



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**Infiltración Primaria al Sistema Nervioso Central en Pacientes
con Leucemia Linfoblástica Aguda Estirpe B Tratados en el
Hospital Infantil de Morelia**

TESIS

**Para obtener el título de
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

Presenta:

Jorge Luis Ayala Calderón.

Director de Tesis:

M. en C. Pediatra Oncólogo Eloy Pérez Rivera



MORELIA, MICHOACAN ENERO 2016

RESUMEN

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la neoplasia maligna más frecuente en la edad pediátrica y representa el 25% de todas las neoplasias malignas en niños. En México la LLA constituye la primera causa de cáncer en la edad pediátrica y representa la segunda causa de muerte en menores de 15 años. El pronóstico de esta neoplasia ha mejorado significativamente en las últimas década con la introducción de quimioterapia combinada y el advenimiento de las mejoras en el tratamiento integral del paciente pediátrico con cáncer las tasas de supervivencia libre de evento a 5 años son cercanas a lo 80%. La infiltración de blastos leucémicos en el sistema nervioso central (SNC) tiene importancia pronóstica, estos pacientes presentan un riesgo mayor de presentar fracaso terapéutico por lo que su identificación es de gran importancia ya que se relaciona con alto riesgo de recaída. Las características del LCR al diagnóstico en pacientes con LLA en México es poco conocido, por lo que es necesario la realización de estudios en este sentido para caracterizar adecuadamente a nuestros pacientes.

Objetivo general: Identificar la infiltración primaria al SNC de los pacientes tratados en el Hospital Infantil de Morelia Eva Sámano de López Mateos al diagnóstico.

Objetivo específico: Determinar el compromiso del SNC. Conocer las características clínicas y de laboratorio de los pacientes con infiltración primaria al SNC. Correlacionar los factores pronóstico y la infiltración al SNC.

Metodología; se incluyeron a 51 pacientes tratados en el Hospital Infantil de Morelia Eva Sámano de López Mateos, del departamento de Hemato-Oncología Pediátrica durante el período del 1 de septiembre del 2011 al 30 de noviembre del 2012 en los cuales se corroboró el diagnóstico de LLA. Es un estudio clínico, prospectivo y observacional. Los criterios de inclusión consistieron en contar con diagnóstico de LLA ratificado con análisis morfológico e inmunofenotípico en aspirado de medula ósea, análisis de LCR mediante citocentrífuga y tinción de Wright, sin tratamiento antineoplásico previo y pacientes menores de 18 años.

Resultados; la distribución por sexo fue de 32 (63.7%) del sexo masculino y 19 (37.3%) del sexo femenino. Se encontró una relación masculino:femenino de 1.6:1. El índice de DNA se clasificó en cuatro grupos de acuerdo a la importancia pronóstica. Índice de DNA <1; 1 (1.9%) paciente, 1; 42 (82.4%) pacientes, 1 a 1.15; 6 (7.7%) pacientes y >1.16 en 3 (5.9%) pacientes. La respuesta a esteroide; 38 (74.5%) pacientes fueron buenos respondedores y 13 (25.5%) pacientes presentaron mala respuesta. La cuenta de leucocitos; 40 (78.4 %) de los pacientes presento menos de 50 mil leucocitos al diagnóstico y 11 (21.6 %) pacientes tuvieron más de 50 mil leucocitos. En el Inmunofenotipo, la expresión del CD10; 40 (78.4%) pacientes, CD13; 5 (9.8%) pacientes y la expresión CD33; 6 (11.8%) pacientes. La infiltración primaria al SNC se presentó en 3 (5.9%) pacientes; el LCR fue Negativo en 48 (94.1%).

Las características de los 3 pacientes con infiltración al sistema nervioso central fueron las siguientes: sexo masculino; 2 (66.6%) pacientes, femenino 1 (33.3%) paciente. La distribución por edad; 2 (66.6%) correspondieron al grupo etario de 1 a 10 años, y 1 (33.3%) mayores de 10 años y menores de 1 año. La cuenta de leucocitos al diagnóstico; los 3 pacientes presentaron un conteo menor de 50 mil leucocitos. La expresión inmunofenotípica fue; CD10; 2(66.6%) positivos, CD13; 0 (0%) y CD33; 1 (33%) de los pacientes.

Conclusión: La literatura mundial reporta resultados similares a este estudio, sin embargo, debido a la pequeña muestra de pacientes, sugerimos que deben realizarse próximos estudios con una mayor muestra.

Palabras Clave: Leucemia Linfoblástica Aguda, Infiltración Primaria, Sistema Nervioso Central, Líquido Cefalorraquídeo.

ABSTRACT

Introduction; Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most frequent malignant neoplasm in the pediatric age and represents 25% of all malignant neoplasms in children. In Mexico the ALL is the first cause of cancer in the pediatric age and represents the second cause of death in children under age 15. The prognosis of this neoplasm has improved significantly in the last decade with the introduction of combination chemotherapy and the advent of the improvements in the comprehensive treatment of pediatric patients with cancer, the survival free of event to 5 years are close to 80%.The leukemic blasts infiltration in the central nervous system (CNS) has prognostic impact, these patients have a higher risk of present therapeutic failure so that their identification is of great importance since it is related to high risk of relapse. The characteristics of the CSF at the diagnosis in patients with ALL in Mexico is little known, so it is necessary to the carrying out of studies in this regard to characterize adequately our patients.

General Objective: Identify the primary infiltration to the CNS of patients treated in the Hospital Infantil de Morelia Eva Sámano of Lopez Mateos to diagnosis.

Specific Objective: Specific Objective: To determine the commitment of the CNS. To know the clinical and laboratory characteristics of patients with primary infiltration to the CNS. Correlate the prognostic factors and the infiltration to the CNS.

Methodology; we review 51 patients treated in the Hospital Infantil de Morelia Eva Sámano of Lopez Mateos, during the period from September 1, to November 30 of 2012 in which it was corroborated the diagnosis of ALL. It is a clinical, prospective and observational study. The inclusion criteria consisted of diagnosis of all ratified with morphological alysis and immunophenotypical in bone marrow aspirate, analysis of CSF through cytocentrifuge and staining of Wright stain, without prior antineoplastic treatment and patients younger than 18 years old.

Results; the distribution by sex was 32 (63.7%) males and 19 (37.3%) of the female sex. It was found a male:female ratio of 1.6:1. The primary infiltration to the CNS was presented in 3 (5.9%) patients; the CSF was negative in 48 (94.1%). The characteristics of the 3 patients with infiltration to the central nervous system were the following: male sex; 2 (66.6%) patients, 1 (33.3%) female patient. The account of leukocytes into the diagnosis; the 3 patients presented a count less than 50 thousand leukocytes. The expression immunophenotypical was; CD10; 2(66.6%) positive, CD13; 0 (0%) and CD33; 1 (33%).

Conclusion: The world literature results are similar to this study. Due to the small sample of patients, we recommend studies have to be made with a larger number of patients.

Key Words: Acute lymphoblastic leukemia, Primary infiltration, Central Nervous System, Cerebrospinal fluid.

I. DEDICATORIA

Acto que dedico y agradezco a:

Dios: Por ser el creador de la vida, y quien me ha dotado de capacidad, aptitudes, inteligencia y perseverancia para lograr este tan importante título. Por siempre resguardarme y guiar mis pasos. Para Dios toda la Honra y Gloria.

A mi papá: Has trabajado duro, y sin importar que llegaras tarde del trabajo, tenías una sonrisa que ofrecer a tu familia. La educación que me has brindado son las bases para mi formación en la vida.

Mi mamá: tu sencillez, tu humildad, tu humanidad, tu manera de siempre ir hacia adelante ante toda adversidad, tu manera en amarme, tu manera de levantarme cuando estuve en el suelo, fue la manera de decirme que me comiera el mundo. Tú has sido mi aliento cuando creo que no resisto. Tengo tantos recuerdos que quiero agradecerte, le doy gracias al cielo por dejar tenerte. Gracias por el apoyo incondicional para todo.

Mi hermana: hay una alma que aunque es muy pequeña, tiene el espíritu como aquel que sueña, es un regalo de Dios se llama Zulema que me protege, me defiende y también me cuida. Aunque en muchos momentos no estuve contigo sabes que eres la mejor compañía, la mejor de las hermanas. Gracias por comprenderme siempre, gracias por tu apoyo. Te amo hermana.

INFILTRACION PRIMARIA AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN PACIENTES CON LEUCEMIA
LINFOBLASICA AGUDA ESTIRPE B TRATADOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA

También a mis Tíos, primos; Mis abuelos que son una gran parte de mi desarrollo en mis actitudes, principalmente un gran apoyo en mi estudio.

A mis amigos: A todos, a los que fuera de mi familia sanguínea se convirtieron en parte importante de mi vida, y que siempre tuvieron un gesto de comprensión y apoyo, que comprendieron tantos momentos no compartidos a causa de mis estudios. Nombrarlos uno a uno sería muy difícil, y un tanto injusto.

Gracias.

I. Agradecimiento

Dr. Eloy Pérez Rivera

Durante la realización de mi proyecto, usted ha sido mi mano derecha y quien me ha guiado en el complicado proceso. Es cierto, no ha sido nada fácil, ni mucho menos, sin embargo gracias a su ayuda, esto ha parecido un tanto menos complicado.

El resultado de mi tesis ha sido espectacular, mejor de lo que esperaba y una gran parte del desarrollo de ese excelente trabajo se lo debo a usted. Que Dios lo bendiga.

INFILTRACION PRIMARIA AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN PACIENTES CON LEUCEMIA
LINFOBLASICA AGUDA ESTIRPE B TRATADOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA

1. INDICE GENERAL	1
I Agradecimientos y dedicatoria	1
II Abreviaciones	7
III Índice de figuras	8
IV Índice de tablas	9
2. INTRODUCCION	10
3. MARCO TEORICO	11
3.1 Definición	11
3.2 Infiltración primaria al sistema nervioso central	11
3.3 Epidemiología	12
3.4 Fisiopatología	13
3.5 Etiología	13
3.5.1 Radiación	13
3.5.2 Químicos	13
3.5.3 Quimioterapia	14
3.5.4 Genético	14
3.5.5 Mielodisplasia	14
3.5.6 Antecedentes familiares de leucemia	14
3.6 Diagnostico	15
3.7 Clasificación	15
3.7.1 Morfológica	16
3.7.2 Inmunofenotipo	17
3.7.3 Citogenética	19

INFILTRACION PRIMARIA AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN PACIENTES CON LEUCEMIA
LINFOBLASICA AGUDA ESTIRPE B TRATADOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA

3.7.3.1 Numero de cromosomas	19
3.7.3.2 Translocaciones cromosómicas	20
3.8 Cuadro clínico	22
3.9 Características de laboratorio	24
3.10 Factores Pronósticos	25
3.10.1 Compromiso SNC en el momento del diagnostico	25
3.10.2 Edad	26
3.10.2.1 Lactantes	26
3.10.2.2 Niños pequeños	26
3.10.2.3 Adolescentes y adultos jóvenes	27
3.10.3 Cuenta de leucocitos al diagnóstico	27
3.10.4 Sexo	28
3.10.5 Compromiso testicular en el momento del diagnóstico	28
3.10.6 Etnia	28
3.10.7 Inmunofenotipo	29
3.10.8 Alteraciones citogenéticas	29
3.10.9 Enfermedad mínima residual	31
4. PREGUNTA DE INVESTIGACION	33
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	34
6. JUSTIFICACION	35
7. HIPOTESIS	36
8. OBJETIVOS	37
8.1 Objetivo general	37

INFILTRACION PRIMARIA AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN PACIENTES CON LEUCEMIA
LINFOBLASICA AGUDA ESTIRPE B TRATADOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA

8.2 Objetivo específico	37
9. METODOLOGIA	38
9.1 Sitio de estudio	38
9.2 Muestra	38
9.3 Diseño experimental	38
9.4 Criterios de inclusión	38
9.5 Criterios de exclusión	39
9.6 Criterios de eliminación	39
9.7 Procedimientos	39
9.7.1 Aspirado de medula ósea	40
9.7.2 Técnica Citospin	40
9.7.3 Estudios de laboratorio generales	40
9.7.4 Estudios de gabinete	41
9.7.5 Inmunotipificación mediante Citometría de Flujo	41
9.8 Análisis estadístico	42
9.9 Consideraciones éticas.	42
9.10 Recursos Físicos y Materiales	42
10. RESULTADOS	43
11. DISCUSION	46
12. CONCLUSION	49
13. REFERENCIAS	50

II. ABREVIACIONES

LLA: Leucemia Linfoblastica Aguda

SNC: Sistema Nervioso Central

FAB: Franco-Americana-Británica

OMS: Organización Mundial De la Salud

NCI: National Cancer Institute

EMR: Enfermedad Mínima Residual

III. INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolución de una célula sanguínea	11
Figura 2. Maduración de los linfocitos	17
Figura 3. El cromosoma Filadelfia	20

IV. INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	16
Tabla 2.	23
Tabla 3.	29
Tabla 4.	32
Tabla 5.	43
Tabla 6.	45
Tabla 7	45

2. INTRODUCCION

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la neoplasia maligna más frecuente en la edad pediátrica y representa el 25% de todas las neoplasias malignas en niños¹.

En México la LLA constituye la primera causa de cáncer en menores de 15 años y representa la segunda causa de muerte en la edad pediátrica. Se ha observado un incremento en los últimos años². El pronóstico de esta neoplasia ha mejorado significativamente en las últimas décadas, a principios de los años 50's la tasa de supervivencia eran del 10%, y a partir de los años 60's, con la introducción de quimioterapia combinada y el advenimiento de las mejoras en el tratamiento integral del paciente pediátrico con cáncer, las tasas de supervivencia libre de evento a 5 años son cercanas a lo 80%³.

En la actualidad el tratamiento de la leucemia está adaptado al riesgo que presenta el paciente de presentar mala respuesta al tratamiento y, este se determina durante el diagnóstico y al inicio del tratamiento con el objetivo de incrementar las tasas de supervivencia con menor cantidad de secuelas.

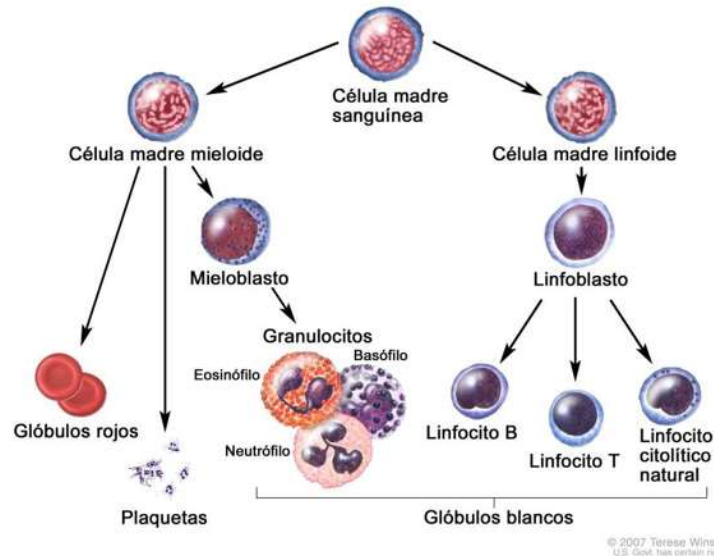
La presencia o ausencia de leucemia en el sistema nervioso central (SNC) tiene importancia pronóstica. Estos pacientes presentan un riesgo mayor de presentar fracaso terapéutico por lo que su identificación es de gran importancia ya que la infiltración primaria al SNC se relaciona con alto riesgo de recaída. Las características del LCR al diagnóstico en pacientes con LLA en México es poco conocido, por lo que es necesario la realización de estudios en este sentido para caracterizar adecuadamente a nuestros pacientes.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Definición.

La Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) se caracteriza por la expansión clonal y la detención de la diferenciación normal de los precursores hematopoyéticos, condicionada por mutaciones que determinan alteraciones en la proliferación y diferenciación celular.¹²

Figura 1. Evolución de una célula sanguínea



3.2 Infiltración primaria al sistema nervioso central

La infiltración de leucemia en el sistema nervioso central (SNC) tiene importancia pronóstica. La infiltración al SNC en los pacientes sometidos a una punción lumbar diagnóstica no traumática se pueden asignar a categorías de acuerdo al número de GB/ μ l y la presencia o ausencia de blastocitos en la citocentrífuga de la siguiente manera:

- **SNC1:** Líquido cefalorraquídeo (LCR) negativo para blastocitos en la citocentrífuga independientemente del recuento de GB.
- **SNC2:** LCR con menos de 5 GB/ μ l y positivo para blastocitos en la citocentrífuga.
- **SNC3 (enfermedad del SNC):** LCR con 5 o más GB/ μ l y positivo para blastocitos en la citocentrífuga.

Los niños con LLA que presentan enfermedad en el SNC (SNC3) en el momento del diagnóstico, tienen un riesgo más alto de fracaso del tratamiento (tanto del SNC como sistémico) que los pacientes con clasificación SNC1 o SNC2.⁶³

3.3 Epidemiología.

Las leucemias agudas son el cáncer más comúnmente observado en la edad pediátrica, constituyen 25-30% de todas las neoplasias malignas de los niños. Se estima que se presenta con una tasa anual aproximada de 30 a 40 por millón en los Estados Unidos de América (EUA)^{4,5}. Al año, se diagnostican 2.900 niños y adolescentes en los EUA.^{5,6} Se observa un aumento marcado de la incidencia de LLA en niños de 2 a 3 tres años (>80 casos por millón por año), con tasas que disminuyen a 20 casos por millón en niños de 8 a 10 años y la incidencia en este grupo etario es aproximadamente cuatro veces mayor que la de lactantes y casi 10 veces mayor que la de los adolescentes de 16 a 21 años.^{4,5} El sexo masculino es el afectado con mayor frecuencia. La incidencia de LLA en niños hispanos es la más alta (43 casos por millón) comparada con otras etnias. En niños blancos es más

elevada que la de niños negros, con una incidencia casi tres veces mayor en edades de 2 a 3 años.^{4,5} La infiltración primaria al SNC se presenta en menos de 5% de los pacientes al diagnóstico.

3.4 Fisiopatología

Durante la hematopoyesis normal, las poblaciones linfoides presentan diversos rearrreglos en las inmunoglobulinas (Ig) o receptores de células. Este proceso puede ocurrir de manera anormal dando lugar a cambios genéticos que pueden eventualmente resultar en expansión clonal, con el consecuente desarrollo de una LLA.^{7,8} la leucemia es una enfermedad sistémica y al encontrarse en el tejido hemático, esta patología puede ser encontrada en prácticamente todo el organismo.

3.5 Etiología

La etiología de la LLA es considerada multifactorial. Los siguientes factores se consideran importantes en la patogénesis de la LLA.

3.5.1 Radiación.

Las personas expuestas a concentraciones muy altas de radiación como es el tratamiento médico para el cáncer, los rayos X dentales, las tomografías computarizadas de diagnóstico.^{7,8}

3.5.2 Químicos.

Exposición al benceno en el lugar de trabajo, el humo del tabaco y la gasolina.^{7,8}

3.5.3 Quimioterapia.

Agentes alquilantes o inhibidores de la topoisomerasa utilizados para combatir el cáncer.

3.5.4 Genéticos.

Síndrome de Down, Síndrome de Bloom¹⁰, Anemia de Fanconi, Agamaglobulinemia Congénita^{7,8}, Síndrome de Poland, Síndrome de Shwachman-Diamond^{8,9} Ataxia Telangiectasia¹¹, Síndrome de Li-Fraumeni^{7,8}, Neurofibromatosis⁷, Anemia de Diamond-Blackfan^{7,8}, Enfermedad de Kostmann, se asocian con aumento en el riesgo de padecer leucemia aguda.

3.5.5 Mielodisplasia.

Las personas con trastornos sanguíneos tienen un mayor riesgo de padecer LLA.

3.5.6 Antecedentes familiares de leucemia.

No es frecuente que más de una persona en una familia tenga leucemia. Cuando esto sucede, es probable que se trate de Leucemia Linfocítica Crónica (LLC). No obstante, sólo pocas personas con LLC tienen a su padre, madre, hermano, hermana, hijo o hija que padece también esta enfermedad ^{7,8}

3.6 Diagnóstico

El estándar de oro para el diagnóstico de la leucemia, es la realización de un aspirado de medula ósea (AMO) en el cual se identifican blastos en más de 25% de

la celularidad. El compromiso medular observado por microscopía óptica se define de la siguiente manera:

- a) M1. Menos de 5% de blastos.
- b) M2. De 5 a 25% de blastos.
- c) M3. Más de 25% de blastos.

La mayoría de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda presentan una médula M3.¹² El análisis de líquido cefalorraquídeo realizado por microscopía de luz, previo centrifugado de la muestra y con la colocación de la tinción de Wright es realizado y se considera diagnóstico al encontrar un SNC-3.

3.7 Clasificación

La clasificación actual de las leucemias incluye la morfología, citogenética, inmunofenotipo y de acuerdo al riesgo del paciente para presentar recaída; la cual tiene el propósito de definir categorías con características clínicas y biológicamente comunes.¹²

En términos generales, las leucemias se clasifican en agudas o crónicas, y de acuerdo al linaje: en linfoides y mieloides. En niños, las leucemias agudas son las más frecuentes y representan 97-99%, mientras que las crónicas ocurren sólo en 1 a 3% de los casos. Dentro de las leucemias agudas, las linfoblásticas son cuatro veces más frecuente que las de estirpe mieloide.¹²

3.7.1 Morfológica

La clasificación de la FAB (French-American-British), fue diseñada a finales de la década de los 70's, se basa en hallazgos morfológicos y divide a las LLA en tres subtipos morfológicos. El 85% de los niños con LLA presentan el subtipo morfológico L1, el 14% presenta el subtipo L2 y solamente el 1% presenta el subtipo L3.¹³ El Cuadro 1 detalla las características de cada uno de estos subtipos.

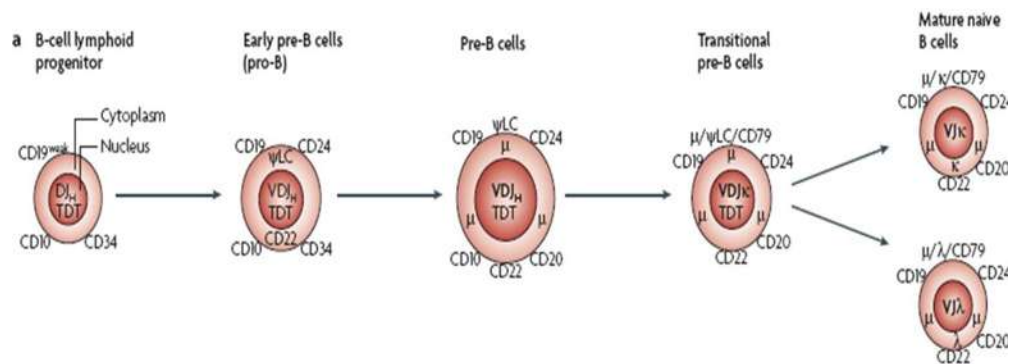
Tabla 1. Clasificación citomorfológica de la FAB.

Subtipo	L1	L2	L3
Tamaño de las células	Predominantemente Pequeñas	Grandes, heterogéneas	Grandes homogéneas
Cromatina Nuclear	Homogénea en todos los casos	Variable; heterogénea en la mayoría de los casos	Finamente desenrollada y homogénea
Forma del núcleo	Regular; ocasionalmente hendido o Indentado	Irregular hendido, la indentación es común	Regular oval o redondeado
Nucléolo	No visible o pequeño discretamente más vesicular	Presentes en uno o más y son prominentes	Prominentes, uno o más
Cantidad de citoplasma	Escaso	Variable; moderado a abundante	Moderadamente abundante
Basofilia del citoplasma	Escasa a moderada; relativamente intensa	Variable; es profunda algunas veces	Muy profunda
Vacuolas citoplasmáticas	Variable	Variable	Casi siempre prominentes

3.7.2 Inmunofenotipo

La hematopoyesis es un proceso complejo en el que las células sanguíneas expresan de manera coordinada antígenos nucleares, citoplásmicos y de superficie que les confieren características y funciones que son determinantes para la diferenciación y maduración. La mayoría de las células leucémicas comparten características con los progenitores normales. La clasificación inmunobiológica se establece empleando un panel de anticuerpos asociados a linaje que se basa en las secuencias normales de maduración.

Figura 2. Maduración de los linfocitos



Antes de 2008, la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificaba la leucemia linfoblástica de células B como leucemia linfoblástica de células B precursoras; esta terminología todavía se usa con frecuencia en la literatura médica sobre la LLA infantil para distinguirla de la LLA de células B maduras, que ahora se llama leucemia de Burkitt y exige un tratamiento distinto del administrado para la LLA de células B precursoras. La LLA de células B precursoras, definida por la expresión citoplásmica CD79a, CD19, HLA-DR y otros Antígenos (Ag) relacionados con las

células B, representa de 80 a 85% de los casos de la LLA infantil. Aproximadamente 90% de la LLA de células B precursoras expresan el Ag de superficie CD10 (antes conocido como Ag LLA común [cALLa]). La ausencia de CD10 se relaciona con traslocaciones en el MLL, en particular t(4;11), y un desenlace precario.^{14,15} No resulta claro si la negatividad para CD10 tiene alguna importancia pronóstica independiente en ausencia de un reordenamiento del gen MLL.¹⁶

Los tres subtipos principales de LLA de células B precursoras son los siguientes:

- a) LLA de células B precursoras común (positivo para CD10 y sin Ig de superficie o citoplasmática). Aproximadamente tres cuartos de los pacientes de LLA de células B precursoras tienen el inmunofenotipo común de células B precursoras y gozan del mejor pronóstico. Los pacientes con características citogenéticas favorables casi siempre exhiben un inmunofenotipo común de células B precursoras.
- b) LLA Pro-B (negativa para CD10 y sin Ig de superficie o citoplasmática). Aproximadamente 5% de los pacientes tienen el inmunofenotipo Pro-B. Este es el inmunofenotipo más común que se observa en lactantes y se relaciona a menudo con una traslocación t(4;11).
- c) LLA pre-B (presencia de Ig citoplasmática). Las células leucémicas de los pacientes de LLA pre-B contienen Ig citoplasmática y 25% de los pacientes de LLA pre-B presentan la traslocación t(1;19) con fusión TCF3-PBX1 (que también se conoce como E2A-PBX1) (ver más abajo).^{17,18}

Aproximadamente 3% de los pacientes presentan LLA pre-B transicional con expresión de Ig de superficie de cadena pesada sin expresión de cadena liviana, compromiso del gen C-MYC o morfología L3. Los pacientes con este fenotipo responden bien al tratamiento de la LLA de células B precursoras.¹⁹ Aproximadamente 2% de los pacientes presentan leucemia de células B madura (expresión de Ig de superficie, en general con morfología FAB L3 y una traslocación que compromete al gen C-MYC), que también se llama leucemia de Burkitt.^{19,6}

3.7.3 Citogenética

Las alteraciones cromosómicas pueden ser numéricas o estructurales, tienen importancia pronóstica y es posible detectarlas en un número considerable de pacientes con LLA.²⁰ Entre las anomalías cromosómicas con importancia pronóstica se encuentran las siguientes

3.7.3.1 Número de cromosomas

Hiperdiploidía alta; se define como aquella con 51 a 65 cromosomas por célula o un índice de ADN mayor de 1,16, se presenta en 20 a 25% de los casos de LLA de células B precursoras, pero con muy poca frecuencia en los casos de LLA de células T.²¹⁻²²⁻²³ La casi triploidía (68 a 80 cromosomas) y la casi tetraploidía (>80 cromosomas) son mucho menos comunes y desde el punto de vista biológico parecen ser diferentes de la hiperdiploidía alta.²⁴

Hipodiploidía; se define como aquella con menos de 44 cromosomas. Se observa una tendencia marcada hacia un desenlace progresivamente peor con una disminución en el número de cromosomas. Los casos con 24 a 28 cromosomas (casi haploidía) presentan el desenlace menos favorable. Los pacientes con menos de 44 cromosomas tienen un desenlace más precario que los pacientes con 44 o 45 cromosomas en sus células leucémicas.²⁵

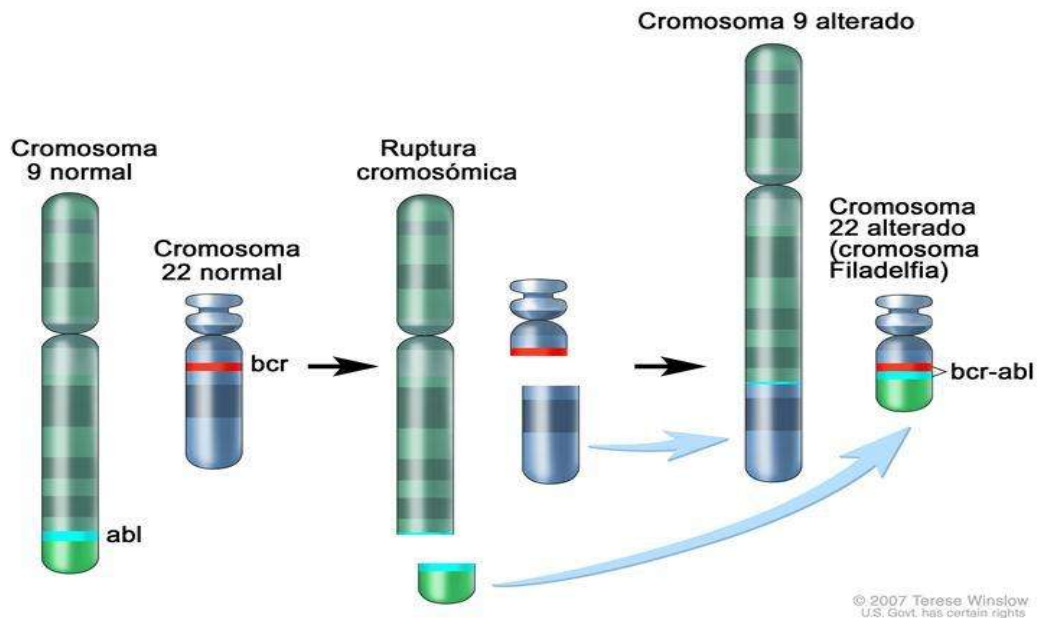
3.7.3.2 *Traslocaciones cromosómicas*

ETV6-RUNX1 (traslocación críptica t(12;21) antes conocida como TEL-AML1)

La fusión del gen ETV6 del cromosoma 12 con el gen RUNX1 del cromosoma 21 se puede detectar en 20 al 25% de los casos de LLA de células B precursoras, pero se observa con poca frecuencia en la LLA de células T.²⁶⁻²⁷⁻²⁸

El cromosoma Filadelfia t(9;22) se presenta en aproximadamente 4% de niños con LLA y lleva a la producción de la proteína de fusión BCR-ABL1 con actividad de tirosina cinasa.²⁹⁻³⁰⁻³¹

Figura 3. El cromosoma Filadelfia



Traslocaciones en el gen MLL

Las traslocaciones que comprometen el gen MLL (11q23) se presentan hasta en 5% de los casos de LLA infantil y, en general, se relacionan con un aumento del riesgo de fracaso del tratamiento.³²⁻³³⁻³⁴⁻³⁵ La t(4;11) es la traslocación más común relacionada con el gen MLL en niños con LLA y se presenta en aproximadamente 2% de los casos.²

TCF3-PBX1 (traslocación E2A-PBX1; t(1;19))

La traslocación t(1;19) se presenta en aproximadamente 5% de los casos de LLA infantil y supone la fusión del gen E2A en el cromosoma 19 con el gen PBX1 en el cromosoma 1.³⁶⁻³⁷ La traslocación (1;19) se puede presentar como una traslocación equilibrada o desequilibrada, y se relaciona principalmente con el inmunofenotipo de la LLA pre-B (Ig citoplásmica positiva).

3.8 Cuadro Clínico

La presentación clínica de los pacientes con LLA es el reflejo de la proliferación de los blastos leucémicos en la M.O y de la infiltración a órganos extramedulares. En la M.O la proliferación de las células leucémicas interfiere con la hematopoyesis normal y las citopenias son la principal causa de la sintomatología característica de esta entidad. La anemia causa fatiga, astenia y adinamia que cuando es severa puede ocasionar letargia y disnea. La trombocitopenia es la principal causa de sangrado, que generalmente se presenta en piel además de las mucosas y cuando es severa puede poner en peligro la vida, como en el caso de la hemorragia intracraneal. La neutropenia predispone a infecciones de repetición y si es profunda puede condicionar infecciones severas.

La fiebre se presenta por la liberación de citocinas pirógenas liberadas por los blastos leucémicos como la interleucina 1, interleucina 6 y el factor de necrosis tumoral, o bien como consecuencia de infecciones relacionadas con neutropenia.³⁶ El dolor óseo es debido a la infiltración del periostio por células leucémicas y puede

INFILTRACION PRIMARIA AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLASICA AGUDA ESTIRPE B TRATADOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA

acompañarse de aumento de volumen en las articulaciones, por lo que en ocasiones se confunde con enfermedades reumáticas como artritis reumatoide juvenil, lo que puede retrasar el diagnóstico de la LLA.³⁸

Los blastos leucémicos pueden infiltrar órganos extramedulares, tales como el hígado, bazo, timo y ganglios linfáticos.³³ El examen físico puede revelar palidez, petequias, hemorragia de mucosas, gingivorragia, epistaxis linfadenopatías y hepatoesplenomegalia. La infiltración al sistema nervioso central (SNC) ocurre hasta en 5% de los pacientes con LLA al diagnóstico, la forma más frecuente es la infiltración meníngea y puede presentarse en parénquima o pares craneales. El estado del SNC se ha clasificado en SNC 1 a 3 con base en los hallazgos citoquímicos y por citocentrifugación del líquido cefalorraquídeo (LCR), y a la afección de pares craneales.³⁹ Las características de cada uno se describen en el cuadro 2.

Tabla 2. Estado de Sistema Nervioso Central al diagnóstico de LLA

ESTADO DEL SNC	HALLAZGOS EN LCR
SNC-1	No evidencia de blastos en líquido
SNC-2	Menos de 5 leucocitos/ul con blastos
SNC-3	Más de 5 leucocitos/ul con blastos o parálisis de pares craneales.

3.9 Características de Laboratorio

Los exámenes de laboratorio incluyen Biometría Hemática (BH) y un perfil bioquímico amplio. La BH puede mostrar cifras normales de Hemoglobina (Hb), leucocitos y plaquetas, sin embargo lo característico es encontrar anemia, trombocitopenia, leucopenia o leucocitosis. La mayor parte de los pacientes presentan al diagnóstico una cifra de Hb en el rango de 7 a 11 g/dL y con menor frecuencia la Hb es normal. Lo más común es encontrar una cifra de leucocitos mayor a 10,000 y la hiperleucocitosis se ha descrito característicamente en pacientes con LLA de inmunofenotipo T. La cifra de plaquetas más frecuentemente descrita en la literatura se encuentra entre 20,000 y 99,000 por milímetro cúbico.¹²⁻⁴⁰⁻⁴¹ Las alteraciones metabólicas más comunes son las relacionadas con el Síndrome de Lisis Tumoral, cuya triada clásica incluye hiperuricemia, hiperfosfatemia, e hipocalcemia. La actividad de la Deshidrogenasa láctica se encuentra incrementada en los pacientes con LLA. El incremento de la enzima se ha relacionado con carga tumoral alta y cuenta de leucocitos mayor de 50,000.⁴²

3.10 Factores Pronósticos y Definición de Riesgo

Ciertos grupos de estudio de la LLA, como el Children's Oncology Group (COG), usa un régimen de inducción más o menos intensivo que se basa en un subgrupo de factores que se identifican previo al tratamiento, mientras que otros grupos administran un régimen de inducción similar a todos los pacientes. Los factores que utiliza el COG para determinar la intensidad de la inducción incluyen el inmunofenotipo y la clasificación del grupo de riesgo del Instituto Nacional del Cáncer (NCI). La clasificación del grupo de riesgo según el NCI estratifica el riesgo según la edad y el recuento de glóbulos blancos (RGB). Riesgo estándar: RGB inferior a 50.000/ μ l y edad de 1 año hasta menos de 10 años. Riesgo alto: RGB de 50.000/ μ l o superior y edad de 10 años o más.⁴³ Los grupos de estudio modifican la intensidad del tratamiento de posinducción sobre la base de una variedad de factores pronósticos, como el grupo de riesgo del NCI, el inmunofenotipo, las determinaciones de respuesta al tratamiento y la citogenética.⁴⁴

3.10.1 Compromiso del SNC en el momento del diagnóstico

La presencia o ausencia de leucemia en el SNC en el momento del diagnóstico tiene importancia para el pronóstico. Los pacientes con punción lumbar no traumática para el diagnóstico se pueden ubicar en una de las tres categorías siguientes de acuerdo con el RGB/ μ l y la presencia o ausencia de blastos en la citospina. Los niños que presentan enfermedad en el SNC (SNC3) en el momento del diagnóstico tienen un riesgo más alto de fracaso del tratamiento (tanto dentro del SNC como sistémicamente) que los pacientes clasificados con SNC1 o SNC2.⁶³

3.10.2 Edad

La edad en el momento del diagnóstico tiene una sólida importancia pronóstica que refleja las diferentes características biológicas subyacentes de la LLA en los distintos grupos de edad.⁴⁴

3.10.2.1 Lactantes (menores de 1 año)

Los lactantes con LLA tienen un riesgo particularmente alto de fracaso terapéutico. El fracaso terapéutico es más común en los siguientes grupos; lactantes menores de 6 meses (con un pronóstico incluso más precario para quienes tienen de 60 a 90 días de vida), lactantes con RGB extremadamente altos, lactantes con respuesta precaria a la profase de prednisona.⁴⁵⁻⁴⁶⁻⁴⁷⁻⁴⁸ Aproximadamente 80% de los lactantes con LLA tienen reordenamiento del gen MLL.⁴⁷⁻⁴⁹⁻⁵⁰ La tasa de translocaciones del gen MLL es sumamente alta en lactantes menores de 6 meses; de 6 meses a 1 año, la incidencia de translocaciones en el MLL disminuye, pero se mantiene más altas de lo que se observa en niños mayores.

3.10.2.2 Niños pequeños (1 a <10 años)

Los niños pequeños (1 a <10 años de edad) tienen una mejor supervivencia sin enfermedad (SSE) que los niños mayores, los adolescentes y los lactantes.³⁸ La mejoría del pronóstico en los niños de corta edad se explica en parte por la presentación más frecuente de características citogenéticas favorables en los blastos leucémicos, incluso hiperdiploidía con 51 o más cromosomas o trisomías cromosómicas favorables, o la translocación ETV6-RUNX1 (t(12;21), también

conocida como TEL-AML1).⁴²⁻⁵¹⁻⁵⁸

3.10.2.3 Adolescentes y adultos jóvenes (≥ 10 años)

En términos generales, el desenlace para pacientes de 10 años o más es inferior al de los pacientes de 1 año de vida a menos de 10 años. Sin embargo, el desenlace para los niños mayores, en particular los adolescentes, mejoró de forma significativa con el transcurso del tiempo.⁵³⁻⁵⁴⁻⁵⁵ En múltiples estudios retrospectivos se indicó que los adolescentes de 16 a 21 años tienen un desenlace mejor cuando se les trata con protocolos pediátricos.⁵⁶⁻⁵⁷⁻⁵⁸

3.10.3 Cuenta de leucocitos al diagnóstico

En general, se usa un RGB de 50.000/ μ l como valor operativo de corte entre un pronóstico mejor y un pronóstico más precario.⁵⁹ Los pacientes de LLA de células B precursoras y RGB altos en el momento del diagnóstico tienen un aumento del riesgo de fracaso del tratamiento en comparación con los pacientes con RGB iniciales bajos.

3.10.4 Sexo

En algunos estudios, el pronóstico de las niñas con LLA es ligeramente mejor que el de los niños con LLA.⁶⁰⁻⁶¹⁻⁶² Una de las razones del mejor pronóstico para las niñas es la presentación de recaídas testiculares en los niños, pero los niños también parecen tener un riesgo mayor de recaída en la M.O y el SNC debido a factores que todavía no se entienden.⁶⁰⁻⁶¹⁻⁶²

3.10.5 Compromiso testicular en el momento del diagnóstico

Presente aproximadamente en un 2% de los varones y por lo general con los que tienen LLA de células T. En ensayos iniciales este factor era un pronóstico adverso, al parecer si se trata con un tratamiento inicial más intenso ya no se considera de tanta importancia pronóstica.⁶⁴⁻⁶⁵

3.10.6 Etnia

Las tasas de supervivencia de niños negros hispanos con LLA son ligeramente más bajas que las tasas de niños blancos con LLA.⁶⁶⁻⁶⁷ Esta diferencia puede depender del tratamiento. En un informe del St. Jude Children's Research Hospital (SJCRH) no se encontró diferencia en los desenlaces por grupos étnicos.⁶⁸ A los niños asiáticos con LLA les va un poco mejor que a los niños blancos.⁶⁹ La razón por la que los niños blancos y asiáticos tienen un mejor desenlace que los niños negros e hispanos, se puede explicar de manera parcial por los diferentes espectros de subtipos de LLA. Por ejemplo, los negros tienen una incidencia más alta de LLA de células T y tasas más bajas de subtipos genéticos favorables de LLA. Sin embargo,

estas diferencias no explican en su totalidad las diferencias étnicas que se observan en los desenlaces.⁶⁷

3.10.7 Inmunofenotipo

Se ha reconocido que el inmunofenotipo B se asocia con un pronóstico mejor comparado con pacientes con innumnofenotipo T, los cuales son tratados con tratamientos específicos.⁶⁹

3.10.8 Alteraciones citogenéticas.

Las alteraciones estructurales, de importancia pronostica se describen a continuación.

Tabla 3. Traslocaciones recurrentes en Leucemia Aguda Linfoblástica en niños.

TRASLOCACION	PROTEÍNA DE FUSIÓN	INMUNOFENOTIPO	FRECUENCIA	PRONÓSTICO
t(12:21)(P12:Q22)	TEL-AML1	pre B	25%	Bueno
t(1:19)(q23:p13)	E2A-PBX1	pre B	6%	Malo
t(9:22)(q34;q11)	BCR-ABL	pre B	4%	Malo
t(4:11)(q21;q23)	MLL-AF4	pre B	6%	Malo

La t(12;21), TEL-AML1, es la fusión del gen TEL localizado en el cromosoma 12, con el gene AML1 (CBFA2) en el cromosoma 21. Los pacientes con t(12; 21) generalmente se encuentran en rango de edad de 2 a 9 años. Los pacientes con fusión TEL-AML1 generalmente tienen buenos resultados, a pesar de que exista

polémica en cuanto a la tasa de curación final es realmente superior a la de los otros pacientes con LLA de precursores B.⁷⁰

El cromosoma Philadelphia t(9;22) está presente en aproximadamente 4% de los casos de pacientes pediátricos con LLA, y confiere un pronóstico desfavorable, sobre todo cuando se relaciona con una cuenta de leucocitos alto, o bien con mala respuesta o respuesta tardía al tratamiento.⁷¹ El cromosoma Philadelphia se asocia a pacientes mayores con LLA de células de precursores B y una cuenta alta de leucocitos.

Los rearrreglos en el gen MLL (11q23) se presenta alrededor del 6% de los casos de LLA en la edad pediátrica, y generalmente están ligados a un aumento en el riesgo de no responder al tratamiento. En caso de presentarse en lactantes generalmente se asocia a una cuenta de leucocitos alta al diagnóstico, con mayor probabilidad de involucro de SNC y con pobre respuesta al tratamiento.⁷²

La t(1;19) se encuentra aproximadamente en 5 al 6% de los casos de LAL en la edad pediátrica y se relaciona con células leucémicas de precursores B (con Ig citoplasmática positiva). Se correlaciona al inicio con mal respuesta al tratamiento con antimetabolitos.⁷³ Los estudios demuestran que el mal pronóstico mejora con intensificación de la terapia.⁷³

3.10.9 Enfermedad Mínima Residual

La detección de la enfermedad mínima residual (EMR) puede identificar a pacientes con alto riesgo de recaer y así dar una oportunidad para otorgar una terapia adaptada al riesgo. Se han descrito dos métodos efectivos para evaluar EMR; la citometría de flujo y la amplificación de los genes receptores de Ag por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La citometría de flujo tiene ventaja sobre la PCR, porque tiene la capacidad de eliminar las células apoptósicas y permite la cuantificación directa de las células blancas. La sensibilidad de la EMR por citometría de flujo es la detección de una célula anormal en 10,000 células (0.01% o 10^{-4}).⁷⁴⁻⁷⁵⁻⁷⁶

Existen otros factores pronósticos no identificables al diagnóstico, como son la disminución en la cifra de blastos en sangre periférica después de 7 días de tratamiento con esteroide, la respuesta en M.O al día 14 y el nivel de EMR al final de la inducción. El cuadro 3 detalla los factores de riesgo hasta ahora descritos, aunque no todos ellos tienen valor como factores independientes para la definición de riesgo.

INFILTRACION PRIMARIA AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLASICA AGUDA ESTIRPE B TRATADOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA

Tabla 4. Estratificación de la leucemia linfoblástica aguda por grupos de riesgo

CARACTERISTICA	ALTO RIESGO	BAJO RIESGO
Edad	< 1 año y > 10 años	2 a 9 años
Sexo	Masculino	Femenino
Raza	Hispanos y negros	Blancos
Cuenta leucocitaria	> 50,000/ul	Menos de 50,000/ul
Morfología FAB	L3	L1,L2
Masa mediastinal	Positiva	Negativo
Inmunofenotipo	Células T, B maduras	Células pre B, y tempranas
Visceromegalias	Rebasan línea umbilical	No grandes
Cuenta plaquetaria	Menor de 50,000/ul	Mayor de 50,000/ul
SNC	Infiltrado	No infiltrado
Citogenética	Translocación de alto riesgo	Translocación bajo riesgo
Respuesta al tratamiento con esteroide	Más de 1000 blastos absolutos al día 8	Menos de 1000 blastos al día 8
Respuesta a la inducción	Mayor al día 28	Antes del día 28

La identificación de todos estos factores ha facilitado la estratificación de los pacientes y ha permitido ajustar la intensidad del tratamiento al grupo de riesgo al reducir el número de fármacos y en algunos casos las dosis y duración de las muertes por toxicidad y las secuelas relacionadas con el tratamiento. De igual manera, la intensificación del tratamiento en casos de pobre pronóstico, reduce las fallas debidas al desarrollo de resistencia a fármacos antineoplásicos.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué porcentaje de pacientes con Leucemia Linfoblastica Aguda de estirpe B presentan infiltración al sistema nervioso central durante el diagnóstico?

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La leucemia Linfoblástica Aguda constituye la neoplasia maligna más frecuente en la edad pediátrica. Los pacientes con LLA en México, no alcanzan las tasas de curación que se reportan en otros países, en nuestro país existe un incremento en el número de recaídas y fracaso terapéutico, siendo la recaída al SNC uno de los sitios más importantes de recaída. Se reconoce que en México carecemos de datos precisos del porcentaje de la infiltración al sistema nervioso central, por lo que el reconocimiento de estos datos resulta indispensable para el diseño de protocolos de tratamiento adecuados a las características poblacionales de los niños mexicanos.

6. JUSTIFICACIÓN

En el Hospital Infantil de Morelia Eva Sámano de López Mateos se reciben entre 40 y 50 casos nuevos con Leucemia Linfoblástica Aguda cada año. A pesar que es la neoplasia más frecuente en la comunidad infantil, no se cuenta con la información precisa en lo que se respecta al compromiso del sistema nervioso central, presentación clínica, clasificación morfológica, inmunofenotípicas, características moleculares de los pacientes al momento del diagnóstico

El compromiso del SNC es un factor pronóstico y es información indispensable para la estratificación de los pacientes, asignación de riesgo, definición pronóstica y planeación del tratamiento.

Conocer el compromiso del SNC en los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda, tratados en el Hospital Infantil de Morelia Eva Sámano de López Mateos, permitirá identificar aspectos individuales, de nuestra población, definir necesidades y realizar una mejor planeación para su tratamiento y obtener datos precisos

7. HIPOTESIS

Los pacientes con diagnóstico de LLA en el HIM presentan una tasa mayor de infiltración primaria al SNC respecto a lo publicado en la literatura.

8. OBJETIVOS

8.1 Objetivo general:

Identificar la infiltración primaria al sistema nervioso central (SNC) de los pacientes tratados en el Hospital Infantil de Morelia Eva Sámano de López Mateos al diagnóstico.

8.2 Objetivo específico:

- Determinar el compromiso del Sistema Nervioso Central (SNC).
- Conocer las características clínicas y de laboratorios de los pacientes con infiltración primaria al SNC.
- Correlacionar los factores pronóstico y la infiltración al SNC (SNC)

9. METODOLOGÍA

9.1 Sitio de estudio

Departamento de Hemato-Oncología del Hospital Infantil de Morelia “Eva Sámano de López Mateos”.

9.2 Muestra

Se incluyeron a 51 pacientes del departamento de Hemato-Oncología Pediátrica durante el período del 1 de septiembre del 2011 al 30 de noviembre del 2012 con diagnóstico de LLA.

9.3 Diseño experimental

Es un estudio clínico, prospectivo y observacional en un grupo de pacientes con LLA de estirpe “B”.

9.4 Criterios de inclusión

- a. Diagnóstico de LLA ratificado con análisis morfológico e inmunofenotípico de las células de M.O.
- b. Análisis de LCR mediante citocentrifuga y tinción de Wright.
- c. Sin tratamiento antineoplásico previo
- d. Pacientes menores de 18 años.

9.5 Criterios de exclusión

- a. Pacientes cuyo tutor no desee ingresar al protocolo
- b. Leucemia mieloblástica aguda, LLA de estirpe "T" o leucemia aguda bifenotípica

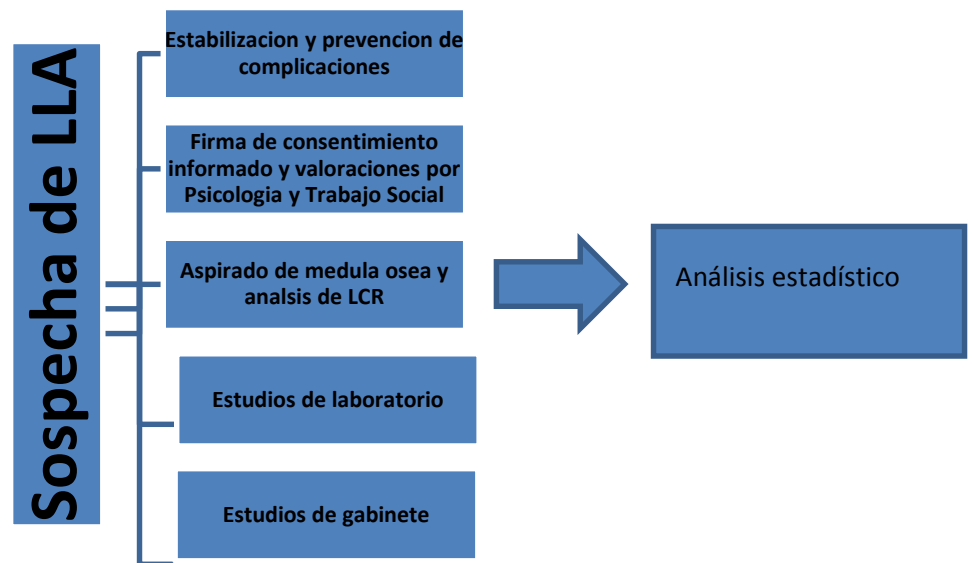
9.6 Criterios de eliminación

- a. Información incompleta

9.7 Procedimientos

Al sospecharse LLA se hospitaliza al paciente y se realiza la siguiente secuencia de estudios.

Figura 3. Protocolo y secuencia de estudio



9.7.1 Aspirado de medula ósea.

Como parte del diagnóstico de LLA, se realizó el aspirado de M.O puncionando la espina ilíaca postero-superior del lado derecho, empleando la aguja de Hamshidi; bajo anestesia general inhalada con sevoflurano aplicada por médico anesthesiólogo y acompañado por una enfermera del servicio de oncología en sala de procedimientos ambulatorios. La toma se realizó en dos partes; primero, se obtuvieron 0.5 mL de muestra y se realizaron frotis en 6 laminillas, se tiñeron con el colorante de Wright, se contaron 100 células en el microscopio óptico y se determinó leucemia aguda al encontrar al menos 25% de linfoblastos. Posteriormente, se tomaron 3 mL con anticoagulante EDTA (1/10 parte) para realizar el análisis inmunofenotípico. Se realiza puncion lumbar en espacios L3-L4, tomándose 2 mls de LCR, y se envía la muestra de inmediato para el citospin. Se centrifuga de 8 a 10 minutos a 1000 - 1500 r.p.m. A continuación, se obtiene el sedimento y se preparan extensiones. Las extensiones se dejan secar, se fijan y se tiñen con los colorantes habituales tales como Giemsa o colorantes para Papanicolaou. El recuento diferencial se realiza examinando 100 células y se anotan los tantos por ciento de cada una.

9.7.2. Técnica Citospin

La citocentrifugación con Cytospin, se basa en que, en una suspensión, las células son más densas que el fluido, bajo la fuerza centrífuga, la célula será proyectada a través de la cámara hacia el portaobjetos. La manera más usual de concentrar el

LCR es por centrifugación convencional. Se centrifuga de 8 a 10 minutos a 1000 - 1500 r.p.m. A continuación, se obtiene el sedimento y se preparan extensiones, teniendo precaución de no romper las células. Las extensiones se dejan secar, se fijan y se tiñen con los colorantes habituales tales como Giemsa o colorantes para Papanicolaou. El recuento diferencial se realiza examinando 100 células y se anotan los tantos por ciento de cada una.

9.7.3 Estudios de laboratorio generales

Se tomó a los pacientes una muestra de sangre periférica para estudios los cuales se realizaron en el laboratorio clínico del Hospital Infantil de Morelia que incluyeron BH, pruebas de función renal (urea, creatinina, nitrógeno ureico en sangre), electrolitos séricos (potasio, sodio, cloro, fosforo y calcio), ácido úrico y deshidrogenasa Láctica. Se realizó además, frotis de sangre periférica con tinción de Wright y se analizaron las características de las células periféricas con la búsqueda intencionada de blastos.

9.7.4 Estudios de gabinete

Se realizó radiografía de tórax postero-anterior y lateral en caso de presencia de masa mediastinal, tomografía de cráneo en caso de sospecha de sangrado intracraneal y resonancia magnética de cráneo en casos de sospecha de infiltración leucémica al SNC.

9.7.5 Inmunotipificación mediante Citometría de Flujo.

Se tomaron de 3 a 5 mL de M.O. ante la sospecha de LLA, la cual fue mezclada con anticoagulante y enviada a la Unidad de Patología en la ciudad de Guadalajara, de acuerdo a las indicaciones que el laboratorio recomienda para el procesamiento de la muestra.

9.8 Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva, que incluyen frecuencias y porcentajes.

9.9 Consideraciones éticas.

Los pacientes fueron incluidos sólo bajo el consentimiento de su padre o tutor. El médico a cargo les explico al inicio del tratamiento la necesidad de tomar estudios de los cuales la información podría ser utilizada para la investigación científica, esto sin dañar en ningún momento al paciente de forma moral, física o éticamente.

9.10 Recursos Físicos y Materiales

El Hospital Infantil de Morelia Eva Sámano de López Mateos se compone de un área física con las condiciones y equipamiento adecuados para el desarrollo de protocolo. Contamos con toda la infraestructura y reactivos para realizar las metodologías descritas en este proyecto.

10. RESULTADOS

Ingresaron a estudio 51 pacientes, del 1 de septiembre 2011 al 30 de noviembre al 30 noviembre del 2012. La distribución por sexo fue de 32 (63.7%) del sexo masculino y 19 (37.3%) del sexo femenino. Se encontró una relación masculino: femenino de 1.6:1. La distribución de los grupos etarios, de importancia pronostica fue; de 1 a 10 años; 37 (72.5%), mayores de 10 años y menores de 1 año; 14 (27.5%) pacientes, y menores de 1 año, no se analizó ningún caso. La media fue 6 años, con una moda de 3 años. (Ver Tabla 5)

Tabla 5. Distribución por sexo y por edad

Sexo	
Masculino	32 (62.7%)
Femenino	19 (37.3%)
Relación M:F	1.6:1
Edad	
	n(%)
< 1 año	0 (0%)
1 a 10 años	37 (72.5%)
>10 años	14 (27.5%)
Mediana	6 años
Moda	3 años

El índice de DNA se clasificó en cuatro grupos de acuerdo a la importancia pronostica. Índice de DNA <1; 1 (1.9%) paciente, 1; 42 (82.4%) pacientes, 1 a 1.15; 6 (7.7%) pacientes y >1.16 en 3 (5.9%) pacientes. La respuesta a esteroide; 38 (74.5%) pacientes fueron buenos respondedores y 13 (25.5%) pacientes presentaron mala respuesta. La cuenta de leucocitos; 40 (78.4 %) de los pacientes presento menos de 50 mil leucocitos al diagnóstico y 11 (21.6 %) pacientes tuvieron más de 50 mil leucocitos. En el Inmunofenotipo, la expresión del CD10; 40 (78.4%) pacientes, CD13; 5 (9.8%) pacientes y la expresión CD33; 6 (11.8%) pacientes. (Ver Tabla 6).

La infiltración primaria al SNC se presentó en 3 (5.9%) pacientes; el LCR fue Negativo en 48 (94.1%). Las características de los 3 pacientes con infiltración al sistema nervioso central fueron las siguientes: sexo masculino; 2 (66.6%) pacientes, femenino 1 (33.3%) paciente. La distribución por edad; 2 (66.6%) correspondieron al grupo etario de 1 a 10 años, y 1 (33.3%) mayores de 10 años y menores de 1 año. La cuenta de leucocitos al diagnóstico; los 3 pacientes presentaron un conteo menor de 50 mil leucocitos.

La expresión inmunofenotípica fue; CD10; 2(66.6%) positivos, CD13; 0 (0%) y CD33; 1 (33%) de los pacientes. (Ver Tabla 6) y (Tabla 7)

INFILTRACION PRIMARIA AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN PACIENTES CON LEUCEMIA
LINFOBLASICA AGUDA ESTIRPE B TRATADOS EN EL HOSPITAL INFANTIL DE MORELIA

Tabla 6. Características de importancia pronostica presentadas en el momento del diagnóstico.

CARACTERISTICA	n (%)
<u>SNC</u>	
Positivo	3 (5.9 %)
Negativo	48 (94.1 %)
<u>ESTEROIDE</u>	
Buena respuesta	38 (75.5 %)
Mala respuesta	13 (24.5 %)
<u>INDICE DNA</u>	
<1	1 (1.9 %)
1	42 (82.4 %)
1 - 1.15	6 (7.7 %)
>1.16	3 (5.9 %)
<u>LEUCOCITOS</u>	
Menor de 50 mil	40 (78.4 %)
Mayor de 50 mil	11 (21.6 %)
<u>CD 10</u>	
Positivo	40 (90 %)
Negativo	11 (10 %)
<u>CD 13</u>	
Positivo	5 (9.8 %)
Negativo	46 (90.2 %)
<u>CD 33</u>	
Positivo	6 (11.8 %)
Negativo	45 (88.2 %)

Tabla 7. Distribución por infiltración primaria al SNC

	SEXO		EDAD		RESPUESTA ESTEROIDEA		Índice de DNA				INMUNOHISTO QUÍMICA			LEUCOCITOS	
	M	F	1-10 ^a	>10a	Buena	Mala	<1	1	1--1.15	>1.16	CD 10	CD 13	CD 33	<50 MIL	>50 MIL
SNC POSITIVO	2	1	2	1	1	2	0	3	0	0	2	0	1	3	0
NEGATIVO	30	18	35	14	37	11	1	39	6	3	38	5	5	37	11

11. DISCUSIÓN

La LLA es la neoplasia maligna más frecuente en la población pediátrica, su alta incidencia en países desarrollados ha permitido incluir a miles de pacientes en protocolos de diversos grupos internacionales y generar el conocimiento que ha llevado a obtener tasas de supervivencia de 80%. Esta situación en nuestro país aún no se ha podido alcanzar debido a diferentes factores; uno de estos es el escaso conocimiento de las características, moleculares y de laboratorio, en los pacientes con leucemia en nuestra población.

En el estudio que se reporta, presentamos una muestra de 51 pacientes con leucemia, esto es una muestra adecuada para nuestra serie, ya que el Hospital Infantil de Morelia es en el estado de Michoacán, la única Institución que cuenta con la infraestructura completa para ofrecer el manejo integral del niño con cáncer, sin embargo no queda claro la representatividad de la muestra debido a que las instituciones de salud como el Instituto Mexicano del Seguro Social y el Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, también brindan servicios de atención en Michoacán y es posible que se realice el diagnóstico de leucemia en algunos pacientes y estos sean enviados a lugares de referencia fuera del estado.

El sexo masculino es el más frecuente en nuestro estudio, Pui et al público una relación 1.2:1 a favor del sexo masculino y Shuster et al encontró una relación 1.1:1 diferente a lo encontrado por nuestro grupo, probablemente debido a que a la muestra tomada es pequeña con 51 pacientes, diferente a Pui et al con 2055 pacientes y Shuster et al con 3317 pacientes.⁷⁷⁻⁷⁸

Los adolescentes en la muestra estudiada resulto similar a lo encontrado en la literatura mundial, la muestra encontrada es de 5 (27.5%) pacientes, comparado con lo publicado por Pui et al es de 20% es ligeramente mente mayor sin embargo en el estudio de Pui et al se contaron más de 900 pacientes, esto se debe de tomar en cuenta en el análisis.⁷⁹ La edad asociada a buen pronóstico de 1 a 10 años de edad encontrada fue igual a lo publicado por Schrappe por lo que no existe diferencias en esta variable.⁸⁰

La edad pico de incidencia es de 3 años, que resulto diferente en este grupo de pacientes, con una media de 6 años, probablemente afectada por que se observaron un mayor número de adolescentes afectados con la enfermedad.⁸³

Una variable clínica de importancia pronostica reconocida es la infiltración al SNC. En el presente estudio, fueron positivos 3 (5.9%) pacientes de 51; Hasegawa et al., (2012) reporta la infiltración al SNC en 4 (0.5%) de 754 pacientes en el estudio, de igual manera Te Loo et al., (2006) reporta 10 (1.9%) de 525 pacientes, Gajjar et al., (2000) reporta 16 (2.9%) de 546 pacientes⁸⁴⁻⁸⁵⁻⁸⁶⁻⁸⁷. Se encontró similar a lo reportado por Burger (2.8%)⁸¹ y Sirvent (2.4%). Estos autores reportan resultados

similares en una muestra de más de dos mil pacientes cada uno por lo que considerando que se trata de una muestra de 50 menores se deben interpretar con cautela ameritando mayor investigación en esta variable.⁸⁸⁻⁸⁹ Esto resulta similar a lo que nosotros reportamos, si bien el número de pacientes es menor.

La respuesta a la prefase esteroidea en nuestros pacientes resulto ser menor (74.5%) al esperado 90% encontrado por Schrappe y Morick.⁹⁰⁻⁹¹ El uso de fármacos genéricos intercambiables podría estar relacionado con estos resultados, pero es necesario mayor estudio.

El índice de DNA asociado a buen pronóstico resulto ser 5.9% en este grupo de pacientes, lo cual es diferente al 20 al 25% reportado por Paulsson. El índice de DNA es una característica propia de la célula leucémica por lo que es necesario continuar este tipo de investigaciones y conocer la biología de esta neoplasia en nuestra población.⁹²

La cuenta de leucocitos al diagnóstico, la expresión de CD10 y la coexpresión mieloide CD13 y CD33 resultaron similares a lo ya conocido por grupos cooperativos internacionales⁹³⁻⁹⁴⁻⁹⁵⁻⁹⁶ La cuenta de leucocitos actualmente continua siendo un factor pronóstico importante sobre el cual se basan los protocolos de tratamiento.⁸¹ Parecen existir diferencias en estas variables en nuestros pacientes.

12. CONCLUSIÓN

En este proyecto se analizaron 51 pacientes con diagnóstico de LLA de estirpe B tratados en el Hospital Infantil de Morelia Eva Sámano López Mateos el cual la infiltración primaria al sistema nervioso central positiva se presentó en 3 pacientes (5.9%) y SNC negativo fue de 48 (94.1%) pacientes. Los resultados obtenidos son similares a lo reportado en la literatura a nivel mundial, debido al bajo número de pacientes incluidos sugerimos realizar estudios con una muestra más amplia.

También, encontramos diferencias importantes para nuevos cuestionamientos y nuevas investigaciones a futuro, se demuestro que nuestra población presenta una mayor proporción con características de alto riesgo, que incluye una alta incidencia de LLA en adolescentes, un índice de DNA de buen pronóstico en un número menor de casos, y una respuesta esteroidea pobre más elevada.

El enfoque sugerido es analizar factores determinantes a nivel molecular y las características en nuestra población para nuevas interrogantes, así como también buscar y encontrar nuevos factores exógenos propios de nuestro grupo étnico en el estado de Michoacán, implicados en el génesis de la LLA, con finalidad de propiciar protocolos de tratamiento dirigidos hacia las características específicas de nuestra población.

13. REFERENCIAS

1. Shah A, Coleman MP: Increasing incidence of childhood leukaemia: a controversy re-examined. Br J Cancer 97 (7): 1009-12, 200
2. Abdullaev F, et al Pattern in Childhood Cancer Mortality in Mexico, Archives Medical Research 2000, 31: 526-631
3. Chessells JM. Recent advances in management of acute leukemia. Archives of Disease Childhood. 2000, 82; 438-442
4. Ries LA, Kosary CL, Hankey BF, et al., eds.: SEER Cancer Statistics Review, 1973-1996. Bethesda, Md: National Cancer Institute, 1999
5. Smith MA, Ries LA, Gurney JG, et al.: Leukemia. In: Ries LA, Smith MA, Gurney JG, et al., eds.: Cancer incidence and survival among children and adolescents: United States SEER Program 1975-1995. Bethesda, Md: National Cancer Institute, SEER Program, 1999. NIH Pub.No. 99-4649., pp 17-34.
6. Dores GM, Devesa SS, Curtis RE, et al.: Acute leukemia incidence and patient survival among children and adults in the United States, 2001-2007. Blood 119 (1): 34-43, 2012.
7. Stiller CA, Chessells JM, Fitchett M: Neurofibromatosis and childhood leukaemia/lymphoma: a population-based UKCCSG study. Br J Cancer 70 (5): 969-72, 1994.
8. Strevens MJ, Lilleyman JS, Williams RB: Shwachman's syndrome and acute lymphoblastic leukaemia. Br Med J 2 (6129): 18, 1978.

9. Woods WG, Roloff JS, Lukens JN, et al.: The occurrence of leukemia in patients with the Shwachman syndrome. *J Pediatr* 99 (3): 425-8, 1981.
10. Passarge E: Bloom's syndrome: the German experience. *Am J Genet* 34 (3-4): 179-97, 1991.
11. Taylor AM, Metcalfe JA, Thick J, et al.: Leukemia and lymphoma in ataxia telangiectasia. *Blood* (2) 423-38, 1996.
12. Pizzo PA, Poplack DG, et al. *Principles and Practice of Pediatric Oncology*, 5th Ed. Ch 19
13. Jan van Eys, Pullen J, The French American British Classification of Leukemia, The Pediatric Oncology Group Experience with Lymphocytic Leukaemia, *Cancer*, 1986, 57; 1046-1051.
14. Pieters R, Schrappe M, De Lorenzo P et al.: A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (interfant-99): An observational study and a multicenter randomized trial. *Lancet* 370 (9583) 240-50, 2007
15. Pui CH, Chessells JM, Camitta B, et al.: Clinical heterogeneity in childhood acute lymphoblastic leukemia with 11q23 rearrangements. *Leukemia* 17 (4): 700-6, 2003
16. Möricke A, Ratei R, Ludwig WD, et al.: Prognostic factors in CD10 negative precursor b-cell acute lymphoblastic leukemia in children: data from three consecutive trials ALL-BFM 86, 90, and 95. *Blood* 104 (11): A-1957, 540a, 2004.

17. Hunger SP: Chromosomal translocations involving the E2A gene in acute lymphoblastic leukemia: clinical features and molecular pathogenesis. *Blood* 87 (4): 1211-24, 1996.
18. Uckun FM, Sensel MG, Sather HN, et al.: Clinical significance of translocation t(1;19) in childhood acute lymphoblastic leukemia in the context of contemporary therapies: a report from the Children's Cancer Group. *J Clin Oncol* 16 (2): 527-35, 1998
19. Koehler M, Behm FG, Shuster J, et al.: Transitional pre-B-cell acute lymphoblastic leukemia of childhood is associated with favorable prognostic clinical features and an excellent outcome: a Pediatric Oncology Group study. *Leukemia* 7 (12): 2064-8, 1993
20. Moorman AV, Ensor HM, Richards SM, et al.: Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial. *Lancet Oncol* 11 (5): 429-38, 2010
21. Paulsson K, Johansson B: High hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 48 (8): 637-60, 2009.
22. Aricò M, Valsecchi MG, Rizzari C, 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* 26 (2): 283-9, 2008.
23. Synold TW, Relling MV, Boyett JM, et al.: Blast cell methotrexate-polyglutamate accumulation in vivo differs by lineage, ploidy, and

- methotrexate dose in acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Invest* 94 (5): 1996-2001, 1994
24. Raimondi SC, Zhou Y, Shurtleff SA, et al.: Near-triploidy and near-tetraploidy in childhood acute lymphoblastic leukemia: association with B-lineage blast cells carrying the ETV6-RUNX1 fusion, T-lineage immunophenotype, and favorable outcome. *Cancer Genet Cytogenet* 169 (1): 50-7, 2006.
25. Nachman JB, Heerema NA, Sather H, et al.: Outcome of treatment in children with hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 110 (4): 1112-5, 2007
26. Rubnitz JE, Wichlan D, Devidas M, et al.: Prospective analysis of TEL gene rearrangements in childhood acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group study. *J Clin Oncol* 26 (13): 2186-91, 2008.
27. Kanerva J, Saarinen-Pihkala UM, Niini T, et al.: Favorable outcome in 20-year follow-up of children with very-low-risk ALL and minimal standard therapy, with special reference to TEL-AML1 fusion. *Pediatr Blood Cancer* 42 (1): 30-5, 2004.
28. Aldrich MC, Zhang L, Wiemels JL, et al.: Cytogenetics of Hispanic and White children with acute lymphoblastic leukemia in California. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15 (3): 578-81, 2006
29. Aricò M, Valsecchi MG, Camitta B, et al.: Outcome of treatment in children with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 342 (14): 998-1006, 2000.
30. Schrappe M, Aricò M, Harbott J, et al.: Philadelphia chromosome-positive (Ph+) childhood acute lymphoblastic leukemia: good initial steroid response

- allows early prediction of a favorable treatment outcome. *Blood* 92 (8): 2730-41, 1998.
31. Ribeiro RC, Broniscer A, Rivera GK, et al.: Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia in children: durable responses to chemotherapy associated with low initial white blood cell counts. *Leukemia* 11 (9): 1493-6, 1997.
32. Pui CH, Chessells JM, Camitta B, et al.: Clinical heterogeneity in childhood acute lymphoblastic leukemia with 11q23 rearrangements. *Leukemia* 17 (4): 700-6, 2003
33. Johansson B, Moorman AV, Haas OA, et al.: Hematologic malignancies with t(4;11)(q21;q23)--a cytogenetic, morphologic, immunophenotypic and clinical study of 183 cases. European 11q23 Workshop participants. *Leukemia* 12 (5): 779-87, 1998.
34. Raimondi SC, Peiper SC, Kitchingman GR, et al.: Childhood acute lymphoblastic leukemia with chromosomal breakpoints at 11q23. *Blood* 73 (6): 1627-34, 1989.
35. Harrison CJ, Moorman AV, Barber KE, et al.: Interphase molecular cytogenetic screening for chromosomal abnormalities of prognostic significance in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a UK Cancer Cytogenetics Group Study. *Br J Haematol* 129 (4): 520-30, 2005
36. Hunger SP: Chromosomal translocations involving the E2A gene in acute lymphoblastic leukemia: clinical features and molecular pathogenesis. *Blood* 87 (4): 1211-24, 1996.

37. Uckun FM, Sensel MG, Sather HN, et al.: Clinical significance of translocation t(1;19) in childhood acute lymphoblastic leukemia in the context of contemporary therapies: a report from the Children's Cancer Group. J Clin Oncol 16 (2): 527-35, 1998
38. Sinigaglia R, Gigante C, Bisinella G, et al: Musculoskeletal manifestations in Pediatric Acute Leukemia, Journal of Pediatric Orthopedics 2008;28:20-28.
39. Smith M, Arthur D, Camitta B, et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. Journal of clinical Oncology 1996; 14:18-24.
40. Hoffman; Hematology: Basic Principles and Practice of Pediatric Oncology, 5h Ed. Ch 19.
41. Pizzo PA, Poplack DG, et al. Principles and Practice of Pediatric Oncology, 5th Ed. Ch 19.
42. Pui CH, Dodge Rk, Dahl GV et al Serum Lactic Dehydrogenase level has prognostic value in childhood acute lymphoblastic leukemia, Blood, 1985, 66:778-782.
43. Smith M, Arthur D, Camitta B, et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. Journal of clinical Oncology 1996; 14:18-24.
44. Möricke A, Zimmermann M, Reiter A, et al.: Prognostic impact of age in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia: data from the trials ALL-BFM 86, 90, and 95. Klin Padiatr 217 (6): 310-20, 2005 Nov-Dec.

45. Reaman GH, Sposto R, Sensel MG, et al.: Treatment outcome and prognostic factors for infants with acute lymphoblastic leukemia treated on two consecutive trials of the Children's Cancer Group. *J Clin Oncol* 17 (2): 445-55, 1999.
46. Kosaka Y, Koh K, Kinukawa N, et al.: Infant acute lymphoblastic leukemia with MLL gene rearrangements: outcome following intensive chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 104 (12): 3527-34, 2004.
47. Pieters R, Schrappe M, De Lorenzo P et al.: A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (interfant-99): An observational study and a multicenter randomized trial. *Lancet* 370 (9583) 240-50, 2007
48. Hilden JM, Dinndorf PA, Meerbaum SO, et al.: Analysis of prognostic factors of acute lymphoblastic leukemia in infants: report on CCG 1953 from the Children's Oncology Group. *Blood* 108 (2): 441-51, 2006.
49. Isoyama K, Eguchi M, Hibi S, et al.: Risk-directed treatment of infant acute lymphoblastic leukaemia based on early assessment of MLL gene status: results of the Japan Infant Leukaemia Study (MLL96). *Br J Haematol* 118 (4): 999-1010, 2002.
50. Nagayama J, Tomizawa D, Koh K, et al.: Infants with acute lymphoblastic leukemia and a germline MLL gene are highly curable with use of chemotherapy alone: results from the Japan Infant Leukemia Study Group. *Blood* 107 (12): 4663-5, 2006.

51. Schrappe M, Reiter A, Ludwig WD, et al.: Improved outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia despite reduced use of anthracyclines and cranial radiotherapy: results of trial ALL-BFM 90. German-Austrian-Swiss ALL-BFM Study Group. *Blood* 95 (11): 3310-22, 2000.
52. Forestier E, Schmiegelow K; on behalf of the Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology NOPHO.: The incidence peaks of the childhood acute leukemias reflect specific cytogenetic aberrations. *J Pediatr Hematol Oncol* 28 (8): 486-95, 2006
53. Nachman JB, La MK, Hunger SP, et al.: Young adults with acute lymphoblastic leukemia have an excellent outcome with chemotherapy alone and benefit from intensive postinduction treatment: a report from the children's oncology group. *J Clin Oncol* 27 (31): 5189-94, 2009.
54. Pulte D, Gondos A, Brenner H: Improvement in survival in younger patients with acute lymphoblastic leukemia from the 1980s to the early 21st century. *Blood* 113 (7): 1408-11, 2009.
55. Pui CH, Pei D, Campana D, et al.: Improved prognosis for older adolescents with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 29 (4): 386-91, 2011.
56. de Bont JM, Holt B, Dekker AW, et al.: Significant difference in outcome for adolescents with acute lymphoblastic leukemia treated on pediatric vs adult protocols in the Netherlands. *Leukemia* 18 (12): 2032-5, 2004.
57. Boissel N, Auclerc MF, Lhéritier V, et al.: Should adolescents with acute lymphoblastic leukemia be treated as old children or young adults?

- Comparison of the French FRALLE-93 and LALA-94 trials. *J Clin Oncol* 21 (5): 774-80, 2003.
58. Stock W, La M, Sanford B, et al.: What determines the outcomes for adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia treated on cooperative group protocols? *J Clin Oncol* 27 (31): 5189-94, 2009.
59. Smith M, Arthur D, Camitta B, et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *Journal of clinical Oncology* 1996; 14:18-24.
60. Pui CH, Boyett JM, Relling MV, et al.: Sex differences in prognosis children with acute lymphoblastic leukaemia. *J Clin Oncol* 17 (3): 818-24, 1999
61. Shuster JJ, Wacker P, Pullen J, et al.: Prognostic significance of sex in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 16 (8): 2854-63, 1998.
62. Chessells JM, Richards SM, Bailey CC, et al.: Gender and treatment outcome in childhood lymphoblastic leukaemia: report from the MRC UKALL trials. *Br J Haematol* 89 (2) 364-72, 1995.
63. Bürger B, Zimmermann M, Mann G, et al.: Diagnostic cerebrospinal fluid examination in children with acute lymphoblastic leukemia: significance of low leukocyte counts with blasts or traumatic lumbar puncture. *J Clin Oncol* 21 (2): 184-8, 2003.

64. Hijiya N, Liu W, Sandlund JT, et al.: Overt testicular disease at diagnosis of childhood acute lymphoblastic leukemia: lack of therapeutic role of local irradiation. *Leukemia* 19 (8): 1399-403, 2005.
65. Sirvent N, Suciú S, Bertrand Y, et al.: Overt testicular disease (OTD) at diagnosis is not associated with a poor prognosis in childhood acute lymphoblastic leukaemia: results of the EORTC CLG study 58881. *Pediatr Blood Cancer* 49 (3): 344-8, 2007.
66. Bhatia S: Influence of race and socioeconomic status on outcome of children treated for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Curr Opin Pediatr* 16 (1): 9-14, 2004.
67. Kadan-Lottick NS, Ness KK, Bhatia S, et al.: Survival variability by race and ethnicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *JAMA* 290 (15): 2008-14, 2003. [PUBMED Abstract]
68. Pui CH, Sandlund JT, Pei D, et al.: Results of therapy for acute lymphoblastic leukemia in black and white children. *JAMA* 290 (15): 2001-7, 2003
69. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al., eds.: *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th ed. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2008
70. Borkhardt A, Cazzaniga G, et al: Incidence and clinical relevance of TEL-AML1 fusion genes in children with acute lymphoblastic leukemia enrolled in the German and Italian Multicenter Therapy Trials, *Blood* 90 (2): 571-577, 1997.

71. Ribeiro RC, Broniscer A, Rivera GK, et al: Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia in children: durable responses to chemotherapy associated with low initial White blood cells count. *Leukemia* 11(9): 1493-1496, 1997.
72. Pui CH, Frankel LS, et al: Clinical characteristics and treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia with the t(4;11)(q21q23): a collaborative study of 40 cases. *Blood* 77(3): 440-447, 1991.
73. Crist WM, Carroll AJ, et al: Poor prognosis of children with preB acute lymphoblastic leukemia is associated with the t(1;19)(q23;p13): a Pediatric Oncology Group study. *Blood* 76(1): 117-122, 1990.
74. Zhou J, Goldwasser MA, Li A, et al.: Quantitative analysis of minimal residual disease predicts relapse in children with B-lineage acute lymphoblastic leukemia in DFCI ALL Consortium Protocol 95-01. *Blood* 110 (5): 1607-11, 2007
75. Coustan-Smith E, Sancho J, Hancock ML, et al.: Use of peripheral blood instead of bone marrow to monitor residual disease in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 100 (7): 2399-402, 2002.
76. Yamaji K, Okamoto T, Yokota S, et al.: Minimal residual disease-based augmented therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Japanese Childhood Cancer and Leukemia Study Group. *Pediatr Blood Cancer* 55 (7): 1287-95, 2010.

77. Pui CH, Boyett JM, Relling MV, et al.: Sex differences in prognosis for children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 17 (3): 818-24, 1999.
78. Shuster JJ, Wacker P, Pullen J, et al.: Prognostic significance of sex in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 16 (8): 2854-63, 1998
79. Pui CH, Pei D, Campana D, et al.: Improved prognosis for older adolescents with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 29 (4): 386-91, 2011.
80. Schrappe M, Reiter A, Ludwig WD, et al.: Improved outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia despite reduced use of anthracyclines and cranial radiotherapy: results of trial ALL-BFM 90. German-Austrian-Swiss ALL-BFM Study Group. *Blood* 95 (11): 3310-22, 2000
81. Pieters R, Schrappe M, De Lorenzo P et al.: A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (interfant-99): An observational study and a multicenter randomized trial. *Lancet* 370 (9583) 240-50, 2007
82. Hilden JM, Dinndorf PA, Meerbaum SO, et al.: Analysis of prognostic factors of acute lymphoblastic leukemia in infants: report on CCG 1953 from the Children's Oncology Group. *Blood* 108 (2): 441-51, 2006.
83. Ries LA, Kosary CL, Hankey BF, et al., eds.: SEER Cancer Statistics Review, 1973-1996. Bethesda, Md: National Cancer Institute, 1999
84. Gajjar A, Harrison PL, Sandlund JT, Rivera GK, Ribeiro RC, Rubnitz JE, et al. Traumatic lumbar puncture at diagnosis adversely affects outcome in

childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*.2000;96(10):3381–3384.

Comment in: *Blood*. 2001; 98 (12): 3496- 3497

85. . Te Loo DM, Kamps WA, van der Does-van den Berg A, van Wering ER, de Graaf SS, Dutch Childhood Oncology Group Prognostic significance of blasts in the cerebrospinal fluid without pleiocytosis or a traumatic lumbar puncture in children with acute lymphoblastic leukemia: experience of the Dutch Childhood Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2006;24(15):2332–2336
86. Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Kikuchi A, Koh K, Kiyokawa N, Fukushima T, Ishida Y, Saito T, Hanada R, Tsuchida M, Tokyo Children's Cancer Study Group The utility of performing the initial lumbar puncture on day 8 in remission induction therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: TCCSG L99-15 Study. *Pediatr Blood Cancer*. 2012;58(1):23–30.
87. Cancela, C. S. P., Murao, M., Viana, M. B., & de Oliveira, B. M. (2012). Incidence and risk factors for central nervous system relapse in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia. *Revista Brasileira de Hematologia E Hemoterapia*, 34(6), 436–441. doi:10.5581/1516-8484.20120109
88. Bürger B, Zimmermann M, Mann G, et al.: Diagnostic cerebrospinal fluid examination in children with acute lymphoblastic leukemia: significance of low leukocyte counts with blasts or traumatic lumbar puncture. *J Clin Oncol* 21 (2): 184-8, 2003.

89. Sirvent N, Suciú S, Riolland X, et al.: Prognostic significance of the initial cerebro-spinal fluid (CSF) involvement of children with acute lymphoblastic leukaemia (ALL) treated without cranial irradiation: results of European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Children Leukemia Group study 58881. *Eur J Cancer* 47 (2): 239-47, 2011
90. Schrappe M, Reiter A, Ludwig WD, et al.: Improved outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia despite reduced use of anthracyclines and cranial radiotherapy: results of trial ALL-BFM 90. German-Austrian-Swiss ALL-BFM Study Group. *Blood* 95 (11): 3310-22, 2000.
91. Mörícke A, Reiter A, Zimmermann 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* 111 (9): 4477-89, 2008
92. Paulsson K, Johansson B: High hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 48 (8): 637-60, 2009.
93. Smith M, Arthur D, Camitta B, et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. *Journal of clinical Oncology* 1996; 14:18-24.
94. Pieters R, Schrappe M, De Lorenzo P et al.: A treatment protocol for infants younger than 1 year with acute lymphoblastic leukaemia (interfant-99): An observational study and a multicenter randomized trial. *Lancet* 370 (9583) 240-50, 2007

95. Pui CH, Rubnitz JE, Hancock ML, et al.: Reappraisal of the clinical and biologic significance of myeloid-associated antigen expression in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 16 (12): 3768-73, 1998
96. Uckun FM, Sather HN, Gaynon PS, et al.: Clinical features and treatment outcome of children with myeloid antigen positive acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Cancer Group. *Blood* 90 (1): 28-35, 1997.