



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS
TRABAJADORES DEL ESTADO
CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE" ISSSTE
SERVICIO DE HEMATOLOGÍA

**“LA ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL MEDIDA POR CITOMETRÍA DE
FLUJO Y SU IMPACTO EN LA SOBREVIDA LIBRE DE RECAÍDA EN
PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA DE NOVO”**

TESIS DE POSTGRADO

PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN HEMATOLOGÍA

INVESTIGADOR RESPONSABLE:

DR. CÉSAR NOLASCO CANCINO

INVESTIGADOR ASOCIADO:

DRA. MARTHA ALVARADO IBARRA



MÉXICO, D.F.

REGISTRO: 418.2010

ENERO DE 2011.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dra. Aura Erazo Valle Solís
Subdirectora de Enseñanza e Investigación
CMN "20 de Noviembre"

Dr. Manuel Antonio López Hernández
Jefe de Servicio de Hematología
Profesor Titular del Curso de Hematología
CMN "20 de Noviembre"

Dra. Martha Alvarado Ibarra
Médico Adscrito al servicio de Hematología y
Asesor de Tesis
CMN "20 de Noviembre"

Dr. César Nolasco Cancino
Residente de Hematología
Autor / Tesista
CMN "20 de Noviembre"

INDICE

	Página
Resumen	1
Antecedentes	3
Objetivos	5
Metodología	6
Resultados	8
Discusión	11
Conclusiones	14
Bibliografía	15
Anexos	16 - 22

DEDICATORIA

A mis padres

Por su ejemplo de superación, esfuerzo y constancia.

A Claudia

Por su amor y apoyo incondicional.

A mis maestros

Por instruirme en el camino científico y humanitario de la medicina y hematología.

RESUMEN

Introducción. El tratamiento de la leucemia aguda ha evolucionado en las últimas 3 décadas, permitiendo mayores tasas de remisión completa y sobrevida libre de recaída, se han identificado varios factores de riesgo para la recaída leucémica, uno de estos es la presencia de Enfermedad Mínima Residual (EMR) al finalizar la quimioterapia de inducción a la remisión. Existen 3 métodos para la medición de EMR, la citometría de flujo es una herramienta de diagnóstico accesible en muchos laboratorios. Existe escasa publicación sobre la EMR en nuestro país.

Objetivo. Conocer la incidencia y magnitud de la Enfermedad Mínima Residual determinada por citometría de flujo en pacientes con leucemia aguda de novo tratados con quimioterapia intensiva, así como su relación con la sobrevida libre de recaída.

Material y Métodos. Estudio observacional, longitudinal, prospectivo, comparativo. Se incluyeron pacientes mayores de 14 años y menores de 65 con leucemia aguda de novo, ingresados en el servicio de Hematología del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre del ISSSTE, que recibieron quimioterapia intensiva de acuerdo a los protocolos vigentes en el servicio de hematología. Se realizaron gráficas de inmunofenotipos por citometría de flujo en muestras de médula ósea al diagnóstico y al término de la quimioterapia de inducción a la remisión, seleccionando la población celular de mayor definición para cuantificar la Enfermedad Mínima Residual (EMR), clasificándose como EMR positiva al tener más del 1% de la población celular leucémica estudiada y EMR negativa al tener menos del 1%. Se dio seguimiento a los pacientes hasta documentar recaída leucémica, muerte, o mantenimiento de la remisión completa al término del estudio. Se correlacionaron características clinicopatológicas de los pacientes con la EMR.

Resultados. 66 pacientes con leucemia aguda de novo que recibieron quimioterapia intensiva obtuvieron remisión completa de la enfermedad, 45 de ellos fueron evaluables para EMR. Al término del estudio 29 continuaron en remisión completa de la enfermedad, 9 registraron recaída leucémica y hubo 7 fallecidos. Pacientes con EMR negativa fueron 21 y con EMR positiva 24. Hubo 6 recaídas leucémicas y 2 defunciones en el grupo de EMR negativa, y 3 recaídas y 5 defunciones en el de EMR positiva. Las causas de defunción fueron infecciones o hemorragias en ambos grupos. La incidencia de recaída leucémica fue mayor en el grupo con EMR negativa siendo esta de 31.6% y en el grupo expuesto (EMR positiva) de 15.8%, con un riesgo relativo de 0.5 (95% IC 0.152 a 1.639). En cuanto al seguimiento, al medir la sobrevida libre de recaída leucémica (SLR), en el grupo con EMR positiva la media de SLR fue de 11 meses y en el grupo con EMR negativa la media de SLR fue de 8 meses ($p < 0.168$). Al analizar la presencia de EMR y la sobrevida libre de evento (SLE, recaída o defunción) tuvimos que: en el grupo EMR negativa la media de SLE fue de 16 meses, para el grupo de EMR positiva la media fue de 22 meses ($p < 0.381$).

Conclusiones. No hubo asociación entre la presencia de Enfermedad Mínima Residual positiva, medida por inmunofenotipo, al final de la quimioterapia intensiva (inducción a la remisión) y la incidencia de recaídas leucémicas. No hubo impacto entre la presencia de Enfermedad Mínima Residual positiva y la sobrevida libre de recaída leucémica.

Palabras claves: enfermedad mínima residual, leucemia aguda de novo, citometría de flujo, inmunofenotipo, sobrevida libre de recaída.

ABSTRACT

Introduction. The treatment of Acute Leukemia has evolve in the last three decades, allowing higher complete response y relapsed free survival of the patients, there are several risks factors to develop relapsed disease, one of those are the Minimal Residual Disease (MRD) at the end of de induction remission chemotherapy. Three methods are used to detect MRD, flow cytometry is an accessible diagnostic tool in many laboratories. There are few information of MRD in our contry.

Objetive. To know the incidence and amount of MRD measured with flow cytometry in acute leukemia patients treated with intensive chemotherapy, and the relationship with the relapsed free survival.

Patients and methods. This is an observational, longitudinal, prospective and comparative study. There were included patients from 14 to 65 years old, who were treated in the Hematology service of the Centro Médico Nacional 20 de Noviembre of ISSSTE, with intensive chemotherapy according with service's protocols. Graphs of immunophenotype of samples of bone marrow were drawn, at the diagnosis of disease and at the end of the remission induction treatment, by selecting the leukemia-associated cluster of the graphs, we defined positive MRD if there was more than 1% of the leukemia cells, and negative MRD if there was lower than 1%. Pursuit to the patients occurred until documenting leucemic relapse, death or maintenance of the complete remission at the end of the study. Clinics and pathological characteristics of the patients were correlated with de MRD.

Results. 66 patients with acute leukemia who received intensive chemotherapy achieve complete remission, 45 of them were evaluables to measure MRD. At the end of the study 29 continues in complete remission, 9 relapsed and 7 died. There were 21 patients with negative MRD and 24 with positive MRD. There were 6 relapsed patients and 2 deaths in the negative MRD group, and 3 relapsed patients and 5 deaths in the positive MRD group. Causes of deaths were infections and hemorrhage in both groups. The incidence of leukemic relapse was higher in the negative MRD, counting 31.6% in this group and 15.8% in the exposed (positive MRD) group, HR 0.5 (95% CI 0.152 – 1.639). About follow up, when measuring the relapsed free survival (RFS) in the positive MRD group, the median RFS was of 11 months and in the negative MRD group the median RFS was of 8 months ($p < 0.168$). When analyzing the presence of MRD and event free survival (EFS, relapse or death) we had a median EFS of 16 months in the negative MRD group and a median EFS of 22 months in the positive MRD ($p < 0.381$).

Conclusions. There was no association between the presence of positive minimal residual disease (MRD), measured by flow cytometry, at the end of intensive chemotherapy (remission induction) and the incidence of leukemic relapses. There was no impact of positive MRD over relapsed free survival.

Key words: minimal residual disease, acute leukemia, flow cytometry, immunophenotipe, relapsed free survival.

1. ANTECEDENTES.

En el tratamiento de la Leucemia Aguda (LA) se considera la remisión completa si al final de la quimioterapia de inducción, la cantidad de blastos en médula ósea es menor al 5% del total (determinado morfológicamente por microscopía óptica). Sin embargo, es posible que aún con este criterio, existan células leucémicas residuales con potencial para generar una recaída¹.

En las últimas 3 décadas se han desarrollado métodos para determinar la cantidad de células leucémicas residuales en pacientes considerados en remisión morfológica, esto es la medición de una enfermedad mínima residual (EMR). Actualmente destacan tres: la citometría de flujo, RT-PCR para el gen de inmunoglobulinas o receptor de células T y RT-PCR para transcritos de fusión^{1,2}. Cada uno tiene ventajas y desventajas, sin embargo el método más asequible en la mayoría de laboratorios es la citometría de flujo, permitiendo la detección de una célula leucémica en 1,000 a 10,000 células normales¹. Los marcadores inmunológicos que proporcionan el mayor porcentaje de detección (cuantitativo) de EMR en las leucemias agudas, son, para LLA-B los siguientes: CD19, CD34, CD10, y TdT, ofreciendo de un 30 a 50%, los marcadores para LLA-T son TdT y CD3 proporcionando de un 90 a 95% y para LMA son CD33, CD34, CD117 y CD13 con un 20 a 40% de detección¹. En leucemias agudas la citometría de flujo permite la detección de células con fenotipo anormal en el 98% de las linfoblásticas y en 93% de las mieloblásticas³, con una sensibilidad que va desde 1 en 1,000 hasta 1 en 10,000 (1×10^{-3} a 1×10^{-4}) en los citómetros de flujo de 4 colores y hasta 1 en 100,000 (1×10^{-5}) en los citómetros de 8 y 10 colores³.

Diversos trabajos de análisis de EMR con citometría de flujo ponen de manifiesto que el riesgo de recidiva en los pacientes con EMR mayor o igual a 1×10^{-2} (1 célula por cada 100) al finalizar la quimioterapia de inducción es superior al 60% en el curso de los tres años siguientes, frente a menos del 15% en los que no se detecta EMR⁴.

Significado pronóstico de la EMR medida por Citometría de Flujo en Leucemia Linfoblástica Aguda: En LLA, muchos estudios han demostrado la importancia pronóstica de la EMR detectada por citometría de flujo en niños⁵. De 1,016 pacientes estudiados con citometría de flujo para EMR, 28.6% tuvieron EMR al final de la inducción, y de éstos, casi todos los pacientes con el transcrito BCR-ABL tuvieron altos niveles de EMR al concluir la inducción a la remisión, solo el 8.4% de pacientes con TEL-AML1 tuvieron EMR mayor a 0.01%⁵. En otro estudio, los pacientes con EMR de 1% o más al final de la quimioterapia de inducción a la remisión o aquellos con EMR de 0.1% durante la quimioterapia de continuación tienen un riesgo alto de recaída⁶. Otra investigación mostró que la determinación de EMR obtenida al día 29 fue el indicador pronóstico más fuerte para recaídas, superior a otros parámetros pronósticos en niños con LLA (EMR predijo recaídas tempranas y tardías), de 1,219 pacientes se detectaron 58 pacientes (4.8%) con EMR mayor de 0.01% y de estos, aquellos con EMR positiva tuvieron una sobrevida libre de evento de 43% (+- 7) a los 5 años, comparados con 83% (+- 1) en aquellos con EMR negativa ($p < 0.0001$)⁷.

Significado pronóstico de la EMR medida por Citometría de Flujo en Leucemia Mieloide Aguda: Estudios recientes de adultos con LMA demostraron la utilidad clínica de monitorizar la EMR⁸, de 100 pacientes con LMA en remisión completa posterior a quimioterapia intensiva, de inducción y post consolidación, se encontró que quienes negativizan EMR al final de la consolidación tienen mayor tasa de recaída que los que negativizan post quimioterapia de inducción¹³. En niños con LAM, un estudio reveló que de 252 niños, la presencia de EMR en 41 de ellos, se relacionó con una elevación de 4.8 veces el riesgo de recaída⁹. En otro estudio (St. Jude Children's Research Hospital) mediante citometría de flujo se encontró que de 46 pacientes con LAM de novo, posterior a la quimioterapia de inducción a la remisión la sobrevida a 2 años fue de 33% con una EMR de 0.1% o mayor, en comparación de 72% de quienes tuvieron niveles menores o indetectables de EMR¹⁰. Un estudio más de EMR en 2006, sobre LAM en 150 niños reveló que la detección de ésta se asoció significativamente con una disminución de sobrevida libre de evento a los 3 años (con un incremento de más de dos veces el riesgo de recaída)¹¹.

De todos los trabajos anteriormente citados, existe controversia en cuanto al punto de corte para tomar una enfermedad mínima residual como positiva, variando en 0.01, 0.1 y 1% de células leucémicas, así también como el tiempo al cual es conveniente medir los efectos de quimioterapia intensiva, existiendo trabajos que toman la EMR al final de la inducción, otros al final de la intensificación o consolidación y hasta quienes proponen una EMR "tardía" (late minimal residual disease)⁷. En este trabajo, tomamos como punto de corte para clasificar como positiva una determinación de EMR como 1% del basal de citometría de flujo cuantitativa.

En el trabajo de tesis realizado sobre la EMR realizado en este Centro Médico Nacional en el 2008 (Ortiz M.)¹² se observó que varios marcadores inmunológicos de EMR se asocian a recaídas de LLA (CD34, HLA-DR, CD22) y LMA (CD13 y CD33). En el estudio del Hospital General de Occidente de Guadalajara¹³ se evaluó la EMR en médula ósea por citometría de flujo en 24 pacientes pediátricos con LLA, grupo A con 0% de EMR, grupo B menor a 1%, grupo C mayor a 1%. Para el grupo A hubo recaída en 1 de 8 pacientes (12.5%) al mes 12 (mediana de seguimiento 9 meses -2 a 45-). En el grupo B recayó 1 de 8 pacientes (12.5%) al mes 2 (mediana de seguimiento 7 meses -1 a 32-). En el grupo C recayó 1 de 8 pacientes (12.5%) en el mes 3 (mediana de seguimiento 21 meses).¹⁷ En otro estudio, Arguelles y cols¹⁴, analizaron la presencia de EMR en 93 pacientes con leucemia aguda durante 9 años. La positividad de EMR se estableció en 2% por citometría de flujo. La tasa de recaídas para estos grupos fue de 17% para LLA con EMR positiva y de 8% en LMA con EMR positiva, contrastando con una tasa de recaída de 0% para pacientes con ausencia de EMR. La sobrevida global fue de 69, 83 y 98% respectivamente a los 7 años.

2. OBJETIVOS.

Objetivo general:

Conocer la presencia y la magnitud de la Enfermedad Mínima Residual mediante la Citometría de Flujo en pacientes con Leucemia Aguda de Novo que han recibido quimioterapia intensiva y su correlación con el tiempo de supervivencia libre de recaída de la enfermedad.

Objetivos específicos:

Determinar la frecuencia de Enfermedad Mínima Residual por Citometría de Flujo en la población de estudio.

Conocer si existe relación entre la presencia de Enfermedad Mínima Residual y factores de mal pronóstico para la recaída leucémica.

Conocer el tiempo promedio de recaída de acuerdo a la cantidad de Enfermedad Mínima Residual posterior a la quimioterapia de inducción.

3. PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS.

Descripción del estudio:

El estudio se realizó en el periodo comprendido del 01 noviembre 2007 al 30 de noviembre de 2010 con pacientes ingresados al servicio de Hematología del CMN 20 de Noviembre del ISSSTE, con diagnóstico de Leucemia Aguda de Novo que recibieron esquemas de quimioterapia vigentes en el servicio conocidos como LAL6, LAL10, LANOL y LAP (detallados en cuanto a fármacos, dosis y calendario de aplicación en los apéndices).

Los criterios de inclusión fueron: pacientes mayores de 14 años de edad y menores de 65 años, de sexo masculino o femenino con diagnóstico de Leucemia Aguda de novo, candidatos a recibir quimioterapia intensiva de acuerdo a los protocolos vigentes en el servicio de Hematología. Los criterios de exclusión fueron los pacientes que hubiesen recibido tratamiento previo a su llegada al servicio y con leucemias agudas secundarias. Los criterios de eliminación fueron: pacientes que no lograran remisión completa posterior a la quimioterapia de inducción o fallecidos durante esta misma, así también los pacientes que habiendo logrado remisión completa morfoológica al final de la quimioterapia de inducción, no se les hubiera realizado estudio de citometría de flujo al día 28 de la quimioterapia.

Se realizó estudio de inmunofenotipo en muestra de médula ósea al momento de diagnóstico de la enfermedad, con un volumen de 5 ml con jeringa heparinizada. Se procesó en el citómetro de flujo FACScallibur de 4 colores (procesándose en la práctica 3 colores, identificados por las siglas PE –phycoerythrin-, FICT –isothiocyanato fluorescein- y perCP –peridinin chlorophyll-) con múltiples marcadores de anticuerpos con sus correspondientes fluorocromos, se analizaron los datos con el programa Cell Quest ® Flow Cytometer para conocer las características de inmunofenotipo de las poblaciones celulares. Se realizó nuevamente determinación de inmunofenotipo con muestra de médula ósea tomada al día 28 de QT. La forma de hacer seguimiento de las poblaciones celulares leucémicas fue con la comparación de las gráficas del inmunofenotipo de diagnóstico y las gráficas del inmunofenotipo al día 28 de la QT, seleccionando la ventana y la combinación de fluorocromos que mejor delimitaran la población celular leucémica en ambos reportes, y con ello verificar la cantidad de células medidas en total y en porcentaje.

Se recolectaron datos clínicos y de laboratorio de cada caso y se dio seguimiento de los pacientes hasta la determinación de tres eventos de importancia: la recaída leucémica, mantenimiento de la remisión completa al término del seguimiento o la defunción posterior a la obtención de la remisión completa. Se consideraron (de acuerdo a propuestas en la literatura mundial) tres niveles de Enfermedad Mínima Residual, menor a 1%, de 1 a 5% y más del 6%, cuantificando los eventos celulares asociados a la población leucémica (mediante los marcadores inmunológicos o CDs) detectados al diagnóstico de leucemia aguda. Se determinó la frecuencia de EMR en la población estudiada, y su asociación a otras variables, como las características clínicas y laboratoriales de las leucemias agudas, así como su asociación a eventos de recaída, remisión completa y defunción.

Aún con los avances en el diseño de esquemas de quimioterapia para el tratamiento de leucemias agudas, un gran porcentaje de pacientes recae a pesar de haberse logrado la remisión completa de la enfermedad, por lo que el objetivo de la presente investigación fue conocer la frecuencia de la EMR en nuestro universo de pacientes y su asociación a la recaída leucémica así como su impacto en la sobrevida libre de recaída. Se realizó un estudio prospectivo, observacional, longitudinal y comparativo.

Análisis estadístico:

Todas las variables de estudio fueron analizadas a través del programa de análisis estadístico PASW (SPSS) versión 18 (Polar Engineering and Consulting, July 2009). Para el análisis descriptivo utilizamos medidas absolutas, relativas, de tendencia central y de dispersión. Para el análisis de diferencias, utilizamos ANOVA y χ^2 . Para el análisis de sobrevida libre de recaída leucémica utilizamos Kaplan-Meier. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con un valor menor de $p < 0.05$.

Definición de eventos y variables:

Remisión completa: ausencia de datos clínicos y hematológicos atribuibles a la enfermedad, sin evidencia de infiltración a otros órganos y menos de 5% de blastos en médula ósea, con hematopoyesis morfológicamente normal.

Falla a la inducción: más del 5% de blastos en médula ósea al concluir la quimioterapia de inducción a la remisión.

Recaída mieloide: presencia de más de 5% de blastos en médula ósea, una vez obtenida la remisión completa de la enfermedad.

Recaída a SNC: presencia de blastos en el LCR en estudio histopatológico, después de haber obtenido remisión completa de la enfermedad.

Recaída extramieloide: infiltración a otros órganos, distintos al SNC.

Muerte en inducción: defunción luego de haber iniciado la quimioterapia de inducción y antes de poder evaluar respuesta al día 28.

Muerte posremisión: defunción luego de haberse alcanzado la remisión completa.

Sobrevida libre de recaída: tiempo entre la remisión completa y la recaída leucémica.

Enfermedad Mínima Residual positiva: coexpresión de 1% (o más) de marcadores de inmunofenotipo que definieron la población leucémica al diagnóstico.

Enfermedad Mínima Residual negativa: coexpresión de menos del 1% de los marcadores de inmunofenotipo que definieron la población leucémica al diagnóstico.

Cariotipo: estudio citogenético de muestra de médula ósea ó de sangre periférica para determinar alteraciones cromosomales en células leucémicas.

PCR: estudio de transcritos genéticos mediante la tecnología de reacción en cadena de la polimerasa (tiempo real).

4. RESULTADOS.

Ingresaron 83 pacientes con diagnóstico de Leucemia Aguda de Novo al servicio de Hematología Adultos de este CMN en el periodo comprendido de noviembre 2007 a noviembre 2010, la media de edad fue 38 años. De estos, 32 pacientes fueron mujeres (38.6%) y 51 hombres (61.4%). De los 83 pacientes que ingresaron al estudio, 66 lograron remisión completa, 9 hicieron falla al tratamiento y 8 tuvieron muerte durante el tratamiento de inducción a la remisión (se eliminaron 17 pacientes por estas dos últimas causas). De los 66 que hicieron remisión completa al finalizar la quimioterapia de inducción, 21 pacientes más fueron eliminados por no contar con estudio de inmunofenotipo apropiado al día 28 de quimioterapia, por lo que el grupo evaluable para el análisis de enfermedad mínima residual (EMR) fue de 45 pacientes, constituyendo el 54% de la población inicial.

Pacientes evaluables para EMR:

De los pacientes evaluables para EMR (19 mujeres y 26 hombres), 29 continuaron en remisión completa de la enfermedad al cierre del estudio, 9 registraron recaída leucémica y hubo 7 fallecidos. Específicamente por sexo, en cuanto a remisión, recaída o defunción, no se observó diferencia significativa entre hombres y mujeres ($p < 0.3$).

Por tipo de leucemia, fueron 27 pacientes en Leucemia Aguda Linfoblástica o LAL (18 mantuvieron remisión, 7 recaídos y 2 defunciones), 13 en Leucemia Aguda Mieloide o LAM (8 en remisión, 2 recaídos y 3 defunciones) y 5 pacientes en Leucemia Aguda Bifenotípica (con 3 en remisión y 2 defunciones, no hubo recaídos). De los subtipos de leucemia registrados: para la M0 hubo un paciente, M2 tres, M3 cuatro, M4 cuatro, M5 uno, pro B cuatro, B común seis, pre B once, B madura cuatro, estirpe T dos y bifenotípicas (por clasificación de EGIL) cinco.

Respecto a las características clínicas al diagnóstico de leucemia, se obtuvo la siguiente información: media de hepatomegalia 0.89 cm, esplenomegalia 0.56 cm, sin infiltración leucémica 35 pacientes, infiltración a ganglios 4, a mediastino 2, a SNC 2 y a retina 2. La distribución respecto a la quimioterapia recibida fue: LAL6 seis pacientes (13.3%), LAL10 veintidós (48.9%), LANOL trece (28.9%), LAP cuatro (8.9%).

Para fines comparativos, las siguientes características clínicas se definieron agrupando a los pacientes de acuerdo al evento final del estudio, teniendo tres grupos: remisión completa 29 pacientes, recaída leucémica 9 y defunción 7. De los pacientes que mantuvieron la remisión completa al finalizar el seguimiento (noviembre 2010), la media de leucocitos fue de $25,000 \times \text{mm}^3$, el hematocrito en 24%, plaquetas en $80,000 \times \text{mm}^3$, blastos en sangre periférica (BSP) 44% y en médula ósea (BMO) 77%. De los pacientes que sufrieron recaída leucémica se tuvo que: la media de los leucocitos al diagnóstico fue $144,000 \times \text{mm}^3$, el hematocrito 27%, plaquetas $87,000 \times \text{mm}^3$, BSP 33% y BMO 77%. En los pacientes que tuvieron defunción los datos fueron: media de leucocitos al diagnóstico $9,000 \times \text{mm}^3$, hematocrito 22%, plaquetas $107,000 \times \text{mm}^3$, BSP 32% y BMO 47%. Al comparar estos tres grupos (remisión, recaída y defunción) mediante tablas de contingencia, se obtuvieron valores de p siguientes: para leucocitos $p < 0.02$, hematocrito $p < 0.1$, plaquetas $p < 0.8$, blastos SP $p < 0.4$ y blastos MO $p < 0.007$.

En cuanto a los estudios de extensión, del cariotipo tuvimos que: 46XX dos pacientes, t(1;16) (q21;q24) uno, t(15;17) uno, sin material para estudio fueron 28, no reportados fueron 13. Del PCR tuvimos que: inv 16 (p13;q22) CBFB (16q22) MYH11 (16p13) hubo uno, panel inhibido uno, negativo a traslocaciones fueron 7, no reportados 36.

Con relación a la medición de la **Enfermedad Mínima Residual** por inmunofenotipo, se ubicaron los pacientes en tres grupos consecutivos: EMR menor al 1%, de 1 a 5% y de 6% o más. Siendo 45 en total. En el primer grupo hubo 21 pacientes (46%), en el segundo fueron 13 pacientes (28.8%) y en el tercero hubo 11 pacientes (24.4%). Se comparó la cantidad de leucocitos iniciales con la EMR, obteniéndose los siguientes datos: en el grupo EMR <1% la media de leucocitos al diagnóstico fue $50,413 \times \text{mm}^3$, para el grupo de EMR 1-5% la media de leucocitos fue $50,046 \times \text{mm}^3$ y del grupo con EMR >6% fue de $35,418 \times \text{mm}^3$. Al buscar la relación entre leucocitos iniciales y EMR, se comparó con una tabla de contingencias (χ^2) estas dos variables, con una correlación de 1.52, obteniéndose un valor de $p < 0.9$. Así también se comparó la edad versus la EMR, obteniéndose que en el grupo de EMR <1% la media de edad fue de 37 años, en el grupo EMR 1-5% la media fue de 38 años y para EMR >6% la media fue 45 años, la correlación fue de 1.39, el valor $p < 0.4$. Respecto a el sexo versus EMR tuvimos los siguientes datos: en EMR <1% hubo 7 mujeres y 14 hombres, para EMR 1-5% hubo 6 mujeres y 7 hombres y para EMR >6% hubo 6 mujeres y 5 hombres, la comparación de estos grupos arrojó un valor de $p < 0.2$.

También se correlacionó la incidencia de EMR según el tipo de leucemia, encontrándose los siguientes datos: en el grupo EMR <1% hubo 13 LAL, 6 LAM y 2 bifenotípicas, en el grupo EMR 1-5% hubo 8 LAL, 4 LAM y 1 bifenotípica y en el grupo de EMR >6% hubo 6 LAL, 3 LAM y 2 bifenotípicas, con una correlación de 1.62 (p<0.5).

Al correlacionar los factores clínicos pronósticos iniciales con la EMR, no se encontró diferencia significativa entre los grupos, obsérvese la siguiente tabla:

Tabla 1. Diferencias entre factores paraclínicos hematológicos y niveles de Enfermedad Mínima Residual.

Factores pronósticos	EMR <1%	EMR 1-5%	EMR >6%	Valor de "p"
Media de hematocrito	24 %	27 %	22 %	< 0.079
Media de plaquetas	78,809 x mm ³	122,153 x mm ³	56,818 x mm ³	< 0.228
Media de blastos SP	43.24 %	39.08 %	35.27 %	< 0.76
Media de blastos MO	75.38 %	72.23 %	67.27 %	< 0.67

SP = sangre periférica. MO = médula ósea.

En la valoración de la estirpe leucémica versus EMR no hubo diferencia significativa en los grupos (p < 0.1). Se comparó el número de blastos al día 28 con los grupos de EMR, obtuyéndose lo siguiente: tanto para el grupo de EMR >1% y EMR de 1 a 5%, la media de blastos al día 28 fue 1.6, para el grupo de más de 6% de EMR fue de 0.7 (p < 0.12). No hubo utilidad en la información de los blastos al día 14 ya que de los 45 pacientes solo se reportaron 8 pacientes con esta medición y de 37 se desconoce su cifra.

En cuanto a la comparación de la EMR y la variable "evento" (con especial interés en la incidencia de recaída leucémica) se obtuvo la siguiente información:

Tabla 2. Diferencias entre niveles de Enfermedad Mínima Residual y eventos (remisión, recaída, defunción).

Grupo	Remisión	Recaída	Defunción
EMR < 1%	13	6	2
EMR 1-5%	9	2	2
EMR >6%	7	1	3
Valor de p	0.56	0.50	0.80

Se determinó la asociación de la EMR con la recaída leucémica mediante una tabla de contingencia de 2 x 2, tomándose como EMR positiva de 1% o mayor (7 pacientes con defunción posterior a la remisión completa se consideraron no evaluables):

Tabla 3. Asociación de niveles Enfermedad Mínima Residual y la recaída leucémica:

		EVENTO (RECAIDA LEUCEMICA)		TOTAL
		SI	NO	
EXPOSICION	EMR POSITIVA (> 1%)	3	16	19
	EMR NEGATIVA (< 1%)	6	13	19
TOTAL		9	29	38 (n)

Incidencia en el grupo de expuestos = 0.158.
 Incidencia en el grupo de no expuestos = 0.316.
 Riesgo relativo = 0.5
 $X^2 = 1.31$. p < 0.252.
 IC 95% = 0.152 a 1.639.

Sensibilidad: 0.158
 Especificidad: 0.684
 VPP: 0.333
 VPN: 0.448

La incidencia de recaída leucémica fue mayor en el grupo con EMR negativa (menor al 1%) siendo esta de 31.6% y en el grupo expuesto de 15.8%, con un riesgo relativo de 0.5 (95% IC 0.152 a 1.639).

En cuanto al seguimiento, al medir la sobrevida libre de recaída leucémica (SLR), en el grupo con EMR >1% (EMR positiva) la media de SLR fue de 11 meses y en el grupo con EMR <1% (EMR negativa) la media de SLR fue de 8 meses. Con un valor de $p < 0.168$.

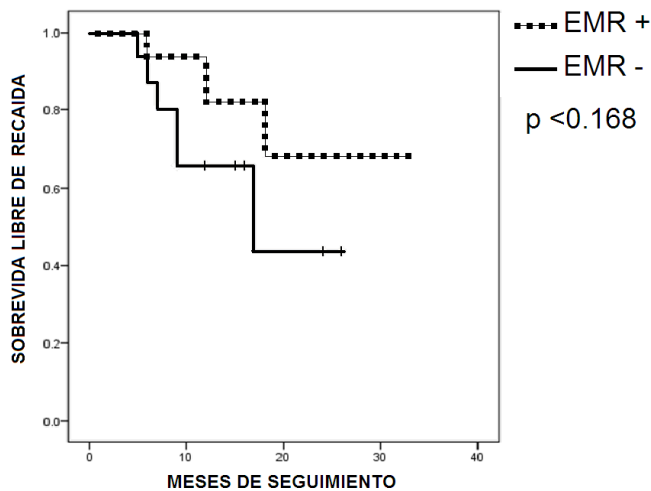


Figura 1. Sobrevida libre de recaída en pacientes con Leucemia Aguda de Novo.

Al analizar la presencia de EMR y la sobrevida libre de evento (SLE, recaída o defunción) tuvimos que: en el grupo EMR <1% (EMR negativa) la media de SLE fue de 16 meses, para el grupo de EMR >1% (EMR positiva) la media fue de 22 meses. La comparación de los grupos obtuvo una $p < 0.381$.

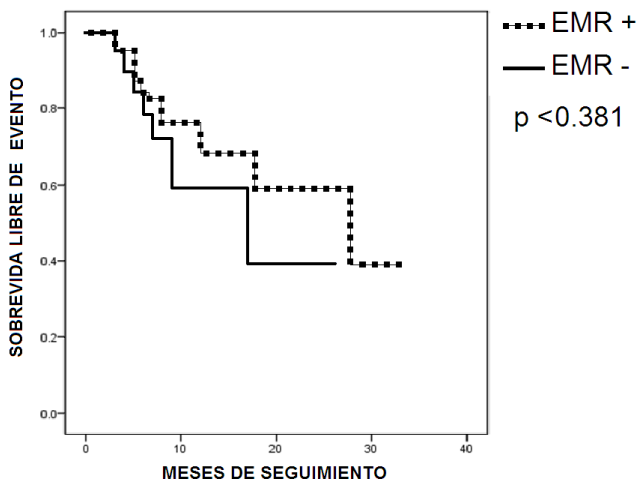


Figura 2. Sobrevida libre de evento en pacientes con LA de Novo.

5. DISCUSIÓN.

De acuerdo con la literatura mundial, los métodos para la detección de Enfermedad Mínima Residual, varían en cuanto a sensibilidad, siendo la citometría de flujo la tecnología mas disponible en laboratorios especializados. Según la cantidad de fluorocromos utilizados y el número de “eventos” analizados, puede aumentarse la sensibilidad de éste método diagnóstico de 1×10^{-4} hasta 1×10^{-5} células, es decir una célula en 100,000, usando los citómetros de flujo más modernos de 12 colores (fluorocromos)¹⁵. Esta factibilidad de la citometría de flujo la hace un método accesible para la evaluación y monitoreo de la respuesta al tratamiento en varias hemopatías, dentro de las cuales destacan las leucemias y los linfomas. Sin embargo, esta técnica diagnóstica requiere el conocimiento de la expresión normal y patológica de marcadores fenotípicos en las células sanguíneas y habilidad en el manejo de muestras celulares. Estos dos últimos requerimientos hacen del inmunofenotipo un método poco “estandarizable”.

El número de eventos “adquiridos” en el sistema de fluidos del citómetro de flujo va desde 1 hasta poco más de 100,000 en los más recientes¹⁵. Es importante en la valoración de la EMR la adquisición de un número de eventos **similiar** (idealmente igual) a los adquiridos en el inmunofenotipo diagnóstico y así mismo la localización de una ventana o “gate” en la misma zona donde se encontraron las células leucémicas al diagnóstico. Variar estas características, como puede intuirse, se refleja en disminución de la exactitud al estudiar poblaciones celulares residuales. Este tipo de precauciones se encuentra referida en escasas publicaciones sobre el estudio de EMR en leucemias agudas y de hecho, muy poca literatura describe la técnica “paso a paso” para el profesional involucrado en la medición de células leucémicas residuales^{16, 17, 18}.

El concepto de EMR parece no estar suficientemente delimitado, proponiéndose en la revisión europea de los métodos para EMR la terminología y significado para “complete MRD response, MRD persistence y MRD reappearance”¹⁵. Actualmente continúa usándose para muchas hemopatías malignas indistintamente, sin embargo en el estudio de leucemias agudas éste hace referencia a la medición de poblaciones celulares (asociadas a leucemia) específicas en un período de tiempo específico, es decir seguimiento de una población celular a intervalos de tiempo definidos en la postquimioterapia. En el presente trabajo se intentó con máximo esfuerzo, seguir los lineamientos técnicos en cuanto a eventos adquiridos, ventanas de selección y combinación de fluorocromos de mayor sensibilidad en la detección de células leucémicas.

De los hallazgos en nuestro estudio, resalta la asociación entre la cantidad de leucocitos al diagnóstico y la recaída. El grupo que mantuvo la remisión completa de la enfermedad al finalizar el seguimiento, tuvo una media de 25,000 leucocitos, mientras que el grupo que presentó recaída leucémica tuvo una media de 144,000 leucocitos. Así también el grupo que presentó defunción posterior a la obtención de la remisión completa, tuvo la cantidad de leucocitos más baja al diagnóstico, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.02$). La cantidad de leucocitos al diagnóstico, es un factor pronóstico ya conocido y validado por múltiples estudios en la literatura mundial de las últimas décadas.

Al analizar la relación de factores paraclínicos hematológicos con la EMR, se observó que sólo el hematocrito parece estar relacionado con ésta ($p < 0.079$), teniendo los demás parámetros de laboratorio diferencias que no son estadísticamente significativas.

Otro hallazgo que destaca en este estudio, es la asociación entre los blastos en médula ósea al diagnóstico y la incidencia de defunción postquimioterapia. Habiendo una media de 77% de blastos medulares en los grupos que presentaron remisión y recaída y 47% en el grupo que presentó defunción (asociada a infección y hemorragia), esta diferencia tuvo también significancia estadística ($p < 0.007$). Puede interpretarse que a menor carga tumoral, la quimioterapia intensiva puede asociarse a mayor incidencia en complicaciones infecciosas y/o hemorrágicas.

Para la evaluación del objetivo primario de este estudio, de acuerdo a nuestros hallazgos, con el número de pacientes evaluados y los puntos de corte descritos para EMR, la presencia de Enfermedad Mínima Residual positiva medida por inmunofenotipo, al final de la quimioterapia de inducción a la remisión, no se asoció a un incremento en la incidencia de recaídas leucémica siendo el punto de corte para comparar grupos de pacientes con EMR y sin ella, de un uno por ciento (1%). Al analizar la tabla 3, observamos que la incidencia de recaídas leucémicas es mayor en el grupo no expuesto al factor de riesgo (con EMR $< 1\%$), y el riesgo relativo para desarrollar recaída leucémica teniendo EMR $> 1\%$ es de 0.5, esto de ninguna manera quiere decir que tener células leucémicas

al final de la QT de inducción a la remisión “protege” para una eventual recaída, ya que la diferencia entre ambos grupos no es estadísticamente significativa. Además al observar el intervalo de confianza resulta que transcurre la unidad, por lo que el tener una EMR positiva no protege ni predispone para el evento de desenlace.

Así también observamos en las curvas de sobrevida libre de recaída y las curvas de sobrevida libre de evento que el grupo con el factor de riesgo estudiado (EMR >1%) tuvo mayor SLR y SLE. Nuevamente este resultado parece estar en contra de toda lógica, ya que según las curvas, quien tiene mayor cantidad de células leucémicas al finalizar la quimioterapia de inducción, tendrá menor probabilidad de recaída o defunción. Sin embargo la diferencia de estos dos grupos no es estadísticamente significativa y puede atribuirse al azar, por lo que el nivel de EMR no hizo diferencia en la sobrevida (SLR y SLE).

Estos resultados contrastan con la literatura publicada de múltiples centros oncohematológicos a nivel mundial ^{4, 8, 19, 20} en los que se ha corroborado el valor de la medición de EMR por citometría de flujo como factor pronóstico de recaída leucémica. La explicación a este resultado recae en varios factores:

1. El número analizado de pacientes en este estudio es relativamente pequeño, existiendo publicaciones con series de más de 100 pacientes hasta 1,219.
2. La cantidad de fluorocromos utilizados es baja, siendo de 4 para el citómetro de este CMN (FACs Scalibur de Cell Quest), existiendo solo dos publicaciones ^{16, 20} sobre medición de EMR con esta cantidad de fluorocromos, la mayoría de trabajos hablan de 6 o más colores, con una sensibilidad de 0.01%. Este factor está relacionado al concepto de “inmunofenotipo asociado a leucemia” que en otras palabras quiere decir, a mayor combinación de fluorocromos que definen una población leucémica, mayor sensibilidad y especificidad tendrá su seguimiento.
3. La viabilidad de muestras tomadas al día 28 de la quimioterapia, ya que no siendo un parámetro medido en nuestro estudio puede tener influencia al procesarse muestras con cierto grado de apoptosis y desintegración celular, que no reflejen la cantidad real de blastos postquimioterapia, reportándose un nivel de blastos menor y por consiguiente EMR negativa. En poca literatura se especifica que el procesamiento de la muestra para EMR debe transcurrir en las primeras 24 horas de haberse tomado.
4. La “rutina” metodológica utilizada en el sistema de cómputo. Varias publicaciones de medición de EMR por citometría de flujo ^{1, 16, 18}, apuntan a que es mejor utilizar ventanas curvas (redondas) que poligonales para poblaciones celulares agrupadas en un clúster y, en caso de poblaciones celulares no estrechamente agrupadas, es mejor utilizar ventanas poligonales que cuadradas, esto con el fin de reproducir “exactamente” el campo usado al momento de diagnóstico, abarcando una misma área de las gráficas iniciales (gating). Es de notar que precisamente por este último factor, una gran cantidad de pacientes con leucemia aguda de novo que ingresaron para el estudio, tuvo que ser eliminado, al tener gráficas de inmunofenotipos de EMR no concordantes con las de diagnóstico, perdiéndose así valiosa información sobre la incidencia de EMR y su valor pronóstico en la recaída leucémica. Un criterio similar se usó respecto al número de eventos reportados en las gráficas de EMR, siendo que con menos de 5,000 eventos los pacientes fueron catalogados como no evaluables.
5. El nivel de sensibilidad elegido en este estudio para la clasificación de EMR como positiva fue de 1%, ya que este punto de corte es el más aceptado de acuerdo a las publicaciones, sin embargo algunos trabajos de investigación ubican la EMR menor a 0.1% asociada a mayor sobrevida libre de recaída leucémica. En nuestro caso, la realización de ventanas en los gráficos de inmunofenotipo no cumplía con la exactitud necesaria para llevar la detección de EMR a ese nivel (menor a 0.1%).

El trabajo previamente realizado en el CMN 20 Noviembre del ISSSTE (Ortiz, M)¹² sobre enfermedad mínima residual en leucemias agudas medida por inmunofenotipo, se encontró una relación entre la EMR y la sobrevida libre de recaída, destacando varios marcadores asociados a recaídas de LLA (CD34, HLA-DR, CD22) y de LMA (CD13 y CD33), sin embargo de ese estudio se pueden distinguir varios aspectos. Se realizó un seguimiento minucioso de marcadores de CD (clúster differentiation) en forma individual, no bajo el concepto de inmunofenotipo asociado a

leucemia, que según nuestra bibliografía, requiere de una combinación de marcadores al identificar células leucémicas, lo que aumenta la probabilidad de su detección al seguimiento postquimioterapia^{1, 18}.

Una limitante más de nuestro estudio, es que otros factores pronósticos ya conocidos por su asociación con la sobrevida libre de recaída y global, como lo son las aberraciones genéticas detectadas por cariotipo y la expresión de oncogenes medibles por PCR, no pudieron ser evaluados por la escasa información que se pudo coleccionar respecto de ellos. Factores que explican esto son: la viabilidad de las muestras de médula ósea o de sangre periférica, siendo la mayoría de reportes de citogenética “sin material para estudio” o en el caso de PCR “muestra inhibida”. No se tiene información sobre el tiempo transcurrido entre la toma y el análisis. Otro factor fue la escasas de muestra al día 28 de quimioterapia, es decir adquisición de material suficiente para inmunofenotipo de seguimiento de EMR, pero insuficiente para otros estudios de extensión.

En el presente estudio, se pudo conocer la incidencia de la EMR medida por citometría de flujo en los pacientes de leucemia aguda de novo que recibieron quimioterapia intensiva y la relación que esta guarda con los eventos de recaída leucémica, **no** hubo asociación entre los niveles de EMR y la incidencia de recaídas leucémicas. Al comparar los grupos de EMR positiva y negativa con el desarrollo de recaída leucémica las variables mostraron una X² de 1.31 (valor inferior al 3.84 esperado para una distribución con grado de libertad 1) que traduce independencia de las dos variables, EMR y recaída leucémica son independientes una de otra ($p < 0.252$). No hubo relación de la EMR con otros factores pronósticos ya conocidos de leucemia aguda (edad, leucocitos iniciales, plaquetas, etc), sin embargo si hubo relación estadísticamente significativa de la cantidad de leucocitos iniciales con la recaída leucémica, fenómeno fisiopatológico ya bien conocido. Tampoco se encontró relación entre el subtipo de leucemia diagnosticado y la cantidad de EMR al final de la quimioterapia de inducción a la remisión.

En cuanto a la sobrevida libre de recaída (SLR), como se puede ver en las curvas de Kaplan-Meier, el grupo que tiene EMR negativa tiene un periodo de SLR menor al compararlo con EMR positiva, cuando lo esperado es que al tener más células leucémicas residuales al final del tratamiento intensivo de inducción, se presenten más recaídas leucémicas o que éstas se presenten en una etapa más temprana. Sin embargo la comparación de estos grupos obtuvo una $p < 0.38$, por lo que no se considera significativo, pudiendo haber otros factores relacionados a la recaída leucémica que tengan mayor influencia para ésta.

Idealmente, el profesional involucrado en la realización de la citometría de flujo al diagnóstico de la leucemia y la cuantificación de células residuales al finalizar la quimioterapia de inducción debe seguir estrictos lineamientos técnicos. Al diagnóstico, seleccionar la ventana (o gate) que mejor defina la población leucémica según las características morfológicas observadas al microscopio óptico, aplicar la combinación de marcadores inmunológicos que ayuden a delimitar la población a estudiar (marcadores de inmadurez y los que identifican estirpe celular). Al seguimiento (medición de EMR), utilizar la misma ventana (con idéntica forma y área) en la gráfica y seleccionar del inmunofenotipo de diagnóstico, la combinación de fluorocromos que mejor delimitó la población leucémica a estudiar. Aplicar estos dos lineamientos técnicos permite reproducir con gran exactitud la medición de EMR y la búsqueda de hasta 0.01% de eventos encontrados al diagnóstico. El tiempo transcurrido desde la toma de muestra hasta su procesamiento, no debería exceder de 24 horas.

5. CONCLUSIONES.

Por lo anterior, se concluye que con el número de pacientes analizados (45) y la metodología diagnóstica por citometría de flujo utilizada, así como el punto de corte para considerar Enfermedad Mínima Residual positiva por inmunofenotipo (mayor a 1%):

- No hubo asociación entre la presencia de Enfermedad Mínima Residual positiva, medida por inmunofenotipo, al final de la quimioterapia intensiva (inducción a la remisión) y la incidencia de recaídas leucémicas.
- No hubo impacto entre la presencia de Enfermedad Mínima Residual positiva y la supervivencia libre de recaída leucémica.

Bibliografía:

1. Campana D, Coustan-Smith E. Detection of minimal residual disease in acute leukemia by flow cytometry. *Cytometry* 1999. 38, 139-152.
2. M, Malec. VHJ van der Velden, et al. Analysis of minimal residual disease in childhood ALL: comparison between RQ-PCR analysis of Ig/TcR gene rearrangements and multicolor flow cytometric immunophenotyping. *Leukemia*. 2004, 18, 1630–1636.
3. Campana, D. Status of minimal residual disease testing in childhood haematological malignances. *British Journal of haematology*. 2008, 143, 481-489.
4. C Michael N. Dworzak, Gertraud Froschl, et al. Prognostic significance and modalities of flow cytometric minimal residual disease detection in childhood ALL. *BLOOD*. 2002, 6, 1952-58.
5. Borowitz M. Pullen D, et al. MRD detection in childhood precursor B-cell ALL, relation to the other risk factors. A Children's Oncology Group Study. *Leukemia*. 2003, 27 (8) 1566-1572.
6. Coustan-Smith E, Sancho J, Behm FG, et al. Prognostic importance of measuring early clearance of leukemic cells by flow cytometry in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002. 100, 52-58.
7. Borowitz, M. J., Devidas, M., et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia and its relationship to other prognostic factors. A children's Oncology Group study. *Blood*. 2008, 111, 5477-5485.
8. Buccisano, F., Maurillo, L., et al. The kinetics of reduction of minimal residual disease impacts on duration of response and survival of patients with acute myeloid leukemia. *Leukaemia*. 2006. 20, 1783-1789.
9. Sievers E. L., Lange, B. J., et al. Immunophenotypic evidence of leukemia after induction therapy predicts relapse: results from a prospective Children's Cancer Group study of 252 acute myeloid leukemia patients. *Blood* 2003. 101, 3398-3406.
10. Maria B Vidriales, et al. Minimal residual disease monitoring by flow cytometry. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 2003. 16 (4), 599-612.
11. Langebrake, C., Creutzig, U. Residual disease monitoring in childhood acute myeloid leukemia by multiparameter flow cytometry, the MRD-AML-BFM study Group. *Journal of Clinical Oncology*. 2006. 24, 3686-3692.
12. Ortiz M. Detección de Enfermedad Residual Mínima mediante citometría de flujo en pacientes con leucemia aguda de novo y su impacto en la sobrevida libre de recaída. Tesis CMN 20 Noviembre ISSTE, 2009.
13. Enfermedad Mínima Residual por citometría 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.
14. Valor pronóstico de la investigación de EMR en leucemia aguda de novo por medio de citometría de flujo. Ruiz Argüelles GJ, Fernández-Lara DA. Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla, Laboratorios clínicos de Puebla. Hospital Angeles de Interlomas y Hospital Universitario. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, México.
15. M. Bruggemann, A. Schrauder, et al. Standardized MRD quantification in european ALL trials: proceedings of the second international symposium on MRD assesement in Kiel, Germany (september 2008). *Leukemia*. 2010. 24, 521-535.
16. M. Guenova, P. Kulaksazov, et al. Detection of MRD in AL patients by multiparameter flow cytometry. *Medicine Hematologie (Bulgarian Academy of Sciencies)*. 2000. 53 (10) 115-118.
17. Campana, D. Determination of minimal residual disease in leukemia patients. *British Journal of Haematology*. 2003. 121, 823-838.
18. N. Feller, MA van der Pol, et al. MRD parameters using immunophenotypic detection methods are highly reliable in predicting survival in acute myeloid leukaemia. *Leukemia*. 2004. 18, 1380-1390.
19. Camapana, D. Progress of MRD studies in childhood acute leukemia. *Current Hematology Malignant Report*. 2010. 5, 169-176.
20. Borowitz, MJ, Devidas M, et al. Prognostic significance of end consolidation MRD in childhood ALL. *J Clinical Oncology*. 2008 (26).



Nombre de paciente: _____ Expediente: _____.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Por medio de la presente autorizo ser incluido en el Protocolo de Investigación de Detección de Enfermedad Mínima Residual por Citometría de Flujo en pacientes con Leucemia Aguda de Novo, el cual será realizado en Servicio de Hematología del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” del ISSSTE. Para tener los resultados completos es necesario la realización del aspirado de médula ósea al ingreso al Servicio, al final de la primera quimioterapia que se llama Inducción a la remisión. Estos procedimientos se realizan en forma rutinaria como parte de la evaluación de la enfermedad. Para la toma de muestras del aspirado de médula ósea se aplicará anestesia local lo que permitirá el control del dolor en el sitio de extracción. No existe algún riesgo de otras complicaciones ya que la toma se realiza en los huesos de la cresta iliaca o esternon.

La aceptación de participar en este estudio es con la finalidad de conocer detalladamente la evolución de mi enfermedad y esto permita al grupo de hematólogos conocer el posible desenlace y a futuro poder establecer diferentes esquemas de quimioterapia y modificar la evolución de la enfermedad.

Además acepto la toma de muestras de sangre periférica para conocer los resultados de laboratorio básicos y cotejarlos con los resultados obtenidos en la citometría de flujo.

Estoy enterado que en el momento que desee puedo retirarme del estudio y continuar con mi tratamiento ya establecido por mi equipo tratante.

NOMBRE Y FIRMA DEL PACIENTE O TUTOR

TESTIGO POR PARTE DEL PACIENTE

TESTIGO POR PARTE DEL HOSPITAL

NOMBRE Y FIRMA DEL INVESTIGADOR

México D.F a de 2010

Investigador Responsable.- Dr. Nolasco Cancino César. Correo cesarnolcan@yahoo.com.mx Servicio de Hematología.
Centro Médico Nacional 20 de Noviembre Tel 52005003 ext 14246
Investigador adjunto.- Dra Alvarado Ibarra Martha. Servicio de Hematología. Tel52005003 ext 14246

PROTOCOLOS DE QUIMIOTERAPIA VIGENTES EN EL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE ISSSTE (2008 A 2010).

TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA AGUDA LINFOBLASTICA EN MENORES DE 35 AÑOS (LAL6-2010).

Día -4: dexametasona 10 mg/ m²/ día, IV en bolo, durante 4 días (-4, -3, -2 y -1). Tomar médula ósea al día 0.

Inducción a la remisión (1.0):

Día 0:

- Ara-C 20, 30, 50 o 70 mg intratecal, para edades de <1, 2, 2 a 3, >3 años respectivamente.
- Daunorrubicina 120 mg/ m² IV pasar a goteo continuo en el curso de 48 horas, diluida en una cantidad apropiada de solución salina isotónica.

Día 2:

- Ciclofosfamida 1,200 mg/ m² IV en bolo.
- Vincristina 1.5 mg/ m² IV en bolo, repetir los días 9, 16 y 23 del ciclo.
- Prednisona 60 mg/ m² VO diario hasta el día 23, luego disminuir progresivamente en el curso de 9 días.

Día 4:

- Asparaginasa 4,000 U/ m²/ día IV, continuar lunes, miércoles y viernes hasta concluir la consolidación.

Día 9:

- Filgrastim 5 mcg/ kg/ día SC, continuar hasta que la cifra de neutrófilos sea mayor de 500 x mm³ en dos cuentas consecutivas.

Día 8:

- Si hay infiltración inicial al SNC: metotrexate 12.5 mg y dexametasona 5 mg Intratecales, repetir los días 15 y 22.

Día 15:

- Si **NO** hay infiltración inicial al SNC: metotrexate y dexametasona en las mismas dosis que el día 8, solo los días 15 y 22.

Tomar médula ósea los días 14 y 28. Anotar la cantidad de blastos obtenida en cada determinación. El criterio de remisión completa se aplicará en la toma del día 28, si no hay remisión sale de este programa, si hay remisión pasar intensificación (2.0).

Intensificación (2.0): Iniciar con neutrófilos mayores a 500 x mm³ y plaquetas mayores a 100,000 x mm³, colocar catéter reservorio.

Día 1:

- Ara-C 1.5 gr/ m² IV diluido en cantidad conveniente de solución salina, pasar en 3 horas, cada 12 horas (en total 8 dosis).

Día +7:

- Filgrastim 5 mcg/ kg/ día SC a partir del día 7 postquimioterapia, hasta que los neutrófilos superen 500 x mm³ en dos cuentas consecutivas.

Terminada la intensificación, los pacientes con Riesgo Alto serán considerados para trasplante alogénico.

Consolidación (3.0):

Día 18 (3.1): Con neutrófilos mayores a 500 x mm³ y sin infección.

- Vincristina 1.5 mg/ m² IV un día previo al paso de metotrexate.
- Bicarbonato de sodio 0.5 mEq/ kg pasar en 15 a 30 minutos inmediatamente antes del metotrexate.
- Metotrexate 1.0 gr/ m² diluido en solución salina (al menos 1.0 gr de MTX en 1,000 cc de solución glucosada) y pasar a goteo continuo en 4 a 6 horas.
- Acido fólico 50 mg/ m² IV cada 6 horas, comenzando 24 horas después de terminado el metotrexate (dosis 1 a 6).

Día 25 (3.2):

- Vincristina 1.5 mg/ m² IV en bolo.
- Prednisona 180 mg/ m²/ día VO por 7 días.

Tomar médula ósea, si permanece en remisión, pasar a mantenimiento. A partir de este día, las médulas óseas se tomarán cada 3 meses. El programa continuará en tanto persista la remisión.

Mantenimiento temprano (4.0): Iniciar con neutrófilos mayores a 1,000 x mm³ y plaquetas mayores a 100,000 x mm³ usar FEC-G en caso de que la pancitopenia impida el cumplimiento del programa.

Día 1 (4.1):

- Metotrexate 12.5 mg + citarabina 50 mg + dexametasona vía IT, repetir los días 8, 15 y 22.
- Radioterapia Craneal 1.8 Gy/ día x 10 días, solo en pacientes con leucocitos mayores a 50,000 x mm³, infiltración al SNC, componente linfomatoso inicial o inmunofenotipo T.
- Prednisona 15 mg/ m²/ día VO por 12 días, solo si reciben radioterapia.
- 6 mercaptopurina 300 mg/ m²/ día VO por cuatro días consecutivos.

Día 5 (4.2):

- Ciclofosfamida 600 mg/ m2 IV en bolo.
- L-asparaginasa 4,000 U/ m2 IM, continuar con una aplicación a la semana hasta completar 9 dosis.

Día 12 (4.3):

- Vincristina 1.5 mg/ m2 IV, repetir los días 19 y 26 (asi como los días 74 y 81 del ciclo).

Día 19 (4.4):

- Prednisona 180 mg/ m2/ día VO, administrada por 7 días.

Día 26 (4.5):

- Metotrexate 650 mg/ m2 IV diluido en 500 cc de solución salina isotónica, adicionada con bicarbonato de sodio 80 mEq/ m2 en infusión de 4 horas (día 1).
- Acido folínico 50 mg/ m2 VO o IM cada 6 horas por seis dosis. La primera dosis será 24 horas después de terminada la aplicación de metotrexate.

Día 40 (4.6):

- Daunorrubicina 40 mg/ m2 (ó mitoxantrona 8 mg/ m2) IV en infusión continua de 4 horas, diluida en una cantidad apropiada de solución salina.

Día 42 (4.7):

- Ara-C 100 mg/ m2/ día IM cada 12 horas por 3 días consecutivos.
- 6-mercaptopurina 50 mg/ m2 cada 12 horas VO, durante 3 días consecutivos (en total 6 dosis).

Mantenimiento subsecuente (5.0): Iniciar con neutrófilos mayores a 1,000 x mm3 y plaquetas mayores a 100,000 x mm3, usar FEC-G en caso de que la pancitopenia impida el cumplimiento del programa.

Día 0 (5.1):

- Metotrexate, dosis intratecal igual a la inducción, una dosis.

Día 0, 1, 2 y 3 (5.2):

- 6-mercaptopurina 300 mg/ m2/ día VO.

Día 4 (5.3):

- Ciclofosfamida 1,200 mg/ m2 IV en bolo.

Día 11, 18 y 25 (5.4):

- Vincristina 1.5 mg/ m2 IV.

Día 18 (5.5):

- Prednisona 180 mg/ m2/ día VO por 7 días.

Día 25 (5.6):

- Metotrexate 650 mg/ m2/ IV diluido en 500 cc de solución salina isotónica, adicionada con bicarbonato de sodio 80 mEq/ m2 en infusión de 4 horas (día1).
- Ácido folínico 50 mg/ m2 VO o IM cada 6 horas (6 dosis), la primera dosis será 24 horas después de terminada la aplicación de metotrexate.

Día 40 (5.7):

- Daunorrubicina 40 mg/ m2 (o mitoxantrona 8 mg/ m2) IV en infusión de 4 horas, diluida en una cantidad apropiada de solución salina, hasta completar la dosis acumulativa de 550 mg/ m2, cuando esto suceda, emplear ciclofosfamida a dosis igual que en 4.3.

Día 42 (5.8):

- Ara-C 100 mg/ m2/ día IM cada 12 horas por 3 días consecutivos.
- 6-mercaptopurina 50 mg/ m2 VO cada 12 horas x 6 dosis.

Repetir, las veces que sea necesario, el mantenimiento subsecuente hasta completar dos años en remisión completa continua, a partir del fin de la consolidación.

Si después de la inducción y/o consolidación, la neutropenia impide pasar a la fase siguiente, dar:

- 6-mercaptopurina (5.1) 75 mg/ m2/ día VO (semana 1 a 3).
- Metotrexate (5.2) 25 mg/ m2/ por semana VO (semana 1 a 3).
- Vincristina (5.3) 1.5 mg/ m2/ día (semana 4).
- Prednisona (5.4) 40 mg/ m2/ día VO por 7 días (semana 4).

En cuanto sea posible pasar a la fase próxima. Para calendario de médulas óseas y LCR posterior a suspensión electiva: se harán mensuales los 1os seis meses, cada 2 meses los seis siguientes, cada 3 meses el segundo año con LCR cada 6 meses, cada 4 meses el tiempo restante (con LCR por indicación). Los pacientes serán referidos a su unidad hospitalaria al completar 3 años en remisión completa continua después de suspensión electiva.

TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA AGUDA LINFOBLASTICA EN MAYORES DE 35 AÑOS (LAL10-2010).

Inducción a la remisión (1.0):

- Dexametasona 15 mg/ m2 IV días -4, -3, -2-, -1.
- Metotrexate 12.5 mg + dexametasona 4 mg via intratecal el dia 0. Tomar citología de LCR antes de aplicar.
- Daunorrubicina 120 mg/ m2 IV para infusión de 48 horas (días 0 y 1).
- Ciclofosfamida 750 mg/ m2 IV en bolo (dia 2).
- FEC-G 300 mcg via SC o IM (desde el dia 9 hasta que los neutrófilos alcancen 1,500 x mm3).
- Vincristina 2 mg IV en bolo (días 1, 8, 15 y 22).
- L-asparaginasa 6,000 u/ m2 IM (días 8, 15, 21 y 28).
- Prednisona 100 mg/ m2/ dia VO (semana 1 y 3).
- Tomar médula ósea los días 14 y 28. El resultado de médula ósea del dia 14 consignarlo para análisis posterior. En la médula ósea del dia 28 si hay más de 5% de blastos, sale de este programa. Si hay menos de 5% de blastos con celularidad normal, pasar a la intensificación, si la celularidad es subnormal, repetir el estudio el dia 38 y aplicar el criterio anterior, si persiste hipocelular sale de este programa.

Intensificación (2.0): Iniciar con neutrófilos totales superiores a 1,000 x mm3, colocar reservorio.

- Ara-C 2.0 gr/ m2/ dosis IV, diluir en 250 cc de solución salina en infusión de 4 horas, cada 12 horas por 8 dosis (días 1 a 4).
- FEC-G 300 mcg via SC a partir del dia +7 postquimioterapia, hasta obtener neutrófilos de 1,500 x mm3.
- Terminada la intensificación, serán considerados para trasplante alogénico.

Consolidación (3.0): Aleatorizar para ramas LALA (2, 4, 7, 9, 10, 11, 13, 15, 17, 19) y LALA-FLU (1, 3, 5, 6, 8, 12, 14, 16, 18, 20). Los ciclos serán cada 2 semanas después de concluidos, o cuando los neutrófilos superen la cifra 1,000 x mm3 y las plaquetas la de 100,000 x mm3. Usar FEC-G con el propósito de no retrasar las aplicaciones de quimioterapia. Las médulas óseas de control se realizarán cada 3 meses o por sospecha de recaída.

Dia 1 (3.1): Ambas ramas:

- Vincristina 2 mg/ dia IV.
- Metotrexate 1.0 gr/ m2 IV diluido en 1,000 cc de solución salina, adicionada con bicarbonato de sodio 80 mEq/ m2 pasar a goteo continuo en 4 a 6 horas, continuar con 1,000 cc de solución salina adicionada con bicarbonato de sodio 80 mEq/ m2 cada 8 horas por dos ocasiones mas. Cuantificar metotrexate sérico a las 24, 48 y 72 horas después de iniciado.
- Ácido fólico 50 mg/ m2/ dosis, IV o IM cada 6 horas. La primera dosis será a las 24 horas después de terminada la aplicación de metotrexate (dosis 1 a 6).
- Metotrexate y dexametasona una aplicación IT a las 2 horas de haber iniciado el metotrexate IV, en cantidades semejantes a las usadas en la inducción, tomar muestra para citología de LCR.
- (3.1.1) solo la rama de LALA-FLU: fludarabina 50 mg/ m2 VO el dia 7 después de aplicado el metotrexate.

3.2: Ambas ramas:

- Ciclofosfamida 750 mg/ m2/ dia IV (dia 1).
- Vincristina 2 mg/ dia IV (dia 1).
- Daunorrubicina 50 mg/ m2 (o mitoxantrona 8 mg/ m2) IV diluida en 250 cc de solución salina para pasar en 4 horas (dia 1).
- Prednisona 100 mg/ m2/ dia VO (días 1 a 5).
- L-asparaginasa 6,000 u/ m2 IM (dia 5).
- (3.2.1) solo rama LALA-FLU: fludarabina 50 mg/ m2 VO el dia 7 después de aplicado el antracíclico.

3.3: Ambas ramas:

- VP-16 (etopósido) 150 mg/ m2/ dia IV diluido en 150 ml de solución salina en infusión de 1 hora (días 1, 2 y 3).
- Ara-C 300 mg/ m2/ dia IV en bolo al terminar cada aplicación de VP-16.
- L-asparaginasa 6,000 u/ m2/ dia IM (dia 4).
- FEC-G 300 mcg via SC a partir del dia +7 postquimioterapia hasta obtener neutrófilos de 1,500 x mm3.
- (3.3.1) solo rama LALA-FLU: fludarabina 50 mg/ m2 VO el dia 7 después de la última dosis de Ara-C.

Los ciclos serán aplicados con la siguiente secuencia (tres de cada uno de los ciclos): 3.1, 3.2, 3.3, y luego 3.1, 3.2 y 3.3 y luego 3.1, 3.2 y 3.3. En el caso de LALA-FLU se intercalarán 3.1.1, 3.2.1 y 3.3.1. Al concluir el último, pasar a:

Profilaxis (4.0) al Sistema Nervioso Central:

- Metotrexate 12.5 mg + Ara-C 50 mg + dexametasona 5 mg, cinco aplicaciones dos veces por semana, tomar muestra para citología de LCR en la 1a y última aplicación.
- Vincristina 2 mg/ dia IV (días 1 y 8).
- Prednisona 60 mg/ m2/ dia VO (días 1 a 14).
- Después de dos semanas, pasar a:

Mantenimiento (5.0):

- 6-mercaptopurina 100 mg/ m2/ dia VO (semanas 1 a 4).

- Metotrexate 12.5 mg/ m²/ día VO solo martes y jueves (semanas 1 a 4).
- Pasar lo antes posible a 6.0 (neutrófilos mayores de 1,000 x mm³ y plaquetas de 100,000 x mm³).

Reinducción (6.0):

- Metotrexate, Ara-C e hidrocortisona intratecal (día 1), tomar muestra para citología de LCR.
- Ara-C 100 mg/ m² cada 12 horas IM (días 1 a 4).
- Ciclofosfamida 600 mg/ m² IV (día 1).
- FEC-G 300 mcg via SC a partir del día +7 postquimioterapia hasta obtener neutrófilos de 1,500 x mm³.

Después de 2 semanas, o con leucocitos superiores a 1,000 x mm³ y plaquetas de 100,000 x mm³, repetir el punto 5.0 y luego continuar con el punto 3.1 que será:

- Vincristina 2 mg/ día IV (día 1).
- Metotrexate 650 mg/ m² IV diluido en 1,000 cc de solución salina isotónica, adicionada con bicarbonato de sodio 80 mEq/ m² a goteo continuo por 24 horas (día 1).
- Ácido fólico 50 mg/ m² IV cada 6 horas (6 dosis), la primera dosis será 24 horas después de terminada la aplicación de metotrexate.
- Metotrexate y dexametasona, una aplicación intratecal, dos horas después de iniciado el metotrexate IV, en cantidades semejantes a las usadas en la inducción, tomar muestras para citología de LCR.

Seguir con 3.2 y 3.3 (ambos sin asparaginasa). Repetir la secuencia en el orden: 5.0, 6.0, 5.0, 3.1, 3.2, 3.3, 5.0... y mantenerla hasta completar 30 meses en remisión completa continua, cuando se suspenderá el tratamiento. En el caso de la rama LALA-FLU, se aplicará 3.1.1, 3.2.1 y 3.3.1 de la misma forma que la consolidación. Cada ciclo debe iniciarse cuando se tengan leucocitos y plaquetas en los límites mínimos señalados, si esto no ocurre, usar FEC-G 300 mcg al día al concluir el ciclo y mantenerlo hasta que los neutrófilos alcancen el límite antes señalado. Para calendario de médula ósea y LCR post suspensión electiva: mensuales los 10s seis meses, cada 2 meses los seis meses siguientes, cada 3 meses el segundo año (con un LCR cada 6 meses) y cada 4 meses el tiempo restante (LCR por indicación). Los pacientes serán referidos a su unidad hospitalaria de procedencia al completar tres años en remisión completa continua después de suspensión electiva. El paciente quedará fuera de protocolo si se encuentra en recaída, en cualquier sitio y en cualquier momento de su observación.

TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA AGUDA NO LINFOBLASTICA (LANOL-9-2008).

Inducción a la remisión (1.0):

Día 0:

- Citarabina 100 mg/ m2 diluidos a 20 mg/ ml de solución fisiológica en infusión IV de 24 horas (días 1 a 7).
- Idarrubicina 12 mg/ m2 diluidos a 1 mg/ ml de solución fisiológica para pasar en bolo IV (15 minutos) por 3 días (días 1 a 3), puede usarse daunorrubicina a 45 mg/ m2 (días 1 a 3).
- FEC-G 300 mcg via SC al día a partir del día +7 postquimioterapia, hasta que los neutrófilos alcancen 1,500 x mm3.

Evaluar la respuesta en los días +7, +21 y +28. Ajustarse al manejo de los grupos 1 y 2. Cuando haya buena celularidad (1 a 2) en cualquiera de los estudios y no más de 5% de blastos, pasar a posremisión.

Grupo 1: blastos al día +7 iguales o aumentados, considerar un tratamiento de rescate al recuperar.

Grupo 2: blastos al día +7 con remisión (menor a 5% de blastos), pasar a grupo 3. Menos de 5% de blastos pero más de 10% al recuperar, pasar a segunda inducción a la remisión. En todos los casos, buscar remisión al día +21 y día +28, si la hay, pasará al grupo 3, si no hay remisión, sale de este protocolo.

Grupo 3: dar dos posremisiones (según LANOL-9-2008).

Segunda inducción a la remisión (1.2):

- Citarabina 1,500 mg/ m2 diluido en 500 cc de solución glucosada al 5% IV en infusión de 4 horas cada 12 horas (días 1 a 3).
- Idarrubicina 12 mg/ m2 IV en bolo (15 minutos) días 1 y 2, puede usarse daunorrubicina 45 mg/ m2 días 1 y 2.
- FEC-G 300 mcg via SC a partir del día +7 postquimioterapia hasta que los neutrófilos sean de 1,500 x mm3.

Primera postremisión (2.1):

- Citarabina 1,500 mg/ m2 diluidos en 500 cc de solución glucosada al 5% IV en infusión de 4 horas cada 12 horas (días 1 a 4).
- Etopósido 250 mg/ m2 diluidos en 500 cc de solución glucosada al 5% en infusión de 4 horas (días 1 y 2).
- FEC-G 300 mcg via SC a partir del día +7 postquimioterapia hasta que los neutrófilos sean de 1,500 x mm3.

Evaluar respuesta en los días 21 y 28, si hay buena celularidad (1 a 2) en cualquiera de los estudios y no más de 5% de blastos, pasar al segundo ciclo de postremisión. Si hay buena celularidad (1 a 2) y más de 5% de blastos queda fuera de este protocolo.

Segunda postremisión (2.2):

- Citarabina 1,500 mg/ m2 diluidos en 500 cc de solución glucosada al 5% IV en infusión de 4 horas cada 12 horas (días 1 a 4).
- Idarrubicina 12 mg/ m2 IV en bolo (15 min) días 1 y 2. Puede usarse daunorrubicina 45 mg/ m2 días 1 y 2.
- FEC-G 300 mcg via SC a partir del día +7 postquimioterapia hasta que los neutrófilos sean de 1,500 x mm3.

Evaluar respuesta en los días 21 y 28, si hay buena celularidad (1 a 2) en cualquiera de los estudios y no más de 5% de blastos, pasar a observación. Si hay buena celularidad (1 a 2) y más de 5% de blastos queda fuera de este protocolo. Después de la posremisión los pacientes pasan a observación, salvo que se realice trasplante alogénico o autólogo de células progenitoras hematopoyéticas. Durante la observación, en ausencia de trasplante, las revisiones serán mensualmente (primer año), bimensuales (segundo y tercer año) y trimestrales. En los primeros tres años las médulas óseas serán cada 3 meses, después cada 6 meses. La observación se mantendrá hasta cinco años luego de remisión completa continúa sin quimioterapia.

En pacientes que esperan auto o alotrasplante de medula ósea (iniciar dos meses después de 2.2):

Mantenimiento (3.1):

- Citarabina 1,500 mg/ m2 diluidos en 500 cc de solución glucosada al 5% IV en infusión de 4 horas cada 12 horas (días 1 y 2).
- Etopósido 250 mg/ m2 diluidos en 500 cc de solución glucosada al 5% IV en infusión de 4 horas días 1 y 2.
- FEC-G 300 mcg via SC a partir del día +7 postquimioterapia, hasta que los neutrófilos alcancen 1,500 x mm3.

Mantenimiento (3.2):

- Citarabina 1,500 mg/ m2 diluidos en 500 cc de solución glucosada al 5% IV en infusión de 4 horas cada 12 horas (días 1 y 2).
- Idarrubicina 12 mg/ m2 IV en bolo (15 min) días 1 y 2. Puede usarse daunorrubicina 45 mg/ m2 días 1 y 2.
- FEC-G 300 mcg via SC a partir del día +7 postquimioterapia, hasta que los neutrófilos alcancen 1,500 x mm3.

Los ciclos de mantenimiento se alternarán cada dos meses hasta que suceda el trasplante.

TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA AGUDA PROMIELOCÍTICA (LAP-3-2008).

Inducción a la remisión (1.0):

- ATRA 45 mg/ m²/ día VO dividido en dos tomas con alimentos, hasta la remisión completa, desde el día 1 y hasta mínimo 30 y máximo 90 días.
- Daunorrubicina 60 mg/ m²/ día (o idarrubicina 15 mg/ m²/ día) IV en infusión de 60 min (días 2, 4, 6 y 8).

Si hay evidencia de síndrome de ATRA (incremento de cifra de neutrófilos mayor a 5,000 x mm³, aumento de peso, fiebre inexplicable, disnea) administrar dexametasona 10 mg IV cada 12 horas por 3 días, tomar radiografía de tórax de control. Si persisten las alteraciones suspender ATRA y esperar la mielosupresión. Si sucede antes de iniciar el antracíclico, adelantar su administración, conjuntamente con la dexametasona. Tomar médula ósea el día 30. Si hay celularidad normal y menos de 5% de blastos, pasar a la fase siguiente. Si no hay remisión sale de este programa y contarle como fracaso (falla).

Postremisión (2.1):

- Daunorrubicina 35 mg/ m² (o idarrubicina 7 mg/ m²) IV a goteo continuo días 1, 2, 3 y 4.

Postremisión (2.2): aplicar a las cuatro semanas después del 2.1:

- Daunorrubicina 35 mg/ m² (o idarrubicina 7 mg/ m²) IV a goteo continuo días 1, 2, 3 y 4.

Mantenimiento (3.0):

- 6-mercaptopurina 50 mg/ m²/ día, dividido en dos tomas VO diario, durante 24 meses.
- Metotrexate 15 mg/ m² VO por semana (en una o dos tomas por semana) por 24 meses.
- ATRA 45 mg/ m²/ día VO (días 1 a 25) cada 3 meses.

Seguimiento: Evaluación mensual con biometrías hemáticas, enzimas hepáticas y química sanguínea. La toxicidad hematológica y hepática no deberá exceder del grado 2 de la OMS. Ajustar dosis y tiempo de administración. El objetivo es mantener dosis completas el mejor tiempo sin exceder la toxicidad señalada. Solicitar cariotipo y médula ósea cada 3 meses. Si hay recaída el paciente queda fuera de este programa, contarle como fracaso (recaída).