidía de los cuales 5 evolucionaron a cese, 5 a remisión, y 1 a muerte, todos presentaron inmunofenotipo precursor de células B CD 10+ excepto el paciente que falleció (CD 10 negativo, con carga leucocitaria alta). 21% presentaron hiperdiploidía que evolucionaron a cese, remisión y muerte respectivamente (éste último sin factores de riesgo, CD 10 +) , solo un paciente (7%) presentó hipodiploidía (inmunofenotipo CD 10 negativo) evolucionando a remisión.

En los pacientes con IDNA 1-1.15 encontramos lo siguiente: 5 pacientes cursaron con hiperdiploidía e inmunofenotipo precursor de células B CD 10+, 3 de ellos evolucionaron a cese y 2 a remisión. 2 pacientes cursaron con hipodiploidia encontrándose actualmente en remisión, ambos clasificados como de alto riesgo (por edad y por carga tumoral respectivamente). 16 pacientes con diploidía de los cuales 4 fallecieron (2 de ellos con inmunofenotipo LAL precursor de células B CD 10 – y los otros 2 de riesgo habitual con inmunofenotipo CD 10 +), 6 actualmente se encuentran en cese, 5 en remisión y 1 en falla al tratamiento (CD 10 negativo). Se encontraron múltiples traslocaciones (todas con inmunofenotipo precursor de células B CD 10+) entre ellas: 1 paciente con t 9:22 que evoluciono a muerte, 3 pacientes con t 12: 21 actualmente todos en cese, 1 paciente con t 4:11 (menor de un año y con carga tumoral alta) que falleció, 2 pacientes con t 1:19 que evolucionaron a cese y muerte (este ultimo de riesgo habitual), y 1 t 1:15 con inmunofenotipo LAL nula que falleció.

Por ultimo el IDNA mayor a 1.16, observamos 8 pacientes. 50% con poliploidía (92xxyy) e hiperdiploides altos e inmunofenotipo precursor de células B CD 10+, los cuales 2 se encuentran en cese y 2 fallecieron (éstos de riesgo habitual sin factores de riesgo). 50% con diploidía e inmunofenotipo CD 10 + los cuales evolucionaron 2 a cese, 1 a muerte (sin factores de riesgo) y 1 en remisión. Vale la pena hacer notar que todas las defunciones se relacionaron a infección y no a recaídas.

Conclusiones.

En cuanto a los resultados obtenidos de este estudio se puede concluir que existe asociación entre los pacientes con cuenta leucocitaria mayor a 50 mil para predecir su evolución desfavorable. Así mismo, teniendo los pacientes una respuesta temprana al tratamiento implementado, presentarán una mejor evolución o al menos disminuirá la posibilidad de presentar una evolución desfavorable. Estas asociaciones se presentan indistintamente al sexo del paciente o su edad.

En cuanto a la cuenta leucocitaria al día 14 y 28 y blastos en médula ósea no presentaron evidencia estadísticamente significativa de ser factores predictores de la evolución del paciente. Sin embargo esto puede deberse al pequeño tamaño de la muestra y a que no se logró ajustar por otras variables importantes dentro del estudio como lo son nivel socioeconómico, educación o estado nutricional.

En cuanto al índice de ADN se observó que la categoría de 1 a 1.15 (estudiada globalmente) presentó un riesgo importante como predictor de una evolución negativa de los pacientes, comparando esta categoría con el IDNA menor a 0.81 en los pacientes. Esto nos indica que en la muestra de estudio, aquellos pacientes con un índice de ADN entre 1 y 1.15 se incrementa el riesgo de muerte que aquellos considerados de “riesgo muy alto” o con índice menor a 0.81; aunque haciendo el análisis por sexo, observamos que el riesgo de muerte en este IDNA (1.0-1.15) era mayor en los hombres (estadísticamente no significativo) que en las mujeres (estadísticamente significativo), pero que a su vez tanto hombres como mujeres dentro de este IDNA alcanzaban en mayor proporción la remisión. Además la mayor proporción de hombres curados se encontraron en las categorías de 0.81-1.15 mientras que las mujeres curadas en su mayoría se encontraron con índices menores a 0.81, casi en la misma proporción que el resto de los índices (0.81-1.15) a excepción del índice mayor o igual a 1.16, esto último totalmente diferente a los que se observa en la literatura global.

En cuanto al IDNA relacionado a la edad se observó que los menores de un año (tanto hombres como mujeres) presentan en mayor proporción IDNA de 0.81-0.99 y no IDNA menores a 0.81 como lo mencionado en la literatura. En cuanto a los pacientes con edad entre 1-10 años, éstos presentaron en su mayoría (hombres y mujeres) un IDNA de 1.0-1.15. Los mayores de 10 años un IDNA de 1.0-1.15 (en hombres) y un IDNA <0.81 (en mujeres); esto último estadísticamente significativo.

Por último el IDNA relacionado con leucocitos al diagnóstico se observó que en cuanto a leucocitos menores a 50,000 la mayor proporción de pacientes presentes IDNA de 1.0-1.15, los leucocitos entre 50-100,000 presenta IDNA de 1.0-1.15 y los mayores a 100,000 con IDNA <0.81. Todos estos resultados siendo iguales tanto para hombres como para mujeres.

Por lo tanto el estudio concluye que dentro de la población mexicana que se observó comparada con la literatura global presenta similitudes importantes en cuanto a comparación del IDNA vs leucocitos, y el IDNA vs edad. De entre todos los pacientes con IDNA mayor o igual a 1.16 el 58% de los pacientes se curaron. Aunque también se observó que aunque los pacientes remitían y curaban, muchos también fallecieron, y solo las mujeres presentaron muerte en mayor proporción con IDNA menores a 0.81.

Este resultado aparentemente paradójico podría deberse a que gran parte de la muestra de los pacientes se incluye en esta categoría, y al ser un mayor número de pacientes puede tener una asociación significativa y no así para las demás categorías del índice de ADN. Así mismo, al ser un tamaño de muestra total pequeño, cabe la posibilidad de que esta aparente asociación sea fruto de una variabilidad aleatoria.

Esto nos provee información para conocer las limitantes de este estudio y estar al tanto sobre incluir una muestra mayor o muestras controladas en cuanto a número para cada una de las variables e índices en estudios posteriores, así como incluir variables relevantes dentro del marco teórico.

Por ultimo, tomando en cuenta la relación del cariotipo, inmunofenotipo e IDNA se corrobora lo comentado en publicaciones previas, en cuanto a que los pacientes con IDNA menor a 0.81 presentan mayor riesgo de muerte sin encontrar relación con otro factor de riesgo (edad, carga o inmunofenotipo), así mismo se encuentra que el IDNA mayor a 1.16 efectivamente presentan cariotipos poliploides e hiperdiploides altos pero no observamos que esto influya en la evolución de los pacientes ya que a pesar de tener IDNA mayor a 1.16, hiperdiploidía y no presentar factores de alto riesgo el 50% de estos pacientes fallecieron (por infección) a pesar de no tener factores de riesgo agregados, por lo que en próximos estudios se deberán incluir otras variables que influyan en el pronóstico positivo/negativo del paciente.

Bibliografía:

1. Hammond D, Sather H, Nesbit M et al. Analysis of prognostic factors in acute lymphoblastic leukemia. *Med Pediatr Oncol* 1986; 14: 124-34.
2. Rivera-Luna R., El niño con cancer. 2007. pp51-52.
3. McKenzie S., Hematología Clínica 2da Ed. 2000. pp 799-800.
4. Williams, Beutler. Hematology. 8va Edición. 2000. pp 559-630
5. Hiddemann W, Schumann J, Andreef M, et al. Convention on nomenclature for DNA cytometry. *Cancer Genet Cytogenet* 1984;13:181-183.
- 6.. Forestier E, Holmgren G, Roos G. Flow cytometric DNA index and karyotype in childhood lymphoblastic leukemia. *Anal Cell Pathol.* 1998;17:145–156.
7. Sather, H. Age at diagnosis in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Medical and Pediatric Oncology* 1986; 14:166-172.
8. Nathan and Oski's, Hematology of Infancy of Childhood. Vol I y II.
9. Rivera-Luna, La importancia de los factores pronósticos en leucemia linfoblástica aguda de la población pediátrica en un país en vías de desarrollo. *Revista del Instituto Nacional de Cancerología* 2000; 46, No 4: 260-266.
10. Look A, Roberson P, Williams D, et al. Prognostic importance of blasts cell DNA content in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1985;65:1079-1086.
11. Romero-Guzmán L, Rangel-López A, Paredes-Aguilera R et al Determinación del índice de DNA mediante citometría de flujo en niños con leucemia linfoblástica aguda *Acta Pediatr Mex* 2000; 21(1): R1
12. Pui CH, Williams DL, Raimondi SC, Rivera GK, Look AT, Dodge RK, George SL, Behm FG, Crist WM, Murphy SB: Hypodiploidy is associated with a poor prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 70:247, 1987
13. Pui C-H, Raimondi SC, Dodge RK, et al. Prognostic importance of structural chromosomal abnormalities in children with hyperdiploid (>50 chromosomes) acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 1989;73:1963–1967.
14. Trueworthy R, Shuster J, Look T, et al: Ploidy of lymphoblasts is the strongest predictor of treatment outcome in B-progenitor cell acute lymphoblastic leukemia of childhood: A Pediatric Oncology Group study. *J Clin Oncol* 10:606-613, 1992

15. Nygaard et al. J Pediatric Hematology Oncology. Volume 28, Number 3, March 2006

16. Guía del sistema tetraCXP Cytomics FC500 2004.

17. Rangel L, Angélica. "Determinación del Índice de DNA por citometría de flujo en niños con leucemia linfoblástica aguda". Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias. 2000.

18. Chikako Ito., Kumagai M., Manabe A., et cols. Hyperploid Acute lymphoblastic leukemia with 51 to 65 cromosomes: A distinct biological entity with a marked propensity to undergo apoptosis. Blood, Vol 93: 315-320. 1999

19. Vindelov LL; Christensen IJ; Nissen NI. 1983a. Standarization of high resolution flow cytometric DNA analysis by the simultaneous use of chicken and trout red blood cells as internal reference standards. Cytometry 3: 328-331.

20. Vindelov LL.; Christensen IJ.; Jensen G.; Nissen NI. 1983b. Limits of detection of nuclear DNA abnormalities by flow cytometric DNA analysis: Results obtained by a set of methods for sample-storage, staining and internal standarization. Cytometry 3:332-339.

21. Shankey TV.; Rabinovitch PS.; Bagwell B.; Bauer KD.; Duque RE.; Hedley DW.; Mayall BH.; Wheeless L. 1993. DNA cytometry consensus conference: Guidelines for implementation of clinical DNA cytometry. Cytometry 14: 471-477.