

**RELACIÓN ENTRE LAS COEXPRESIONES MIELODES Y DE CÉLULAS B
MADURAS Y LA CLASIFICACIÓN DE RIESGO DE LEUCEMIA LINFOIDE
AGUDA EN NIÑOS**

PATRIK ELIANA SARMIENTO WILCHES

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE SALUD
ESCUELA DE MEDICINA
ESPECIALIZACIÓN EN PEDIATRÍA
BUCARAMANGA
2011**

**RELACIÓN ENTRE LA INMUNOTIPIFICACIÓN Y LA CLASIFICACIÓN DE
RIESGO DE LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA EN NIÑOS**

PATRIK ELIANA SARMIENTO WILCHES
Trabajo de Grado para optar el título de Especialista en Pediatría

**DIRECTOR PROYECTO DE GRADO:
ERNESTO RUEDA ARENAS**
Hemato-Oncólogo Pediatra

**ASESOR EPIDEMIOLÓGICO
LUIS ALFONSO DÍAZ**
Pediatra Msc Epidemiología.

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE SALUD
ESCUELA DE MEDICINA
ESPECIALIZACIÓN EN PEDIATRÍA
BUCARAMANGA
2011**

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la oportunidad que me ha dado de escoger esta profesión.

A mi familia, por su amor, comprensión y apoyo para lograr mi sueño de ser pediatra.

A mis profesores por sus enseñanzas y orientación permanente en este proceso de aprendizaje.

Al Dr. Ernesto Rueda Arenas, a los epidemiólogos: Dr. Luis Alfonso Díaz y Dr. Andrés González, las patólogas: Claudia Fajardo y Silvia García y las Dras: Leonela Ballesteros y Tatiana López por su colaboración en la realización de este estudio.

A mis compañeros de residencia con quienes he compartido el éxito y he superado las dificultades.

Al Hospital Universitario de Santander y la Clínica Materno-infantil San Luis, por hacer posible la realización de éste estudio.

A los pacientes porque son nuestro aliciente para un mejor ejercicio profesional con calidad humana cada día y a sus familias por ser ejemplo de amor incondicional y lucha permanente por la vida.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	13
1. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	15
2. JUSTIFICACIÓN	16
3. OBJETIVOS	19
3.1 OBJETIVOS GENERALES	19
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
4. MARCO TEÓRICO	21
5. METODOLOGÍA	38
5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	38
5.2 POBLACIÓN	38
5.2.1 Población de Referencia	38
5.2.2 Población en Blanco	38
5.2.3 Población del Estudio	38
5.2.4 Unidad de Muestreo	38
5.2.5 Marco Muestral	39
5.2.6 Tamaño	39
5.2.7 Criterios de Inclusión	39
5.2.8 Criterios de Exclusión	39
5.3 VARIABLES EVALUADAS	40
5.3.1 Variable Principal	40
5.3.2 Covariables	40
5.3.3 Desenlaces	40
5.3.3.1 Mala respuesta a la Prednisona al octavo día	40
5.3.3.2 Mala respuesta en médula ósea al día 15	40
5.3.3.3 No remisión completa al final de la inducción	41
5.3.3.4 Recaídas	41

	Pág.
5.3.3.5 Muerte	41
5.4 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	42
5.5 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS	44
5.5.1 Pacientes con mala respuesta a la Prednisona al octavo día de inducción	44
5.5.2 Mala respuesta en Médula Ósea al día 15 de inducción	44
5.5.3 Remisión Incompleta al final de la inducción	44
5.5.4 Recaídas	44
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	45
7. CONSIDERACIONES ÉTICAS	47
8. RESULTADOS	48
8.1 POBLACIÓN ESTUDIADA	50
8.2 EVALUACIÓN DE DESENLACES EN LA FASE DE INDUCCIÓN	50
8.2.1 Respuesta al 8º día	50
8.2.2 Respuesta al 15º día	52
8.2.3 Respuesta al 33º día	55
8.3 RECAÍDA MEDULAR	55
8.4 MORTALIDAD Y SOBREVIVENCIA GLOBAL	60
9. DISCUSIÓN	67
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
ANEXOS	81

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Distribución de Patología Oncológica en la Unidad de Hemato-Oncología Pediátrica HURGV-HUS, desde Febrero de 1993 a Abril de 2008.	18
Tabla 2. Clasificación citomorfológica de Leucemia Linfoide Aguda en el Servicio de Hemato-Oncología Pediátrica HURGV-HUS, Febrero 1993-Abril/08.	18
Tabla 3. Clasificación Inmunológica de la Leucemia Linfoide Aguda .	22
Tabla 4. Factores clínicos y biológicos predictores pronósticos de LLA en niños.	35
Tabla 5. Características de los pacientes incluidos según el centro médico de atención.	49
Tabla 6. Frecuencia de desenlaces evaluados en inducción por centro médico de atención.	50
Tabla 7. Características asociadas a la mala respuesta del ESP al 8º día de inducción.	52
Tabla 8. Características asociadas a la mala respuesta del AMO al 15º día de inducción.	53
Tabla 9. Tasa de recaída medular por 10,000 días-persona de seguimiento según las características iniciales de los pacientes estudiados.	56
Tabla 10. Tasa de recaída medular por 10,000 días-persona de seguimiento según linaje celular y respuesta al 8º y 15º días de inducción.	57
Tabla 11. Probabilidad de sobrevida libre de enfermedad (SLEnf) en ciertos puntos del seguimiento.	58
Tabla 12. Tasa de mortalidad por 10,000 días-persona de seguimiento según las características iniciales de los pacientes estudiados.	61
Tabla 13. Probabilidad de sobrevida global en ciertos puntos del seguimiento.	62
Tabla 14. Tasa de mortalidad por 10,000 días-persona de seguimiento según precursores y respuesta a la inducción.	65

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Flujograma de captación de pacientes.	48
Figura 2.	Curva ROC de los leucocitos en hemograma al diagnóstico para predecir mala respuesta en el día 8º de la inducción.	51
Figura 3.	Curvas ROC de los leucocitos en hemograma al diagnóstico y de los blastos en sangre periférica al 8º día de inducción para predecir mala respuesta en el día 15º de la inducción.	54
Figura 4.	Sobrevida libre de enfermedad (SLEnf).	58
Figura 5.	Curva de sobrevida libre de enfermedad (SLEnf) según cantidad de leucocitos en hemograma al diagnóstico, respuesta en ESP en el 8º día de inducción y respuesta en MO al día 15 de inducción.	59
Figura 6.	Sobrevida global (SG) de los pacientes estudiados.	62
Figura 7.	Curva de sobrevida global (SG) según sexo del paciente.	63
Figura 8.	Curva de sobrevida global (SG) según: edad del paciente, procedencia del paciente y leucocitos en hemograma al momento del diagnóstico.	63
Figura 9.	Curva de sobrevida global (SG) según: clasificación citomorfológica de la LLA y edades de 1-9 años y ≥ 10 años.	63
Figura 10.	Curva de sobrevida global (SG) según: linaje celular y respuesta al 8º y 15º días de inducción.	64
Figura 11.	Curva de sobrevida global (SG) según: respuesta a los 33 días de inducción y recaída de médula ósea.	66
Figura 12.	Resumen de los factores de riesgo para cada uno de los eventos analizados.	66

ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1. ESQUEMA DE CITOMETRÍA DE FLUJO	82
ANEXO 2. DIBUJO ESQUEMÁTICO DE CAMBIOS FENOTÍPICOS Y GENOTÍPICOS DE CÉLULAS B Y T.	83
ANEXO 3. ALGUNOS ANTÍGENOS DE CELULAS INMUNITARIAS DETECTADOS POR ANTICUERPOS MONOCLONALES	84
ANEXO 4. VARIABLES DEL ESTUDIO	86
ANEXO 5. FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	92
ANEXO 6. MODELO DE INFORMACION SUMINISTRADO PARA LA LA OBTENCIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO	93
ANEXO 7. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	95
ANEXO 8. PRESUPUESTO	96

RESUMEN

TITULO: RELACION ENTRE LA INMUNOTIPIFICACION Y LA CLASIFICACION DE RIESGO DE LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA EN NIÑOS ESTUDIO DE VALIDACIÓN DE PRUEBAS DIAGNOSTICAS*.

AUTOR: SARMIENTO WILCHES PATRIK ELIANA**

PALABRAS CLAVES: Leucemia Linfode Aguda, inmunofenotipo, factores pronósticos

DESCRIPCIÓN

Antecedentes: Se han planteado que las coexpresiones mieloides y de célula B madura son factores de riesgo en la respuesta al tratamiento de la leucemia linfode aguda (LLA) infantil.

Objetivo: Determinar la asociación entre coexpresiones mieloides y de célula B madura con la clasificación de riesgo de LLA infantil.

Metodología: Cohorte abierta de 63 pacientes con LLA. Los desenlaces evaluados fueron remisión, sobrevida e incidencia de eventos adversos luego de remisión. Las covariables evaluadas fueron socioedemográficas y clínicas, incluyendo inmunofenotipos. Se hizo control de confusión por medio de regresiones binomial o de Cox, así como análisis de sobrevida de Kaplan-Meier.

Resultados: Se logró remisión en 57 pacientes (89.1%, IC95% 78.8-95.5); tres de los que no se logró remisión fue por fallecimiento durante la misma. La incidencia de recaída medular entre los pacientes con remisión fue de 8.8% (IC95% 2.9-19.3%). La mortalidad global fue de 12.7% (IC95% 5.6-23.5%). La probabilidad de sobrevida a 3.5 años es de 80.4% (IC95% 61.0-90.8%). El único factor predictor de recaída es tener un mayor recuento de leucocitos al momento del diagnóstico (RR por cada 10,000 leucocitos/mm³ 1.067; IC95% 1.004-1.134). Solo la cantidad de leucocitos al momento del diagnóstico se asocia con la recaída medular (RR por cada 10,000 leucocitos/mm³ 1.042, IC95% 1.018 a 1.066). El único factor pronóstico de la mortalidad es la recaída medular (HR 9.69, IC95% 1.34-70.39).

Conclusiones: No se encontró relación entre coexpresiones mieloides ni de célula B madura úcualquiera de los otros indicadores clásicos de alto riesgo en LLA infantil con la probabilidad de recaída ni con la sobrevida. A pesar de no tenerse el tiempo mínimo de 5 años para el seguimiento, la sobrevida general y los demás desenlaces son similares a los informes de otras partes del mundo con más y mejores recursos de diagnóstico y tratamiento.

* Trabajo de Grado

** Universidad Industrial de Santander. Facultad de Salud, Escuela de Medicina. Departamento de Pediatría. Director: RUEDA ARENAS, Ernesto. Epidemiólogo. DIAZ MARTINEZ, Luis Alfonso.

SUMMARY

TITLE: VALIDATION OF DIAGNOSTIC TESTS: FEVER, CRP, ESR, WBC AND LEUKOCYTES IN BLOOD FOR THE DIAGNOSIS OF ACUTE PYELONEPHRITIS*.

AUTHOR: QUIROGA REY ADRIANA**

KEY WORDS: acute lymphoid leukemia, immunophenotype, prognostic factors

DESCRIPTION

Background: We have suggested that the coexpression of myeloid and B mature cells are risk factors in the response to treatment of acute lymphoid leukemia (ALL) in children.

Objective: To determine the association between coexpression of myeloid and mature B cells to the risk classification of childhood ALL.

Methodology: Open cohort of 63 patients with ALL. Evaluated outcomes were remission, survival and incidence of adverse events after remission. The covariates evaluated were sociodemographics and clinics, including immunophenotypes. Control of confounding variables was made by binomial or Cox's regression and survival analysis of Kaplan-Meier.

Results: We achieved remission in 57 patients (89.1%, 95% CI 78.8-95.5), three of which was not achieved remission, for death during the same. The incidence of marrow relapse among patients in remission was 8.8% (95% CI 2.9-19.3%). Overall mortality was 12.7% (95% CI 5.6-23.5%). The probability of survival at 3.5 years is 80.4% (95% CI 61.0-90.8%). The only factor predictive of relapse is having a higher WBC count at diagnosis (RR 1,067 per 10,000/mm³, 95% CI 1004-1134). Only the number of leukocytes at diagnosis is associated with marrow relapse (RR 1,042 per 10,000/mm³, 95% from 1018 to 1066). The only predictor of mortality was bone marrow relapse (HR 9.69, 95% CI 1.34-70.39).

Conclusions: No relationship was found between myeloid cell or mature B cell's coexpression or any other classic indicators of high risk childhood ALL with the likelihood of relapse or with survival. Despite failing to take the minimum of 5 years follow-up, overall survival and other outcomes are similar to reports from around the world with more and better resources for diagnosis and treatment.

* Degree Work

** Universidad Industrial de Santander. Faculty of Health, School of Medicine. Department of Pediatrics. Director: RUEDA AENAS, Ernesto. Epidemiological Adviser. DIAZ MARTINEZ, Luis Alfonso.

INTRODUCCION

La incidencia de cáncer infantil es de 9-14 casos nuevos por cada 100,000 niños menores de 15 años, por año [1]. De ellos, 3-4 casos nuevos corresponden a LLA, lo cual en la casuística internacional corresponde aproximadamente al 30% del diagnóstico de cáncer infantil, siendo la forma más frecuente de cáncer en niños menores de 16 años [1].

En un trabajo realizado en el Instituto Nacional de Cancerología en el año 2002, la LLA correspondió al 84.5% de los casos nuevos de leucemias y al 27.7% del total de cánceres en los niños [2]; y de las muertes por leucemia el 58% fue por LLA, siendo el 27.0% del total de causas de defunción [3].

En nuestro país las tasas anuales de incidencia en niñas y niños son de 56 y 60 casos nuevos por 1'000,000, respectivamente, por lo cual se encuentra en el grupo de mayor incidencia junto a los países desarrollados, aunque, contrario a éstos, también es parte del grupo de mayor mortalidad, como lo indican las cifras anteriores [4].

Según datos del Registro poblacional de cáncer del área metropolitana de Bucaramanga (RPC-AMB), entre 2000 y 2004, las neoplasias hematolinfoides tienen una incidencia similar a la reportada para Colombia en GLOBOCAN 2002 y se encuentran en un nivel ligeramente más bajo respecto a otros registros de Latinoamérica, como en Ecuador, Uruguay o Argentina, quienes reportan las mayores tasas de América Latina [5].

Entre los años 2000-2004 el RPC-AMB captó 620 casos de neoplasias hematolinfoides en el área metropolitana de Bucaramanga, que representan un 8.9% de los tumores malignos infiltrantes (6,935 casos), estando las leucemias en el primer lugar (310 pacientes: 49.2% de neoplasias hematolinfoides), con un pico de presentación a los 5-9 años y otro entre 60-75 años, encontrando la mayoría de los casos en varones y en menores de 20 años, lo que se correlaciona con los registros a nivel mundial [5].

Hace 50 años era infrecuente que cualquier niño con LLA viviera más de unos pocos meses después del diagnóstico de ésta entidad. En la actualidad más del 70% a 80% de los niños que reciben tratamientos modernos apropiados sobreviven a la enfermedad [6,7]. Ésta importante mejora del pronóstico y supervivencia a largo plazo en las últimas tres décadas es el resultado del desarrollo y uso de regímenes combinados de fármacos antileucémicos eficaces, del empleo de tratamiento preventivo de recaída a SNC, pero sobre todo, resultado del diagnóstico oportuno por medio de la clasificación MIC basada en morfología, inmunotipificación, citogenética y biología molecular que permite la identificación de subgrupos clínica y biológicamente definidos [8]. Igualmente se debe a la evolución de estrategias terapéuticas adaptadas a los diferentes grupos de riesgo y subtipos de la enfermedad, con tratamientos eficaces probados por los grupos internacionales como el BFM (Berlín Frankfurt Munster), que en sus resultados consecutivos a través de un periodo de seguimiento mayor a 25 años ha demostrado que la LLA es una enfermedad potencialmente curable no sólo en Alemania, sino en varios países a nivel mundial y que los logros obtenidos con la aplicación de la quimioterapia intensiva están basados en el uso de múltiples agentes sin resistencia cruzada y en la aplicación de reinducciones y reintensificaciones con el menor volumen tumoral, es decir, cuando el niño ha logrado remisión completa clínica y hematológica [9].

1. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la relación existente entre las co-expresiones mieloides y de células B maduras en Leucemia Linfocítica Aguda en niños y la clasificación de riesgo de la enfermedad?

2. JUSTIFICACION

El número de casos de pacientes en Colombia con diagnóstico de LLA podría ser alrededor de 450 casos nuevos por año (extrapolando esta cifra de acuerdo a la población infantil menor de 16 años **[1]**).

En nuestro país, se han utilizado diferentes protocolos basados principalmente en la experiencia internacional del BFM y del St. Jude's Research Hospital con resultados menos satisfactorios a los publicados en la literatura, posiblemente debido a factores socioculturales, económicos y relacionados con el sistema de salud. Por esta razón, la ACHOP cree que es de gran beneficio para los niños colombianos disponer de un protocolo único nacional basado en la experiencia del BFM para el manejo de LLA en el país **[1]**, lo cual, entre otras, tendría la gran ventaja de que un paciente trasladado de una Institución a otra (algo muy común entre nosotros), pueda continuar con igual manejo, sin una interrupción muy importante en su tratamiento).

Desde agosto de 2005, la Asociación Colombiana de Hemato-Oncología Pediátrica, reunida en la zona cafetera, ha venido trabajando cuidadosamente en el desarrollo de un único Protocolo Nacional. En el siguiente encuentro de los miembros de ACHOP, realizado en Bogotá del 26-28 de Febrero de 2006, con el apoyo de la Pontificia Universidad Javeriana y asesores del grupo BFM y del Saint Jude's Hospital, se definió el protocolo más acorde para el diagnóstico y tratamiento de los niños con LLA en Colombia, con el nombre BFM-ACHOP 2006 **[1]**.

Una vez se empezaron a realizar estudios de citometría en M.O en forma rutinaria en los pacientes con LLA, se tuvo la impresión subjetiva de que aquellos que en el diagnóstico inicial tenían alguna co-expresión mieloide o de células B maduras,

tenían aparentemente un comportamiento como de alto riesgo. Por ésta razón, nació el interés de estudiar el comportamiento y evolución de la enfermedad para cada uno de éstos grupos fenotípicos, lo cual nos permitiría determinar de forma clara la proporción de fenotipos que muestran mayor frecuencia de recaídas y por ende también, la de mayor frecuencia de fracaso terapéutico y muerte de los pacientes con LLA, basándonos en los parámetros de predicción de riesgo estándar y alto riesgo del IC- BFM 2002 y BFM-ACHOP 2006, para encontrar la relación aislada y directa entre tener uno u otro fenotipo y estos desenlaces. Lo anterior tiene gran aplicabilidad en el diagnóstico y manejo de los pacientes, debido a que facilita el enfoque de los tratamientos, encaminados no sólo a cumplir los protocolos estandarizados, sino también a prevenir y tratar de retrasar en lo posible la ocurrencia de los diferentes eventos negativos antes mencionados teniendo como objetivo final lograr una mejor calidad de vida con mejoría también de la sobrevida total y sobrevida libre de eventos.

El BFM Intercontinental 2002 define criterios para asignar el riesgo de mal pronóstico, clasificándolos en criterios de riesgo estándar y criterios de alto riesgo, los cuales se mencionarán en el Marco Teórico y serán tenidos en cuenta para la clasificación de los pacientes de éste estudio [9].

En la Unidad de Hemato-oncología Pediátrica del Hospital Universitario de Santander desde febrero de 1993 a diciembre de 2010, se ha diagnosticado un total de 1,107 pacientes de los cuales 419 (37.9%) corresponde a leucemias (**Tabla 1**). De estos, el 78.5% corresponde a LLA, 18.6% corresponde a LMA, 1.9% a LMC y 0.7% a leucemia bifenotípica (**Tabla 2**); proporciones similares a las observadas en la mayoría de centros oncológicos del mundo.

Tabla 1. Distribución de la Patología Oncológica en la Unidad de Hemato-Oncología Pediátrica HURGV-HUS, desde Febrero 1 de 1993 a Diciembre 31 de 2010 (n = 1.107 casos)

	Entidad	No de casos	Porcentaje
1	Leucemia	419	37,9
2	T. SNC	164	14,8
3	Linfomas	141	12,9
4	E. Hodgkin	74	5,8
5	T. Germinal	46	4,2
6	H.C.L.	41	3,7
7	T. Wilms	45	4,1
8	T. Óseo Maligno	33	3,1
9	R.M.S.	32	2,9
10	Neuroblastoma	31	2,8
13	Otros	81	7,3

Tomado de Registro de datos Unidad de Hemato-Oncología Hospital Universitario de Santander. Dr. Ernesto Rueda Arenas- Hemato-Oncólogo tratante.

Tabla 2. Clasificación citomorfológica de las Leucemias en la Unidad de Hemato-Oncología Pediátrica HURGV-HUS, Febrero 1993- Diciembre/2010 (n = 419)

	No. Pacientes	%
LLA	330	78,5
LMA	78	18,6
LMC	8	1,9
Bifenotípica	3	0,7

Tomado de Registro de datos Unidad de Hemato-Oncología Hospital Universitario de Santander. Dr. Ernesto Rueda Arenas- Hemato-Oncólogo tratante.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar la magnitud y dirección de la asociación entre los inmunofenotipos y sus co-expresiones en la evolución clínica de los niños con Leucemia Linfocítica Aguda, diagnosticados en dos centros de referencia de la ciudad de Bucaramanga.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las características sociodemográficas de los pacientes con Leucemia Linfocítica Aguda entre 1 a 16 años.
- Establecer la prevalencia de indicadores de mal pronóstico para la evolución de LLA.
- Caracterizar el perfil inmunofenotípico obtenido por citometría de flujo en médula ósea en niños de 1 a 16 años con Leucemia Linfocítica Aguda.
- Determinar la proporción de niños con Leucemia Linfocítica Aguda, tratados con el protocolo BFM-ACHOP 2006, que presentan:
 - Mala respuesta al 8º día de tratamiento con prednisolona
 - Mala respuesta medular al 15º día de tratamiento
 - No remisión completa al final del tratamiento de inducción
 - Recaídas medular y/o extramedular en cualquier fase del tratamiento.

- Establecer la asociación entre las coexpresiones inmunofenotípicas de LLA y el riesgo de:
 - Mala respuesta al 8º día de tratamiento con prednisolona
 - Mala respuesta medular al 15º día de tratamiento
 - No remisión completa al final del tratamiento de inducción
 - Recaída medular y/ó extramedular en cualquier fase del tratamiento.

- Establecer la relación entre la coexpresión de marcadores mieloides y de células B maduras con los indicadores previamente definidos, como factores de riesgo para recaída ó muerte en Leucemia Linfoide Aguda.

- Calcular las sobrevividas global y libre de enfermedad para los pacientes diagnosticados con Leucemia Linfoide Aguda incluidos en el estudio.

4. MARCO TEÓRICO

La leucemia linfocítica aguda (LLA) es la forma más común de cáncer en niños, correspondiendo aproximadamente al 30-34% de las enfermedades malignas infantiles **[10-12]**. La (LLA) es cinco veces más común que la leucemia mieloide aguda. Cada año en Estados Unidos (USA) se diagnostican 2,500 a 3,500 nuevos casos **[10,11]**.

La proporción de supervivencia para leucemia ha mejorado enormemente desde la década de los 80, siendo de aproximadamente 78%-80% en los últimos años **[7,13]**. Esta mejoría se debe en gran parte al tratamiento de un gran número de niños con los protocolos recientemente estandarizados. Aproximadamente el 75-80% de los niños diagnosticados en la actualidad, participan en los ensayos diagnósticos con el objetivo de mejorar los resultados clínicos y minimizar la toxicidad aguda y los efectos adversos de los tratamientos hasta ahora instaurados para LLA. **[14]**.

En un estudio de los países nórdicos, se estableció una tasa de incidencia de alrededor de 4 casos por 100,000 personas / año durante el periodo desde 1982 a 2001 **[15]**, similar a lo referido en USA de 3-4/100,000 en pacientes de 0-14 años **[10]**.

El pico de incidencia es de los 2 a los 5 años de edad y más frecuente entre los niños que entre las niñas **[14,16,17]**. En USA, la LLA se presenta dos veces más entre población infantil de raza blanca que en niños de raza negra **[6,16]**.

Los factores de riesgo para LLA incluyen factores genéticos y síndromes de inmunodeficiencia (por ej: Sd. Down, Neurofibromatosis tipo 1, Síndrome de Bloom, Anemia de Fanconi y Ataxia-Telangiectasia) **[14]**. De la misma forma se ha

notado un incremento del riesgo en niños con gran peso al nacer. Por el contrario, los estudios acerca de la relación con estrato socioeconómico, grado de urbanización, densidad poblacional y factores ambientales como exposiciones y respuesta inmune anormal a infecciones comunes han mostrado resultados inconsistentes [11].

Los cambios morfológicos de las leucemias no son iguales a las demás neoplasias, por lo que el diagnóstico definitivo en ellas tiene en cuenta los cambios en la distribución ó madurez de la población celular. Hace 30 años el FAB (French- American-British Cooperative Working Group) definió las características morfológicas de las leucemias y de acuerdo a esto dividió la LLA en 3 subtipos [18].

La citometría de flujo se convirtió en una herramienta indispensable en el área inmunohistoquímica. Actualmente existen aproximadamente 300 clases CD y de anticuerpos monoclonales con tinciones especiales con técnicas de fluorescencia, que detectan antígenos e inmunoglobulinas citoplasmáticas o de superficie asociadas a los diferentes linajes hematopoyéticos [19]. **Ver anexo 1**

Tabla 3. Clasificación Inmunológica de la Leucemia Linfoide Aguda [20]

	Marcadores de la línea B					Marcadores línea T			Frecuencia
	Tdt	CD19	CD10	C μ	Sig	CD7	CD3	CD2	
GRUPO									
LÍNEA B									
CélulaspreB muy precoces	+	+	-	-	-	-	-	-	5-10%
CélulasB precoces	+	+	+	-	-	-	-	-	50-60%
Células preB	+	+	+	+	-	-	-	-	20%
LÍNEA T	+	-	-	-	-	+	+*	+	15%

Tdt:desoxittransferasa terminal, C μ : cadena pesada de la Ig M citoplasmática, Sig: inmunoglobulina de superficie.

*: La tinción de CD3 puede realizarse en el citoplasma o en la membrana.

Según la nueva Clasificación de Tumores Linfoides de la Organización Mundial de la Salud, estos se estratifican en 5 grandes categorías:[21].

- Neoplasias de células precursoras B/ preB (Neoplasias de células B inmaduras).
- Neoplasias de células B periféricas (Neoplasia de células B maduras): Agudas ó Crónicas.
- Neoplasia de células precursoras T (Neoplasia de células T inmaduras).
- Neoplasia de células T periféricas y Células Natural Killers (Neoplasia de células T maduras y células Natural Killers): Agudas ó Crónicas
- Linfoma Hodgkin (Neoplasia de células de Reed Stenberg y variantes).

Es importante aclarar que en LLA en niños hay gran diferencia en cuanto a pronóstico entre la clasificación de precursores B y células B maduras, comportándose con una mejor evolución la primera, mientras que en los niños a diferencia de los adultos la LLA de precursores T y la de células T maduras, no difiere en cuanto a pronóstico se refiere, siendo ambas de peor pronóstico comparadas con la LLA de precursores B [10].

La citometría de flujo permite el estudio de 10,000- 30,000 células individuales en un corto período de tiempo. Detecta así, con mayor sensibilidad que los métodos tradicionales, pequeñas cantidades de células leucémicas, con mayor utilidad no solo en el diagnóstico inicial sino también en el diagnóstico de enfermedad residual ó recurrente [19]. **Ver anexos 2 y 3**

Por otra parte las anormalidades citogenéticas que se presentan en las leucemias tienen importancia biológica y pronostica. Son múltiples las probabilidades de alteración citogenética y algunas conllevan buen pronóstico mientras otras lo empeoran [22].

Los síntomas más frecuentes en LLA son inespecíficos (fiebre, hemorragias, osteomalgias, linfadenopatías). Se ha concluido entonces que ante la presencia súbita e inexplicable de alguno de estos síntomas o signos no deben ignorarse las enfermedades linfoproliferativas malignas como posibles causas **[14]**.

En la mayoría de niños y adolescentes con LLA los protocolos de tratamiento se dividen en 4 elementos principales: inducción, intensificación o consolidación, continuación ó mantenimiento y profilaxis del SNC. Con la excepción del 1-2% de los pacientes con LLA de estirpe B, la duración del tratamiento en los niños y adolescentes con LLA varía entre 24 y 36 meses **[14]**.

La duración recomendada de tratamiento de los pacientes con LLA de riesgo estándar, puede ser más corta que la de los casos de alto riesgo. Además las niñas con LLA pueden precisar menor duración del tratamiento. Los pacientes con LLA de linfocitos B son tratados durante un periodo más corto, por lo general 6-8 meses, con regímenes más intensivos **[23]**.

TRATAMIENTO DE INDUCCIÓN

La fase inicial de cada régimen está dirigida a inducir la remisión. Ésta se caracteriza por la resolución de los hallazgos anormales relacionados con la enfermedad en la exploración física y exámenes de laboratorio, en el momento del diagnóstico. Los valores en sangre periférica deben retornar a la normalidad y el examen de médula ósea con microscopio óptico debe ser normocelular, con menos de un 5% de linfoblastos. No obstante existe una leucemia llamada subclínica que solo se detecta por exámenes de laboratorio específicos **[12,24]**.

En la mayoría de ensayos clínicos los regímenes incluyen vincristina y glucocorticoides, con adición de 1 ó 2 fármacos más L-asparaginasa ó una antraciclina. Es habitual el empleo de 3 fármacos en LLA de riesgo estándar y 4 fármacos en LLA de alto riesgo. La respuesta a las 4 semanas, con estos

regímenes, es aproximadamente, de un 95%. La mortalidad en ésta etapa es de aproximadamente el 3%. Los fracasos en niños y adolescentes debido a una enfermedad resistente son escasos [12,24].

La tasa de respuesta al tratamiento de inducción es en sí misma un indicador pronóstico, por lo que los hallazgos en sangre periférica y médula ósea se evalúan al final de esta etapa. Los pacientes con tasas de respuesta lenta a la inducción, tienen tasas de curación más bajas, por lo cual se hace necesario modificar los planes de tratamiento [12].

TRATAMIENTO TRAS REMISIÓN

Busca reducir aún más las células malignas y evitar recidivas. Consta de 2 fases: consolidación ó intensificación y mantenimiento ó continuación [14,24].

Algunos fármacos usados durante la inducción se emplean alternamente con las combinaciones en ésta fase. Otra modalidad recibe el nombre de intensificación retardada y consiste en administrar 1 ó 2 ciclos de tratamiento agresivo con varios fármacos 4-6 meses después de la inducción, que alternado con medicamentos menos tóxicos de forma repetida ha mostrado mejorar los resultados en pacientes de alto riesgo, comparando riesgo–beneficio con el aumento de la morbilidad concomitante [7].

El tratamiento de intensificación suele completarse en 6-12 meses luego de la inducción. A partir de entonces el tratamiento de mantenimiento dura 18-24 meses e incluye 6-mercaptopurina vía oral y metotrexato vía oral o intramuscular semanal. Algunos esquemas alternan con vincristina y corticoide ó fármacos más tóxicos según el riesgo [25].

PROFILAXIS DE SNC

Aunque menos del 5% de los pacientes presenta afectación leucémica del SNC en el momento del diagnóstico, debe establecerse un tratamiento en ese momento para evitar la instauración del compromiso de SNC en la mayoría de pacientes [12,26].

Las recidivas a SNC indican que el paciente tiene un riesgo elevado de recidiva en médula ósea y por ende de fracaso del tratamiento [12,26].

Se emplean punciones lumbares con un tratamiento intratecal único con metotrexato reduciendo la incidencia de leucemia del SNC a menos del 10% del total en pacientes de alto riesgo y a menos del 5% en los pacientes con riesgo estándar. Otros regímenes combinan metotrexato y citarabina ó corticoide [7].

La profilaxis inicia durante la fase de inducción y se mantiene a lo largo de todo el programa de tratamiento, disminuyendo habitualmente en frecuencia con el tiempo [1,26].

Los pacientes con leucemia manifiesta del SNC en el momento del diagnóstico (SNC3) o con riesgo particular de leucemia del SNC son candidatos para recibir radioterapia del SNC junto con tratamientos intratecales y sistémicos más intensos [1].

EVOLUCIÓN

La supervivencia global sin complicaciones en niños con LLA supera el 70%. Los pacientes con indicadores de riesgo estándar en el momento del diagnóstico constituyen más de dos tercios de toda la población con LLA y se han señalado tasas de supervivencia sin complicaciones a los cuatro años del 80-85%. El tercio restante de pacientes con LLA, aquellos con indicadores pronósticos de alto

riesgo, tienen tasa de supervivencia sin complicaciones a los cuatro años del 60-65% [14].

Se ha señalado que los pacientes con LLA con criterios de riesgo como edad y recuento leucocitario dentro de parámetros estándar normal al establecer el diagnóstico y pacientes con trisomías combinadas de cromosomas 4 y 10 presentan una supervivencia sin complicaciones del 95% [25].

RECAIDA

Se define recaída como el regreso de los signos, síntomas, hallazgos paraclínicos e imaginológicos luego de un periodo de ausencia de estos [1]. En el 25- 30% de los pacientes con LLA y recidiva, la localización del fracaso es la médula ósea. La duración de la primera remisión es un indicador pronóstico de la consecución y duración de una segunda remisión. Es decir cuanto más prolongada sea la primera, más probabilidades de que la segunda sea mantenida [1].

Además pacientes que sufren recidiva en el primer tratamiento tienen peor pronóstico que quienes la tuvieron luego de 3 meses después de finalizar éste. En pacientes con recidivas luego del tratamiento, el mejor pronóstico se relaciona directamente con el tiempo transcurrido entre el final de este y el inicio de la recidiva. El tipo de tratamiento inicial y su intensidad también influyen en la respuesta tras la recidiva. En el caso de pacientes con poliquimioterapia intensiva sin éxito tendrán menos probabilidades de conseguir ó mantener una segunda remisión [1].

Alrededor del 70-75% de pacientes con recidivas que afectan médula ósea, consiguen una segunda remisión por medio de terapia de inducción casi idéntica a la inicial, alternado fármacos previos con unos nuevos más intensos [27] pero a pesar de regímenes agresivos de rescate sólo un 20% de los pacientes que presentan recidivas mientras reciben tratamiento tienen una segunda remisión

prolongada (más de 24 meses). El 40% de los que sufren recidivas, luego de tres meses después de finalizar el tratamiento inicial pueden tener una segunda remisión prolongada [12].

Debido a que es más factible el fracaso del tratamiento de rescate de sólo quimioterapia, el trasplante de médula ósea se plantea como una opción terapéutica para intensificar el tratamiento. La proporción global de supervivencia sin enfermedad en pacientes con una segunda remisión con trasplante de médula ósea (T.M.O) alogénico varía entre 40% y 60% [7].

Recaída Medular: es definida en paciente con médula ósea al aspirado posterior a remisión, en estadio M2: (5-25% de blastos) ó M3: (>25 % de blastos) [1].

Recaída a SNC: Tener en LCR estudio citoquímico con > 5 células blancas mononucleares y citológico con blastos y/o síntomas y signos neurológicos de HTE, focalización, compresión de pares craneales ó TAC cerebral con masa que sugiera compromiso de tipo infiltrativo SNC[1].

La recidiva en el SNC se produce en el 5- 10 % de los pacientes. El tratamiento actual de ésta comprende varios meses de tratamiento intratecal, tratamiento parenteral intensivo seguido de radioterapia craneovertebral más tratamiento sistémico adicional por 1 ó 2 años. Las respuestas prolongadas totales varían desde el 25- 70% y dependen del tratamiento previo, en particular si el régimen preventivo incluyó radiación de SNC [1].

Recaída testicular: Aumento de volumen y consistencia testicular más biopsia testicular que confirme infiltración por blastos [1].

Recidiva testicular aparece aproximadamente, en menos del 10% de los pacientes. Por lo general se manifiesta como aumento indoloro y duro del

volumen testicular, más de dos veces el volumen para la edad. El diagnóstico debe acompañarse de confirmación con células blásticas en Biopsia de testículo [1].

Los testículos son la localización más frecuente de recidiva tras interrumpir el tratamiento. Ante sospecha debe realizarse biopsia testicular en cuña bilateral, por la alta incidencia de afectación contralateral. Al igual que la recidiva a SNC, la recaída testicular también anuncia pronta recidiva medular, por lo que se recomienda intensificar el tratamiento sistémico más radioterapia local en los dos testículos. En algunos centros practican orquidectomía más radiación completa de escroto y conducto inguinal del lado afectado. Alrededor del 50- 70 % de los pacientes con recidiva testicular aislada responde a la terapia de rescate agresiva [1].

Las recidivas extramedulares en el SNC ó en los testículos, aparecen como acontecimientos aislados ó simultáneos a una recidiva medular. Igual que en ésta, cuanto más tarde presente la recidiva con respecto al tratamiento inicial más probabilidades tendrá de responder al tratamiento de rescate [1].

Infiltración aislada a otros sitios: Siempre debe confirmarse con Biopsia

Recaída combinada: Combinación de 2 ó > sitios de los ya descritos.

DIAGNOSTICO

Los ensayos clínicos llevados a cabo bajo la dirección del *National Cancer Institute* son fundamentales en la aparición de los tratamientos de Leucemia Linfocítica Aguda [14].

El descubrimiento de los factores predisponentes de LLA, siguen las recomendaciones del *National Cancer Institute Risk Classification Workshop*, las

cuales sugieren la estandarización de factores citogenéticos, índice de ADN e inmunofenotipo en el estudio de LLA [14].

Diagnóstico Citogenético

Los estudios de caracterización citogenética investigan alteraciones en el número de cromosomas (ploidías), que se presentan en el 90% de los casos de LLA. De ellos se ha concluido que los pacientes con hiperploidía (más de 50 cromosomas ó Índice de DNA >1,16), vistas en el 25 % de las leucemias de linaje B, tienen pronóstico favorable, sobre todo si se da con copias extras de cromosoma: 4, 10 ó 17 ; así como se ha encontrado una relación entre la hipoploidía (menos de 45 cromosomas, vista en menos del 2% de los casos) y pseudodiploidía (alrededor del 40% de los casos de LLA), con una peor evolución de la LLA [14,22, 24].

Otros factores son las anomalías estructurales, entre las más comunes, se encuentran las traslocaciones (40% de los casos de LLA). Las más conocidas son: la t(8;14) asociada a la estirpe B, la t(9;22) en LLA con cromosoma Filadelfia positivo, la t(1;19) en la LLA de precursores B y la traslocación t(4;11); que aparecen con más frecuencia en niños con una elevada tasa de fracaso en la inducción [22,24,25].

Por el contrario la t(12;21) con reordenación del gen TEL/ AML1, respectivamente, (se encuentra en al menos 16 al 18% de los casos de LLA de precursores B, es mas quimiosensible), edad entre 2-10 años, hiperdiploidía y recuento de leucocitos < 50,000/ml se han asociado con mejor resultado pronóstico en la evolución natural de la enfermedad de precursores B [14].

Diagnóstico inmunofenotípico

La inmunotipificación, tema de interés en nuestro estudio, desempeña una importante función en el diagnóstico de LLA. Esta fue descubierta en la década de 1980. Consiste en la identificación y cuantificación de antígenos celulares a través

de anticuerpos monoclonales, asignados a grupos: CD (cluster of differentiation) marcados con fluorocromos y es una de las aplicaciones más importantes de la citometría de flujo. Actualmente se conocen más de 247 CD, que reconocen distintos antígenos humanos, según la International Workshops of leukocyte differentiation antigens[19].

Esta tecnología ha ampliado al análisis de células como monocitos, macrófagos, células mieloides y como en éste caso células tumorales, siendo una parte fundamental del diagnóstico inicial y clasificación de las leucemias agudas, así como es un método sensible para monitorear el seguimiento de los pacientes después de la quimioterapia ó trasplante de médula ósea, porque permite la detección de enfermedad residual mínima y recaída [19].

Las células inmunes en general, pierden y ganan proteínas antigénicas a medida que evolucionan en sus diferentes estadios en médula ósea. El empleo de anticuerpos monoclonales específicos para los distintos estadios de linfocitos B y T ha permitido su diferenciación así [20]:

➤ **PreB temprana:**

CD19: 100%
CD20/22: >95%
CD10: 95%

➤ **PreB:**

CD19: 100%
CD 20/22: 100%
CD10: 50%
clgμ: 100%

➤ **PreB transicional**

CD19: 100%

CD 20/22: 100%

CD10: 50%

clgμ: 100%

slgμ: 100%

➤ **B:**

CD19: 100%

CD 20/22: 100%

CD10: 50%

clgμ: >95%

slgμ: >95%

slgK ó λ: >95%

➤ **T:** (CD3 y CD7: 100%), CD1a, CD2, CD5 en diferentes %.

** clg: Inmunoglobulina citoplasmática, ** slg: inmunoglobulina de superficie.

Partiendo de éstos marcadores aproximadamente el 85% de las LLA provienen de precursores de linfocitos B, un 15% provienen de células T y un 1 -2% restante presenta inmunoglobulinas de superficie y se clasifica como LLA de linfocitos B maduros. Sin embargo, cabe hacer énfasis en que ninguno de los Acs mencionado es absolutamente linaje-específico, por lo cual la terminología preferida es linaje-asociado [10,26].

Los avances en inmunofenotipificación han mostrado, además de su importancia en el diagnóstico, la importancia pronóstica y de seguimiento clínico, al encontrar que pacientes con LLA, cuyas células expresan inmunofenotipo de linfocitos B ó T

maduros tienen peor pronóstico que aquellos con LLA de precursores B y precisan por lo tanto un tratamiento de mayor intensidad. **[14]**.

CD10 es actualmente el único antígeno leucocitario con significancia pronóstica independiente y con base en el cual se toman decisiones terapéuticas. Este antígeno se usa para dividir las células precursores B en subgrupos con excelente y buen pronóstico **[26]**.

Aunque existe controversia al respecto en grandes estudios, la incidencia de expresión de CD10 fue de 94% en pacientes con LLA de linaje B y de 40% en LLA de linaje T. Sin embargo la expresión de CD10 estuvo asociada con características de presentación favorables incluyendo edad mayor a 1 año, bajo conteo leucocitario ó alto contenido de DNA. Lo anterior no tuvo significancia pronóstica independiente **[24]**.

El inmunofenotipo CD10+/CD19+/CD34+ de células progenitoras inmaduras ha sido estudiado como un factor pronóstico independiente en LLA en niños. Por ejemplo en una larga cohorte de 2028 niños con LLA CD10+/ CD19+/CD34+ se asoció con características favorables y una ligeramente mejor supervivencia libre de enfermedad **[20,22]**.

Se ha descrito también que una expresión intensa de CD45 > 75% y de CD 20 > 25%, se correlaciona con pobre pronóstico en niños mayores de 1 año, encontrándose como factores independientes con respecto a los demás factores pronósticos **[21]**.

La falta de expresión de CD45 en cambio, es un factor pronóstico favorable en LLA-B en la niñez. Esta característica se ha asociado con una excelente respuesta a la quimioterapia múltiple, bajo conteo leucocitario, bajos niveles de LDH, hiperploidía y alto índice de DNA **[26]**.

Con respecto a CD34 se ha identificado como factor pronóstico favorable tanto para supervivencia libre de enfermedad como para supervivencia total en niños con LLA, observándose una asociación significativa de CD34 con la ausencia de compromiso extramedular, bajos niveles de LDH, bajo conteo de leucocitos y baja actividad proliferativa [21].

Otro ejemplo, es la influencia negativa del fenotipo de linfocitos T en cuanto a pronóstico, la cual es menor si se asocia a un recuento leucocitario inicial elevado. Se ha encontrado, que ésta influencia puede ser atenuada por tratamientos intensos, demostrando que el comportamiento agresivo del fenotipo de linfocitos T no fue evidente con estos protocolos de tratamiento. Es claro que aún no hay criterios unificados, pero sí un gran camino por recorrer en investigación fenotípica [1].

La expresión de determinados antígenos de forma mixta también interviene como factor pronóstico; concepto que se descubrió a partir de la relación existente entre la expresión en al menos el 20% de las células, de antígenos mieloides; la cual se da en el 15- 25% de las LLA y se denomina: leucemia de linaje mixto, que se cree, se comporta como factor desfavorable en la evolución de la enfermedad: (corta supervivencia, corta duración de la remisión y alta tasa de recaídas en todas las fases de tratamiento); afirmación que hoy es controvertida y ha pasado a un segundo plano, al haberse demostrado que pacientes con fenotipos mixtos, tienen una evolución satisfactoria con los mismos protocolos de tratamiento empleados en LLA monoclonal [14].

Diagnóstico Morfológico

Las células de la LLA se pueden clasificar según su aspecto al microscopio óptico y se han relacionado también con los diferentes inmunofenotipos. El sistema más utilizado es el FAB, que divide los linfoblastos en categorías: L1; se caracteriza por linfoblastos pequeños con escaso citoplasma y nucléolos poco prominentes, la

cual aparece en el 85% de los casos de LLA infantil; L2: tiene linfoblastos más grandes, heterogéneos en tamaño, con nucléolos más prominentes y citoplasma abundante y L3: con linfoblastos grandes idénticos a las células de Linfoma de Burkitt, poseen Inmunoglobulinas de superficie y otros marcadores de tipo B y se da en el 1-2% de los casos de LLA [14,18].

Tradicionalmente la edad y el conteo de leucocitos al momento de presentación, se han considerado factores pronósticos importantes en Leucemia Linfóide Aguda en niños [14,26]. Sin embargo para el protocolo BFM –ACHOP 2006, no son tenidos en cuenta en la clasificación de riesgo [1].

Tabla 4. Factores clínicos y biológicos predictores pronósticos de LLA en niños [26]

FACTOR	FAVORABLE	DESFAVORABLE
Edad al diagnóstico	1-9 años	< 1 ó > 9 años
Género	Femenino	Masculino
Nº. Leucocitos	Bajo (<50 ó $25 \times 10^9/L$)	Alto (> 50 ó $>25 \times 10^9/L$)
Genotipo	- Hiperdiploidía (> 50 cromosomas) - t (12;21) ó fusión TEL/ AML1	- Hipodiploidía (< 45 cromosomas) - t (9;22) ó fusión BCR/ ABL. - t (4;11) ó fusión MLL/ AF4
Inmunofenotipo	Común, preB	ProB, Linaje T

Pieters R, Carroll W. Biology and Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia. Pediatric Clinics of North América 2008; 55: 1-20 [26].

Para el desarrollo del Protocolo **BFM-ACHOP** 2006 se tuvo en cuenta para la clasificación de riesgo, los factores determinados en el estudio BFM Intercontinental 2002 así: [1]

CRITERIOS DE ALTO RIESGO: (Cualquiera de los siguientes):

1. Mala respuesta a prednisolona en el octavo día de tratamiento:

Son los pacientes con blastos absolutos > 1000 en extendido de sangre periférica en el octavo día de tratamiento, cuando solo han recibido prednisolona.

2. Paciente con mala respuesta en Médula Ósea en el día 15 de tratamiento:

Son los pacientes con blastos >25% en aspirado de médula ósea el día 15 de tratamiento, equivalente a estadio M3.

3. No logro de remisión completa al final de la inducción (33días):

Pacientes con blastos >5% en aspirado de médula ósea al final del tratamiento de inducción.

4. Traslocación (9:22) ó (4: 11)

CRITERIOS DE RIESGO ESTANDAR (Debe cumplir todos los siguientes):

1. Buena respuesta a la prednisolona al día ocho

2. Edad mayor de 1 año y menor de 16 años.

3. Cualquier recuento leucocitario

4. Médula Ósea al día 15: M1 ó M2.

5. Médula Ósea al día 33: M1

6. Inmunofenotipo preB ó T.

7. Todas las alteraciones citogenéticas, excepto Traslocación (9: 22) ó (4:11) que por si solas confieren alto riesgo.

DIFICULTADES EN EVALUACIÓN DEL ESTADO DE REMISIÓN:

1. Si hay célula sospechosas entre 5 y 25%, puede tratarse de células blásticas ó precursoras muy tempranas. En éste caso se repetirá el aspirado de médula ósea

(A.M.O) en 1 semana, sin quimioterapia previa. La nueva muestra se procesará con citometría de flujo para diferenciar células malignas de precursores benignos.

2. Médula Ósea con celularidad disminuida y sin blastos: Si el paciente tiene > 2000 leucocitos y > 50.000 plaquetas debe considerarse dilución de la muestra con sangre periférica y repetir A.M.O.

3. Médula aplásica, sin blastos: Se refleja con trombocitopenia, Leucopenia y Reticulocitopenia en sangre periférica. Se diferirá la quimioterapia 1 semana y se repetirá el A.M.O. La recuperación de la hematopoyesis es una condición para considerar remisión completa.

En pacientes con masa mediastinal ó compromiso testicular: Se espera reducción al final de la inducción, confirmando con estudios imaginológicos. En éste caso se dará plazo hasta el día 52. Si son positivas deberá hacerse biopsia. Si persisten blastos en ésta se considerará LLA de Alto Riesgo, debe iniciarse manejo como tal. La Leucemia testicular puede requerir radioterapia con 18 Gys.

Presencia de células dudosas en LCR: Puede encontrarse un LCR con células difíciles de identificar entre blastos y linfocitos reactivos. Es necesario estar seguros que el LCR no está contaminado con sangre periférica (muestra atraumática). La inmunotipificación de las células puede contribuir a la identificación de las células dudosas (Un examen con Tdt puede ser suficiente).

EXCEPCIONES:

* AL final de la inducción pacientes con LLA con cromosoma Ph+(BCR/ABL) ó pacientes con t(4: 11) (MLL/AF4) se clasificarían como de alto riesgo sin importar la respuesta a la prednisolona.

*Pacientes con mielograma no evaluable en día 15 por Aplasia serán clasificados de acuerdo a otros criterios (no correspondientes a éste estudio).

5. METODOLOGÍA

5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio de cohorte retrolectiva en niños con diagnóstico de LLA atendidos en los servicios de Oncohematología Pediátrica del Hospital Universitario de Santander (HUS) y de la Clínica Materno Infantil San Luis (CMISL), entre Enero 1 de 2007 y Junio 30 de 2010. Se tuvieron en cuenta pacientes de ambos sitios, en razón a que son atendidos por el mismo equipo de profesionales, que manejan igual esquema de tratamiento y atienden pacientes provenientes de similares área de influencia del nororiente colombiano.

5.2 POBLACIÓN

5.2.1 Población de referencia. Pacientes mayores de 1 año y menores de 16 años de edad, con diagnóstico de LLA.

5.2.2 Población blanco. Pacientes mayores de 1 año y menores de 16 años con diagnóstico de Leucemia Linfocítica Aguda y tratamiento para su enfermedad en el HUS y en la CMISL.

5.2.3 Población de estudio. Todos los pacientes mayores de 1 año y menores de 16 años de edad con diagnóstico por primera vez de LLA y tratamiento en el HUS o CMISL.

5.2.4 Unidad de muestreo. Pacientes de 1 a 16 años con diagnóstico de LLA en el HUS y CMISL.

5.2.5 Marco muestral. Todos los pacientes mayores de 1 año y menores de 16 años de edad con diagnóstico de LLA en el HUS y CMISL, a los que se les realizó estudio de inmunotipificación, captados entre Enero 1 de 2007 y Junio 30 de 2010 que recibieron tratamiento según protocolo BFM- ACHOP 2006.

5.2.6 Tamaño. Se realizó por conveniencia dada la naturaleza exploratoria del estudio, e incluyó todos los niños y niñas de 1-16 años, con LLA inmunotipificada, tratados en el HUS y CMISL, según protocolo BFM ACHOP 2006, en el espacio de tiempo antes descrito.

5.2.7 Criterios de inclusión

- Pacientes > de 1 año y < de 16 años de edad con diagnóstico de LLA entre Enero de 2007 a Junio 30 de 2010 en el HUS y CMISL.
- LLA inmunotipificada en el Departamento de Hematopatología de la Fundación Santafé de Bogotá ó en Laboratorio Biomolecular (Bogotá, Colombia).
- Pacientes que aceptaron tratamiento completo propuesto por Hematooncólogo tratante y no habían iniciado tratamiento en otras instituciones.
- Pacientes en quienes LLA sea la primera y única Neoplasia.

5.2.8 Criterios de exclusión. Pacientes con LLA, en quienes se haya demostrado por prueba de citogenética, traslocación t(9;22) ó t(4;11).

5.3 VARIABLES EVALUADAS: Anexo 4

5.3.1 Variable principal. Como variable principal se tuvieron dichos pacientes clasificados según inmunotipificación como positivos o negativos para los diferentes inmunofenotipos. Tomando como factor de exposición el ser positivo para cada uno de éstos: CD10, CD19, CD34, CD45, CD20, CD13, CD33, CD38, HLA- DR, CD7 y CITIG IM.

Los estudios de inmunotipificación fueron realizados en el Departamento de Hemato-patología de la Fundación Santafé de Bogotá y el laboratorio Biomolecular (Bogotá, Colombia).

5.3.2 Covariables. Como covariables se tomaron edad, género, raza, lugar de procedencia, recuento de leucocitos en hemograma al diagnóstico y estado de médula ósea al diagnóstico.

5.3.3 Desenlaces

5.3.3.1 Pacientes con mala respuesta a la prednisolona al octavo día de tratamiento. Se define como más de 1000 blastos absolutos en sangre periférica día ocho de inducción. En ese momento el paciente ha recibido 7 días de prednisolona y una dosis de quimioterapia intratecal. Se definió blastos absolutos = porcentaje de blastos en sangre periférica por Leucocitos/ml en sangre periférica.

5.3.3.2 Mala respuesta en médula ósea al día 15 de tratamiento. Son los pacientes con blastos > 25% en aspirado de médula ósea (AMO); es equivalente a médula ósea estadio 3 (M3) el día 15 de tratamiento (dos semanas luego de inicio de prednisolona, una dosis de vincristina, daunorrubicina y asparaginasa, y una dosis de quimioterapia intratecal).

5.3.3.3 No remisión completa al final de la inducción. Se consideraron positivos para éste desenlace de "No remisión" a los pacientes con aspirado de médula ósea que muestre médula ósea M2 ó M3 (> 5% de blastos) al día 33 de inducción. En caso contrario se considerarán negativos para este resultado, pacientes con AMO estadio M1 al día 33 de inducción, que no tengan hallazgos de regeneración de hematopoyesis como hiperplasia eritroide a pesar de recuperación hematológica y que tengan una celularidad normal o ligeramente disminuída.

De la misma manera se debe tener un LCR negativo como requisito y confirmar por imágenes la remisión de los sitios inicialmente comprometidos, para tomar dicha variable como negativa.

5.3.3.4 Recaídas. Es el regreso de signos, síntomas, hallazgos paraclínicos e imaginológicos luego de un período de ausencia de éstos.

Debido a que ésta variable cambia en el tiempo, se revisarán las historias clínicas cada 3-4 meses y se valorará por medio de curva de sobrevivida (Kaplan-Meyer), tomando como tiempo cero, el tiempo en que remiten manifestaciones clínicas y paraclínicas de la LLA una vez terminada la fase de inducción: es decir una vez se comprueba remisión completa por primera vez.

Para efecto de la comparación de la proporción de las diferentes recaídas, se seguirá su aparición de forma individual: medular, en el sistema nervioso central (SNC), testicular y combinada.

5.3.3.5 Muerte. Se registró la ocurrencia de dicho evento, sólo si ocurrió por causa directa ó indirecta de la LLA y la fase del tratamiento en la sucedió el deceso.

Ante pérdida de algún paciente, a pesar del cuidadoso seguimiento, se analizó su evolución hasta el momento en que abandonó tratamiento.

5.4 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

En este estudio de cohorte retrolectiva, se revisaron las historias clínicas físicas (archivos, documentos en departamento de estadística y servicio de hematoncología pediátrica del HUS y CMISL) e historias clínicas electrónicas (Base de datos de los servicios de Hemato-Oncología Pediátrica HUS y de la CMISL) de los pacientes entre 1 a 16 años, con diagnóstico inicial de leucemia linfoide aguda, en el periodo comprendido entre Enero 1 de 2007 y Junio 30 de 2010, sin tratamientos previos (diagnóstico de primera vez) y que fueron clasificados inmunofenotípicamente en el servicio de Hemato-Patología de la Fundación Santafé de Bogotá, en el caso de los pacientes del HUS ó en el laboratorio Biomolecular (Bogotá, Colombia) grupo de la CMISL.

Criterios de exclusión: pacientes a quienes en su seguimiento inmunofenotípico, se les descartó definitivamente el diagnóstico de LLA. Igualmente pacientes en quienes el estudio de citogenética confirmó translocación $t(9;22)$ ó $t(4;11)$.

La recolección de datos, se hizo de forma retrospectiva, se captaron los pacientes entre Enero 1 de 2007 y Junio 30 de 2010. Se revisaron sus historias clínicas hasta el momento en que se tuvo registro de sus datos, ya sea por abandono del tratamiento, fallecimiento ó traslado. Se diseñó un formato de recolección de información (**Anexo 5**), el cual fue diligenciado por el investigador y/ó colaboradores, previo consentimiento verbal de los padres (**Anexo 6**).

En casos de traslado, se intentó realizar seguimiento del paciente, se contactó al nuevo médico Hemato-Oncólogo tratante, en Santander ó de forma más compleja en otro departamento y se solicitó la historia clínica que se realizó en la nueva Institución. Es necesario aclarar que en Bucaramanga existen otros sitios donde se atienden y tratan pacientes con éste tipo de patología.

Dentro de la recolección retrospectiva de datos de los pacientes captados desde el año 2007, se revisaron las historias clínicas físicas y del sistema de registro del servicio de Hemato-Oncología pediátrica y se realizó la entrevista y examen físico a los pacientes hospitalizados, que recibían tratamiento según las fases del protocolo BFM-ACHOP 2006 ó a los que estaban asistiendo a controles por consulta externa; ésta cercanía facilitó la confirmación y actualización de datos, con familiares ó acudientes.

Dentro de la selección de los pacientes de 1 a 16 años, con diagnóstico inicial de LLA por primera vez en el HUS ó CMISL, se tuvo en cuenta como factor de exposición, la presencia de coexpresiones inmunofenóticas mielodes y/ó B maduras, con el fin de hallar su influencia en el riesgo de desenlaces desfavorables, para así dilucidar si pudiera incluirse en futuras clasificaciones de riesgo. Además se evaluó las covariables ya descritas, las cuales fueron medidas y registradas una vez fue ingresado el paciente al estudio.

En el transcurso del estudio, se siguió si ocurría ó no y cuando ocurrían los eventos desenlaces descritos, que se relacionaban con mala respuesta a tratamiento de inducción al día 8, 15 y al finalizar dicho tratamiento. Las cuales son variables puntuales e independientes para la ocurrencia de la siguiente, en el orden mencionado anteriormente.

La sobrevida libre de enfermedad, se evaluó desde el momento en que el paciente entró en remisión completa hasta la ocurrencia de recaída, si ésta se presentó ó hasta el último control (Junio 30 de 2010), muerte ó abandono si se presentaron.

La sobrevida global (SG), se evaluó desde el momento del diagnóstico hasta el último control realizado ó hasta la fecha de fallecimiento.

5.5 PROCESAMIENTO DE DATOS

5.5.1 Pacientes con mala respuesta a la Prednisolona al octavo día de tratamiento: (más de 1000 blastos absolutos en sangre periférica día ocho de inducción): Los pacientes con ≥ 1000 blastos absolutos en el Hemograma al día ocho serán codificados con un (1), siendo positivos para ésta variable desenlace y los pacientes con < 1000 blastos absolutos se codificarán con (0).

5.5.2. Mala respuesta en Médula Ósea al día 15 de tratamiento: Los pacientes con esta variable positiva, serán codificados con (1), cuando tienen $\geq 25\%$ blastos en Médula ósea y si tienen M2 ($>5a < 25\%$ blastos en A.M.O) ó M1 (≤ 5 blastos en A.M.O) al día 15, su código será (0).

5.5.3. Remisión Incompleta al final de la inducción: Pacientes con Aspirado de Médula Ósea M1 al día 33 de la inducción, se interpretará como negativo para éste desenlace, siendo registrado como (0), mientras tener un estadio M2 ó M3 en éste, se tomará como desenlace positivo para remisión incompleta al final de la inducción y se codificará como (1).

5.5.4. Recaídas: Regreso de signos, síntomas, hallazgos paraclínicos e imaginológicos luego de un periodo de ausencia de éstos. Cualquiera de ellas, aplica para positividad de ésta variable desenlace y será codificada como (1) con respecto a No Recaída (0). Para efecto de la comparación de la proporción de las diferentes recaídas, se codificará: Recaída Medular: (0), Recaída a S.N.C: (1), Recaída Testicular: (2) y Combinada:(3).

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Este trabajo corresponde al análisis de una cohorte retrolectiva, es decir, que los datos fueron recogidos de manera retrospectiva, pero el análisis se hizo prospectivamente.

Inicialmente se compararon las covariables entre las dos instituciones participantes para ver si las diferencias entre las dos poblaciones eran sustanciales como para considerar que eran dos grupos que no podían unirse para este estudio. Las variables cualitativas y cuantitativas discretas se agruparon en categorías lógicas; en todo caso, se compararon por medio de chi cuadrado, aceptando como significativas aquellas diferencias con $p < 0.05$ y se evaluó la heterogeneidad existente por medio de la prueba de Woolf.

Las medidas de resumen empleadas para las variables cualitativas y cuantitativas discretas fueron proporciones y se expresó sus respectivos intervalos de confianza del 95% (IC95%).

Para la evaluación de variables cuantitativas continuas, las medidas de resumen se tomaron según si el comportamiento era Gaussiano ó no; es decir, se presentaron como mediana ó media asociadas a rango intercuartílico ó desviación estándar, respectivamente.

Posterior a lo anterior se estableció la incidencia de las respuestas a los días: 8, 15 y 33 de la inducción, así como la aparición de los subsecuentes desenlaces (recaídas o muerte). Así, frente a cada desenlace se tuvo éstos dos grupos, uno con el evento adverso y otro sin éste, por lo que se compararon esos dos grupos de cada desenlace.

Para los desenlaces de la inducción se utilizó la incidencia acumulada, comparando primero todas las covariables por chi cuadrado y luego por medio de regresión binomial (que genera riesgos relativos [RR] e IC95%), teniendo en cuenta en éste modelo de manera forzosa las variables: inmunotipificación, edad y género, mientras que las demás se incluyeron sólo si en el análisis bivariado precedente tuvieron $p < 0.2$; y se mantuvieron en el modelo si y solo sí había asociación específica o modificaban el estimado principal en más del 10%, tal como lo recomienda Greenland [28]. Finalmente, se evaluó la bondad de ajuste del modelo según las recomendaciones de Hosmer y Lemeshow [29].

Con respecto a las variables desenlace: recaída (cualquiera de ellas) y muerte, se expresaron en densidad de incidencia, se realizó análisis de sobrevida de Kaplan Meier y el modelo multivariado de Cox. Este modelo de Cox indica la razón de velocidad de aparición de un desenlace dado entre dos grupos, uno referente del otro. La correlación incluyó las variables: respuesta al día 8, a los 15 días y al final de la inducción, a manera de variables independientes, así como las otras variables ya mencionadas, bajo las mismas consideraciones de ingreso de la regresión logística. Se utilizó la prueba Log Rank para estimar la significancia de las curvas de sobrevida; la bondad de ajuste del modelo de Cox se evaluó según las recomendaciones de Tsiatis que figuran en el trabajo de Hernández y cols [30]

7. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este protocolo fue formulado de acuerdo con la reglamentación ética vigente (Declaración de Helsinki, Resolución 8430 de 1993); fue posible clasificarla como investigación sin riesgo dado que la investigación implicó únicamente la revisión de historias clínicas a partir de información que se consignó regularmente en ella como parte del protocolo de manejo BFM-ACHOP 2006, de los pacientes menores de 16 años con diagnóstico de LLA tratados en el HUS.

La información recolectada en este proyecto fue de carácter confidencial, protegiendo en todo momento la identidad de los participantes. Los investigadores se comprometieron a guardar la privacidad y confidencialidad de la información aportada. La historia clínica de cada paciente recibió un número secuencial en la medida en que fue revisada y sólo el investigador principal sabía qué número correspondía a cada paciente. De la misma manera, al momento de difundir los resultados del estudio sólo se presentaron datos colectivos sin individualizar casos particulares.

Ante lo anterior, se solicitó la exención de consentimiento informado escrito como parte del proceso de aprobación del proyecto que hizo el Comité de Ética Institucional de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander. Se adjunta un modelo de la información que se le dió a los padres para la consecución del consentimiento verbal. **Anexo 6.**

8. RESULTADOS

8.1 POBLACIÓN ESTUDIADA

Entre el 1º de enero de 2007 y junio 30 de 2010 se atendieron en las dos instituciones 65 pacientes por LLA, de los cuales 63 pacientes cumplían los criterios de inclusión (**Figura 1**).

De los 63 pacientes incluidos, 1 paciente murió al diagnóstico y 2 durante la inducción; 2 pacientes nunca presentaron remisión, de los cuales 1 falleció. Posteriormente, 4 tuvieron recaída de médula ósea y otro presentó recaída de médula ósea y del SNC. Del total de éstos 5 pacientes con recaída, fallecieron 2. En total, 54 pacientes estuvieron libres de recaídas, de los cuales 2 más fallecieron. Como resumen, de los 63 pacientes incluidos en el estudio, fallecieron 8 pacientes en diferentes etapas de proceso diagnóstico y tratamiento.

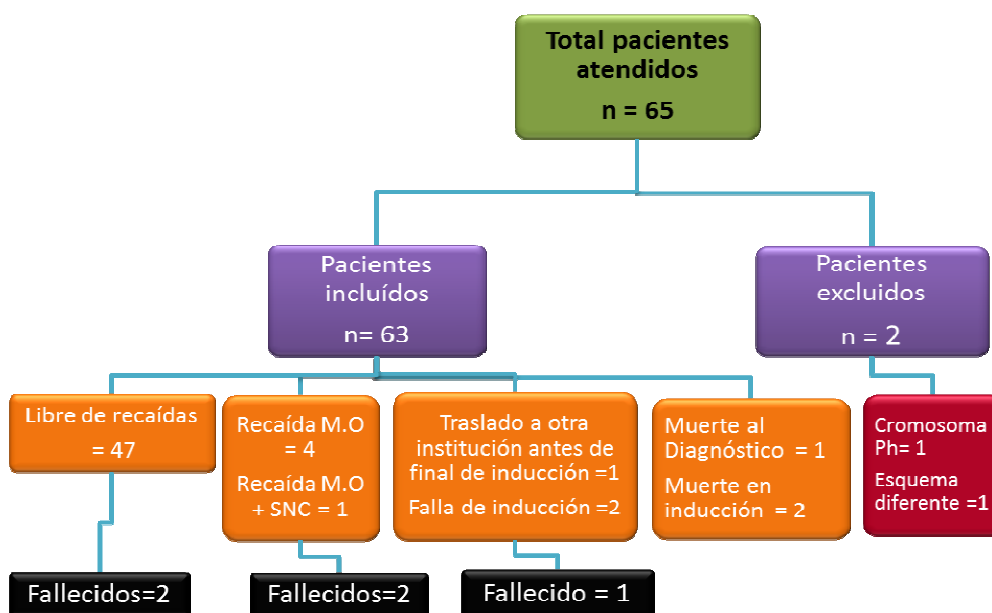


Figura 1. Flujograma de pacientes

En la tabla 5 se aprecia que entre los 46 pacientes captados en el HUS y los 17 de la CMISL hay diferencia en la procedencia del área metropolitana de Bucaramanga y en el año en que se hizo el diagnóstico, pero por lo demás son de iguales características. La prueba de Woolf indica que a pesar de las diferencias en estos dos elementos no son dos poblaciones distintas las que se atienden en los dos centros.

Tabla 5. Características de los pacientes incluidos según el centro médico de atención

Característica	Centro		p
	HUS (n = 46)	CMISL (n = 17)	
Sexo masculino	24 (51.2%)	11 (64.7%)	0.374
Procedencia			
Área Metrop B/manga	18 (39.1%)	13 (76.5%)	0.031
Otros Santander	20 (43.5%)	3 (17.7%)	
Fuera Santander	8 (17.4%)	1 (5.9%)	
Edad (años)			
1-5	28 (60.9%)	15 (88.2%)	0.099
6-10	14 (30.4%)	1 (5.9%)	
11-15	4 (8.7%)	1 (5.9%)	
Edad (años)*	5.1 (3.4 a 7.8)	4.2 (3.2 a 5.4)	0.265
Año de diagnóstico			
2007	11 (23.9%)	3 (17.7%)	0.003
2008	19 (41.3%)	1 (5.9%)	
2009	10 (21.7%)	12 (70.6%)	
2010	6 (13.0%)	1 (5.9%)	
Leucit a Dx (1,000/mm ³)*	13.1 (4.0 a 66.0)	8.5 (3.6 a 23.0)	0.439
≥ 50,000	11 (23.9%)	3 (17.7%)	0.485
LLA ₂	12 (26.1%)	5 (29.4%)	0.792
Precursores B	39 (84.8%)	16 (94.1%)	0.323
Coexpresiones			
CD13	18 (39.1%)	5 (29.4%)	0.477
CD20	25 (54.4%)	3 (17.7%)	0.009
CD33	10 (21.7%)	1 (6.9%)	0.141
CD13 ó 20 ó 33	31 (67.4%)	6 (35.3%)	0.022

*Mediana y recorrido intercuartil

Dos pacientes tenían síndrome de Down y otro delección del cromosoma 13.

8.2 EVALUACIÓN DE DESENLACES EN LA FASE DE INDUCCIÓN

1 paciente falleció antes de iniciar la inducción, mientras que otros 2 murieron durante el transcurso de esta, pudiéndose analizar la respuesta a la inducción al día 8º y 15 en 1 de ellos. En 5 de los 63 pacientes evaluables no fue posible estimar la respuesta en extendido de sangre periférica (ESP) al 8º día; la evaluación al día 15 no pudo hacerse en 3 pacientes y en 4 no se realizó aspirado de médula ósea del día 33, de los cuales 2 no tuvieron evaluación al día 8º ni al día 15 y son 2 de los 3 pacientes que se comentaron inicialmente, que murieron en la inducción.

En la tabla 6 se puede apreciar que estas respuestas no fueron diferenciales entre los dos centros de atención.

Tabla 6. Frecuencia de desenlaces evaluados en inducción por centro médico de atención

Característica	Centro		p
	HUS (n = 46)	CMISL (n = 17)	
Mala respuesta ESP 8º día	14/41 (34.2%)	6 (35.3%)	0.933
Mala respuesta MO 15º día	16/43 (37.2%)	4 (23.5%)	0.311
Mala respuesta MO 33º día	1/43 (2.3%)	0/16 (0.0%)	0.538

8.2.1 Respuesta al 8º día. En total 20 pacientes tuvieron mala respuesta en el ESP a los 8 días de la inducción (32.8%, IC 95% 21.3 a 46.0). En la **tabla 7** se aprecian las diferencias en las características de ingreso de los pacientes entre aquellos que presentaron buena y mala respuesta en ESP al 8º día de inicio de la inducción. En ella es evidente que los factores asociados son el año del diagnóstico y el número de leucocitos en sangre

periférica al momento del diagnóstico; sin embargo, al evaluar la falla en la respuesta del ESP al 8º día según si los pacientes tenían 50,000 o más leucocitos/mm³ no se halló asociación significativa.

Ahora bien, al explorar la capacidad predictiva del número de leucocitos/mm³ al momento del diagnóstico con respecto a la falla en la respuesta del ESP al día 8, se realizó el área bajo la curva ROC (0.707, IC95% 0.559 a 0.856; figura 2), siendo el mejor punto de corte el tener 30,000 o más leucocitos por mm³ (**Figura 2**).

Usando este punto de corte, se encontró que 9 (23.1%) de los pacientes con hasta 29,999 leucocitos/mm³ tuvieron mala respuesta al 8º día, frente a 11 (61.1%) de quienes tenían más de esa cifra (p = 0.005; RR 2.65, IC95% 1.34 a 5.23). Esta asociación se mantiene al ajustar por el año en que se hizo el diagnóstico (RR 2.66, IC95% 1.34 a 5.24).

Figura 2. Curva ROC de los leucocitos al momento del diagnóstico para predecir mala respuesta en el día 8º de la inducción

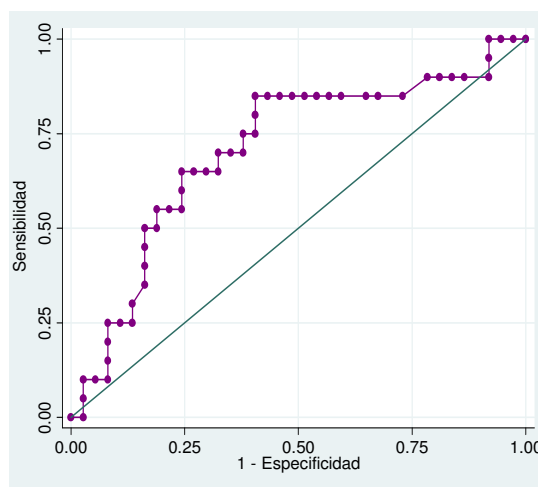


Tabla 7. Características asociadas a la mala respuesta del ESP al 8º día de inducción

Característica	Respuesta a prednisona Día 8		p
	Buena (n = 38)	Mala (n = 20)	
Atendido en HUS	27 (71.1%)	14 (70.0%)	0.933
Sexo masculino	22 (57.9%)	9 (45.0%)	0.349
Procedencia			
Área Metrop B/manga	20 (53.6%)	9 (45.0%)	0.421
Otros Santander	7 (18.4%)	2 (10.0%)	
Fuera Santander	11 (29.0%)	9 (45.0%)	
Edad (años)			
1-5	27 (71.1%)	14 (70.0%)	0.236
6-10	7 (18.4%)	6 (30.0%)	
11-15	4 (10.5%)	- (-)	
Edad (años)*	4.6 (3.5 a 6.8)	4.9 (3.2 a 6.5)	0.794
Año de diagnóstico			
2007	11 (29.0%)	1 (5.0%)	0.014
2008	14 (36.8%)	4 (20.0%)	
2009	11 (29.0%)	10 (50.0%)	
2010	2 (5.3%)	5 (25.0%)	
Leucit al diagn(1,000/mm ³)*	5.7 (3.5 a 19.6)	32.2 (9.6 a 80.0)	0.010
≥ 50,000	6 (16.2%)	7 (35.0%)	0.107
LLA ₂	9 (23.7%)	7 (35.0%)	0.359
Precursores B	34 (89.5%)	18 (90.0%)	0.950
Coexpresiones			
CD13	13 (34.2%)	7 (35.0%)	0.952
CD20	19 (50.0%)	8 (40.0%)	0.468
CD33	5 (13.2%)	6 (30.0%)	0.120
CD13 ó 20 ó 33	23 (60.5%)	11 (55.0%)	0.685

*Mediana y recorrido intercuartil

8.2.2 Respuesta al 15º día. Un total de 20 pacientes tuvieron mala respuesta en la MO a los 15 días de la inducción (32.8%, IC95% 21.3 a 46.0). En la **tabla 8** se aprecian las diferencias en las características de ingreso de los pacientes entre aquellos que presentaron buena y mala respuesta en la MO al 15º día de inicio de la inducción; se incluyen además de las evaluadas en la anterior sección, la respuesta y cantidad de blastos en ESP al día 8º (tabla 8).

Tabla 8. Características asociadas a la mala respuesta en médula ósea al 15º día de inducción

Característica	Respuesta de la médula ósea		p
	Buena (n = 40)	Mala (n = 20)	
Atendido en HUS	21 (67.5%)	16 (80.0%)	0.311
Sexo masculino	18 (45.0%)	14 (70.0%)	0.067
Procedencia			
Área Metrop B/manga	19 (47.5%)	9 (45.0%)	0.649
Otros Santander	7 (17.5%)	2 (10.0%)	
Fuera Santander	14 (35.0%)	9 (45.0%)	
Edad (años)			
1-5	29 (72.5%)	13 (54.0%)	0.816
6-10	9 (22.5%)	6 (30.0%)	
11-15	2 (5.0%)	1 (5.0%)	
Edad (años)*	4.6 (3.2 a 6.1)	5.2 (3.6 a 8.6)	0.452
Año de diagnóstico			
2007	9 (22.5%)	3 (15.0%)	0.104
2008	12 (30.0%)	7 (35.0%)	
2009	17 (42.5%)	5 (25.0%)	
2010	2 (5.0%)	5 (25.0%)	
Leucit al diagn (1,000/mm ³)*	5.7 (3.5 a 19.6)	32.2 (9.6 a 80.0)	0.010
≥ 50,000	8 (20.0%)	4/19 (21.1%)	0.925
≥ 30,000	9 (22.5%)	8/19 (42.1%)	0.120
LLA ₂	14 (35.0%)	2 (10.0%)	0.039
Precursores B	37 (92.5%)	18 (90.0%)	0.741
Coexpresiones			
CD13	17 (42.5%)	6 (30.0%)	0.348
CD20	19 (47.5%)	9 (45.0%)	0.855
CD33	6 (15.0%)	5 (25.0%)	0.345
CD13 ó 20 ó 33	26 (65.0%)	11 (55.0%)	0.453
Mal respuesta 8º día	9/37 (24.3%)	11 (55.5%)	0.029
Blast SP8º día (1,000/mm ³)*	0.36 (0.13 a 1.12)	2.38 (0.54 a 4.42)	0.003
≥ 2,200	5/34 (14.7%)	11/19 (57.9%)	0.001

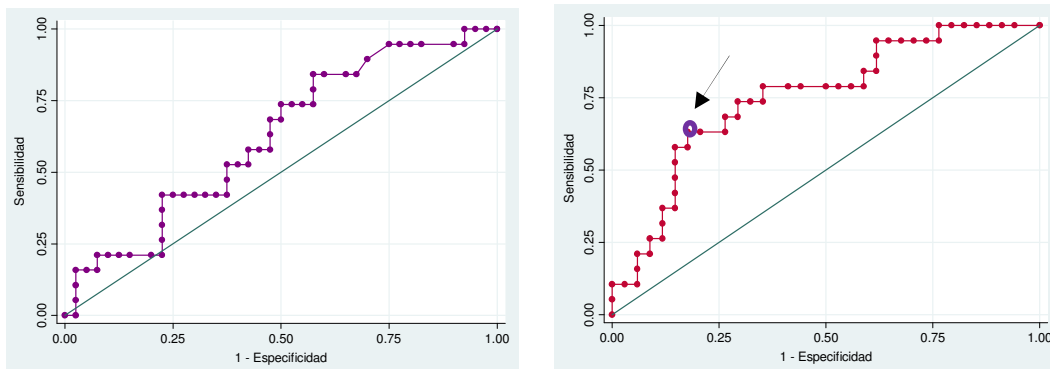
*Mediana y recorrido intercuartil

Los factores aparentemente asociados con mala respuesta al día 15 son el sexo masculino, el número de leucocitos en sangre periférica al momento del

diagnóstico, el ser una LLA clasificada citomorfológicamente como tipo 2, la mala respuesta al día 8 y tener ≥ 2200 blastos en ESP al día 8. Sin embargo, el área bajo la curva ROC descarta la utilidad pronóstica de los leucocitos al momento del diagnóstico (0.623, IC95% 0.473 a 0.773), mientras que sí lo es el número de blastos en ESP al día 8 (0.752, IC95% 0.615 a 0.889) (**Figura 3**).

El mejor punto de corte para predecir falla en la respuesta medular al 15º día de inducción es tener en sangre periférica al 8º día de inducción $\geq 2,200$ blastos/mm³, en donde 11 de los 16 pacientes con $\geq 2,200$ blastos/mm³ al 8º día tuvieron mala respuesta en MO al día 15, frente a 8 de 37 que tenían $< 2,200$ blastos/mm³ (68.8% vs 21.6%, $p = 0.001$). Así, luego de ajustar por el año de diagnóstico, se encontró que el único factor asociado con mala respuesta al 15º día de inducción es haber tenido $\geq 2,200$ blastos/mm³ en sangre periférica al 8º día de la inducción (RR 4.59, IC95% 1.74 a 12.11); ni la evaluación de mala respuesta al 8º día (RR 0.51, IC95% 0.22 a 1.16) ni el ser varón constituyen factores de riesgo para este desenlace (RR 1.47, IC95% 0.74 a 2.91).

Figura 3. Curvas ROC de los leucocitos al momento del diagnóstico (**izquierda**) y de los blastos en sangre periférica al 8º día de inducción (**derecha**) para predecir mala respuesta en el día 15º de la inducción.



8.2.3 Respuesta al 33º día. Uno de los 59 pacientes evaluados presentó mala respuesta de la MO al día 33 de la inducción (1.7%, IC95% 0.01 a 9.1), correspondiendo a un paciente con MO M3; otro paciente fue MO M2, 40 (67.8%) M1 y 17 (28.8%) sin blastos en MO, o sea, M0. Dado que la respuesta adecuada es lograr una M0 o M1, no es posible evaluar los factores asociados con mala respuesta (M2+M3) a este momento de la inducción ya que son solo dos pacientes con esta última característica. En total el 96,6% de los pacientes entró en remisión completa al finalizar la inducción.

8.3 RECAÍDA MEDULAR

Cinco de los 57 pacientes en los que se documentó remisión en la medula ósea al final de la inducción presentaron recaída medular (8.8%, IC95% 2.9 a 19.3). Uno de ellos presentó también recaída al SNC, detectadas ambas en la misma semana. En las **tablas 9 y 10** se aprecian los factores asociados con el riesgo de recaída en la MO.

Tabla 9. Tasa de recaída medular por 10,000 días-persona de seguimiento según las características iniciales de los pacientes estudiados

Característica	Recaída acumulada		TS*	Tasa de recaída	
	Recaídas	p		Tasa (IC95%)	P
Institución					
HUS	5/41 (12.2%)	0.144	22,247	2.23 (0.93 a 5.35)	0.103
CMISL	-/16 (-)		6,910	-	
Sexo					
Masculino	4/30 (13.3%)	0.199	17,980	2.22 (0.83 a 5.93)	0.189
Femenino	1/27 (3.7%)		12,782	0.78 (0.11 a 5.55)	
Procedencia					
Área Metrop B/ga	4/28 (14.3%)	0.324	15,739	2.54 (0.95 a 6.77)	0.269
Otros Santander	1/21 (4.8%)		12,727	0.79 (0.11 a 5.58)	
Fuera Santander	-/8 (-)		2,296	-	
Edad (años)					
1-5	4/41 (9.8%)	0.169	21,311	1.87 (0.70 a 5.00)	0.241
6-10	0/13 (-)		8,167	-	
11-15	1/3 (33.3%)		1,284	7.79 (1.10 a 55.29)	
Año de diagnóstico					
2007	2/12 (16.7%)	0.561	10,917	1.83 (0.46 a 7.33)	0.683
2008	2/19 (11.1%)		11,810	1.69 (0.42 a 6.77)	
2009	1/22 (4.8%)		7,53	5.97 (1.38 a 9.79)	
2010	-/6 (-)		782	-	
Leucit dx (1000/mm ³)					
Hasta 49,999	1/44 (13.0%)	0.007	25,271	0.40 (0.06 a 2.81)	0.015
≥ 50,000	3/12 (25.0%)		4,862	6.17 (1.99 a 19.13)	
Tipo de LLA					
1	4/42 (9.5%)	0.737	23,613	1.69 (0.64 a 4.51)	0.468
2	1/15 (6.7%)		7,149	1.40 (0.20 a 9.90)	

*TS: *Tiempo de seguimiento en días*

Tabla 10. Tasa de recaída medular por 10,000 días-persona de seguimiento según linaje celular y respuesta al 8° y 15 ° días de inducción

Característica	Recaída acumulada		Tasa de recaída			
	Muertes	<i>p</i>	<i>TS*</i>	Tasa (IC95%)	<i>P</i>	
Precusores						
B	4/52 (7.7%)	0.353	28,528	1.40 (0.53 a 3.74)	0.180	
T	1/5 (20.0%)		2,234			1.48 (0.63 a 31.7)
CD13 (+)	2/22 (9.1%)	0.946	14,479	1.38 (0.35 a 5.52)	0.391	
CD13 (-)	3/35 (8.6%)		16,479			3.81 (0.59 a 5.71)
CD20 (+)	2/25 (8.0%)	0.856	17,907	1.17 (0.30 a 4.66)	0.198	
CD20 (-)	3/32 (9.4%)		12,855			2.33 (0.75 a 7.24)
CD33 (+)	1/10 (10%)	0.880	5,922	1.69 (0.24 a 11.9)	0.452	
CD33 (-)	4/47 (8.5%)		24,840			1.61 (0.60 a 4.29)
Respuesta ESP d 8						
Buena	2/36 (5.6%)	0.340	22,617	0.88 (0.22 a 3.53)	0.058	
Mala	3/18(16.7)		5,982			5.01 (1.62 a 15.5)
No evaluada	-/3 (-)		2,162			-
Respuesta MO d 15						
Buena	1/39 (2.6%)	0.001	21,455	3.26 (1.56 a 6.84)	0.052	
Mala	3/17(17.7)		7,322			5.46 (2.05 a 14.5)
No evaluada	1/1 (100%)		288			34.72 (4.8 a 247)

**TS: Tiempo de seguimiento en días*

Desde la perspectiva de incidencia acumulada de recaída medular se encuentra que los factores asociados con esta son tener más de 50,000 leucocitos/mm³ al momento del diagnóstico, tener más de 5 años, ser una LLA de células T y no haber evaluado la medula ósea en el día 33 de tratamiento. De todos éstos hallazgos SOLO la cantidad de leucocitos al momento del diagnóstico se asocia significativamente con la incidencia acumulada de recaída en MO (RR por cada 10,000 leucocitos/mm³ por arriba de los primeros diez mil, 1.042, IC95% 1.018 a 1.066). Esto último significa que por cada 10,000 leucocitos/mm³ por arriba de los primeros diez mil el riesgo acumulado de recaída medular aumenta en 4.2%, con un IC95% entre 1.8% y 6.6%.

El tiempo total de seguimiento fue de 30,762 días, por lo que la incidencia global de recaída medular es de 1.62 recaídas medulares por cada 10,000 días-persona (IC95% 0.68 a 3.91). La **figura 4** muestra la sobrevida libre de enfermedad (SLEnf) de los pacientes estudiados, incluyendo su banda de confianza del 95%; esta probabilidad de sobrevida para ciertos puntos del seguimiento se puede ver en la **tabla 11**.

Figura 4. Sobrevida libre de enfermedad (SLEnf) de los pacientes estudiados, incluyendo banda de confianza del 95%.

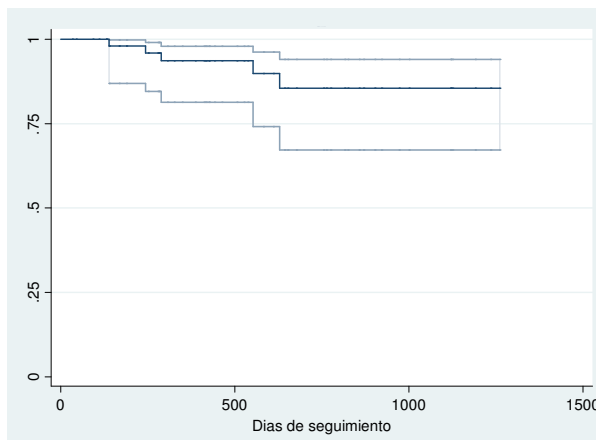


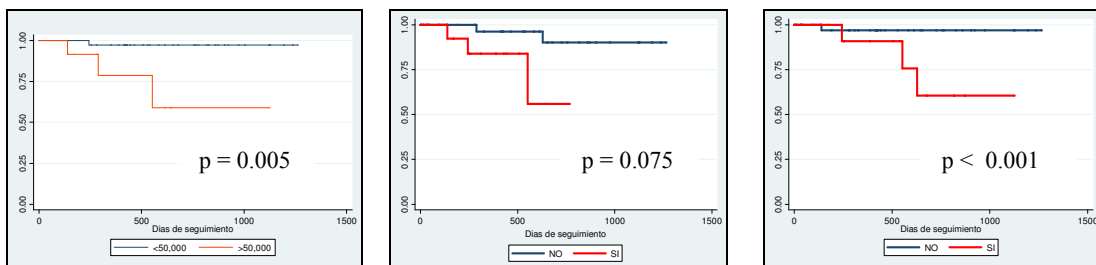
Tabla 11. Probabilidad de sobrevida libre de enfermedad (SLEnf) en ciertos puntos del seguimiento

Tiempo de seguimiento	Probabilidad de sobrevida	IC95%
180 días	98.04%	86.89%-99.72%
1 año	93.57%	81.30%-97.89%
2 años → 1,262 días	85.55%	67.22%-94.05%

Ahora bien, desde la perspectiva de la densidad de incidencia, donde se tiene en cuenta el tiempo de seguimiento, que necesariamente es dispar en esta cohorte abierta, los factores que inicialmente se pueden ver como

asociados con la recaída medular, tal como se presentó en las tablas 9 y 10, son tener más de 50,000 leucocitos/mm³ al momento del diagnóstico inicial, la respuesta los 8 y 15 días. Esto se corrobora en las curvas de (SLEnf) de la **figura 5**.

Figura 5. SLEnf según: tener más 50,000 leucocitos/mm³ (**izquierda**; p = 0.005), respuesta en ESP en el 8º día (**centro**, p = 0.075), y respuesta en MO al día 15 (**derecha**, p <0.001).



Finalmente, el único factor predictor de la velocidad de aparición de recaída medular es tener un mayor recuento de leucocitos al momento del diagnóstico (HR por cada 10,000 leucocitos/mm³ por arriba de los primeros diez mil, 1.067; IC95% 1.004 a 1.134), luego de ajustar por el año de diagnóstico, la edad y sexo del paciente. Los otros dos potenciales factores no se incluyen debido a la colinealidad de comportamiento.

8.4 MORTALIDAD Y SOBREVIDA GLOBAL

Se presentaron 8 fallecimientos (letalidad de 12.7%, IC95% 5.6 a 23.5%). 1 paciente de estos falleció al segundo día de haber hecho el diagnóstico sin que se hubiese iniciado el tratamiento; 2 más fallecieron durante la inducción, dos más durante la fase de mantenimiento, otro durante la inducción de rescate y finalmente, dos más durante el mantenimiento largo.

En la **tabla 12 y 14** se aprecia el análisis de la mortalidad tanto como incidencia acumulada como densidad de incidencia según las características al momento del diagnóstico de LLA de los pacientes incluidos. En ella parecieran ser factores asociados las respuestas medulares a los 15 y 33 días, la recaída medular, la presencia de CD20, el año de diagnóstico, el sexo del paciente y su edad. Sin embargo, al ajustar por todos estos factores, solo la recaída medular permanece como factor de riesgo (RR 6.08, IC95% 1.30 a 28.51).

El tiempo total de seguimiento fue de 32,398 días, por la que la incidencia global de mortalidad es de 2.49 fallecimientos por cada 10,000 días-persona (IC95% 1.23 a 4.94). La **figura 6** muestra la sobrevida global (SG) de los pacientes estudiados, incluyendo su banda de confianza del 95%; esta probabilidad de sobrevida para ciertos puntos críticos del seguimiento se puede ver en la **tabla 13**.

En las **figuras 7 a 11** se aprecian las curvas de Kaplan-Meier de sobrevida global (SG) según las características al ingreso de los pacientes. Se aprecian diferencias significativas en cuanto a edad del paciente y sexo, con mayor compromiso de los varones y los pacientes de más de 10 años de edad al momento del diagnóstico.

Tabla 12. Tasa de mortalidad por 10,000 días-persona de seguimiento según las características iniciales de los pacientes estudiados

Característica	Mortalidad acumulada		Tasa de mortalidad		
	Muertes	<i>p</i>	TS*	Tasa (IC95%)	<i>p</i>
Institución					
HUS	6/46 (11.8%)	0.892	23,43	2.51 (1.13 a 5.58)	0.496
CMISL	2/17 (13.0%)		8,453	2.37 (0.59 a 9.46)	
Sexo					
Masculino	7/35 (20.0%)	0.052	19,40	3.61 (1.71 a 7.56)	0.061
Femenino	1/28 (3.6%)		12,98	0.77 (0.11 a 5.47)	
Procedencia					
B/manga	6/31 (19.4%)	0.237	16,54	3.62 (1.62 a 8.05)	0.775
Otros Santander	0/9 (0.0%)		13,43	1.48 (0.37 a 5.92)	
Fuera Santander	2/23 (8.7%)		2,311	0.00 (0.00 a 16.0)	
Edad (años)					
1-5	4/43 (9.3%)	0.004	22,53	1.77 (0.66 a 4.72)	0.214
6-10	1/15 (6.7%)		8,418	1.19 (0.17 a 8.43)	
11-15	3/5 (60.0%)		1,397	21.47 (6.92 a 63.58)	
Edad (años)					
1-9	5/54 (9.3%)	0.045	28,64	1.74 (0.73 a 4.19)	0.032
10-15	3/9 (33.3%)		3,374	8.03 (2.59 a 24.91)	
Año de diagnóstico					
2007	5/14 (35.7%)	0.029	11,76	4.24 (1.77 a 10.19)	0.310
2008	1/20 (5.0%)		12,26	0.82 (0.12 a 0.81)	
2009	2/22 (9.1%)		7,470	2.68 (0.67 a 10.71)	
2010	0/7 (0.0%)		916	0.00 (0.00 a 40.20)	
Leucit al diagn (/mm ³)					
Hasta 49,999	5/48 (10.4%)	0.331	26,03	1.92 (0.80 a 4.61)	0.123
≥ 50,000	3/15 (20.0%)		6,345	4.73 (1.52 a 14.66)	
Tipo de LLA					
1	5/46 (10.9%)	0.473	7,818	3.84 (1.24 a 11.90)	0.201
2	3/17 (17.7%)		24,50	2.03 (0.85 a 4.89)	

*TS: Tiempo de seguimiento en días

Figura 6. Sobrevida global (SG) de los pacientes estudiados, incluyendo banda de confianza del 95%.

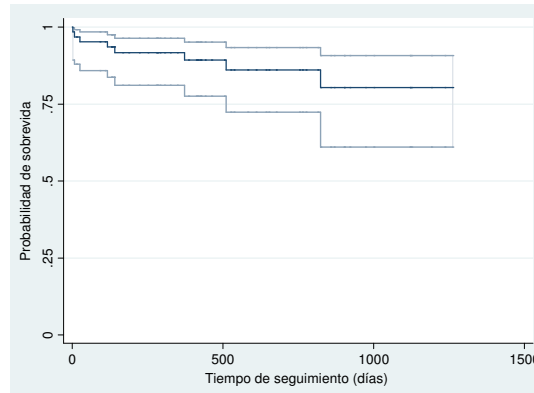


Tabla 13. Probabilidad de sobrevida global (SG) en ciertos puntos del seguimiento

Tiempo de seguimiento	Probabilidad de sobrevida	IC95%
30 días	95.21%	85.88% - 99.20%
90 días	95.21%	85.88% - 98.43%
180 días	91.71%	81.17% - 96.47%
1 año	89.36%	77.57% - 95.13%
2 años	86.16%	72.28% - 93.40%
3 años → 1,265 días	80.42%	61.04% - 90.83%

Figura 7. Curva de sobrevida global (SG) según sexo del paciente ($p = 0.088$)

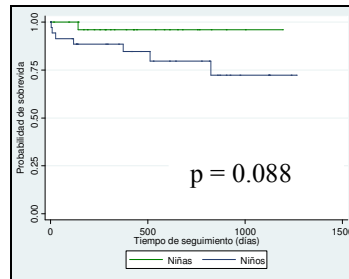


Figura 8. Curva de sobrevida global (SG) según: edad de (1-5), (6-10) y (11-16) años (izquierda, $p < 0.001$), procedencia del paciente (prueba log-rank, $p = 0.321$) y de leucocitos al momento del diagnóstico ($p = 0.272$).

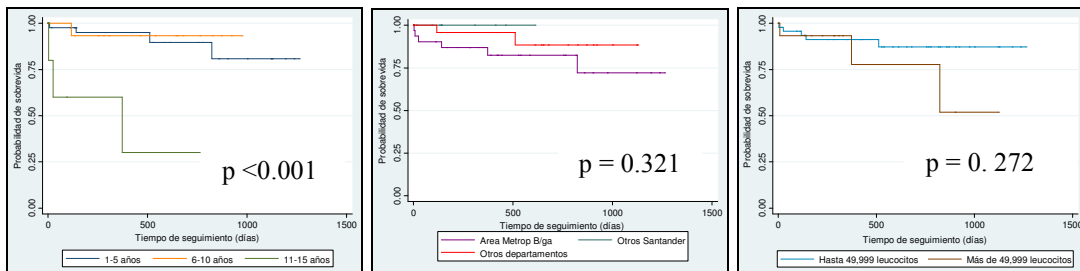
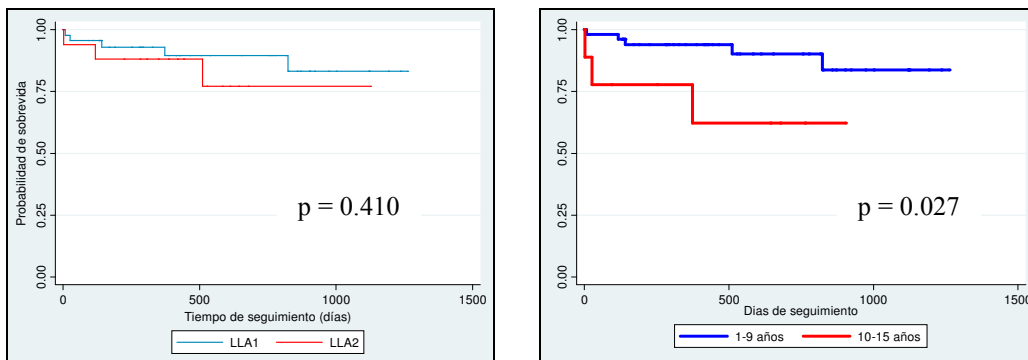


Figura 9. Curva de sobrevida global (SG) según clasificación citomorfológica de LLA ($p = 0.410$) y edad 1-9 años vs 10-15 años ($p=0.027$)



En la **tabla 14** se encuentra la mortalidad acumulada y la tasa de mortalidad de los pacientes estudiados según las características del tipo de LLA, la evaluación de los desenlaces en inducción y la presencia posterior de recaídas. Así, hay mayor mortalidad entre los pacientes con LLA de células T, así como entre quienes experimentan recaída medular; esto se reafirma al analizar las correspondientes curvas de Kaplan-Meier.

Finalmente, el único factor pronóstico de la velocidad de la mortalidad es la recaída medular, con un *hazard ratio* (HR) de 9.74 (IC95% 1.06 a 89.77).

Figura 10. Curva de sobrevida global (SG) según: linaje celular ($p < 0.001$), respuesta a los 8 días de la inducción ($p = 0.663$) y a los 15 días de inducción ($p < 0.001$).

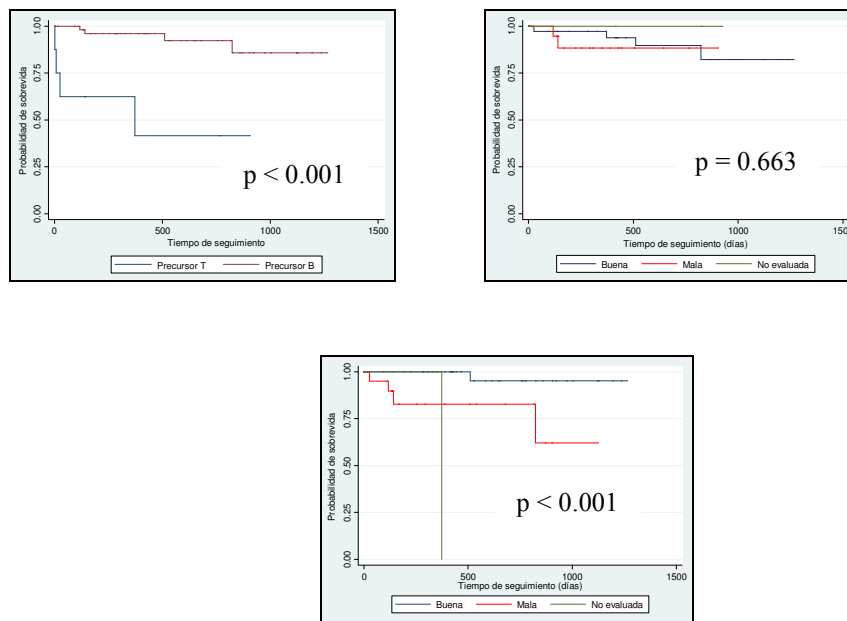


Tabla 14. Tasa de mortalidad por 10,000 días-persona de seguimiento según linaje celular, coexpresiones inmunofenóticas, respuesta a la inducción y ocurrencia de recaída

Característica	Mortalidad acumulada		Tasa de mortalidad		
	Muertes	<i>p</i>	<i>TS</i> *	Tasa (IC95%)	<i>p</i>
Precusores					
B	4/58 (7.3%)	0.001	30,044	1.33 (0.50 a 3.55)	0.002
T	4/8 (50.0%)		2,354	16.99 (6.38 a 45.27)	
CD13 (+)	1/23 (4.4%)	0.131	14,995	0.67 (0.09 a 4.73)	0.473
CD13 (-)	7/40 (17.5%)		17,403	4.02 (1.92 a 8.44)	
CD20 (+)	1/28 (3.6%)	0.052	18,607	0.54 (0.08 a 3.82)	0.198
CD20 (-)	7735(20.0%)		13,791	5.08 (2.42 a 10.65)	
CD33 (+)	1/11 (9.1%)	0.692	6,389	1.57 (0.22 a 11.11)	0.348
CD33 (-)	7/52 (13.5%)		26,009	2.69 (1.28 a 5.65)	
Respuesta MO 8 ^o día					
Buena	4/38 (10.5%)	0.840	23,403	1.71 (0.64 a 4.55)	0.244
Mala	2/20 (10.0%)		6,824	2.93 (0.73 a 11.72)	
No evaluada	0/3 (0.0%)		2,162	0.00 (0.00 a 17.05)	
Respuesta MO d 15					
Buena	1/40 (2.5%)	0.001	23,732	0.42 (0.06 a 2.99)	0.905
Mala	4/20 (20.0%)		8,284	4.82 (1.81 a 12.87)	
No evaluada	1/1 (100.0%)		373	26.81 (3.78 a 190.3)	
Respuesta MO d 33					
Buena	5/58 (8.6%)	0.146	32,214	1.55 (0.65 a 3.73)	0.494
Mala	0/1 (0.0%)		134	0.00 (0.00 a 271.5)	
No evaluada	1/2 (50.0%)		41	243.9 (34.4 a 1731)	
Tipo de MO al d 33					
0	0/17 (0.0%)	0.006	10,406	0.00 (0.00 a 3.54)	0.991
I	4/40 (10.0%)		21,691	1.84 (0.69 a 4.91)	
II	1/1 (100%)		117	85.47 (12.04 a 607)	
III	0/1 (0.0%)		134	0.00 (0.00 a 271.5)	
Recaída MO					
Si	4/14 (28.6%)	0.007	5,455	7.33 (2.75 a 19.54)	0.005
No	2/47 (4.3%)		26,934	0.74 (0.19 a 2.97)	

**TS*: Tiempo de seguimiento en días

Figura 11. Curva de sobrevida global (SG) según la respuesta a los 33 días de la inducción ($p < 0.001$) y recaída de medula ósea ($p = 0.019$).

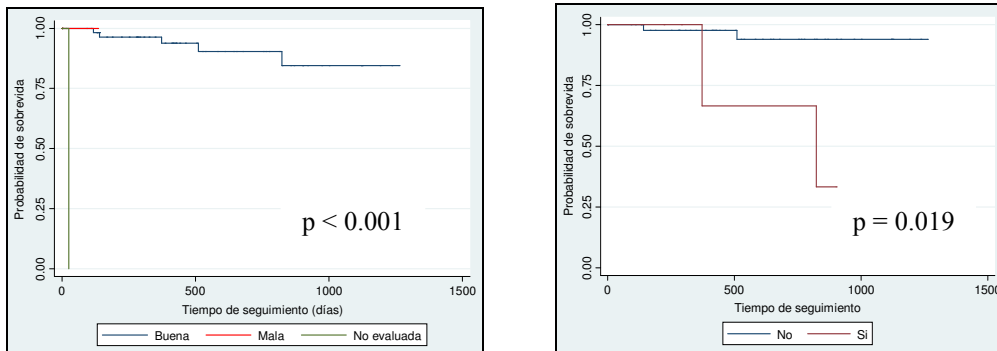
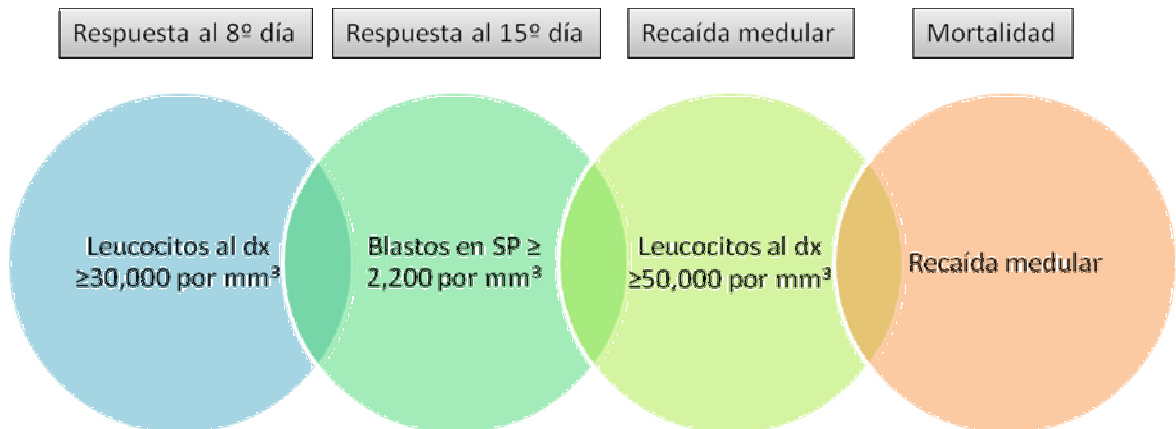


Figura 12. Resumen de los factores de riesgo para cada uno de los eventos analizados.



9. DISCUSIÓN

En el contexto a nivel mundial, la mayoría de los casos de LLA se producen en niños, con una incidencia de 3 a 4 por cada 100,000 habitantes entre 0 a 14 años de edad, mucho más que lo que ocurre entre adultos (un caso por cada 100,000 personas mayores de 15 años [1,20]; el 75% de todas las leucemias agudas en niños corresponden a LLA, las cuales a su vez representan el 34% de todos los cánceres en éste grupo de edad. [7, 10, 14, 25].

El Registro Poblacional de Cáncer del Área Metropolitana de Bucaramanga (RPC-AMB) [5] entre 2000 y 2004 describe un pico diagnóstico de leucemia entre los 5-9 años de edad; en el servicio de Hematología pediátrica del HUS desde febrero de 1993 a diciembre de 2010, se registraron 1,107 pacientes de 0-15 años con diagnóstico de cáncer, de los cuales el 37.9% correspondieron a leucemias y de éstos el 78.5% a LLA, coincidiendo con los datos de registro a nivel mundial [7, 10, 14, 25, 31].

En la caracterización poblacional del presente estudio, ingresaron en total 63 pacientes, de los cuales 46 fueron diagnosticados en el HUS y 17 en la CMISL; el análisis comparativo de los dos grupos no mostró ninguna diferencia estadísticamente significativa, por lo tanto todos los datos y resultados que se obtuvieron se analizaron como un todo.

El 68,2% de los pacientes correspondieron a niños entre 1 y 5 años, con un ligero predominio en varones (55.5%) y una relación niño: niña de 1.25: 1, que se asemeja a lo referido en la mayoría de estudios en la literatura mundial [1, 7, 10, 14, 32].

El estudio morfológico de los blastos mostró que el 74,6% de los casos fueron compatibles con linfoblastos L1 según la clasificación FAB **[18]** y el 25.3 % fueron clasificados como L2, que es similar a los estudios informados por otros autores **[10, 14]**.

La hipótesis principal de éste trabajo era saber si había alguna relación entre la coexpresión de marcadores mieloides ó de células B maduras y la clasificación de riesgo.

La coexpresión de marcadores mieloides ó de células B maduras en pacientes con LLA, difiere de las leucemias clasificadas como bilineales y bifenotípicas, las cuales han generado confusión históricamente, en su subclasificación. La cuarta edición de la clasificación de leucemia aguda de la OMS (2008), simplificó éstos conceptos, implicando una modificación significativa con respecto a la clasificación del grupo europeo para la caracterización inmunológica de Leucemia Aguda (EGIL) de 1995, incorporada en las guías de la OMS 2001 **[33]**. Actualmente se propone la agrupación de las leucemias agudas bilineales y bifenotípicas en la clasificación de leucemia aguda de fenotipo mixto (MPAL), la cual tiene unos criterios específicos de inclusión, donde la expresión única de cyt Mieloperoxidasa o CD3 permite la clasificación de blastos al linaje mieloides ó T respectivamente **[34, 35]**.

Además la clasificación OMS 2008 **[34, 35]** excluye ciertas asociaciones con aberraciones citogenéticas determinadas, clasificándolas independientemente como leucemia mieloides aguda con aberraciones citogenéticas recurrentes independientemente de la expresión inmunofenotípica **[34, 36]**.

Con respecto a las coexpresiones, que no corresponden a una clasificación y que fueron el motivo de nuestro estudio, se conoce que un 3,5 a 22 % de los niños con diagnóstico de LLA expresan marcadores mieloides (My +), pero esto varía según cada estudio [37-40].

Las LLA My+ se observan con mayor frecuencia en adultos que en niños. Se ha demostrado por estudios *in vitro* que los blastos de enfermos con LLA My+ muestran una gran habilidad para proliferar y liberar espontáneamente interleucina-6 y factor de necrosis tumoral, comportándose de forma similar a los blastos mieloides. Estos resultados permitieron plantear que la coexpresión de determinantes mieloides en la LLA, podrían llevar a cambios en algunas de las propiedades biológicas en estas células. Estas semejanzas encontradas en el comportamiento proliferativo, perfil de citocinas y expresión de receptores para citocinas entre blastos de la LLA My+ y de la LMA, sugieren que ambas variedades pueden originarse de una célula precursora hematopoyética que coexpresa características de ambos linajes linfóide y mielóide versus la teoría de la transformación de un precursor multipotencial [38].

Por otro lado, la incidencia de la leucemia linfóide aguda con coexpresión mielóide (CD13, CD14, CD15, CD33, CDw65 ó todas las anteriores) es variable cuando se comparan los resultados de la literatura [38].

Uckun y cols [39] evaluaron la coexpresión mielóide en una cohorte de 1557 pacientes con diagnóstico de LLA en el grupo de cáncer pediátrico (CCG); definiendo coexpresión mielóide, si se expresaba CD13, CD33 ó ambas ≥ 30 % de las células leucémicas y encontraron que los pacientes con LLA My(+) tenían características de presentación más favorables que los pacientes con LLA de precursores B My(-). Por otra parte, Ariffin y cols [37] no encontraron diferencia al comparar 39 pacientes con LLA de precursores B My+ con 112

pacientes con LLA de precursores B My(-), en un seguimiento por 3 años, con relación a sobrevida libre de eventos y sobrevida global a 2 años. Igualmente Pui y cols [40], demostraron que la coexpresión mieloides no tuvo efecto en la respuesta a la inducción ni en la sobrevida libre de eventos; posteriormente en otros dos estudios del mismo Centro (St Jude), Pui y cols concluyeron que la expresión mieloides en LLA infantil no se asociaba con pobre pronóstico si se usaban protocolos intensivos de quimioterapia, como los empleados en éstos pacientes [41, 42].

M. Abdelhaleem[43] considera que la expresión de los marcadores mieloides en la LLA infantil no es al azar, al encontrar diferencias de las coexpresiones mieloides según la línea celular; igualmente describió fracciones celulares TEL-AML1 positivo (con alta expresión de CD13 y CD33) a diferencia de células con expresión MLL-AF4 y BCR-ABL-positivo (que carecían de CD13), sugiriendo que el mal pronóstico que se le atribuye a los marcadores mieloides era superado por la asociación con determinados reordenamientos genéticos de buen pronóstico, como TEL-AML1, concepto en el que coinciden Pui y cols [44] y que hace parte de los controvertidos análisis citogenéticos actuales, que no se incluyeron en nuestro estudio por no haberlos realizado.

La contraparte, había sido reportada en los estudios de Wiersma y cols [45], quienes encontraron que la expresión de antígenos mieloides fue un importante factor predictor de mal pronóstico. Por otro lado, Kurec y cols [46] demostraron menor duración de la primera remisión y menor duración de la sobrevida en 8 pacientes My + de 51 niños con LLA.

En nuestro estudio, de los 63 pacientes analizados, en el 44,4% se encontró coexpresión CD20, correspondiente a células B maduras; con respecto a coexpresión mieloides, el 36.5% expresó CD13 y el 17.4% CD33, frecuencias

que son superior a los rangos descritos en la literatura [39, 41, 45], diferencia para la cual no tenemos aún explicación. Sin embargo no encontramos correlación significativa entre las coexpresiones y los desenlaces iniciales indicadores de riesgo, sobrevida global y sobrevida libre de enfermedad.

De 57 pacientes a quienes se les pudo evaluar la respuesta a la prednisona al día 8, 20 (35%) tuvieron mala respuesta (≥ 1000 blastos absolutos) y 37 (65%) buena respuesta. Al realizar el análisis utilizando la curva ROC se encontró que el punto de corte con mayor capacidad predictiva equivalía a tener $\geq 30,000$ leucocitos al momento del diagnóstico; es decir que el 61.1% (11 pacientes) de los que tuvieron más de ésta cifra, tuvieron mala respuesta, mientras que sólo el 23,1% (9 pacientes) de los que tuvieron $< 30,000$ leucocitos, tuvieron mala respuesta. Se encontró que el riesgo de tener mala respuesta era 2.65 veces mayor (I.C 95%: 1.34 – 5.23%) en los que tenían $\geq 30,000$ leucocitos.

Reiter A y cols [46] describieron buena respuesta al día 8 en aproximadamente 90% de los pacientes evaluados a partir del protocolo ALL-BFM 90, encontrando una sobrevida libre de eventos a 8 años en el 80% de ellos y que la mala respuesta que se daba en el 10% restante se relacionaba con alto riesgo de recaer.

Como se anotó antes, nuestro estudio demuestra que los pacientes con más de 30,000 leucocitos al diagnóstico tienen una alta posibilidad de tener mala respuesta al día 8 de la inducción, dato que puede minimizar la preocupación con respecto a que el Protocolo BFM-ACHOP-2006, haya eliminado el número de leucocitos como factor pronóstico.

Al analizar la mala respuesta al día 15, se encontró como único factor de riesgo asociado tener $2,200$ blastos/ mm^3 o más en sangre periférica al día octavo, correlación que no se ha estudiado en nuestro país antes, por lo cual no puede evaluarse su validez externa, sin embargo pudiera sugerir la posibilidad de eliminar la evaluación de médula ósea del día 15 para los pacientes con estos hallazgos.

Con respecto a la mala respuesta al día 33, debido a la escasa cantidad de desenlaces no fue posible evaluar los factores de riesgo asociados. Pero es de considerar que en éste análisis 96.6% de los pacientes que completaron el protocolo de inducción presentaron remisión completa (57 de los 59 pacientes evaluados); ésto coincide con lo descrito en la literatura con respecto a similar frecuencia (95 a 100%) de remisión con el uso de los diferentes protocolos y esquemas quimioterapéuticos vigentes **[7, 8, 27, 49- 51]**

En nuestro estudio, con relación a la incidencia acumulada de recaída medular, se encontró como factor de riesgo asociado, tener un mayor conteo de leucocitos al diagnóstico, dado que por cada $10,000$ leucocitos/ mm^3 por arriba de los primeros $10,000/\text{mm}^3$, la incidencia acumulada de recaída aumenta un 4.2%.

Este análisis es coherente con la mayoría de estudios al respecto, que correlacionan mal pronóstico ó menor sobrevida libre de eventos con mayor conteo de leucocitos al diagnóstico, teniendo en cuenta diferentes puntos de corte, generalmente $\geq 50,000/\text{mm}^3$ ó $\geq 10,000/\text{mm}^3$ **[52]**. Así mismo se correlaciona parcialmente con el resultado obtenido en un estudio colombiano en el Hospital Universitario del Valle **[53]**, que comparó el pronóstico en niños con LLA, clasificados en grupos de alto y bajo riesgo. Encontrando dentro de los criterios de alto riesgo: leucocitos al diagnóstico

$\geq 30000/\text{mm}^3$ y obteniendo una incidencia de recaída acumulada 2.2 veces mayor en pacientes de alto riesgo, (IC 95% 1.10- 4.70).

La incidencia global de recaída fue de 1.62 recaídas por cada paciente en 10,000 días ó de 1.62 recaídas por cada 10,000 personas en un día y la sobrevida libre de enfermedad (SLEnf) es de 80.42% a los 3 años. A pesar de que parece ser una SLEnf buena, siendo el tiempo de seguimiento relativamente corto, no es posible compararlo con los datos internacionales como los diferentes protocolos de BFM que fueron mejorando el porcentaje de sobrevida, desde 1981 hasta el protocolo BFM-90, que obtuvo una sobrevida libre de eventos (SLE) de 75.9% a los 8 años [54], o el BFM-95 con cifras de 79,5% de SLE a 6 años para todos los riesgos y con 89,5% para el riesgo estándar [50]. Es necesario esperar en el tiempo para establecer si nuestras curvas de sobrevida son similares a éstas, pero parecen distar de los resultados obtenidos en los últimos estudios internacionales, donde se reportan SLE de $> 80\%$ [51, 55-57].

Finalmente, desde la perspectiva de la densidad de incidencia, el único factor predictor de la velocidad de aparición de recaída medular es tener un mayor recuento de leucocitos al momento del diagnóstico, encontrando por cada 10,000 leucocitos/ mm^3 por arriba de los primeros 10,000, una probabilidad de recaída 1.067 veces mayor (IC 95%: 1.004- 1.134), luego de ajustar por el año de diagnóstico, la edad y sexo del paciente. Los otros dos potenciales factores (respuesta al día 8 y al día 15) no se incluyeron debido a la colinealidad de comportamiento.

Se presentaron 8 fallecimientos correspondientes al 12.7% de los pacientes incluídos en el estudio.

Con respecto a sobrevida global (SG), se encontró que ésta era de 95.21% a los 30 días, descendiendo a 89.36% al año, 86.16% a los 2 años y a 80.42% a los 3 años. Nuevamente, es valedero el comentario anterior, en relación a que el tiempo de seguimiento en nuestro trabajo es muy corto y no puede compararse, por ahora, con series internacionales que reportan sobrevidas globales entre 70 – 80% a 5 y 8 años desde el diagnóstico **[51, 55-58]**.

El único factor pronóstico de la velocidad de mortalidad es la recaída medular, con un riesgo 9.74 veces mayor de morir si ésta se presenta, lo que se correlaciona con la mayor parte de la literatura.

Nuestros resultados confirman la clasificación de riesgo del protocolo BFM-ACHOP- 2006, en donde ni el linaje T, ni la edad ≥ 10 años, ni el sexo parecen conferir un mayor riesgo, pues todas éstas variables están directamente relacionadas con el número de leucocitos al diagnóstico. Tener más de 50,000 leucocitos al diagnóstico si confiere de manera independiente una mayor posibilidad de recaída medular, por lo tanto, éste factor sí debería volver a formar parte de los criterios de clasificación de riesgo.

Por otro lado es importante tener en cuenta que después de la inducción de una remisión completa, la cantidad de células leucémicas puede ser todavía alta pero no identificable morfológicamente, lo que hace difícil el diagnóstico precoz de recaída, que es el objetivo de la mayoría de los estudios de LLA hasta el momento. Actualmente están en proceso de investigación y validación, técnicas de alta sensibilidad para la identificación de enfermedad residual mínima con reacción de polimerasa en tiempo real, las cuales están incursionando en la capacidad de predecir las recaídas, estratificación de riesgo y necesidad de trasplante de médula ósea. Se podrán obtener mejores resultados en la medida en que se cuente con toda la infraestructura de

laboratorio de alta tecnología necesaria para clasificar correctamente los pacientes **[59]**.

Llama la atención la baja incidencia de recaída a SNC en éste grupo de pacientes, lo cual podría sugerir que el protocolo BFM-ACHOP 2006 protege adecuadamente al SNC.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Abdelhaleem M. Frequent but nonrandom expression of myeloid markers on de novo childhood acute lymphoblastic leukemia. *Experimental and Molecular Pathology* 2007; 83 (1): 138–141.
2. Arico M, Valsecchi MG, Rizzari C, Barisone E, Biondi A, Casale F, et al. Long-Term Results of the AIEOP-ALL-95 Trial for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Insight on the Prognostic Value of DNA Index in the Framework of Berlin-Frankfurt-Muenster–Based Chemotherapy. *J Clin Oncol* 2008; 26(2): 283-89.
3. Asociación Colombiana de Hematología y Oncología Pediátrica-ACHOP. Protocolo para Tratamiento de Leucemia Linfocítica Aguda en niños LLA-ACHOP 2006. (Basado en BFM-Intercontinental 2002).
4. Aster J, Kumar V. Neoplasias linfocíticas. *Patología Estructural y Funcional*. Sexta Edición. Mc Graw Hill, Interamericana Editores S.A. Philadelphia, Pennsylvania USA. 2000; (15): 682-90
5. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, Sultan C. The morphological classification of acute lymphoblastic leukemia: concordance among observers and clinical correlations. *British Journal of Haematology* 1981; 47(4): 553-61.
6. Bhatia S, Sather HN, Heerema HN, Trigg ME, Gaynon PS, Robinson LL. Racial and ethnic differences in survival of children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002; 100(6): 1957-64.
7. Campana D, Behm FG. Immunophenotyping of Leukemia. *Journal Immunol Methods* 2000; 243: 59-75.
8. Campbell M, Castillo L, Dibar EA, Zonja J, Kowalczyk J, Li CK, et al. ALL IC-BFM. A Randomized Trial of the I-BFM-SG for the Management of Childhood non-B Acute Lymphoblastic Leukemia Final Version of Therapy Protocol from May 3, 2002.
9. Castro M, Orozco L, Rueda E, Suárez A. Epidemiología de la leucemia linfoblástica aguda en pediatría: incidencia, mortalidad y asociaciones causales. *Salud UIS* 2007; 39: 116-123.
10. Castro MA, Piñeros M, Martínez T. Mortalidad en el Instituto Nacional de Cancerología, Colombia, 2002. *Revista Colombiana de Cancerología* 2003; 7(3): 20-31.
11. Coebergh J, Reedijk A, De Vries E, Martos C, Jakab Z, Steliarova-Foucher E et als. Leukemia incidence and survival in children and adolescents in Europe during 1978–1997. Report from the Automated Childhood Cancer Information System project. *European Journal of Cancer* 2006; 42 (13): 2019-36.
12. Conter V, Aricò M, Valsecchi MG, Rizzari C, Testi A, Miniero R et al. Intensive BFM chemotherapy for childhood ALL: interim analysis of the AIEOP-ALL 91 study. *Haematologica* 1998; 83 (9): 791-99.

13. Firat H, Favier R, Adam M, Leverger G, Landman-Parker J, Cayre Y et als. Determination of myeloid antigen expression on childhood acute lymphoblastic leukaemia cells: discrepancies using different monoclonal antibody clones. *Leukemia and Lymphoma* 2001; 42(1-2): 75-82.
14. Fronkova E, Mejstrikova E, Avigad S, Chik KW, Castillo L, Manor S et als. Minimal residual disease (MRD) analysis in the non MRD based ALL IC BFM 2002 protocol for childhood ALL: is it posible to avoid MRD testing?. *Leukemia* 2008; 22: 989 -997.
15. Gaynon P, Angiolillo A, Carroll W, Nachman J, Trigg M, Sather H et als: Long-term results of the Children's Cancer Group studies for childhood acute lymphoblastic leukemia 1983-2002: A Children's Oncology Group Report. *Leukemia* 2010; 24 (2): 285-297.
16. Greenland S. Modeling an varaible selection in epidemiologic analysis. *Am J Public Health* 1989; 79(3): 3-40
17. Gurney JG, Severson RK, Davis S, Robinson LL. Incidence of cancer in children in the United States. Sex-, race-, and 1-year age-specific rates by histologic type. *Cancer* 1995; 75(8): 2186–95.
18. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J et als The World Health Organization Classification of Hematological Malignancies Report of the Clinical Advisory Committee Meeting, Airlie House, Virginia, November 1997. *Mod Pathol* 2000; 13(2):193–207.
19. Hernández AM, Garrido LF, López M. Diseño de estudios epidemiológicos. *Salud Púb Méz* 2000; 42(2): 144-54.
20. Hjalgrim LI, Rostgaard K, Schmiegelow K, Söderhäll S, Kolmannskog S Vettenranta K, Kristinsson J et al. Age and sex especific incidence of childhood leukemia by immunophenotype in the Nordic countries. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95 (20): 1539-44.
21. Hosmer DW, Lemeshow S. Applied logistic regression. New York: John Wiley & sons, INC, 2 ed, 2000.
22. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW . World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC; 2001.
23. Jemal A, Siegel R, Jiaquan X, Ward E. Cancer Statistics 2010 CA. *Cancer Journal Clin* 2010 (60); 277-300.
24. Kolenova A, Hikkel I, Ilencikova D, Hikkelova M, Sejnova D, Kaiserova D et als. Minimal residual disease detection using real-time quantitative PCR analysis of immunoglobulin and T-cell receptor gene rearrangements in the non-MRD-based ALL IC-BFM 2002 protocol for childhood ALL: Slovak experience. *Neoplasma* 2010; 57(6): 552-61.
25. Kurec AS, Belair P, Stefanu C, Barrett DM, Dubowy RL, Davey FR. Significance of Aberrant Immunophenotypes in Childhood Acute Lymphoid Leukemia. *Cancer* 1991; 67: 3081-86.
26. Lanzkowitzky P. Leukemias. In Lanzkowitzky P. Manual of Pediatric Hematology and Oncology 5th ed. Elsevier. Boston 2011; 518-566.

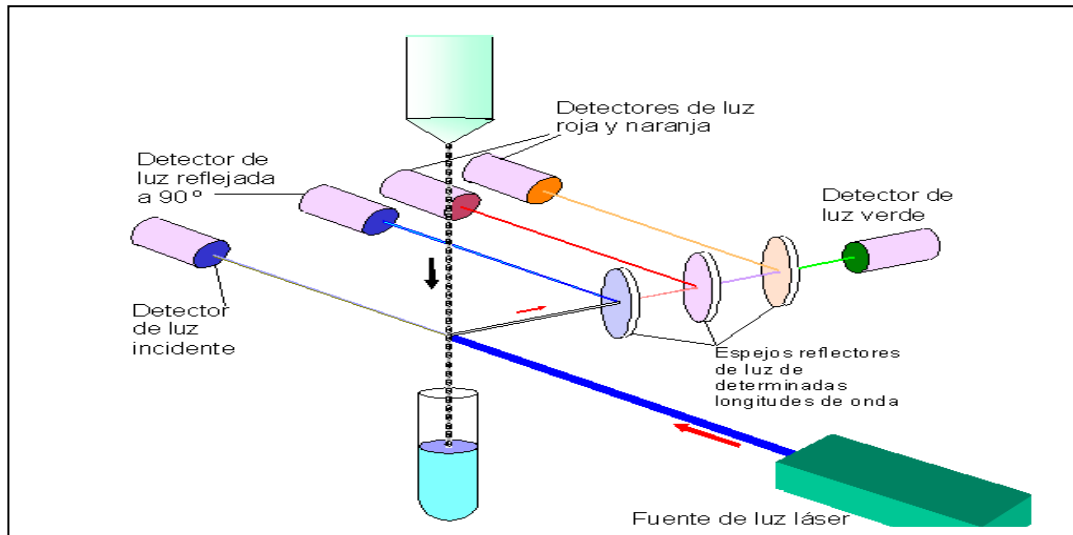
27. LeClerc JM, Billet AL, Gelber RD, Dalton V, Tarbell N, Lipton JM et al. Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia: Results of Dana-Farber ALL Consortium Protocol 87-01. *J Clin Oncol* 2002; 20(1): 2-37.
28. Margolin J, Steuber CP, Poplack DG. Acute Lymphoblastic Leukemia. Principles and Practice of Pediatric Oncology. Fourth Edition. Philadelphia, Lippincott 2001; 19: 489-527.
29. Marsán V, Sánchez M, Socarrás BB, Martínez M, Cos Y, Del Valle L et al. Leucemia linfocítica aguda común. Estudio del inmunofenotipo y las características clínicas y morfológicas. *Revista Cubana Hematología* 2004; 20 (2).
30. McNally RJ, Rowland D, Roman E, Cartwright RA. Age and Sex distributions of hematological malignancies in the U.K. *Hematol Oncol* 1997; 15 (4): 173-89.
31. Mitchell C, Richards S, Harrison CJ, Eden T. Long-term follow-up of the United Kingdom Medical Research Council protocols for childhood acute Lymphoblastic leukaemia, 1980–2001. *Leukemia* 2010; 24(2): 1-27.
32. Möricke A, Reiter A, Zimmermann M, Gadner H, Stanulla H, Dördelmann M, et al. Risk-adjusted therapy of acute lymphoblastic leukemia can decrease treatment burden and improve survival: treatment results of 2169 unselected pediatric and adolescent patients enrolled in the trial ALL-BFM 95. *Blood* 2008; 111: 4477-89.
33. Mrózec K, Harper DP, Aplan PD. Cytogenetics and Molecular Genetics of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematol Oncol Clin N Am* 2009, 23(5): 991–1010.
34. National Cancer Institute. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2006. Available at: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2006/. Accessed January 23, 2009.
35. Ng SN, Ariffin WA, Lin HP, Chan LL, Chin YM. Clinical features and treatment outcome of children with myeloid antigen coexpression in B lineage acute lymphoblastic leukemia: a study of 151 Malaysian children. *Journal of Tropical Pediatrics* 2000; 46: 73-8.
36. Onciu M. Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematol Oncol Clin N Am* 2009; 23: 655–674.
37. Pardo C, Murillo R, Piñeros M, Castro MA. Casos nuevos de cáncer en el Instituto Nacional de Cancerología, Colombia, 2002. *Revista Colombiana de Cancerología* 2003; 7(3): 4-19.
38. Pieters R, Carroll W. Biology and Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematol Oncol Clin N Am* 2010; 24: 1-18.
39. Pui C, Carroll W, Meshinshi S, Arceci R. Biology, Risk Stratification and Therapy of Pediatric Acute Leukemias: An Update. *Journal of Clinical Oncology* 2011; 29(5): 551-65.
40. Pui C, Pei D, Sandlund J, Ribeiro R, Rubnitz J, Raimondi S et al: Long-term results of St Jude Total Therapy Studies 11, 12, 13A, 13B, and 14 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2010; 24(2): 371-82.

41. Pui C, Raimondi SC, Head DR, Schell MJ, Rivera GK, Mirro J.Jr et als. Characterization of Childhood Acute Leukemia With Multiple Myeloid and Lymphoid Markers at Diagnosis and at Relapse. *Blood* 1990; 78 (5): 1327-37.
42. Pui C, Rubnitz JE, Hancock ML, Downing JR, Raimondi SC, Rivera GK et als. Reappraisal of the Clinical and Biologic Significance of Myeloid-Associated Antigen Expression in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *American Society of Clinical Oncology. J Clin Oncol* 1998; 16: 3768-73.
43. Pui C, Schell MJ, Raimondi SC, Head DR, Rivera GK, Crist WM et als. Myeloid antigen expression in childhood acute lymphoblastic leukemia (letter). *N England J Med* 1991; 325 (19):1378-79.
44. Pui CH, Behm FG, Singh B, Rivera GK, Schell MJ, Roberts WM et als. Myeloid-Associated Antigen Expression lacks prognostic value in childhood acute lymphoblastic leukemia treated with intensive multiagent chemotherapy. *Blood* 1990; 75(1): 198-202.
45. Pui CH, Evans WE. Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med* 2006; 354: 166-78.
46. Quintero, M. Resultados del tratamiento de leucemia linfoblástica aguda en niños. *Colombia Médica* 1999; 30(4): 148-156.
47. Reiter A, Schrappe M, Ludwig WD, Hiddemann W, Sauter S, Henze G et als. Chemotherapy in 998 unselected childhood acute lymphoblastic leukemia patients. Results and conclusions of the multicenter trial ALL-BFM 86. *Blood* 1994; 84(9): 3122-33.
48. Riley RS, Massey D, Jackson-Cook C, Idowu M, Romagnoli G. Immunophenotypic analysis of acute Lymphocytic leukemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America* 2002; 16(2): 245-299.
49. Schrappe M, Reiter A, Zimmermann M, Harbott, Ludwig W-D, Henze G et als. Long-term results of four consecutive trials in childhood ALL performed by the ALLBFM study group from 1981 to 1995. *Leukemia* 2000; 14: 2205-22.
50. Smith M, Arthur D, Camitta B, Carroll AJ, Crist W, Gaynon P et als. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology* 1996; 14 (1): 18-24.
51. Swensen AR, Ross JA, Severson RK, Pollock BH, Robinson LL. The age peak in childhood acute lymphoblastic leukemia: exploring the potential relationship with socioeconomic status. *Cancer* 1997; 79 (10): 2045-51.
52. Swerdlow S, Campo E, Harris NL et als. A revised European-American classification of lymphoid tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC; 2008.
53. Terzah MH, Steuber CP. Overview of the presentation and classification of acute lymphoblastic leukemia in children. *UptoDate* 16.2. Búsqueda en Mayo/08.

54. Uckun F, Sather HN, Gaynon PS, Arthur DC, Trigg ME, Tubergen DG et als. Clinical features and treatment outcome of children with myeloid antigen positive acute lymphoblastic leukemia: A report from the Children's Cancer Group. *Blood* 1997; 90(1): 28-35.
55. Uribe C, Meza E, Gómez N. Incidencia de Neoplasias Hematológicas en el Área Metropolitana de Bucaramanga. 2000-2004, *MedUnab* 2008; 11: 76-82
56. Van den Ancker W, Terwijn M, Westers TM, Merle PA, Van Beckhoven E, Dräger AM et als. Acute leukemias of ambiguous lineage: diagnostic consequences of the WHO2008 classification. *Leukemia* (2010); 24: 1392-96.
57. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A 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: 937-51.
58. Wiersma S, Ortega J, Sobel E, Weinberg K. Clinical importance of myeloid antigen expression in acute lymphoblastic leukemia of childhood. *NEJM* 1991; 324 (12): 800-08.
59. Winick NJ, Carroll WL, Hunger SP. Childhood Leukemia - New Advances and Challenges. *N Engl J Med* 2004; 351(6): 601-03.

ANEXOS

Anexo 1. Esquema de la Citometría de Flujo



La Citometría de Flujo consiste en Anticuerpos Monoclonales marcados con fluorocromos que se adhieren a una suspensión celular de sangre periférica, aspirado de médula ósea ó nódulo linfático.

Los tubos se incuban a temperatura ambiente por un corto período. Las células en suspensión marcadas pasan a través del citómetro de flujo. Muchos modelos son automáticos, pero algunos modelos requieren un operador para procesamiento individual.

Más de 10000 células de cada tubo son analizadas para producir una información válida estadísticamente.

Cada célula pasa individualmente a través de un láser enfocado en la citometría de flujo.

Los fluorocromos son excitados por la luz del láser y emiten luces de diferente longitud de onda.

Existen fotodetectores ubicados en ángulo recto y oblicuo al eje del láser, colectando la luz emitida y dispersa.

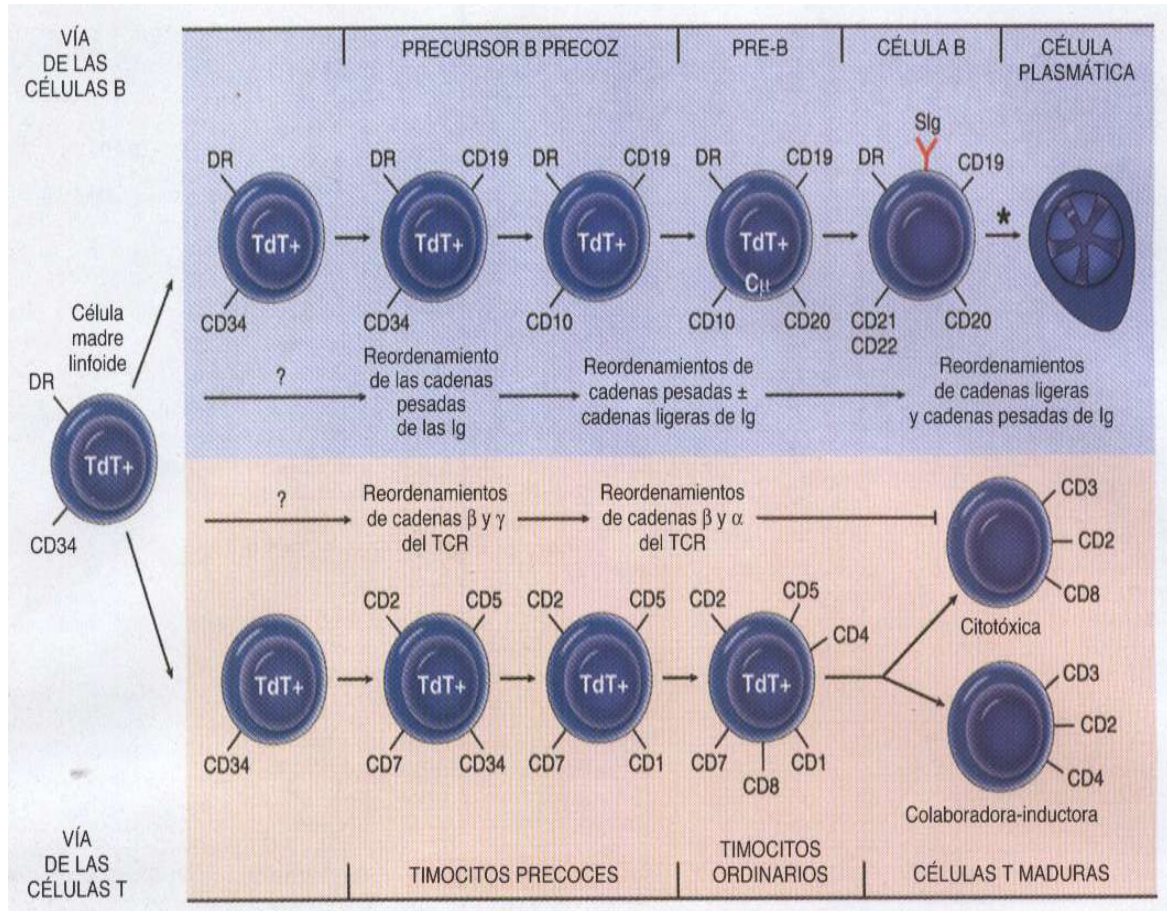
Las señales dispersas y de los fluorocromos pueden detectarse para cada célula (Análisis Multiparamétrico).

Las señales de cada fotodiodo son digitalizadas y pasan a un computador para ser almacenadas en una lista y ser analizadas.

Una variedad de histogramas visuales pueden generarse automáticamente

PIETERS, R, CARROLL, W. Biology and Treatment of Acute Lymfoblastic Leukemia. Clínicas pediátricas de Norteamérica. Elsevier 2008;55: 1-20.

Anexo 2. Dibujo esquemático de cambios fenotípicos y genotípicos asociados a la diferenciación de las células B y las células T.



Tomado de Aster J, Kumar V. Neoplasias linfoides. Patología Estructural y Funcional. Sexta Edición. Mc Graw Hill, Interamericana Editores S.A. Philadelphia, Pennsylvania USA. 2000; (15): 684.

No están representadas algunas células CD4+/CD8 (timocitos comunes) que también expresan a CD3, ni tampoco los estadios entre las células B en reposo y células plasmáticas./ **CD**=de nominación del grupo; **TdT**= terminal desoxinucleotidil transferasa. **TCR**: Receptor de las células T.

Anexo 3. Algunos antígenos de las células inmunitarias detectados por anticuerpos monoclonales

NOMBRE DE ANTIGENO	CARACTERISTICAS
ASOCIADOS PRINCIPALMENTE A CELULAS T	
CD1	Expresado por timocitos corticales e Histiocitos de Langerhans
CD2	En células T del timo y periféricas/ células NK
CD3	En timocitos, cel. T periféricas y NK. Expresión en superficie exige RCT (Receptor de células T)
CD4	En cel T helper periféricas, timocitos medulares + y CD4/CD8
CD5	En cel. T helper periféricas y un pequeño grupo cel. B
CD7	En cel. T y precursores de cel. Mieloides.
CD8	En cel. T periféricas citotóxicas, timocitos medulares + y corticales doblemente + y algunas NK.
ASOCIADOS PRINCIPALMENTE A CELULAS B	
CD10 ó CALLA	Expresado muy intensamente por células pre-B de médula ósea (M.O) y células B del centro de los folículos linfoides.
CD19	En células preB de (M.O) y cel. B maduras, no en cel. Plasmáticas.
CD20	Expresado por células pre-B de M.O después de CD19 y en cel. B maduras pero no en cel. Plasmáticas.
CD21	Receptor de VEB. En cel. B maduras y cel. Dendríticas foliculares.
CD22	Se encuentra en células B maduras.
CD23	Se encuentra en células B maduras activadas.

ASOCIADOS A MONOCITOS O MACROFAGOS	
CD13	Expresado en monocitos y granulocitos maduros e inmaduros.
CD14	Expresado por todos los monocitos
CD15	En granulocitos, en células Reed Sternberg y sus variedades en Enf. Hodgkin
CD33	Expresado por progenitores mieloides y monocitos.
ASOCIADOS PRINCIPALMENTE A CELULAS NK	
CD16	En todas las NK y granulocitos.
CD56	En todas las NK y un subgrupo de las células T.
ASOCIADOS A CELULAS MADRE Y A CELULAS PROGENITORAS	
CD34	Expresado por las células hematopoyéticas pluripotenciales y células progenitoras de muchas líneas celulares.
MARCADORES DE ACTIVACION	
CD30	En CEL. B Activadas, células T y monocitos.
SITUADOS EN TODOS LOS LEUCOCITOS	
CD45	Conocido también como antígeno leucocitario común.
OTROS	
TdT	En Linfoblastos, Timocitos y Mieloblastos. En Leucemia Aguda y Linfoma Linfoblástico.
HL-DR	En células B, Monocitos, Células T activadas y precursores mieloides. Se presenta en neoplasias hematopoyéticas. Receptor de HLA clase II

Tomado de Aster J, Kumar V. Neoplasias linfoides. Patología Estructural y Funcional. Sexta Edición. Mc Graw Hill, Interamericana Editores S.A. Philadelphia, Pennsylvania USA. 2000; (15): 685.

Anexo 4. Variables del estudio

NOMBRE DE LA VARIABLE	DEFINICIÓN OPERATIVA	NIVEL DE MEDICIÓN	MEDIDAS DE RESUMEN	FUENTE	CÓDIGO
Edad	Número de años cumplidos según fecha de nacimiento registrada en historia clínica de la base de registro computarizado de casos del servicio de Hemato-Oncología pediátrica	Cuantitativa Discreta	Medidas de tendencia central: (Promedio, Media, Mediana). Medidas de Dispersión: (Rango y Desviación Estándar)	Historia Clínica	
Género	Clasificación fenotípica establecida por el examen físico-médico como niña ó niño, registrado en historia clínica computarizada.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Porcentaje, Intervalos de confianza >95 %	Historia Clínica	Femenino: 0 Masculino: 1
Raza	Clasificación fenotípica de color de piel y descendencia según registro de examen físico en historia clínica computarizada.	Cualitativa Nominal Politómica	Porcentaje, Intervalos de confianza >95 %	Historia Clínica	Negro 0 Mestizo 1 Blanco 2
Estado de la Médula Ósea	Porcentaje numérico de células inmaduras en aspirado de Médula ósea.	Cuantitativa Discreta	Medidas de tendencia central: (Promedio, Media, Mediana) Medidas de Dispersión: (Rango y Desviación Estándar)	Registro original de aspirado de Médula Ósea, en historia clínica y base de datos Hemato-Oncología Pediátrica.	M1: <5% M2: 5-<25% M3: ≥25%

Mala Respuesta a Prednisolona al día 8 de Tratamiento	<p>Según No. De Blastos en Sangre periférica.</p> <p>Se tomará como mala respuesta: > 1000 blastos absolutos en sangre periférica.</p>	<p>Cualitativa</p> <p>Nominal</p> <p>Dicotómica</p>	<p>Porcentaje</p> <p>Intervalos de confianza > 95%</p>	<p>Reportes de Hemograma y % de blastos a octavo día de tratamiento, según lo registrado en la historia clínica de paciente.</p>	<p>NO: 0</p> <p>SI: 1</p>
Mala Respuesta en Médula Ósea al día 15 de tratamiento	<p>Pacientes con $\geq 25\%$ de blastos ó Médula Ósea: M3 en aspirado de médula ósea al día 15 del tratamiento de inducción.</p>	<p>Cualitativa</p> <p>Nominal</p> <p>Dicotómica</p>	<p>Porcentajes</p> <p>Intervalos de confianza >95%</p>	<p>Reportes de aspirados de Médula Ósea al día 15 de tratamiento, según lo registrado en historia clínica.</p>	<p>NO: 0</p> <p>SI: 1</p>
No Remisión Completa al final de la Inducción	<p>Pacientes con < 5% de blastos en Aspirado de Médula Ósea al final de fase de inducción: Médula ósea: M1.</p>	<p>Cualitativa</p> <p>Nominal</p> <p>Dicotómica</p>	<p>Porcentajes</p> <p>Intervalos de confianza >95%</p>	<p>Reportes de aspirados de Médula Ósea realizados por Hemato-Oncólogo tratante, estudio imaginológico y examen físico según lo registrado en la historia clínica de paciente</p>	<p>NO: 0</p> <p>SI: 1</p>
Co-expresiones	<p>Clasificación de células blásticas, según la expresión de los diferentes marcadores celulares</p>	<p>Cualitativa</p> <p>Nominal</p> <p>Politómica</p>	<p>Porcentaje</p> <p>Intervalo de confianza > 95%</p>	<p>Estudio inmunogenotípico realizado por patólogos certificados</p>	<p>CD10 (1)</p> <p>CD19 (2)</p> <p>CD34 (3)</p> <p>CD45 (4)</p> <p>CD20 (5)</p> <p>CD13 (6)</p> <p>CD33 (7)</p>



Co-expresiones	determinados en el screening de rutina en el estudio inmunohistoquímico patológico con anticuerpos monoclonales.	Cualitativa Nominal Politómica	Porcentaje Intervalo de confianza > 95%	en el Servicio de Hematopatología de la Fundación Santafé de Bogotá ó laboratorio Biomolecular	CD38 (8) HLA-DR (9) CD7 (10) CITIGIM (11)
Recaída	Regreso de signos, síntomas, hallazgos paraclínicos e imaginológicos luego de remisión completa al día 33.	Cualitativa Nominal Politómica	Porcentajes Intervalos de confianza > 95%	Historia Clínica	Medular: 0 Sistema Nervioso Central: 1 Testicular: 2 Combinada:3
Recaída Medular	Estadio M2(5-<25% blastos) ó M3 (≥25% blastos) en aspirado de Médula ósea.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Porcentajes Intervalos de confianza > 95%	Reporte de aspirado de Médula Ósea en Historia Clínica del paciente.	NO: 0 SI: 1
Recaída Testicular	Aumento indoloro de volumen y consistencia testicular uni ó bilateral por examen comparativo con anteriores controles de pacientes masculinos por Hemato-Oncólogo Pediatra+ Biopsia Testicular con blastos.	Cualitativa Nominal Dicotómica	Porcentajes Intervalos de confianza > 95%	Historia Clínica + Reporte de Biopsia Testicular	NO: 0 SI: 1

<p>Recaída a S.N.C</p> <p>A nivel paraclínico: Estudio citoquímico y citológico de LCR</p>	<p>SNC1: Citoquímico normal y citología negativa</p> <p>SNC2: < 5 mononucleares en citoquímico y citología positiva.</p> <p>SNC3: ≥5 mononucleares en citoquímico y citología positiva.</p>	<p>Cualitativa</p> <p>Nominal</p> <p>Politómica</p>	<p>Porcentajes</p> <p>Intervalos de confianza >95%</p>	<p>Reportes originales de estudio de LCR anexos en Historia Clínica hecho al Dx y durante el seguimiento: según protocolo ó por sospecha de algún tipo de recaída.</p>	<p>SNC1: 0</p> <p>SNC2 ó SNC3: 1</p>
<p>Recaída clínica S.NC</p>	<p>Signos neurológicos de Hipertensión Endocraneana y/ó Parálisis de pares craneales a examen físico y/ ó alteraciones en el examen de fondo de ojo asociadas a disminución de agudeza visual.</p>	<p>Cualitativa</p> <p>Nominal</p> <p>Dicotómica</p>	<p>Porcentajes</p> <p>Intervalos de confianza >95%</p>	<p>Signos anormales al examen neurológico ú oftalmológico (si fue necesaria dicha interconsulta) registrado en Historia Clínica</p>	<p>NO: 0</p> <p>SI : 1</p>
<p>Recaída Imaginológica a S.N.C</p>	<p>Evidencia de compromiso de SNC en TAC o RMN cerebral vistas como masa en parénquima cerebral ó meninges ó lesión no circunscrita ocupando espacio, interpretadas por radiólogo y hemato-oncólogo pediatra tratante como compromiso infiltrativo de LLA en SNC.</p>	<p>Cualitativa</p> <p>Nominal</p> <p>Dicotómica</p>	<p>Porcentajes</p> <p>Intervalos de confianza >95%</p>	<p>Registro de resultados de RMN y TAC cerebrales realizados al Dx y en los seguimientos respectivos según protocolo ó ante sospecha de algún tipo de recaída.</p>	<p>NO: 0</p> <p>SI: 1</p>

<p>Lugar de procedencia</p> <p> </p> <p> </p>	<p>Municipio donde el paciente ha permanecido el último año, según historia clínica computarizada</p>	<p>Cualitativa</p> <p>Nominal</p> <p>Politómica</p>	<p>Porcentaje</p> <p>Intervalos de confianza > 95%</p>	<p>Historia Clínica</p>	<p>0 Mares</p> <p>1 Soto Norte</p> <p>2 Metropolitano</p> <p>3 García Rovira</p> <p>4 Guanentá</p> <p>5 Comunero</p> <p>6 Carare Opón</p> <p>7 Vélez</p> <p>8. Sur de Bolívar</p> <p>9. Norte de Santander</p> <p>10. Otros</p>
<p>Expresión de:</p> <p>*CD10</p> <p> </p> <p>**Marcadores mieloides (CD13, CD33 ó ambos).</p> <p>*** Marcador de células B maduras: CD20</p> <p>Estos son los principales por efecto de la pregunta del estudio, pero se hará igual codificación para los demás marcadores expresados.</p>	<p>*Antígeno leucocitario con significado pronóstico positivo independiente: Se expresa en células precursoras B y actúa como un factor protector.</p> <p>(**) y (***) Marcadores mieloides y de células B maduras: se han asociado con mal pronóstico en algunos estudios. Es la hipótesis de estudio a confirmar ó descartar.</p>	<p>Cualitativa</p> <p>Nominal</p> <p>Dicotómica</p>	<p>Porcentaje</p> <p>Intervalos de confianza > 95%</p>	<p>Según Estudio inmunofenotípico realizado por patólogos certificados en el Servicio de Hematopatología de la Fundación Santafé de Bogotá ó laboratorio Biomolecular</p>	<p>CD10 (-): 0 CD10 (+): 1</p> <p>CD13 (-): 0 CD13 (+): 1</p> <p>CD30 (-): 0 CD30 (+): 1</p> <p>CD20 (-): 0 CD20 (+): 1</p>

<p>Clasificación de LLA según linaje de célula</p>	<p>Se realizará la clasificación según el resultado de la observación e inmunofenotípica realizada.</p>	<p>Cualitativa Nominal Politómica</p>	<p>Porcentaje Intervalos de confianza > 95%</p>	<p>Estudio inmunofenotípico realizado por patólogos en Servicio de Hematopatología de la Fundación Santafé de Bogotá ó laboratorio Biomolecular.</p>	<p>PrecursorB:(0) PreB: (1) B maduro:(2) CélulaT: (3)</p>
<p>Clasificación citomorfológica de la LLA</p> <p>Se formuló en 1976 por el grupo francés británico (FAB):</p>	<p>L1: Población de blastos homogénea; células pequeñas con citoplasma escaso, cromatina fina y núcleo de forma regular constituyen el 75% ó más del componente celular. Nucleolos poco prominentes.</p> <p>L2: población de blastos heterogénea en tamaño, cromatina y forma nuclear. Células grandes y citoplasma $\geq 20\%$ del tamaño de la célula.</p> <p>L3: blastos grandes con cromatina fina. Nucleolos prominentes. Citoplasma abundante con vacuolas y basofilia. Células idénticas a las de linfoma Burkitt. (excluidas por ser un Dx y tratamiento diferente a LLA)</p>	<p>Cualitativa Nominal Politómica</p>	<p>Porcentaje Intervalos de confianza > 95%</p>	<p>Basada en la morfología celular usando microscopía de luz realizada por Hemato-Oncólogo Pediatra y complementada por pruebas citoquímicas realizadas en servicio de hematopatología de la Fundación Santafé ó Laboratorio Biomolecular</p>	<p>L1: (0) L2: (1)</p>

Anexo 5: Formulario de recolección de datos

 PROYECTO IMPALA <i>Inmunofenotipificación como Marcador Pronóstico en niños Afectados por Leucemia linfoide Aguda</i> INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS			
DATOS GENERALES			
Código interno:	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	Número de HC: _____	
Nombre del paciente: _____			
Fecha de nacimiento:	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	Género: <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> M <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> F	
Nombre del acudiente: _____			
Lugar de Nacimiento: _____			
Municipio de Nacimiento:	_____	Provincia: <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	
Lugar de Procedencia: _____			
Municipio de Procedencia:	_____	Provincia: <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	
Domicilio Actual: _____			
Teléfono:	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	
DIAGNÓSTICO INMUNOFENOTÍPICO			
<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> CD10 <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> + <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> -	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> CD45 <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> + <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> -	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> CD33 <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> + <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> -	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> CD7 <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> + <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> -
<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> CD19 <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> + <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> -	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> CD20 <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> + <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> -	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> CD38 <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> + <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> -	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> CITIG IM <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> + <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> -
<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> CD34 <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> + <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> -	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> CD13 <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> + <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> -	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> HLA DR <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> + <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> -	
DIAGNÓSTICO POR LÍNEA CELULAR			
<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> Precursores B <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> Pre B <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> B Madura <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	
<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> T <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> Bifenotípica <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>		
FECHA DE DIAGNÓSTICO: <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>			
Estado de la médula ósea al momento del diagnóstico: <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> M1 <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> M2 <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> M3 <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> ND			
DESENLACES			
Mala Respuesta a la Prednisona en día 8:	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> Sí <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> No		
Mala Respuesta en Médula Ósea en día 15:	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> Sí <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> No		
Remisión incompleta al final de la inducción:	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> Sí <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> No		
Recaída Medular	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> Sí <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> No	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	
Recaída Testicular	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> Sí <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> No	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	
Recaída SNC	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> Sí <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> No	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	
Muerte	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> Sí <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> No	<input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	

ANEXO 6. Modelo de información suministrado para la obtención del consentimiento informado

[*Saludo*]. El Dr. Ernesto Rueda, médico oncólogo pediatra y tratante de su [hijo, hija], y la Dra. Patrik Eliana Sarmiento Wilches, Residente de Pediatría de la Universidad Industrial de Santander, estamos realizando una investigación sobre algunos aspectos que determinan el resultado del tratamiento hecho con los niños con leucemia linfocítica aguda, como es el caso de su [*hijo/ hija*].

El Dr. Rueda sigue un esquema muy preciso para tratar la enfermedad de [*nombre del paciente*], tal como él le ha explicado anteriormente, quedando todo registrado en la Historia Clínica del [niño/niña]. La investigación que se está adelantando tan solo implica utilizar la información que se registra en la Historia Clínica, sin que sea necesario realizar ningún estudio adicional y no tendrá costo para Ud. El estudio se limitará a analizar datos que están consignados en cada Historia Clínica. Por esta razón, es que necesitamos su permiso para poder utilizar esta información.

Los datos que se recopilarán serán relacionados con la fecha cuando se hizo el diagnóstico de la enfermedad del [niño/niña], la clasificación inmunofenotípica que se hizo en la Fundación Santa Fé de Bogotá ó en el Laboratorio Biomolecular, algunos datos sobre evolución clínica y los laboratorios u otros procedimientos diagnósticos realizados. Así podremos hallar si hay relación entre el tipo exacto de enfermedad que su [hijo/hija] tiene y la evolución de cada paciente. Saber si algunas características inmunofenotípicas obtenidas desde que se diagnosticó la enfermedad tienen que ver con cómo le va al paciente, nos permitirá anticiparnos a su pronóstico y aplicar un tratamiento quimioterapéutico más ajustado a las necesidades de futuros pacientes, lo que esperamos les ayude aún más en la lucha contra esta enfermedad, y puedan mejorar su calidad de vida.

Si Usted acepta que podamos utilizar los datos atrás mencionados, nos permitimos garantizarle que haremos un uso ético y discreto de los datos, nunca se revelarán los nombres de los pacientes participantes, ya que a los registros que obtengamos se les identificará con números arábigos según el orden de revisión de historias clínicas de los pacientes. Es posible que necesitemos registrar el nombre del paciente, su acudiente y teléfonos, pero estos se mantendrán en reserva; solo se emplearán dado el caso que requiramos aclarar dudas sobre la enfermedad del paciente y su seguimiento, de manera confidencial, para efectos internos del estudio. Si este trabajo de investigación llegara a conclusiones que sea prudente presentar en público, sea en congresos o por medio de comunicaciones científicas, nunca se presentarán nombres particulares, solo datos del grupo de pacientes que participen en el estudio, sin que sea posible identificar a nadie en particular.

Reiteramos nuestra disposición a dar respuesta a cualquier duda sobre ésta investigación y los procedimientos a realizar. En caso que Usted considere que no desea dar su permiso para revisar la Historia Clínica e incluir estos datos en el estudio, le garantizamos que la atención que su [hijo/hija] viene recibiendo por parte del Dr. Rueda y de todo el personal de Hospital será como hasta ahora y no tendrá ninguna modificación; es decir, no tendrá consecuencias sobre la calidad y oportunidad del tratamiento y trato que el estado de [él/ella] necesitan o llegarán a necesitar.

INVESTIGADOR

REPRESENTANTE LEGAL DE PACIENTE

Este es un duplicado del consentimiento informado, que le será entregado una vez acepte la participación.

Gracias por su colaboración.

ANEXO 7. Cronograma de actividades

Organigrama

TIEMPO (mes)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
ACTIVIDAD																									
Elaboración del protocolo	*	*	*																						
Aprobación del protocolo			*	*																					
Recolección de información				*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*										
Elaboración base de datos														*	*										
Análisis de datos																*	*	*							
Elaboración informe final																			*	*	*				
Publicación Artículo																						*	*	*	

ANEXO 8. Presupuesto

Presupuesto global de la propuesta por fuentes de Financiación

RUBROS		FUENTES		TOTAL
		Entidad Financiera	Contrapartida	
PERSONAL		-	-	-
SOFTWARE		\$ 2'000.000	-	-
Materiales E insumos	Varios	-	\$ 500,000	\$ 500,000
	Papelería	-	\$ 500,000	\$ 500,000
	Total	-	\$ 1'000,000	\$ 1'000,000
SERVICIOS TÉCNICOS(Laboratorio)		\$ 10'000,000	-	\$ 10'000.000
MATERIAL BIBLIOGRAFICO		-	\$ 100,000	\$ 100,000
PUBLICACIONES		\$ 1'000,000	\$ 0	\$ 1'000,000
OTROS		\$ 1'000,000		\$ 1'000,000
GRAN TOTAL		\$ 14'000,000	\$ 1'100,000	\$ 28'200,000

Descripción de los gastos de personal

INVESTIGADOR/ EXPERTO/ AUXILIAR	FORMACIÓN ACADÉMICA	FUNCIÓN DENTRO DEL PROYECTO	DEDICACIÓN Horas / semana	Valor/hora	TOTAL Por año
INVESTIGADOR	Residente de Pediatria	Investigador	5 h	\$ 25.000	6.000.000
DIRECTOR PROYECTO DE GRADO	Hemato- Oncólogo Pediatra	Director Proyecto de Grado	3 h	\$ 50.000	7.200.000
ASESORES	Magíster en Epidemiología	Asesor epidemiológico	2 h	\$ 50.000	4.800.000