



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA Y FACULTAD DE MEDICINA, UNAM
CAMPO DEL CONOCIMIENTO EN CIENCIAS MÉDICAS

“ESTUDIO DE LOS INMUNOFENOTIPOS ABERRANTES COMO FACTOR
PRONÓSTICO EN LEUCEMIAS LINFOBLÁSTICAS AGUDAS EN PACIENTES DEL
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA”

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:

MIGUEL ENRIQUE CUÉLLAR MENDOZA

TUTORA Y CÓMITE TUTORAL:

DRA. MARTA MARGARITA ZAPATA TARRÉS
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

DR. FRANCISCO RAÚL CHÁVEZ SÁNCHEZ
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

DRA. ELISA DORANTES ACOSTA
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO “FEDERICO GÓMEZ”

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD MX, NOVIEMBRE DE 2019



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.

A mi madre y mi tía por estar siempre ahí

A mí padre por su apoyo

A mis tutores por su infinita paciencia

A mis amigos por sus prontas respuestas

A las personas que recomiendan libros por hacer divertidos los momentos

INDICE:

1.- MARCO TEÓRICO	5
2.-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
3.-JUSTIFICACIÓN.....	18
4.- OBJETIVOS.....	19
5.-HIPOTESIS.....	20
5.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	21
6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	23
7.-ANALISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
8.-CONCLUSIONES.....	47
9.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

1.- MARCO TEÓRICO

1.1 GENERALIDADES DE LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es un tipo de neoplasia de precursores linfoides, pudiendo ser estos tanto de origen T como B(1,2). Este tipo de neoplasias son caracterizadas por la expansión de una clona de células progenitoras de manera descontrolada y rápida con involucro del 25% de la médula ósea; también pueden afectar sangre periférica y sitios extramedulares(3,4). También se reconoce otra neoplasia de precursores linfoides, el linfoma linfoblástico.

La leucemia linfoblástica es la neoplasia maligna más común en la infancia(5,6), en los Estados Unidos representa el 31% de las neoplasias de menores de 15 años, con una incidencia global de 1.7 casos por cada 100,00 habitantes, lo que representa cerca de 6000 casos nuevos por año y es la causa de muerte más frecuente por cáncer antes de los 20 años(7).

En los países de menores recursos como México la incidencia es mayor, presentándose entre 75.3 y 79.8 casos por millón de habitante; conservándose la tendencia a ser las neoplasias más frecuentes en la población menor a 20 años y la segunda causa de muerte en el mismo grupo de edad(8–10). En años recientes se ha visto que la tendencia de este tipo de neoplasias en nuestra población se encuentra en aumento.

La asignación del tratamiento en base al riesgo es la estrategia terapéutica utilizada en niños con diagnóstico de LLA. Las tasas de supervivencia en niños con criterios favorables exceden el 90% a más del 95% con tratamiento intensificado; pero este porcentaje disminuye en pacientes con riesgo mayor (11).

El tratamiento se divide en 3 etapas: Inducción a la remisión, tratamiento post-remisión o consolidación y terapia de mantenimiento o continuación. Estos esquemas de quimioterapia han mostrado buenos resultados a seguimientos hasta de 5, 10 años. Sin embargo, un 30% de los pacientes va a presentar recaída. En el

Instituto Nacional de Pediatría se trata a los pacientes de acuerdo a los protocolos de St. Jude ajustados al riesgo(1).

1.2 DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN

Históricamente la clasificación y el diagnóstico de esta enfermedad se ha realizado para entender su diversidad clínica y la respuesta al tratamiento de los pacientes. La primera clasificación de LLA fue una clasificación de tipo morfológico, conocida como Franco Americana Británica (FAB)(12); esta clasificación incluía la relación núcleo citoplasma, la presencia o ausencia de nucleolo, el tamaño de la célula, la presencia o no de vacuolas y el criterio de un 20% de involucro de la médula ósea por células de tipo blasto; con esto los blastos de las leucemias se dividían en tres tipos L1, L2 y L3(13).

Características	L1	L2	L3
Tamaño	Pequeño	Mediano	Mediano
Cromatina	Homogénea, condensada	Heterogénea	Homogénea con gránulos finos de cromatina
Nucleolos	Escasamente visible	Presente	Prominentes
Citoplasma	Escaso	Variable	Abundante
Vacuolas	Normalmente ausentes	Normalmente ausentes	Presentes

Tabla 1. Clasificación morfológica o de la FAB. La mayor parte de los blastos que conforman el subtipo L3 ahora se reconocen como parte de linfomas no Hodgkin en vez de LLA.

Posterior a esto se comenzó a utilizar la citometría de flujo para la medición de marcadores en células presentes tanto en núcleo, citoplasma y membrana celular conocidos como inmunofenotipo. Estos avances nos han permitido diferenciar a las leucemias en tipos B o T y tener subgrupos de estas mismas.

1.3 MARCADORES INMUNOFENOTÍPICOS COMUNES EN LLA

En la actualidad las leucemias pueden ser clasificadas en provenientes de células B y T(14,15). Como ya se comentó en la sección anterior estas características

celulares pueden ser distinguidas a través del citómetro de flujo. Los marcadores celulares más comunes son las inmunoglobulinas, CD19 o CD22 para las neoplasias de células B y el receptor de células T o el CD3 para las neoplasias de células T(16).

Linaje	Marcadores
Célula B	Inmunoglobulinas de superficie, cadenas ligeras citoplásmicas, CD19, CD22 o CD79
Célula T	CD3 citoplásmico o membranal, CD2, CD5, CD8 o receptor de células T

Tabla 2. Marcadores comunes que nos permiten diferenciar entre el origen de una célula (si son B o T)

Muchos de estos marcadores que permiten diferenciar a las células pertenecen a la nomenclatura CD (cluster of differentiation). Estos CD son moléculas de superficie expresadas en leucocitos y células relevantes al sistema inmunológico; aceptados por la Unión de Sociedades de Inmunología y corroborados por la Organización Mundial de la Salud. Estos se expresan en estadios de diferenciación o linajes particulares y son reconocidos por un grupo de anticuerpos monoclonales(17). Estos marcadores, por lo tanto, se encuentran en la contraparte no neoplásica y representan moléculas bien caracterizadas y típicas de esos linajes(18).

Una vez conociendo los marcadores que presentan las leucemias, se han realizado diferentes clasificaciones como la de St Jude Cancer Research Hospital que a su vez las subclasifican en diferentes tipos que se relacionan con el pronóstico y el tratamiento(19).

Linaje	Marcadores celulares
LLA Pre B temprana	CD19+, HLA-DR +, CD22s o CD22c, CD79+, CD20 +/- 90%: CD10 y TdT 75% CD34 CD45 ausente en 10% de los casos
LLA Pre B	25% de las leucemias al diagnóstico CD19+, CD22+, CD79+, HLA-DR + IgM citoplásmica 85%: TdT y CD10 66%: CD34 CD20 expresado de manera débil

B madura	2-4% de las LLA en la infancia IgM de superficie +, Kappa y Lambda CD19+, CD22+, CD10+, CD20+, CD23+ TdT y CD34 -
B madura inmunofenotipo infrecuente	Blastos L1 y L2 TdT, CD34 y CD20 débiles Mutaciones C-MYC
Linaje T	CD7+, CD3+ 90%: CD2, CD5 y TDT 45%: CD1a, CD3, CD4 o CD8 Se dividen en Pre T, T temprana, T común y T tardía

Tabla 3. Subtipos de leucemia linfoblástica.

En México se realizó en marzo de 2018 la Primera Reunión Nacional de Consenso para la Inmunotipificación de Leucemias Agudas, en el cual se dieron recomendaciones para el adecuado diagnóstico e inmunotipificación de las mismas, obteniéndose los siguientes paneles de marcadores(20):

Indicación	Linaje	Diferenciación/Maduración	Subclasificación	Opcionales
LLA de precursores B	CD19 ó CD79 citoplásmico	CD34, CD45, CD20, CD38	CD10, Ig de superficie, Cadenas mu citoplásmicas	TdT, CD13, CD33
LLA de precursores T	CD3 citoplásmico o de superficie y CD7	CD34, CD45, TdT, CD1a, CD99	Ninguna	CD2, CD4, CD5, CD8, CD13, CD33
Leucemia Mieloide Aguda	MPO, CD13 o CD117	HLA DR, CD34, CD45	CD64, CD15, CD11b, CD300, CD105, CD56, CD71	CD36, CD14, CD123, CD61

Tabla 4. Anticuerpos para inmunotipificación de leucemias agudas según el Consenso para la Inmunotipificación de Leucemias Agudas.

Ambas clasificaciones tienen algunos marcadores semejantes, como el CD19 y el CD79 para distinguir el linaje B, sin embargo, hay diferencias en la realización de algunos otros marcadores que nos podrían ayudar a distinguir un linaje de otro.

Algunos investigadores como Khalidi et al no encontraron diferencias significativas entre los antígenos expresados entre los pacientes con leucemias primarias o recaídas de las mismas.

En la actualidad se conoce que hasta el 85% de los niños con el diagnóstico de LLA tienen una neoplasia de origen B.

1.3 LEUCEMIA BIFENOTÍPICA Y BILINEAL.

Algunos grupos de estudio en la clasificación de leucemias agudas como el Grupo Europeo en Clasificación Inmunológica (ECOG) reconocieron que algunas de las leucemias linfoblásticas agudas expresan antígenos de otro tipo de células: las mieloides. Como observamos en la Tabla 4, las células mieloides expresan generalmente mieloperoxidasa (MPO), CD13 o CD117.

Este fenómeno normalmente no se encuentra en la contraparte sana, por lo cual definieron dos tipos de leucemia linfoblástica: la bilineal y la bifenotípica. La leucemia bifenotípica se define como aquel grupo de leucemias en los cuales los blastos presentan al mismo tiempo y en la misma célula antígenos de 2 linajes diferentes, pudiendo ser estos entre las líneas mieloides y linfoides (B o T) o de ambas líneas linfoides (B y T) ; esto se define al contar con 2 puntos o más en el apartado de linaje en dos linajes diferentes de la tabla de clasificación de EGIL (Tabla 5):

Puntos	Linaje B	Linaje T	Linaje mieloides
2	CD7, CD22, IGM	CD3, TCR	MPO
1	CD19, CD20, CD10	CD2, CD5, CD8 y CD10	CD117, CD13 y CD33
0.5	TdT y CD24	TdT, CD7 y CD1a	CD14, CD15 y CD64

Tabla 5. Criterios de EGIL para leucemia bifenotípica. La presencia de un marcador mayor en más de una categoría de linaje en la misma célula y al mismo tiempo (MPO para antígenos mieloides, CD3 o TCR para linfocitos T y CD7, CD22 o IgM para linfocitos B) hace el diagnóstico de leucemia bifenotípica.

Las leucemias bilineales se definen como un grupo heterogeneo de neoplasias hematológicas en el que los blastos forman parte de 2 linajes, por lo que no pueden ser clasificados exclusivamente como mieloides, linfoides B o linfoides T. Para

clasificarlas, se utilizan los mismos marcadores que se han utilizado para los demás tipos de leucemias.

No solo el grupo de EGIL ha tratado de clasificar a las neoplasias bifenotípicas y bilineales, también la Organización Mundial de la Salud (OMS) tiene sus criterios establecidos en la 4ta edición de la Clasificación de Tumores Hematopoyéticos y de Tejidos Linfoides de 2016 (Tabla 6); en esta clasificación se tiene la presencia de marcadores de más de un linaje y comprenden del 2 al 5% de todos los diagnósticos de leucemia. Un punto de importancia para esta clasificación es que no existe un nivel de corte de los antígenos para realizar el diagnóstico.

Linaje	Marcadores
Mieloide	Mieloperoxidasa o 2 de los siguientes: CD11c, esterasa no específica, CD14, CD64 o lisozima
Linfoide T	CD3 citoplásmico o de superficie
Linfoide B	CD19 fuerte y la presencia de por lo menos uno de los siguientes: CD79a, CD22 citoplásmico o CD10; Ó: CD19 débil y 2 de los siguientes: CD70a, CD22 citoplásmico o CD10.

Tabla 6. Criterios de la OMS para la clasificación de linajes en LLA. Para realizar el diagnóstico de LLA bifenotípica o bilineal se debe de contar con los criterios de dos linajes diferentes en los blastos de la población estudiada.

Como se puede observar en ambas clasificaciones existen diferencias. La más importante para el siguiente trabajo es la medición de CD13 y CD33.

1.4 INMUNOFENOTIPOS ABERRANTES EN LLA

Con el estudio de las leucemias bifenotípicas y bilineales, se describieron otro tipo de leucemias que no cumplen con los criterios diagnósticos de estas, sin embargo, tienen la expresión de uno o dos antígenos de otro linaje celular (como los marcadores de linaje mieloides CD13 y CD33 en leucemias de origen B o T), y a esto se le conoce como expresión anómala o fenotipos (inmunofenotipos) aberrantes(21). Hay otras definiciones más amplias en las cuales se considera no solo a la expresión en el linaje sino todos aquellos patrones de expresión de antígenos en las células neoplásicas que difieren de aquellos expresados en el

proceso normal de la maduración hematopoyética (la asincronía de expresión de antígenos)(22). Para poder hacer el diagnóstico de la expresión positiva en las células leucémicas se han establecido los valores de corte del 20% al 30% de expresión en el total de las células por algunos investigadores.

En la actualidad los inmunofenotipos aberrantes más estudiados son los antígenos mieloides presentes en las LLA de fenotipo B(18,23,24); estos se han encontrado entre el 5 al 86.5%, hecho que se ha llegado a explicar debido a la variación de los anticuerpos contra los antígenos, a los distintos valores de corte y a los individuos y las diferencias que existen entre ellos en los diferentes estudios. Algunos de los estudios que se han realizado en los último 15 años relacionados a la presencia y pronóstico de los inmunofenotipos aberrantes son los siguientes:

AUTOR	CENTRO HOSPITALARIO	AÑO	TIPO DE LEUCEMIA	POBLACIÓN	CONCLUSIÓN DEL INMUNOFENOTIPO ABERRANTE
Novoa L, et al (25)	Hospital de Agudos Dr. Carlos G. Durand, Buenos Aires, Argentina	2013	Leucemia aguda linfoblástica B (28.8% de la muestra:105 pacientes)	105 pacientes. Rango de edad de los 16 a los 73 años, con un promedio de 38 años.	40% (42/105) presentó infidelidad de linaje. Los antígenos co-expresados fueron: CD13 (20%), CD33 (15%), CD15 (6%), CD2 (6%), CD56 (3%) y CD11b (1%)
Tabernero ET, et al(26)	Departamento de medicina y centro de investigaciones del cáncer, Universidad de Salamanca	2001	LLA- B	82 pacientes: 54 hombres, 28 mujeres. 32 niños con promedio de 3 años de edad 50 niños con un promedio de edad de 36 años	12 casos positivos a traslocación BCR/ABL (mal pronóstico) fueron positivos a CD13
Yeneral MN, et al (23)	Facultad de Medicina de Estambul, Departamento de Medicina Interna	2002	LLA B y T	81 pacientes Rango de edad de 16 a 62 años	Se observó una sobrevida libre de enfermedad del 67% vs 43% (mieloide + vs mieloide -) no estadísticamente significativa. La supervivencia global fue estadísticamente significativa (85% vs 50%) En su análisis multivariado fue el factor más significativo afectando a la sobrevida a largo plazo.
Pereira Noronha E, et al(2)	San Luis Maranhao, Brasil	2011	LLA B y T	70 pacientes: 37 de ellos niños (sin especificar	No se relacionó con factores pronósticos, pero los pacientes que alcanzaron

				promedio de edad) 33 adultos	remisión fueron mayores en el grupo con expresión aberrante. La expresión de CD13 fue en el 48.2% de los pacientes
Fareed Haadad MD, et al	Hospital King Hussein, Jordania	2014	LLA B y T	165 pacientes: 132 de ellos con leucemia de origen B, de ellos 83 pacientes eran niños, con rangos de edad de 2 a 15 años y 39 pacientes adultos con un rango de edad de 16 a 65 años	CD33 se expresó en 15 de 133 casos (13.3%) y CD13 se encontró en 2 de 108 casos (1.85%)
Seegmiller AC et al(27)	Multicéntrico EUA (Texas, Milwaukee, Minnesota)	2009	LLA B	200 pacientes: El promedio de edad fue de 7 años 49% en el rango de edad de 2 a 10 años	86.5% de expresión de antígenos mieloides en células neoplásicas. El más frecuente de estos fue el CD13 en 54.5% de los casos, seguido de CD33 en el 43% No se correlaciono con edad ni cambios citogenéticos
Vitale A, et al (28)	Universidad "La sapienza" Roma	2006	LLA B y T	377 pacientes con rango de edad de 14 a 60 años	. Se observó expresión de CD13 en el 25% de los pacientes. No se observó diferencia con citogenética normal o aberrante, diferencias entre remisión completa, supervivida libre de enfermedad y supervivida a los 5 años. Se observó diferencia en cuentas de leucocitos, porcentaje de blastos periféricos y cuenta plaquetaria.
Suggs JL, et al(29)	Departamento de patología del Centro Médico de la Universidad de Mississippi	2007	LLA B y T	71 casos: 45 casos fueron menores de 19 años	El 27% de los casos (19) de LLA-B tuvieron presencia de marcadores mieloides aberrantes, de estos 10 fueron positivos a CD13 y 17 fueron positivos a CD33.
Aula et al(30)	Departamento de Patología y Medicina Forense del Colegio de Medicina,	2017	LLA	31 pacientes menores de 15 años	Expresión de CD13 en 5 de 31 (16.13%) casos de leucemia y de CD33 en 3 casos (9.68%). Alcanzaron remisión completa, y un menor porcentaje de blastos en médula ósea y menores

	Universidad Al-Nahrain, Iraq				valores de deshidrogenasa láctica (probable mejor pronóstico, sin significancia estadística)
Jalal SD, et al (31)	Departamento de Patología de las Universidades de Sulaimani y Duhok, Iraq	2017	LLA B y T	282 pacientes, de 1 mes a 65 años, con promedio de edad de 7 años, 208 eran menores de 15 años. Se diagnosticaron 241 como LLA B, siendo 181 niños	Se encontró la expresión de CD13 en el 50.3% de las LLA B en niños
Supriyadi, et al(32)	Indonesia	2012	LLA B y T	239 casos, pacientes entre 0 y 14 años de edad	21% de los casos diagnosticados como LLA B tienen expresión de CD13. La sobrevida libre de enfermedad fue de $80\% \pm 5\%$ en el grupo mieloides negativo comparado con el $67\% \pm 8\%$ en el mieloides positivo

Tabla 7. Estudios de inmunofenotipos aberrantes alrededor del mundo

Como se puede ver en la tabla anterior, los resultados parecen ser contradictorios con respecto a papel como factor pronóstico. También se puede notar que la expresión del marcador mieloides CD13 suele ser la más común en pacientes con LLA de fenotipo B.

1.5 DESCRIPCIÓN DE LOS MARCADORES MIELOIDES CD13 Y CD33

El marcador CD13 o aminopeptidasa N es una glicoproteína con actividad de proteasa; este marcador se encuentra normalmente en todo el proceso de maduración de las células de linaje mieloides (33), desde el mieloblasto hasta el granulocito. En el estudio de Seegmiller et al(27), fue el marcador mieloides más común presente en LLA en un 54.5%. Otro de los marcadores comúnmente expresados por las LLA es el CD33, que es una proteína transmembrana presente en los mieloblastos, promielocitos, monocitos y eritrocitos con función inhibidora, en el mismo estudio de Seegmiller se presentó en el 43% de los pacientes.

1.6 DESCRIPCIÓN DE FACTORES PRONÓSTICOS A LA FECHA(34)

El estudio de las características morfológicas, inmunológicas y moleculares de las LLA han permitido dividir las en leucemia de menor a mayor agresividad. A estas características de la LLA, se le sumaron las características clínicas de los pacientes y la respuesta al tratamiento.

Los factores pronósticos que más peso tienen en la actualidad son las características clínicas del paciente al momento del diagnóstico, las características genéticas y biológicas de las células leucémicas y una respuesta temprana al tratamiento :

- La edad y la cuenta inicial de leucocitos son pronósticas. Se ha definido como riesgo estándar a la edad entre 1 a 9.99 años y una cuenta leucocitaria menor a 50,000 por mm³, y un riesgo elevado a aquellos con más de 10 años y cuentas mayores a 50,000.
- El tiempo requerido para eliminar la población de células leucémicas a niveles indetectables es el factor pronóstico más importante en LLA en niños.
- Se han visto alteraciones genéticas como la hiperploidia en este tipo de pacientes, que se relaciona con un excelente pronóstico y la hipoploidia, el cual se relaciona a uno malo.
- Evolución de la enfermedad mínima residual.

Hasta un 30% de los pacientes va a recaer sin que exista una explicación por el momento con los factores existentes lo que justifica el estudio minucioso de todos estos parámetros

1.7 CD13 COMO FACTOR PRONÓSTICO EN DIFERENTES NEOPLASIAS

El marcador CD13 se ha visto involucrado en diversas neoplasias como factor pronóstico:

- 1) En el estudio de Zhang et al se observó que la expresión en pacientes de carcinoma pulmonar esta correlacionado con el estadio TNM y con metástasis ganglionares(35)

- 2) Schneider et al en una carta a editor mencionaron que un mayor porcentaje de expresión de CD13 en leucemia mieloide aguda en pacientes adultos con falla respiratoria aguda asociada a tumor(36)
- 3) En el estudio de Satoshi Saida se observó que la expresión fuerte de CD13 medido por inmunohistoquímica en pacientes con hepatoblastoma relacionaba con invasión vascular(37)
- 4) Se ha utilizado terapia blanco antiCD13 en líneas celulares de cáncer con disminución en la proliferación(38)
- 5) Li Pang et al asociaron la expresión sérica de CD13 con tamaño de tumor, estado ganglionar y metástasis de carcinoma pancreático(35).

1.8 INMUNOFENOTIPOS ABERRANTES COMO FACTOR PRONÓSTICO EN LLA DE FENOTIPO B

En la actualidad se tienen estudios contradictorios en este tema. En 2017 Kavianpour et al(24) hicieron una revisión en la que se encontraron algunos estudios con una menor tasa de muerte en el grupo positivo a marcadores mieloides pero algunos otros estudios no pudieron proveer esa información; la revisión realizada por Copeland(39) evidenció el mismo problema. Existe un reporte del Children´s Cancer Group que menciona que los inmunofenotipos aberrantes no se deben considerar como un factor pronóstico adverso. La experiencia de St Jude Children´s Hospital en leucemias de inmunofenotipo misto es que la infidelidad de linaje no tiene significancia pronóstica, otro grupo que obtuvo los mismos reclutados fue el Medical Research Council de Reino Unido.

En estudio de Yeneral et al encontró en el grupo de LLA mieloides positivas una menor tasa de muertes, con un resultado no estadísticamente significativo. Suprayidi et al encontraron que la sobrevivida libre de enfermedad era menor en el grupo con marcadores positivos(40). Amirghofran encontró un menor tiempo de supervivencia en los caos CD13 positivos contra los negativos, hallazgo que fue compartido en el estudio mexicano de Rodriguez(41,42). Sharma reporto un menor número de blastos periféricos y una menor cuenta de leucocitos en el grupo

mieloide positivo(43). Craddock et al observaron un aumento en el riesgo de recaída en los casos positivos a CD13(44), mientras que Bakul propuso un tratamiento más agresivo para los pacientes con presencia de marcadores mieloides positivos(45).

En cuanto a citogenética se ha observado la expresión de marcadores mieloides en las LLA con presencia de cromosoma Philadelphia, lo cual se considera un cariotipo de mal pronóstico en pacientes adultos(18). Otra de las anormalidades que se han encontrado junto a la expresión de antígenos mieloides es la delección de 11q23 y traslocaciones que involucran a este cromosoma(46).

2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La LLA de fenotipo B es la leucemia más común en pacientes pediátricos. A pesar del conocimiento de los factores pronósticos descritos anteriormente (edad al diagnóstico, cuenta leucocitaria, evolución de enfermedad mínima residual) se conoce que en la actualidad hasta un 30% de las LLA recaen en pacientes de países en vías de desarrollo.

Uno de los marcadores que se ha utilizado para tratar de dar nuevos factores pronósticos es el CD13 como parte de un inmunofenotipo aberrante, sin embargo el estudio de este marcador ha mostrado resultados contradictorios en los diferentes estudios y no contamos con un estudio en nuestra población, por lo que necesitamos un estudio en la población del Instituto Nacional de Pediatría para conocer su compartimiento dentro de la misma.

3.- JUSTIFICACIÓN

En el diagnóstico de las LLA de inmunofenotipo B, CD13 se utiliza para la clasificación de esta enfermedad, razón por la que contamos con los resultados de la medición de este marcador manera retrospectiva de todos los pacientes con el diagnóstico de LLA. A lo largo de los años se han utilizado diferentes paneles de inmunodiagnóstico, sin embargo CD13 se ha conservado como uno que se ha medido hasta la fecha; al contrario de otros que también nos podrían ayudar a detectar como inmunofenotipo aberrante como el CD33; además se ha reportado en otros estudios como el marcador más prevalente en inmunofenotipos aberrantes, lo cual hace que sea el marcador de elección para este estudio. A pesar de que MPO se sigue realizando, es un marcador que en la clasificación de EGIL sitúa a los pacientes como leucemias bifenotípicas, por lo cual no es el de elección.

El conocer las características de la LLA que podría recaer nos permitiría reforzar el tratamiento de primera línea, para evitar la quimioresistencia y finalmente la recaída.

Debido a que es una herramienta que se ha utilizado en los últimos años, la información que obtengamos nos permitirá conocer una característica accesible, económica y fácil de realizar que se podría relacionar con recaída y muerte en esta enfermedad.

4.- OBJETIVOS

4.1 Objetivo general:

- Correlacionar la expresión de CD13 medida por citometría de flujo al diagnóstico con recaída y muerte en pacientes con LLA de linaje B en pacientes del Instituto Nacional de Pediatría.

4.2 Objetivos particulares:

- Obtener las características epidemiológicas de la población con diagnóstico de LLA de fenotipo B

- Obtener los marcadores más frecuentemente expresados en pacientes con diagnóstico de LLA

- Obtener la frecuencia de CD13 en pacientes con diagnóstico de LLA de fenotipo B

- Obtener el riesgo relativo para recaída y muerte en los pacientes con diagnóstico de LLA de fenotipo B con el marcador CD13

- Obtener las curvas de supervivencia en la población positiva y negativa a CD13

5 HIPOTESIS

La expresión de CD13 al diagnóstico se correlacionará positivamente con recaída y/o muerte en los pacientes con leucemia linfoblástica aguda de linaje B

Los pacientes con diagnóstico de LLA de inmunofenotipo B del Instituto Nacional de Pediatría serán semejantes a los reportados en otras series

Los marcadores más frecuentemente expresados son los que clasifican a las neoplasias como inmunofenotipo B

La frecuencia de CD13 será mayor al 5%

Los pacientes con positividad al marcador CD13 tendrán un mayor riesgo relativo de muerte o recaída que los pacientes con marcador negativo

Los pacientes con positividad a CD13 tendrán una curva de supervivencia y menor a aquellos sin CD13.

6.- MATERIAL Y MÉTODOS:

Se creó una base de datos con la población de pacientes que cumplieron las siguientes características:

- **Población:** Pacientes hasta de 18 años con diagnóstico de LLA de linaje B que contaron con estudio de inmunofenotipo
- **Población objetivo:** Pacientes estudiados por primera vez en el servicio de oncología del Instituto Nacional de Pediatría entre marzo de 2010 y febrero de 2016.
- **Criterios de selección:**

A) Inclusión

- Pacientes con estudio de citometría de flujo al momento del diagnóstico de LLA de linaje B y realización de CD13
- Pacientes que cuenten con seguimiento dentro del instituto (pacientes sin recaída, recaída o muerte)

B) Exclusión

- Pacientes con síndrome de Down, inmunodeficiencias
- Pacientes tratados previamente al ingreso al Instituto Nacional de Pediatría
- Pacientes con causas de muertes distintas a la LLA sólo se considerarán para el análisis de recaída
- Pacientes con MPO positiva o puntaje de 2 en la clasificación de EGIL.

C) Eliminación:

- Pacientes con diagnóstico de segundas neoplasias

La base de datos contó con los siguientes datos: número de expediente, edad al diagnóstico, sexo, datos clínicos al diagnóstico, número de leucocitos totales y diferencial (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos y monocitos) al diagnóstico, presencia de enfermedades genéticas o segundas neoplasias, cariotipo, estratificación de riesgo, respuesta a la ventana esteroidea, recaída, fecha de recaída y fecha de inicio de vigilancia o muerte, inmunofenotipo, presencia o ausencia de CD13 y CD33 diagnóstica, presencia o ausencia de CD13 y CD33 en

por lo menos el 1% de las células, índice de DNA, estratificación de riesgo por índice de DNA.

Se utilizó estadística descriptiva para caracterizar a la población, en aquellas con distribución normal se utilizará media y desviación estándar; en aquellas con distribución no normal se utilizaron medianas, cuartiles. Para describir la distribución de las variables cualitativas se reportaron las frecuencias y porcentajes

Como medida de asociación se calculó el riesgo relativo de la presencia de CD13, CD33 y de todos los factores pronósticos conocidos a la fecha con la presencia de recaída o muerte. Posterior a eso, las variables estadísticamente significativas fueron analizadas a través de una regresión logística para obtener un modelo estadístico.

Se efectuaron curvas de Kaplan-Meier para analizar la supervivencia de los pacientes, considerando la supervivencia global de la variable de desenlace clínico en los diferentes grupos que resultaron estadísticamente significativos en la regresión logística

Para finalizar se realizó un análisis multivariado mediante un método de regresión de Cox para analizar las causas que se asocian con el desenlace y el peso de cada una de ellas.

7.- ANALISIS ESTADÍSTICO:

El estudio se consideró un estudio de cohorte retrospectiva (analítico, observacional, longitudinal y retrospectivo)

Se analizaron en total 121 pacientes con el diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda; se excluyeron 6 pacientes por diagnóstico de síndromes genéticos (4.9%) como síndrome de Down o presencia de segundas neoplasias. Posterior a esto se excluyeron a otros 4 pacientes con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda con inmunofenotipo T (3.4%), por lo que quedaron 111 pacientes para el análisis de datos. De estos pacientes 1 de ellas cumplió el criterio de leucemia bifenotípica T y B por criterios de EGIL (suma de 2 puntos, 1 punto por CD5 y otro por CD7), otros dos pacientes cumplieron criterios de leucemia bifenotípica mieloides linfocítica (MPO positivos), estos pacientes se utilizaron para el análisis de los datos descriptivos de nuestra población; sin embargo estos fueron excluidos para los análisis de supervivencia y recaída de la enfermedad, con lo que estos análisis se realizaron con 108 pacientes.

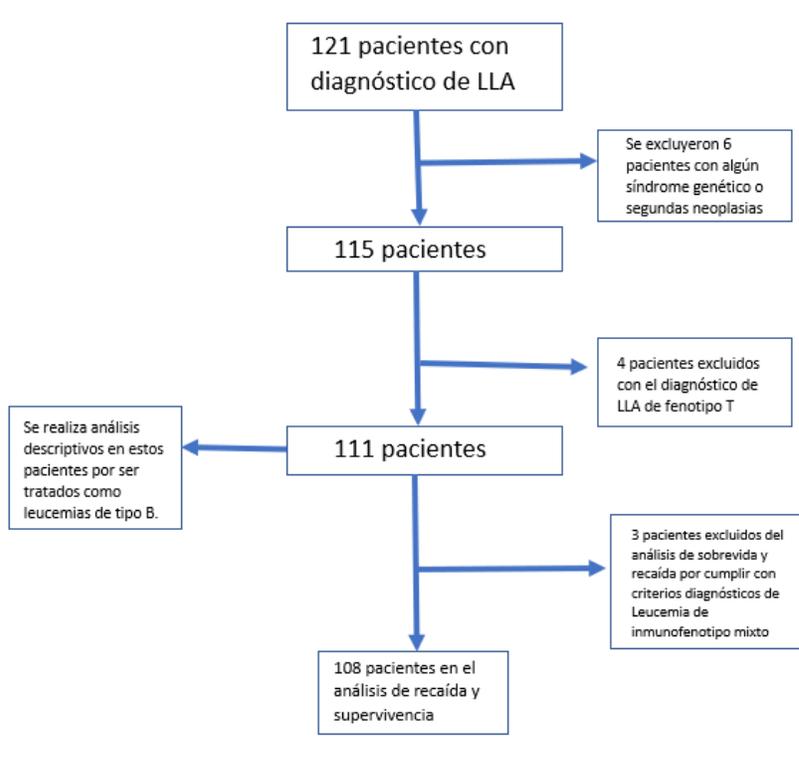


Figura 1. Método de análisis de los pacientes

De los 111 pacientes analizados para describir a nuestra población, 48 pacientes fueron mujeres (43.2%) y 63 pacientes fueron hombres (56.8%). El promedio de edad de nuestra población fue de 100.49 meses (IC de 89.33 a 111.65 meses), con un mínimo de 20 meses y un máximo de 269 meses. El promedio de tiempo de seguimiento de los pacientes fue de 34.1 meses (IC de 30.03 a 38.16), con un mínimo de 1 mes y un máximo de 105 meses. En nuestra población 28 pacientes tuvieron recaída, con un promedio de tiempo para esta de 20.53 meses (IC 13.74 a 27.32), con un mínimo de 2 meses y un máximo de 83. Por otra parte 26 pacientes murieron, con una media de seguimiento hasta su muerte de 20.45 meses (IC 12.36 a 28.54 meses), con a muerte más temprana al mes de diagnóstico y la más tardía a los 64 meses del mismo. Es importante notar que 70.8% de los pacientes que fallecieron (27) presentaron recaída en algún momento de su enfermedad. La mayor parte de nuestros pacientes presentaron una leucemia de riesgo alto (83 pacientes), mientras que las leucemias de muy alto riesgo y riesgo habitual se comportaron de manera semejante (14 y 14 pacientes).

Lugar de recaída de la enfermedad	Número de pacientes
Médula ósea	22
Testículo	1
Sistema Nervioso Central	12

Tabla 8. Lugar de recaída de la enfermedad. Podemos observar que la mayor parte de las recaídas se observaron en médula ósea

El tratamiento utilizado generalmente para nuestros pacientes corresponde al propuesto por el equipo de St Jude Hospital, correspondiendo 83 a SJXIII (74.77%), 14 a SJXV (12.61%) y otros 14 pacientes se trataron con BFM 90 (12.61%). La mayor parte de los pacientes tuvieron buena respuesta a la ventana esteroidea, siendo 79 de ellos (71.17%). En cuanto a enfermedad mínima residual después de 30 días de tratamiento, 8 pacientes presentaron esta complicación; aunque 65 (58.55%) no tuvieron medición de la misma.

Los datos clínicos más comúnmente encontrados en los pacientes fueron: astenia presente en 84 pacientes (75.7%), adinamia en 82 (73.9%), fiebre presente en 80

(73.9%), adenomegalia en 74 (66.7%), hepatomegalia en 59 (53.2%), dolor óseo en 52 pacientes (46.8%), esplenomegalia en 45 (40.5%), pérdida de peso en 44 (39.6%), sangrado en 40 (36%). La presencia de masa mediastinal solo se reporto en 3 pacientes (2.7%) siendo el dato más raro en la exploración física de nuestra serie de pacientes. La infiltración de la neoplasia a sistema nervioso central solo se presentó en 15 pacientes (13.5%) y la infiltración a testículo se observó en 5 pacientes (7.9% de los hombres de la serie); se observó síndrome de lisis tumoral en 36 pacientes (32.4%).

En cuanto a datos de laboratorio

Datos de laboratorio	Media	Intervalo de confianza (IC) de la media	Mínimo	Máximo
Hemoglobina	8.39 g/L	7.86-8.93	3.1 g/L	15g/L
Leucocitos	57,462/ mL	35,031- 79894	10/ MI	645,000/mL
Neutrófilos	2849/ mL	1934-3763	0 /mL	27,800/mL
Linfocitos	8,302/mL	5303-11300	0/MI	127,000/ mL
Plaquetas	96,336/mL	69,161- 123,509	4000/MI	847,000/ mL
DHL*	1162 UI/ L	696-1627	128 UI/L	10900 UI/L

Tabla 9. Media, mínimos y máximos de los resultados de laboratorio. Los datos para hemoglobina siguen una distribución normal (pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro Wilk $>0.05\%$), mientras que los de leucocitos, neutrófilos, linfocitos y DHL no siguen una distribución normal (Pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro Wilk con significancia $<0.05\%$). * Para el análisis de datos de DHL se utilizaron 79 casos debido a que no se realizó de primera intención en 32 (28.8%)

Las complicaciones más frecuentemente registradas son las siguientes:

Complicación	Número de pacientes	Intervalo de cantidad de eventos de la complicación

Neutropenia y fiebre*	88	1-15
Neutropenia y neumonía**	51	1-6
Mucositis**	49	1-4
Sepsis**	61	1-5
Choque séptico complicado***	27	1-2
Colitis**	31	1-3
Pancreatitis**	16	1-2
Diabetes**	23	1
Neuropatía**	23	1
Hemorragia cerebral***	7	1
Hepatitis*	7	1

Tabla 10. Complicaciones de la enfermedad y tratamiento. La complicación más frecuentemente registrada corresponde a neutropenia y fiebre, mientras que la menos reportada corresponde a hepatitis. Los datos marcados con * se obtuvieron de 107 expedientes, con ** de 108 expedientes

Se realizó inmunotipificación de las leucemias por citometría de flujo, se encontró la expresión aberrante de marcadores T en 3 pacientes (1 con expresión de CD5, otra de CD7 y otro de CD2) y otro paciente más tuvo criterios de leucemia bifenotípica según la clasificación de EGIL (coexpresión de CD5 y CD7). El marcador de linaje B más comúnmente expresado en nuestros pacientes fue CD 19, el cual se expresó en 97 pacientes (87.4% de los pacientes). Otros marcadores comúnmente expresados son CD10 en el 82.9% de los pacientes (92 pacientes); HLA-DR en 93 pacientes (83.8%), en 86 pacientes CD79 (77.5%). CD34 fue expresado en 52 pacientes (46.8%), CD20 en 40 pacientes (36%), TdT en 32 pacientes (28.8%) y CD123 en 20 pacientes (18%). Los marcadores menos expresados fueron el CD24 en 3 pacientes (2.7%) y mieloperoxidasa (MPO) en solo 2 pacientes, aunque la expresión de esta última nos permite hacer diagnóstico de leucemias bifenotípicas por criterios de EGIL y de la OMS.

Al analizar nuestros marcadores de interés CD13 y CD33 encontramos lo siguiente:

-Respecto a CD33 es un marcador que no siempre fue medido en el hospital, sin embargo, se realizó el estudio en 54 pacientes; en 3 de ellos (5%) se expresa en más del 20% de las células neoplásicas, por lo cual son positivos a este marcador, sin embargo, este marcador lo expresan 7 pacientes (12.96%) en por lo menos 1% de las células neoplásicas. En un paciente se expresó en el 79% de las células neoplásicas.

- CD13 es un marcador mieloide que siempre se mide en el panel de inmunotipificación del hospital, teniendo en cuenta el criterio para su positividad en el corte de 20%, solo 3 pacientes lo expresaron; sin embargo, cuando tomamos en cuenta que por lo menos el 1% de las células neoplásicas lo expresen, este aparece en 31 pacientes (27.9%) d nuestra población.

- Una de las leucemias bifenotípicas mieloide- linfoide expresó MPO, CD13 en 9% de las células y CD33 en el 62% de las células, a pesar de que no se tomará en cuenta para el análisis de sobrevida y recaída es de notar que formó parte del grupo de leucemias de muy alto riesgo, sin embargo, en un seguimiento de 37 meses no tuvo recaída o muerte por enfermedad.

Se encontraron las siguientes alteraciones cromosómicas en nuestros pacientes:

Alteración	Cantidad de pacientes
Traslocación 1, 19	3
Traslocación 12,21	4
Traslocación 4,11	2
Traslocación 9,22	2
Hipodiploide	76
Hiperdiploide	28
Ploidía Normal	3
Cariotipo Normal	20

Tabla 11. Alteraciones cromosómicas en la población de pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda del INP. La mayor parte de los estudios mostraron hipodiploidia

en nuestros pacientes (68.46%); la traslocación más común fue la t12,21 (3.7%). Estos datos corresponden a 107 pacientes.

En cuanto a apego del tratamiento y seguimiento de la enfermedad, solo hubo 8 pacientes (7.2%) que abandonaron el mismo y otros 8 pacientes, tuvieron cuidados paliativos.

Se analizaron los factores pronóstico-conocidos en la actualidad y los propuestos en nuestro estudio para obtener su riesgo relativo en recaída, el esquema general utilizado fue el siguiente:

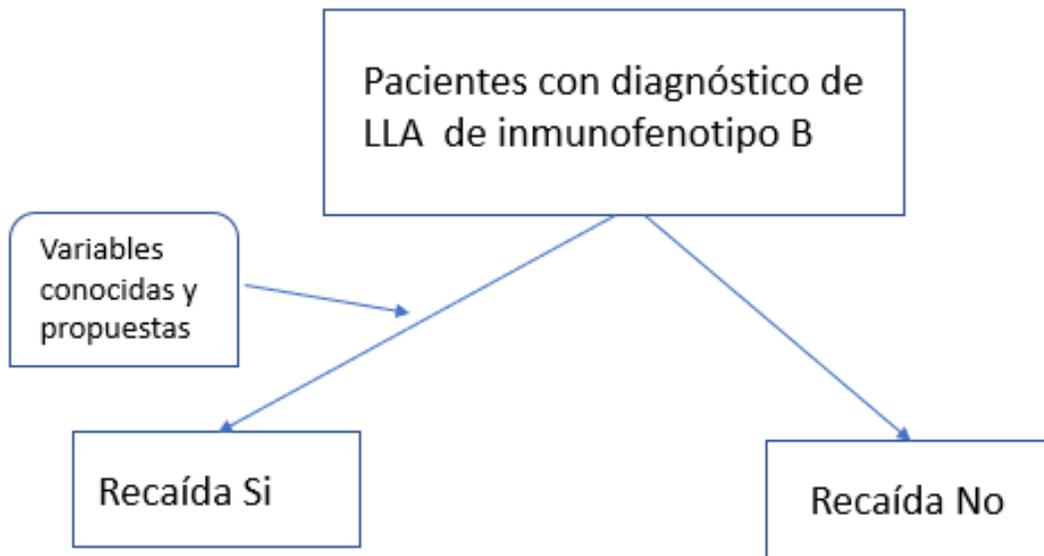


Figura 2. Plan de análisis de la recaída

Se obtuvieron los siguientes datos en el análisis bivariado:

Variable recaída	para	Número de pacientes que recayeron	Riesgo Relativo	Intervalo de confianza	de	Significancia estadística

Edad: Riesgo Estándar/ Riesgo elevado	Riesgo estándar: 14 Riesgo alto: 13	.685	.358-1.448	.254
Leucocitos: Riesgo estándar/ Riesgo aumentado	Riesgo estándar: 25 Riesgo alto: 2	3.423	.875-13.394	.039
Índice de DNA: Riesgo Aumentado/ Riesgo excelente	Aumentado: 25 Excelente: 1	2.632	.398-17.412	.256
Enfermedad Mínima residual: Ausente/ Presente	Ausente: 7 Presente: 4	.389	.149-1,016	.071
CD33 ausente/ presente	Ausente: 17 Presente: 1	1.478	.260-8.412	.633
CD13 ausente/presente	Ausente: 25 Presente: 2	4.808	1.213-19.060	.006

Tabla 12. Factores pronósticos para recaída en LLA tipo B. Se utilizó un índice de ADN mayor o igual a 1.16 para decir que la leucemia tenía un pronóstico favorable. Para CD13 y CD33 se realizaron dos análisis, 1 tomando en cuenta el punto de corte diagnóstico (por lo menos el 20% de las células neoplásicas) y otro con cualquier porcentaje de expresión de células neoplásicas; en el caso del punto de corte diagnóstico no se pudo obtener riesgo relativo para ninguna de las dos variables al no presentar recaída al expresarlo

Posteriormente se realizó regresión logística para saber si nuestras variables podrían predecir en un modelo multivariado la recaída de los pacientes

Debido a que 28 de nuestros pacientes presentaron recaída de la enfermedad se tomaron para el análisis la 3 variables con mayor significancia estadística en el análisis bivariado: la presencia o no de CD13, la cuenta leucocitaria y la enfermedad

mínima residual. El programa estadístico, al realizar el modelo, excluyó la enfermedad mínima residual, dejando la cuenta leucocitaria y la presencia de CD13.

Modelo de regresión logística para recaída.

	B	Error estándar	Sig.
Paso 1 ^a CD13 presente	-1.776	.782	.023
Leucocitos riesgo moderado	-1.519	.812	.061
EMR			.231
EMR(1)	1.609	.982	.101
EMR(2)	.082	.542	.880
Constante	-.700	.470	.137
Paso 2 ^a CD13 presente	-1.881	.777	.016
Leucocitos riesgo moderado	-1.455	.791	.066
Constante	-.517	.261	.048

Tabla 13. Modelo de regresión logística obtenido con el programa SPSS versión 25 para recaída. En el segundo paso en un modelo hacia atrás, el modelo se queda con CD13 y cuenta leucocitaria. La significancia del modelo es de 0.001; sin embargo, el coeficiente de R cuadrado de Nagelkerke es de solo .176

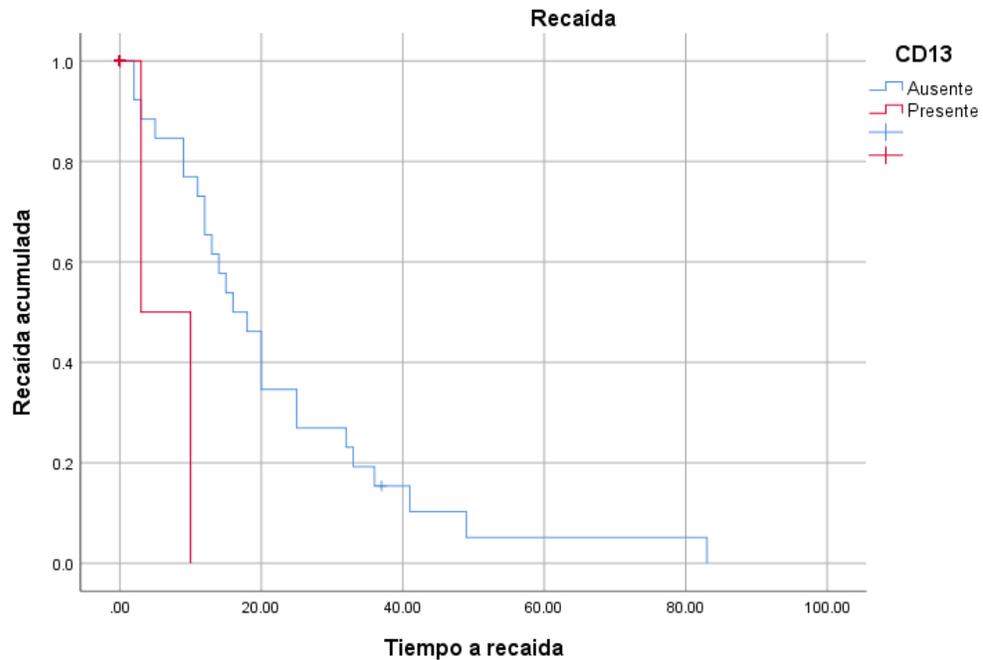
Se realizó la curva de Kaplan Meier y la tabla de análisis para las dos variables de interés:

Medianas para el tiempo de recaída ponderadas con CD13

CD13	Estimación	Desv. Error	Mediana	
			Límite inferior	Límite superior
Presente	16.000	2.550	11.003	20.997

Intervalo de confianza de 95 %

Ausente	3.000	.	.	.
Global	15.000	3.307	8.518	21.482

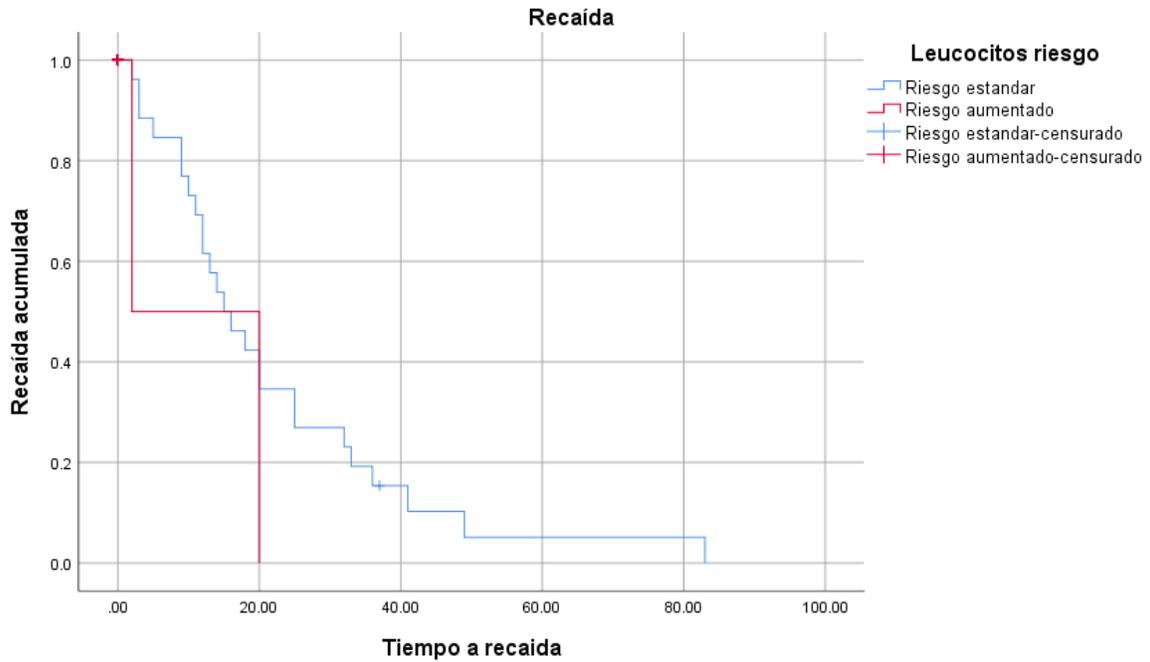


La prueba de Log Rank tuvo una significancia de $p .020$.

Mientras que para cuenta leucocitaria:

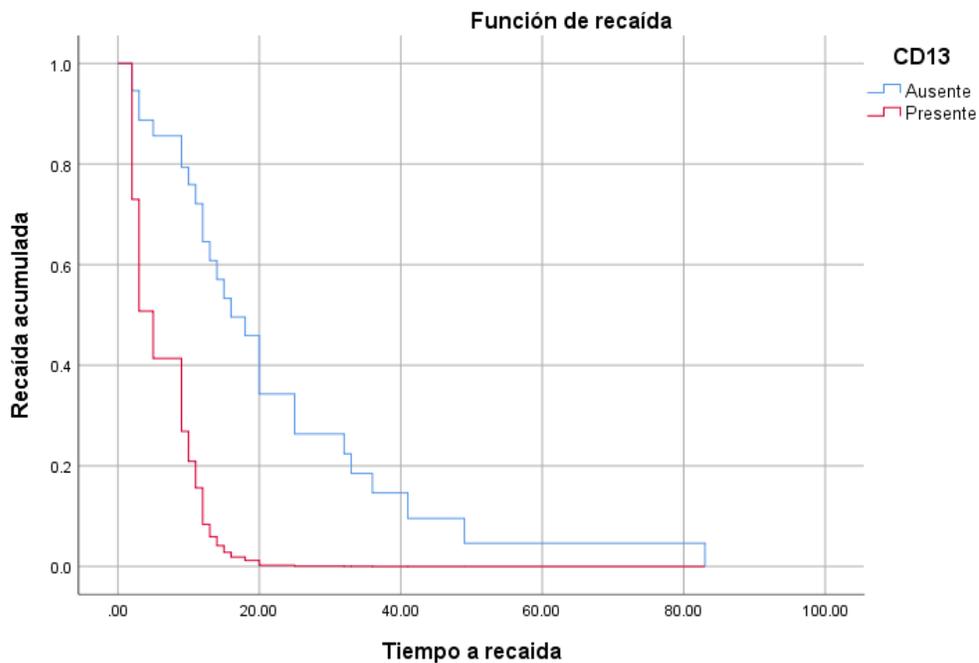
Medianas para el tiempo de recaída ponderadas con riesgo según cuenta leucocitaria

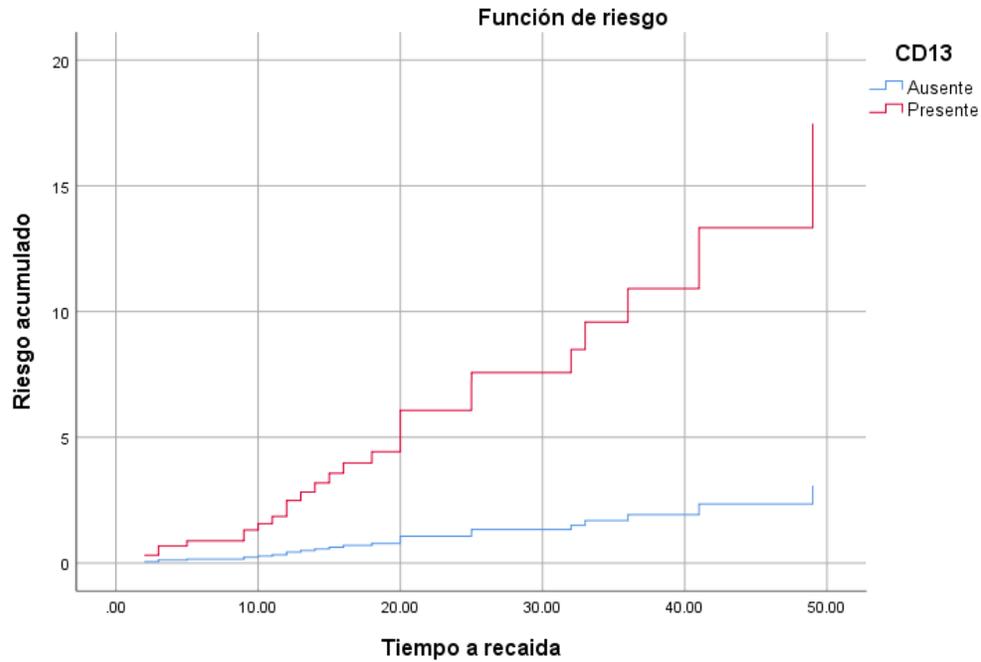
Leucocitos riesgo	Estimación	Desv. Error	Mediana	
			Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
Riesgo estándar	15.000	3.187	8.754	21.246
Riesgo aumentado	2.000	.	.	.
Global	15.000	3.307	8.518	21.482



La prueba de Log Rank tuvo una significancia estadística de $p = .390$

Posterior a esto se realizó una regresión multivariable de Cox, utilizando como variables independientes la expresión o ausencia de CD13 y el riesgo según cuenta leucocitaria.





Logaritmo de la verosimilitud	Global (puntuación)		
	Chi-cuadrado	Df	Sig.
-2	6.102	2	.047

Variables en la ecuación

	B	SE	Sig.	Exp(B)
CD13	1.736	.826	.036	5.676
Leucocitos	.703	.755	.352	2.021

Se realizó el mismo abordaje para detectar las variables de interés con el desenlace de muerte, utilizándose el siguiente esquema general:

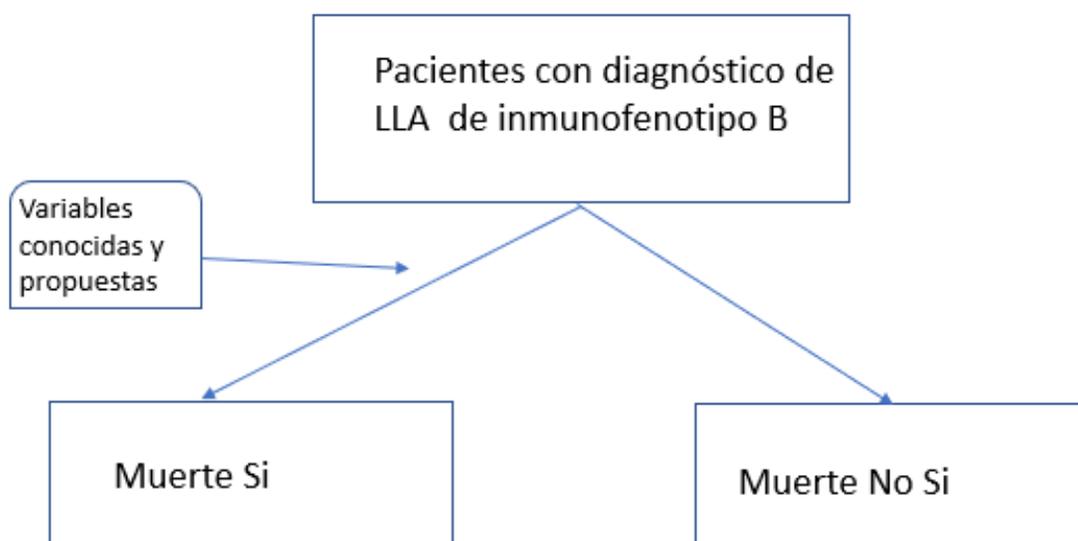


Figura 3. Plan de análisis de la muerte

Los resultados que se obtuvieron en el análisis bivariado fueron los siguientes:

Variable para muerte	Número de pacientes muertos	Riesgo relativo	Intervalo de confianza	Significancia estadística
Edad: Riesgo estándar/ Riesgo alto	Riesgo estándar: 11 Alto riesgo: 15	.467	.268-.917	.024
Leucocitos: Riesgo estándar/ Riesgo alto	Riesgo estándar: 19 Riesgo aumentado: 15	.743	.357-1.548	.439
Índice de DNA: Riesgo aumentado/ Riesgo excelente**	Riesgo aumentado: 24 Riesgo excelente: 2	1.213	.349-4.575	.714

Enfermedad mínima residual: Ausente/ Presente**	Ausente: 6 Presente: 2	.667	.164-2.717	.580
CD13: Diagnóstico No/ Diagnóstico Si *	Ausente: 25 Presente: 1	.714	.139-3.669	.704
CD13: Ausente/ Presente	Ausente: 22 Presente 4	2.115	.795-5.629	.105
CD33: Ausente/ Presente*	Ausente: 17 Presente: 1	1.478	.260-8.412	.633

Tabla 14. Factores pronósticos para muerte en LLA tipo B. Para CD13 y CD33 se realizaron dos análisis, 1 tomando en cuenta el punto de corte diagnóstico (por lo menos el 20% de las células neoplásicas) y otro con cualquier porcentaje de expresión de células neoplásicas; en el caso del punto de corte diagnóstico no se pudo obtener riesgo relativo para CD33. *El 50% de las celdas mostro valores esperados menores a 5. ** El 25% de las casillas mostró valores menores a 5

Debido a que 26 pacientes presentaron muerte por la enfermedad, se integraron las 3 variables con mayor significancia estadística al modelo de regresión lineal para esta variable dependiente: edad del paciente, presencia o ausencia de CD13 y la cuenta leucocitaria:

Modelo de regresión logística para muerte

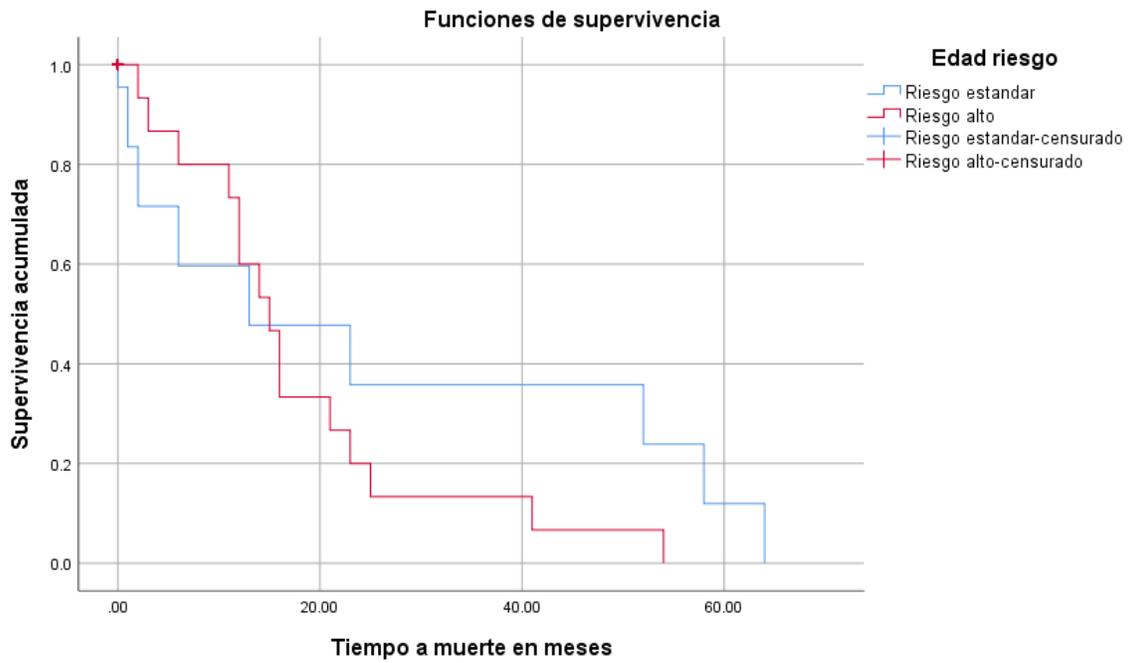
	B	Error estándar	Sig.	Exp(B)
Paso 1 ^a CD13 presente	-.886	.607	.144	.412
Leucocitos riesgo moderado	.282	.556	.612	1.326

	Edad riesgo moderado	.893	.477	.061	2.441
	Constante	-1.402	.365	.000	.246
Paso 2 ^a	CD13 presente	-.860	.603	.154	.423
	Edad riesgo moderado	.940	.467	.044	2.561
	Constante	-1.365	.356	.000	.255
Paso 3 ^a	Edad riesgo moderado	1.003	.462	.030	2.727
	Constante	-1.591	.331	.000	.204

Tabla 15. Modelo de regresión logística obtenido con el programa SPSS 25 versión 25 para muerte. El programa elimino del modelo estadístico las variables relacionadas a la presencia o ausencia de CD13 y de cuenta leucocitaria. Así el modelo queda con la edad del paciente, una significancia estadística de p .028 y una R cuadrada de Nagelkerke de .066. Este modelo en el segundo paso de la regresión, el cual conserva CD13, tuvo una significancia estadística de p.029 y una R cuadrada de Nagelkerke de .096.

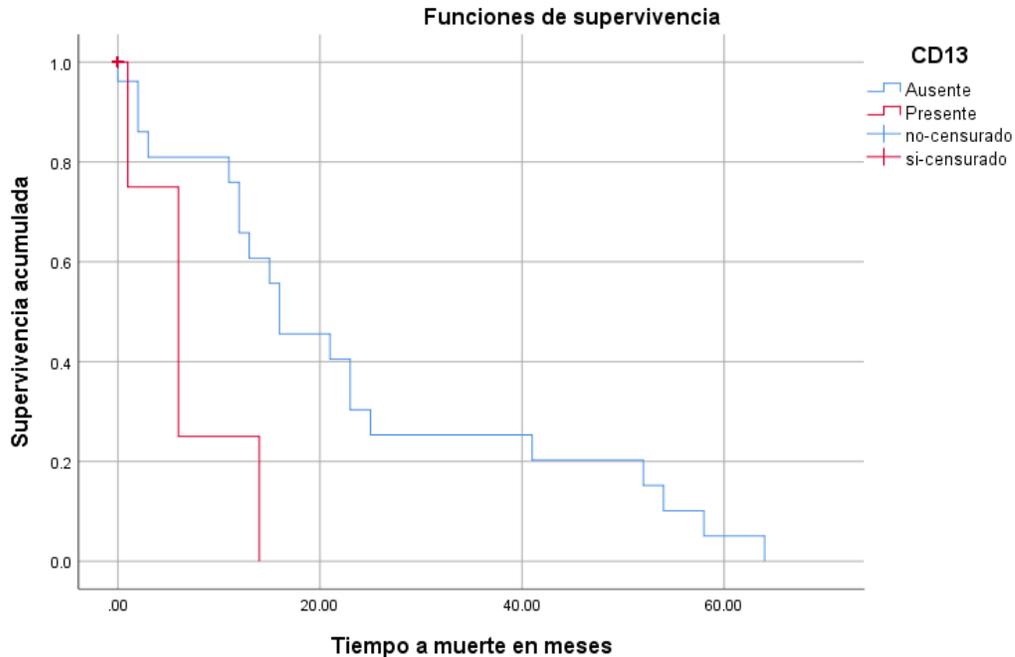
Debido a esto se obtuvieron las curvas de Kaplan Meier para las variables ausencia/presencia de CD13 y para edad del paciente:

Edad del paciente	Mediana tiempo de supervivencia			
	Estimación	Desv. Error	Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
Riesgo estándar	13.000	12.055	.000	36.629
Riesgo alto	15.000	1.932	11.213	18.787
Global	15.000	1.922	11.233	18.767



La prueba de Log Rank con una significancia estadística de p.553
 Mientras que para la presencia de CD13:

CD13	Estimación	Desv. Error	Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior
Ausente	16.000	4.372	7.431	24.569
Presente	6.000	2.165	1.756	10.244
Global	15.000	1.922	11.233	18.767



La prueba de Log Rank tuvo una significancia de .133

A pesar de que ninguna de nuestras variables del modelo estadístico de regresión logística fue estadísticamente significativas en las curvas de supervivencia de Kaplan Meier, se ingresaron ambas variables a un modelo de regresión lineal de Cox para ver su comportamiento, no encontrándose significancia y siendo removidas de la ecuación:

Las variables no están en la ecuación^{a,b}

		Puntuació		
		n	Df	Sig.
Paso 2	Edad	.335	1	.563
	riesgo			
Paso 3	Edad	.338	1	.561
	riesgo			
	CD13	2.193	1	.139

Posterior a estos modelos para recaída y muerte, se siguió con el análisis del modelo propuesto en el estudio:

Se obtuvo el riesgo relativo para muerte si un paciente no había tenido recaída contra uno que si la había tenido, siendo de 0.150, con intervalos de confianza de 0.074 a 0.305, con una significancia menor al 0.001%.

Para finalizar el análisis completamos el modelo general del estudio con los resultados:

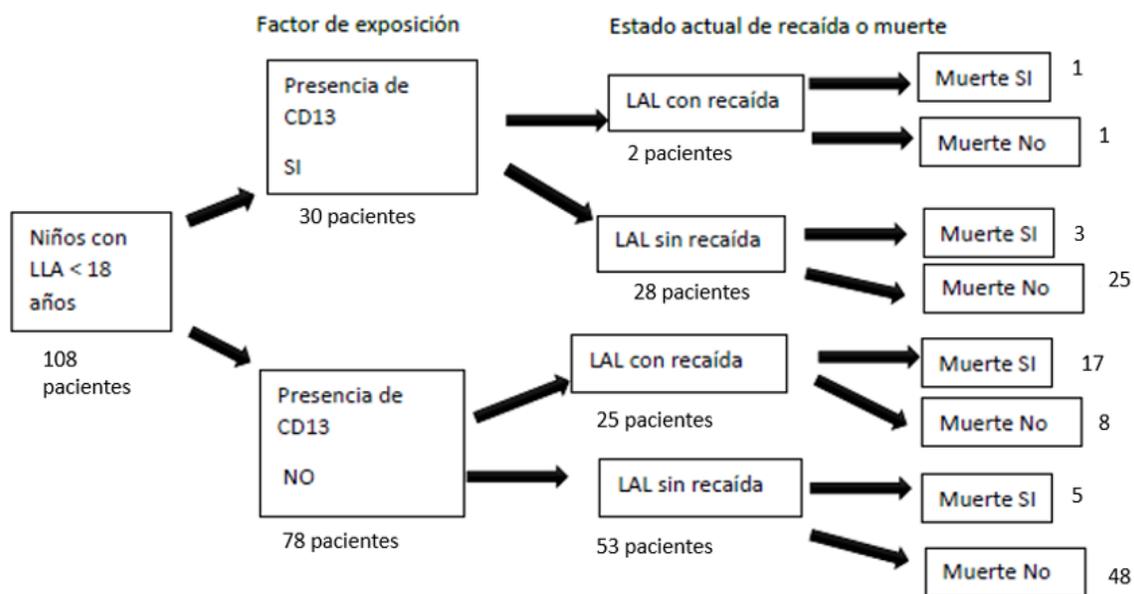


Figura 4. Modelo general del estudio a partir de nuestro factor de exposición.

Al realizar el análisis de estos datos, en pacientes con positividad para CD13:

Variable para muerte	para	Número de pacientes muertos	Riesgo relativo	Intervalo de confianza	Significancia estadística
LLA sin recaída/ recaída	con	Presencia: 1 Ausencia 3	.214	.037-1.234	.114

Al realizarlo para pacientes con negatividad para CD13:

Variable para muerte	para	Número de pacientes muertos	Riesgo relativo	Intervalo de confianza	Significancia estadística

LLA recaída/ recaída	sin con	Presencia:17 Ausencia:5	.139	.058	<.001
----------------------------	------------	----------------------------	------	------	-------

7.- DISCUSIÓN:

Nuestra población está conformada mayoritariamente por pacientes con LLA de inmunofenotipo B (108 pacientes, que correspondían al 89.25% del total de la muestra); este inmunofenotipo es el más común en los diversos estudios alrededor del mundo; sin embargo en nuestro estudio se encontró en un porcentaje más alto que el reportado por algunos otros autores(3,20,47). El síndrome de Dawn es el síndrome genético más frecuente en pacientes de nuestra serie, lo cual está en concordancia al resto de la literatura(48). En cuanto a la presencia de leucemias bifenotípicas estas demostraron ser raras como en otros estudios de la literatura, en nuestra serie reportamos la presencia de 3 leucemias bifenotípicas, una de linaje T y B; y dos de linaje mielóide linfóide; esto es semejante al estudio de Zhao et al(49) donde se reportaron 2 leucemias bifenotípicas según criterios de la OMS en 742 pacientes de su centro hospitalario; mientras que Lee et al (50) reportaron un porcentaje ligeramente superior al presentar 12 pacientes en una serie de 377 casos con criterios positivos según EGIL; lo cual corresponde a lo descrito por Al-Seraihy et al(51).

En cuanto a las características epidemiológicas de nuestra población, la LLA se presentó más comúnmente en hombres (56%), un dato similar al encontrado en la literatura (55%) (7). El promedio de edad de nuestra población correspondió a los 100.49 meses este dato llama la atención ya que se ha identificado que la mayor incidencia en el diagnóstico de LLA se da entre los 12 a los 48 meses de edad(52).

El 25.92% (26 pacientes) presentaron recaída, lo cual corresponde a un mayor porcentaje que el reportado en los artículos de revisión del tema(54). Esto es importante porque se ha reportado que en estos pacientes puede haber segundas recaídas y peor pronóstico(55)lo cual se comprueba en nuestro estudio al estar presente en el 69.3% de los pacientes que fallecieron. Una de las posibles explicaciones para este fenómeno se debe al centro hospitalario por tener una población con una frecuencia muy alta de hospitales con riesgo alto. De igual forma, esto puede explicar la alta mortalidad que presentó nuestro estudio del 24%, comparado al 10% en países en desarrollo (54). El sitio de recaída más común fue

la médula ósea, seguido de sistema nervioso central, llama la atención que en testículo solo se reportó un paciente con recaída, con los tratamientos más antiguos este era uno de los sitios predilectos para recaída, sin embargo con los nuevos tratamientos cada vez es más raro ver recaídas en este sitio, por lo que es un factor pronóstico a pesar de los nuevos fármacos(56).

En cuanto a tratamiento el más utilizado fue el esquema del Hospital de St Jude , se encuentra reportado en la literatura que este tratamiento tiene tasas de supervivencia libre de eventos del 80.6%, lo cual hace que sea uno de los esquemas de elección en el tratamiento de niños con esta enfermedad(57). Uno de los puntos a mejorar es la medición de la enfermedad mínima residual en todos nuestros pacientes, ya que desconocemos el estado de esta en la mayor parte de los pacientes que se estudiaron y es importante, ya que tiene implicaciones tanto diagnósticas como en el tratamiento de la enfermedad(58) por lo que se están utilizando diversos métodos diagnósticos para encontrarla cada vez con una mayor precisión (59); en los pacientes estudiados se encuentra en el 18.8% de los 43 pacientes.

La complicación más frecuente fue la neutropenia con fiebre, lo cual es esperado debido a los efectos de los medicamentos y de la propia neoplasia. Dentro de los efectos adversos más importantes se encuentra la presencia de sepsis y choque séptico complicado, cuya presencia nos alerta de pacientes en riesgo.

El estudio del inmunofenotipo es necesario para el tratamiento adecuado de la enfermedad, eso hizo que en el reciente año se publicara en México un primer reporte para la creación de un Consenso Nacional para la inmunotipificación de las Leucemias Agudas(20), algunos de los cuales habían sido utilizado previamente por otros grupos mexicanos (47); internacionalmente, tenemos los criterios diagnósticos propuestos por el grupo de EGIL y por la OMS(13,21). En nuestro protocolo se realizaron los marcadores propuestos por estos grupos: CD19, CD10, HLA-DR, CD79, CD34, CD20, TdT, CD123, CD24 para leucemias B; a todas las leucemias se les realizó por protocolo diagnóstico inmunomarcadores de linaje T: CD3, CD7, CD2 y marcadores de linaje mieloide CD13, CD33 y MPO.

En respuesta a uno de nuestros objetivos propuestos en nuestro estudio, podemos observar que las LLA de inmunofenotipo B en nuestro hospital son predominantemente CD19 +, CD10+, HLADR+, CD79+, todos ellos expresándose en más del 75% de los pacientes. Es de notar la baja expresión de TdT, el cual solo se presentó en el 28.8% de los pacientes(60,61), y se ha propuesto que la negatividad a este marcador se relaciona con cuentas leucocitarias más altas y peor pronóstico general.

Los marcadores más importantes para el diagnóstico de leucemias con expresión aberrante de marcadores mieloides son CD13 y CD33 (21), el primero no ha dejado de realizarse en nuestro hospital; mientras que para el consenso mexicano ambos son de uso opcional.. Al realizar la recolección de datos, nos percatamos que estos marcadores en niveles diagnósticos, por lo menos el 20% de las células neoplásicas, era menor al que reportaban los artículos de nuestro marco teórico. Por esta razón nos dispusimos a obtener los datos de las leucemias que expresaran en cualquier rango uno de los marcadores mieloides, obteniendo así datos semejantes a los reportados en otras partes el mundo, con 7 pacientes expresando en células neoplásicas por lo menos el 1% de CD33 (12.96%) y con 31 pacientes expresando por lo menos el 1% de CD13 (27.9%) de la población. Una de las limitantes de nuestro estudio es que al no haberse realizado CD33 en todos los pacientes, alguna de las LLA con expresión aberrante de CD13 podría clasificarse como bifenotípica.

La alteración cromosómica más comúnmente encontrada fue la hipodiploidia, la cual estuvo presente en 76 de nuestros pacientes, esta alteración genética, así como la hiperdiploidia con índices de DNA menores a 1.16 se ha relacionado con un peor pronóstico que aquellas LLA con hiperdiploidia mayor a 1.16; razón por la cual la separamos como de excelente pronóstico en el análisis de los datos (62,63), obteniendo a 10 pacientes dentro de este grupo. En nuestra población se confirma que la traslocación cromosómica más común es la t(12;21) que corresponde a los genes ETV6/RUNX (64).

Por otra parte, el apego al tratamiento dentro de nuestra población fue bueno, mostrando un abandono de solo 7.2%.

Una de las mayores limitantes de nuestro estudio fue el tamaño de la muestra, ya que para el resultado de algunas variables solo 2 pacientes que presentaron ese resultado. Es por esto por lo que algunos de los factores pronósticos determinados en otros estudios no pudieron ser comprobados en nuestra serie de pacientes.

El primer factor de riesgo conocido que fue analizado fue la edad de los pacientes, denominándose riesgo estándar a aquellos pacientes entre 1 a 10 años y riesgo aumentado a aquellos pacientes que no mostraron estas características. En el caso de las recaídas se comportó según lo reportado en estudios previos, ya que los pacientes con riesgo estándar mostraron un riesgo relativo de .685 para la variable, aunque con un intervalo de confianza de .358 a 1.448 y una p no significativa de .254. Al analizar la variable para el resultado muerte, el riesgo estándar se vuelve a comportar como un factor protector, con un riesgo relativo de .467, con intervalos de confianza de .268 a .917 y una p significativa de .024.

La presencia de linfocitos por debajo de 50,000 presentó un mayor riesgo relativo para recaída, lo cual es contrario a lo descrito en la literatura(65); esto se debe a que la mayor parte de los pacientes que recayeron en nuestra serie se encontraban en pacientes con cuentas leucocitarias menores a 50,000; mientras que para los pacientes de riesgo alto solo se encontraron 2 pacientes con recaída, dando como resultado un riesgo de 3.423 estadísticamente significativo (p 0.039); sin embargo el intervalo de confianza para esta variable es de .875 a 13.394, lo cual nos indica que podría llegar a comportarse como protector. Para la variable de desenlace de muerte, nuestra población se comportó según lo reportado a la literatura, mostrando que aquellos pacientes con riesgo estándar tenían un riesgo relativo de .743 con intervalos de confianza de .357 a 1.548, aunque no fue estadísticamente significativo.

El siguiente factor pronóstico conocido dentro de nuestro estudio fue el índice de DNA, que se comportó según lo descrito en la literatura, con un riesgo relativo de 2.632, aunque con intervalos de confianza muy amplios, de .398 a 17.412, con una

p estadísticamente no significativa. Para la variable muerte, volvió a tener un riesgo relativo aumentado de 1.213, con intervalos de confianza de .349 a 4.575 y una p no significativa de .714.

El último factor de riesgo previamente conocido en ser analizado en nuestro estudio fue la enfermedad mínima residual, la cual se comportó como un factor protector para recaída si se encontraba ausente, con un riesgo relativo de .389, aunque con un intervalo de confianza también muy amplio de .260 a 8.412; y para la variable de desenlace de muerte también se comportó como un factor protector, teniendo un riesgo relativo de .667, con un intervalo de confianza de .164 a 2.717.

Posteriormente analizamos nuestras variables de interés para saber como se comportaban en el análisis univariado. Realizamos dos análisis con cada una de ellas, el primero teniendo en cuenta el punto de corte de expresión en por lo menos 20% de las células neoplásicas del individuo para dar como positiva la expresión de CD13 o CD33; al realizar este análisis no se pudieron obtener riesgos relativos para ninguna de las dos variables ya que no presentaron recaída al expresarlo, y para el desenlace de muerte, solo se presentó 1 evento en pacientes que hubieran tenido CD13 con un intervalo de confianza para riesgo relativo de .139 a 3.669 con una p estadísticamente no significativa de .704. Para el segundo análisis se tomo en cuenta la expresión de por lo menos el 1% de ambos marcadores en las células neoplásicas del individuo; obteniéndose que su expresión se encuentra relacionada como factor protector, ya que, en el caso de CD33, su ausencia presentaba un riesgo relativo de 1.478 con intervalos de confianza de .260 a 8.412 y una p no significativa de .633; mientras que para CD13 su ausencia confería un riesgo relativo de 4.808, con intervalos de confianza de 1.213 a 19.060, siendo su p significativa de .006. Estas dos variables se comportaron también como factores protectores en el caso de la variable de desenlace muerte, teniendo la ausencia de CD13 un riesgo relativo de 2.115 con una p no significativa de .105 y la ausencia de CD33 un riesgo relativo de 1.478 con una p no significativa de .633. Estos resultados son semejantes a algunos obtenidos en la literatura, en los cuales proponen a CD13 como un factor de buen pronóstico para las LLA de inmunofenotipo B.

Posteriormente realizamos el análisis multivariado de nuestras variables:

- Para el desenlace recaída, el modelo de regresión logística nos ayudo a obtener un modelo estadísticamente significativo en el cual estaban presentes tanto la cuenta leucocitaria (con un valor de B negativo en la presencia de cuentas de riesgo moderado) y la presencia de CD13 (con un exponente B negativo). En nuestro modelo tenemos dos variables que son protectoras: la presencia de CD13 y cuentas leucocitarias de riesgo moderado. Posterior a eso se realizaron curvas de Kaplan y Meier para ambas variables, mostrando que la presencia de CD13 llevaba a una recaída más temprana que la ausencia del mismo estadísticamente significativo (prueba de log Rank de 0.20), este resultado se puede explicar debido a que las dos recaídas presentes en pacientes con CD13 tuvieron recaídas en los primeros meses de tratamiento. Estos últimos datos no habían sido reportados antes en los estudios en los cuales se habla de CD13 como factor protector.
- Para el desenlace de muerte, el modelo de regresión logística nos dio como resultado un modelo significativo en el cual solo involucraba a la edad de los pacientes. Sin embargo el paso anterior que conserva a CD13, explica un poco mejor el desenlace a pesar de que CD13 no es significativa, con una R cuadrada de Nagelkerke de .096, lo que explica el 9.6% del modelo, contrario al 6.6% explicado por la cuenta leucocitaria sola. De nueva cuenta las curvas de Kaplan y Meier muestran un menor tiempo para la variable de desenlace en el caso de los casos que expresan CD13; esto se explica ya que hay una menor cantidad de eventos en los pacientes CD13 positivos y estos suceden rápido en el tiempo.
- Otros datos obtenidos a partir del modelo general es que en aquellos pacientes con o sin CD13, la ausencia de recaída es un factor protector para el desenlace muerte (riesgos relativos de .214 y .139 respectivamente)

8.- CONCLUSIONES

Para concluir este trabajo se tomarán en cuenta las hipótesis formuladas:

- La expresión de CD13 al diagnóstico no se correlacionó positivamente a recaída y muerte. Este factor, que en un principio pensábamos que podía ser un factor de riesgo por lo publicado en algunas series, demostró en nuestro estudio que puede ser un factor protector, estadísticamente significativo en el caso de la recaída y no significativamente en el caso de muerte. Esto puede deberse a las características de nuestra población, que varía ligeramente a los datos publicados mundialmente.

- Los pacientes con diagnóstico de LLA de inmunofenotipo B fueron similares en algunas características, pero no en todas a lo reportado en otras series. La población del Instituto Nacional de Pediatría difirió a lo reportado en la literatura en el porcentaje total de leucemias, siendo mayor a lo reportado. Es de llamar la atención que epidemiológicamente la edad más temprana de diagnóstico de LLA fue a los 20 meses, cuando en lo reportado en la literatura la incidencia es mayor desde los 12 meses. Algunas de las características epidemiológicas que comparte nuestra serie con otras es la relación hombre: mujer, la presencia de hipoploidia, el comportamiento de los factores pronóstico-conocidos en recaída y muerte (con excepción de la cuenta leucocitaria en el riesgo de recaída) y la traslocación más frecuente. Es necesario tener en cuenta las características especiales de nuestra población en estudios a futuro.

En nuestra población se reclutaron una mayor cantidad de pacientes con LLA tipo B que en otros estudios

La frecuencia de CD13 fue mayor al 5% tomando en cuenta la expresión en el 1% en las células neoplásicas de los pacientes diagnosticados con esta enfermedad. Si solo tomáramos en cuenta el criterio diagnóstico de positividad como mayor al 20% de células nos encontraríamos con la población que menor porcentaje de pacientes con expresión del marcador tiene, con solo el 2.77%, lo cual también haría diferente a nuestra población.

Como ya se mencionó, la positividad a CD13 en el estudio de inmunofenotipo confirió a los pacientes de protección para recaída y muerte, siendo el riesgo relativo mayor a 1 para aquellos pacientes que no lo presentaron.

Como futuras direcciones que se podrían tomar es saber si la presencia de estos marcadores aberrantes lleva a algún viraje en el inmunofenotipo celular, ya que hay pacientes que son tratados por una leucemia de un linaje y posteriormente presentan una leucemia de otro así que sería interesante conocer si los inmunofenotipos aberrantes son una fase o transición en este proceso. Otro de los puntos interesantes sería aumentar el tamaño de la muestra para comprobar si hay algún porcentaje de expresión del marcador que nos indique si hay un mayor o menor riesgo para recaída o muerte.

9.-BIBLIOGRAFÍA

1. Pui CH. Childhood leukemias, second edition. *Childhood Leukemias, Second Edition*. 2006. 1–960 p.
2. Noronha EP, Marinho HT, Thomaz EBAF, Silva CA, Veras GLR, Oliveira RAG. Immunophenotypic characterization of acute leukemia at a public oncology reference center in Maranhao, northeastern Brazil. *Sao Paulo Med J*. 2011;129(6):392–401.
3. Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood Cancer J*. 2017;7:e577.
4. Dorantes-Acosta E, Medina-Sanson A, Dávila-Ornelas K, López-Martínez B. Clasificación inmunológica de las leucemias agudas linfoblásticas del Hospital Infantil de México Federico Gómez, de acuerdo al EGIL (European Group for the Immunological Classification of Leukemia). *Gac Mex Oncol*. 2013;12(3):136–42.
5. Mitchell C, Hall G, Clarke RT. Acute leukaemia in children: diagnosis and management. *Bmj*. 2009;338(June):b2285.
6. Inaba H, Greaves M, Mullighan C. Acute Lymphoblastic Leukemia. *Lancet*. 2013;381(9881):1–27.
7. Hunger SP, Mullighan CG. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *N Engl J Med* [Internet]. 2015;373(16):1541–52. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1400972>
8. Rivera-Luna R, Zapata-Tarres M, Shalkow-Klincovstein J, Velasco-Hidalgo L, Olaya-Vargas A, Finkelstein-Mizrahi N, et al. The burden of childhood cancer in Mexico: Implications for low- and middle-income countries. *Pediatr Blood Cancer* [Internet]. 2017;64(6):e26366. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/pbc.26366>
9. Rivera-Luna R, Velasco-Hidalgo L, Zapata-Tarrés M, Cárdenas-Cardos R, Aguilar-Ortiz MR. Current outlook of childhood cancer epidemiology in a

- middle-income country under a public health insurance program. *Pediatr Hematol Oncol*. 2017;34(1):43–50.
10. Zapata-Tarres, JL. Sánchez-Huerta TA-F et al. Identificación de alteraciones moleculares en pacientes pediátricos con diagnóstico de leucemia aguda. *Rev Mex Hematol*. 2017;18(2):47–57.
 11. Pieters R, Groot-kruseman H De, Velden V Van Der, Fiocco M, Berg H Van Den. Successful Therapy Reduction and Intensification for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Based on Minimal Residual Disease Monitoring: Study ALL10 From the Dutch Childhood Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2019;34(22):2591--2601.
 12. Zafar MN. FAB Classification of Acute Lymphoblastic Leukaemia (ALL) and its relevance to ALL in Karachi children. *J Pak Med Assoc*. 1985;35(8):233–6.
 13. Chiaretti S, Zini G, Bassan R. Diagnosis and subclassification of acute lymphoblastic leukemia. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2014;6(1):e2014073.
 14. Campana D, Coustan-Smith E, Janossy G. The immunologic detection of minimal residual disease in acute leukemia. *Blood*. 1990;76(1):163-71.
 15. Rubnitz JE, Onciu M, Pounds S, Shurtleff S, Cao X, Susana C, et al. Children ' s Research Hospital Acute mixed lineage leukemia in children: the experience of St Jude Children ' s Research Hospital. 2014;113(21):5083–9.
 16. Gajl-Peczalska KJ, Bloomfield CD, Nesbit ME, Kersey JH. B-cell markers on lymphoblasts in acute lymphoblastic leukaemia. *Clin Exp Immunol [Internet]*. 1974;17(4):561–9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1554089&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 17. Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A van't VM. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *Leukemia*. 1995;9(November):1783–6.
 18. Khalidi HS, Chang KL, Medeiros LJ, Brynes RK, Slovak ML, Murata-Collins

- JL, et al. Acute lymphoblastic leukemia: Survey of immunophenotype, French-American-British classification, frequency of myeloid antigen expression, and karyotypic abnormalities in 210 pediatric and adult cases. *Am J Clin Pathol.* 1999;111(4):467–76.
19. Campana D, Behm FG. Immunophenotyping of leukemia. *J Immunol Methods.* 2000;243:59–75.
 20. Arriaga-Pizano L, Ramírez-Ramírez D, Prieto-Chávez J, Pelayo R, Ruiz-Argüelles A, Ruiz-Delgado G, et al. Reporte de la Primera Reunión Nacional de Consenso para la Inmunofenotipificación de Leucemias Agudas. *Gac Med Mex.* 2019;155:20–9.
 21. Charles NJ, Boyer DF. Mixed-phenotype acute leukemia: Diagnostic criteria and pitfalls. *Arch Pathol Lab Med.* 2017;141(11):1462–8.
 22. Cernan M, Szotkowski T, Pikalova Z. Mixed-phenotype acute leukemia: State-of-the-art of the diagnosis, classification and treatment. *Biomed Pap.* 2017;161(3):234–41.
 23. Yeneral MN, Atamer T, Yavuz AS, Kucukkaya R, Basisik S, Aktan M, et al. Myeloid antigen expression provides favorable outcome in patients with adult acute lymphoblastic leukemia: A single-center study. *Ann Hematol.* 2002;81(9):498–503.
 24. Kavianpour M, Ketabchi N, Saki N. Prognostic significance of aberrant expression of CD markers in acute lymphoblastic leukemia. *Memo - Mag Eur Med Oncol.* 2017;10(3):164–9.
 25. Novoa V, Nuñez NA, Carballo OG, Lessa CF. Inmunofenotipos aberrantes en leucemias agudas en una población hospitalaria de buenos aires. *Med.* 2013;73(1):9–16.
 26. Taberero MD, Bortoluci AM, Alaejos I, López-Berges MC, Rasillo A, García-Sanz R, et al. Adult precursor B-ALL with BCR/ABL gene rearrangements displays a unique immunophenotype based on the pattern of CD10, CD34,

- CD13 and CD38 expression. *Leukemia*. 2001;15(3):406–14.
27. Seegmiller AC, Kroft SH, Karandikar NJ, McKenna RW. Characterization of immunophenotypic aberrancies in 200 cases of B acute lymphoblastic leukemia. *Am J Clin Pathol*. 2009;132(6):940–9.
 28. Vitale A, Guarini A, Ariola C, Meloni G, Perbellini O, Pizzuti M, et al. Absence of prognostic impact of CD13 and/or CD33 antigen expression in adult acute lymphoblastic leukemia. Results of the GIMEMA ALL 0496 trial. *Haematologica*. 2007;92(3):342–8.
 29. Suggs JL, Cruse JM, Lewis RE. Aberrant myeloid marker expression in precursor B-cell and T-cell leukemias. *Exp Mol Pathol*. 2007;83(3):471–3.
 30. Aula Mahmood Ibrahim BMH. Cytokines profiling as prognostic markers in newly diagnosed acute myeloid leukemia. *Iraqi J Hematol*. 2017;6(1):12–6.
 31. Jalal SD, Al-Allawi NAS, Al Doski AAS. Immunophenotypic aberrancies in acute lymphoblastic leukemia from 282 Iraqi patients. *Int J Lab Hematol*. 2017;39(6):625–32.
 32. Supriyadi E, Veerman AJP, Sutaryo, Purwanto I, Vd Ven PM, Cloos J. Myeloid antigen expression in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relevance for clinical outcome in Indonesian ALL-2006 protocol. *J Oncol*. 2012;2012:8–12.
 33. Sujatha P. Paul, Lynn S. Taylor, Eryn K. Stansbury and Daniel W. McVicarHayashi M. On the origin of species specificity of fibronectin. Immunological identification of a species-specific domain of human fibronectin. *Blood*. 2000;96:483–90.
 34. Hunger S, Mullighan C. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *N Engl J Med*. 2015;373(16):1541–52.
 35. Pang L, Zhang N, Xia Y, Wang D, Wang G, Meng X. Serum APN / CD13 as a novel diagnostic and prognostic biomarker of pancreatic cancer Patient characteristics. 2016;7(47):77854–64.

36. Coursen Schneider, Michael Bayerl, Cinda Boyer, Ruchi Desai, David Claxton and A van der L. References 1. *Am J Respir Crit Care Med.* 2017;196(8):1077–80.
37. Saida S, Watanabe K, Kato I, Fujino H, Umeda K, Okamoto S, et al. Prognostic significance of aminopeptidase-N (CD13) in hepatoblastoma. 2015;558–66.
38. Grieger E, Gresch G, Niesen J, Woitok M, Barth S, Fischer R, et al. Efficient targeting of CD13 on cancer cells by the immunotoxin scFv13 – ETA ' and the bispecific scFv [13xds16]. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2017;
39. Copeland E, McGuire E. *The Biology and Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia in Adults.* *Blood.* 1995;85(5):1151–68.
40. Uckun FM, Sather HN, Gaynon PS, Arthur DC, Trigg ME, Tubergen DG, et al. Clinical features and treatment outcome of children with myeloid antigen positive acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Cancer Group. *Blood* [Internet]. 1997;90(1):28–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9207434>
41. Amirghofran Z, Shamseddin A, Shahriari M. Prognostic Value of M Yeloid Antigen Expression in Acute. *Med J Islam Repub Iran.* 200AD;14(2):111–4.
42. Rodríguez-Rodríguez S, Pomerantz A, Demichelis-Gómez R, Barrera-Lumbreras G, Barrales-Benítez O V., Lopez-Karpovitch X, et al. Impact of Aberrant Antigens in the Outcome of Patients with Acute Leukemia at a Referral Institution in Mexico City. *Rev Invest Clin.* 2016;68(6):305–13.
43. Sharma M, Sachdeva MS, Varma N, Varma S, Marwaha R. Characterization of immunophenotypic aberrancies in adult and childhood acute lymphoblastic leukemia: A study from Northern India. *J Cancer Res Ther* [Internet]. 2016;12(2):620. Available from: <http://www.cancerjournal.net/text.asp?2016/12/2/620/147716>
44. Craddock KJ, Chen Y, Brandwein JM, Chang H. CD13 expression is an independent adverse prognostic factor in adults with Philadelphia

chromosome negative B cell acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res* [Internet]. 2013;37(7):759–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.leukres.2013.04.006>

45. Dalal BI, Al Mugairi A, Pi S, Lee SY, Khare NS, Pal J, et al. Aberrant expression of CD13 identifies a subgroup of standard-risk adult acute lymphoblastic leukemia with inferior survival. *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk* [Internet]. 2014;14(3):239–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clml.2013.10.003>
46. Mutreja D, Pati HP, Bansal D, Sharma RK, Jain S. Aberrant Immunophenotypic Expression of CD5 in a Case of B Acute Lymphoblastic Leukemia: A Case Report. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2014;30(Sept):212–4.
47. Pérez-Saldivar ML, Fajardo-Gutiérrez A, Bernáldez-Ríos R, Martínez-Avalos A, Medina-Sanson A, Espinosa-Hernández L, et al. Childhood acute leukemias are frequent in Mexico City : descriptive epidemiology. *BMC Cancer* [Internet]. 2011;11:355. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/11/355>
48. Buitenkamp TD, Izraeli S, Zimmermann M, Forestier E, Heerema NA, Heuvel-eibrink MM Van Den, et al. Acute lymphoblastic leukemia in children with Down syndrome : a retrospective analysis from the Ponte di Legno study group. *Blood*. 2019;123(1):70–8.
49. Zhao XF, Gojo I, York T, Ning Y, Baer MR. Diagnosis of biphenotypic acute leukemia : a paradigmatic approach. *Int J Clin Pathol*. 2010;3(1):75–86.
50. Lee HG, Baek HJ, Kim HS, Park SM, Hwang TJ, Kook H. Biphenotypic acute leukemia or acute leukemia of ambiguous lineage in childhood : clinical characteristics and outcome. *Blood Res*. 2019;54:63–73.
51. Al-Seraihy AS, Owaidah TM, Ayas M, El-solh H, Al-mahr M, Al-ahmari A, et al. Clinical characteristics and outcome of children with biphenotypic acute leukemia. *Haematologica*. 2009;94(12):1682–90.

52. Siegel DA, Henley SJ, Li J, Pollack LA, Dyne EA Van, White A. Rates and Trends of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia — United States, 2001-2014. *66(36):950–4*.
53. Roberts GT, Aur RJA, Sheth K V. Immunophenotypic and Age Patterns of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia In Saudi Arabia. *Leuk Res. 1990;14(7):667–72*.
54. Sun W, Malvar J, Sposto R, Verma A, Wilkes JJ, Dennis R, et al. Outcome of children with multiply relapsed B-cell acute lymphoblastic leukemia: a therapeutic advances in childhood leukemia & lymphoma study. *Leukemia [Internet]. 2018;32:2316–25*. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41375-018-0094-0>
55. Bhojwani D, Pui C. Relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol [Internet]. 2013;14(6):e205–17*. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70580-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70580-6)
56. Kulkarni K, Marwaha R, Trehan A, Bansal D. Testicular relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia: The challenges and lessons. *Indian J Cancer. 2010;47(2):134–8*.
57. Pui C, Sandlund JT, Pei D, Campana D, Rivera GK, Ribeiro RC, et al. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Total Therapy Study XIII B at St Jude Children ' s Research Hospital. *Blood. 2004;104(9):2690–7*.
58. Short NJ, Jabbour E. Minimal Residual Disease in Acute Lymphoblastic Leukemia: How to Recognize and Treat It. *Curr Oncol Rep. 2017;19(6):https://doi.org/10.1007/s11912-017-0565-x*.
59. Dongen JJM Van, Velden VHJ Van Der, Br M. Minimal residual disease diagnostics in acute lymphoblastic leukemia: need for sensitive, fast, and standardized technologies. *Blood. 2019;125(26):3996–4010*.
60. Bachir F, Bennani S, Lahjouji A, Cherkaoui S, Harif M, Khattab M, et al.

Characterization of Acute Lymphoblastic Leukemia Subtypes in Moroccan Children. *Int J Pediatr* [Internet]. 2009;2009:674801. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/ijpedi/2009/674801/>

61. Liu L, MCGavran L, Lovell MA, Wei Q, Jamieson BA, Williams SA, et al. Nonpositive Terminal Deoxynucleotidyl Transferase in Pediatric Precursor B-Lymphoblastic Leukemia. *Am J Clin Pathol*. 2004;121:810–5.
62. Rachieru-Sourisseau P, Baranger L, Dastugue N, Robert A, Genevie F, Kuhlein E, et al. DNA Index in childhood acute lymphoblastic leukaemia : a karyotypic method to validate the flow cytometric measurement. *Int J Lab Hematol*. 2010;32:288–98.
63. Look T, Roberson P, Williams D, Rivera G, Bowman W, Pui C. Prognostic Importance of Blast Cell DNA Content in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood*. 1985;65(5):1079–86.
64. Sánchez KL, Aguilar NH. Patrones de hibridación del gen ETV6 / RUNX1 en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda Hybridization patterns of ETV6 / RUNX1 gen in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Rev Cuba Hematol Inmunol y Hemoter*. 2017;33(2):1–10.
65. Cooper S, Brown P. Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *Pediatr Clin North Am*. 2015;62(1):61–73.