



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.



FACULTAD DE MEDICINA.

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO.

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO.

CENTRO MÉDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE.

LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS. CENTRO MÉDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE. EXPERIENCIA DE 7 AÑOS.

TESIS DE POSGRADO.

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN
HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA.

P R E S E N T A.

DRA. PAULA PEÑA ALCÁNTARA

ASESOR DE TESIS:

DRA. LAURA ELIZABETH MERINO PASAYE.

CIUDAD DE MÉXICO, 11 DE OCTUBRE DEL 2018.



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.

AUTORIZACIONES

DR. MAURICIO DI SILVO LÓPEZ.
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN.

DRA. LUZ VICTORIA FLORES VILLEGAS.
JEFA DEL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA.

DRA. LAURA ELIZABETH MERINO PASAYE.
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA.

DRA. LAURA ELIZABETH MERINO PASAYE.
DIRECTOR DE TESIS.

DRA. PAULA PEÑA ALCÁNTARA.
TESISTA.
MEDICO RESIDENTE DE SEGUNDO AÑO DE LA SUBESPECIALIDAD DE
HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA.

ÍNDICE.

RESUMEN.....	5
ABREVIATURAS.....	8
ANTECEDENTES.....	9
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
JUSTIFICACIÓN.....	17
HIPÓTESIS.....	18
OBJETIVO GENERAL.....	18
OBJETIVOS PARTICULARES.....	18
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	18
ASPECTOS ÉTICOS.....	24
CONFLICTO DE INTERESES.....	24
CONDICIONES DE BIOSEGURIDAD.....	24
RECURSOS.....	24
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES PROGRAMADAS.....	25
RESULTADOS.....	26
DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	28
CONCLUSIONES	30
GRAFICAS Y TABLAS.....	31
BIBLIOGRAFÍA.....	41

Ve lo que los demás no ven. Lo que los demás deciden no ver, por temor, conformismo o pereza. Ve el mundo de forma nueva cada día.

(Patch Adams.)

RESUMEN.

La leucemia mieloide aguda (LMA) es un grupo de enfermedades con diferentes características biológicas entre sí; a pesar de los avances en su conocimiento, éstos aún no impactan en la supervivencia a largo plazo.

Las leucemias agudas constituyen el 30% del total del cáncer en la infancia, y de ellas, el 15-20% son LMA. Con las terapias actuales de tratamiento la supervivencia libre de enfermedad a 5 años es alrededor del 50%, e independientemente del tratamiento el 30% de los niños con LMA presentarán recurrencia de la enfermedad, esto en parte debido a la imposibilidad de erradicar el componente leucémico de las células madre o células troncales leucémicas (LSC). Es importante considerar que, en contraste con la leucemia aguda linfoblástica o LAL, donde se han registrado avances significativos, la frecuencia de curación para LAM ha mejorado sólo en forma parcial en las últimas dos décadas. Esta leucemia (LAM) ha sido clasificada en 8 subtipos por el grupo cooperativo francés, americano y británico (FAB), basándose en la morfología y en la tinción histoquímica, lo que ha mejorado el conocimiento de esta enfermedad, de sus bases moleculares y su biología, desarrollándose mejores estrategias terapéuticas ^(1,2). La Leucemia Mieloide Aguda infantil se diagnostica cuando hay más de 20% de mieloblastos en la médula ósea de acuerdo a la Organización mundial de la Salud.

Objetivo: Describir las características de la población de pediátrica con LMA en Centro Médico Nacional 20 de noviembre, la respuesta a tratamiento, las complicaciones y evaluar posibles factores relacionados con supervivencia.

Material y Métodos: La población serán pacientes escolares derechohabientes del ISSSTE con diagnóstico de LMA, el estudio a realizar será retrospectivo donde se analizara el expedientes clínicos de Pacientes con diagnóstico de LMA (no promielocítica) en el periodo 01 de enero 2010 hasta 31 de agosto del 2017. Esquemas de tratamiento utilizados: AML-87, dosis altas de citarabina y trasplante de células hematopoyéticas autólogo como consolidación.

Análisis estadístico: Las variables continuas se describieron mediante medianas e intervalos y las variables categóricas en frecuencias y proporciones. Se emplearon curvas de Kaplan-Meier para SG y SLE, y se compararon las curvas mediante el método de Log-Rank. Los factores relacionados con supervivencia se evaluaron mediante el método de regresión de riesgos proporcionales de Cox. Se estableció correlación entre variables mediante r de Pearson.

Resultados: Con un total de 31 pacientes han sido integrados al estudio, de los cuales el 41,94% corresponden al sexo femenino, el otro 58,06% corresponden al sexo masculino.

Los pacientes fueron valorados por el tipo de Cariotipo, se identificó que el 64,25% fueron normales, en segundo lugar se observó la trisomía 21 y el cariotipo T (8:21), cada uno representado con un 6,45%, el restante de la población obtuvo casos aislados, los cuales fueron representado por un solo caso

La incidencia de los casos de Mortalidad fue del 74,19%. También se observó que los casos que recibieron el trasplante de medula ósea corresponden al 25,81%.

La primera valoración fue entre el diagnóstico de la Enfermedad y el momento de la defunción, la media de la edad del diagnóstico fue a los 7,67 años de edad, mientras que la media de la edad de la defunción se encuentra a los 9,5 años, con una diferencia entre medias de 1.83 años.

Posteriormente se hizo la asociación de riesgo entre los casos de Trasplante de medula ósea en relación con los casos de mortalidad, un total de 8 casos recibieron el trasplante, de los cuales 6 pacientes finalizaron, la estimación de X^2 fue de 8,64 y una p 0,353, en donde el valor obtenido se considera como no estadísticamente significativo, adicionalmente se hizo la estimación de riesgo por medio de un Odds Ratio, el valor de OR 1,05 (IC95% 0,16 – 6,74), este valor se considera como indeterminado, por lo tanto no existe asociación de riesgo.

En el análisis de sobrevida se observó una media de 2,62 años para los pacientes con trasplante de medula ósea, mientras que no recibieron el trasplante obtuvieron

una media de 2,03, al parecer este tipo de terapia solo otorga una sobrevida de unos 6 meses de diferencia.

ABREVIATURAS

LMA: Leucemia mieloide aguda.

FAB: Grupo Cooperativo francés, americano y británico.

SNC: Sistema Nervioso Central.

LLA: Leucemia linfoblástica aguda

OMS: Organización Mundial de la Salud.

APL: leucemia promielocítica aguda.

NPM/: nucleofosfamida.

CEBPA: proteína de unión al potenciador de CCAAT alfa.

c-Kit: tirosincinasa de receptor CD117.

DTI-FLT3: duplicaciones en tándem internas de tirosina cinasa similar a Fms-3. minima residual EMR: enfermedad ,

SEER: Programa de Vigilancia, Epidemiología y Resultados Finales.

TCPH: Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas.

Ara-C: Citarabina.

VP-16: Etopósido.

ANTECEDENTES

MARCO TEÓRICO.

LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

Definiremos como leucemia mieloide aguda (LMA) a la proliferación maligna de blastos con diferenciación mieloide⁽¹⁾. Para ello el examen microscópico de la morfología de los elementos de la médula ósea se hará utilizando la coloración de Wright o Wright-Giemsa. Las coloraciones de mieloperoxidasa y esterasas no específicas serán para definición histoquímica del linaje celular. Se hará clasificación morfológica de acuerdo a los criterios FAB. Médula ósea con la presencia de células blásticas en 20% o más, determinado como porcentaje de todas las células nucleadas medulares, y con la confirmación de diferenciación mieloide de dichos blastos: $\geq 3\%$ mieloperoxidasa, o $>20\%$ positividad de esterasas no específicas con patrón monocítico. ⁽²⁾

Históricamente el diagnóstico y la respuesta al tratamiento se han evaluado a través de criterios morfológicos y en las últimas décadas ha adquirido importancia la importancia del inmunofenotipo realizada con citometría de flujo, así como los marcadores citogenéticos y moleculares; los cuales, son importantes en el pronóstico de estos pacientes. ⁽³⁾

Nivel de riesgo basado en alteraciones citogenéticas y moleculares.

Riesgo bajo:

- FAB M1 ó M2 con cuerpos de Auer
- FAB M4 con Eosinofilia
- Blastos: $< 6\%$ en la médula ósea del día 15 de la Inducción a la Remisión
- t(8;21)
- inv(16) o t(16:16)
- t (15;17)

- Pacientes con síndrome de Down
- Cariotipo normal con mutaciones de NPM1 o mutación aislada de CEBPA en ausencia de DTI-FLT3.

Riesgo intermedio.

- Citogenética normal.
- +8.
- t (9;11).
- t (8;21), inv (16), t(16:16) con mutación de c-KIT.
- No definida como riesgo bajo o elevado.

Todos los pacientes que no cumplan los requisitos antes mencionados.

Reclasificación a Riesgo Alto:

- Si FLT3-ITD
- Si Blastos > 5% al día 15
- Si aplasia pos Inducción
- Cariotipo complejo (>= 3 alteraciones cromosómicas clonales)
- Cariotipo monosómico (al menos 2 monosomías o 1 monosomía + 1 alteración estructural)
- -5, 5q-, -7, 7q-
- 11q23: sin t (9;11)
- Inv. (3), t (3;3)
- t (6;9)
- t (9;22)
- Citogenética normal con mutación de DTI-FLT3.

Los pacientes catalogados como de Riesgo Alto con donador compatible serán incluidos en el programa de Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas (TCPH), continuarán quimioterapia de mantenimiento en el protocolo hasta la realización de este o completar 12 meses.

Los pacientes catalogados como de Riesgo Estándar o sin donador compatible continuarán en quimioterapia de mantenimiento hasta completar 12 meses y posteriormente pasarán a observación.

CLASIFICACIÓN DE GRUPO COOPERATIVO FRANCÉS, AMERICANO Y BRITÁNICO (FAB).

El primer sistema amplio de clasificación morfológica e histoquímica de la LAM, fue el desarrollado por la FAB. Este sistema clasifica la LAM en los siguientes subtipos principales, basados esencialmente en la morfología y detección inmunohistoquímica de los marcadores de linaje:

Tipo	Nombre	Morfología	Histoquímica
MO	Indiferenciada	Blastos grandes, agranulares, indiferenciados. >90% blastos	MP- SN B – ^b
M1	Mieloblástica aguda sin maduración	Indiferenciada, >90% blastos, < 10% promielocitos/monocitos	MP+, SN+, PAS -
M2	Mieloblástica aguda con maduración	> 30% y < 89% blastos; >10% promielocitos, mielocitos ; < 20% monocitos	MP+, SN+, PAS-
M3	Aguda promielocítica hipergranular	>20% de promielocitos anormales hipergranulares, Cuerpos de Auer presentes	MP+, SN+, PAS-
M3v	Aguda promielocítica variante microgranular	Fina granularidad del citoplasma en los promielocitos, núcleos bilobulados.	MP+, SN+, PAS-
M4	Aguda mielomonocítica	>30% blastos en serie no eritroide, >20% pero <80% monolitos. Monocitos en sangre periférica >5x10 ⁹ /L; lisozima >3v lo normal.	MP+, NASDA +
M4Eo	Aguda mielomonocítica con eosinofilia	>5% eosinófilos anormales con gránulos basófilos.	MP+, NASDA+ eosinófilos, PAS+
M5a	Monocítica aguda	>80% células monocíticas son monoblastos, resto son promonocitos/monocitos	MP+, NASDA+
M5b	Monocítica aguda con diferenciación	<80% células monolíticas son monoblastos, el resto son promonocitos/ monocitos.	MP+,NASDA+
M6	Eritroleucemia	>30% de la serie no eritroide son blastos; >50% de la médula ósea son eritroblastos	PAS+, sideroblastos con tinción de Fe ²⁺
M7	Megacarioblástica Aguda	>30% de la serie no eritroide son megacarioblastos;	MP-, SN-, NASDA plaquetaria +, MP+

La clasificación de la LMA de la OMS sigue evolucionada e incorporando nuevas mutaciones moleculares detectadas con consecuencias definidas sobre la biología de la enfermedad. Se basa en el concepto de que se pueda definir diferentes grupos de LMA como enfermedades específicas mediante la correlación entre la morfología, la citoquímica, el inmunofenotipo, la genética y las manifestaciones clínicas. (1)

<p>⇒ LMA con anomalías citogenéticas características o recurrentes</p> <ul style="list-style-type: none"> • LMA con t(8;21)(q22;q22); (AML1/ETO). • LMA con inv(16)(p13q22) o t(16;16)(p13;q22); (CBFB/MYH11). • Leucemia promielocítica aguda (LMA con t(15;17)(q22;q12); (PML/RARα) y variantes) • LMA con anomalías en 11q23 (MLL).
<p>⇒ LMA con displasia multilineaje</p>
<p>⇒ LMA y SMD, relacionado con la terapia</p> <ul style="list-style-type: none"> • LMA y SMD en relación con fármacos alquilantes • LMA relacionada con el inhibidor de la topoisomerasa II
<p>⇒ LMA sin otra especificación</p> <ul style="list-style-type: none"> • LMA, mínimamente diferenciada (clasificación FAB M0) • LMA sin maduración (clasificación FAB M1) • LMA con maduración (clasificación FAB M2) • Leucemia mielomonocítica aguda (LMMA) (clasificación FAB M4) • Leucemia monoblástica aguda y leucemia monocítica aguda (clasific. FAB M5a y M5b) • Leucemias eritroides agudas (clasificaciones FAB M6a y M6b) • Leucemia megacarioblástica aguda (clasificación FAB M7) • LMA/trastorno mieloproliferativo transitorio en el síndrome de Down • Leucemia basofílica aguda • Panmielosis aguda con mielofibrosis • Sarcoma mielóide

PATOGENIA

Esta leucemia surge como resultado de la transformación de precursores hematopoyéticos a través de la adquisición de rearrreglos cromosómicos y múltiples mutaciones genéticas que bloquean la diferenciación celular y confieren ventajas

proliferativas y de supervivencia⁽⁴⁾. Estos eventos oncogénicos claves son a menudo clasificados de acuerdo con el modelo de los 2 hits propuesto por Gilliland en el 2001. Este modelo supone que para el desarrollo de una LMA se deben asociar al menos 2 tipos de mutaciones: las mutaciones de clase I, que activan vías que confieren ventajas proliferativas o de supervivencia, y las mutaciones de clase II, que afectan los procesos de diferenciación celular y apoptosis. Sin embargo, recientemente, con los estudios de secuenciación masiva, se ha identificado otro grupo de mutaciones que no caen dentro de estas categorías, por lo que se encuentran sin clasificar, pero principalmente incluyen genes implicados en modificaciones epigenéticas ⁽⁵⁾

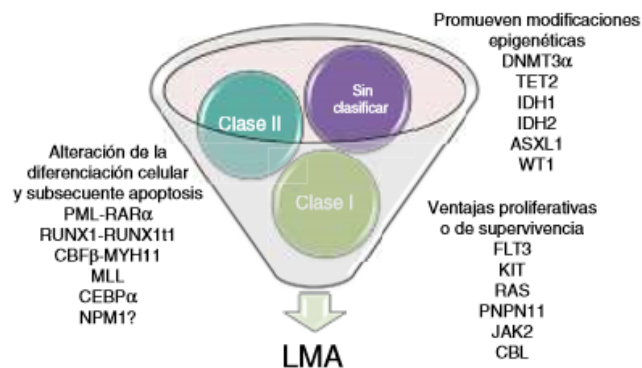


Figura 2 Modelo de cooperación entre mutaciones asociadas a la aparición de LMA. El modelo de los 2 *hits* hipotetiza que la LMA es consecuencia de la colaboración entre al menos 2 tipos de mutaciones. Las mutaciones de clase I confieren ventajas proliferativas o de supervivencia, mientras que las mutaciones de clase II alteran los procesos de diferenciación celular y apoptosis. Actualmente se conocen diversas mutaciones que por no adecuarse a ninguna de las 2 clases se encuentran sin clasificar; sin embargo, estas principalmente promueven modificaciones epigenéticas.

TRATAMIENTO.

Protocolo AML-87

La terapia de inducción de remisión consistió en tres ciclos de quimioterapia con cuatro agentes. En el ciclo 1, se administró Citarabina (Ara-C) en infusión continua de 96 h en una dosis inicial de 500 mg/m² por día. Al mismo tiempo, etopósido (VP-16) se administró por vía intravenosa: una dosis de carga de 70 mg/m²

administrada durante 1 h fue seguida por una infusión de 96 h a una dosis inicial de 500 mg/m² por día; en la dosificación se ajustó como se describe a continuación.

En el ciclo 2, Ara-C se administró como en el ciclo 1, pero en un período de 120 h. Una infusión en bolo de daunorrubicina (50 mg/m²) fue administrado en los días 1 y 2.

En el ciclo 3, VP-16 se administró como en ciclo 1, y amsacrina (m-AMSA, 125 mg/m² por día) fue administrado como una infusión intravenosa continua de 72 horas.

Los ciclos 2 y 3 se comenzaron tan pronto como el hematopoyético la recuperación fue adecuada (recuento absoluto de neutrófilos) $0.5 \times 10^9/l$ y recuento de plaquetas $.75 \times 10^9/l$) y gastrointestinal y las complicaciones de infección se resolvieron, pero fueron comenzado sin estos requisitos en el caso de persistente infiltración de médula o enfermedad progresiva. (6)

Consolidación Quimioterapia.

Consistió en tres ciclos adicionales de combinación quimioterapia. En el ciclo 4, se administró VP-16 como en ciclo 1, y las infusiones intravenosas en bolo de 5-azacitidina (5-AZ; 300 mg / m²) se dieron 24 y 48 h después de la finalización del Infusión VP-16.

El ciclo 5 fue idéntico al ciclo 2 y el ciclo 6 fue idéntico al ciclo 1. No se administró quimioterapia de mantenimiento utilizado en este protocolo. (6)

Infiltración a SNC

Los pacientes sin evidencia de leucemia del sistema nervioso central (SNC) recibieron cinco ciclos de terapia triple intratecal (metotrexato, hidrocortisona y Ara-C (MHA)) ajustados por edad. Se administró un ciclo con cada ciclo de terapia

sistémica, comenzando con el ciclo 2. Los niños que tenían afectación del SNC en el momento del diagnóstico fueron tratados con el régimen intratecal semanalmente durante al menos 4 semanas o hasta que el LCR estuviera limpio, y luego con cada ciclo de terapia sistémica. Los pacientes con afectación del SNC que permanecieron en remisión completa recibieron irradiación craneal (24 cGy) después de completar la quimioterapia. (6)

Definición de infiltración a SNC CNS1: < 10 eritrocitos/ μ L, sin Blastos > 10 eritrocitos/ μ L (traumático) sin Blastos

CNS2: < 10 eritrocitos/ μ L, < 5 leucocitos/ μ L, Blastos+ > 10 eritrocitos/ μ L (traumático) con Blastos

CNS3: < 10 eritrocitos/ μ L, > 5 leucocitos/ μ L, Blastos+ Nervio craneal envuelto (por examen físico o imagen).

Criterios de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas alogénicas en leucemia mieloide aguda.

El alo-TCPH puede curar a los pacientes con neoplasias hemáticas avanzadas resistentes a la quimioterapia. Los primeros alo-TCPH exitosos en seres humanos se describieron en 1968. Dichos trasplantes se realizaron en niños con inmunodeficiencias, utilizando células progenitoras de donantes que eran hermanos con antígenos HLA compatibles.

La indicación y el momento de trasplante en LMA, así como el resultado después del alo-TCPH, dependiendo de la categoría de riesgo:

- Los pacientes con LMA de riesgo intermedio o elevado, determinando por la citogenética, tienen riesgo elevado de recurrencia después de la quimioterapia, y se debe evaluar para una alo-TCPH en la RC1 cuando se

disponga de un hermano con compatibilidad HLA como donante. En recientes estudios, también se ha observado que aquellos con citogenética normal con FLT3-ITD, o NPM1 o CEBPA tipo natural sin FLT3-ITD, también tiene mayor riesgo de recurrencia y pueden beneficiarse del trasplante alogénico en la RC1.

- Los pacientes a los que se trasplantan en RC1 tienen una probabilidad de SSE a largo plazo del 45-60%.
- Los trasplantes en la primera recurrencia o después de la inducción de la segunda remisión completa (RC2) tiene una probabilidad de SSE a largo plazo de tan solo el 22-40%.
- Los resultados después del trasplante en la primera recurrencia y en RC2 son comparables.
- El alo-TCPH en la LMA de buen pronóstico se reserva habitualmente para la RC2 o para la primera recurrencia, aunque el riesgo de MRT supera a los beneficios del trasplante temprano (RC1) en este grupo.
- Menos del 20% de los pacientes con fracaso de la inducción primaria y de los pacientes después de RC2 tiene una remisión duradera de la leucemia después del alo-TCPH.

Criterios de respuesta.

La respuesta fue evaluada entre el día +21 y +28, y la RC se definió como un porcentaje de blastos en medula ósea (MO) < 5%, ausencia de blastos en sangre, ausencia de cuerpos Auer, ausencia de leucemia extramedular, cuenta de neutrófilos $\geq 1.5 \times 10^9/L$ y plaquetas $\geq 100 \times 10^9/L$. Si se detectaba persistencia de enfermedad se administraba un segundo ciclo de 7+3, y en una minoría de casos se indicaron otros esquemas a juicio del médico tratante.

Si después de este esquema no se lograba RC se catalogaba como enfermedad refractaria y se administraba un esquema de rescate. Se definió recaída como la

reaparición franca de blastos en sangre o $\geq 5\%$ de éstos en médula ósea en quienes previamente se había documentado RC. En los pacientes que lograron RC, la supervivencia libre de enfermedad (SLE) se midió desde la RC hasta la recaída o último seguimiento. La supervivencia global (SG) se midió desde el diagnóstico de LMA hasta la muerte por cualquier causa o último seguimiento.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Debido a que el C.M.N 20 de noviembre es un hospital de tercer nivel de referencia nacional para los pacientes con LMA, llega un número de pacientes en todos los estados de gravedad de esta enfermedad.

Por lo que podemos describir la respuesta al tratamiento y los factores asociados con la supervivencia.

JUSTIFICACIÓN.

La LMA representa el segundo tipo de leucemia mas frecuente en la infancia. En México los estudios sobre la evaluación de posibles factores asociados con la supervivencia son escasos, por lo que es de gran importancia generar información para contribuir de la mejor forma posible a la satisfacción de las necesidades de los pacientes y permitir que los profesionales de la salud realicen intervenciones médicas acertada y aumentar la sobrevida global a los pacientes.

HIPÓTESIS.

No aplica para este tipo de estudio ya que es retrospectivo.

OBJETIVO GENERAL.

Describir la supervivencia en pacientes pediátricos con LMA en un Centro Médico Nacional 20 de noviembre, y comparar la sobrevida entre los diferentes tratamientos con los que cuenta, en un periodo de tiempo de 7 años.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Determinar si existen diferencias en las supervivencias en la población estudiada en comparación a la supervivencia mostrada en la literatura.
2. Establecer el tipo de tratamiento que presente mejor supervivencia y presente menos efectos tóxicos a corto y largo plazo.
3. Mortalidad y Morbilidad en pacientes con LMA a nivel nacional.

METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION

Diseño y tipo de estudio.

Estudio de retrospectivo, transversal de asociación y observacional.

Población de estudio.

Pacientes pediátricos con el diagnóstico de LMA que son derechohabientes al C.M.N 20 de Noviembre

Universo de trabajo

Pacientes de 1 meses hasta menores de 18 años, derechohabientes del ISSSTE con diagnóstico de leucemia mieloide aguda referidos por consulta externa y/o admisión continua.

Tiempo de ejecución.

Se incluyeron de forma consecutiva todos los pacientes con diagnóstico de LMA en el periodo 01 de enero 2010 hasta 31 de agosto del 2017.

Esquema de selección.

Definición del grupo control.

Pacientes pediátricos diagnosticados y tratados de LMA en C.N.M 20 de Noviembre

*Ambos géneros.

* Seguimiento completo

Definición del grupo a intervenir.

No aplica en el tipo de estudio ya que es un estudio retrospectivo.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

- Pacientes menores de 18 años con diagnóstico de leucemia aguda mieloblástica, de acuerdo a los criterios de la OMS, de novo.
- FEVI > 60%.
- Calidad de vida 0 a 2

- Con expectativa de vida mayor de 1 mes
- Sin evidencia de cardiopatía.
- Con Fracción de Expulsión Ventricular Izquierda (FEVI) > 60%.
- Con ALT < 2.5 veces lo normal
- Bilirrubina < 1.5 veces lo normal
- Sin insuficiencia renal (no la generada por lisis tumoral)
- En mujeres edad fértil, prueba de embarazo negativa
- Carta de consentimiento informado firmada

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

- Traslados a otra unidad hospitalaria durante el periodo de tratamiento.
- Abandono terapéutico de los pacientes.
- Leucemia secundaria

Criterios de eliminación.

Abandono terapéutico de los pacientes.

Cardiotoxicidad (FEVI < 50%).

Negativa de los padres o tutores del paciente a continuar en el protocolo.

METODOLOGÍA PARA EL CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Se tomara la base de datos de los pacientes que fuero referidos a esta unidad en un periodo de tiempo de 7 años ,obteniéndose 41 paciente para el análisis de su expediente clínico.

Descripción operacional de las variables

Variable (índice/indicador)	Definición operacional	Escala de medición	Calificación
Genero	Características genotípicas con el que se identifica al nacer a un individuo.	Cualitativa Nominal	Hombre. Mujer.
Edad	Conteo de días vividos desde la fecha de nacimiento hasta el momento del interrogatorio	Cuantitativa nominal	Especifico.
Inmunofenotipo	Proceso en el que se usan antibióticos para identificar células según el tipo de antígenos o marcadores en su superficie. Sirve también para separar células en grupos diferentes de acuerdo con los marcadores que tengan en su superficie	Cualitativa Nominal	

Cariotipo	Conjunto de los pares de cromosomas de una célula, de forma, tamaño y número característicos de cada especie.	Cualitativa	Específico
Leucocitos	Conjunto heterogéneo de células sanguíneas que son ejecutoras de respuesta inmunitaria, interviniendo así la defensa del organismo contra sustancias extrañas.	Cuantitativa Nominal	*Hiperleucocitosis **Blastos mo % *Blastos SP%
Duración de la estancia hospitalario en días.		Cuantitativa Continua	
Clasificación de la OMS	Mo: indiferenciada M1: mieloblástica aguda sin maduración M2: mieloblástica aguda con maduración M3: aguda promielocítica M4: aguda mielomonocítica. M5: monocítica aguda con diferenciación. M6: eritroleucemia	Cualitativa Nominal	

	M 7: megacarioblastica aguda		
Defunción	Fallecimiento de una persona.	Cualitativa nominal	

Técnicas y procedimientos a emplear.

Una vez identificado el paciente que cumpla con los criterios de inclusión.

Se le realizará una evaluación del expediente clínico, con ayuda de la historia clínica, inmunofenotipo, duración de la estancia hospitalaria, clasificación de la OMS según la morfología, y cariotipo.

Procesamiento y análisis estadístico.

Las variables continuas se describieron mediante medianas e intervalos y las variables categóricas en frecuencias y proporciones. Se emplearon curvas de Kaplan Meier para la SG Y SLE, y se compararon las curvas mediante el método de Log. Rank. Los factores relacionados con supervivencia a se evaluaron mediante el método de regresión de riesgos proporcionales de Cox. Se estableció correlación de entre variables mediante r de Person.

ASPECTOS ÉTICOS.

Este estudio se realizará de acuerdo con la Declaración de Helsinki, la Declaración Belmont y lo estipulado en la Ley General de Salud en México en materia de investigación en seres humanos.

CONFLICTO DE INTERESES.

El investigador principal y asociado declaran no tener ningún conflicto de interés en el desarrollo del presente estudio de investigación.

CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD.

No aplica Para el siguiente estudio ya que es retrospectivo.

RECURSOS.

Médico residente de subespecialidad de hematología pediátrica.

Archivo clínico

RECURSOS HUMANOS.

Medico residente

RECURSOS MATERIALES.

Archivo clínico físico y electrónico.

Computadora

Programa de Excel

RECURSOS FINANCIEROS.

No aplica Para el siguiente estudio ya que es retrospectivo.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades	FEBRERO MARZO	ABRIL MAYO	JUNIO	JULIO
Planteamiento del problema				
Revisión bibliográfica				
Elaboración de hipótesis y objetivos				
Diseño de la metodología del estudio (tipo, población, criterios)				
Definición de técnicas de recolección, procesamiento de la información y organización de recursos				
Revisión de protocolo y correcciones.				
Presentación de protocolo a revisores.				
Aprobación de comité de ética del ISSSTE.				
Recolección de la muestra				
Captura de la información.				
Adelanto de resultados.				
Interpretación de datos				
Entrega de reporte.				

RESULTADOS

Se realizó un estudio de investigación de tipo observacional, retrospectivo y transversal en el Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, el cual pertenece al ISSSTE en la Ciudad de México, este proyecto fue realizado por el departamento de Hematología Pediátrica del mismo Hospital, la finalidad de estudio fue describir la supervivencia en pacientes pediátricos con Leucemia Mieloide Aguda (LMA), comparar la sobrevida entre los diferentes tratamientos con los que cuenta, en un periodo de tiempo de 7 años. . Una vez realizado en análisis estadístico correspondiente se han obtenido los siguientes resultados.

Un total de 31 pacientes han sido integrados al estudio, de los cuales el 41,94% corresponden al sexo femenino, el otro 58,06% corresponden al sexo masculino (Tabla 1) (Grafico 1).

Los pacientes fueron categorizados de acuerdo a la terapia AML 87, en donde se ha visto que la mayor distribución corresponde a la falla del tratamiento, alcanzado un 54,84% de los casos, en segundo lugar se encuentra la Inducción y la Suspensión selectiva, ambos con una proporción de 16,13%, en tercer lugar los casos de Mantenimiento con un 9,68%, y en el último lugar los casos con consolidación con un 3,23% (Tabla 2) (Grafico 2).

Cuando los pacientes fueron valorados por el tipo de Cariotipo, se identificó que el 64,25% fueron normales, en segundo lugar se observó la trisomía 21 y el cariotipo T (8:21), cada uno representado con un 6,45%, el restante de la población obtuvo casos aislados, los cuales fueron representado por un solo caso (Tabla 3) (Grafico 3).

La distribución de los pacientes por medio de la clasificación FA, determinó en primer lugar a la clase M2 con un 48,39% de los casos, en segundo lugar se encuentra la clase M4 con un 25,81%, en tercer y cuarto lugar la clase M0 y M1 con un 6,45% cada uno (Tabla 4) (Grafico 4).

Otras variables de interés son la Hiperleucocitosis, este fenómeno se observó en el 67,74% de la población (Tabla 5) (Grafico 5). Para el caso de la distribución del

Inmunofenotipo, se identificó al 51,61% con CD33, y otro 16,13% con CD13 (Tabla 6).

La distribución de los pacientes con Mieloperoxidasa corresponden al 58,06% (Tabla 7) (Grafico 6). La incidencia de los casos de Mortalidad fue del 74,19% (Tabla 8) (Grafico 7). También se observó que los casos que recibieron el trasplante de medula ósea corresponden al 25,81% (Tabla 9).

Una vez terminado el análisis univariado, se procedió a realizar el análisis bivariado, con la finalidad de obtener la relación existente entre la mortalidad, la sobrevida y el tipo de tratamiento que han recibido los pacientes. La primera valoración fue entre el diagnóstico de la Enfermedad y el momento de la defunción, la media de la edad del diagnóstico fue a los 7,67 años de edad, mientras que la media de la edad de la defunción se encuentra a los 9,5 años, con una diferencia entre medias de 1.83 años (Tabla 10) (Grafico 9).

Posteriormente se hizo la asociación de riesgo entre los casos de Trasplante de medula ósea en relación con los casos de mortalidad, un total de 8 casos recibieron el trasplante, de los cuales 6 pacientes finalizaron, la estimación de X^2 fue de 8,64 y una p 0,353, en donde el valor obtenido se considera como no estadísticamente significativo, adicionalmente se hizo la estimación de riesgo por medio de un Odds Ratio, el valor de OR 1,05 (IC95% 0,16 – 6,74), este valor se considera como indeterminado, por lo tanto no existe asociación de riesgo (Tabla 10).

En el análisis de sobrevida se observó una media de 2,62 años para los pacientes con trasplante de medula ósea, mientras que no recibieron el trasplante obtuvieron una media de 2,03, al parecer este tipo de terapia solo otorga una sobrevida de unos 6 meses de diferencia (Tabla 11) (Grafico 10).

Por último, la valoración de la Mortalidad en asociación con el tipo de terapia por AML 87, obtuvo una mayor distribución para los pacientes con falla al tratamiento, el valor de X^2 22,6 con una p 0,0002, en donde el valor se considera como estadísticamente significativo, es decir, se acepta la dependencia entre variables (Tabla 12).

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se definió a la Leucemia Mieloide Aguda, a la proliferación maligna de los blastos con diferenciación mieloide; la coloración de la mieloperoxidasa, se usan para la definición histológica del linaje celular, la confirmación de diferenciación mieloide de dichos blastos: $\geq 3\%$ mieloperoxidasa, o $>20\%$ positividad de esterasas no específicas con patrón monocítico². En el presente estudio de investigación se ha determinado que los casos con Mieloperoxidasa con una proporción del 58%, algo muy superior a lo reportado por la literatura médica.

Habitualmente el diagnóstico y al respuesta al tratamiento de este tipo de padecimiento es por medio de morfología, sin embargo, las características citogenéticas y moleculares pueden clasificarse en riesgo bajo, intermedio y alto³; cuando se hizo la valoración entre el tipo de cariotipo y los casos de mortalidad, sin importar los casos de riesgo, bajo, intermedio o alto, parece no tener asociación, es decir, de igual forma los casos de mortalidad se presentan.

Por otro lado, el tratamiento establecido con el Protocolo AML-87 si ha obtenido un resultado estadísticamente significativo, la más característico es que los pacientes que presentan una mayor distribución en la falla al tratamiento, son aquellos que presentan mortalidad, al mismo tiempo los casos con Inducción, el 100% de estos pacientes han finado, este tipo de asociación puede estar sesgado por la falta de factores de riesgo asociados a la mortalidad, los cuales deben de ser investigados con mayor detalle.

La sobrevida de los pacientes con trasplante de medula ósea ha registrado una sobrevida no mayor a los 6 meses, esto no significa que la terapia con trasplante de MO no funcione, de igual forma se tendrían que evaluar cada una de estas terapias con mayor profundidad, sobre todo con un diseño de tipo cohorte histórica, tal vez de tipo longitudinal con 3 a 5 años de seguimiento, con esto se podría obtener una mayor presión del estudio.

También es importante mencionar que el diagnóstico de LMA se encuentra entre los 7,6 años de edad, mientras que los casos con defunción presentaron una media de 9,5 años, esto sin importar el tipo de terapia recibida en los pacientes.

CONCLUSIONES

Este tipo de investigación fue diseñada y dirigida con la finalidad de determinar la existencia de diferencias en las supervivencias en la población con Leucemia Mieloide Aguda (LMA), y lo referenciado en la literatura médica, sobretodo la supervivencia y la asociación que presentan los pacientes con el tipo de terapia recibida; una vez terminado el análisis estadístico, se han obtenido las siguientes conclusiones.

La distribución por sexo de LMA en el Centro Medico 20 de Noviembre, tienen una distribución Homogénea, con una relación de sexo femenino-masculino de 1:1.3.

El cariotipo más habitual es el Normal, en segundo lugar se encuentra el T (8:21), el resto de casos pueden considerarse como aislados. De acuerdo a la clasificación por FA, lo habitual es la clase M2, seguido de la clase M4, mientras que los casos con Mieloperoxidasa son del 58%. Los casos con Hiperleucocitosis corresponden al 67% de la población estudiada.

Cuando se valoró el tipo de terapia establecida, se determinó que el 25% de los pacientes recibieron trasplante de medula ósea, sin embargo, esta terapia no ha presentado una sobrevida considerada como estadísticamente significativa, ya que solo otorga una excedente de 6 meses de vida en comparación con los pacientes que no fueron trasplantados.

Al igual que el ejemplo anterior, al parecer el cariotipo de los pacientes no presenta asociación causal con los casos de mortalidad, ya que el resultado obtenido entre estas variables ha sido no estadísticamente significativo.

Y por último, se ha llegado a la conclusión que el protocolo AML-87 si obtuvo una asociación estadísticamente significativa, sobre todo en los casos de falla al tratamiento, se tendría que investigar más a fondo el motivo por el cual estos pacientes han presentado falla en su tratamiento médico.

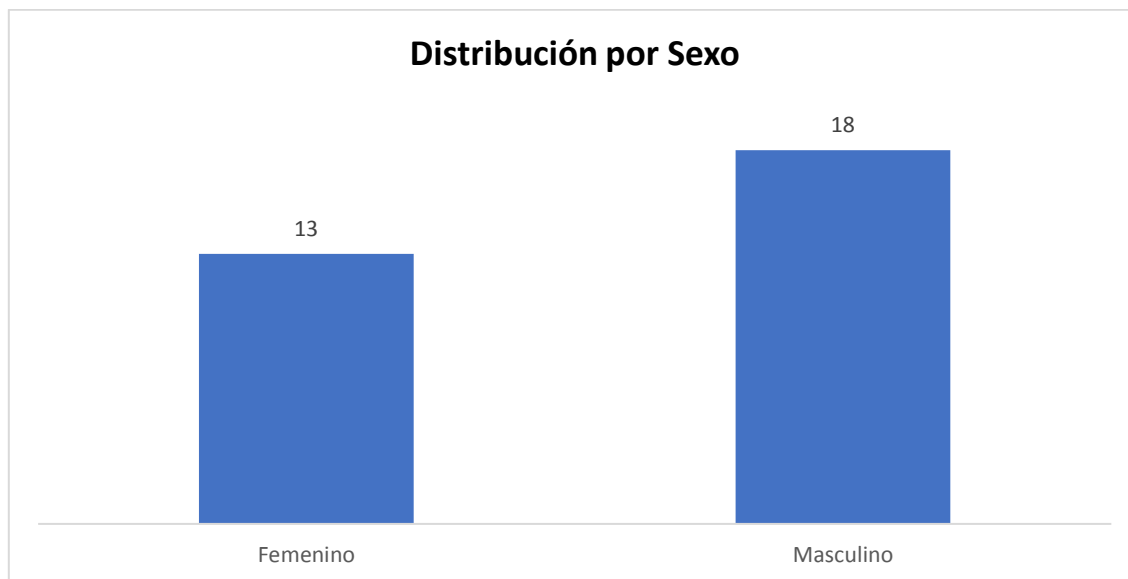
GRÁFICOS Y TABLAS.

TABLA 1.

Distribución por Sexo					
Sexo	Frequency	Percent	Cum. Percent	Exact 95% LCL	Exact 95% LCL
Femenino	13	41,94%	41,94%	21,85%	57,81%
Masculino	18	58,06%	100,00%	39,08%	75,45%
Total	31	100,00%	100,00%		

Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

GRAFICO 1.



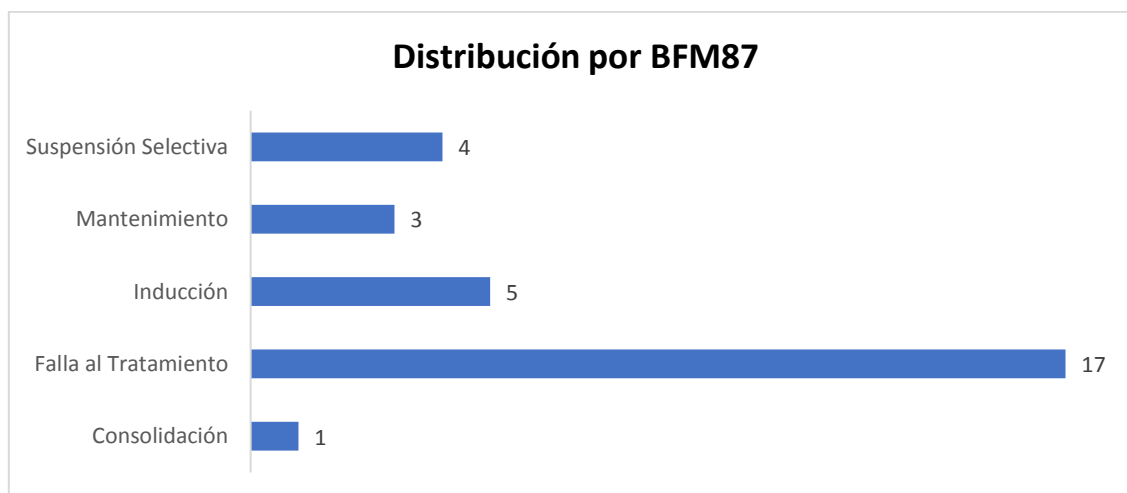
Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

TABLA 2.

Distribución por AML 87					
AML 87	Frequency	Percent	Cum. Percent	Exact 95% LCL	Exact 95% LCL
Consolidación	1	3,23%	3,23%	0,08%	16,70%
Falla al Tratamiento	17	54,84%	58,06%	36,03%	72,68%
Inducción	5	16,13%	74,19%	5,45%	33,73%
Mantenimiento	3	9,68%	83,87%	2,04%	25,75%
Suspensión Selectiva	5	16,13%	100,00%	3,63%	29,83%
Total	31	100,00%	100,00%		

Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

GRAFICO 2.



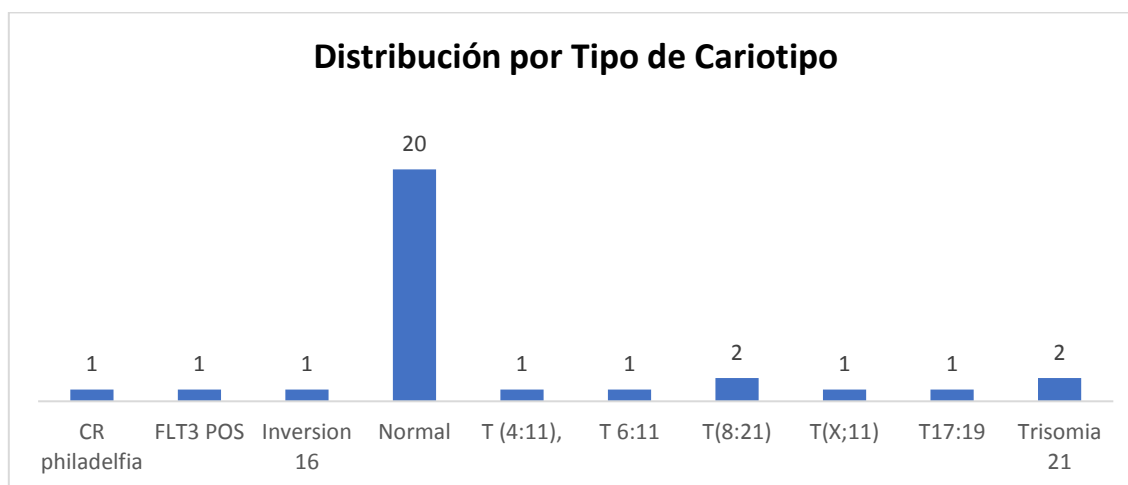
Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

TABLA 3.

Distribución por Tipo de Cariotipo					
CARIOTIPO	Frequency	Percent	Cum. Percent	Exact 95% LCL	Exact 95% LCL
CR philadelfia	1	3,23%	3,23%	0,08%	16,70%
FLT3 POS	1	3,23%	6,45%	0,08%	16,70%
Inversion 16	1	3,23%	9,68%	0,08%	16,70%
Normal	20	64,52%	74,19%	45,37%	80,77%
T (4:11),	1	3,23%	77,42%	0,08%	16,70%
T 6:11	1	3,23%	80,65%	0,08%	16,70%
T(8:21)	2	6,45%	87,10%	0,79%	21,42%
T(X;11)	1	3,23%	90,32%	0,08%	16,70%
T17:19	1	3,23%	93,55%	0,08%	16,70%
Trisomia 21	2	6,45%	100,00%	0,79%	21,42%
Total	31	100,00%	100,00%		

Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

GRAFICO 3.



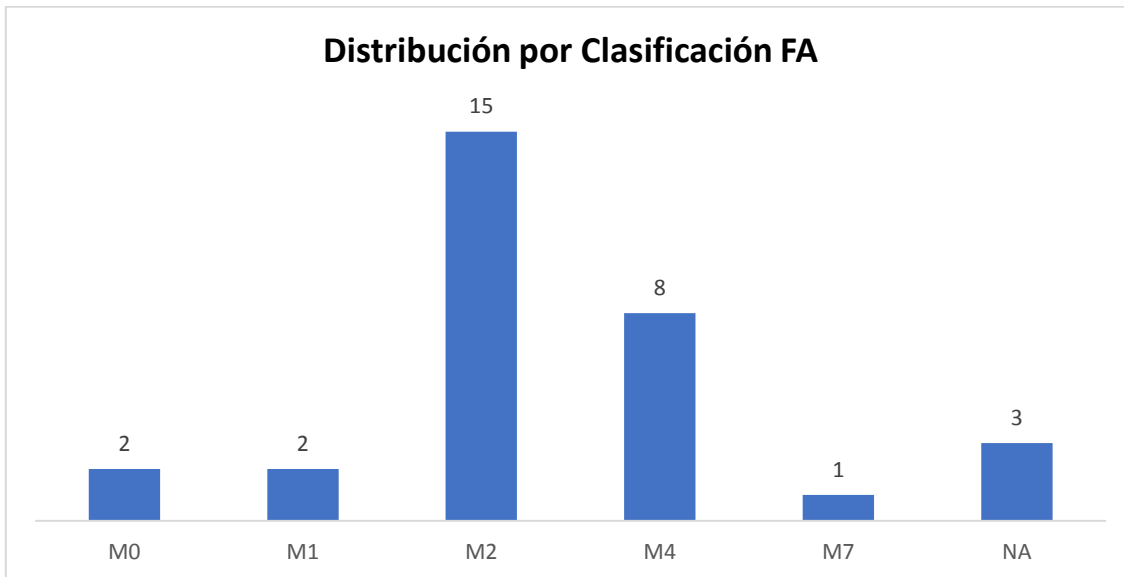
Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

TABLA 4.

Distribución por Clasificación FA					
Clasificación de FAB	Frequency	Percent	Cum. Percent	Exact 95% LCL	Exact 95% LCL
M0	2	6,45%	6,45%	0,79%	21,42%
M1	2	6,45%	12,90%	0,79%	21,42%
M2	15	48,39%	61,29%	30,15%	66,94%
M4	8	25,81%	87,10%	11,86%	44,61%
M7	1	3,23%	90,32%	0,08%	16,70%
NA	3	9,68%	100,00%	2,04%	25,75%
Total	31	100,00%	100,00%		

Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

GRAFICO 4.



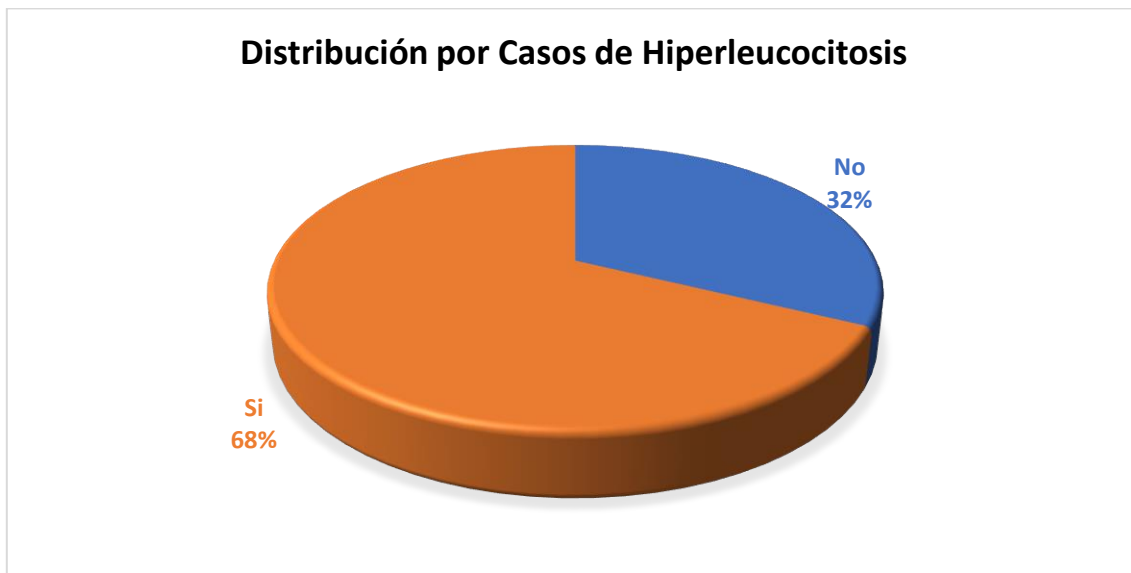
Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

TABLA 5.

Distribución por Hiperleucocitosis					
Hiperleucocitosis	Frequency	Percent	Cum. Percent	Exact 95% LCL	Exact 95% LCL
No	10	32,26%	32,26%	16,68%	51,37%
Si	21	67,74%	100,00%	48,63%	83,32%
Total	31	100,00%	100,00%		

Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

GRAFICO 5.



Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

TABLA 6.

Distribución por Inmunofenotipo					
Inmunofenotipo	Frequency	Percent	Cum. Percent	Exact 95% LCL	Exact 95% LCL
CD33	16	51,61%	100,00%	33,06%	69,85%
CD13	5	16,13%	100,00%	5,45%	33,73%

Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

TABLA 7.

Distribución de los Casos con Mieloperoxidasa					
Mieloperoxidasa	Frequency	Percent	Cum. Percent	Exact 95% LCL	Exact 95% LCL
Negativo	13	41,94%	41,94%	24,55%	60,92%
Positivo	18	58,06%	100,00%	39,08%	75,45%
Total	31	100,00%	100,00%		

Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

GRAFICO 6.



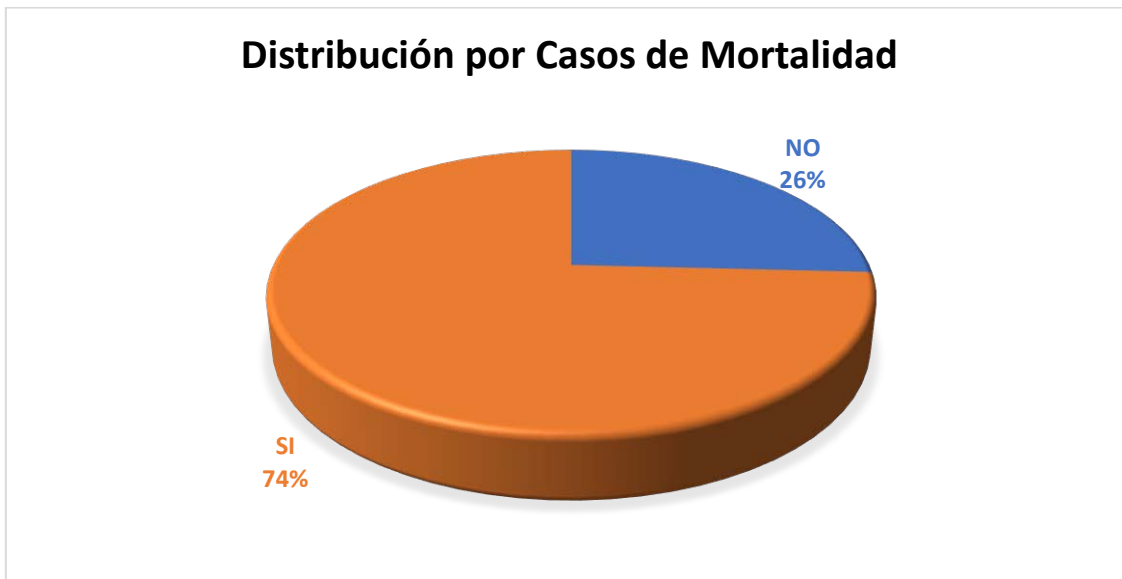
Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

TABLA 8.

Distribución por Mortalidad					
Mortalidad	Frequency	Percent	Cum. Percent	Exact 95% LCL	Exact 95% LCL
NO	8	25,81%	25,81%	11,86%	44,61%
SI	23	74,19%	100,00%	55,39%	88,14%
Total	31	100,00%	100,00%		

Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

GRAFICO 7.



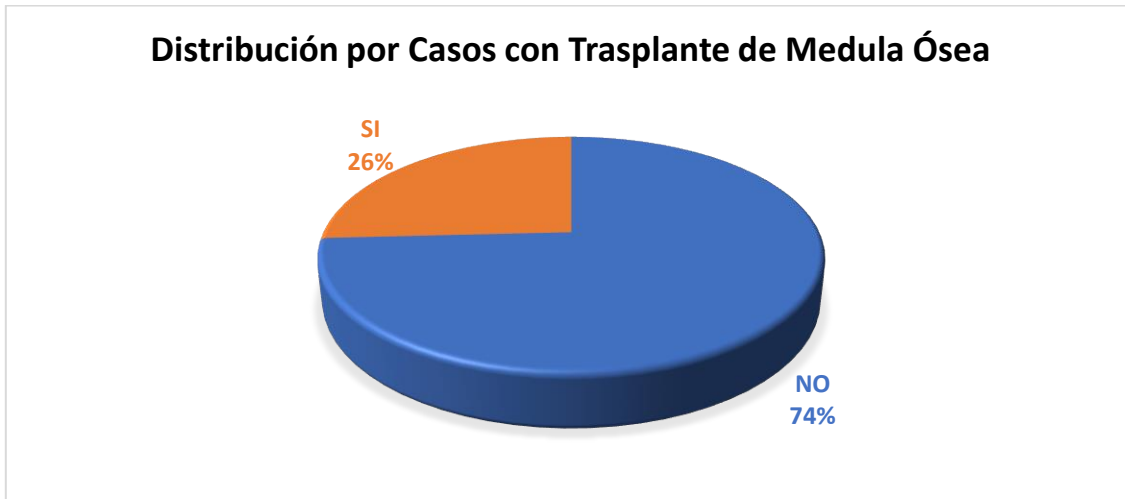
Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

TABLA 9.

Distribución por Casos con Trasplante de Medula Ósea					
Trasplante de MO	Frequency	Percent	Cum. Percent	Exact 95% LCL	Exact 95% LCL
NO	23	74,19%	74,19%	55,39%	88,14%
SI	8	25,81%	100,00%	11,86%	44,61%
Total	31	100,00%	100,00%		

Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

GRAFICO 8.



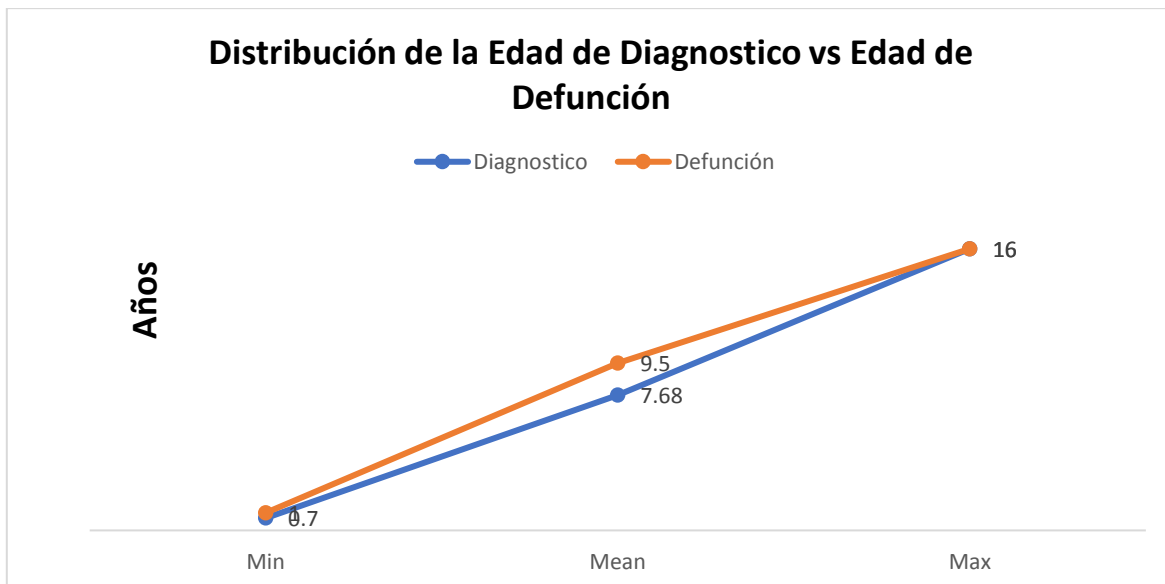
Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

TABLA 10.

Distribución de la Edad del Diagnostico vs Defunción							
Edad	Obs	Mean	Std Dev	Min	Median	Max	Mode
Diagnostico	29	7,67	3,8836	0,7	8	16	8
Defunción	28	9,5	3,8538	1	10	16	13

Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

GRAFICO 9.



Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

TABLA 10.

Asociación de los Casos con Trasplante de Medula Ósea en Relación con la Mortalidad				
Trasplante de MO	Mortalidad		Porcentaje	Total
	SI	NO		
SI	6	2	25,00%	8
NO	17	6	26,10%	23
Global	23	8	25,80%	31
Comparaciones globales				
	Chi-cuadrado	gl	Sig.	
Log Rank (Mantel-Cox)	,864	1	,353	
OR	IC AL 95%		Min	
1,05			0,16	
			Max	
			6,74	

Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

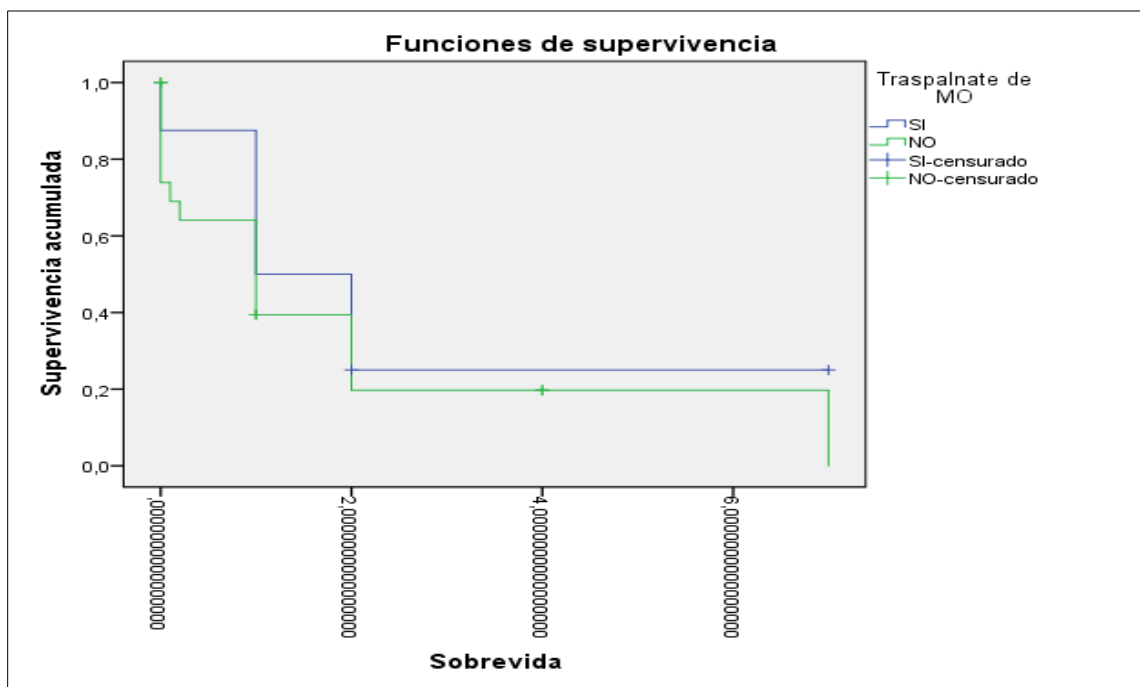
TABLA 11.

Medias y medianas para el tiempo de supervivencia								
Trasplante de MO	Media ^a				Mediana			
	Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %		Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior
SI	2,625	,917	,827	4,423	1,000	,566	0,000	2,109
NO	2,035	,614	,831	3,239	1,000	,347	,319	1,681
Global	2,192	,510	1,192	3,193	1,000	,261	,489	1,511

a. La estimación está limitada al tiempo de supervivencia más largo, si está censurado.

Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

GRAFICO 10.



Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

TABLA 12.

Distribución de AML-87 en Relación con la Mortalidad			
AML -87	Mortalidad		Total
	NO	SI	
Consolidación	0	1	1
Falla al Tratamiento	1	16	17
Inducción	0	5	5
Mantenimiento	2	1	3
Suspensión Selectiva	5	0	5
Total	8	23	31
Chi-square	df	P	
22,6025	4	0,0002	

Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

TABLA 13.

Distribución del Tipo de Cariotipo en Relación con la Mortalidad			
Cariotipo	Mortalidad		Total
	NO	SI	
CR philadelfia	0	1	1
FLT3 POS	0	1	1
Inversión 16	0	1	1
Normal	5	15	20
T (4:11)	0	1	1
T (6:11)	1	0	1
T(8:21)	1	1	2
T(X:11)	0	1	1
T(17:19)	0	1	1
Trisomía 21	1	1	2
Total	8	23	31
Chi-square	df	p	
6,1916	9	0,7206	

Fuente: Departamento de Hematología Pediátrica del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre ISSSTE.

BIBLIOGRAFIA.

- (1) Griffin.P.R.,et.al, "BETHESADA manual de hematología clínica., 3er edición. Editorial WoltersKluwer.2001
- (2) Rubnitz JE , Gibson B,, Smith FO Acute Myeloid Leucemia Pediatr Clin N Am 55 (2008) 21–51.
- (3) Howlader, N.; Noone, AM.; Krapcho, M., et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2009 (Vintage 2009 Populations). National Cancer Institute; Bethesda, MD: 2012.
- (4) J.E. Rubnitz,B. Gibson,F.O. Smith.Acute Myeloid Leukemia, Hematol Oncol Clin North Am, 24 (2010), pp. 35-63 <http://dx.doi.org/10.1016/j.hoc.2009.11.008>Medline
- (5) L.M. Kelly,D.G. Gilliland., Genetics of myeloid leukemias., Annu Rev Genomics Hum Genet, 3 (2002), pp. 179-198 <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.genom.3.032802.115046>Medline
- (6)J.M.MEJIA,et.al.:Leucemia mieloide aguda en niños mexicanos., Gaceta Med Mex. 2016;152:66-77
- (7) MK Arnaout., et.al., "Treatment of childhood acute myelogenous leukemia with an intensive regimen (AML-87) that individualizes etoposide and cytarabine dosages: short- and long-term effects" Leukemia (2000) 14, 1736–1742.