



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN SUR DEL DISTRITO FEDERAL
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MÉDICO NACIONAL "SIGLO XXI"**

**"CORRELACION ENTRE ESTADO DE ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL
POR CITOMETRIA DE FLUJO EN PRIMEROS 100 DIAS DE TRASPLANTE
DE CELULAS PROGENITORAS HEMATOPOYETICAS POR LEUCEMIA
AGUDA CON SOBREVIDA LIBRE DE ENFERMEDAD Y SOBREVIDA
GLOBAL"**

TESIS QUE PRESENTA:

DR. JORGE ROBERTO RUIZ ESQUIVEL

**PARA OBTENER EL TÍTULO EN
LA ESPECIALIDAD DE:**

HEMATOLOGÍA

ASESORES:

**DRA. MARIA MARGARITA CONTRERAS SERRATOS
MC. LAURA J. RABELO CARRASCO**

CIUDAD DE MEXICO

FEBRERO 2017





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. DIANA G. MENEZ DÍAZ
JEFE DE LA DIVISION DE EDUCACION E INVESTIGACIÓN EN SALUD.
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES, CMN SIGLO XXI.

DR. LUIS ANTONIO MEILLÓN GARCÍA.
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE HEMATOLOGÍA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES, CMN SIGLO XXI

DRA. MARIA MARGARITA CONTRERAS SERRATOS
ASESOR DE INVESTIGACIÓN
MEDICO A CARGO DE AREA DE TRASPLANTE DE CELULAS PROGENITORAS
HEMATOPOYETICAS HOSPITAL ESPECIALIDADES, CMN SIGLO XXI

MC. LAURA J. RABELO CARRASCO
CO-ASESOR DE INVESTIGACIÓN
QUIMICO ADSCRITO AL LABORATORIO DE HEMATOLOGIA ESPECIAL, AREA DE
CITOMETRIA DE FLUJO DEL HOSPITAL ESPECIALIDADES, CMN SIGLO XXI

DR. JORGE ROBERTO RUIZ ESQUIVEL
INVESTIGADOR PRINCIPAL, UMAE HOSPITAL ESPECIALIDADES, CMN SIGLO XXI

CARTA DE DICTAMEN

7/3/2017

Carta Dictamen



Dirección de Prestaciones Médicas
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud



Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud **3601** con número de registro **13 CI 09 015 184** ante COFEPRIS
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, D.F. SUR

FECHA **07/03/2017**

DRA. MARIA MARGARITA CONTRERAS SERRATOS

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

CORRELACION ENTRE ESTADO DE ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL POR CITOMETRIA DE FLUJO EN PRIMEROS 100 DIAS DE TRASPLANTE DE CELULAS PROGENITORAS HEMATOPOYETICAS POR LEUCEMIA AGUDA CON SOBREVIDA LIBRE DE ENFERMEDAD Y SOBREVIDA GLOBAL

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro

R-2017-3601-19

ATENTAMENTE

DR.(A). CARLOS FREDY CUEVAS GARCÍA
Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3601

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
JUSTIFICACIÓN.....	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	12
OBJETIVOS.....	13
HIPÓTESIS.....	14
MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
ASPECTOS ÉTICOS.....	21
RESULTADOS.....	22
DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	32
BIBLIOGRAFIA.....	33
ANEXOS.....	37

1. Datos del Alumno (Autor)	1. Datos del Alumno
Apellido Paterno: Apellido Materno: Nombre: Teléfono: Universidad: Facultad o Escuela: Carrera: No. De cuenta:	Ruiz Esquivel Jorge Roberto 664 47 13 000 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Medicina Especialidad en Hematología
2. Datos del Asesor	2. Datos del Asesor
Apellido paterno: Apellido materno: Nombre (s) Apellido paterno: Apellido materno: Nombre (s)	Contreras Serratos María Margarita Rabelo Carrasco Laura J.
3. Datos de la tesis	3. Datos de la tesis
Título: Subtítulo: No. De páginas:	“Correlacion entre estado de enfermedad minima residual por citometria de flujo en primeros 100 dias de trasplante de celulas progenitoras hematopoyeticas por leucemia aguda con sobrevida libre de enfermedad y sobrevida global” Páginas 37
Año: Número de registro:	2017 R-2017-3601-19

RESUMEN

“CORRELACION ENTRE ESTADO DE ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL POR CITOMETRIA DE FLUJO EN PRIMEROS 100 DIAS DE TRASPLANTE DE CELULAS PROGENITORAS HEMATOPOYETICAS POR LEUCEMIA AGUDA CON SOBREVIDA LIBRE DE ENFERMEDAD Y SOBREVIDA GLOBAL”

Antecedentes: En estudios recientes se ha identificado al grupo de pacientes con leucemias agudas y enfermedad mínima residual positiva en primeros 100 días de trasplante como una población con riesgo mayor de recaída y muerte.

Objetivo: Evaluar la correlación que existe entre el estado de la enfermedad mínima residual por citometría de flujo en los primeros 100 días de trasplante de células hematopoyéticas con la sobrevida libre y sobrevida global de enfermedad en pacientes con leucemia aguda de la UMAE Hospital Especialidades CMN Siglo XXI.

Material y métodos: Se realizará captación consecutiva de pacientes que ingresaron al servicio de Hematología/Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, con el diagnóstico de leucemia aguda y que reúnan los criterios de inclusión durante el período de tiempo comprendido de Enero de 2011 y Diciembre 2016. Se realizará un análisis bivariado con curvas de Kaplan-Meier para enfermedad mínima residual positiva, sobrevida libre de enfermedad y sobrevida global. Se buscará correlación por medio de Rho de Spearman, realizando además un modelo de riesgos proporcionales de Cox.

Recursos e infraestructura: La UMAE Hospital Especialidades CMN SXXI cuenta con citómetro de flujo con tecnología de punta así como los reactivos necesarios para su realización. Para el resto del estudio no se requiere algún otro recurso financiero.

Experiencia el grupo: El servicio responsable de realizar citometría de flujo en esta unidad, es reconocido a nivel internacional por contar con un excelente equipo y capacitación, utilizando estándares aceptados mundialmente.

Tiempo a desarrollarse: El análisis a realizar es en pacientes de Enero 2011 a Diciembre 2016.

INTRODUCCIÓN

La leucemia aguda es una enfermedad del tejido hematopoyético de carácter clonal o maligno, caracterizada por la proliferación y acumulación anormal de células inmaduras (blastos) principalmente en la médula ósea, que puede desplazar o suprimir la hematopoyesis normal, ocasionando citopenias.¹

Según GLOBOCAN, un Proyecto de la Agencia Internacional de Investigación de Cáncer (IARC) que provee estimados de alta calidad sobre epidemiología de los diferentes tipos de cáncer, en 2012 su análisis arrojó que la leucemia en México ocupaba el 8vo cáncer más común en el país, con una incidencia estimada de 6 325 casos (4.3% de todos los cánceres, excluyendo el cáncer de piel de tipo no melanoma), con una prevalencia a 5 años de 6 100 casos (1.7%)². En Estados Unidos se reportan aproximadamente 20 000 casos nuevos de leucemia mieloide aguda por año, representando el 80% de las leucemias agudas en adultos, con incidencias que varían según la población y la edad, alcanzando los 25 casos por cada 100 000 habitantes en octogenarios ³, siendo por el contrario la incidencia de leucemia linfoblástica aguda estimada en Estados Unidos en el 2014 de aproximadamente 6 020 casos⁴, con un pico de presentación en pacientes de 1 a 4 años, con disminución gradual hasta llegar a los 25 años y un posterior incremento gradual hasta alcanzar los 50 años, con una incidencia de 1.2 por 100 000 habitantes en mayores de 60 años. ⁵

La leucemia aguda se define según la Organización Mundial de la Salud (OMS) por la presencia de 20% o más de blastos en frotis de sangre periférica o médula ósea, publicando en 2008 la clasificación de leucemias más ampliamente aceptada a nivel mundial, usando información como morfología, citoquímica, inmunofenotipo, citogenética y características clínicas del paciente, para definir estirpe de la célula neoplásica y su estado de maduración, dividiendo así a la leucemia aguda en mieloide o linfoide (leucemia mieloide aguda o leucemia linfoblástica aguda). Se considera además la observación en microscopio como el método idóneo para cuantificación de blastos y la

citometría de flujo de 4 ó más colores es útil para la detección de marcadores de superficie celular con el fin de determinar el linaje y grado de madurez celular (Tabla 1 y 2), de esta forma ayuda para la detección del fenotipo celular asociado a leucemia o células neoplásicas que servirá para el seguimiento y la posterior detección de enfermedad mínima residual. ⁶

Tabla 1: Fenotipo en leucemia linfoblástica aguda según linaje y estadio de maduración.

Linaje B	
Pro – B	CD10-, CD19+, cCD79a+, cCD22+, TdT+, HLA-DR+
Común	CD10+, CD19+, CD79a+HLA-DR+, TdT+
Pre – B	clg+, slg-, CD19+,CD79a+,CD10+/-, HLA-DR+, TdT+
B Madura (Burkitt)	slg+, CD10+, CR19+,CR79a+, HLA-DR +, TdT+
Linaje T	
Pro – T	cCD3+, CD7+, CD1a-, CD2-, CD4-, CD8-, CD34+/-
Pre – T	cCD3+, CD7+, CD1a-, CD2+, CD4-, CD8-, CD34+/-
Cortical	cCD3+, CD7+, CD1a+, CD2+, CD4+, CD8+, CD34-
Medular	cCD3+, sCD3+, CD7+, CD1a-, CD2+, CD4+ ó CD8+, CD34-

Tabla 2: Fenotipo en leucemia mieloide aguda según linaje y estadio de maduración.

VARIANTE	FENOTIPO INMUNOLÓGICO
M0	CD13+, CD33+, CD117+, MPO+/-, HLA-DR+,
M1	CD13+, CD33+, CD117+, MPO+, HLA-DR+
M2	CD13+, CD33+, CD117+, CD15+, CD34+, HLA-DR+
M3	CD13+, CD33+, CD117+, MPO+, HLA-DR-.
M4	CD13+, CD33+, CD15+, CD11b+, CD14+, CD4+, HLA-DR+
M5	CD13+, CD33+, CD14+, CD11b+, CD4+, HLA-DR+
M6	CD13+, CD33+, CD117+, MPO+, CD34+, HLA-DR+, Glicoforina +.
M7	CD61+, CD41+, CD42+, CD33+, CD34-, HLA-DR+

Actualmente, el uso de infusión continua con citarabina combinado con un antracíclico (régimen 7+3) es la terapia de inducción más utilizada en la leucemia mieloide aguda en la mayoría de los centros a nivel mundial, principalmente para pacientes jóvenes y con estado funcional y orgánico adecuado. Las tasas de respuesta en la inducción según diferentes literaturas varían de 50 a 80%, sin embargo, con riesgo de recaída reportadas de hasta 65% de los casos, con una sobrevida a 2 años menor a 20% en los casos de recaída⁸. Posterior a la inducción, la quimioterapia intensiva habitual con dosis altas de citarabina con o sin otro agente es utilizada de manera rutinaria como terapia de consolidación posterior a alcanzar la remisión, sin embargo, en muchos de estos subgrupos de pacientes la sobrevida libre de enfermedad post-remisión permanece siendo pobre al solo utilizar quimioterapia como tratamiento. Por esta razón, el trasplante de células hematopoyéticas representa la terapia curativa post remisión más ampliamente utilizada en pacientes elegibles.

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas es una terapia con fines curativo utilizada desde hace varias décadas en pacientes con neoplasias primordialmente hematológicas, consiste en la infusión intravenosa de células progenitoras hematopoyéticas autólogas o alogénicas, según sea el caso, recolectadas de médula ósea, sangre periférica o sangre de cordón umbilical para reconstituir la hematopoyesis en aquellos pacientes en que la médula ósea o el sistema inmune se encuentra dañado o defectuoso y por otro lado, tiene un efecto antitumoral con el desarrollo de la enfermedad del injerto en contra del huésped que conlleva el desarrollo de enfermedad del injerto contra la leucemia, situación que ayuda a la curación del paciente. El trasplante se realiza en pacientes con diagnóstico de leucemia aguda y crónica y permite al paciente recibir dosis más altas de quimioterapia, seguido del rescate después con la infusión de células progenitoras hematopoyéticas donadas al momento en donadores sanos o congeladas previamente en el contexto de trasplante autólogo para reemplazar la médula ósea enferma con células progenitoras hematopoyéticas sanas, que van a suplir el espacio y su función.⁹

El efecto inmunológico de la enfermedad de injerto en contra del huésped es el fenómeno que nos ayudará a eliminar la hematopoyesis maligna y llevar a la curación, siendo este mismo el que puede abatir la enfermedad residual en los pacientes y reducir la probabilidad de recaída y lograr la curación.

En el registro del Grupo Europeo de Trasplante de Médula Ósea (EBMT) la leucemia mieloide aguda es la indicación más frecuente de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas; se han reportado que aproximadamente la mitad de los pacientes posterior a un trasplante de donador relacionado tendrán una sobrevida libre de enfermedad a los 4 años, con un riesgo de recaída de hasta el 20% de los casos tras un trasplante alogénico.⁹ Desafortunadamente, el beneficio de un trasplante alogénico puede verse afectado considerablemente por las complicaciones relacionadas al procedimiento⁹

En contraste, se sabe que la leucemia linfoblástica aguda en niños alcanza una sobrevida global mayor de 80% a 5 años, más el pronóstico en adultos con leucemia linfoblástica aguda no es alentador, alcanzando una sobrevida promedio en pacientes entre 18 y 60 años de 35%, con algunas series alcanzando el 50%, esta diferencia se relaciona con múltiples factores de mal pronóstico como el incremento en la presentación de alteraciones genéticas desfavorables a diferencia de los niños, lo que hace que el abordaje o terapia más compleja e intensa.¹⁰⁻¹¹

En los últimos 10 a 15 años el uso del trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas se ha incrementado en adultos con leucemia linfoblástica aguda que logran una primera remisión completa, con reportes de sobrevida libre de enfermedad a largo plazo que van de un 45 a un 60%¹⁰⁻¹¹, por lo que se debe considerar su potencial curativo no olvidando la morbi-mortalidad asociada al procedimiento, así como el riesgo de recaída, la enfermedad injerto contra huésped y el impacto en la calidad de vida.⁹

El acondicionamiento es una parte importante en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, teniendo tres objetivos: crear el espacio para que las células del

donador tengan espacio en la médula ósea del receptor para que con esto pueda suceder el injerto; inmunosupresión para prevenir la enfermedad injerto contra huésped y la erradicación de la enfermedad, siendo este el principal objetivo en leucemias agudas. Su intensidad y combinación se asocia con riesgo de toxicidad e impacta en la mortalidad temprana relacionada al trasplante, sin embargo, siendo de vital importancia para el control de la enfermedad de base a largo plazo. Existen diferentes esquemas que combinan quimioterapia y radioterapia como son: irradiación corporal total, ciclofosfamida, busulfan, etopósido, citarabina, carmustina y melfalan, con diversas indicaciones y variaciones en su toxicidad, riesgo de recaída, sobrevida global e incidencia de enfermedad de injerto en contra del huésped según el régimen aplicado.⁹

Para definir la respuesta a la terapia aplicada al paciente con leucemia aguda, se utilizan criterios estandarizados para su clasificación, entre ellas buscando la obtención de una respuesta completa, dentro de las cuales se incluye el subtipo morfológico, descrita para leucemia linfoblástica aguda como la ausencia de blastos circulantes o de enfermedad extramedular (sin presencia de linfadenopatía, esplenomegalia, infiltración a testículo, encías o piel, involucro de sistema nervioso central, entre otras), <5% de blastos en médula ósea, recuperación del conteo de células hematopoyéticas en sangre periférica y no recurrencia de enfermedad a las 4 semanas. Para leucemia mieloblástica aguda se define la respuesta completa como presencia de <5% de blastos en médula ósea, ausencia de bastones de Auer, no presencia de enfermedad extramedular y recuperación de cifras de células hematopoyéticas en sangre periférica.¹²

Basado en estimados de una médula ósea normocelular, la presencia de <5% de blastos para clasificación morfológica de una remisión completa, permite la presencia de hasta 10^{10} de blastos en el organismo, siendo esta la razón por la que no sorprende la recaída de los pacientes que logran una remisión completa morfológica.¹³⁻¹⁴ Un esfuerzo importante se ha hecho para desarrollar herramientas que identifiquen enfermedad mínima residual, incluyendo la citometría de flujo multi-paramétrica para enumerar la población anormal (blastos), reacción de cadena de polimerasa (PCR) para cuantificación de mutaciones asociadas a leucemia, nivel de transcritos de RNA

asociados a leucemia, cambios cromosómicos con citogenética convencional y por técnica FISH (Fluorescence in-situ Hibridization). Entre estas modalidades, la citometría de flujo multiparamétrica y los métodos basados en PCR han mostrado la mayor sensibilidad, obteniendo cada vez un mayor incremento en su uso clínico¹⁵⁻²⁰

Tabla 3. Características de los métodos para detección de enfermedad mínima residual²¹

Objetivo de búsqueda	Método	Porcentaje de pacientes que pueden ser monitorizados	Sensibilidad
Rearreglos genéticos de inmunoglobulina y de receptor de Célula-T.	RQ-PCR	~90%	0.01%-0.001%
Transcritos de fusión	RQ-PCR	~40%	0.01%-0.001%
Inmunofenotipo asociado a leucemia	Citometría de flujo	~95%	0.01%

RQ-PCR: Reacción en cadena de polimerasa cuantitativo en tiempo real.

Actualmente existen factores de riesgo identificados previos a recibir un tratamiento que ofrecen un peor pronóstico, tales como edad, características del perfil citogenético con presencia de ciertas mutaciones genéticas, que han sido usadas para estratificación de riesgo y toma de decisiones clínicas²³⁻²⁵. La determinación de enfermedad mínima residual por diversos métodos actualmente se considera un factor pronóstico ya que en algunos estudios ha demostrado que un resultado positivo ofrece un peor pronóstico (incluyendo incremento de riesgo de recaída y mortalidad) en comparación a pacientes con enfermedad mínima residual indetectable: esta relación se guarda durante y

posterior a la terapia de inducción, tras alcanzar la remisión, y de igual forma previo y posterior al trasplante de células progenitoras hematopoyéticas ¹⁵⁻²⁰. No obstante, se considera la monitorización de la enfermedad mínima residual como una técnica de investigación, sin poder incorporar los modelos a un riesgo de estatificación por la amplia variación de las asociaciones reportadas del resultado de la enfermedad mínima residual con el riesgo pronóstico de los estudios publicados, así como la variabilidad en la metodología, la falta de estandarización en valores de corte para definir la enfermedad mínima residual como positiva o negativa, entre otras.²²⁻²⁴

El corte mínimo de sensibilidad para considerar a un estudio como adecuado para medir enfermedad mínima residual debe ser al menos de 1×10^{-3} (capacidad de detección de 1 célula leucémica por cada 1 000 normales) e idealmente acercarse a 1×10^{-6} ²⁵, contando con diferentes grados de sensibilidad según el método de identificación utilizado, obteniendo sensibilidades aproximadas de 1×10^{-4} por medio de citometría de flujo multiparamétrica, realizando con esta técnica un análisis de al menos 200 000 células y considerando según la metodología usada una enfermedad mínima residual positiva al reportar aberrancia en 0.01% de las células analizadas (2000 células de una muestra estandarizada a 200 000 células).²⁵ La identificación de estas células se realiza mediante la asociación de un grupo de marcadores celulares o “inmunofenotipo asociado a leucemia” detectado al diagnóstico en médula ósea, el cuál se puede detectar en hasta 95% de pacientes con leucemia aguda, estas alteraciones son el resultado de la aberrancia de al menos 2 antígenos en las células hematopoyéticas en pacientes con la enfermedad ²⁷ como se indica en la Tabla 4.

Tabla 4. Clasificación de fenotipos asociados a leucemia aguda²⁸

INMUNOFENOTIPOS ASOCIADOS A LEUCEMIA	EJEMPLOS
Expresión antigénica cruzado de líneas: Expresión de marcadores linfoides en mieloblastos o expresión de marcadores mieloides en linfoblastos.	CD2, CD4, CD5, CD7,CD10,CD19,CD56. CD11b, CD13, CD15, CD33, CD66b.
Expresión asincrónica antigénica: expresión de antígenos no vistos normalmente en el desarrollo mielóide o co-expresión aberrante de antígenos vistos en etapas tempranas y tardías de maduración.	CD11b ^a ,CD34 ^a CD15 ^a /CD34 ^a Expresión de CD20 con TdT y CD34+
Sobreexpresión o expresión insuficiente: Incremento o disminución en la intensidad de la expresión antigénica a un grado no visto en la maduración normal de mieloblastos o linfoblastos.	CD34b, HLA – DR – /d, CD13 – /d/b, CD33 – /d/b, CD38 – /d/b Sobreexpresión de CD34, TdT+, CD38, CD10
Dispersión de luz aberrante: Intensidad normal de expresión antigénica en combinación con dispersión de luz aberrante en citometría.	CD13 ^a /SSb Aumento de dispersión de la luz

^a expresión antigénica positiva; -, expresión antigénica negativa; b, expresión antigénica fuerte; d, expresión antigénica débil; SS, dispersión lateral.

En estudios recientes se ha identificado al grupo de pacientes con enfermedad mínima residual positiva previo a trasplante, tanto en leucemia linfoblástica aguda como en el caso de leucemia mieloide aguda, como una población con riesgo de recaída de 2 a 3 veces mayor que los pacientes con enfermedad mínima residual negativa previo a trasplante. Sin embargo aun en los pacientes con enfermedad mínima residual negativa previa a trasplante puede haber recaída en el 20 a 30% de los casos.^{27,30} . Existen de otros reportes que evalúan el riesgo de recaída hasta 6 veces mayores en pacientes que presentan enfermedad mínima residual positiva en cualquier momento durante los primeros 100 días del trasplante.³¹

JUSTIFICACIÓN

Las publicaciones realizadas en el país derivadas de la práctica de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas son escasas. El Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social se encuentra dentro de los centros, entre públicos o privados, con mayor experiencia y mayor número de pacientes con trasplante de médula ósea, principalmente de tipo alogénico. Aunado a ello, el Centro Médico Nacional SXXI del IMSS cuenta con un área de laboratorio especial de citometría de flujo, que es reconocido a nivel internacional por contar con tecnología de punta que ha ido evolucionando con el paso de los años hasta contar el día de hoy con un citómetro de flujo BD FACSCanto II, sistema innovador de alto rendimiento, con apoyo de EuroFlow™ (consorcio científico de compañías y grupos de investigación que desarrollan y estandarizan estudios de citometría para que sean precisos, rápidos y altamente sensibles para el diagnóstico y clasificación pronóstica en enfermedades hematológicas malignas), metodología utilizada en publicaciones en revistas de alto impacto que analizan la misma asociación que nuestro estudio, haciendo que los resultados obtenidos puedan ser validos a nivel internacional.

La enfermedad mínima residual (EMR) por citometría de flujo ha demostrado ser un factor pronostico relevante en la literatura mundial en pacientes con múltiples patologías hematológicas, incluyendo mieloma múltiple, leucemias crónicas, y leucemias agudas, así como se asocia también con el trasplante de médula ósea, en publicaciones en fechas recientes.

Conocer la relación entre la presencia de enfermedad mínima residual y el pronóstico en estos pacientes nos podría ayudar a detectar a pacientes que obtendrían un mayor beneficio con el trasplante de médula ósea, así como poder detectar a los pacientes con mayor riesgo de recaída con el fin de buscar opciones de modulación inmunológica para abatir en lo posible su riesgo definido y mejorar su pronóstico, con posibilidad de ofrecer otras alternativas para lograr la mayor sobrevida libre de enfermedad y sobrevida global posible, como objetivos primordiales frecuentemente vistos en estudios publicados en la rama de Hematología.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la correlación que existe entre el estado en citometría de flujo en primeros 100 días de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas con la sobrevida libre de enfermedad posterior a trasplante y sobrevida global en pacientes con leucemia aguda?

OBJETIVOS

GENERALES:

Evaluar la correlación que existe entre el estado de la enfermedad mínima residual por citometría de flujo en los primeros 100 días de trasplante de células hematopoyéticas con la sobrevida libre de enfermedad posterior a trasplante en pacientes con leucemia aguda.

Evaluar la correlación que existe entre el estado de la enfermedad mínima residual por citometría de flujo en los primeros 100 días de trasplante de células hematopoyéticas con la sobrevida global en pacientes con leucemia aguda.

SECUNDARIOS:

Ninguno.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS DEL TRABAJO

La enfermedad mínima residual negativa por citometría de flujo en primeros 100 días de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas se asocia con una mayor sobrevida libre de enfermedad posterior a trasplante y sobrevida global.

MATERIAL Y METODOS

1. TIPO DE ESTUDIO.

Estudio observacional retrospectivo.

2. UNIVERSO DE TRABAJO.

Pacientes con diagnóstico confirmado de leucemia aguda por criterios morfológicos y/o por citometría de flujo a los que se les realizó trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en el Hospital de Especialidades de Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social entre Enero del 2011- Diciembre 2016, en los que se cuenta con enfermedad mínima residual en primeros 100 días de trasplante.

3. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES SEGÚN METODOLOGÍA.

- **Variables dependientes:**
 - **Recaída de la enfermedad:** reaparición de blastos en sangre periférica o médula ósea (>5%) o a cualquier lugar extramedular posterior a alcanzar remisión completa.
 - Tipo de variable: cualitativa. Escala de medición: dicotómica.
 - **Supervivencia libre de enfermedad posterior a trasplante:** Tiempo transcurrido entre que se realizó trasplante de células progenitoras hematopoyéticas hasta recaída o muerte.
 - Tipo de variable: cuantitativa, continua. Escala de medición: Meses
 - **Sobrevida global:** Periodo que transcurre desde la administración del tratamiento en estudio hasta el último control realizado o el fallecimiento del paciente.
 - Tipo de variable: cuantitativa, continua. Escala de medición: Meses

- **Muerte:** Término de la vida a causa de la imposibilidad orgánica de sostener el proceso homeostático. Se trata del final del organismo vivo que se había creado a partir de un nacimiento.
 - Tipo de variable: Cualitativa. Escala de medición: Dicotómica

- **Variables independientes:**
 - **Edad:** Es el intervalo de tiempo estimado o calculado entre el día, mes y año del nacimiento, y el día, mes y año en que ocurre el hecho expresado en unidad solar de máxima amplitud que se haya completado, o sea, años para los adultos y niños.
 - Tipo de variable cuantitativa, Escala de medición: Años cumplidos.
 - **Afección extramedular:** Documentación de presencia de blastos en líquido cefalorraquídeo, piel, encías, bazo, testículo o cualquier otro órgano.
 - Tipo de variable: Cualitativa. Escala de medición: Dicotómica.
 - **Fase de la enfermedad previo a trasplante:** Número de remisión completa alcanzada previas al trasplante de médula ósea, definida la remisión completa según la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines in Oncology como ausencia de blastos circulantes o enfermedad extramedular, no linfadenopatía, no esplenomegalia, no infiltración de piel o encías, no masa testicular, ausencia de involucro a SNC, definido por el médico tratante apoyado de estudios pertinentes para su descarte o documentación.
 - Tipo de variable: Cuantitativa. Escala de medición: Ordinal.
 - **Tipo de trasplante recibido:** Fuente de donde se obtuvieron las células progenitoras hematopoyéticas (alógeno, autólogo o de cordón umbilical)
 - Tipo de variable: Cualitativa. Escala de medición: Politómica.
 - **Acondicionamiento recibido:** Tipo de acondicionamiento recibido en esquema indicado de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, ya sea, irradiación corporal total con busulfan, busulfan con ciclofosfamida,

busulfan con etopósido, combinaciones con citarabina o esquemas de intensidad reducida.

- Tipo de variable: Cualitativa. Escala de medición: Politómica.
- **Inmunosupresión recibida:** Tipo de inmunosupresión recibida durante el trasplante de médula ósea, entre ellas, ciclosporina con metotrexate, ciclosporina con micofenolato, globulina antitimocito.
 - Tipo de variable: Cualitativa. Escala de medición: Politómica.
- **Estirpe de leucemia aguda:** Tipo de leucemia aguda padecida por el paciente según clasificación la OMS 2008 en Leucemia linfoblástica aguda [LLA] , leucemia bifenotípica [LBF] o leucemia mieloide aguda [LMA] (Anexo 1 y 2).
 - Tipo de variable: Cualitativa. Escala de medición: Dicotómica.
- **Estado de la enfermedad mínima residual:** Establecida por citometría de flujo multiparamétrica, se realiza el análisis de 500 000 a 1 000 000 de células, tomando de base el inmunofenotipo asociado a leucemia al diagnóstico en médula ósea, buscando posteriormente la persistencia de aberrancia en al menos 2 antígenos en las células hematopoyéticas en pacientes con la enfermedad (Tabla 4). Se toma el corte para enfermedad mínima residual de 0.01% tanto para leucemia linfoblástica aguda como para leucemia mieloide aguda [ej. 50 a 100 células enfermas] para clasificarse como positiva si es igual o mayor a este número de células enfermas o negativa si es menor.
 - Tipo de variable: Cualitativa. Escala de medición: Dicotómica.
- **Enfermedad injerto contra huésped:** Desarrollo o no de enfermedad injerto contra huésped en primeros 100 días de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.
 - Tipo de variable: Cualitativa. Escala de medición: Dicotómica.

4. SELECCIÓN DE LA MUESTRA.

A) TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Técnica de muestreo: No probabilístico. Se hizo captación consecutiva de pacientes que ingresaron al servicio de Hematología/Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, con el diagnóstico de leucemia aguda y que reúnan los criterios de inclusión durante el período de tiempo comprendido de Enero de 2011 y Diciembre 2016.

B) CRITERIOS DE SELECCIÓN:

1. Criterios de Inclusión

Pacientes mayores de 18 años.

De cualquier género.

Que cuenten con expediente clínico.

Diagnóstico de leucemia aguda por morfología y/o citometría de flujo.

Realización de trasplante de médula ósea.

Contar con enfermedad mínima residual basal o en los primeros 100 días posterior a trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.

2. Criterios de Exclusión

Pacientes con leucemia aguda secundaria a una fase blástica de leucemia mieloide crónica.

Pacientes con un segundo trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.

5. PROCEDIMIENTO GENERAL:

Se realizará una búsqueda documental en el servicio de Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas de Hospital Especialidades de Centro Médico Nacional Siglo XXI, los registros de pacientes que han recibido un trasplante, con diagnóstico basal de leucemia aguda ocurrido en el periodo entre Enero 2011 y Diciembre 2016, realizando cotejo con expediente clínico correspondiente para confirmación de datos. Se establecen criterios de inclusión y exclusión, así como se buscará el historial de citometrías de flujo realizadas en el mismo hospital, cotejando ambos para eleccionar a los pacientes del estudio dentro de los primeros 100 días de trasplante.

Se utilizará una base de datos en programa Excel y SPSS. Se capturarán en hoja de recolección de datos los siguientes aspectos: Edad, fecha de trasplante, tipo de trasplante (allogénico, autólogo o de cordón umbilical), estirpe de leucemia, presencia o ausencia de afección extramedular, fase de la enfermedad previo a trasplante (número de remisión completa alcanzada previo a procedimiento), acondicionamiento recibido, inmunosupresión recibida y estado de enfermedad mínima residual, fecha de recaída o muerte en los casos en los que se llega a un desenlace.

En laboratorio de citometría de flujo en Centro Médico Nacional Siglo XXI se cuenta con un citómetro BD FACScan II, sistema que utiliza un diseño óptico fijo y sistema electrónico digital avanzado que soporta el análisis multicolor de hasta 8 marcadores celulares fluorescentes y dos parámetros que miden la dispersión de luz (FSC y SSC), logrando con esto la identificación del tipo de célula hematopoyética, su estado madurativo, e identificación de marcadores aberrantes, entre otros aspectos.

En leucemias agudas de este Hospital se realiza el análisis por citometría de flujo multiparamétrica con una muestra de médula ósea obtenida de esternón o cresta iliaca, la cual se obtiene con una jeringa que contiene heparina no fraccionada a una concentración de 1000 U/ml, con dilución final de 5 ml de muestra con 1 ml de heparina). La muestra tomada es inmediatamente enviada a laboratorio de citometría a temperatura ambiente para ser procesada y analizada logrando una lectura de 500 000 hasta 1 000

000 células en caso de búsqueda de enfermedad mínima residual. Considerando su fenotipo asociado a leucemia inicial, se toma un valor de corte de 0.01% de células aberrantes para determinar a la enfermedad mínima residual como positiva si es mayor a este valor.

6. ANALISIS ESTADISTICO

Estadística descriptiva: Se utilizará estadística descriptiva de acuerdo a la distribución de la población en estudio (distribución normal: media y desviación estándar; libre distribución: mediana, moda y mínimo-máximo). Se analizará la relación entre la variable estado de la enfermedad mínima residual con la supervivencia libre de enfermedad posterior a trasplante (SLE) y sobrevida global (SG) por medio de la prueba de correlación Rho de Spearman.

Las variables con significancia de $p < 0.1$ serán incluidas en un análisis multivariado por un modelo de riesgos proporcionales de Cox.

Se realizará el análisis de SLE y SG por medio de las curvas de Kaplan-Meier de acuerdo a el estado de la enfermedad mínima residual. Se considerará estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$.

El análisis estadístico se realizará con el programa SPSS23.

ASPECTOS ÉTICOS

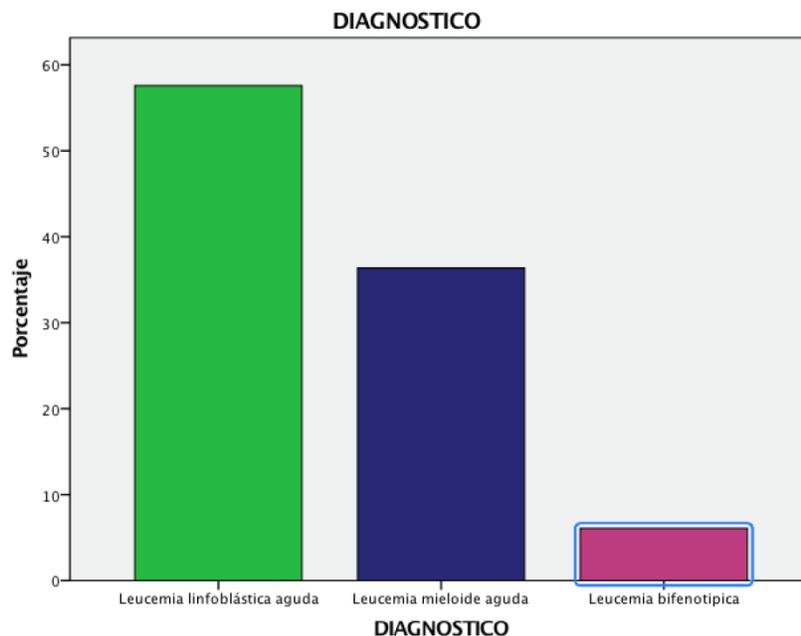
1. El presente estudio se apegó a las norma éticas, no implicando un riesgo de acuerdo al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud ni a la Declaración Helsinki y sus enmiendas; la población en la que se realizará no involucra a una población vulnerable como menores de edad, embarazadas o grupos subordinados.
2. De acuerdo a la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud se trata de un estudio sin riesgo, ya que se emplearán técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y no se realiza una ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio.
3. Se seleccionaron los expedientes comprendidos en las fechas señaladas que cumplan los criterios de inclusión y exclusión.
4. No se utilizaron identificadores y los nombres de los pacientes no se dieron a conocer en publicaciones ni presentaciones.
5. Se revisó una base de datos del laboratorio, conteniendo los resultados de citometrías de flujo, asignando de esta manera un número de folio con el que se identificó al paciente.
6. Se incluyó carta de consentimiento, solicitando a los paciente su autorización para obtención de los datos. El consentimiento lo solicitó un médico diferente al investigador.

RESULTADOS

En el período de Enero del 2011 a Diciembre del 2016 hubo un total de 109 pacientes sometidos a trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas en el Hospital de Especialidades, de los cuales en 87 de ellos (79.8%) la indicación del trasplante fue leucemia. De esta población (n: 87), se aplicaron criterios de inclusión y exclusión seleccionando a un total de 72 pacientes para la inclusión en nuestro estudio, en estos, la indicación por tipo de leucemia que llevo a los pacientes al trasplante se muestra en el gráfico a continuación (*Gráfica 1*).

Se realizó una revisión para ver la disponibilidad de estudio de enfermedad mínima residual, sujeto de nuestro estudio y solo el 45.8% (n=33) contaban con estudio realizado en los primeros 100 días del trasplante, mismos que se sometieron a análisis estadístico de acuerdo a los objetivos de nuestro estudio.

Gráfica 1. Indicaciones más comunes de trasplante en población general (n:72)



Características de la población

Las características de la población estudiada (n=33) con EMR valorable se describen en la *Tabla 5*; se encontró una mediana de edad de 31 años, con un rango de 18- 59 años; el 57.8% (18) de los casos tenía diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda, un 36.4% (12) leucemia mieloide aguda y leucemia bifenotípica en 6.1% (2); en 6.1% se presentó afección extramedular en la evolución de su enfermedad. En 84.8% (28) se realizó trasplante alogénico, en 9.1% (3) autólogo, y en 6.1% (2) de sangre de cordón umbilical. Al momento del trasplante, el 78.8% (26) se encontraban en 1era remisión completa, 15.2% (5) en 2da remisión completa y 6.1% en 3era remisión completa previo al trasplante. El acondicionamiento fue mieloablativo en 81.8% (28) casos, con esquema de intensidad reducida en 18.2% (5) de los pacientes; la inmunosupresión fue con ciclosporina y metotrexate 72.7% (24), 9.1% (3) con ciclosporina y micofenolato, 9.1% con ciclosporina, micofenolato y GAT, 9.1% (3) no recibieron inmunosupresión por tratarse de un trasplante autólogo; en 27.3% de los pacientes hubo presencia de EICH al día 100; un número de 33 pacientes contaron con EMR valorable, siendo positiva en el 24.2% de ellos (8); se presentó recaída en el 36.4% (12) de casos con mortalidad en el 39.4% (13) de los pacientes.

Edad (años)	Mediana: 31 (18-59)
Diagnóstico	LLA 57.6%(19) LMA 36.4%(12) LBF 6.1 (2)
Afección extramedular	No 93.9% (31) Si 6.1% (2)
Tipo de trasplante	Alogénico 84.8% (28) Autólogo 9.1% (3) Cordón 6.1% (2)
Fase diagnóstica	1era RC 78.8% (26) 2da RC 15.2% (5) 3era RC 6.1% (2)

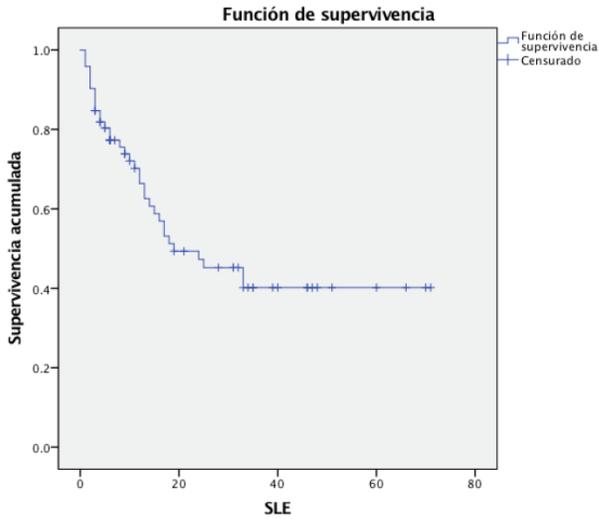
Acondicionamiento	BuCy2	54.5% (18)
	BuCy+VP16	15.2% (5)
	Bu/VP16	9.1% (3)
	ICT+Cy	3.0% (1)
	EIR	18.2% (6)
Inmunosupresión	Ninguno	9.1% (3)
	CsA/Mtx	72.7% (24)
	CsA/Mcf	9.1% (3)
	CsA/Mcf/GAT	9.1% (3)
EICH al día 100	No	72.7% (24)
	Si	27.3% (9)
EMR	Positiva	24.2% (8)
	Negativa	75.8% (25)
Recaída	No	63.6% (21)
	Si	36.4% (12)
Muerte	No	60.6% (20)
	Si	39.4% (13)
Seguimiento (meses)	12 (2-48 meses)	

LLA: Leucemia linfoblástica aguda, LMA: Leucemia mieloblástica aguda, LBF: Leucemia bifenotípica, RC: Remisión completa, Bu:Busulfán, Cy:Ciclofosfamida, VP16: Etopósido, ICT: Irradiación corporal total, Cy: Ciclofosfamida, Flu: Fludarabina, CsA: Ciclosporina, Mtx: Metotrexate, Mcf: Micofenolato, GAT: Globulina anti-timocito, EICH: Enfermedad injerto contra huésped.

Tabla 5. CARACTERISTICA DE LA POBLACION CON EMR VALORABLE (n:33)

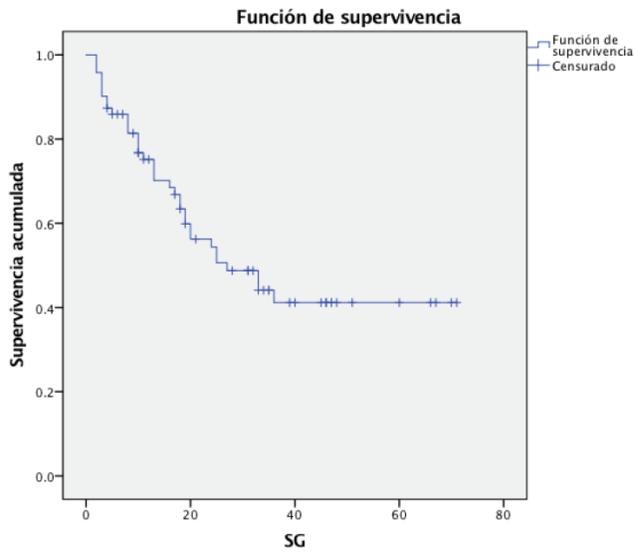
Analizando a la población general (n:72) con curva de Kaplan-Meier y χ^2 [Tabla 6] se encontró una estimación de mediana en sobrevida libre de enfermedad de 19.0 meses con un IC de 95% (rango 5.83 - 32.17 meses), con una mediana en sobrevida global de 27.0 meses IC 95% (rango 13.3 – 40.6 meses) [Tabla 7].

Tabla 6. SLE en población general (n: 72)



Mediana			
Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
19.000	6.719	5.830	32.170

Tabla 7. SG en población general (n:72)



Mediana			
Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %	
		Límite inferior	Límite superior
27.000	6.953	13.372	40.628

Se realizó el análisis estadístico para *sobrevida libre de enfermedad* posterior a trasplante en pacientes con enfermedad mínima residual valorable (n:33) [Tabla 8] no encontrando significancia estadística al realizar comparación de pacientes con enfermedad mínima residual positiva contra pacientes con enfermedad mínima residual negativa según χ^2 [p 0.86] [Tabla 9], no alcanzando la mediana de SLE demostrado con curvas de Kaplan-Meier. Dentro de el resto de las variables se encontró solamente significancia estadística según el diagnóstico, encontrando una tendencia hacia una mejor SLE en pacientes con leucemia mieloide aguda [p 0.003] en comparación a leucemia linfoblástica aguda y leucemia bifenotípica. [Tabla 10]. Dentro del resto de variables las cuales no resultaron significativas, la afección extramedular arrojó una p 0.319, el tipo de trasplante p 0.171, la fase diagnóstica p 0.496, el régimen de acondicionamiento p 0.484, el tipo de inmunosupresión p 0.115, presencia o no de EICH al día 100 p 0.688.

Utilizando la prueba Rho de Spearman [Tabla 11], no hubo correlación entre el estado de la enfermedad mínima residual y SLE (p 0.742), encontrando solo significancia estadística en la variable de inmunosupresión (p 0.035), mas al realizar el análisis multivariado por regresión de Cox no se vió ninguna significancia estadística [Tabla 12]

Tabla 8. SLE en pacientes con enfermedad mínima residual valorable (n: 33)

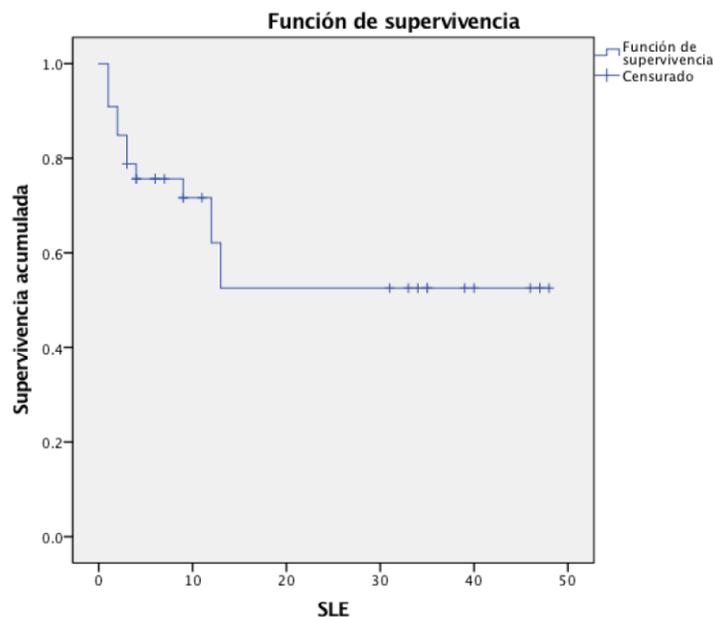


Tabla 9. SLE según estado de enfermedad mínima residual ($n:33$)= p 0.86

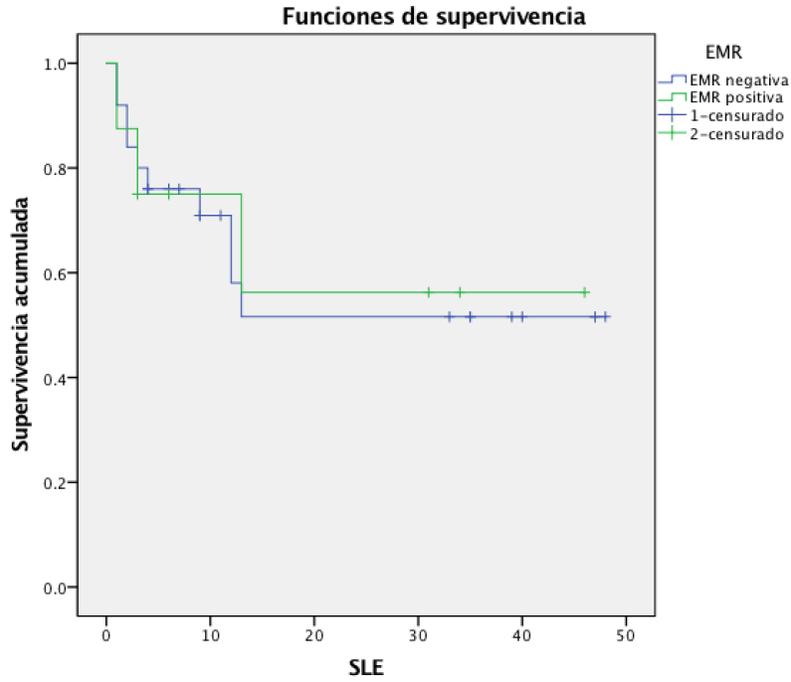


Tabla 10. SLE según diagnóstico en población con enfermedad mínima residual valorable ($n:33$) = p 0.003

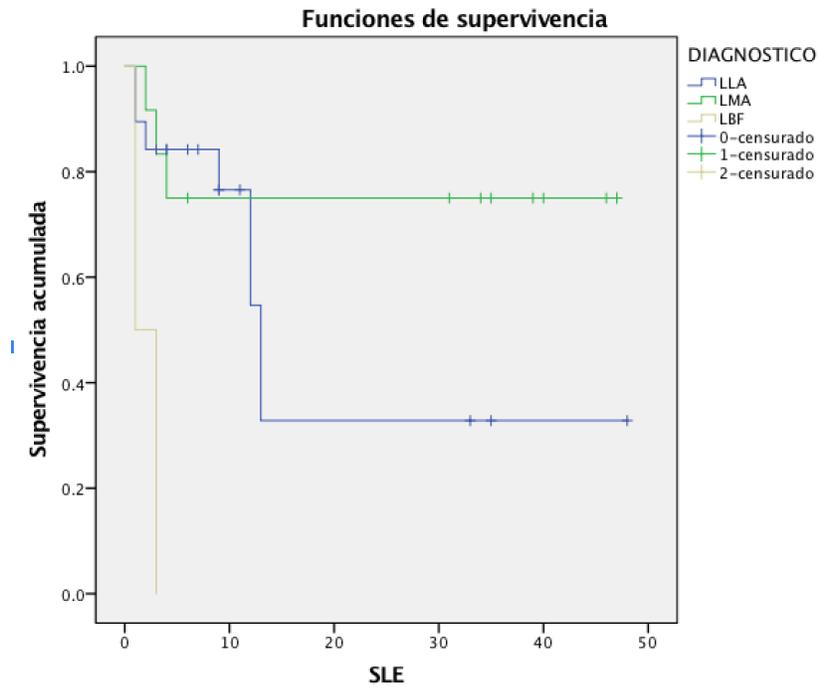


Tabla 11. Correlacion entre variables utilizando Rho de Spearman.

			EMR	SLE_apar tirdeTMO
Rho de Spearman	EMR	Coefficiente de correlación	1.000	-.060
		Sig. (bilateral)	.	.742
		N	33	33
	SLE_apar tirdeTMO	Coefficiente de correlación	-.060	1.000
		Sig. (bilateral)	.742	.
		N	33	33

		SLE_apar tirdeTMO	EDAD_AL _TMO	DIAGNOS TICO	AFECCIO N_EXTR AMED	Tipo_de_ trasplan te	Fase_Dx _PreTCP H	Acondici onamient o	Inmunos up	RECAIDA	MUERTE	EICH_AL_ DIA_100
SLE_apar tirdeTMO	Coefficiente de correlación	1.000	.063	.108	.040	.255	.058	.104	-.368*	-.524**	-.548**	.100
	Sig. (bilateral)	.	.727	.549	.825	.152	.748	.564	.035	.002	.001	.579
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33

Tabla 12. Estudio de regresión de Cox. (n:33)

		Puntuaci ón	gl	Sig.	
Paso 1	EMR	.234	1	.629	
	EDAD_AL_TMO	.558	1	.455	
	DIAGNOSTICO	1.622	1	.203	
	AFECCION_EXTR AMED	1.101	1	.294	
	Tipo_de_trasplan te	2.336	1	.126	
	Fase_Dx_PreTCP H	.286	1	.593	
	Acondicionamient o	3.620	1	.057	
	Inmunosup	7.881	1	.005	
	EICH_AL_DIA_10 0	.611	1	.434	
	Paso 2	EMR	.004	1	.952
EDAD_AL_TMO		.249	1	.618	
DIAGNOSTICO		3.854	1	.050	
AFECCION_EXTR AMED		.720	1	.396	
Tipo_de_trasplan te		.027	1	.869	
Fase_Dx_PreTCP H		.040	1	.841	
Acondicionamient o		.726	1	.394	
EICH_AL_DIA_10 0		.167	1	.683	
Paso 3		EMR	.003	1	.954
		EDAD_AL_TMO	.079	1	.779
	AFECCION_EXTR AMED	.560	1	.454	
	Tipo_de_trasplan te	.049	1	.824	
	Fase_Dx_PreTCP H	.317	1	.573	
	Acondicionamient o	.355	1	.551	
	EICH_AL_DIA_10 0	.010	1	.919	

a. Chi cuadrado de residuo = 15.156 con 9 Sig. de gl = .087

b. Chi cuadrado de residuo = 5.977 con 8 Sig. de gl = .650

c. Chi cuadrado de residuo = 1.824 con 7 Sig. de gl = .969

Se realizó de igual manera análisis estadístico para *sobrevida global* (SG) en pacientes con enfermedad mínima residual valorable, sin alcanzar la mediana de SG [Tabla 13],

encontrándose solo significancia estadística en la variable de diagnóstico, viéndose una tendencia hacia mejoría de SG en curva de Kaplan-Meier utilizando χ^2 en pacientes con leucemia mieloide aguda [p 0.007] en comparación con leucemia linfoblástica aguda y leucemia bifenotípica, sin encontrar significancia estadística en resto de variables (afección extramedular p 0.3, tipo de trasplante p 0.107, fase diagnóstica p 0.477, régimen de acondicionamiento p 0.335, tipo de inmunosupresión p 0.067, EICH al día 100 p 0.716), incluyendo estado de la enfermedad mínima residual (p 0.794) [Tabla 14]. En prueba de Rho de Spearman [Tabla 15] se mostró significancia estadística en el tipo de trasplante [p 0.049] y acondicionamiento [p 0.001], mas al realizar el análisis multivariado por regresión de Cox [Tabla 16] no hubo significancia estadística.

Tabla 13. Sobrevida global en pacientes con enfermedad mínima residual valorable (n:33)

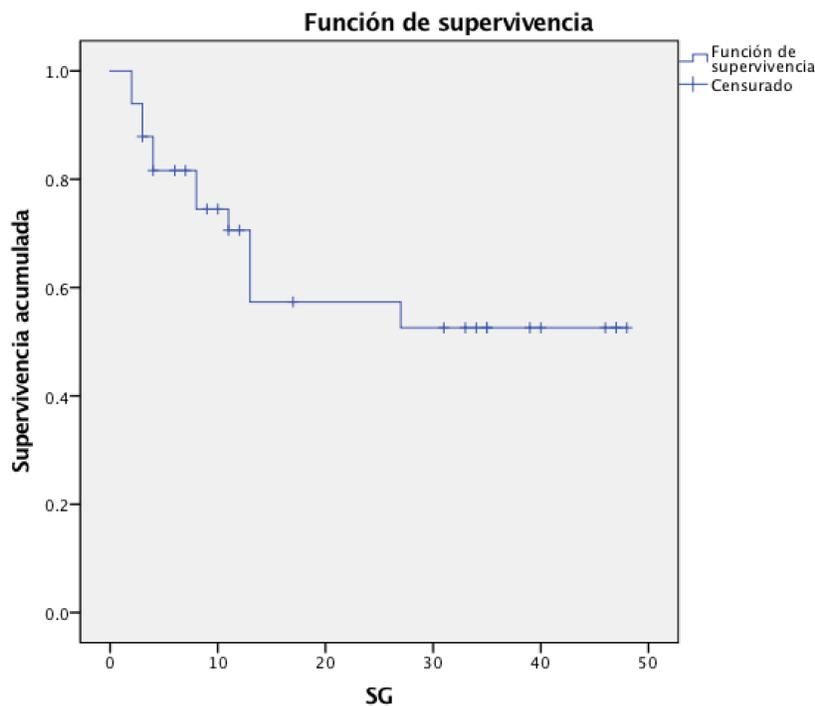


Tabla 14. SG en pacientes con EMR negativa contra pacientes con EMR positiva. [p 0.794]

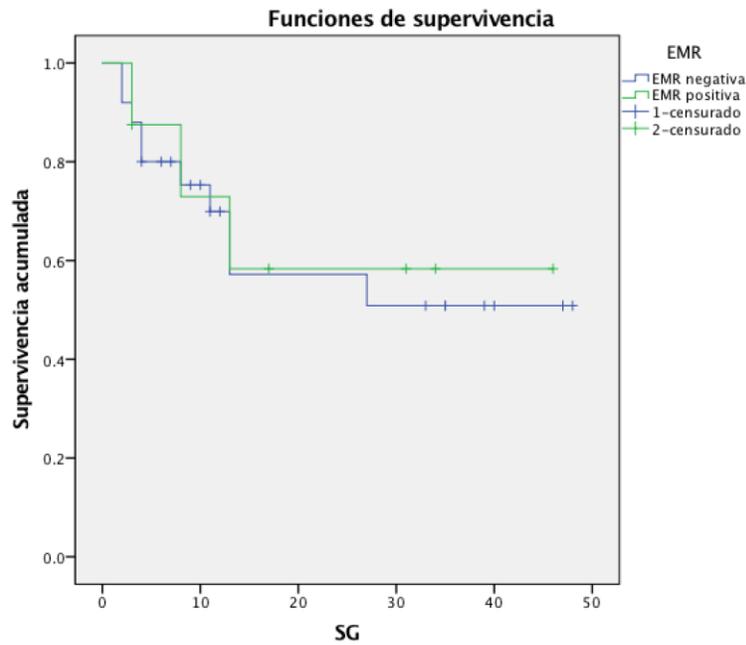


Tabla 15. Prueba Rho de Spearman

		EDAD_AL_TMO	DIAGNOSTICO	AFECCION_EXTRAMED	Tipo_de_trasplante	Fase_Dx_PreTCP H	Acondicionamiento	Inmunosup	RECAIDA	MUERTE	EICH_AL_DIA_100
EMR	Coefficiente de correlación	.007	.051	.153	.345*	-.130	.550**	.171	-.134	-.022	-.188
	Sig. (bilateral)	.967	.778	.396	.049	.470	.001	.342	.458	.904	.296
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	33

Tabla.16 Regresión de Cox

		Puntuación	gl	Sig.
Paso 1	EMR	.010	1	.921
	EDAD_AL_TMO	.360	1	.548
	DIAGNOSTICO	1.938	1	.164
	AFECCION_EXTRAMED	1.124	1	.289
	Tipo_de_trasplante	2.709	1	.100
	Fase_Dx_PreTCP H	.238	1	.625
	Acondicionamiento	3.918	1	.048
	Inmunosup	8.591	1	.003
	EICH_AL_DIA_100	.350	1	.554
	Paso 2	EMR	.224	1
EDAD_AL_TMO		.062	1	.804
DIAGNOSTICO		4.117	1	.042
AFECCION_EXTRAMED		.732	1	.392
Tipo_de_trasplante		.114	1	.736
Fase_Dx_PreTCP H		.023	1	.878
Acondicionamiento		.663	1	.416
EICH_AL_DIA_100		.046	1	.830

Paso 3	EMR	.114	1	.736
	EDAD_AL_TMO	.283	1	.595
	AFECCION_EXTRAMED	.590	1	.442
	Tipo_de_trasplante	.177	1	.674
	Fase_Dx_PreTCP H	.350	1	.554
	Acondicionamiento	.313	1	.576
	EICH_AL_DIA_100	.121	1	.728

- a. Chi cuadrado de residuo = 15.156 con 9 Sig. de gl = .087
- b. Chi cuadrado de residuo = 5.977 con 8 Sig. de gl = .650
- c. Chi cuadrado de residuo = 1.824 con 7 Sig. de gl = .969

DISCUSION Y CONCLUSIONES.

El presente estudio no mostró correlación entre el estado de enfermedad mínima residual por citometría de flujo en los primeros 100 días de trasplante con la supervivencia libre de enfermedad ni con supervivencia global, más al no ser alcanzada la mediana, se requiere un estudio con mayor número de muestra y un mayor seguimiento de los pacientes para intentar demostrar el beneficio que se ha reportado en la literatura internacional en pacientes con enfermedad mínima residual negativa en cuanto a supervivencia libre de enfermedad posterior a trasplante y supervivencia global. Se mostró una tendencia hacia mejoría en supervivencia libre de enfermedad posterior a trasplante en pacientes con leucemia mieloide aguda justo como se ha descrito en la literatura, mas ésta no relacionada a estado de la enfermedad mínima residual.

Se espera alcanzar esta meta en cuanto a número de pacientes al contar con mayor apoyo institucional para compra de reactivos de citometría de flujo, que tienen un elevado costo, haciendo de esta manera la prueba más accesible para incrementar el número de muestra, esperando además lograr una n adecuada al acumular un mayor número de trasplantes en esta unidad.

En cuanto al corto seguimiento, en un futuro cercano se espera incrementar a un número de meses significativo, ya que la demanda de este estudio para pacientes de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas se ha incrementado en los últimos años, esperando se agregue a la base de datos actual el número suficiente de pacientes y número de meses en seguimiento adecuado para lograr valorar los objetivos del estudio, en búsqueda de la correlación entre las variables descritas.

BIBLIOGRAFIA

1. Kaushansky M.D, Williams Hematology. 9th ed. New York: McGraw-Hill; 2016; 1379-1380, 1505-1506.
2. Globocan 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. www.globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx.
3. Vickers M, Jackson G, Taylor P: Incidence of acute promyelocytic leukemia appears constant over most of a human life span, implying only one rate limiting mutation. *Leukemia* 2000; 14; 727.
4. American Cancer Society: Cancer Facts and Figures 2014. <http://www.cancer.org>.
5. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2010, National Cancer Institute. Bethesda, MD, Última revisión Junio 14, 2013. http://seer.cancer.gov/csr/1975_2010.
- 6- James W. Vardiman, Juergen Thiele et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009; 114; 937-951
7. Ravandi F. Relapsed acute myeloid leukemia: why is there no standard of care? *Best Pract Res Clin Haematol* 2013; 26: 253–259.
8. Bachas C, Schuurhuis GJ, Assaraf YG, Kwidama ZJ, Kelder A, Wouters F et al. The role of minor subpopulations within the leukemic blast compartment of AML patients at initial diagnosis in the development of relapse. *Leukemia* 2012; 26: 1313–1320.
9. Apperley J., Carreras E. The 2012 Revised Edition of the EBMT-ESH Handbook on Haematopoietic Stem Cell Transplantation; 2012;19.
10. Goldstone AH, Richards SM, Lazarus HM, et al: In adults with standard-risk acute lymphoblastic leukemia, the greatest benefit is achieved from a matched sibling allogeneic transplantation in complete remission, and an autologous transplantation is

less effective than conventional consolidation/maintenance chemotherapy in all patients: Final results of the International ALL Trial (MRC UKALL XII/ECOG E2993). *Blood* 2009 111:1827, 2008.

11. Gupta V, Richards S, Rowe J, Acute Leukemia Stem Cell Transplantation Trialists Collaborative Group: Allogeneic, but not autologous, hematopoietic cell transplantation improves survival only among younger adults with acute lymphoblastic leukemia in remission: An individual patient data meta-analysis. *Blood* 121:339, 2013.

12. Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, et al. Revised recommendations of the international working group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment 2 outcomes, and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2003;21(24):4642-4649.

13. Ferrara F, Schiffer CA. Acute myeloid leukaemia in adults. *Lancet*. 2013;381(9865):484-495.

14. Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2015;373(12):1136-1152.

15. Coustan-Smith E, Campana D. Should evaluation for minimal residual disease be routine in acute myeloid leukemia? *Curr Opin Hematol*. 2013;20(2):86-92.

16. Hourigan CS, Karp JE. Minimal residual disease in acute myeloid leukaemia. *Nat Rev Clin Oncol*. 2013;10(8):460-471.

17. Grimwade D, Freeman SD. Defining minimal residual disease in acute myeloid leukemia: which platforms are ready for "prime time"? *Blood*. 2014;124(23):3345-3355.

18. Paietta E. Minimal residual disease in acute myeloid leukemia: coming of age. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012: 35-42.

19. Hokland P, Ommen HB, Mulé MP, Hourigan CS. Advancing the minimal residual disease concept in acute myeloid leukemia. *Semin Hematol*. 2015;52(3):184-192.

20. Ommen HB. Monitoring minimal residual disease in acute myeloid leukaemia: a review of the current evolving strategies. *Ther Adv Hematol.* 2016;7(1):3-16.
21. Dario Campana. Minimal Residual Disease in Acute Lymphoblastic Leukemia. *American Society of Hematology Self-Assesment Program* 2010; 9.
22. Estey EH. Acute myeloid leukemia: 2013 update on risk-stratification and management. *Am J Hematol* 2013; 88: 318–327.
23. Döhner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2010; 15: 453–474.
24. Grossmann V, Schnittger S, Kohlmann A, Eder C, Roller A, Dicker F et al. A novel hierarchical prognostic model of AML solely based on molecular mutations. *Blood* 2012; 120: 2963–2972.
25. Kröger N, Bacher U, Bader P, Böttcher S, Borowitz MJ, Dreger P et al. NCI First international workshop on the biology, prevention, and treatment of relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: report from the committee on disease-specific methods and strategies for monitoring relapse following allogeneic stem cell transplantation. part i: methods, acute leukemias, and myelodysplastic syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16: 1187–121
26. Buckley SA, Appelbaum FR, Walter RB. Prognostic and therapeutic implications of minimal residual disease at the time of transplantation in acute leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48: 630–641.
27. Pulsipher MA, Langholz B, Wall DA, Schultz KR, Bunin N, Carroll WL et al. The addition of sirolimus to tacrolimus/methotrexate GVHD prophylaxis in children with ALL: a phase 3 Children's Oncology Group/Pediatric Blood and Marrow Transplant Consortium trial. *Blood* 2014; 123: 2017–2025.

28. Jaso JM. Multi-color flow cytometric immunophenotyping for detection of minimal residual disease in AML: past, present and future. *Bone Marrow Transplantation* 2014; 39; 1130.
29. Krampera Mauro, Perbellini Omar. Methodological approach to minimal residual disease detection by flow cytometry in adult B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2006, 91:1109-1112 .
30. Walter RB, Buckley SA, Pagel JM, Wood BL, Storer BE, Sandmaier BM et al. Significance of minimal residual disease before myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for AML in first and second complete remission. *Blood* 2013; 122: 1813–1821.
31. Frederick R. Appelbaum et al. Measurement of minimal residual disease before and after myeloablative hematopoietic cell transplantation for acute leukemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 2013; 26; 279–284.

ANEXOS

Anexo 1. Hoja de recolección de datos

Iniciales del paciente:	Número de folio:
Edad:	Diagnóstico: LLA / LMA
Afección extramedular: SI / NO	Tipo de trasplante: Alogénico Autólogo Cordón
Fecha de trasplante:	Fase de enfermedad previo a trasplante: 1era RC/ 2da RC / 3era RC/ Otra
Acondicionamiento recibido:	Inmunosupresión recibida:
Recaída: SI / NO Fecha:	Muerte: SI / NO Fecha:
Enfermedad mínima residual: Positiva/ Negativa Fecha y día de trasplante [EMR](1): Fecha y día de trasplante [EMR] (2):	Enfermedad injerto contra huésped en primeros 100 días de trasplante: SI / NO