



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

---

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**“SIGNIFICANCIA PRONOSTICA DE LA ENFERMEDAD RESIDUAL MÍNIMA POR  
CITOMETRÍA DE FLUJO EN NIÑOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA PARA REDEFINIR LOS  
GRUPOS DE RIESGO Y MEJOR ASIGNACIÓN DEL TRATAMIENTO”**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TITULO DE:**

**HEMATOLOGÍA PEDIATRICA**

**PRESENTA**

**DR. MARIO ALBERTO NOYA RODRÍGURZ**

**DIRECTOR DE TESIS**

**M. EN C. ELVA JIMENEZ HERNÁNDEZ**



**CUIDAD DE MÉXICO, 10 DE NOVIEMBRE DE 2017**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

INVESTIGADOR RESPONSABLE:

M. EN C. ELVA JIMENEZ HERNÁNDEZ  
MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA  
UMAE HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA  
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA  
MATRICULA: 10609725  
EMAIL: elvajimenez@yahoo.com  
TEL CEL: 5533103394

M. EN C. JUANA WENDY AGUILERA CALDERA  
JEFE DE SECCION DE HEMATOLOGÍA ESPECIAL  
LABORATORIO CLINICO UMAE HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA  
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA  
MATRICULA:11244631  
EMAIL: wen070576@hotmail.com  
TEL CEL: 5524943213

INVESTIGADORES ASOCIADOS:

DR. OCTAVIO MARTÍNEZ VILLEGAS  
MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE HEMATOLOGIA PEDIATRICA  
UMAE HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA  
MATRICULA: 99367354  
CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA  
EMAIL: tallo28@gmail.com  
TEL CEL: 5513433730

QFB. NADIA CARPIO MIRELES  
QUÍMICO ADSCRITO AL LABORATORIO DE HEMATOLOGÍA ESPECIAL  
UMAE HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA  
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA  
MATRICULA; 99369317  
EMAIL: nadia\_carpio@hotmail.com  
TEL CEL:5516172021

M EN C. SOFIA REYES HUESCA  
QUÍMICO ADSCRITO AL LABORATORIO DE HEMATOLOGÍA ESPECIAL  
UMAE HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA  
MATRICULA:99364199  
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA  
EMAIL:sofia\_reyes@yahoo.com.mx  
TEL CEL:99364199

DR. MARIO ALBERTO NOYA RODRÍGUEZ  
MÉDICO RESIDENTE DE PRIMER AÑO DEL CURSO EN ESPECIALIZACIÓN EN HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA  
UMAE HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA  
MATRICULA: 99245391  
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA  
EMAIL: bemori7@hotmail.com  
TEL CEL: 2411103318

## INDICE

RESUMEN	4
MARCO TEORICO	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
JUSTIFICACIÓN	10
OBJETIVOS	11
HIPOTESIS	11
MATERIAL Y METODOS	12
CRITERIOS INCLUSION, EXCLUSION, ELIMINACIÓN	13
VARIABLES DEL ESTUDIO	14
DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO	20
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN	26
CONCLUSIÓN	28
REFERENCIAS	29
CRONOGRAMA	32
ANEXOS	33

## RESUMEN

**Título:** “Significancia pronostica de la enfermedad residual mínima por citometría de flujo en niños con leucemia linfoblástica aguda para redefinir los grupos de riesgo y mejor asignación del tratamiento”

**Objetivo.** Conocer la significancia pronostica de la enfermedad residual mínima por citometría de flujo en nuestra población de niños con Leucemia Linfoblástica Aguda para redefinir los grupos de riesgo y mejor asignación del tratamiento con el protocolo CMR 2016 y CMR 02/16.

**Material y Métodos.** Se realizó un estudio de cohorte, prospectiva, longitudinal y analítica, Se incluirán a pacientes pediátricos menores de 16 años de edad, con diagnósticos de 4 Leucemia Linfoblástica Aguda de *novo* incluidos en el protocolo de tratamiento CMR 2016 y CMR 02/16 del servicio de Hematología Pediátrica de la UMAE Hospital General Dr. Gaudencio González Garza, Centro Médico Nacional “La Raza” en la Ciudad de México en el periodo comprendido del 01 de enero del 2016 al 31 de Julio del 2017. Se les tomó muestra de médula ósea para la determinación de enfermedad residual mínima al finalizar la fase de inducción a la remisión mediante citómetro de flujo multicolor. El resultado es positivo si es  $> 0.01\%$  en pacientes de riesgo habitual y pasaran a riesgo muy alto y recibirán la consolidación IA, IB y 1C para riesgo muy alto, los de riesgo alto si la ERM es  $>0.01\%$  pasaran a riesgo muy alto y recibirán las consolidaciones 1A, 1B y 1C de muy alto riesgo. Los pacientes de muy alto riesgo si al final de las consolidaciones la ERM es mayor de  $>0.01\%$  salen del protocolo.

**Resultados.** Al día +28 remisión morfológica completa en 78.3%, 13% falla terapéutica y (8.8% no se realizó AMO. EMR al día +28 positiva en 51.1 % y reportada negativa en 40.2 %.

**Discusión.** Enfermedad Mínima residual positiva en 51.1%, ameritando cambio de riesgo en 49.5% de los pacientes, con recaída de los mismos en 9.8%. La EMR positiva al +28 es una variable pronostica independiente y significativa en la predicción de recaída.

**Conclusiones.** Supervivencia libre de enfermedad de 90.2% y una supervivencia libre de evento de 71.7%. Por lo tanto 0.01% sería un punto de corte importante para detectar pacientes con riesgo elevado de recaída.

**Palabras Clave.** ERM, LLA, Citometría de flujo

## MARCO TEORICO

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el cáncer infantil más frecuente, representando aproximadamente el 30% de los diagnósticos de cáncer en los menores de 15 años[1]. Este tipo de cáncer representa una tasa anual de 35 a 40 casos por millón de personas en es Estados Unidos[2] con un diagnóstico anual alrededor de 2500 a 3500 niños y adolescentes menores de 20 años[1, 2]. En México la LLA es el cáncer más frecuente en la edad infantil y la adolescencia, y que se ha incrementado en los últimos 25 años a 49.5 casos por millón de habitantes por año y en general en todos los niños hispánicos [3,4].

En países desarrollados incluyendo Norte América, Europa del Este, Australia, Nueva Zelanda y Japón, la supervivencia global a 5 años es mayor al 90% y la tasa de curación del 85%[5-9]. Estos resultados son el producto de la aplicación de ensayos clínicos multicéntricos entre varios países[10-14]. El incremento en la supervivencia se debe a mejoras en el tratamiento, personalizado y estandarizado a través de diversos protocolos de investigación secuenciales que se van adaptando nuevas terapias basadas en las características clínicas y biológicas del huésped y la enfermedad[6]. Los protocolos actuales para la LLA en niños hacen énfasis en una terapia individualizada, basada en el riesgo con el objetivo de reducir la toxicidad en los pacientes de bajo riesgo y terapia más agresiva para aquellos pacientes con alto riesgo de recaída[5, 15, 16]. Ciertas características clínicas y de laboratorio históricamente se han relacionado con el pronóstico tales como: edad, infiltración extramedular, cuenta inicial de leucocitos, alteraciones citogenética y moleculares, Inmunofenotipo, citorreducción rápida [7, 16, 17]. Aunque al término de la terapia de inducción, la mayoría de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda alcanzan remisión morfológica completa. La mayoría de los niños y poco más de la mitad de los adultos mantienen una supervivencia libre de enfermedad prolongada, sin embargo algunos niños y casi la mitad de los adultos tendrán recaída con progresión de la enfermedad y mueren por leucemia. La recaída es el resultado de la persistencia de células leucémicas residuales posterior al haber alcanzado remisión completa, pero estas se encuentran por debajo de los límites para ser detectadas por métodos morfológicos convencionales. Estos niveles subclínicos de leucemia residual se le ha llamado Enfermedad Residual Mínima (ERM) la cual puede ser medida usando métodos de laboratorio más sensible.

Históricamente la remisión completa se ha definido por criterios morfológicos, sin embargo se ha propuesto que la evaluación de esta se establezca por parámetros más estrictos proponiendo a la enfermedad residual mínima, como el método más capaz para predecir un pronóstico. Este enfoque está basado en varias observaciones que dificultan asegurar la remisión morfológica completa en pacientes con LLA, entre las que se encuentran: la presencia de precursores linfoides (hematogonias) o linfocitos maduros activos, ambos pueden confundirse con linfoblastos en los pacientes que tienen recuperación medular posterior a quimioterapia o postransplante de progenitores hematopoyéticos, en las dos situaciones pueden ocupar un 10% de las células linfoides. Otra dificultad que se encuentra es una sola muestra de aspirado de médula ósea (AMO), ya que solo representa un pequeño porcentaje de la celularidad total de la médula ósea; existen casos

reportados en la literatura en los cuales se realizan AMO en sitios alternos encontrando un sitio normal y el otro con leucemia [18]. Por último, la evaluación morfológica de blastos en la LLA o por citogenética convencional, son susceptibles a errores por el operador y el número de metafases evaluadas[18]. Varios estudios han demostrado que la detección de ERM es una herramienta muy poderosa para predecir recaídas en niños con leucemia linfoblástica aguda (LLA) de reciente diagnóstico, por lo tanto ayuda a redefinir el grupo de riesgo en los pacientes[8, 15, 19-21]. En años recientes, muchos centros de hemato-oncología emplean la medición de la ERM durante sus regímenes de quimioterapia para LLA. Actualmente se desarrollan y perfeccionan nuevos métodos para su medición[22]. La incorporación de pruebas para ERM en los centros oncológicos no ha sido aceptada ampliamente por los médicos hemato-oncólogos debido a que argumentan que la distribución de las células leucémicas durante el tratamiento es muy heterogéneo y los métodos que se emplean para la ERM carecen de exactitud. Por el contrario, la fuerte correlación entre los niveles de ERM y el riesgo de recaída, sugiere que al menos en etapas iniciales de la terapia, la LLA es muy homogénea[22]. Otro grupo de médicos insisten que los avances en el pronóstico de la LLA deben centrarse en las características biológicas de las células leucémicas. Sin embargo, la medición de la enfermedad residual mínima puede ser inicialmente más informativa que cualquier característica biológica de las células leucémicas, ya que refleja el efecto de otras variables que influyen en la respuesta al tratamiento y pronóstico; que incluyen variaciones en la dosis de los medicamentos, factores referentes a la farmacogenética, la farmacodinamia, el efecto del micro ambiente y la idiosincrasia del paciente. La ERM cada vez va tomando mayor fuerza y confianza superando gradualmente a la morfología como un método preciso para evaluar la respuesta al tratamiento y redefinir el grupo de riesgo en la LLA[23].

Hay una variedad de técnicas útiles para la medición de la ERM; todas estas, deben de cumplir tres características fundamentales[23]:

- Especificidad, se refiere a la capacidad para discriminar entre una célula neoplásica y una célula normal.
- Sensibilidad, se refiere a la capacidad para detectar una célula maligna entre al menos 1000 células normales.
- Reproducibilidad y aplicabilidad, se refiere que las técnicas deben ser estandarizadas y reproducibles, y los resultados deben estar disponibles de manera oportuna.

Estas técnicas incluyen: citogenética, cultivos, fluorescencia por hibridación in situ (FISH), southern blotting, citometría de flujo multicolor (CFM), reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación del DNA (SDNA).

La citometría de flujo multicolor utiliza luz láser para determinar características específicas del inmunofenotipo de miles de células por segundo; por esta técnica se pueden identificar la expresión aberrante de algunos antígenos y así identificar la ERM [17, 24-27]. Existe cierto escepticismo respecto a la utilidad de la ERM, sin embargo en años recientes ha disminuido debido a dos avances significativos: amplificación

mediante PCR de los genes que codifican para la inmunoglobulina (Ig) y el receptor de células T (RCT), además de la detección por citometría de flujo inmunofenotipos aberrantes[28, 29]. La amplificación mediante PCR de los transcritos de fusión oncogénicos pueden determinarse en ciertos subtipos de pacientes, es decir, aquellos pacientes que se les identificó estos genes de fusión más prevalentes, aunque carecen de poder cuantitativo, por lo tanto se usan en menor proporción[30].

Los rearrreglos clonales de los genes de la Ig y TCR se presenta en aproximadamente 90% de los pacientes con LLA; si se utilizan estos genes como blanco después de identificarlos al diagnóstico para monitorizar la ERM, la sensibilidad tomando una célula leucémica en 100 000 células sanas de médula ósea o expresado de otra forma, alcanza una sensibilidad de 0.001% [28, 30, 31]. Los diferentes métodos para la identificación de la ERM cada vez se han estandarizado mejor para facilitar su empleo [28, 30]. Este enfoque, sin embargo requiere la secuenciación de DNA para diagnóstico, la identificación de rearrreglos adecuado por lo general más de uno, síntesis de los cebadores adecuados y el desarrollo de las condiciones óptimas para la PCR de cada rearrreglo[28]; estos requieren de un tiempo prolongado y por lo general impiden el análisis de la ERM en puntos de tiempo tempranos, como lo es el día 15. Nuevas tecnologías como la secuenciación masiva con un costo menor, han abierto la posibilidad de amplificar todos los posibles rearrreglos de la inmunoglobulina o segmentos del TCR y los rearrreglos más prevalentes al diagnóstico[32]

La citometría de flujo como ya se ha mencionado es otra técnica que se emplea para la detección de la enfermedad mínima residual; esta técnica emplea inmunofenotipos aberrantes que expresan las células leucémicas[24-26]. La especificidad y sensibilidad de este método es muy alta si la cantidad de DNA obtenida es suficiente en cada estudio, logrando detectar más de 1 célula leucémica en 1 000 000 células sanas; la sensibilidad varía de acuerdo al número de colores utilizados simultáneamente, generalmente de seis a nueve, pero generalmente es 0.5 a 1 log menor que la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)[24-27]. Sin embargo es una técnica que se está utilizando cada vez más en los últimos años, debido a que es una técnica accesible, rápida y tiene un menor costo; algunos ejemplos que ilustran la utilidad de la citometría de flujo multicolor para identificar la ERM son:

- LLA de linaje B. Los blastos en este tipo de leucemia pueden co-expresar antígenos de células T (CD5, CD7) o mieloides (CD13, CD33); tienen expresión asincrónica de antígenos o ausencia o sobreexpresión de antígenos (CD10). Utilizando la combinación de cuatro colores de anticuerpos (CD19, CD45, CD20, CD10; y CD19, CD45, CD9, CD34), los blastos con inmunofenotipo aberrante se pueden identificar en el 98% de los casos[33-35].
- LLA de linaje T. Los blastos casi siempre co-expresan: Tdt, CD2, CD3c, CD5c y CD7, además de otros antígenos de células T[35]. Células con este patrón de inmunofenotipo es ausente o raro en médula ósea y sangre periférica normales[36].

Las ventajas de la citometría de flujo para la detección de ERM incluyen:

- ✓ Se puede aplicar en el 80 a 95% de los pacientes con LLA[30].
- ✓ Rapidez, se reporta en el mismo día del estudio.
- ✓ A pesar de que aún no está bien estandarizado, el método es cuantitativo.
- ✓ Ofrece información extra sobre las características de las células neoplásicas que se pueden utilizar como blancos terapéuticos.
- ✓ La mayoría de los estudios utilizan médula ósea, pero también se puede utilizar sangre periférica.

Como cualquier método diagnóstico la evaluación de la ERM por citometría de flujo también tiene sus limitaciones, entre las que se incluyen:

- ✗ Las hematogonias pueden expresar un perfil inmunofenotípico citoplasmático o de superficie similar al de los blastos, siendo difícil la diferencia entre una célula maligna y otra benigna.
- ✗ Algunas células leucémicas pueden cambiar la expresión en su inmunofenotipo conforme progresa la enfermedad [37, 38].
- ✗ Celularidad baja en las muestras de médula ósea durante o posterior a la terapia de inducción.
- ✗ La ausencia de una muestra para ERM al diagnóstico; no estrictamente necesario en todos los casos pero si se recomienda evaluar el perfil inmunofenotipo de la clona leucémica al diagnóstico.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La determinación de la ERM en niños con LLA, en diferentes etapas del tratamiento, se ha convertido como uno de los principales predictores pronósticos, de la supervivencia libre de evento y supervivencia global.

En la actualidad la mayoría de los grupos pediátricos utilizan la ERM para reclasificar los grupos de riesgos, para individualizar la terapia de acuerdo a cada paciente, por ejemplo: a los pacientes que se detecta ERM positiva, tienen mayor riesgo de recaída posterior a la quimioterapia convencional.

Aunque el riesgo absoluto depende de varios factores tales como: el momento de la evaluación de la ERM, la sensibilidad del método utilizado para determinar la ERM, las características basales del paciente y muy importante las características de la neoplasia. Tomando en cuenta este riesgo de recaída estudios prospectivos han intentado disminuir este riesgo incrementando la dosis de quimioterapia en aquellos pacientes que está presente la ERM. En el estudio prospectivo del grupo multicéntrico AIEOP-BFM ALL 2000 se evaluó la ERM en 3184 niños en los días 33 y 78 del tratamiento y los reclasificaron en tres grupos: riesgo estándar (ERM negativa en el día 33), riesgo intermedio (ERM positiva en el día 33 ó 78 pero  $<10^{-3}$ ) y alto riesgo (ERM positiva en el día 78) y alto riesgo (ERM positiva en el día 78  $>10^{-3}$ ). Todos los pacientes con alto riesgo fueron sometidos de forma aleatoria a recibir un régimen de quimioterapia de consolidación más intensivo obteniendo una supervivencia global a 5 años de 61% comparada con 35% de los controles históricos empleando terapia estándar (8, 14, 25, 39).

Por otra parte, como la supervivencia a largo plazo ha mejorado en los pacientes con LLA, muchos niños experimentan efectos adversos tempranos como: toxicidad sistémica, infecciones graves, hemorragias que pueden ser mortales, y tardíos como disfunción del SNC, falla en el crecimiento, cardiomiopatía, infertilidad e incremento en la incidencia de cáncer asociado a quimioterapia. Tomando en cuenta estos efectos adversos muchos investigadores han tratado de identificar los grupos de pacientes con LLA que pudiesen tratarse con terapia menos intensiva sin compromiso de su supervivencia. Estudios recientes consideran que los pacientes que tienen una rápida eliminación de las células tumorales durante la terapia de inducción mediante la determinación de ERM no detectable, son candidatos a recibir una quimioterapia menos intensiva. En un estudio multicéntrico aleatorizado se incluyeron 3000 niños y adultos jóvenes (menos de 25 años de edad) con diagnóstico de LLA de novo. Quienes determinaron la ERM al final de la inducción y consolidación para disminuir la terapia de mantenimiento; establecieron tres grupos de riesgo: estándar, intermedio y alto. Los pacientes con riesgo estándar e intermedio se aleatorizaron para recibir una o dos intensificaciones tardías durante el mantenimiento, con resultados de supervivencia libre de evento 94.4% y 95.5% respectivamente, supervivencia global 97.9% y 98.5% respectivamente, por último una tasa de recaída de 4.2% y 2.3%. Como podemos observar la reclasificación de los grupos de riesgos con la determinación de ERM está siendo de gran utilidad.

En base a lo anterior nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

**¿CUÁL ES LA SIGNIFICANCIA PRONOSTICA DE LA ENFERMEDAD RESIDUAL MINIMA POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN NIÑOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA PARA REDEFINIR LOS GRUPOS DE RIESGO Y MEJOR ASIGNACIÓN DEL TRATAMIENTO?**

**JUSTIFICACION**

En el servicio de Hematología Pediátrica de la UMAE Hospital General Centro Médico Nacional “La Raza”, se brinda tratamiento a los pacientes con diagnóstico de LLA con el protocolo de quimioterapia adaptado del Grupo Colaborativo para la LLA del Instituto del Cáncer “Dana Farber” (DFCI), quienes han desarrollado ensayos clínicos desde 1985, logrando tasas de supervivencia a largo plazo del 88%. Dicho esquema de quimioterapia está modificado para nuestras condiciones locales. Los pacientes con LLA de novo se clasificaban en dos grupos de acuerdo a las características clínicas, de laboratorio y la respuesta al tratamiento: riesgo estándar y alto. Los resultados obtenidos en el último análisis en un periodo de 5 años, la supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad se encuentran por debajo a lo obtenido por el Grupo Colaborativo DFCI (63.9% y 52.3% v.s. 90% y 81% respectivamente); existe además alta frecuencia en la recaída (26.2%) comparada con otros grupos además de tener en nuestro centro alta mortalidad durante la inducción (7%). Llama la atención que nuestro grupo de riesgo estándar se asoció a mayor porcentaje de recaída, en contraste con el efecto protector para el grupo de riesgo alto; estos hallazgos sugieren que los criterios para la estratificación de riesgo que se emplean pudieran ser imprecisos o porque en su mayoría no contamos con estos tales como, cariotipo, el arsenal de alteraciones moleculares y más recientemente enfermedad residual mínima por reacción en cadena de la polimerasa o por citometría de flujo. En la actualidad con base al análisis mencionado y con los criterios clínicos y de laboratorio con que contamos, hemos decidido clasificar a nuestros pacientes en 3 grupos de riesgo estándar, alto y muy alto. Y con el presente estudio con la determinación de la ERM, se redefinieron los grupos de riesgo al final de la Inducción a la remisión y consolidaciones, para proporcionarles a cada uno de los grupos quimioterapia más adecuada al mismo. Con lo que mejorara la supervivencia libre de evento y supervivencia global en nuestra población. Así mismo de disminuir la toxicidad a corto y a largo plazo de la quimioterapia. Para brindar una mejor atención a los pacientes y mejorar su calidad de vida. Comparando nuestros resultados con estudios nacionales e internacionales, he incidir en las modificaciones necesarias.

## **OBJETIVO GENERAL**

- Conocer la significancia pronóstica de la enfermedad residual mínima por citometría de flujo en niños con Leucemia Linfooblástica Aguda para redefinir los grupos de riesgo y mejor asignación del tratamiento con el protocolo CMR 2016 y CMR 02/16

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS.**

- Conocer el porcentaje de enfermedad residual al término de la inducción a la remisión de los pacientes de riesgo habitual, si es  $>0.01\%$  pasará a riesgo muy alto
- Conocer el porcentaje de enfermedad residual al término de la inducción a la remisión de los pacientes de riesgo alto si es  $>0.01\%$  pasará a riesgo muy alto
- Conocer el porcentaje de enfermedad residual al término de la inducción a la remisión de los pacientes de muy alto riesgo  $>0.01\%$  y al término de las consolidaciones sale del protocolo
- Conocer el porcentaje de redefinición de riesgo de cada uno de los grupos
- Comparar la respuesta al tratamiento con protocolo CMR 2016 y CMR 02/16 de acuerdo al nuevo grupo de riesgo asignado
- Conocer la supervivencia libre de evento de cada uno de los grupos y compararlos en los primeros 100 días de tratamiento

## **HIPOTESIS**

### **Hipótesis Alterna (Ha)**

- La determinación de la enfermedad residual mínima es 80% mejor que los métodos antiguos para redefinir los grupos de riesgo y mejor asignación del tratamiento en pacientes con leucemia linfoblastica aguda al término de la inducción y consolidación

### **Hipótesis nula (Ho)**

- La determinación de la enfermedad residual mínima es igual que los factores de riesgo que se han utilizado para redefinir los grupos de riesgo y mejor asignación del tratamiento en pacientes con leucemia linfooblástica aguda al término de inducción y consolidación

## **MATERIAL Y METODOS**

### **DISEÑO DEL ESTUDIO**

Estudio de cohorte, prospectiva, longitudinal y analítica

### **LUGARES DONDE SE REALIZARA EL ESTUDIO**

Servicio de Hematología Pediátrica y Laboratorio Clínico en la sección de Hematología Especial de la UMAE Hospital General Dr. Gaudencio González Garza, Centro Médico Nacional “La Raza”

### **POBLACION DE ESTUDIO**

Pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) de *novo* que sean diagnosticados y tratados con el protocolo de quimioterapia CMR 2016 y CMR 02/16 adaptado del DFCl. Entre el 1 de enero de 2016 al 31 de Julio de 2017. En el Servicio de Hematología Pediátrica de la UMAE Hospital General Dr. Gaudencio González Garza, Centro Médico Nacional “La Raza”

### **TAMAÑO DE LA MUESTRA**

Debido al periodo corto del estudio, el número de pacientes diagnosticados será escaso, por tal motivo se incluirán a todos los pacientes diagnosticados y tratados con LLA en el periodo entre 1 de enero de 2016 al 31 de Julio de 2017.

### **ANALISIS ESTADISTICO**

Se hizo análisis descriptivo, los resultados se expresarán en números absolutos y porcentajes y se presentarán en tablas y gráficos. Se utilizó mediana, valor mínimo y máximo como medida de tendencia central.

Análisis inferencial

Las variables cualitativas binomiales se analizaron con Chi-cuadrada o prueba exacta de Fisher, las cuantitativas sin distribución normal se analizaron con la prueba U de Mann Whitney y Kruskal Wallis.

Curva de supervivencia por método de Kaplan- Meier y las diferencias entre los diferentes grupos de riesgo se analizaron con la prueba de Long-rank, análisis multivariado para tipo de respuesta con riesgo proporcional de Cox con intervalo de confianza del 95%. Se utilizarán los programas Excel y SPSS versión 20

## **CRITERIOS DE SELECCION**

### **CRITERIOS DE INCLUSION**

- Pacientes con edad  $\geq 1$  y  $< 16$  años
- Con diagnóstico de LLA de *novo*.
- Sin terapia previa, excepto  $\leq 1$  semana de esteroide o radiación a mediastino por urgencia.
- Ambos géneros.
- De cualquier grupo de riesgo
- Que se traten con el protocolo CMR 2016 y CMR 02/16

### **CRITERIOS DE EXCLUSION**

- LLA de células B maduras por la presencia de algunas de las siguientes características: Ig de superficie, morfología L3 de la FAB, t(8;14)(q24;q32), t(8;22) o t(2;8).
- Terapia previa.
- Infección por VIH.

### **CRITERIOS DE ELIMINACION**

- No aplica, ya que todos los pacientes que se incluyan en cualquiera de los grupos serán analizados. Para evitar sesgos de intención a tratar.

### **TIPO DE MUESTREO:**

No probabilístico de casos consecutivos que ingresen y se diagnostiquen en el Servicio de Hematología Pediátrica en el periodo señalado.

## VARIABLES DE ESTUDIO

### Enfermedad Mínima Residual.

- **Definición conceptual:** Cantidad mínima de células leucémicas que se identificarán por citometría de flujo multicolor que no se logran identificar por el examen morfológico en frotis de médula ósea al término de la quimioterapia de Inducción a la remisión y de consolidaciones.
- **Definición operacional:** El resultado se tomará del expediente clínico y se verificará del registro de resultados de la citometría de flujo
- Tipo de variable: nominal
- Escala de medición: dicotómica
- Unidad de Medida: EMR >0.01% positiva y <0.01% negativa

## GRUPOS DE RIESGO

### RIESGO ESTANDAR

- **Definición conceptual:** La Leucemia Linfoblástica aguda (LLA) se clasifica por grupos de riesgos y se considera que son de riesgo estándar aquellos pacientes que reúnen los siguientes criterios: edad > 1 año y < 9.9 años, cuenta de leucocitos al diagnóstico < 25000/ $\mu$ L, punción lumbar en el día 0 con LCR en SNC - 1, ausencia de afección de nervios craneales, inmunofenotipo B, ausencia de ensanchamiento mediastinal, ausencia de infiltración testicular, hiperdiploidia > 50 cromosomas y <60, Índice de DNA  $\geq$ 1.16, buena respuesta a la ventana esteroidea, MO del día 14 <5% de blastos, MO de día 28 con criterios de remisión completa
- **Definición operacional:** El riesgo establecido se tomará del expediente clínico, de la libreta de la clínica de Leucemias o de las hojas de recolección de datos que se entrega durante su presentación.
- Tipo de variable: nominal
- Escala de medición: dicotómica
- Unidad de Medida: si/no

### RIESGO ALTO

- **Definición conceptual:** Pacientes con LLA que reúnen los siguientes criterios de riesgo alto, tales como: edad >9.10 años, cuenta de leucocitos > 25 000/ $\mu$ L, LCR en CNS-2 o CNS-3, afección de nervios craneales, ensanchamiento mediastinal, inmunofenotipo T, infiltración testicular, hipodiploidia < 50 cromosomas, índice DNA <1.16, pobre respuesta a la ventana esteroidea, MO del día 14 >5% de blastos,
- **Definición operacional:** El riesgo establecido se tomará del expediente clínico, de la libreta de la clínica de Leucemias o de las hojas de recolección de datos que se entrega durante su presentación del paciente.
- Tipo de variable: nominal
- Escala de, dicotómica

- Unidad de Medida: si/no

#### **RIESGO MUY ALTO**

- **Definición conceptual:** Pacientes que reúnen los siguientes criterios de riesgo muy alto, tales como : cuenta de leucocitos  $>100\ 000/\mu\text{L}$ ,  $t(4:11)$  o gen de fusión MLL/AF4,  $t(9:22)$  o gen de fusión bcr/abl, hipodiploidía  $< 44$  cromosomas, y fenotipo pro-T
- **Definición Operacional:** El riesgo establecido se tomará del expediente clínico, de la libreta de la clínica de Leucemias o de las hojas de recolección de datos que se entrega durante su presentación.
- Tipo de variable: nominal
- Escala de medición: dicotómica
- Unidad de Medida: si/no

#### **REDEFINIR EL RIESGO ESTANDAR:**

- **Definición conceptual:** Cambio de Riesgo al final de la Quimioterapia de Inducción a la remisión si la enfermedad residual mínima es positiva ( $>0.01\%$ ) los pacientes de riesgo estándar pasaran a riesgo muy alto,
- **Definición operacional:** Se obtendrá el resultado de la ERM del expediente clínico y se verificará con el registro del citómetro de flujo.
- Tipo de variable: cualitativa
- Escala de medición: nominal dicotómica
- Indicador: Riesgo estándar/riesgo muy alto

#### **REDEFINIR EL RIESGO ALTO:**

- **Definición conceptual:** Cambio de Riesgo al final de la Quimioterapia de Inducción a la remisión si la enfermedad residual mínima es positiva ( $>0.01\%$ ) los pacientes de riesgo alto pasaran a riesgo muy alto,
- **Definición operacional:** Se obtendrá el resultado de la ERM del expediente clínico y se verificará con el registro del citómetro de flujo.
- Tipo de variable: cualitativa
- Escala de medición: nominal dicotómica
- Indicador: Riesgo alto/Riesgo muy alto

#### **REDEFINIR EL RIESGO MUY ALTO:**

- **Definición conceptual:** Sale del protocolo CMR 2016 y CMR 02/16 al final de las 3 consolidaciones, si la enfermedad residual mínima es positiva ( $>0.01\%$ )
- **Definición operacional:** Se obtendrá el resultado de la ERM del expediente clínico y se verificará con el registro del citómetro de flujo.
- Tipo de variable: cualitativa
- Escala de medición: nominal dicotómica
- Indicador: Riesgo muy alto/Sale del protocolo

## LA SIGNIFICANCIA PRONOSTICA DE LA ERM SE MIDIO MEDIANTE RECAIDA SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD Y SUPERVIVENCIA GLOBAL

### RECAIDA

- **Definición conceptual:** Una vez que el paciente alcanza Remisión completa. Reaparece la enfermedad con manifestaciones clínicas, y en la Médula ósea con >5% de blastos o en el LCR con la presencia de blastos o evidencia de actividad en otro sitio extramedular.
- **Definición operacional:** El dato se obtendrá del expediente clínico, libreta de clínica de Leucemias y base de datos del Servicio.
- **Tipo de variable:** cualitativa.
- **Escala de medición:** nominal dicotómica
- **Indicador:** Sí/No

### SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD

- **Definición conceptual:** Tiempo transcurrido en días en que el paciente se encuentra sin datos de actividad leucémica en cualquier parte de su organismo, una vez alcanzada la remisión completa.
- **Definición operacional:** El dato se obtendrá del expediente clínico y se verificará con la libreta de la clínica de leucemias donde se registra todos los eventos que sufren los pacientes,
- **Tipo de variable:** cuantitativa
- **Escala:** de razón
- **Indicador:** días

### SUPERVIVENCIA GLOBAL

- **Definición conceptual:** Tiempo transcurrido en días desde el diagnóstico de la enfermedad y el último seguimiento ya sea por la última hospitalización, consulta o fallecimiento.
- **Definición operacional:** periodo comprendido entre el diagnóstico y el fallecimiento de paciente debido a la enfermedad u otra causa o la fecha de última actualización del expediente independientemente del tipo de respuesta al tratamiento.
- **Tipo de variable:** cuantitativa
- **Escala de medición:** intervalo
- **Indicador:** meses.

### VARIABLES GENERALES

#### Variables demográficas

##### Edad.

- **Definición conceptual:** tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la fecha del diagnóstico de la leucemia
- **Definición operacional:** El dato se obtendrá del expediente clínico, y verificado con su carnet de citas
- **Tipo de variable:** cuantitativa
- **Escala de medición:** continua

- Unidad de medida: años

#### **Género.**

- Definición conceptual: características biológicas que definen al hombre de la mujer
- Definición operacional: El dato se obtendrá del expediente clínico consignado durante el examen físico en la historia clínica.
- Tipo de variable: cualitativa nominal
- Escala de medición: dicotómica
- Unidad de medida: hombre/mujer

#### **DESCRIPCION METODOLOGICA DE LA DETERMINACION DE LA ERM**

Previa carta de consentimiento bajo información. En caso de aceptar participar en el estudio se firmó la hoja de consentimiento informado (anexo 1). Una vez que aceptó:

##### Consideraciones generales

- El procedimiento es válido para muestras de médula ósea o de sangre periférica.
  - Se determinó la concentración celular previamente a cualquier manipulación manualmente o utilizando un contador de células automatizado.
  - La marcación de al menos  $1 \times 10^6$  células nucleadas para cada tubo de EMR y la adquisición de al menos  $5 \times 10^6$  células, fueron necesarias a fin de lograr la sensibilidad deseada ( $1 \times 10^5$ ).
  - Opciones de soluciones de lisis de cloruro de Amonio: Las siguientes opciones evaluadas resultaron equivalentes:
    - Solución de lisis comercial basada en cloruro de amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) de BD (Pharm Lyse, Catálogo: 555899). Esta solución de lisis e comercializa como una solución madre con una concentración 10 X y debe ser diluida 1/10 en destilada previamente a su uso.
    - Solución "casera" de cloruro de Amonio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ )
- Precauciones:
- Se controló que el pH esté estable a 7.40
  - Se utilizó una solución de trabajo fresca (preparada con menos de 7 días de anticipación)

##### Tinción únicamente marcadores de superficie

- Se adicionó el volumen correspondiente de cada anticuerpo de superficie (según tabla del panel de 8 colores para EMR + 100 uL a la muestra)
- En caso de ser necesario, se adicionó la cantidad necesaria de PBS para completar el volumen final a 100 uL por tubo
- Se mezcló bien
- Se incubó por 30 min a Temp ambiente y protegidos de la luz

- Se adicionó 2 ml de la solución FACSLysing 1X (FACSLysing 10X se diluye; dilución 1:10 en agua destilada)
- Se mezcló bien
- Se incubó 10 min a temperatura ambiente y protegidos de la luz
- Se centrifugó 5 min a 1500 rpm
- Se descartó el sobrenadante utilizando una pipeta Pasteur o sistema de vacío, sin levantar el pellet, dejando aproximadamente 50 uL de volumen residual en cada tubo
- Se mezcló bien
- Se adicionó 2 ml de PBS al pellet celular
- Se mezcló bien
- Se centrifugó durante 5 min a 1500 rpm
- Se descartó el sobrenadante utilizando una pipeta Pasteur o sistema de vacío, sin levantar el pellet, dejando aproximadamente 50 uL de volumen residual en cada tubo
- Se mezcló bien
- Se resuspendió el pellet en 200 uL de PBS
- Se adquirieron las células preferentemente de manera inmediata después de la tinción o conservación a 4 °C máximo por 1 hora hasta ser adquiridas en el citómetro de flujo.

Los Anticuerpos que se utilizaron para determinar la ERM para cada estirpe celular se expresan en las tablas 1 y 2.

Tabla 1.

Panel de marcadores para determinación de enfermedad mínima residual en LLA-B.								
Tubo 1	V450	V500C	FITC	PE	PerCY5.5	PE-CY7	APC	APCH7
	CD20	CD45	CD58	CD66c	CD34	CD19	CD10	CD38

Tabla 2

Panel de marcadores para determinación de enfermedad mínima residual en LLA-T.									
	V450	V500C	FITC	PE	PerCY5.5	PE-CY7	APC	APCH7	
Tubo 1	CyCD3	CD45	TDT	CD99	CD5	CD10	CD1a	CD3	

Una vez que se obtuvo el resultado si es positivo > 0.01% en pacientes de riesgo habitual pasaran a riesgo muy alto y recibirán la consolidación 1A, IB y 1C para riesgo muy alto.

Los de riesgo alto la ERM se les determinará al término de la IR y si es positiva  $>0.01\%$  pasarán a riesgo muy alto y recibirán las consolidaciones IA, 1B y IC para muy alto riesgo. Los pacientes de muy alto riesgo la ERM se determinará al final de la IR y de las consolidaciones, si la ERM es  $>0.01\%$  salen del protocolo.

Todos los riesgos estándar, alto que se cambiaron a muy alto y al final de las consolidaciones 1A, 1B y IC con ERM  $>0.01\%$  positiva salen del protocolo.

#### **ASPECTOS ÉTICOS.**

El presente estudio se realizó con base a lo establecido en la ley General de investigación, de acuerdo a la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos; Artículo 4to, publicado en el Diario Oficial de la Federación, el día 6 de Abril de 1990 y en el reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud en México, publicadas en el Diario Oficial de la Federación el 7 de Febrero de 1987. y a la declaración de Helsinki (1964) y sus modificaciones en Tokio (1995), Venecia (1983) y Hong Kong (1989).

Los datos obtenidos mantendrán la confidencialidad de los pacientes y por tratarse de un estudio donde se obtendrá muestra de médula ósea se requirió carta de consentimiento bajo información la cual se expresa en el anexo 1.

#### **FACTIBILIDAD.**

El presente estudio de investigación fue factible debido a que el servicio de Hematología Pediátrica cuenta con recursos humanos altamente calificados para el diagnóstico y tratamiento de pacientes en edad pediátrica con Leucemia Linfoblástica Aguda, y en el Laboratorio Clínico en la sección de Hematología Especial cuenta con personal calificado para el manejo del Citómetro de Flujo y para la determinación de la ERM.

#### **RECURSOS FINANCIEROS:**

Una vez que el protocolo fue aceptado se solicitó recursos financieros externos en el FIS para la compra de los paneles de Anticuerpos, ya que con frecuencia se carecen de ellos en el laboratorio, por su alto costo, para evitar que el estudio sea incompleto

#### **ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD.**

El manejo de los residuos químicos y biológicos (CRETIB) que se generaron durante el proceso analítico fueron sometidos a disposición y cumplirán con las políticas y procedimientos del comité normativo de bioseguridad ajustándose a lo señalado en los manuales del IMSS y a las indicaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo, NOM-052-SEMARNAT-2005, que establece las características, el procedimiento de investigación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos y Norma Manejo CRETIB.

## **DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO.**

Previa aprobación del protocolo por el comité local de investigación en cumplimiento de las normas éticas establecidas en el reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud en México, publicadas en el Diario Oficial de la Federación el 7 de Febrero de 1987.

Se realizó el presente estudio de cohorte, prospectiva, longitudinal y analítica, Se incluyeron pacientes pediátricos menores de 16 años de edad, con diagnósticos de Leucemia Linfoblástica Aguda de *novo* incluidos en el protocolo de tratamiento CMR 2016 y CMR 02/16 del servicio de Hematología Pediátrica de la UMAE Hospital General Dr. Gaudencio González Garza, Centro Médico Nacional “La Raza” en la Ciudad de México en el periodo comprendido del 01 de Enero del 2016 al 31 de Julio delo 2017.

Todos los pacientes que cumplieron con criterios de inclusión, como parte del esquema de diagnóstico y tratamiento global se tomaron muestras de médula ósea a través de aspirado de médula ósea al final de la terapia de inducción a la remisión en el día 28, 35, 42 o 49 dependiendo del tiempo en que reunieron los criterios de remisión, para los pacientes de muy alto riesgo se determinará la ERM al final de las 3 QT de consolidación. Una vez que se tuvo el resultado se asignó el riesgo final, y se evaluó la significancia pronóstica de la ERM mediante la supervivencia libre de evento tales como recaída, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global. Se registró además la edad, el sexo, además de todos los criterios para cada uno de los grupos de riesgo.

Los datos se captaron en Hoja de recolección de datos expreso en anexo 2. Y se vaciaron en hoja de cálculo Excel. Se analizarn en el programa SPSS versión 20. El estudio servirá como protocolo de tesis del investigador Asociado Dr. Noya Rodríguez Mario Alberto para obtener el título de la Especialidad en Hematología Pediátrica. Los resultados se presentarán en congresos de pediatría, Hematología, de Químicos y se publicarán de preferencia en revista indexada.

## RESULTADOS.

El estudio realizado en esta unidad CMN La Raza para determinar la significancia pronostica de la enfermedad residual mínima por citometría de flujo en niños con leucemia linfoblástica aguda para redefinir los grupos de riesgo y mejor asignación del tratamiento, en el cual se estudiaron un total de 92 pacientes de la edad pediátrica comprendida en un periodo del 01 enero de 2016 al 31 de Julio de 2017.

La prevalencia de los grupos de edad de 1-5 años fue de 51%, 5.1-9.9 años de 22.8% y mayores de 10 años de 26.10; mostrando una edad media de 5 años de edad, con una mínima de 1 año y 15 años como máxima al diagnóstico hematológico. Se estudiaron a 33 (39.1%) pacientes masculinos y 56 (60.9) pacientes femeninos.

Al momento del diagnóstico se observó valores de leucocitos en su mayoría de los pacientes en rangos <10 000 correspondientes a 42 (45.7%), entre 20 000 – 100 000 se englobaron 43 (46.8%) pacientes, siendo reportados 7 (7.6%) pacientes con hiperleucocitosis.

A partir de la clasificación internacional morfológica de la FAB, de los pacientes que recibieron el protocolo CMR 2016 y CMR 02/16 se reportaron 82 (89.1%) con Leucemia Linfoblástica Aguda L1, mientras que por otro lado fueron 10 (10.9%) pacientes con diagnostico morfológico de Leucemia Linfoblástica Aguda L2.

El inmunofenotipo de células B estuvo presente en 86 (93.5%) de los pacientes, y el inmunofenotipo de células T en 6 (6.5%) pacientes de la población estudiada. En cuanto a la determinación de grupos de riesgo; 36.5% (33 pacientes) riesgo estándar, 53.8% (50 pacientes) riesgo alto y 9.7% (9 pacientes) de riesgo muy alto. Como se muestra el al **tabla 1**.

**Tabla 1 Característica Generales de los niños con LLA N=92**

Característica	n (%)	Med	Min	Max
Sexo				
Masculino	33 (39.1)			
Femenino	56 (60.9)			
Edad (años)		5.0	1	15
Grupos de edad (año)				
1 a 5	47 (51.19)			
5.1 a 9.9	21 (22.80)			
≥10	24 (26.10)			
Leucocitos (μL)		13911	800	441600
Grupos de leucocitos (μL)				
<10 000	42 (45.7)			
10 a 20 000	17 (18.5)			
20 a 50 000	16 (17.4)			
50 a 100 000	10 (10.9)			
>100 000	7 (7.6)			
Clasificación FAB				
L-1	82 (89.1)			
L-2	10 (10.9)			
Inmunofenotipo				
B	86 (93.5)			
T	6 (6.5)			
Clasificación de Riesgo				
Estándar	33 (36.5)			
Alto	50 (53.8)			

Med= mediana, Min= mínimo, Max=máximo

El 69.6% (64) pacientes presentaron buena respuesta al final de tratamiento con ventana esteroidea y 30.4 % (28 pacientes) mala respuesta a la misma.

Al día +28 se realizó AMO, para valorar remisión morfológica reportándose 72 (78.3%) pacientes con remisión completa, 12 (13%) pacientes que presentaron sin remisión completa y 8 (8.8%) no se realizó AMO.

La determinación de EMR al día +28 fue evaluable en el 91.3% de los pacientes (84 pacientes), siendo positiva en 47 pacientes (51.1 %) y reportada negativa en 37 (40.2 %) pacientes.

Las recaídas de la enfermedad reportadas en este periodo de estudio estuvieron presentes en 9.8% (9 pacientes), de los cuales en el 100% de los mismos el tiempo de recaída fue muy temprana. El sitio de recaída se observó mayormente en médula ósea en 88.9% (8 pacientes), mientras que en 11.1% (1 paciente) se presentó recaída combinada (MO + SNC).

De los 92 pacientes en un tiempo de seguimiento de 326 días se reportaron 85.9% (75 pacientes) vivos, 14.1% (13 pacientes) muertos; de los cuales 9.8% (9 pacientes) presentaron muerte temprana. La supervivencia global de la enfermedad fue de 85.9%, con supervivencia libre de Enfermedad de 90.2% y una Supervivencia Libre de evento de 71.7%. Como se muestra en la **tabla 2**.

**Tabla 2. Respuesta al Tratamiento de niños con LLA (N=92)**

Característica	n (%)
Protocolo de Tratamiento	
CMR 2016	
Respuesta a la Ventana de Prednisona	
Buena	64 (69.6)
Pobre	28 (30.4)
Remisión al Día 28	
Remisión completa	72 (78.3)
Falla terapéutica	12 (13.0)
No valorable	8 (8.7)
Enfermedad Mínima residual (EMR)	
Negativa	37 (40.2)
Positiva	47 (51.1)
Cambio de Riesgo	45 (49.5)
Sin Cambio	47 (50.5)
Recaída	
No	83 (90.2)
Si	9 (9.8)
Tiempo de la Recaída	
Muy Temprana	9 (100)
Sitio de la recaída	
Médula ósea	8 (88.9)
MO + SNC	1 (11.1)
Estado Actual	
Vivos (Supervivencia global)	79 (85.9)
Muertos (Mortalidad)	13 (14.1)
Muerte temprana	9 (9.8)
Supervivencia Libre de Enfermedad	83 (90.2)
Supervivencia Libre de evento	66 (71.7)

Tiempo de Seguimiento: Promedio 326 días, Mínimo 21, Máximo 553 días

Además en el estudio se realizó la comparación de los protocolos CMR 2016 y CMR 02-16 utilizados en este periodo de 18 meses de tratamiento. Se incluyeron 54 y 38 pacientes para cada protocolo CMR 2016 y CMR 02/16 respectivamente. Se reportó remisión morfológica completa al día +28 en 87% (47 pacientes) con el protocolo CMR 2016 y una remisión en 65.8% (25 pacientes) con protocolo CMR 02-16

La enfermedad mínima residual fue negativa en 64.9% (24 pacientes) y positiva en 57.4% (27 pacientes) para protocolo CMR 2016; mientras que la EMR se reportó negativa en 35.1% (13 pacientes) y EMR positiva en 42.6% (20 pacientes) para protocolo CMR 02/16. Siendo no valorable dicho estudio en un 5.6% (3 pacientes) y en 13.2% (5 pacientes) para el protocolo CMR 2016 y 02-16 respectivamente.

Se presentó cambio de riesgo a muy alto riesgo 60% (27 pacientes) para el protocolo CMR 2016, mientras que para el CMR 02-16 fueron 40% (18 pacientes). La recaída se presentó en etapa muy temprana en ambos protocolos, en el CMR 16 fue de 7.4% (4 pacientes) y para el CMR 02-16 13.2% (5 pacientes). Además de reportarse 9.3% (5 pacientes) muertes, de las cuales 2.1% (2 pacientes) fueron muertes tempranas en protocolo CMR 2016; y para el protocolo CMR 02-16 fueron 21.1% (8 pacientes) muertes, siendo el 7.6% de manera temprana. Como se muestran los datos en la **tabla 3**.

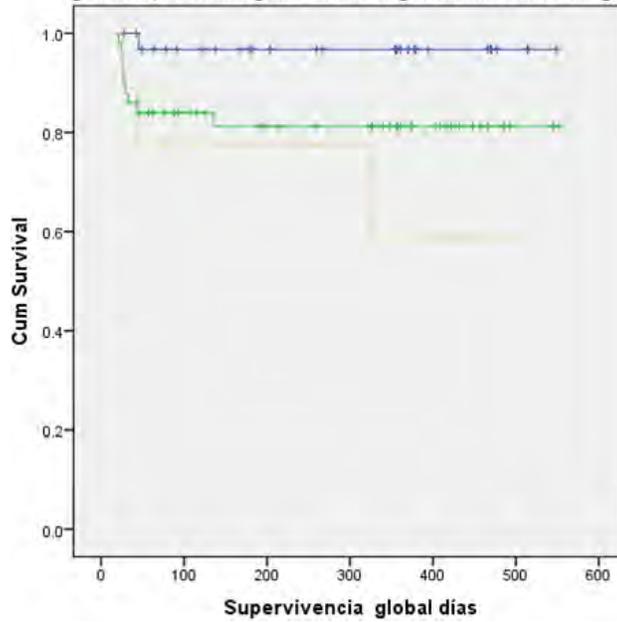
**Tabla 3. Resultado del análisis de la comparación entre protocolos de Quimioterapia**

Característica	CMR 2016 (54) n (%)	CMR 0216 (38) n (%)	P
Remisión completa	47 (87.0)	25 (65.8)	.051
Falla Terapéutica	4 (7.4)	8 (21.1)	.052
No valorable	3 (5.6)	5 (13.2)	.029
Enfermedad Mínima Residual			
Negativa	24 (64.9)	13 (35.1)	.351
Positiva	27 (57.4)	20 (42.6)	.354
No valorable	3 (5.6)	5 (13.2)	.180
Cambio de Riesgo			
A muy alto	27 (60.0)	18 (40.0)	.016
Recaída			
No	50 (92.6)	33 (86.8)	.01
Si	4 (7.4)	5 (13.2)	.02
Muertos	5 (9.3)	8 (21.1)	.01
Muerte temprana	2 (2.1)	7 (7.6)	.001

No se observó diferencia estadísticamente significativa al comparar ambos protocolos respecto la EMR negativa ( $p= 0.351$ ), EMR positiva ( $p= 0.354$ ). Por otro lado fue significativo en la remisión completa ( $p=0.51$ ), falla terapéutica ( $p=0.52$ ) cambio de riesgo ( $p=.016$ ); así como también fue estadísticamente significativa al comparar entre la presencia o no de recaída ( $p= .02$ ) y muertes tempranas ( $p= .001$ ).

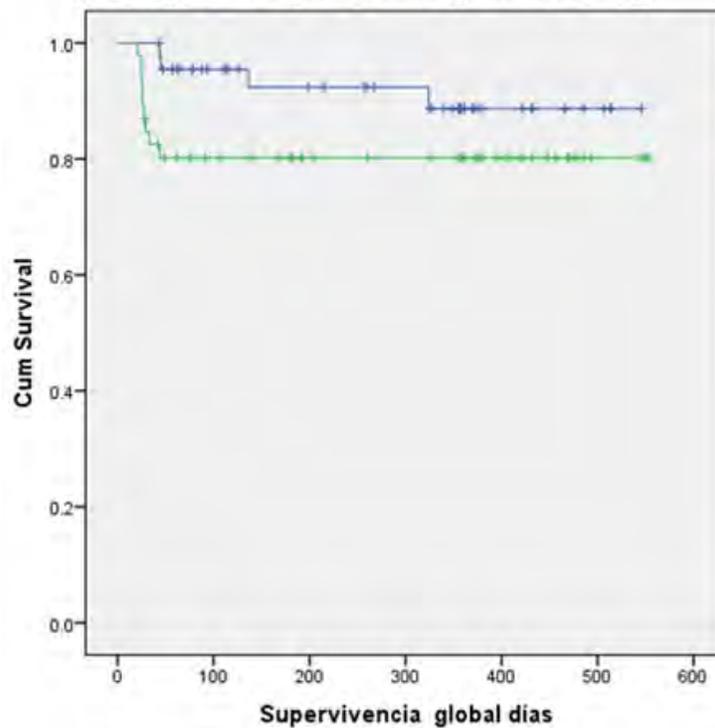
La supervivencia global en días. Clasificación de riesgo: Estándar (línea azul), Verde (línea verde), Muy Alto Riesgo (café). Demuestra que los pacientes de riesgo estándar presentan mayor tiempo de supervivencia en un seguimiento de 553 días, con una mayor proporción de pacientes vivos en comparación de los pacientes clasificados en alto y muy alto riesgo. **Figura 1**.

Figura 1. Supervivencia global en días. Según clasificación de Riesgo

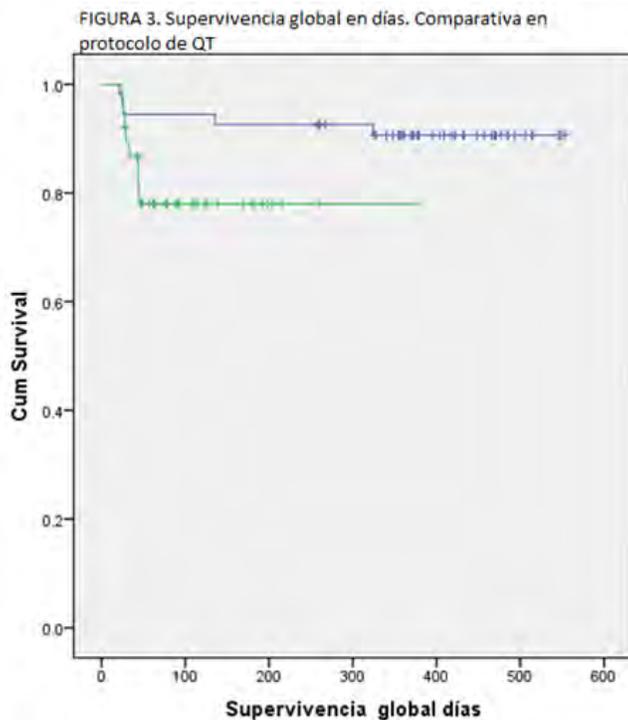


La supervivencia global en días según cambio de riesgo. Cambio de riesgo a Muy Alto Riesgo (línea azul), No cambio de Riesgo (línea verde). Demuestra que los pacientes que se cambiaron a muy alto riesgo posterior a EMR positiva presentan mayor tiempo de supervivencia global (85%) en un seguimiento de 553 días, en comparación de los pacientes que no cambiaron de riesgo (80%). **Figura 2.**

Figura 2. Supervivencia global en días. Según cambio de riesgo



La supervivencia global en días comparada entre ambos protocolos. CMR 2016 (línea azul), CMR 02/16 (línea verde). Demuestra que los pacientes tratados con el protocolo CMR2016 presentan mayor tiempo de supervivencia (86%) en un seguimiento de 553 días, en comparación de los pacientes tratados con el protocolo CMR 02/16 (79%). **Figura 3.**



## DISCUSIÓN.

La Enfermedad mínima residual es el método utilizado en distintas neoplasias infantiles principalmente en la leucemia linfoblástica aguda, ha ido adquiriendo en los últimos años una importancia trascendental en la detección y seguimiento de pacientes con mayor probabilidad de recaída y como consecuencia, un mal pronóstico a largo plazo.

La valoración de respuesta al tratamiento en los diferentes grupos de riesgo fue valorada posterior a la finalización de la ventana esteroidea, la remisión morfológica al día 28 y el reporte de EMR al día 28. De acuerdo a los criterios de riesgo establecidos en los protocolos de quimioterapia, en el estudio se observó buena respuesta a la respuesta a ventana esteroidea en 69%. Al día +28 de quimioterapia se valoró la respuesta morfológica en médula ósea reportándose 78.3% con remisión completa (menos de 5% de blastos en MO), 13% pacientes que presentaron falla terapéutica y 8 (8.8%) pacientes que no se pudo realizar AMO por complicaciones a la enfermedad de base o secundarias al tratamiento con quimioterapia. De acuerdo a los resultados de respuesta a tratamiento y tomando en cuenta los criterios de cambios de riesgo (a muy alto riesgo) se cambiaron de riesgo a 49.5% de pacientes, basados en el resultado de EMR positiva. La valoración de cambios de riesgo basado en los criterios de ambos protocolos, y de los reportes de EMR positiva al día +28, estadificaron en grupo de muy alto riesgo a 60% pacientes para el protocolo CMR 2016, mientras que para el CMR 02-16 fue de 40%.

La definición de remisión completa en pacientes con leucemias agudas se realiza por citomorfología y Enfermedad mínima residual. El conocimiento del inmunofenotipo de células normales es fundamental para poder identificar células patológicas y así establecer los fenotipos asociados a leucemias agudas. El punto de corte utilizado en LLA para definir EMR positiva es 0.01%. Este valor está asociado al límite de detección de la citometría de flujo. Morán y cols reportaron que el riesgo de recaída es directamente proporcional al nivel de EMR determinada en diferentes puntos del tratamiento. La medición de EMR al día +28 de iniciado el tratamiento de quimioterapia brinda importante información que permite reasignar grupo de riesgo de la enfermedad hematológica e intensificar el tratamiento en pacientes con mayor riesgo de recaída, para mejorar la supervivencia global como se observó en nuestro estudio reportando en 85% en un seguimiento de 553 días para los que cambiaron a muy alto riesgo, en comparación de los pacientes que no cambiaron de riesgo (80%).

No se ha demostrado que los pacientes con EMR negativa se beneficien con la disminución en la intensidad de tratamiento. Los excelentes resultados de supervivencia en este grupo de pacientes se han logrado con el tratamiento estándar, de acuerdo a Soria y cols; así como también se observó en nuestro estudio con una supervivencia global de la enfermedad de 85.9%.

En concordancia con lo publicado, la EMR positiva al día +28 en el 95% de los pacientes se correlacionó con cambio de grupo de riesgo a muy alto riesgo, mayor porcentaje recaída en 19.1% y menor supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global. No se asoció la EMR al día +28 con respuesta al tratamiento de ventana esteroidea probablemente por el número de pacientes estudiados.

También la EMR positiva al día +28 en el 14% de los pacientes se correlacionó en forma significativa con mayor recuento de leucocitos al diagnóstico, fenotipo T, riesgo alto, lo cual es similar a los estudios repostados por Gutiérrez y cols.

De acuerdo a la respuesta terapéutica y los cambios de riesgo de la enfermedad para ajustar el manejo al tratamiento con protocolo CMR y en el seguimiento a corto plazo de los pacientes en este estudio el estado actual de la población pediátrica (92 pacientes) en un tiempo de seguimiento mínimo de 21 días, y máximo 553 días, siendo un promedio de 326 días se reportó 85.9% pacientes vivos, 14.1% muertos, de los cuales 9.8% presentaron muerte temprana relacionada con procesos infecciosos principalmete.

En trabajos publicados por el Hospital St Jude demostró que pacientes con altos niveles de EMR (positiva) por citometría de flujo al final de la inducción tuvieron menor SLE a 5 años que aquellos pacientes con EMR menor a 0.01% ( $59\% \pm 5$  vs  $88\% \pm 1$ ). Comparando con los resultados en nuestro estudio donde Enfermedad Mínima residual (EMR) negativa se presentó en 40.2% vs 51.1%, ameritando cambio de riesgo en 49.5% de los pacientes con recaída de los mismos en 9.8%. Concluyendo una supervivencia libre de enfermedad de 90.2% y una supervivencia libre de evento de 71.7%. Por lo tanto 0.01% sería un punto de corte importante para detectar pacientes con riesgo elevado de recaída

## **CONCLUSIÓN.**

La Enfermedad mínima residual se considera actualmente un estudio complementario y de seguimiento de la Leucemia linfoblástica aguda indispensable para estadificar en grupos de riesgo y reasignar el riesgo en el día +28.

La enfermedad mínima residual es el método utilizado para la detección de blastos en pacientes morfológicamente en remisión completa. En pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda, se considera un factor de riesgo independiente asociado con baja supervivencia libre de eventos.

En nuestro estudio se demuestra que la EMR positiva en MO en el día +28 del tratamiento es una variable pronóstica independiente y significativa en la predicción de recaída en LLA pediátrica. Además de que el seguimiento en estos pacientes a corto plazo demuestran una mejor supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad.

Basado en los resultados durante el periodo de estudio de 18 meses se demuestra que la resignación de riesgo (a muy alto riesgo) posterior a la valoración de la Enfermedad Mínima Residual para modificación de tratamiento de quimioterapia y mejor asignación de manejo médico, presenta beneficio para los pacientes de nuestro centro de trabajo en el Centro Médico Nacional "La Raza" presentando una supervivencia global de la enfermedad de 85.9%, así como una supervivencia libre de Enfermedad de 90.2%. Teniendo en consideración que la exposición a fármacos citotóxicos y *per se* la patogenia de la enfermedad que condiciona resistencia a la quimioterapia llevan a que los pacientes presentes complicaciones con desenlaces fatales.

## REFERENCIAS.

1. Eley JW , Hill HA, Chen VW, Austin DF, Wesley MN; Childhood Cancer, in National Cancer Institute, S.C.S. Review, Editor. 2016: Bethesda.
2. Altekruse SF, Kosary CL, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Childhood Cancer by the ICC, in National Cancer Institute, S.C.S. Review, Editor. 2016: Bethesda.
3. Perez-Saldivar M.L., Fajardo-Gutiérrez A, Bernáldez-Ríos R, Martínez-Avalos A, Medina-Sanson A, Espinosa-Hernández L, Flores-Chapa Jde D, Jiménez-Hernández E, et al. Childhood acute leukemias are frequent in Mexico City: descriptive epidemiology. *BMC Cancer*, 2011. 11: p. 355.
4. LG R., Constance L. Percy, Greta R. Bunin, Cancer Incidence and Survival among Children and Adolescent, in National Cancer Institute SEER Program, N.C.I.S. Program, Editor. 1999: Bethesda.
5. Pritchard-Jones, K., Pieters R, Reaman GH, Hjorth L, Downie P, Calaminus G, Naafs-Wilstra MC, Steliarova-Foucher E., et al., Sustaining innovation and improvement in the treatment of childhood cancer: lessons from high-income countries. *Lancet Oncol*, 2013. 14(3): p. e95-e103.
6. Hunger, S.P., Lu X, Devidas M; Expanding clinical trial networks in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*, 2014. 32(3): p. 169-70.
7. Hunger, S.P., Lu X, Devidas M, Camitta BM, Gaynon PS, Winick NJ, et al., Improved survival for children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia between 1990 and 2005: a report from the children's oncology group. *J Clin Oncol*, 2012. 30(14): p. 1663-9.
8. Jiménez-Hernández E, Jaimes-Reyes E, Arellano-Galindo J, García-Jiménez X, Tiznado-García H, Dueñas-González M, Martínez Villegas O et al. Survival of Mexican Children with Acute Lymphoblastic Leukaemia under Treatment with the Protocol from the Dana-Farber Cancer Institute 00-01. *BioMed Research International*. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/576950>
9. Tsuchida M, Hanada R, Ikuta K, Toyoda Y, Okimoto Y, Ishimoto K, Okawa H, Ohara A, Kaneko T, Koike K, Sato T et al. Long-term results of Tokyo Children's Cancer Study Group trials for childhood acute lymphoblastic leukemia, 1984-1999. *Leukemia*, 2010. 24(2): p. 383-96.
10. Gaynon PS, Angiolillo AL, Carroll WL, et al, Long-term results of the children's cancer group studies for childhood acute lymphoblastic leukemia 1983-2002: a Children's Oncology Group Report. *Leukemia*, 2010. 24(2): p. 285-97.
11. Moricke A, Reiter A, Zimmermann M, et al, Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. *Leukemia*, 2010. 24(2): p. 265-84.
12. Pui CH, Pei D, Sandlund JT, Ribeiro RC, Rubnitz JE, Raimondi SC, Onciu M, Campana D et al, Long-term results of St Jude Total Therapy Studies 11, 12, 13A, 13B, and 14 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 2010. 24(2): p. 371-82.
13. Silverman LB, Stevenson KE, O'Brien JE, Asselin BL, Barr RD, Clavell L, Cole PD et al, Long-term results of Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium protocols for children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia (1985-2000). *Leukemia*, 2010. 24(2): p. 320-34.

14. Conter V, Aricò M, Basso G, Biondi A, Barisone E, Messina C, Parasole R, et al. Long-term results of the Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology (AIEOP) Studies 82, 87, 88, 91 and 95 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 2010. 24(2): p. 255-64.
15. Borowitz MJ, Devidas M, Hunger SP, Bowman WP, Carroll AJ, Carroll W, et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors: a Children's Oncology Group study. *Blood*, 2008. 111(12): p. 5477-85.
16. Usuki, K., Nihon N., Gakkai Z., [Leukemia: recent progress in diagnosis and treatment. Topics: III. Diagnosis and treatments: Treatment for acute lymphoblastic leukemia]., 2013. 102(7): p. 1696-704.
17. Al-Mawali, A., D. Gillis, and I. Lewis, The role of multiparameter flow cytometry for detection of minimal residual disease in acute myeloid leukemia. *Am J Clin Pathol*, 2009. 131(1): p. 16-26.
18. Cavé H, van der Werff ten Bosch J, Suciú S, Guidal C, Waterkeyn C, Otten J et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer--Childhood Leukemia Cooperative Group. *N Engl J Med*, 1998. 339(9): p. 591-8.
19. Szczepanski T, Why and how to quantify minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia? *Leukemia*, 2007. 21(4): p. 622-6.
20. Sutton R, Venn NC, Tolisano J, Clinical significance of minimal residual disease at day 15 and at the end of therapy in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*, 2009. 146(3): p. 292-9.
21. Basso G, Veltroni M, Valsecchi MG, Dworzak MN, Ratei R, Silvestri D, Benetello A et al. Risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia is predicted by flow cytometric measurement of residual disease on day 15 bone marrow. *J Clin Oncol*, 2009. 27(31): p. 5168-74.
22. Campana D, Minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2010. 2010: p. 7-12.
23. Campana, D., Brown PA, Aoun P, Ballen KK, Barta SK, Borate U, Boyer MW, et al. Minimal residual disease monitoring in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Curr Opin Hematol*, 2012. 19(4): p. 313-8.
24. Dworzak, M.N., Ratei R, Rhein P, Gaipa G, Immunological detection of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Onkologie*, 2001. 24(5): p. 442-8.
25. Campana, D., E. Coustan-Smith, and G. Janossy, The immunologic detection of minimal residual disease in acute leukemia. *Blood*, 1990. 76(1): p. 163-71.
26. Wells, D.A., Sale GE, Shulman HM, Multidimensional flow cytometry of marrow can differentiate leukemic from normal lymphoblasts and myeloblasts after chemotherapy and bone marrow transplantation. *Am J Clin Pathol*, 1998. 110(1): p. 84-94.
27. Terstappen L.W. and Loken M.R., Five-dimensional flow cytometry as a new approach for blood and bone marrow differentials. *Cytometry*, 1988. 9(6): p. 548-56.
28. Van der Velden, V.H. and Van Dongen J.J. MRD detection in acute lymphoblastic leukemia patients using Ig/TCR gene rearrangements as targets for real-time quantitative PCR. *Methods Mol Biol*, 2009. 538: p. 115-50.

29. Coustan-Smith E. and Campana D. Immunologic minimal residual disease detection in acute lymphoblastic leukemia: a comparative approach to molecular testing. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2010. 23(3): p. 347-58.
30. Brüggemann , Schrauder A, Raff T, Pfeifer H, Dworzak M, Ottmann O, et al. Standardized MRD quantification in European ALL trials: proceedings of the Second International Symposium on MRD assessment in Kiel, Germany, 18-20 September 2008. *Leukemia*, 2010. 24(3): p. 521-35.
31. Stow P, Key L, Chen X, Pan Q, Neale GA, Coustan-Smith E, Clinical significance of low levels of minimal residual disease at the end of remission induction therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 2010. 115(23): p. 4657-63.
32. Boyd, S. D., Marshall, E. L., Merker, J. D., Maniar, J. M., Zhang, L. N., Sahaf, B, et al. Measurement and clinical monitoring of human lymphocyte clonality by massively parallel VDJ pyrosequencing. *Sci Transl Med*, 2009. 1(12): p. 12ra23.
33. Drach J, Drach D, Glassl H, Gattringer C, Huber H, Flow cytometric determination of atypical antigen expression in acute leukemia for the study of minimal residual disease. *Cytometry*, 1992. 13(8): p. 893-901.
34. Hurwitz CA, Loken MR, Graham ML, Karp JE, Borowitz MJ, Pullen DJ, Civin CI, et al. Flow cytometric detection of rare normal human marrow cells with immunophenotypes characteristic of acute lymphoblastic leukemia cells. *Leukemia*, 1992. 6(4): p. 233-9.
35. Weir, E. G., Cowan, K., LeBeau, P., & Borowitz, M. J, A limited antibody panel can distinguish B-precursor acute lymphoblastic leukemia from normal B precursors with four color flow cytometry: implications for residual disease detection. *Leukemia*, 1999. 13(4): p. 558-67.
36. Van Dongen JJ, Macintyre EA, Gabert JA, Delabesse E, Rossi V, Saglio G, Gottardi E, et al. Detection of minimal residual disease in acute leukemia patients. *Cytokines Mol Ther*, 1996. 2(2): p. 121-33
37. Rosenthal SL, Freundlich LF, Gilardi GL, Clodomar FY, In vitro antibiotic sensitivity of *Moraxella* species. *Chemotherapy*, 1978. 24(6): p. 360-3.
38. Li, A., Zhou, J., Zuckerman, D., Rue, M., Dalton, V., Lyons, C., et al. Sequence analysis of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene rearrangements in children with acute lymphoblastic leukemia at diagnosis and at relapse: implications for pathogenesis and for the clinical utility of PCR-based methods of minimal residual disease detection. *Blood*, 2003. 102(13): p. 4520-6.
39. Conter, V., Bartram CR, Valsecchi MG, Schrauder A, Panzer-Grümayer R., Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study. *Blood*, 2010. 115(16): p. 3206-14.

**CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES**

Año 2016												
	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Elaboración del protocolo												
Registro de protocolo ante el CLIES												
Captura de la base de datos												
Análisis de los datos obtenidos												
Interpretación de resultados												
Formulación de tesis												
Redacción y envío a publicación												
Año 2017												
	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic
Elaboración del protocolo												
Registro de protocolo ante el CLIES												
Captura de la base de datos												
Análisis de los datos obtenidos												
Interpretación de resultados												
Formulación de tesis												

ANEXO 1 CARTA DE CONSENTIMIENTOBAJO INFORMACION



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN  
Y POLITICAS DE SALUD  
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD  
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Nombre del estudio:	“SIGNIFICANCIA PRONOSTICA DE LA ENFERMEDAD RESIDUAL MÍNIMA POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN NIÑOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA PARA REDEFINIR LOS GRUPOS DE RIESGO Y MEJOR ASIGNACIÓN DEL TRATAMIENTO”
Lugar y fecha:	
Número de registro:	
Justificación y objetivo del estudio:	El propósito de este estudio es conocer algunas características que podemos encontrar en los estudios de laboratorio que se realizan en la muestra de aspirado de médula ósea al final de la primera etapa del tratamiento de la leucemia y asignación de tratamiento
Procedimientos:	Para valorar la respuesta que tuvo su hijo a las primeras quimioterapias que recibió, se toma una muestra de médula ósea como se le realizó al inicio para darle el diagnóstico de leucemia aguda. En la muestra de médula ósea que se tomará en el día 33 después de haber recibido la primera quimioterapia, se realizarán estudios para saber si existen aún células leucémicas y así poder ajustar la intensidad de quimioterapia que indicaremos a su hijo.
Posibles riesgos y molestias:	La principal molestia que tendrá su hijo es dolor secundario al procedimiento realizado, para lo cual se le dará analgésico. Los posibles riesgo que pudiesen presentarse con infecciones, sangrados o lesiones de estructuras dentro de su cuerpo debido a que es un procedimiento que se realiza a ciegas.
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	El beneficio que obtenga al dejar que su hijo participe en este estudio es que de acuerdo al resultado que se obtenga ajustaremos la quimioterapia aumentando o disminuyendo su intensidad.
Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:	Los resultados se los dará su médico tratante y forman parte del tratamiento integral para la Leucemia aguda.

Participación o retiro:

Para que su hijo participe, es necesario que esté de acuerdo y nos firme este consentimiento bajo información. Si usted decide que su hijo no participe solo tiene que solicitarlo y su hijo será retirado del estudio. Por supuesto su atención médica continuará sin cambio dentro del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Privacidad y confidencialidad:

Es el compromiso de los investigadores el ocultar el nombre de su hijo, para impedir su identificación. Los resultados se mantendrán en secreto estricto y la confidencialidad sobre el historial de los sujetos que ingresen al estudio.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:

Investigador Responsable:

M. en C. Elva Jiménez Hernández, Servicio de Hematología Pediátrica en el CMN "La Raza" Tel: 57245900 Ext: 23511 y 23512.

Colaborador:

Dr. Octavio Martínez Villegas, Servicio de Hematología Pediátrica en el CMN "La Raza" Tel: 57245900 Ext: 23511 y 23512.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: [comision.etica@imss.gob.mx](mailto:comision.etica@imss.gob.mx)

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de ambos padres o  
tutores o representante legal

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1

Testigo 2

\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma

\_\_\_\_\_  
Nombre, dirección, relación y firma

**Clave: 2810-009-013**

## Anexo 2. Hojas de recolección de datos

### HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PROTOCOLO LLA DANA-FARBER 11-01 (CMR 2016)

Nombre NSS

Fecha de Diagnóstico

Edad en años al Dx Sexo: F ( ) M ( )

Peso al Dx Talla al Dx

Leucocitos Totales al Dx:

Clasificación Fab L-1 ( ) L-2 ( )

Fenotipo: Pro-B ( ) Pre-B ( ) CALLA ( ) ( ) Pro-T (Pre-T) Marcador T ( ) ( )

Cariotipo: Normal ( ) hiperdiploide ( ) hipodiploide ( ) haploide ( ) aneuploide ( )

Alt estructural: t(12;21) ( ) t(1;19) ( ) t:4;11 ( ) t(9;22) ( ) Otra \_\_\_\_\_

Alt molecular: TEL/AML1 ( ) E2A/PBX1 ( ) AML/AF4 ( ) bcr/abl ( ) Otra \_\_\_\_\_

Respuesta a la ventana de Prednisona: Buena ( ) Pobre ( )

Riesgo: estándar ( ) Alto ( ) Muy Alto ( )

Criterios para riesgo alto: <1año ( ) >10años ( ) Leucos >25 000 ( ) Infiltración testicular ( ) SNC ( ) mediastino ( ) fenotipo T ( ) cariotipo ( ) Falla a la PDN ( ) Rearreglos ( ) LNH previo ( )

Tx previo con Esteroide ( ) Falla a la IR ( ) marcador T ( ) infiltración parotídea ( ) más de uno ( ) otros \_\_\_\_\_

Médula ósea del día 28: Remisión completa ( ) Falla ( ) No valorable ( )

ERM al día 28: positiva >0.01% ( ) Negativa <0.01% ( )

ERM para Risg muy alto al término de las consolidaciones: post >0.01% ( ) Negativa <0.01% ( )

Riesgo final con ERM: Estándar ( ) Alto ( ) muy Alto ( )

Evolución: Remisión completa continua ( ) Muerte temprana (antes de alcanzar remisión) ( )

Muerte en tratamiento (Sin recaída) ( ) Muerte durante la Reinducción ( ) Falla terapéutica ( ) Abandono de Tratamiento ( ) QT paliativa ( ) Vivo en Remisión subsecuente ( ) muerte con recaída ( ) Vivo en RCC y alta por edad ( ) Vivo postTCPH ( ) alta por edad y se desconoce ( ) Vivo en recaída ( ) Se desconoce ( )

Número Total de L-asparaginasas

Efectos Secundarios de Asparaginasas: Ninguna ( ) Alergia ( ) Pancreatitis ( ) Trombosis ( ) Hemorragia ( ) dolor en el sitio de aplicación ( ) otras \_\_\_\_\_

Recaída: Si ( ) No ( ) Fecha de la recaída

Causa de Recaída: Abandono de Tx ( ) Resistencia a la QT ( ) Falta de apego al Tx ( ) L-aspa <25 ( )

Primera Recaída: Muy temprana ( ) Temprana ( ) Tardía ( )

Sitio de la recaída: MO ( ) SNC ( ) MO+SNC ( ) Testicular ( ) MO+SNC+Test ( ) Otros ( )

Segunda recaída: Muy temprana ( ) Temprana ( ) Tardía ( )

Sitios de la recaída: MO ( ) SNC ( ) MO+SNC ( ) Testicular ( ) MO+SNC+Test ( ) Otros ( )

Edo Actual : Vivo ( ) Muerto ( )

Fecha de la Muerte y etapa del tratamiento

Causa de la muerte: Choque séptico ( ) Colon neutropénico ( ) Neumonía ( ) Hemorragia ( )

Alt metabólicas ( ) Actividad leucémica ( ) Sx de leucoestasis ( ) Otras \_\_\_\_\_

Toxicidad: hematológica ( ) Renal ( ) Gastrointestinal ( ) SNC ( ) Cardíaca ( ) Pulmonar ( )

Gonadal ( ) Segunda neoplasia ( ) Pancreatitis ( ) Hepática ( ) Micosis profundas ( ) Varias ( )

Otras \_\_\_\_\_

Supervivencia libre de enfermedad en meses \_\_\_\_\_

Supervivencia global en meses \_\_\_\_\_

<b>Instituto Mexicano del Seguro Social</b>											
<b>UMAE Hospital General CMN "La Raza"</b>											
<b>Servicio de Hematología Pediátrica</b>											
<b><i>Solicitud para determinación de enfermedad mínima residual por citometría de flujo.</i></b>											
Nombre del paciente:						NSS:					
Fecha (dd/mm/aaaa):				Edad:		Fenotipo:					
Médico tratante:											
Diagnóstico morfológico:					Riesgo:						
Fecha de diagnóstico: (dd/mm/aaaa):					Etapa de tratamiento:						
Marcadores presentes en el fenotipo inicial y al final de la inducción a la remisión.											
Linaje B			Linaje T			Inmadurez/Común			Linaje Mieloide		
CD	Inicial	Día 33									
CD79			CD3			HLA-DR			CD15		
CD19			CD7			CD34			CD33		
CD20			CD5			CD45			CD14		
CD22			CD4			CD38			CD13		
CD10			CD2			Anti-Tdt			MPO		
CD22			CD1a			CD66c			CD64		
CD10			CD58			Kappa			CD117		
IgMc			CD16			Lambda			CD235a		
Syto16			CD56						CD41		
			CD3c						CD61		
			CD8						CD71		
									CD123		
<b>Interpretación:</b>											