



**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION  
FACULTAD DE MEDICINA**



**INSTITUTO DE SEGURIDAD SOCIAL Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS  
TRABAJADORES DEL ESTADO**

**CENTRO MEDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE**

**TITULO:**

**“Detección de Enfermedad Residual Mínima mediante  
citometría de flujo en pacientes con Leucemia Aguda de novó y  
su impacto en la sobrevida libre de recaída”  
”**

**T E S I S**

**Q U E P R E S E N T A**

**DRA ORTIZ ZEPEDA SANTA MARICELA**

**PARA OBTENER EL TITULO MEDICO ESPECIALISTA EN HEMATOLOGÍA**

**ASESOR DE TESIS:  
DRA ALVARADO IBARRA MARTHA**

**MÉXICO D.F.**

**FEBRERO 2009**



**FOLIO DE REGISTRO DE TESIS.- 114.2009**



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.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mi madre, por ser la inspiración de mis deseos de superación constante, por brindarme su incondicional apoyo en las buenas y en las malas.**

**A mi padre, que aunque ya no este a mi lado, me dio la fortaleza y el ejemplo de luchar por lo que siempre he añorado.**

**A mis hermanos Blanca Elia, Karim y Jorge Alberto, por estar siempre a mi lado y estar de acuerdo con las decisiones mas importantes de mi vida y aceptar que la distancia no nos ha separado nunca.**

**A mis amigos y compañeros en este largo camino (Dr. Sansores, Dra. Ballinas, Dra. Reyes, Dra. Mora, Dra. Gonzalez, Dra. Ortiz T, Dr. Gutierrez y Dr. Herrera) por brindarme su amistad, compañía y buenos consejos.**

**A mis maestros de mi especialidad en Hematología, que me dieron todas las herramientas y oportunidades para ser una excelente profesionista y guiarme por los diferentes caminos que podía seguir y poder asi concluir esta especialidad.**

---

**Dr. Di Silvio López Mauricio**  
**Subdirector de Enseñanza e Investigación**  
**CMN “20 de Noviembre”**

---

**Dr. López Hernández Manuel**  
**Profesor Titular del Curso**  
**Jefe del Servicio de Hematología**  
**CMN “20 de Noviembre”**

---

**Dra. Alvarado Ibarra Martha**  
**Medico Adscrito del Servicio de Hematología**  
**CMN” 20 de Noviembre”**  
**Asesor de Tesis**

---

**Dra. Ortiz Zepeda Santa Maricela**  
**Médico Residente del Servicio de Hematología**  
**CMN “20 de Noviembre”**

## INDICE

<b>Índice</b>	<b>4</b>
<b>Resumen</b>	<b>5</b>
<b>Abstract</b>	<b>6</b>
<b>Introducción</b>	<b>7</b>
<b>Pacientes y métodos</b>	<b>9</b>
<b>Resultados</b>	<b>11</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>17</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>19</b>

## RESUMEN

La potencial aplicabilidad del estudio de la Enfermedad Mínima Residual (EMR) en el manejo clínico de la Leucemia Aguda incluye la identificación temprana de pacientes de alto riesgo de recaída y la detección oportuna de esta por lo cual fue motivo de nuestro estudio.

**Objetivo:** Se realizó la determinación de EMR mediante citometría de flujo en pacientes con Leucemia Aguda de Novo y su impacto en la sobrevida libre de recaída.

**Pacientes y Métodos.**-Fueron incluidos pacientes con Leucemia Aguda de novo (Linfoblástica y no Linfoblástica) menores de 60 años, candidatos a recibir quimioterapia intensiva de acuerdo a los protocolos vigentes del Servicio (LAL 6, LAL9, LANOL8). Se les realizó inmunofenotipo previo a la quimioterapia y al final de la Inducción a la remisión (IR). Se estableció la extirpe celular y se seleccionaron los CD (antígeno de diferenciación) para evaluar la EMR. Se consideró enfermedad mínima residual positiva cuando se encontró más de 1% en los marcadores de extirpe posterior a la quimioterapia. Se correlacionó la presencia de EMR con factores de mal pronóstico.

**Resultados:** Se analizaron 24 pacientes, 12 hombres y 12 mujeres, edad media de 17 años, con Leucemia Aguda Linfoblástica (LAL) fueron 19 (14 de extirpe B y 5 de extirpe T) y 5 Leucemias Agudas No Linfoblásticas (LANL). Se detectó recaída en 7 pacientes con una media de 9 meses, 71.5% fueron LAL y 28.5% fueron LANL; al comparar <1% vs >1% de expresión de los diferentes antígenos se encontró diferencia estadísticamente significativa en la reducción en los marcadores CD34, CD22 y HLA-DR (p 0.004). Y la asociación de EMR positiva con recaída tuvo significancia estadística para los marcadores CD34, HLA-DR, CD10 y CD19 (p 0.0001). De las recaídas linfoides, 80% se acompañaban de marcadores aberrantes. También se encontró que las recaídas de extirpe linfóide fueron en mayores de 17 años y las de extirpe mielóide en menores de 18 años.

**Conclusiones.**-La detección de enfermedad mínima residual por citometría de flujo permitió conocer la relación que existe entre las recaídas tempranas y la expresión de diferentes antígenos de diferenciación con más de 1% de expresión al final de la quimioterapia de IR, ya que de las 7 recaídas todos presentaron EMR positiva. Además de encontrarse una alta incidencia de asociación de enfermedad mínima residual positiva con expresión de marcadores aberrantes.

## **ABSTRACT**

The potential applicability of the study of minimal residual disease (EMR) in the clinical management of acute leukemia include early identification of patients at high risk of relapse and detection of the reason why it was in our study.

**Objective:** We performed EMR to determine by flow cytometry in patients with acute leukemia Novo and its impact on relapse-free survival.

**Methods and patients.-** were included patients with de novo acute leukemia (Lymphoblastic and not Lymphoblastic) under 60 years, candidates for receiving intensive chemotherapy according to protocols of the Service (LAL 6 LAL9, LANOL8). Immunophenotype was performed before chemotherapy and after the induction of remission. Establishing the cellular and remove selected CD (differentiation antigen) for the evaluate EMR. Minimal residual disease was considered positive when it was found more than 1% of the markers removed after chemotherapy. Correlates with the presence of EMR and prognostic factors.

**Results.-**We analyzed 24 patients, 12 men and 12 women, average age 17 años with Acute Lymphoblastic Leukemia (LAL) were 19 (14 B and 5 removes removes T) 5 and No Acute Lymphoblastic Leukemia (LANL). Relapse was detected in 7 patients with a mean of 9 months, were 71.5% and 28.5% were LAL , LANL; compare <1% vs > 1% of expression of different antigens was found statistically significant difference in reduction in the markers CD34, CD22 and HLA-DR (p 0.004). And the EMR positive association with relapse was statistically significant for the markers CD34, HLA-DR, CD10 and CD19 (p 0.0001). Relapse of lymphoid, 80% were accompanied by aberrant markers. We also found that the excised lymph node relapse were older than 17 years and those of myeloid lineage in less than 18 years.

**Conclusions-**Detection of minimal residual disease by flow cytometry allowed to know the relation ship between early relapse and the expression of different antigens of differentiation with more than 1% of expression at the end of chemotherapy IR because of the 7 relapses EMR had all positive. In addition to finding a high incidence of association of minimal residual disease with positive expression of aberrant markers.

## 1.-INTRODUCCION

En las últimas décadas, los avances en quimioterapia, radioterapia y en el trasplante de precursores hematopoyéticos han mejorado de forma considerable las posibilidades de supervivencia de los pacientes afectados de patología hemato-oncológica. Sin embargo, el riesgo de recurrencia continúa siendo, en muchos casos, un obstáculo importante para su curación. En este sentido, la detección de enfermedad mínima residual (EMR) constituye un procedimiento de gran interés con objeto de adecuar los requerimientos terapéuticos y además en algunos casos puede tener una clara trascendencia pronóstica. El mayor conocimiento de la genética molecular ha experimentado también progresos significativos. Los recientes avances de las técnicas de biología molecular han permitido la descripción de alteraciones cromosómicas en células tumorales y la identificación de oncogenes y genes supresores involucrados en la transformación maligna, todo lo cual ha contribuido a mejorar los procedimientos diagnósticos, a desarrollar nuevos factores pronósticos y a planificar tratamientos más efectivos.<sup>1,3,6</sup>

La potencial aplicabilidad del estudio de la Enfermedad Mínima Residual en el manejo clínico de la Leucemia Aguda incluye la identificación temprana de pacientes de alto riesgo de recaída y la detección oportuna de recaída.<sup>3</sup>

La Enfermedad Mínima Residual es un predictor que puede ser determinada por Citometría de Flujo o Reacción en cadena de Polimerasa entre otras técnicas. Citometría de Flujo posee una sensibilidad de  $1 \times 10^{-4}$  (1 célula leucémica en 10, 000 células) en medula ósea.<sup>1,12,14</sup>

Existen diferentes técnicas de estudio para determinar y cuantificar la EMR, según el tipo de neoplasia: la citometría de flujo, la inmunocitología y técnicas moleculares como la hibridación in situ con fluorescencia (FISH) y la transcripción inversa acoplada a la reacción en cadena de la polimerasa (RTPCR).<sup>3</sup>

Algunos estudios han reportado que la persistencia de células residuales posterior a la Inducción a la remisión han favorecido recaídas a corto plazo, sin embargo se desconoce esta asociación en nuestros pacientes.

Estudios realizados con análisis de citometría de flujo ponen de manifiesto que el riesgo de recidiva en los pacientes con  $EMR \geq 1 \times 10^{-2}$  al finalizar la IR es superior al 60% en el curso de los 3 años siguientes, frente a menos del 15% en los que no se detecta EMR. Los pacientes que mantienen EMR con niveles  $\geq 1 \times 10^{-3}$  después del tratamiento de consolidación tienen un riesgo de recidiva de aproximadamente un 70%.<sup>5,8,9</sup>

Otros autores han realizado estudios similares midiendo la EMR con las técnicas mencionadas de PCR y los resultados han sido superponibles: la probabilidad de recaída fue del 100% con niveles de  $EMR \geq 1 \times 10^{-3}$  al finalizar la inducción (día + 36) comparada con un 14% con niveles menores ( $p < 0,001$ ).<sup>1,12,14</sup>



Diversos trabajos realizados con análisis de citometría de flujo ponen de manifiesto que el riesgo de recidiva en los pacientes con  $EMR \geq 1 \times 10^{-2}$  (1 célula por cada 100) al finalizar la inducción es superior al 60% en el curso de los tres años siguientes, frente a menos del 15% en los que no se detecta EMR. Los pacientes que mantienen EMR con niveles  $\geq 1 \times 10^{-3}$  (1 célula por cada 1000) después del tratamiento de consolidación tienen un riesgo de recidiva de aproximadamente un 70%<sup>13-14</sup>. Otros autores han realizado estudios similares midiendo la EMR con las técnicas mencionadas de PCR y los resultados han sido superponibles: la probabilidad de recaída fue del 100% con niveles de  $EMR \geq 1 \times 10^{-3}$  ( $p < 0.0001$ ) al finalizar la inducción (día + 36) comparada con un 14% con niveles menores ( $p < 0,001$ )<sup>2,4</sup>.

En la Leucemia Aguda se considera generalmente remisión cuando la composición de las células neoplásicas es menor del 5% del total de células de la médula ósea (esto limitado a la detección morfológica). La potencial aplicabilidad del estudio de la Enfermedad Mínima Residual en el manejo clínico de la Leucemia Aguda incluye la identificación temprana de pacientes de alto riesgo de recaída y la detección oportuna de recaída. La introducción al estudio de la EMR provee una herramienta poderosa en el análisis de la médula ósea o sangre periférica. Ya que los índices de remisión en las leucemias agudas linfoblásticas en niños y adultos van del 80-95% y en la mieloides de 60-80%. A pesar de los nuevos esquemas de tratamiento muchos de estos pacientes sufrirán recaídas.<sup>2,17,10</sup>

En el estudio realizado en el Hospital General de Occidente de Guadalajara se evaluó la EMR en médula ósea por citometría de flujo en 24 pacientes pediátricos con LLA. Se establecieron tres grupos de EMR al final del tratamiento: A) 0%, B) <1% y C) >1%, reportando resultados para el grupo A de recaída en 1 de 8 pacientes (12.5%) al mes 12. La mediana de seguimiento del grupo fue de 9 meses (2-45). *Grupo B:* (8/24), se presentó recaída 1 de 8 pacientes (12.5%) al mes 2. La mediana de seguimiento grupal fue de 7 meses (1-32). *Grupo C:* (8/24), con recaída 1 de 8 casos (12.5%) en el mes 3 y mediana de seguimiento grupal de 21 meses (2-19).<sup>19</sup>

En otro estudio el doctor Arguelles y colaboradores analizaron la presencia de EMR en un grupo de 93 pacientes con LA, durante un lapso de 9 años. La presencia o ausencia de EMR se estableció en 2%, definido por medio de citometría de flujo, análisis. La tasa de recaídas para estos grupos fue de 17% para LAL con EMR positiva, y 8% LANL con EMR positiva y 0% con ausencia de EMR, en tanto que la supervivencia global a 7 años fue de 65%, 69%, 83% y 98%.<sup>18</sup>

A pesar de los nuevos esquemas de tratamiento muchos de estos pacientes sufrirán recaídas por lo que nuestro objetivo fue conocer la presencia y la magnitud de la EMR medida por Citometría de Flujo en pacientes con LAL y LANL que recibieron QT intensiva y su asociación con la sobrevida libre de recaída, realizando un estudio de tipo PROSPECTIVO, OBSERVACIONAL, LONGITUDINAL Y DESCRIPTIVO.

## **PACIENTES Y METODOS**

### **Descripción del estudio.-**

El estudio se llevo a cabo en el periodo comprendido del 1 de noviembre del 2007 al 31 de noviembre del 2008 en el Servicio de Hematología en el CMN 20 de Noviembre

Los criterios de inclusión fueron: Menores de 60 años con diagnóstico de Leucemia Aguda de Novo Candidatos de recibir Quimioterapia intensiva de acuerdo a los protocolos vigentes del Servicio, ambos sexos. Se tomaron como criterios de exclusión.- los que se incluyeron a un protocolo de quimioterapia paliativa, que no aceptaron participar en el estudio, muestras que no fueran tomadas de medula ósea para inmunofenotipo. Y fueron eliminados.-los que fallecieron durante la quimioterapia, los que no tuviesen determinaciones del inmunofenotipo completas, que abandonaron la quimioterapia durante el estudio y en quienes se violo el protocolo de QT.

Se les tomó antes de recibir la quimioterapia de IR muestra de medula ósea la cual se colectó en jeringa heparinizada, previa asepsia, un volumen de 5ml que fue analizada por medio de un Citómetro de Flujo de 2 colores para conocer los marcadores específicos de extirpe celular a través de diferentes anticuerpos monoclonales y se tomo una segunda muestra al finalizar la Quimioterapia de IR.

Se utilizaron combinaciones de marcadores de expresión de acuerdo a tipo de leucemia aguda ya sea Linfóide de extirpe B CD34, HLA-DR, CD19, CD20, CD22, CD10 y CD 38, para extirpe T CD3, CD5, CD7, y para las de extirpe Mieloide CD34, CD33, CD13, CD14, CD15. Además de detección de marcadores aberrantes.

Se cotejarón los datos al diagnóstico con la evolución y se correlaciono su desenlace a través de los criterios de Remisión Completa, Falla Terapéutica, Recaída y Muerte en inducción o remisión. Se anexan los protocolos de tratamiento de las Leucemias Agudas Linfoblásticas y no Linfoblásticas vigentes del Servicio de Hematología del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” del ISSSTE.

Se considero como presencia de EMR positiva al porcentaje de expresión >1% o negativa <1% de los diferentes antígenos de diferenciación (CD) de acuerdo a extirpe celular.

### **DEFINICION DE EVENTOS Y VARIABLES**

Remisión.-Ausencia de datos clínicos y hemáticos atribuibles a la enfermedad, sin evidencia de infiltración a otros órganos y 5% o menos de blastos en la médula ósea, con hematopoyesis normal.

Falla.- Más de 5% de blastos en la médula ósea, al concluir la Inducción.

Recaída Mieloide.- Más de 5% de blastos, en la médula ósea, después de obtenida la Remisión.

Recaída Neurológica.- Blastos en LCR procesado con ultra centrífuga, después de obtenida la Remisión.

Recaída Extramieloide.- Infiltración a otros órganos, distintos al sistema nervioso central, demostrado por histopatología.

Muerte en Inducción.- Fallecimiento, luego de haber iniciado la quimioterapia de Inducción, y antes de evaluar la posible remisión.

Muerte en Remisión.- Fallecimiento luego de haberse alcanzado la remisión.

Remisión Parcial.- Con cuentas incompletas en la sangre periférica y médula ósea de remisión completa ó con blastos en la médula ósea >5% y < de 25%.

Refractario.- Sin remisión completa después de dos ciclos de inducción.

Sobrevida Libre de Enfermedad.- Tiempo entre Remisión Completa y Recaída.

Sobrevida: Tiempo entre el diagnóstico y la muerte.

Enfermedad Mínima Residual Positiva.- Expresión del marcador de estudio >1%.

Enfermedad Mínima Residual Negativa.- Expresión del marcador de estudio <1%.

## **ANALISIS ESTADÍSTICO**

Todas las variables fueron analizadas a través del sistema de análisis estadístico SPSS 16.

Los datos demográficos y los exámenes de laboratorio fueron expresados con media, mediana, desviación estándar y frecuencia.

Para evaluar la relación entre cada las variables analizadas se utilizó la prueba de Chi cuadrada, Pearson, Fisher exact para análisis predictivo de las variables estudiadas. Además de realizarse el cálculo de Sensibilidad, Especificidad, Valor predictivo negativo-positivo y Exactitud.

Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativa con un nivel de  $p < 0.05$ .

## **RESULTADOS**

Se ingresaron 37 pacientes, fueron eliminados 13 por no tener determinación de inmunofetipo completo al final de la inducción, fueron evaluables 24.

El estudio incluyó 12 hombres y 12 mujeres con edad media de 17 años con rangos de 2 a 59 años, 19 con diagnóstico LAL (14 extirpe B y 5 extirpe T) y 5 con LANL. El análisis de los datos demográficos se muestran en la tabla 1.

Se obtuvo del análisis de la citometría de flujo en la determinación de enfermedad mínima residual una Especificidad del 100%, con un valor predictivo positivo de 1 que apoya el resultado de la especificidad, sin embargo se reportó un valor predictivo negativo de .80, con traducción de que la prueba de citometría de flujo para detección de enfermedad mínima residual tiene un margen de error o falla en la detección del 20%, además de contar con una sensibilidad baja del 42% como una de sus desventajas. Y una exactitud del 83%.

El promedio de los títulos de los marcadores de diferenciación basales y al final de la inducción a la remisión en porcentaje de expresión se muestran en la tabla 2 y 3. Todos los pacientes al final de IR lograron remisión morfológica y clínica.

Al comparar el porcentaje de los diferentes marcadores al final de la inducción con <1% y >1% : 1 paciente con CD34 <1%, 23 con >1% (p 0.043) y de estos 7 presentaron recaída. En el caso de HLA-DR <1% 0 pacientes sin asociación a recaída y >1% 10 pacientes (p 0.004), recaída de 7 pacientes, para CD10 <1% 6 pacientes sin recaída de ninguno y CD10>1% 5 pacientes (p 0.996) y recaída de 4 pacientes, CD19 con <1% de expresión en 8 pacientes y de estos 2 presentaron recaída y >1% 8 pacientes (p 0.590) con recaída de 3 pacientes. Para CD20 con <1% se expresó en 3 pacientes sin asociación a recaída y CD20>1% en 6 pacientes (p 0.171) con recaída de 4 (p 0.171) y CD22 al postratamiento con <1% solo en 2 pacientes, no recayó ninguno y >1% 15 pacientes (p 0.007) con recaída de 5 pacientes. Ver tabla 4.

En el caso de LAL de extirpe T solo la expresión de CD3 se encontró >1% en 2 pacientes (p 1.0) sin asociarse ninguno a recaída, CD 5 <1% en 1 paciente y CD5>1% en 4 pacientes (p 0.657) sin asociación a recaída tanto para <1 o >1%. y CD7 >1% solo 4 pacientes (0.773) también sin asociación a recaída con EMR positiva o negativa. Resultados se muestran en la tabla 4.

En el caso de LANL al término de la IR la expresión de CD13 <1% se expresó solo en 2 pacientes y >1% en 3 pacientes (p 0.258) de los cuales recayeron 2 y CD33 <1% 2 pacientes y >1% 3 pacientes con recaída de 1 (p 0.670) sin embargo ninguno de estos marcadores marcó diferencia estadística. Ver Tabla 4

En el análisis de la expresión de marcadores con EMR positiva y su asociación a recaída, se obtuvo diferencia estadística solo para los marcadores CD34 (p.0001) ya que los 7 pacientes que recayeron expresaron EMR positiva todos, así como para HLA-DR (p 0.0001), en el caso de CD10 con recaída de 4 de los 5 pacientes con EMR positiva (p 0.002) y CD19 ( p.019) y resto de los marcadores de estudio tanto linfoides como mieloides no hubo relación estadística con la presencia de EMR positiva y recaída. Se muestran resultados en la tabla 5.

Así como también se pudo determinar la presencia de 7 marcadores aberrantes distintos solo en LAL como CD13 (16.66%) de los casos, CD33 (12.5%), CD3 (12.5%), CD14 (8.33%), CD11c (8.33%), CD7 (2.40%), CD5 (2.40%) y MPO (2.40%) llegando a expresarse en rangos desde 67 a 14%. Ver tabla 6.

Detectándose que 4 pacientes que presentaron recaída fueron asociados a expresión de marcadores aberrantes como CD13, CD33, CD11c, CD7 y CD5 y de estos 2 eran Leucemias Linfoides de extirpe celular T. Tabla 6

De los pacientes con recaída de la enfermedad fueron LAL, de las cuales 3 fueron de extirpe B de edades 17, 35,45 y 49 años, extirpe T 4 años y LANL de 2 y 18 años. Resultados se muestran en la tabla 7

De los pacientes en recaída se evaluaron factores asociados como la leucocitosis y presencia de componente linfomatoso al diagnóstico, sin embargo no hubo asociación con la presencia de leucocitosis >20,000 ml/mL y recaída ya que ningún paciente la presente al diagnóstico; de las 7 recaídas, 3 (42.85%) presentaron componente linfomatoso al diagnóstico ( ya sea por la presencia de hepatomegalia o esplenomegalia) sin diferencia estadística. Ver tabla 7

En el seguimiento de 1 año , 7 pacientes recayeron con una media de 9 meses (3-12 meses). Las recaídas medulares fueron el 85% (6 pacientes) y el resto extramedulares 1 paciente (únicamente a SNC).

# T A B L A S

**TABLA 1. DATOS BASALES**

VARIABLE	<15 años	>15 años	p
<b>SEXO</b>			0.513
Masculino	8	4	
Femenino	7	5	
<b>Tipo de Leucemia</b>			0.486
Linfoblástica	12	7	
Mieloblástica	3	2	

\*N número de pacientes

\*H/M hombre/mujer

\*L/M Linfoide/Mieloide

**Tabla 2.- Expresión de marcadores basales en Leucemias Agudas Linfoblásticas**

Variable	N	Media%	Mínima%	Máxima%
<b>CD34</b>	24	50.2	1.0	97.0
<b>HLA-DR</b>	19	63.40	8.37	98.53
<b>Linfoide B</b>				
<b>CD19</b>	16	55.85	21.20	96.53
<b>CD20</b>	10	30.8	5.89	65.00
<b>CD22</b>	17	67.82	11.02	95.92
<b>CD10</b>	11	65.4	26.78	92.83
<b>IGMc</b>	17	58.4	11.24	97.00
<b>IGGs</b>	12	72.2	25.85	96.64
<b>Linfoide T</b>				
<b>CD7</b>	4	53.45	19.05	92.08
<b>CD5</b>	6	37.73	21.46	94.77
<b>CD3</b>	5	41.3	22.58	67.04

\*N numero

**TABLA 2.- Expresión de marcadores basales en Leucemias Agudas No Linfoblásticas**

Variable	N	Media%	Mínima%	Máxima%
<b>Mieloide</b>				
CD13	8	53.8	14.68	96.54
CD33	8	58.5	13.98	94.10
CD14	3	49.7	40.56	62.45
CD15	2	89.6	82.36	97.00
MPO	3	52.7	26.54	68.15

\* N numero

**TABLA 3 Expresión de marcadores al finalizar la IR en Leucemias Agudas Linfoblásticas**

Variable	N	Media%	Mínima	Máxima%
CD34	24	7.45	.98	77.63
HLA-DR	18	15.8	1.22	84.54
<b>Linfoide B</b>				
CD19	16	1.04	.04	53.54
CD20	9	9.93	.28	55.04
CD22	17	1.58	.32	80.71
CD10	11	0.86	0.00	65.24
IGMc	17	3.62	.43	92.32
IGGs	11	4.23	2.47	96.56
<b>Linfoide T</b>				
CD7	4	7.99	1.79	24.46
CD5	5	9.01	.71	21.32
CD3	2	4.20	3.52	80.57

\*N numero

**TABLA 3.- Expresión de marcadores al finalizar IR en Leucemias Agudas No Linfoblásticas**

Variable	N	Media%	Mínima%	Máxima%
<b>Mieloide</b>				
CD13	9	3.02	.58	97.31
CD33	7	2.45	.56	85.37
CD14	3	2.18	1.88	55.74
CD15	3	2.71	5.00	68.64
MPO	4	2.24	.51	54.68

\*N numero, MPO Mieloperoxidasa

**Tabla 4 .-EMR al finalizar la QT de Inducción a la remisión.**

CD	n <1%	n >1%	valor de p
CD34	1	23	0.043
HLA-DR Extirpe B	0	18	0.004
CD 10	6	5	0.996
CD 19	8	8	0.590
CD 20	3	6	0.171
CD 22	2	15	0.007
Extirpe T			
CD 3	0	2	1.00
CD 5	1	4	0.657
CD 7	0	4	0.773
MIELOIDES			
CD 13	2	3	0.258
CD 33	2	3	0.670

\*n número de pacientes, <1% y >1% porcentaje de expresión del marcador.

**Tabla 5.- EMR y su asociación a recaída.**

RECAIDA				
Marcador	n	Si	No	p
CD 34 <1%	1	0	1	<b>0.0001</b>
>1	23	7	16	
HLA-DR <1%	0	0	0	<b>0.0001</b>
>1	18	7	11	
CD 10 <1%	6	0	6	<b>0.002</b>
>1	5	4	1	
CD 19 <1%	8	2	6	<b>0.018</b>
>1	8	3	5	
CD 20 <1%	3	0	3	<b>0.119</b>
>1	6	4	2	
CD 22 <1%	2	0	2	<b>0.485</b>
>1	15	5	10	
CD 5 <1%	1	1	0	<b>0.280</b>
>1	4	2	2	
CD 7 <1%	0	0	0	<b>0.348</b>
>1	4	2	2	
CD 13 <1%	1	0	1	<b>0.335</b>
>1	8	2	6	
CD 33 <1%	2	0	2	<b>0.530</b>
>1	5	1	4	
CD 3 <1%	0	0	0	*
>1	2	2	0	

\* No valorable, n numero.



**TABLA 6 Expresión de Marcadores Aberrantes en Leucemias Linfoblásticas agudas**

Variable	N (pacientes)	%
CD13	4	16.66
CD33	3	12.5
CD3	3	12.5
CD14	2	8.33
CD11c	2	8.33
CD7	1	2.40
CD5	1	2.40
MPO	1	2.40

\*N número de pacientes, MPO Mieloperoxidasa

**Tabla 7 .-Pacientes con recaída de acuerdo al tipo de leucemia**

	N	PORCENTAJE	Tiempo de recaída(meses)
<b>TIPO</b>			
<b>Linfoide</b>	5	71.42%	
<b>Mieloide</b>	2	28.57%	
<b>Hepato-esplenomegalia al diagnostico</b>	3	42.85%	
<b>Leucocitos &gt;20,000 al diagnostico</b>	0	0%	
<b>RECAIDA (&lt;12 meses)</b>	7	29.2%	
<b>Medular</b>	6	85.71%	9
<b>Extramedular</b>	1	14.28%	5

\*N número de pacientes

## DISCUSION

Desde un punto de vista clínico, tanto en la Leucemia Linfoblástica Aguda como más recientemente en la Leucemia Mieloblástica Aguda, utilizando protocolos terapéuticos homogéneos se ha podido comprobar que la detección de EMR en determinados momentos del seguimiento se ha relacionado con la supervivencia libre de enfermedad y con la supervivencia global, razones por las cuales en este estudio nuestro objetivo fue observar el porcentaje de expresión de los marcadores de acuerdo a extirpe celular al inicio y al finalizar la Quimioterapia de IR y su asociación a recaída.

Se observó del total de los pacientes analizados que las LAL representaron el 79% y las LANL 21%, recayendo a 1 año el 29.2% un total de 7 pacientes de las cuales el 71% asociadas a LAL y 28% para las LANL, del sexo masculino 4 y 3 femenino.

Analizándose que las recaídas de las LAL todos los pacientes eran mayores de 17 años y en caso de las LANL menores de 18 años, de tal forma que se puede considerar que la edad influye para el riesgo de recaída de acuerdo a extirpe celular.

Al comparar la expresión de EMR positiva o negativa solo se obtuvo diferencia estadística para los marcadores CD34 (p 0.043) así como HLA-DR (p 0.004) y para CD22 (p.007). Observándose que la presencia de EMR positiva se asocio con los 7 pacientes que recayeron en el caso de CD34 y HLA-DR y solo en 5 para CD22. El resto de los marcadores de expresión tanto para LANL como LAL no tuvieron diferencias estadísticas como CD10, CD19, CD20, CD3, CD5, CD7, CD33, CD13 y CD15.

Y en el caso de las LANL expresaron EMR positiva para CD13 >1% en 3 pacientes y CD33>1% 3 pacientes recayendo de estos 2 y 1 paciente respectivamente pero sin diferencia estadística. Considerándose que la presencia de EMR <1% o >1% para los marcadores de extirpe linfóide B si tuvieron significancia estadística, mas no para Linfoblásticas de extirpe T y leucemias mieloblásticas.

De tal forma se pudo evidenciar que la presencia de EMR positiva al finalizar la quimioterapia de IR se asocio a recaída con los marcadores CD34, HLA-DR, CD10 y CD19 solamente y el resto de los marcadores estudiados de acuerdo a extirpe celular no hubo diferencia estadísticamente.

De igual forma se observo la existencia de marcadores aberrantes CD13, CD33, CD11c, CD14, CD5, CD7 y MPO lo cuales se expresaron solo en LAL. Y de estos si hubo asociación de la presencia de CD33 y CD13 como marcadores aberrantes y recaída.

También se pudo conocer el porcentaje de pacientes en recaída en un periodo de tiempo a 1 año con una media de 9 meses, recayeron un 29.16% del total del pacientes tanto en LAL (71%) como LANL (28%) tales recaídas fueron a medula ósea un 85.71% y

extramedular (SNC) el 14.28%. Además reportamos que ningún paciente en recaída tuvo asociación con leucocitosis pero si con la presencia de componente linfomatoso.

Ha de mencionarse que algunos de los pacientes que recayeron tuvieron factores asociados que favorecieron la recaída como el retraso en las Quimioterapias subsecuentes, lo que ocurrió en 3 de los pacientes, esto asociado a la presencia de EMR positiva que incrementa aun más el riesgo de recaídas a corto plazo.

De tal forma la monitorización de la EMR en pacientes puede proveer información sobre la biología de la Leucemia Aguda y la respuesta al tratamiento. La medición de EMR nos podrá permitir la efectividad y la potencia de los esquemas terapéuticos utilizados para inducir remisión en este Centro Médico.

Por lo tanto, como conclusión, la citometría de flujo es un método sumamente útil, es de rápido diagnóstico, presenta un alto índice de sensibilidad equiparable al FISH, y tiene que estar en manos de un operador entrenado para evitar los falsos positivos.

Por lo que probablemente podremos considerar en un futuro inmediato que los dos principales factores de riesgo en un paciente con leucemia aguda serían las alteraciones citogenéticas y la EMR al finalizar la inducción. Sin embargo en nuestro estudio podemos concluir que la medición de la EMR positiva es un predictor de recaída. Aunque la cantidad de la muestra de pacientes no fue suficiente, así como es necesario mencionar que su expresión de acuerdo al número de eventos es decir en expresión logarítmica es predecible de enfermedad residual y que en este estudio se expresó en porcentaje por las limitantes del citómetro de flujo (lectura solo en 2 colores). Sin embargo nos ofreció una visión de que el porcentaje de expresión de algunos marcadores con EMR positiva o negativa si marcaron diferencia con el riesgo de recaída de la enfermedad y probablemente el resto de los marcadores no tuvieron impacto en la recaída porque la cantidad de pacientes fue pequeña en nuestro estudio. Por lo que será necesario más estudios con un grupo de pacientes más amplio o continuidad de este mismo para afirmar el impacto que tiene la EMR con recaídas tempranas.

## **REFERENCIA BIBLIOGRAFICA**

- 1.-Gunter Kerst, Hermann Kreyenberg, et al. Concurrent detection of minimal disease (MRD) in childhood acute lymphoblastic by cytometry and real-time PCR. *British Journal of Haematology*. 2005;128:774-782.
- 2.-López Almaraz R, Raya Sánchez J.M. et al. Estudio de Enfermedad Mínima Residual en Cáncer Infantil. *Oncología*.2004;27(10) 569-578.
- 3.-Campana Dario, Ching Hon Pui. Detection of Minimal Residual Disease in Leukemia; Methodologic Advances and Clinical Significance. *Blood*. Vol 85.No 6. 1995.1416-1434.
- 4.-Couston-Smith Elaine, Sancho Jose et al. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2000;96,8:2691-2696.
- 5.-Buccisano F, Maurillo L, Gattei V, et al. The kinetics of reductions of minimal residual disease impacts on duration of response and survival of patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2006;20:1783-1789.
- 6.-Krampera M, Perbellini O, et al. Methodological approach to minimal residual disease detection by flow cytometry in adult B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*.2003;91:1109-1112.
- 7.-Mark Roberts W, Zeev Estrov, Maia V, et al. Measurement of residual leukaemia during remission in childhood acute lymphoblastic leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 2006;336:5:317-323.
- 8.-Campana Dario. Detection of minimal disease in acute lymphoblast leukemia: the St Jude experience. *Leukemia*. 2001;15:278-279.
- 9.-Cave Helene, Jutte Van Der Werff ten Bosh, et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *The New England Journal of Medicine*.2006;18. 591-598.
- 10.-The kinetics of reduction of minimal residual disease impacts on duration of response and survival of patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2006. Oct 20(10):1783-9.
- 11.-Palacio C. Enfermedad Mínima residual en la leucemia aguda linfoblástica del niño. *Haematologica*. (ed. Esp)2002; 87(suppl):267-9.
- 12.-Prognostic value of minimal residual disease (MRD) in acute myeloid leukemia (AML) with favorable cytogenetics t(8;21) and inv (16). *Leukemia*, 2006, Jan;20(1):87-94.
13. Ciudad J, San Miguel JF, López-Berges MC, et al. Prognostic value of immunophenotypic detection of minimal residual disease (MRD) in acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1999;16:3774-81.
14. Farahat N, Morilla A, Owusu-Ankomah K, et al. Detection of minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia by quantitative flow cytometry. *Brit J Haematol* 1998; 101:158-64.
15. Adriansen HJ, Jacobs BC, Kappers-Klunne MC, Hählen K, Hooijkaas H, van Dongen JJM. Detection of residual disease in AML patients by use of double immunological markers analysis for terminal deoxynucleotidyl transferase and myeloid markers. *Leukemia* 1993; 7:742-81.
16. Campana D, Pui CH. Detection of minimal residual disease in leukemia: methodologic advances and clinical significance. *Blood* 1995; 85:1416-34.
17. Reading CL, Estey EH, Huh YO, et al. Expression of unusual immunophenotype combinations in acute myeloid leukemia. *Blood* 1993; 81:3083-90.

18.-. Valor pronostico de la investigación de EMR en leucemia aguda de novo por medio de citometria de flujo.. Ruiz-Argüelles GJ, Fernández-Lara D, A. Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla, Laboratorios Clínicos de Puebla, Puebla, Hospital Angeles de Interlomas y Hospital Universitario. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, México.

19.- EMR por citometria de flujo en pacientes con LLA al término del tratamiento con el protocolo HGO 2000, actualización del seguimiento. Vargas Reyna L, Brest Aguilera C, López-Guillén I, Lómela Guerrero Abel, Zarate Herrera Leopoldo, Osuna Díaz Antonio. Hospital General de Occidente SSJ, Guadalajara Jal., México del Hospital General de Guadalajara)