



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Tecnología Médica

**Frecuencia del marcador CD56 en pacientes  
diagnosticados con leucemia mieloide aguda en el  
Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas en el  
periodo 2014 - 2016**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología  
Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

**AUTOR**

César Ricardo PONCE JÁUREGUI

**ASESOR**

Lic. Ricardo Mafalky RODRIGUEZ TORRES

Lima, Perú

2018

"FRECUENCIA DEL MARCADOR CD56 EN PACIENTES  
DIAGNOSTICADOS CON LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA EN  
EL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES  
NEOPLÁSICAS EN EL PERIODO 2014 – 2016"

AUTOR: CÉSAR RICARDO PONCE JÁUREGUI

ASESOR: Lic. RICARDO M. RODRIGUEZ TORRES

COASESORES: M.C. JUDITH VIDAL AYLLON

Lic. JULIA MOYA NARANJO

M.C. DANIEL ENRIQUEZ VERA

M.C. MABEL AUCCA VITORINO

## DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a mi familia, en especial a mi abuela.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, a mi familia, al Lic. Ricardo Rodríguez, al Equipo Funcional de Citometría de Flujo del INEN y a la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por esta grata experiencia en el campo de la investigación.

# INDICE

|  |    |
|--|----|
| <b>CAPÍTULO I</b> .....  | 1  |
| <b>INTRODUCCIÓN</b> .....  | 1  |
| <b>1.1 DESCRIPCIÓN DE LOS ANTECEDENTES</b> .....                   | 2  |
| <b>1.2 IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....                   | 4  |
| <b>1.3 OBJETIVOS</b> .....   | 6  |
| <b>1.3.1 OBJETIVO GENERAL</b> .....                                | 6  |
| <b>1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....                           | 6  |
| <b>1.4 BASES TEÓRICAS</b> .....                                    | 6  |
| <b>1.4.1 BASE TEÓRICA</b> .....                                    | 6  |
| <b>CAPÍTULO II</b> .....   | 13 |
| <b>MÉTODOS</b> .....   | 13 |
| <b>2.1 DISEÑO METODOLÓGICO</b> .....                               | 14 |
| <b>2.2 DISEÑO METODOLÓGICO</b> .....                               | 14 |
| <b>2.2.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN</b> .....                           | 14 |
| <b>2.2.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....                      | 14 |
| <b>2.2.3 MUESTRA Y MUESTREO</b> .....                              | 14 |
| <b>2.2.3.1 CRITERIO DE INCLUSIÓN</b> .....                         | 14 |
| <b>2.2.3.2 CRITERIO DE EXCLUSIÓN</b> .....                         | 14 |
| <b>2.2.4 VARIABLES</b> .....                                       | 15 |
| <b>2.2.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS</b> ..... | 15 |
| <b>CAPÍTULO III</b> .....  | 16 |
| <b>RESULTADOS</b> .....  | 16 |
| <b>CAPÍTULO IV</b> .....   | 29 |
| <b>DISCUSIÓN</b> .....   | 29 |
| <b>CAPÍTULO V</b> .....  | 33 |
| <b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....                        | 33 |
| <b>4.1. CONCLUSIONES</b> .....                                     | 34 |
| <b>4.2. RECOMENDACIONES</b> .....                                  | 34 |
| <b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....                            | 35 |
| <b>ANEXOS</b> .....  | 44 |

## Resumen

**INTRODUCCIÓN:** El antígeno CD56, es una glicoproteína de superficie celular, identificada como molécula de adhesión. Su aparición en varias neoplasias hematopoyéticas incluyendo las leucemias mieloides agudas (LMA), influyen en el tratamiento y pronóstico de la enfermedad de los pacientes. La expresión del CD56 en LMA alcanza entre 20-30% de casos, asociándose a un mal pronóstico y a su relación directa e indirecta a alteraciones genéticas, siendo importante conocer la frecuencia del CD56 en LMA.

**OBJETIVO:** Determinar la frecuencia del marcador CD56 en pacientes con diagnóstico LMA *de novo*, Laboratorio de Citometría de Flujo, INEN en el periodo 2014 - 2016.

**DISEÑO MÉTODOLÓGICO:** Estudio retrospectivo, donde se evaluaron 124 casos de LMA *de novo*, con estudio del antígeno CD56, clasificados por criterios FAB usando la morfología, citogenética, inmunofenotipo y biología molecular en el INEN, periodo 2014 – 2016.

**RESULTADOS:** La expresión del CD56 fue demostrado en 34 casos (27%). Se halló mayor frecuencia en sexo femenino y en el intervalo de 30-59 años (21 casos, 17%). Los subtipos M2 (9%) y M3 (8%) fueron los más frecuentes. Los resultados de LMA CD56+ no evidenciaron correlación entre la expresión con el conteo de neutrófilos, leucocitos, plaquetas, blastos en sangre periférica y blastos en médula ósea. La expresión de CD56, se evidenció con frecuencia ante la presencia del gen PML/RARa (25%) y en el grupo de riesgo favorable. No se evaluó la asociación entre el cariotipo y la aparición del CD56 por poca cantidad de datos. La Enfermedad Mínima Residual (EMR) por citometría no demostró diferencia significativa entre los grupos, CD56+ y CD56- (IC 95%: 0.565-1.823). En cuanto a la respuesta a la inducción por citomorfología, tampoco se halló diferencia en ambos grupos (IC 95%: 0.434-1.590).

**CONCLUSIONES:** Se determinó que la frecuencia del marcador CD56 en pacientes diagnosticados con LMA *de novo* en el periodo 2014-2016 fue del 27%, siendo más frecuente el subtipo M2 (9%). Adicionalmente, la mayoría de casos CD56+ presentan el gen PML/RARa y son de riesgo favorable sin asociación con algún pronóstico adverso. Al evaluar la respuesta a la inducción según citomorfología y EMR por Citometría de Flujo, no demostró diferencias entre ambos grupos CD56. Cabe resaltar que la expresión del CD56 no influyó en la supervivencia promedio de LMA no-LPA.

**Palabras clave:** CD56, LMA, Frecuencia, Inmunofenotipo, Citometría de flujo.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** CD56 antigen is a cell surface glycoprotein, identified as an adhesion molecule. Its appearance in several hematopoietic neoplasms, including acute myeloid leukemia (AML), influences the treatment and prognosis of patients' disease. The expression of CD56 in AML reaches between 20-30% of cases, being associated with a poor prognosis and its direct and indirect relationship to genetic alterations, being important to know the frequency of CD56 in AML.

**OBJECTIVE:** Determine the frequency of CD56 marker in patients with AML *de novo* diagnosis en el Flow Cytometry Laboratory at INEN in the period 2014-2016.

**METHODOLOGICAL DESIGN:** Retrospective study, where 124 cases of *de novo* AML were evaluated, with study of the CD56 antigen, FAB using the morphology, cytogenetics, immunophenotype and molecular biology at INEN, period 2014 - 2016.

**RESULTS:** The expression of CD56 was shown in 34 cases (27%). It was found more frequently in females and in the range of 30-59 years (21 cases, 17%). The M2 (9%) and M3 (8%) subtypes were the most frequent. The results of AML CD56+ proved no correlation between expression and the content of neutrophils, leukocytes, platelets, blasts in peripheral blood and blasts in bone marrow. CD56 expression was frequently seen in the presence of PML/RARa gene (25%) and in the favorable risk group. The association between the karyotype and the appearance of CD56 due to a small amount of data was not evaluated. Minimum Residual Disease (EMR) by cytometry showed no significant difference between the groups, CD56 + and CD56- (95% CI: 0.565-1.823). Regarding the response to induction by cytomorphology, no difference was found in both groups (95% CI: 0.434-1.590).

**CONCLUSIONS:** It was determined that the frequency of the CD56 marker in diagnostic patients with *de novo* AML in the 2014-2016 period was 27%, M2 subtype being more frequent (9%). In addition, most CD56+ cases present PML/RARa gene and are at favorable risk without association with any adverse prognosis. Finally, the evaluation of the response to induction according to cytomorphology and EMR by Flow Cytometry, it did not show differences between both CD56 groups. It should be noted that the expression of CD56 did not influence the average survival of AML non-APL.

**Key words:** CD56, AML, Frequency, immunophenotype, flow cytometry.

**CAPÍTULO I**  
**INTRODUCCIÓN**

## 1.1 DESCRIPCIÓN DE LOS ANTECEDENTES

La Leucemia es una enfermedad resultado de la proliferación neoplásica de las células hematopoyéticas, asociado generalmente, a alteraciones genéticas, contribuyendo de esta manera a una transformación maligna de las células, una serie de mutaciones que pueden progresivamente empeorar el pronóstico de la enfermedad. Generalmente, la leucemia se caracteriza por el aumento permanente, anormal y desordenado de la cantidad de leucocitos, por lo que con el desarrollo de la enfermedad el individuo pierde las defensas de su cuerpo haciéndolo susceptible a infecciones, impidiendo a su vez el desarrollo normal de células progenitoras de la sangre, y consecuentemente provoca que la persona afectada presente cuadro de anemia y trombocitopenia. Mayormente, las leucemias agudas son divididas en Leucemia linfocítica aguda (LLA) y Leucemias mieloides agudas <sup>(1)</sup>.

Las Leucemias Mieloides Agudas (LMA) son un grupo heterogéneo de enfermedades que corresponden a la proliferación desordenada de forma permanente y anormal de una clona de células hematopoyéticas, lo que conduce a una sobreproducción de células incapaces de diferenciarse, madurar y/o funcionar normalmente, desencadenando una invasión de células inmaduras en la médula ósea, con la consecuente falta de glóbulos rojos y plaquetas, concluyendo en que el paciente afectado quede expuesto a un gran número de procesos patológicos, sin posibilidad de que el organismo pueda defenderse adecuadamente. Las LMA son el tipo de leucemia aguda más común que afecta a las personas adultas, siendo los adultos mayores, quienes tienen mayor probabilidad de presentarla. El promedio de edad en el diagnóstico de las LMA es de 65 años, siendo menos frecuente en menores de 45 años; por ende, se colige que su incidencia aumenta con la edad <sup>(3,18)</sup>. La mayoría de pacientes diagnosticados no presentan un evento desencadenante claro, se asocia a diferentes factores de riesgo, como tabaco, exposición a agentes químicos, alteraciones genéticas, antecedentes familiares, sexo, entre otros. Las LMA pueden ser clasificadas como desórdenes los cuales se presentan con diferentes características morfológicas, de inmunofenotipo y patrones citogenético - moleculares.

El primer paso para el diagnóstico de las LMA, es la enumeración de las células blásticas y la examinación de sus características citológicas. La identificación de las propiedades

citoquímicas de los blastos también se usa como una información complementaria, siendo de mayor importancia la determinación de la enzima mieloperoxidasa y la presencia de la esterasa no-específica <sup>(2,40)</sup>. Para los casos que haya una gran proliferación, el análisis del cariotipo provee información adicional importante mostrando las anormalidades específicas del cromosoma. En los casos que suceda que no haya células metafásicas, las pruebas moleculares van a ser útiles para la determinación específica de aberraciones cromosómicas; sin embargo, no todos los laboratorios cuentan con los equipos necesarios para las pruebas moleculares.

Con el apoyo del estudio inmunofenotípico se provee de forma rápida los resultados y además de ser beneficioso para orientar en el diagnóstico de acuerdo al subtipo de LMA <sup>(40)</sup>. Si bien el inmunofenotipo es una herramienta útil para el diagnóstico de LMA, no se le considera como prueba confirmatoria. No obstante es una prueba favorable para evaluar el valor pronóstico, en algunos casos pueden elevar la sospecha de aberraciones cromosómicas y los datos inmunofenotípicos pueden utilizarse para decidir si deben realizarse investigaciones moleculares complementarias.

Varios estudios <sup>(9-16)</sup> informaron la correlación entre inmunofenotipo, morfología, patrón citogenético y el resultado clínico del paciente. El inmunofenotipo a través de la Citometría de Flujo (CMF), es una herramienta importante para el diagnóstico de leucemias. La CMF permite diferenciar entre las células inmaduras y el componente celular normal presentes al mismo tiempo en una muestra y separar este último del análisis fenotípico.

En las LMA, el inmunofenotipo es de gran utilidad dándonos características propias de este tipo de leucemia, marcadores como HLD-R, MPO, CD13, CD33, CD117, CD64, entre otros. Sin embargo, la infidelidad de linaje o coexpresión de antígenos asociados a otras estirpes, está relacionada fuertemente a una expresión citogenética aberrante; la aparición de un antígeno asociado a otro linaje sería causado por una anormalidad genética <sup>(5,6)</sup>. Estudios han abordado el papel de la expresión del CD56 en neoplasias hematológicas, siendo un factor importante en cuanto a diagnóstico y tratamiento <sup>(13,14,15)</sup>. El pronóstico referente a la expresión de este marcador es aun controversial: Shereen El Shobarbagy et al. (2014) <sup>(47)</sup>, demostró que la expresión del CD56 al momento del diagnóstico es asociado a un mal pronóstico en las LMA y la aparición sola de este marcador evidenciaría una tasa de remisión

completamente baja y un corto periodo de sobrevivencia. Raspadori et al. (2001) <sup>(38)</sup>, encontró que la expresión de la CD56 fue asociado a una baja tasa de remisión (**Ver anexo 2**). Por el contrario, Chang et al. (2003) <sup>(53)</sup>, demostró que la tasa de remisión completa (RC) no está asociado con la expresión del CD56.

Por estos motivos, es importante el estudio del CD56 en las LMA, debido a que este marcador alcanza un 15 a 20 % del total de casos de LMA a nivel mundial <sup>(38,46)</sup>. Inclusive, las LMA que son consideradas de bajo riesgo ante la aparición del CD56, podría influenciar negativamente en la remisión y la supervivencia del paciente.

Según lo descrito anteriormente, se planteó el siguiente problema: ¿Cuál es la frecuencia del marcador CD56 en pacientes diagnosticados con Leucemia Mieloide Aguda (LMA) en el Laboratorio de Citometría de Flujo del INEN en el periodo 2014 - 2016?

## **1.2 IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN**

Estudios sobre el valor pronóstico del CD56 en LMA son relativamente recientes y un número de asociaciones clínicas han sido encontradas en la literatura <sup>(15,47)</sup>. Los antecedentes han demostrado una severidad en cuanto al progreso de estas leucemias siendo de importancia clínica e incluyéndose en los exámenes de pacientes con LMA. Esta investigación muestra la frecuencia del CD56 en los pacientes con LMA, debido a que varias publicaciones <sup>(9-16)</sup> reportan una frecuencia del 20-30% y con pronóstico desfavorable.

En el Perú, El Instituto de Enfermedades Neoplásicas (INEN) busca a través de la investigación hallar un diagnóstico óptimo, oportuno y un tratamiento certero contra el cáncer, siendo importante conocer el impacto del CD56 en las LMA. Con la finalidad de mejorar el diagnóstico de las neoplasias hematológicas, el Servicio de Citometría de Flujo ha realizado mejoras a nivel instrumental, cambiando la tecnología de un equipo analógico FACSCalibur a uno digital FACSCanto II. El empleo del *software* *Infinicyt*, el cual ayuda a la mejora del análisis e interpretación de datos; y estandarización de protocolos acompañado con suficiente cantidad de reactivos para el diagnóstico de LMA. Siendo a fines del 2013 que se logran implementar todas las modificaciones, y es a partir del 2014 que todo el sistema está operativo, de tal forma que se pudo la investigación.

Para el médico tratante, es importante conocer sobre el impacto de este marcador, debido a la relación directa e indirecta a alteraciones genéticas <sup>(39)</sup>. Así podemos conocer cuáles son los factores de riesgo que aquejan a nuestra población en general. De esta manera, pudiendo el médico dar un mejor tratamiento hacia el paciente con LMA con CD56+. Establecer la frecuencia del marcador CD56, permite dar un valor pronóstico que mejore la aplicación de métodos terapéuticos en los pacientes con factores de alto riesgo, así reducir la cantidad de quimioterapias y minimizando el efecto de los medicamentos <sup>(46)</sup>. El estudio es conveniente porque pretende incrementar los conocimientos asociados con esta patología, frecuencia, asociación con la edad y sexo, asociar el pronóstico con la patología y de esta forma contar con estadísticas propias que nos ayuden a mejorar en la toma de decisiones hacia el tratamiento adecuado.

En nuestro país son escasos los estudios relacionados a la Infidelidad de Linaje en el inmunofenotipo de LMA, la cual se define como una mala programación en la diferenciación de leucemias, consecuentemente se produce una coexpresión de antígenos, o sea marcadores pertenecientes a la línea y uno o dos marcadores que pertenecen a otro tipo de línea <sup>(42)</sup>; sobre todo aquella información relacionada a la presencia del CD56, por lo que se hizo necesario esta investigación.

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar la frecuencia del marcador CD56 en pacientes diagnosticados con Leucemia Mieloide Aguda (LMA) en el Laboratorio de Citometría de Flujo del INEN en el periodo 2014 - 2016.

### **1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la asociación entre CD56+ según la edad y el sexo en LMA.
- Determinar la asociación entre el CD56 y anomalías citogenéticas.
- Evaluar la respuesta a la inducción según citomorfología y enfermedad mínima residual según la Citometría de Flujo.

## **1.4 BASES TEÓRICAS**

### **1.4.1 BASE TEÓRICA**

#### **LEUCEMIAS MIELOIDES AGUDAS (LMA)**

La Leucemia es una neoplasia de la médula ósea y la sangre. Comúnmente, las leucemias agudas son divididas: LMA y LLA <sup>(18)</sup>. Las LMA, son neoplasias que resultan de una proliferación clonal de células precursoras hematopoyéticas anormales que infiltran la médula ósea y en ocasiones, diferentes órganos y/o sistemas causando la muerte. Las consecuencias clínicas son: síndrome anémico, infeccioso y hemorrágico <sup>(18)</sup>. **(Ver anexo N° 1)**

A nivel mundial, la incidencia de nuevos casos es de 1.5 a 3 por 100.000 individuos por año, siendo más común en personas adultas. Los adultos mayores tienen más probabilidades de presentar LMA elevándose hasta 10 casos por 100.000 individuos <sup>(18)</sup>. En el Perú, cada año fallecen 1350 personas por leucemia, lo que corresponde a 4-5 defunciones por cada 100.000, así en el 2012 llegó a ser el cáncer con mayor carga

a nivel nacional superando al cáncer de estómago <sup>(19)</sup>. En relación al sexo, los hombres presentan mayor incidencia de leucemias que las mujeres, según datos estadísticos reportados en el INEN, en el periodo 2006-2015 <sup>(20)</sup>.

La mayoría de los pacientes que sufren de LMA no presentan un desencadenante claro, solo se conocen una serie de factores de riesgo. Los factores de riesgo que se relacionan con LMA son:

- **Género:** La mayor incidencia de padecer LMA se encuentra en hombres, pero actualmente se desconocen las razones. <sup>(21)</sup>
- **Antecedentes familiares:** Aún no se ha encontrado relación entre LMA y los antecedentes familiares. Sólo se ha evidenciado un caso de gemelos idénticos, donde uno de ellos desarrolló LMA en el primer año de vida, sugiriendo un aumento en la probabilidad de que su gemelo la padezca. <sup>(21)</sup>
- **Tabaco:** No se le ha ligado directamente como un factor de riesgo de LMA, pero aumentaría el riesgo de desarrollar cáncer. <sup>(21)</sup>
- **Agentes químicos:** Sustancias químicas similares al benceno, se encuentran actualmente presentes en algunos pegamentos, detergentes y productos de limpieza. Si bien se ha estudiado estas sustancias químicas para encontrar relación con el entorno de trabajo, aún no se han obtenido resultados contundentes de si esta exposición a estos químicos produce leucemia <sup>(21)</sup>.
- **Tratamiento previo para el cáncer:** Generalmente para el tratamiento del cáncer se emplea la quimioterapia, la cual contiene diferentes tipos de drogas que son relacionadas con un aumento al riesgo de desarrollar una LMA. <sup>(21)</sup>
- **Síndromes genéticos:** Síndromes relacionados a alteraciones genéticas tales como el síndrome de Down y la trisomía 8, incrementan el riesgo de desarrollar LMA. Enfermedades congénitas como la anemia de Fanconi, la ataxia telangiectasia, los síndromes de Bloom, Blackfan-Diamond, Wiskot-Aldrich, Schwachman, Li-Fraumeni, Kostmann, la neurofibromatosis o la neutropenia

congénita severa; causan efectos irreparables en la reparación del material de los genes, de esta manera aumentando el riesgo de LMA. <sup>(21)</sup>

En la actualidad se usan 2 sistemas de clasificación de LMA: la clasificación FAB (Franco-Americana-Británica), esta clasificación se utiliza para señalar subtipos morfológicos, realizar estudios clínicos y determinar el pronóstico (**ver anexo N°3**), y la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2017) <sup>(59)</sup>, la cual incluye:

- LMA con anomalías genéticas recurrentes.
  - ✓ LMA con t(8;21)(q22;q22); *RUNX1-RUNX1T1*.
  - ✓ LMA con inv(16)(p13.1q22); *CBFB-MYH11*.
  - ✓ Leucemia promielocítica aguda con t(15;17)(q22;q12); *PML-RARA*.
  - ✓ LMA con t(9;11)(p21.3;q23.3); *KMT2A-MLLT3*.
  - ✓ LMA con t(6;9)(p23;q34.1); *DEK-NUP214*.
  - ✓ LMA con inv(3)(q21.3q26.2); *GATA2, MECOM*.
  - ✓ LMA (megacarioblástica) con t(1;22)(p13;q13); *RBM15-MKLI*.
  - ✓ LMA con *BCR-ABL1*
  - ✓ LMA con mutación *NPM1*
  - ✓ LMA con biallelic mutation of *CEBPA*
  - ✓ LMA con mutación *RUNX1*
  
- LMA con cambios relacionados con la mielodisplasia.
  
- LMA relacionada con la terapia.
  
- LMA, NOS.
  - ✓ LMA diferenciación mínima
  - ✓ LMA sin maduración
  - ✓ LMA con maduración
  - ✓ Leucemia Mielomonocítica aguda
  - ✓ Leucemia monoblástica y monocítica aguda
  - ✓ Leucemia eritroide aguda
  - ✓ Leucemia megacarioblástica aguda
  - ✓ Leucemia basofílica aguda
  - ✓ Mielofibrosis con panmielofibrosis aguda
  
- Sarcoma Mieloide
  
- Proliferación mieloide relacionado a Síndrome de Down.

- Leucemia Aguda con linaje mixto
- Célula neoplásica dendrítica plasmocitoide blástica.

La clasificación FAB (1976) se apoya en la morfología y la citoquímica (**ver anexo N° 4**), mientras que la clasificación OMS (2017) <sup>(60)</sup> usa la morfología, inmunofenotipo (**ver anexo N° 5**), citogenético y biología molecular.

Generalmente, los pacientes que presentan una LMA no evidencian factores de riesgo conocido, por lo tanto, no se puede afirmar que exista una manera temprana de prevenirla o diagnosticarla, con una supervivencia promedio de 12 meses, y donde un 15% de pacientes llega a los 3 años <sup>(21,22)</sup>. Las pruebas diagnósticas van a tener dos propósitos principalmente: determinar el subtipo de leucemia y detectar el estado madurativo en que se encuentra para la toma de decisiones terapéuticas. Las pruebas de laboratorio mayormente empleadas son:

- **Hemograma de sangre periférica:** La presencia de leucocitos inmaduros incrementa la sospecha de una leucemia. Un porcentaje mayor al 20% de blastos en sangre periférica inclinaría el diagnóstico hacia una leucemia aguda. <sup>(24)</sup>
- **Citoquímica:** El uso de distintas tinciones citoquímicas en muestras de aspirado de médula ósea, evidencian diferentes reacciones tanto en los gránulos como en otros elementos del citoplasma en las células blásticas. Por ejemplo, la mieloperoxidasa ayuda diferenciar entre las LMA y otros tipos de leucemias agudas. <sup>(24,25,26)</sup>
- **Citometría de flujo:** La inmunofluorescencia es la base de la Citometría de Flujo. Esta tiene ventajas sobre la inmunohistoquímica; debido a, la velocidad del proceso, la cuantificación del porcentaje de células patológicas y la precisión, ya que tiene la capacidad de evaluar millones de células en corto tiempo <sup>(29)</sup>. La Citometría de flujo es una técnica que mide a las células a través de un fluido utilizando un haz de luz que es detectado por los detectores, que sirve para analizar la forma y complejidad de las células de la sangre periférica o médula

ósea. Es una herramienta útil que sirve de apoyo en el diagnóstico de LMA, además de orientar el diagnóstico a un subtipo de leucemia.

- **Citogenética:** Esta prueba estudia a los cromosomas y alteraciones relacionadas a estos <sup>(24)</sup>. En la LMA existen múltiples alteraciones cromosómicas, siendo las más frecuentes <sup>(27)</sup>: la translocación, inversión, delección y duplicación.
- **Pruebas moleculares:** La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) es útil para hallar anomalías genéticas. Herramienta de gran sensibilidad que apoya en el tratamiento. <sup>(24)</sup>

Para el tratamiento de LMA se usan los resultados de las pruebas de laboratorio para llegar emplear la terapia adecuada, pero existen varios factores que interfieren en ello. Uno de los factores que va a ser de suma importancia son las alteraciones cromosómicas. Estas alteraciones van a ofrecer información importante para el tratamiento; ya que, aproximadamente el 60 % de las personas con LMA tienen alteraciones cromosómicas (en la cantidad y/o en la estructura) <sup>(24)</sup>. Los cambios cromosómicos comunes de la LMA incluyen la trisomía 8, la trisomía 21, la monosomía 7 y la pérdida de un cromosoma X o Y y es posible que ocurran estos cambios genéticos en pacientes con cromosomas normales, por ende es importante el análisis molecular <sup>(23)</sup>. **(Ver anexo N°6 y N°7)**

## ANTÍGENO CD56

La molécula de adhesión neural CD56 (NCAM) es un miembro fundador de una gran familia de glicoproteínas de superficie celular que comparten estructuras relacionadas con la inmunoglobulina y fibronectina de tipo III <sup>(30, 31)</sup>. CD56 humano está codificado por un gen de una sola copia en el cromosoma 11 que abarca más de 314 kb y contiene 19 grandes exones así como 6 exones más pequeños <sup>(30,32)</sup>.

Originalmente, CD56 se caracterizó como un mediador de la adhesión célula-célula, pero ahora también es considerado como un receptor de señalización que afecta la adhesión celular, la migración, la proliferación, la apoptosis, la diferenciación, la supervivencia y la plasticidad sináptica <sup>(33,34)</sup>. La señalización mediada por CD56

puede ser activado después de la interacción homotípica o mediante dimerización heterotípica hacia una amplia gama de otras moléculas incluyendo la molécula de adhesión estrechamente relacionada L1, el factor de crecimiento de fibroblastos 1 (FGFR1), el factor neurotrófico derivado de la línea celular glial y los proteoglicanos de sulfato (CSPG y HSPGs)<sup>(35,36)</sup>. Desde el punto de vista fisiológico, CD56 se expresa abundantemente tanto en el cerebro humano en desarrollo como en el adulto y desempeña un papel central en la neurogénesis, la migración neuronal y el desarrollo de neuritas, de células NK (*Natural Killer*), un subconjunto de linfocitos T así como en células neuroendocrinas<sup>(34,36)</sup>.

El empalme alternativo en la formación del CD56 da lugar a la expresión de tres isoformas principales que difieren en su asociación con membrana y sus dominios intracelulares: la isoforma CD56<sup>120kD</sup>, que está unida a la membrana plasmática por un anclaje de glicosilfosfatidilinositol, y las isoformas CD56<sup>140kD</sup>/CD56<sup>180kD</sup>, que tienen ambos un dominio transmembrana y colas citoplasmáticas de diferentes longitudes<sup>(34)</sup>. Se da una expresión consistentemente fuerte de las isoformas de CD56<sup>120kD</sup> y CD56<sup>140kD</sup> en tejidos normales (excepto la versión CD56<sup>125kD</sup> específica de músculo que se expresa exclusivamente en músculo esquelético en lugar de la isoforma CD56<sup>120kD</sup>) y sólo se detectan pequeñas cantidades de ARNm de CD56<sup>180kD</sup> en todos los tejidos humanos extraneurales normales, mientras que en muestras del sistema nervioso central se encontró una expresión predominante de CD56<sup>140kD</sup> y CD56<sup>180kD</sup>. Por el contrario, todas las líneas de células tumorales CD56<sup>+</sup> humanas, así como todas las muestras *ex vivo* de tumores malignos humanos CD56<sup>+</sup>, incluyendo mielomas múltiples, leucemias mieloides agudas, T-NHL malignos y linfomas de células NK/T, carcinomas de células pulmonares pequeñas, melanomas malignos y rhabdomiosarcomas, exhibieron una expresión exclusiva de CD56<sup>140kD</sup>, cuyo nivel es significativamente más alto que en tejidos normales<sup>(37)</sup>.  
**(Ver anexo N° 8 y N° 9)**

La expresión de CD56 es un marcador para el diagnóstico de tumores nerviosos malignos, linfoma maligno NK/T-cell y carcinoma neuroendocrino. Además de que si se encuentra un incremento en suero se asocia con la progresión de un tipo de

Alzheimer así como de Mieloma Múltiple en leucemias y linfomas ha sido ampliamente investigado en la última década, y el conocimiento de los procesos malignos CD56+ hematolinfoides se ha expandido dramáticamente <sup>(13,14,15)</sup>. En las LMA, la expresión de CD56 ocurre en 20% a 30% de los casos, particularmente en los subtipos FAB M2, M4 y M5. La positividad CD56 en los blastos leucémicos es un marcador pronóstico negativo independiente que se asocia con una mala respuesta a la quimioterapia y con mayores tasas de recaída, lo que resulta en una supervivencia global más corta de los pacientes afectados <sup>(38, 39)</sup>.

#### 1.4.2 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

- **Inmunofenotipo:** Las características inmunológicas y genéticas de un célula.
- **CD (*Cluster of Differentiation*):** Significa grupo de diferenciación y viene seguido de un número ordinal. Este nombre deriva del hecho de que al madurar las células adquieren y/o eliminan proteínas en su superficie los antígenos leucocitarios <sup>(44)</sup>.
- **CD56:** Molécula de adhesión neural (NCAM) es una miembro fundador de una gran familia de glicoproteínas de superficie <sup>(30, 31)</sup>.
- **Infidelidad de Linaje:** Se define como una mala programación en la diferenciación de leucemias, con la consecuente coexpresión, sobre células individuales, de marcadores normalmente encontrados en células que tienen linajes diferentes. <sup>(42)</sup>

#### 1.4.3 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

Por las características del estudio y su diseño, esta investigación no requiere de hipótesis.

**CAPÍTULO II**  
**MÉTODOS**

## **2.1 DISEÑO METODOLÓGICO**

## **2.2 DISEÑO METODOLÓGICO**

### **2.2.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN**

Descriptivo, observacional. No requiere intervención por parte del investigador, solo se revisarán los registros con fines descriptivos.

### **2.2.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

Transversal y retrospectivo. El estudio se realizó en base a las informaciones registradas en la Historias Clínicas durante el periodo 2014-2016.

### **2.2.3 MUESTRA Y MUESTREO**

La muestra corresponde a las historias clínicas de pacientes atendidos en el INEN con diagnóstico de LMA *de novo* en el periodo 2014 - 2016. El muestreo fue no probabilístico por conveniencia, puesto que se seleccionaron, sólo aquellos pacientes con LMA de toda la población oncológica atendida (INEN, periodo 2014 – 2016).

#### **2.2.3.1 CRITERIO DE INCLUSIÓN**

Se seleccionarán las historias clínicas de pacientes atendidos en el INEN con diagnóstico de LMA *de novo*, cuyo estudio por inmunofenotipo incluye al CD56, en el periodo 2014 - 2016.

#### **2.2.3.2 CRITERIO DE EXCLUSIÓN**

- Pacientes cuya Historia Clínica indica diagnóstico en otra organización de salud.
- Pacientes con crisis blástica de Leucemia Mieloide Crónica.
- Pacientes con Síndrome Mielo Displásico (SMD).
- Pacientes con estudios incompletos para CD56 por inmunofenotipo.

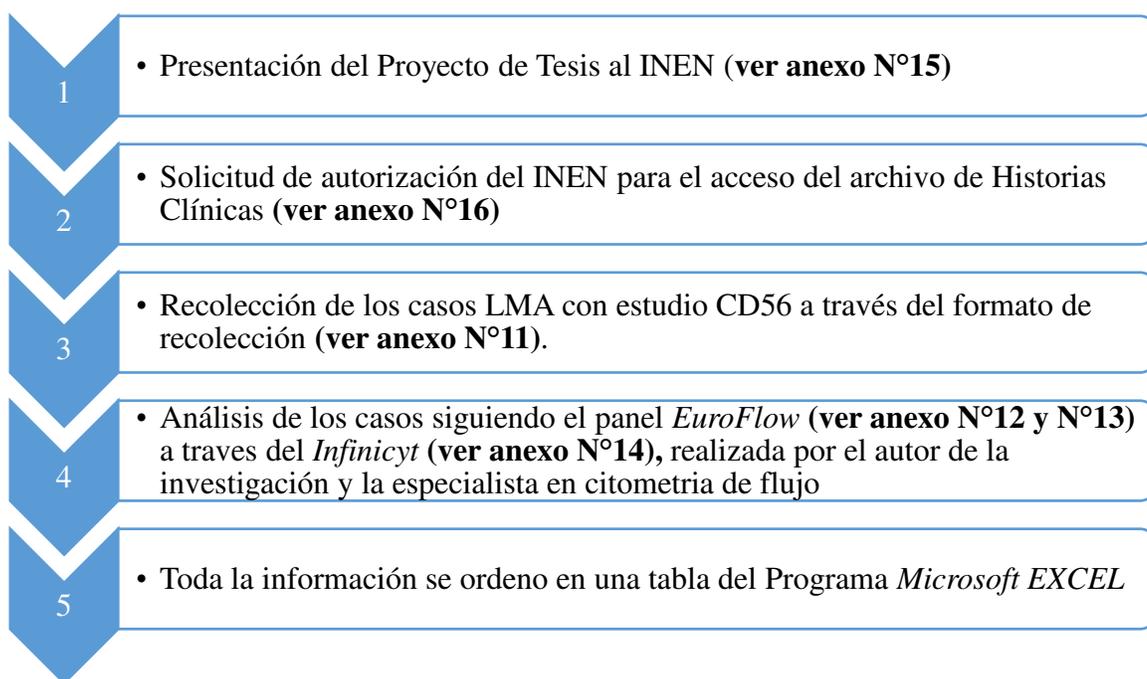
## 2.2.4 VARIABLES

### 2.2.4.1 LMA (ver anexo N°10)

### 2.2.4.2 CD56 (ver anexo N°10)

## 2.2.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

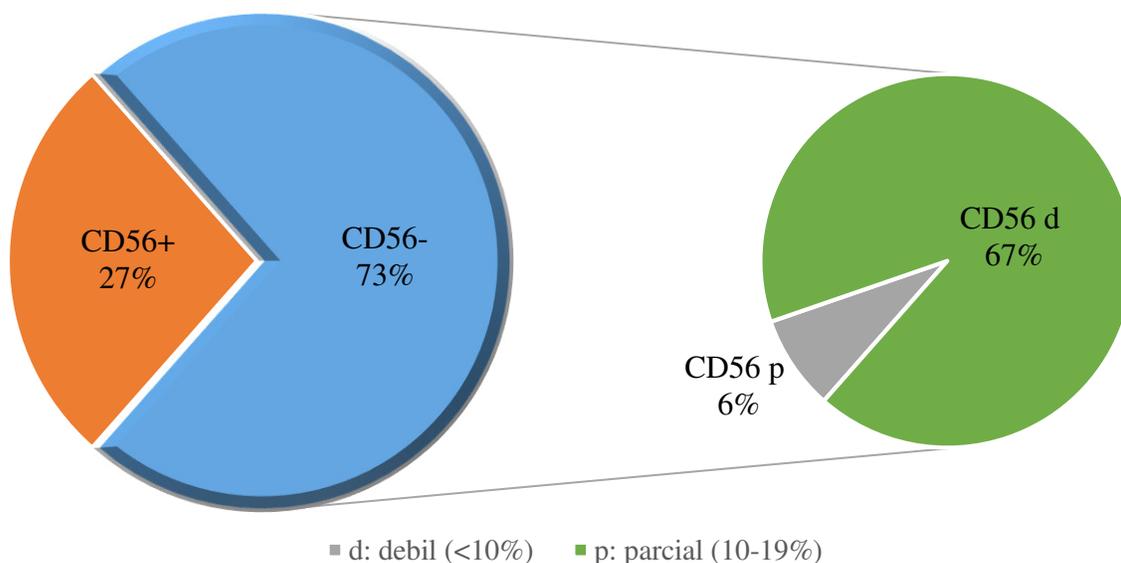
La técnica que se utilizó fue la revisión de las historias clínicas, que se realizó por el autor del proyecto.



**CAPÍTULO III**  
**RESULTADOS**

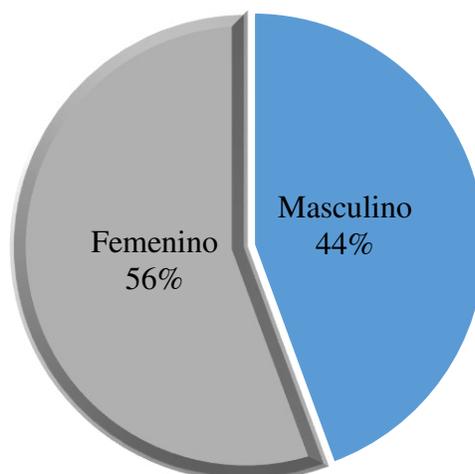
En el laboratorio de Citometría de Flujo (CF) del INEN, durante el periodo enero 2014 – diciembre 2016, se recopilaron 124 casos de LMA con estudio de expresión anti CD56. Los casos fueron designados como CD56-positivos (CD56+) cuando la expresión del marcador alcanzó ser mayor o igual al 20% de células blásticas (según *European Group for the Immunological Characterization of Leukemia* - EGIL, 1995); de este modo el 27% (34 casos) expresaron CD56, mientras 6% (7 casos) tuvieron la expresión entre 10 a 19% (p) de células blásticas y 67% (83) expresaron CD56 menor al 10% (d) de elementos.

Gráfico 1. FRECUENCIA DE EXPRESIÓN DE CD56



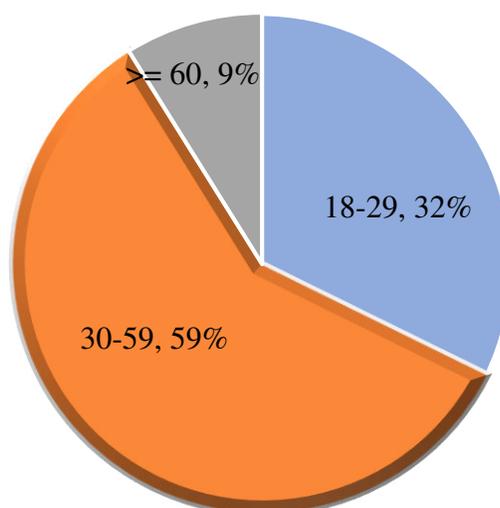
Se muestra en el gráfico 2, la frecuencia de acuerdo al sexo, siendo el 56% (69) de sexo femenino de mayor frecuencia que el sexo masculino con un 44% (55).

Gráfico 2. FRECUENCIA DE SEXO



En cuanto a la edad, se categorizó en 3 grupos según clasificación etaria del Ministerio de Salud (MINSa, 2016), jóvenes de 18-29 años, adultos de 30-59 años y adulto mayores > 60 años. Se halló un predominio en adultos con 59% (73), un 32% (40) en jóvenes y adultos mayores un 9% (11).

Gráfico 3. FRECUENCIA DE EDAD



Al relacionar la edad y el sexo frente a la expresión del CD56, se evidenció que en el sexo masculino con CD56+ alcanzó un 10% (12) frente a 17% (22) del sexo femenino. Asimismo, la no expresión de CD56 (CD56-) fue semejante en ambos (ver tabla 1).

TABLA 1. DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS SEGÚN SEXO Y EXPRESIÓN DE CD56

|             |           | <i>Expresión de CD56</i> |          |            |
|-------------|-----------|--------------------------|----------|------------|
|             |           | CD56+                    | CD56-    | Total      |
| <i>SEXO</i> | Masculino | 10% (12)                 | 34% (43) | 44% (55)   |
|             | Femenino  | 17% (22)                 | 39% (47) | 56% (69)   |
|             | Total     |                          |          | 100% (124) |

En relación a la edad, se halló la mayor frecuencia de CD56+ (17%, 21 casos) dentro del intervalo de 30-59 años, seguido del 10% (12) entre 18-29 años (ver tabla 2).

Tabla 2. DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS SEGÚN EDAD Y EXPRESIÓN DE CD56

|             |            | <i>Expresión de CD56</i> |          |            |
|-------------|------------|--------------------------|----------|------------|
|             |            | CD56+                    | CD56-    | Total      |
| <i>EDAD</i> | 18-29 años | 10% (12)                 | 22% (28) | 32% (40)   |
|             | 30-59 años | 17% (21)                 | 42% (52) | 59% (73)   |
|             | >= 60 años | 1% (1)                   | 8% (10)  | 9% (11)    |
|             | Total      |                          |          | 100% (124) |

En el sexo se mantuvo la proporción a predominio del grupo femenino y en la edad la mayor frecuencia se encontró entre los 30-59 años tanto para los que expresaban y no expresaban CD56.

Según los subtipos de LMA (criterios FAB), se registra una frecuencia similar entre las M1, M2 y M4 (19%, 19% y 17%, respectivamente), siendo de mayor frecuencia en M3 (31%) y el de menor el M0 (2%). Al contrastar la expresión de CD56 en los diferentes subtipos de LMA, se evidenció una frecuencia semejante entre M2 y M3 (10% y 8%, respectivamente); por otra parte, en los casos CD56- destacaba el subtipo M3 con 23%, seguido por M4 (15%) y M2 (10%) (ver tabla 3).

Tabla 3. DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS SEGÚN SUBTIPO DE LMA Y EXPRESIÓN DE CD56

|                        |       | <i>Expresión de CD56</i> |          |            |
|------------------------|-------|--------------------------|----------|------------|
|                        |       | CD56+                    | CD56-    | Total      |
| <i>Subtipo<br/>LMA</i> | M0    | 1% (1)                   | 2% (3)   | 3% (4)     |
|                        | M1    | 5% (6)                   | 14% (17) | 19% (23)   |
|                        | M2    | 9% (12)                  | 10% (11) | 19% (23)   |
|                        | M3    | 8% (10)                  | 23% (28) | 31% (38)   |
|                        | M4    | 2% (2)                   | 15% (19) | 17% (21)   |
|                        | M5    | 2% (3)                   | 7% (9)   | 9% (12)    |
|                        | M6    | 0% (0)                   | 2% (3)   | 2% (3)     |
|                        | Total |                          |          | 100% (124) |

En el hemograma se evidenció que los casos CD56+ frente a CD56-, son semejantes en el conteo de leucocitos, conteo de neutrófilos, conteo de plaquetas, hemoglobina, porcentaje de blastos en sangre periférica (S.P.) y porcentaje de blastos en médula ósea (M.O.), para este análisis toma como referencia el valor de las medianas (ver tabla 4).

Tabla 4. CARACTERÍSTICAS DE LABORATORIO DE EXPRESIÓN DE CD56

|                                   | <i>Expresión de CD56</i> |                          |
|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                                   | CD56+<br>Mediana (Rango) | CD56-<br>Mediana (Rango) |
| Neutrófilos (x10 <sup>9</sup> /L) | 0.74 (0-20.91)           | 0.79 (0-63.51)           |
| Leucocitos (x10 <sup>9</sup> /L)  | 14.69 (1.15-251.99)      | 11.95 (0.48-349.61)      |
| Plaquetas (cels/L)                | 34.5 (4-137)             | 35 (2-252)               |
| Hemoglobina (g/dL)                | 7.2 (2.6-11.2)           | 8.1 (1.4-14.6)           |
| Blastos S.P. (%)                  | 52.5 (2-99)              | 52.5 (0-97)              |
| Blastos M.O. (%)                  | 64 (10-90)               | 64 (1-94)                |

El 55% (68) no tuvo análisis citogenético (p. ej. no se observaron metafases) y en el porcentaje restante, el 3% (5) reportó un cariotipo desfavorable, 14% (17) un cariotipo favorable, 12% (16) no se pudo determinar la clasificación (ND), finalmente el 15% (18) resultaron cariotipos normales. Al comparar según la expresión de CD56, se evidenció que la cantidad de datos resultaba pequeña para determinar alguna relación (ver tabla 5).

Tabla 5. DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS SEGÚN CITOGÉNÉTICA Y EXPRESIÓN DE CD56

|                  |              | <i>Expresión de CD56</i> |          |            |
|------------------|--------------|--------------------------|----------|------------|
|                  |              | CD56+                    | CD56-    | Total      |
| <i>Cariotipo</i> | Sin análisis | 17% (21)                 | 38% (47) | 55% (68)   |
|                  | Favorable    | 5% (6)                   | 9% (11)  | 14% (17)   |
|                  | Desfavorable | 2% (3)                   | 1% (2)   | 3% (5)     |
|                  | Normal       | 2% (2)                   | 13% (16) | 15% (18)   |
|                  | ND*          | 2% (2)                   | 11% (14) | 13% (16)   |
|                  | Total        |                          |          | 100% (124) |

\*ND: No Determinado

En el estudio molecular se encontró que 15% (19) no tuvieron estudios moleculares. El 36% (45) de casos no presentó ninguna alteración molecular y 49% (60) si reportaron alteraciones.

Del total de casos con alteraciones moleculares (49%), la mayor frecuencia fue para PML/RARa 25% (31), seguido de ITD del gen FLT3 con 6% (7) y de los genes AML1/ETO y NPM1 (Melting) con 6% (7) para ambos. Al analizar según la expresión de CD56, se evidenció la mayor frecuencia del gen PML/RARa para CD56+ y CD56- (7% y 18%, respectivamente). Por otro lado, solo los CD56+ con 5% (7) reportaron presencia de AML1/ETO; caso contrario para ITD del gen FLT3 con 6% (7) en CD56- frente al 2% (2) de CD56+. (ver tabla 6)

Tabla 6. DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS SEGÚN MOLECULAR Y EXPRESIÓN DE CD56

|                  |                            | <i>Expresión de CD56</i> |          |            |
|------------------|----------------------------|--------------------------|----------|------------|
|                  |                            | CD56+                    | CD56-    | Total      |
| <i>Molecular</i> | Sin análisis               | 1% (2)                   | 14% (17) | 15% (19)   |
|                  | Normal                     | 8% (10)                  | 28% (35) | 36% (45)   |
|                  | AML1/ETO                   | 5% (7)                   | 0%(0)    | 5% (7)     |
|                  | AML1/ETO, ITD del gen FLT3 | 2% (2)                   | 0% (0)   | 2% (2)     |
|                  | CBFB/MYH11                 | 0% (0)                   | 1% (2)   | 1% (2)     |
|                  | ITD del gen FLT3           | 2% (2)                   | 6% (7)   | 8% (9)     |
|                  | NPM1                       | 1% (1)                   | 5% (6)   | 6% (7)     |
|                  | NPM1, ITD del gen FLT3     | 1% (1)                   | 1% (1)   | 2% (2)     |
|                  | PML1/RARa                  | 7% (9)                   | 18% (22) | 25% (31)   |
|                  | Total                      |                          |          | 100% (124) |

En nuestro estudio se registran 103 casos del total con presencia de anomalías genéticas, los cuales se distribuyeron en categorías de riesgo según *European Leukemia Net* (ELN, 2017) (**Ver anexo N° 17**). De tal manera que se obtuvo 79 (78%) con riesgo favorable, 19 (18%) con riesgo intermedio y 4 (4%) con riesgo adverso. Comparando los grupos que expresan y no expresan CD56, se evidenció que los CD56- tuvieron un mayor porcentaje de casos con Riesgo Favorable (53%) como los de Riesgo Intermedio (13%), ver tabla 7.

Tabla 7. DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS SEGÚN RIESGO Y EXPRESIÓN DE CD56

|                     |            | <i>Expresión de CD56</i> |          |            |
|---------------------|------------|--------------------------|----------|------------|
|                     |            | CD56+                    | CD56-    | Total      |
| <i>Riesgo (ELN)</i> | Favorable  | 24% (25)                 | 53% (55) | 78% (80)   |
|                     | Intermedio | 6% (6)                   | 13% (13) | 18% (19)   |
|                     | Adverso    | 2% (2)                   | 2% (2)   | 4% (4)     |
|                     | Total      |                          |          | 100% (103) |

Todos los 124 casos fueron incluidos en la evaluación de respuesta a la inducción por citometría de flujo. 101 casos tenían estudios de Enfermedad Mínima Residual (EMR), para lo cual se hizo la comparación con los que expresan y no expresan CD56, reportándose EMR+ en 32% (11) CD56+ y en 68% (23) CD56-, estos resultados no demuestran diferencia significativa entre los 2 grupos (95% intervalo de confianza (CI): 0.565-1.823). Así mismo, no se observó diferencia por parte de EMR-, reportándose 67% (45) CD56- y 33% (22) CD56+ (95% intervalo de confianza (CI): 0.739-1.333).

En cuanto a la respuesta a la inducción por citomorfología, 98 casos fueron analizados según los criterios de respuesta de *European Leukemia Net* (ELN, 2017) (**Ver anexo N° 18**). Siendo 39% (38) de los casos quienes tuvieron una remisión completa (RC+) y 61% (60) quienes no la tuvieron (RC-). Al contrastar la expresión del CD56+, se evidenció que 10% (10) tenían RC+ y el 19% (19) eran RC-, no hallándose diferencia de ambos grupos frente a la RC (95% intervalo de confianza (CI): 0.434-1.590). De la misma manera, se encontraron los mismos

resultados para los CD56-, hallándose 29% (28) con RC+ y 42% (41) con RC- (95% intervalo de confianza (CI): 0.834-1.394). (ver tabla 8)

Tabla 8. DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS SEGÚN EMR Y EXPRESIÓN DE CD56

|                                 |       | <i>Expresión del CD56</i> |          |           |
|---------------------------------|-------|---------------------------|----------|-----------|
|                                 |       | CD56+                     | CD56-    | Total     |
| <i>EMR<br/>(CITOMORFOLOGÍA)</i> | +     | 10% (10)                  | 29% (24) | 39% (38)  |
|                                 | -     | 19% (19)                  | 42% (48) | 61% (60)  |
|                                 | Total |                           |          | 100% (98) |

Por la respuesta a la inducción por Citometría de flujo, 101 casos fueron analizados. Se vio que el 66% (67) de los casos quienes tuvieron RC+ y 34% (34) quienes no la tuvieron (RC-). En cuanto a la expresión del CD56+, se evidenció que 20% (20) tenían RC+ y el 9% (9) eran RC-, no hallándose algún efecto en la expresión del CD56 (95% intervalo de confianza (CI): 0.265-0.303). Así mismo, se encontraron los mismos resultados para los CD56-, hallándose 46% (47) con RC+ y 25% (25) con RC- (95% intervalo de confianza (CI): 0.701-0.735). (ver tabla 9)

Tabla 9. DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS SEGÚN EMR Y EXPRESIÓN DE CD56

|  |       | <i>Expresión del CD56</i> |          |            |
|--|-------|---------------------------|----------|------------|
|  |       | CD56+                     | CD56-    | Total      |
| <i>EMR<br/>(CITOMETRÍA DE<br/>FLUJO)</i> | +     | 9% (9)                    | 25% (25) | 34% (34)   |
|  | -     | 20% (20)                  | 46% (47) | 66% (67)   |
|  | Total |                           |          | 100% (101) |

Al comparar 96 casos que tenían estudios de EMR por citometría de flujo y EMR por citomorfología, se encontró una diferencia significativa ( $X^2$  test,  $p = 0.001$ ). ver tabla 10

Tabla 10. DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS DE EMR POR CITOMORFOLOGÍA Y EMR POR CITOMETRÍA

|                                     |       | <i>EMR</i><br>( <i>CITOMETRÍA DE FLUJO</i> ) |          |           |
|-------------------------------------|-------|--|----------|-----------|
|                                     |       | +  | -        | Total     |
| <i>EMR</i><br>( <i>MORFOLOGÍA</i> ) | +     | 6% (5)                                       | 33% (32) | 39% (37)  |
|                                     | -     | 28% (27)                                     | 33% (32) | 61% (59)  |
|                                     | Total |  |          | 100% (96) |

En cuanto al tratamiento, se conformaron dos grupos, LMA no-LPA (69%, 86 casos) y LPA (31%, 38casos), la tabla 8 muestra las características de laboratorio y clínicas en ambos grupos. No se encontraron diferencias en ambos grupos. Según sexo, edad, conteo de leucocitos, neutrófilos, plaquetas, hemoglobina, porcentaje de blastos en sangre periférica y blastos en médula ósea, ver tabla 11.

Tabla 11. CARACTERÍSTICAS DE LABORATORIO Y CLÍNICAS DE ACUERDO AL TRATAMIENTO

|                                 | <i>LMA no-LPA</i>  | <i>LPA</i>         |
|---------------------------------|--------------------|--------------------|
| Edad (años)                     | 39 (18-77)         | 36 (18-62)         |
| Sexo (M/F)                      | 38/48              | 17/21              |
| Neutrófilos                     | 1.29 (0-63.51)     | 0.35 (0-5.07)      |
| Leucocitos                      | 14.28 (0.6-349.61) | 8.58 (0.48-120.06) |
| Plaquetas                       | 33.5 (4-252)       | 35.5 (2-137)       |
| Hemoglobina                     | 7.75 (1.4-14.1)    | 8.25 (2.6-68)      |
| Blastos SP (%)                  | 46.5 (0-99)        | 69.5 (0-98)        |
| Blastos MO (%)                  | 54.5 (1-94)        | 82 (2-91)          |
| CD 56% (+/-)                    | 29/57              | 12/26              |
| Mediana de supervivencia (días) | 248 (1-1514)       | 1103 (0-1574)      |

Adicionalmente, la diferencia entre la supervivencia promedio (OS) de las LMA fue estimada usando la curva de supervivencia Kaplan-Meier, comparando la supervivencia de los paciente con y sin expresión del CD56 usando el Test Log-Rank. Como se demuestra en la figura 1, el tiempo del OS fue no significativo entre sí (p-valor=0.728), el CD56- muestra una mediana de 303 días (0-1574) comparado con el CD56+ que muestra una mediana de 368 días (1-1514). Si bien hay una diferencia entre las medianas, esto no fue confirmado a través del p-valor.

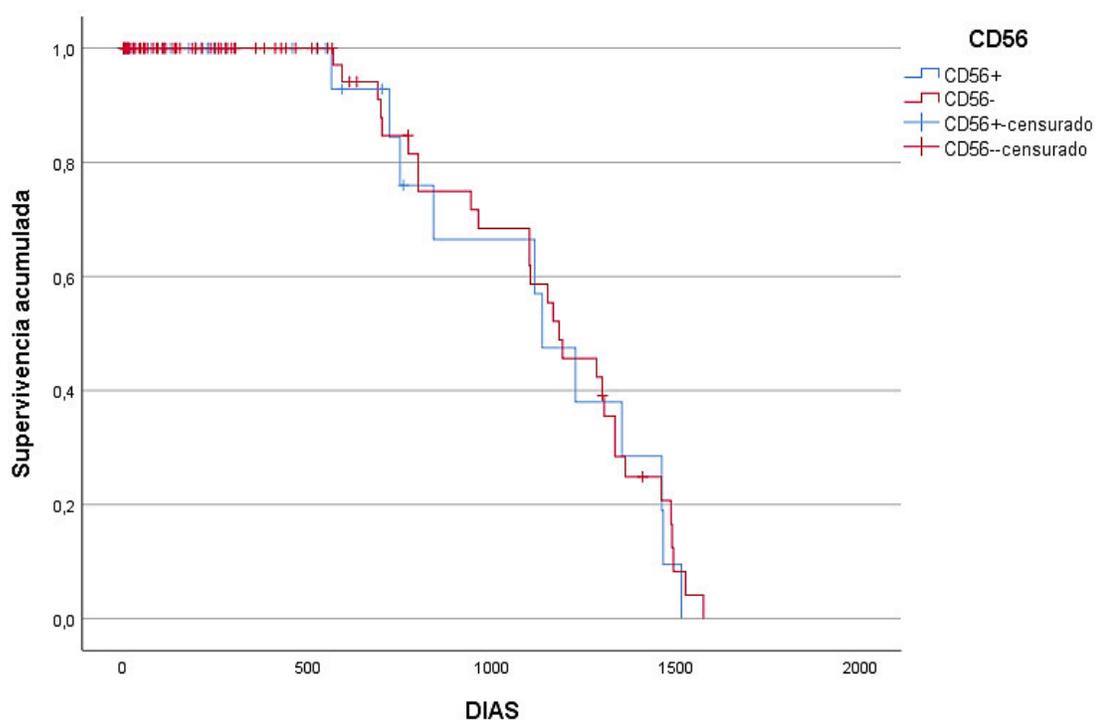


Figura 1. SUPERVIVENCIA PROMEDIO DE LA EXPRESIÓN DE CD56

Al evaluar el OS de cada grupo en tratamiento se encontró, que en 86 casos de LMA no-LPA, la mediana de los CD56+ fue 231 días (6-1514) comparado con la mediana de los CD56-, 258 días (1-1493), no se halló una diferencia significativa (p-valor=0.446), como se muestra en la figura 2. Por otro lado, en los 38 casos de LPA, la mediana para CD56- fue 1128 días (0-1574) contra la mediana de los CD56+ que es de 756 días (1-1461), el cual tampoco se halló una diferencia significativa (p-valor=0.347) (figura 3).

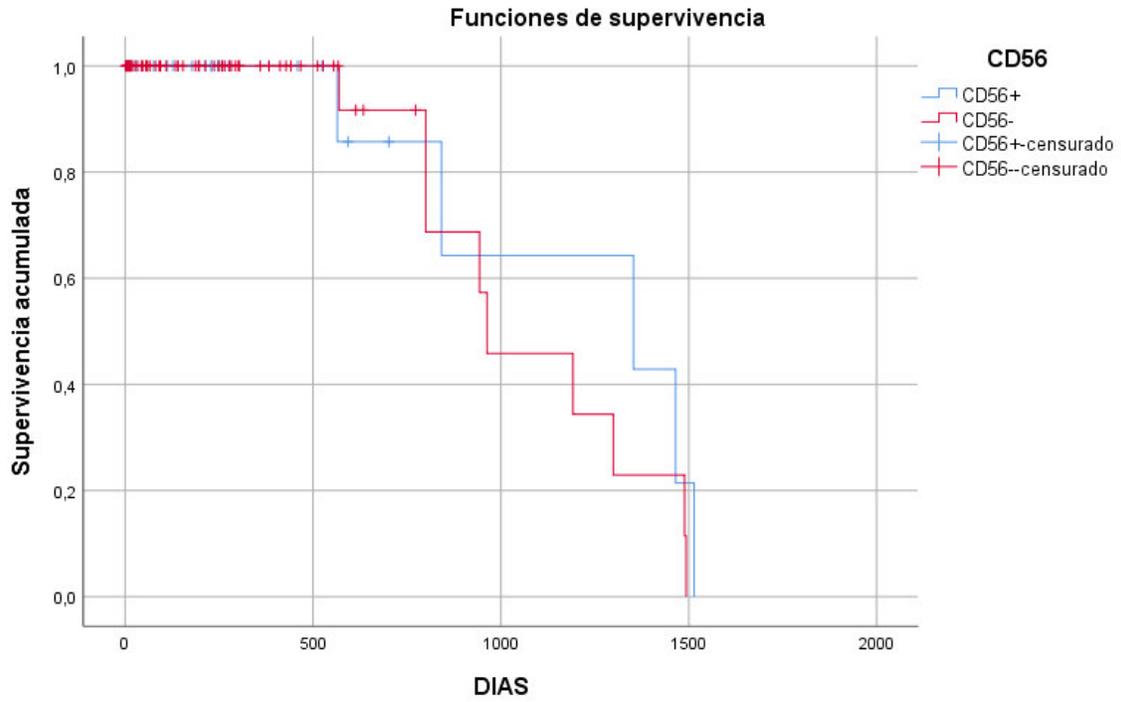


Figura 2. SUPERVIVENCIA PROMEDIO DE LMA NO-LPA

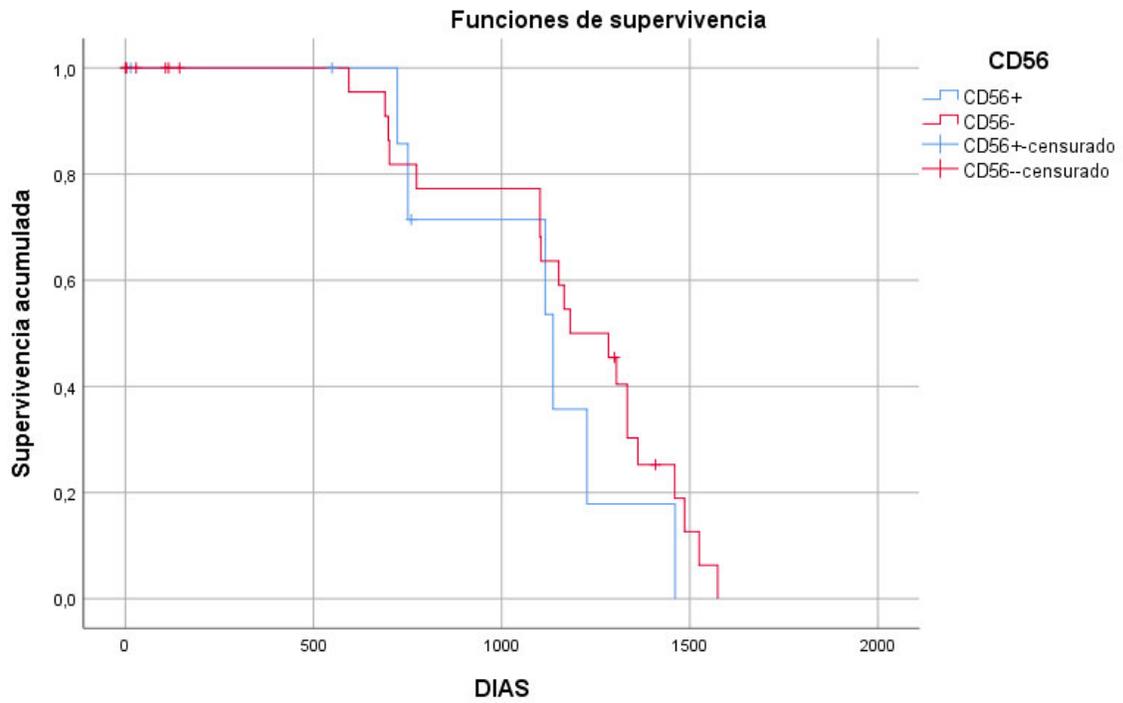


Figura 3. SUPERVIVENCIA PROMEDIO DE LPA

Los resultados, aquí presentados, corresponden a la primera investigación sobre un marcador de riesgo por inmunofenotipo con la estandarización *EuroFlow* en el Perú, con apoyo del INEN, en trabajo multidisciplinario e interdisciplinario. Se espera sea el inicio para más estudios, con motivo de compartir los conocimientos científicos del campo de la citometría de flujo clínica y ofrecer respuestas a interrogantes oncohematológicas.

**CAPÍTULO IV**  
**DISCUSIÓN**

El INEN es una Institución que se encarga por la promoción de la salud, prevención, diagnóstico e investigación para reducir el impacto del cáncer en el país. Con la visión de un Perú libre de cáncer, la Institución trabaja en políticas y acciones de excelencia que promueven el acceso universal y equitativo a la prevención y el control del cáncer, a través de este estudio se busca contribuir al trabajo que se viene desarrollando en el INEN.

En este estudio retrospectivo realizado en el laboratorio de Citometría de Flujo del INEN, la expresión del CD56 fue analizada bajo el protocolo *EuroFlow*<sup>(58)</sup>, utilizando el BD FACSCanto II, en 124 casos con LMA *de novo*, periodo 2014-2016. Se encontró la expresión en un 27% (30 casos) de los casos siendo esto coincidente con Shishan Xiao *et al.*<sup>(49)</sup>, quien halló el marcador en el 30% de sus 225 casos. Por otra parte, Subh *et al.*<sup>(50)</sup>, reportó del total de sus revisiones, solo el 23% tiene CD56. Así mismo, Sheeran *et al.*<sup>(47)</sup>, evidenció que el 38% de su población estudiada tenían este marcador. Cabe mencionar a Jordi *et al.*<sup>(52)</sup>, que solo se presentó el CD56 en el 20% de sus 158 pacientes. Nuestro estudio fue contrastado con la mayor parte de estudios, encajando dentro del intervalo de 20-30% de casos con LMA CD56+.

Se encontró la mayor frecuencia en el sexo femenino, lo cual concuerda lo evidenciado por Sheeran *et al.*<sup>(47)</sup>. A discrepancia, Raspadori *et al.*<sup>(38)</sup>, encontró que sus casos predominaron en el sexo masculino.

Referente a la edad, el grupo etario que alcanzó mayor frecuencia fue entre 30-59 años. De igual manera, Sheeran *et al.*<sup>(47)</sup>, mostró que la edad promedio de sus casos fue 40 años. Del mismo modo, Jordi *et al.*<sup>(52)</sup>, halló que la su edad promedio fue 58 años. Ante lo mencionado, dichos estudios encajan dentro del rango encontrado en nuestra investigación.

En cuanto a los subtipos de LMA con expresión de CD56, Shishan Xiao *et al.*<sup>(49)</sup>, reportó que la mayor frecuencia de subtipo LMA se registró en M2 (60%) y M1 (30%). Así mismo, Ortolani *et al.*<sup>(57)</sup>, encontró que la mayor frecuencia está en el grupo de las M2, M3 y M5. Finalmente, Chang *et al.*<sup>(53)</sup>, mostró que la mayor frecuencia de LMA con expresión de CD56 se dio en los subtipos M2 (29%) y M4 (28%). Estos resultados fueron confirmados por nuestro estudio, donde se halló que el grupo más frecuente fueron las M2 (35%) seguido de

la M3 (29%) y M1 (17%). Comparando estudios anteriores <sup>(2,13,14,15)</sup> a la estandarización *EuroFlow*, se evidenció que el subtipo M2 se fue el más frecuente.

La positividad del CD56 ha sido correlacionado con mal pronóstico <sup>(14,15,47)</sup> probablemente dependiendo del valor de corte usado, el número de casos analizados y edad; sin embargo, aún es un tema por consensuar. Nuestros resultados de LMA CD56+ no evidenciaron correlación entre expresión de CD56 con el conteo de neutrófilos, leucocitos, plaquetas, blastos en sangre periférica y blastos en médula ósea. Al comparar los grupos que expresan y no expresan CD56, se llegó a la conclusión de que no hubo diferencias entre ambos grupos, encontrándose semejantes. Ferrara *et al.*<sup>(56)</sup> y Eros DI Bonna *et al.*<sup>(54)</sup>, corroboran estos resultados al no hallar estos, datos como relacionados, en una expresión del CD56.

De acuerdo al riesgo, se evidenció que la mayor frecuencia fue para riesgo favorable tanto en CD56+ como CD56-. Sin embargo, se halló que el porcentaje era mayor para los CD56- como se relaciona con los estudios anteriores <sup>(51-57)</sup>. Jordi *et al.*<sup>(52)</sup>, encontró que no hubo diferencia significativa de CD56 con cada grupo de riesgo citogenético pero notó que los CD56- eran mayor proporción que los CD56+. Como un hallazgo adicional se evidenció que la presencia de PML1/RARa tuvo una mayor proporción dentro de todas las alteraciones moleculares.

De acuerdo al tratamiento se dividió en 2 grupos (LMA no-LPA y LPA). Para la evaluación a la respuesta de inducción que se analizó por citomorfología para las LMA no-LPA, Subh S. *et al.*<sup>(50)</sup>, mostró que hubo una diferencia significativa entre el grupo de CD56+ y CD56- ( $p=0.025$ ) contrastándose con nuestros resultados; sin embargo, la cantidad de casos del estudio de Subh fueron menor que el nuestro.

El estudio de citometría de flujo para evaluar la Enfermedad Mínima Residual, no demostró una diferencia significativa entre grupos de expresión CD56. Jordi *et al.*<sup>(52)</sup>, tampoco halló una diferencia significativa ante la inducción, la supervivencia promedio y el tiempo libre de enfermedad. Así mismo, Chang *et al.*<sup>(53)</sup>, demostró que la tasa de remisión completa no se asocia con la expresión de CD56. Adicionalmente, Ciolli *et al.*<sup>(55)</sup>, reportó que la expresión del CD56 no es significativo para el análisis de una remisión completa. Estos datos reafirman nuestro resultado, pero el estudio de Chang no halló relación para la CR pero si para la OS.

Al comparar el análisis por citomorfología y Citometría de flujo para evaluar el EMR, se evidenció una diferencia significativa ( $p=0.001$ ) evidenciando que la citometría de flujo tiene mayor sensibilidad para el análisis de EMR en las LMA, pero que aún se requiere más investigaciones para estandarizarla.

Se analizó la supervivencia promedio de las LMA en general y no se halló una diferencia significativa entre ambos grupos de expresión. Al dividirlo de acuerdo al tratamiento, las LMA no-LPA, mostraron diferencia significativa tanto en CD56+ como los CD56- ( $p=0.446$ ). Un artículo publicado en *The British Journal of Hematology* <sup>(51)</sup>, analizó a los grupos de buen pronóstico y su relación con la expresión del CD56 y no halló una relación significativa para los que expresan CD56 y su supervivencia promedio ( $p=0.202$ ). Jordi *et al.* <sup>(52)</sup>, tampoco halló diferencias significativas entre los grupos de expresión y no expresión de CD56 en relación al OS. Di Bonna *et al.* <sup>(54)</sup>, llegó a la misma conclusión que nuestro estudio, no hallando una relación entre las LMA y CD56+. Por consiguiente, los estudios <sup>(51-54)</sup> corroboran nuestros resultados.

En cuanto a las LPA, tampoco se encontró una diferencia significativa ( $p=0.347$ ) a la sobrevida. Esto no fue corroborado por estudios anteriores, Ferrara *et al.* <sup>(56)</sup>, encontró una relación significativa entre los casos de LPA con la expresión CD56 ( $p = 0.04$ ). De igual manera, Di Bonna *et al.* <sup>(54)</sup>, encontró que la mayoría de casos de LPA con CD56+ tenían un mal pronóstico. Finalmente, Raspadori *et al.* <sup>(38)</sup>, también halló que las LPA CD56+ tienen relación con el corto tiempo de OS.

Finalmente indicar que la Citometría de Flujo es relativamente nueva en el Perú, con grandes ventajas para el análisis de células y sobretodo una herramienta útil para el diagnóstico oncológico. A través de esta investigación se brinda información sobre un marcador importante en las LMA y continuar con nuevas investigaciones en este campo.

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## 4.1. CONCLUSIONES

Luego del análisis de los resultados en la discusión se presentan las principales conclusiones de la investigación realizada:

- Se determinó que la frecuencia del marcador CD56 en pacientes diagnosticados con LMA *de novo* en el periodo 2014-2016 fue del 27%.
- Se resuelve, que el sexo no está asociado a la expresión del CD56 en la LMA *de novo*, si bien se halló un predominio en sexo femenino, no hay acuerdo entre investigadores. En relación a la edad se concluye, que las LMA CD56+ se asocian a personas adultas entre 30-59 años, concordando con investigaciones anteriores.
- En cuanto a la asociación del CD56 y anormalidades citogenéticas según subtipo de LMA, que no se determinó asociación entre el CD56 y el análisis citogenético (cariotipo), debido a la pequeña cantidad de datos evaluados. Se determinó, que el gen PML/RARa es frecuente en las LMA CD56+ seguido por el gen AML1/ETO, siendo esto dos genes los más frecuentes en los subtipos M3 y M2, respectivamente. Se concluye, que la mayor frecuencia de LMA CD56+ se dio en el Riesgo Favorable, pero sin asociación con algún pronóstico adverso.
- En relación a la evaluación a la respuesta a la inducción según citomorfología y enfermedad mínima residual según Citometría de Flujo, se concluye, que no hubo diferencias en ambos grupos CD56 en cuanto a la respuesta a la inducción. Se determina, que al evaluar la EMR por citometría de flujo no hubo efecto de la expresión del CD56. Se concluye, la expresión de CD56 no influyen en la supervivencia promedio de las LMA no-LPA.

## 4.2. RECOMENDACIONES

En base a los resultados de la presente investigación, se recomienda lo siguiente:

- Investigar prospectivamente la correlación del CD56 con las LMA *de novo*.
- Investigar en el pronóstico que involucra al CD56 con los Síndromes Mielo Displásicos que se transforman a LMA.

- Implementar con fines de investigación el marcador CD56 al panel LMA (tubo N°3) de los protocolos *EuroFlow*, para analizar a los monoblastos que expresan CD56.
- Investigar o evaluar la relación del marcador CD7 en las LMA *de novo*.
- Ampliar las investigaciones usando el protocolo *Euroflow* y software *Infinicyt*.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. McCulloch EA, Kellecher CA, Miyauchi J, Wang C, Cheng GYN, Minden MD, et al.. Heterogeneity in acute myeloblastic leukemia. *Leukemia* 1998; 2: 38s.
2. Bennet JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, et al.. Proposals for the classification of acute myeloid leukemias. *Br J Haematol* 1976; 33: 451–458.
3. Legrand O, Perrot JY, Baudard M et al. The immunophenotype of 177 adults with acute myeloid leukemia: proposal of a prognostic score. *Blood* 2000;96:870–7.
4. Lanier LL, Le AM, Civin CI, Loken MR, Phillips JH. The relationship of CD16 (Leu11) and Leu19 (NKH-1) antigen expression of human peripheral blood NK cells and cytotoxic lymphocytes. *J Immunol* 1986; 136: 4480–4483.
5. Guañabens, C., BOSCH M. A., Soler, J. Leucemias agudas, mixtas, bifenotípicas. *Biología Clínica Hematológica*. 1986; 8:133- 138.
6. Greaves, M. F., Chan, L. C., Furley, A. J. W. Watt, S. M., Molgaard, H. Lineage promiscuity in hemopoietic differentiation and leukemia. *Blood*. 1986; 67: 1-11.
7. Wang XB, Zheng JE, Gu JX, Yao JX, Yang J, Liu J, et al. Correlation of immunophenotype to cytogenetics and clinical features of adult acute myeloid leukemia. *Ai Zheng*. 2005, 24 (6): 667-71.
8. Drach J, Gatringer C and Huber H. Combined flow cytometric assessment of cell surface antigens and nuclear TdT for the detection of minimal residual disease in acute leukaemia. *Br J Haematol*. 1991; 77:37-42.
9. Reading CL, Estey EH, Huh YO, Claxton DF, Sanchez G, Terstappen LW, O'Brien MC, Baron S and Deisseroth AB. Expression of unusual immunophenotype combinations in acute myelogenous leukemia. *Blood*. 1993; 81:3083-90.

10. Chung HJ, Chi HS, Cho YU, Lee EH, Jang S, Park CJ and Seo EJ. Prognostic effect of cytoplasmic CD79a expression in acute myeloid leukemia with t(8;21). *Korean J Lab Med.* 2007; 27:388-93.
11. Kozlov I, Beason K, Yu C and Hughson M. CD79a expression in acute myeloid leukemia t(8;21) and the importance of cytogenetics in the diagnosis of leukemias with immunophenotypic ambiguity. *Cancer Genet Cytogenet.* 2005; 163:62-7.
12. Tiftik N, Bolaman Z, Batun S, Ayyildiz O, Isikdogan A, Kadikoylu G and Muftuoglu E. The importance of CD7 and CD56 antigens in acute leukaemias. *Int J Clin Pract.* 2004; 58:149-52.
13. Suzuki R, Ohtake S, Takeuchi J, Nagai M, Koderu Y, Hamaguchi M, et. al. The clinical characteristics of CD7+ CD56+ acute myeloid leukemias other than M0. *Int J Hematol.* 2010; 91:303-9.
14. Raspadori D, Damiani D, Michieli M, Stocchi R, Gentili S, Gozzetti A, et. al. CD56 and PGP expression in acute myeloid leukemia: impact on clinical outcome. *Haematologica.* 2002; 87:1135-40.
15. Alegretti AP, Bittar CM, Bittencourt R, Piccoli AK, Schneider L, Silla LM, Bo SD. The expression of CD56 antigen is associated with poor prognosis in patients with acute myeloid leukemia. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2011; 33:202-6.
16. Cooper MA, Fehniger TA, Turner SC, et al. Human natural killer cells: a unique innate immunoregulatory role for the CD56 (bright) subset. *Blood* 2001;97(10):3146-3151.
17. Freud AG, Caligiuri MA. Human natural killer cell development. *Immunol Rev* 2006; 214:56-72.
18. Judith Karp, MD. Leucemia Mieloide Aguda. *Rev* 2011:1 -8.

19. Willy C. Ramos M., MD. La carga de las leucemias en el Perú. Boletín Epidemiológico N° 32, vol. 23, 2014: 630- 631.
20. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN). Datos Epidemiológicos 2006 - 2015.
21. Asociación Española de Afectados por Linfoma, Mieloma y Leucemia (AEAL). AEAL Explica: Leucemia Mieloide Aguda. Rev 2014: 21 – 24.
22. Asociación Española de Afectados por Linfoma, Mieloma y Leucemia (AEAL). AEAL Explica: Leucemia Mieloide Aguda. Rev 2014: 37 – 43.
23. Judith Karp, MD. Leucemia Mieloide Aguda. Rev 2011:12 -13.
24. García Rodríguez J.A, et al (2001): Guía clínica para la evaluación y el tratamiento del paciente neutropénico con fiebre. Rev Infect Dis 14 (1) 75-83.
25. Margelí Vila M, Cirauqui B (2001): Protocolo terapéutico del paciente oncológico con fiebre neutropénica. Medicine 8<sup>a</sup> (56) pag 3025-27.
26. Hoffman R, Benz EJ, Shattil, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P. (2000): Hematology. Basic Principles and Practice-3 Ed.
27. Bloomfield CD, Lawrence D, Byrd JC, et al. Frequency of prolonged remission duration after high-dose cytarabine intensification in acute myeloid leukemias varies by cytogenetic subtype. Cancer Res 1998; 58:4173.
28. Lichtman MA, Liesveld JC. Leucemia mielógena aguda. En: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U. Williams: Hematología. 6 Ed. Madrid, España: Marbán Libros S.L., 2005:1047-83.
29. Barbara J. Bain. Leukaemia Diagnosis. Hematología 4 Ed. 2010: 64 – 85.
30. Brummendorf T, Lemmon V: Immunoglobulin superfamily receptors: cis-interactions, intracellular adapters and alternative splicing regulate adhesion. Curr Opin Cell Biol 2001, 13:611–618.

31. Walmod PS, Kolkova K, Berezin V, Bock E: Zippers make signals: NCAM-mediated molecular interactions and signal transduction. *Neurochem Res* 2004, 29:2015–2035.
32. Nguyen C, Mattei MG, Mattei JF, Santoni MJ, Goridis C, Jordan BR: Localization of the human NCAM gene to band q23 of chromosome 11: the third gene coding for a cell interaction molecule mapped to the distal portion of the long arm of chromosome 11. *J Cell Biol* 1986, 102:711–715.
33. Amoureux MC, Cunningham BA, Edelman GM, Crossin KL: N-CAM binding inhibits the proliferation of hippocampal progenitor cells and promotes their differentiation to a neuronal phenotype. *J Neurosci* 2000, 20:3631–3640.
34. Ronn LC, Berezin V, Bock E: The neural cell adhesion molecule in synaptic plasticity and ageing. *Int J Dev Neurosci* 2000, 18:193–199.
35. Williams EJ, Furness J, Walsh FS, Doherty P: Activation of the FGF receptor underlies neurite outgrowth stimulated by L1, N-CAM, and N-cadherin. *Neuron* 1994, 13:583–594.
36. Storms SD, Anvekar VM, Adams LD, Murray BA: Heterophilic NCAM mediated cell adhesion to proteoglycans from chick embryonic brain membranes. *Exp Cell Res* 1996, 223:385–394.
37. Stefan G., Thorsten S., Ellen Leich, Matthias R., Georg Erti: Specific detection of CD56 (NCAM) isoforms for the identification of aggressive malignant neoplasms with progressive development. *The American Journal of Pathology* 2009:1160-1171.
38. Raspadori D, Damiani D, Lenoci M, et al. CD56 antigenic expression in acute myeloid leukemia identifies patients with poor clinical prognosis. *Leukemia*. 2001;15: 1161-1164.
39. Baer MR, Stewart CC, Lawrence D, et al. Expression of the neural cell adhesion molecule CD56 is associated with short remission duration and

- survival in acute myeloid leukemia with t(8;21)(q22; q22). *Blood*. 1997; 90: 1643-1648.
40. Taylor CG, Stasi R, Bastianelli C,. Diagnosis and classification of the acute leukaemias: recent advances and controversial issues. *Hematopathol Mol Hematol* 1996; 10:1-38.
  41. Murray CK, Estey E, Paietta E, Howard RS, Edenfield WJ, Pierce S, et al. CD56 expression in acute promyelocytic leukemia: a possible indicator of poor treatment outcome? *J Clin Oncol*. 1999; 17(1):293-7.
  42. Greaves, M. F., Chan, L. C., Furley, A. J. W. Watt, S. M., Molgaard, H. Lineage promiscuity in hemopoietic differentiation and leukemia. *Blood*. 1986; 67: 1-11.
  43. Lowenberg B, Dowling JR, Burnett A. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999; 341(19):1484.
  44. Abul K. Abbas, Andrew H., Litchman., Shiv Pillai. *Inmunología: celular y molecular*. Libre 7° Ed. 2009; 5: 109-137.
  45. Hong C., Joseph B. Extramedullary infiltrates of AML are associated with CD56 expression, 11q23 abnormalities and inferior clinical outcome. *Leukemia Research* 28 2004; 1007–1011.
  46. Itoh S, Sugawara T, Enomoto S. Clonal evolution of blasts in an elderly patient with CD56 + relapsed acute promyelocytic leukemia. *Am J Hematol*. 2002; 69:59-63.
  47. Shereen E. M.D., Rasha H. M.D., CD56 and CD19 Antigens Expression in Acute Myeloid Leukemia Identifies Patients with Adverse Prognosis in Egypt. *International Journal of Science and Research* 2014; 523–530.
  48. Portal del INEN [Página principal en Internet], Misión y visión [actualizada en 2015]. <http://portal.inen.sld.pe>

49. Shishan Xiao, Hongqian Zhu, Correlation study on CD7, CD34, CD56, and HLA-DR expressions and its prognosis among patients with acute myeloid leukemia. *Biomedical Research* 2017; 6786–6790.
50. Dr Subh S., Al-Mudallal, Evaluation of CD9 and CD56 antigens expression in adult acute myeloid leukemia. *International Journal of Advances Research* 2016; 2138–2150.
51. Prognostic importance of CD56 expression in intermediate risk acute myeloid leukemia. *British Journal of Hematology* 2016; 1–4.
52. Jordi Junca, Montse García-Caro, Correlation of CD11b and CD56 expression in adult acute myeloid leukemia with cytogenetic groups and prognosis. *Ann Hematol* 2014.
53. Hong C., Fariha Salma, Prognostic relevance of immunophenotyping in 379 patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia Research* 2003; 43–48.
54. Eros Di Bona, Roberto Sartori, Prognostic significance of CD56 antigen expression in acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2002; 87; 250–256.
55. Ciolli S., Leoni F., Prognostic impact of CD56 in 141 cases of acute leukemia. *Haematologica* 2001; (Suppl 10) 86:a17 [abstract].
56. Ferrara F, Morabito F, Martino B, Specchia G, Liso V, Nobile F, et al. CD56 expression is an indicator of poor clinical outcome in patients with acute promyelocytic leukemia treated with simultaneous all-trans-retinoic acid and chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2000; 18(6): 1295-300.
57. Claudio Ortolani MD (2011): CD56 Antigen. *Flow Cytometry of Hematological Malignancies*; pag 77-79.
58. Kallian, Flores-Montero, Van der Velden, et al., EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. *Leukemia* 2012; 26: 1986-2010.

59. Swerdlow S., Campo E., Lee N., et al., WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues 2017; pag 10-11.

# ANEXOS

## ANEXO N°1

Sobre el cáncer:


**INCan**  
 Instituto Nacional de Cancerología

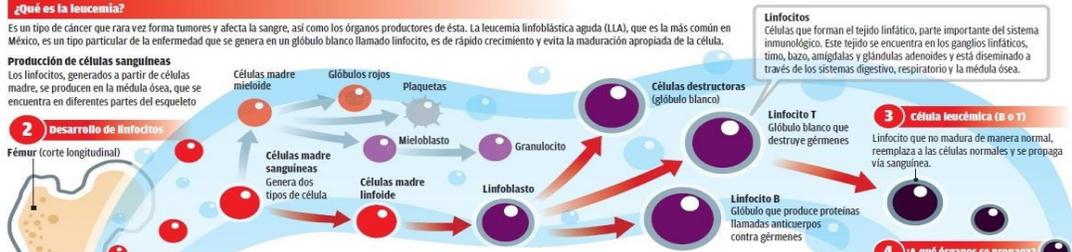
---

**¿Qué es la leucemia?**

Es un tipo de cáncer que rara vez forma tumores y afecta la sangre, así como los órganos productores de ésta. La leucemia linfoblástica aguda (LLA), que es la más común en México, es un tipo particular de la enfermedad que se genera en un glóbulo blanco llamado linfocito, es de rápido crecimiento y evita la maduración apropiada de la célula.

**Producción de células sanguíneas**

Los linfocitos, generados a partir de células madre, se producen en la médula ósea, que se encuentra en diferentes partes del esqueleto



**2 Desarrollo de linfocitos**

Fémur (corte longitudinal)

Producción de células madre

Médula ósea: Parte interna del hueso donde se forman las nuevas células de la sangre.

Células madre mieloide → Glóbulos rojos, Plaquetas, Mieloblasto → Granulocito, Células destructoras (glóbulo blanco)

Células madre sanguíneas → Genera dos tipos de célula → Células madre linfóide → Linfoblasto → Linfocito T (Glóbulo blanco que destruye gérmenes), Linfocito B (Glóbulo que produce proteínas llamadas anticuerpos contra gérmenes)

**3 Célula leucémica (B o T)**

Linfocito que no madura de manera normal, reemplaza a las células normales y se propaga vía sanguínea.

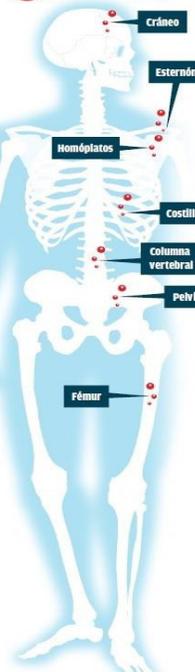
**4 ¿A qué órganos se propaga?**

Cerebro\*, Hígado, Bazo, Médula espinal\*, Ganglios linfáticos, Testículos

LEUCEMIA

» Casi uno de cada cinco mexicanos diagnosticados con cáncer padece este tipo de enfermedad. Por su desarrollo se puede clasificar en aguda o crónica, dependiendo cuánto maduren los glóbulos; mientras que por el tipo de células que afecta se divide en mieloide o linfocítica.

**1 Huesos con médula ósea**



Cráneo, Esternón, Hombros, Costillas, Columna vertebral, Pélvis, Fémur

**SÍNTOMAS**

- Moretones frecuentes
- Sangrado en nariz o encías
- Infecciones recurrentes
- Dolor de hueso o articulaciones
- Inflamación de hígado
- Inflamación de ganglios linfáticos
- Sensación de cansancio
- Mareos
- Fiebre
- Dificultad para respirar
- Debilidad

Son resultado de carencias de células sanguíneas normales, esto sucede cuando las células leucémicas desplazan a las células productoras de sangre.

**DIAGNÓSTICO**

- Examen físico: Efectuado por el médico para detectar inflamación, sangrado o infecciones.
- Análisis de sangre: Se conocerá el número de glóbulos blancos, rojos y plaquetas.
- Pruebas de médula ósea: Se obtienen muestras de la parte posterior del hueso de la pelvis.
- Citogenética, citometría y citotómica: Diversos estudios que involucran el análisis de la célula leucémica.
- Punción lumbar: Busca células dañadas en el líquido cefalorraquídeo (en el cerebro) y la médula espinal.

**TRATAMIENTO**

- Quimioterapia: Mediante medicamentos se combate la enfermedad.
- Terapia dirigida: Uso de nuevos medicamentos dirigidos a partes específicas de las células cancerosas.
- Trasplante de células madre: El objetivo es reemplazar las células leucémicas por células sanas, ya sean del propio paciente o de un donante compatible.

**En México**

18% de los enfermos hospitalizados en 2009 fue por leucemia.

38% de los niños con leucemia tiene entre 5 y 9 años.

3.4% de los enfermos de cáncer fallecen por leucemia.

**En el mundo**

Incidencia de la enfermedad por cada 100 mil habitantes. Ambos sexos, todas las edades (2008).

|             |             |             |             |              |
|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Menor a 2.2 | Menor a 3.8 | Menor a 5.0 | Menor a 6.5 | Menor a 11.9 |
|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|

**Fallecieron por la enfermedad**

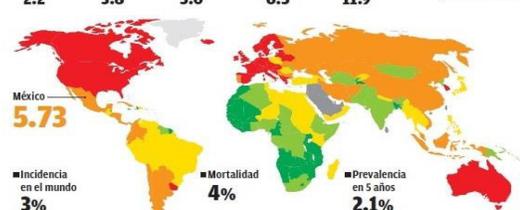


Julio Cortázar, escritor argentino

Béla Bartók, músico austrohúngaro

Marie Curie, química y física polaca

José Saramago, escritor portugués



México: 5.73

Incidencia en el mundo: 3%

Mortalidad: 4%

Prevalencia en 5 años: 2.1%

[www.infocancer.org.mx](http://www.infocancer.org.mx)

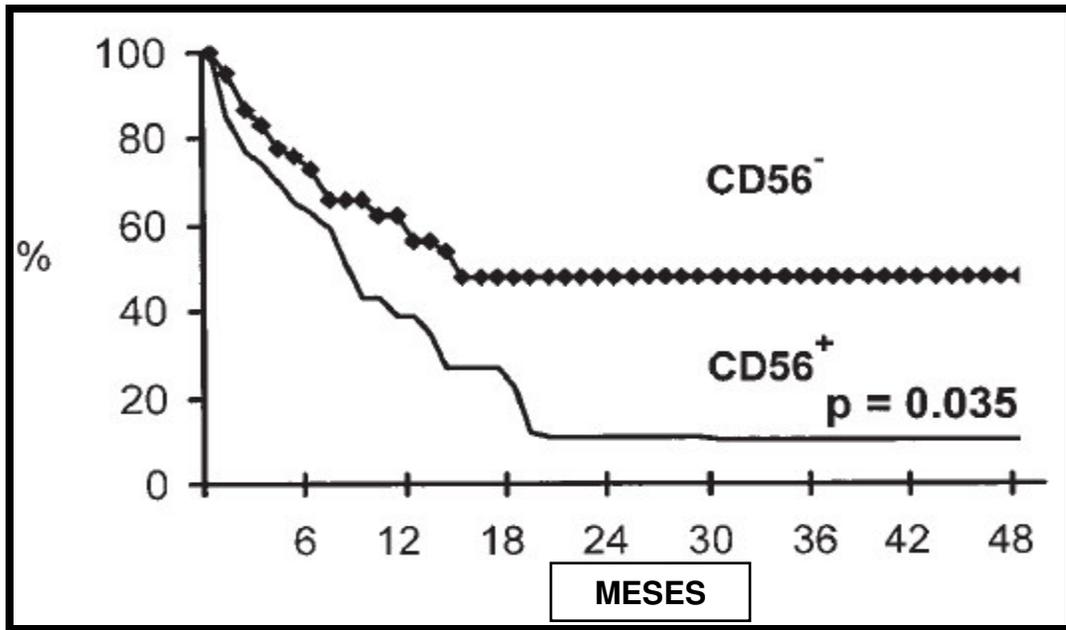
Fuente: Instituto Nacional de Cancerología, Sociedad Americana del Cáncer, Globocan y Organización Mundial de la Salud

Infografía: Alfredo San Juan Padilla

\*Fuente: Sobre el Cáncer: Leucemia, INCan

## ANEXO N°2

### Curvas de supervivencia global de pacientes con LMA según la expresión de CD56.



\*Fuente: Leukemia, fig. 1, p. 1163

Análisis de supervivencia y, como se muestra en la Figura 1, en los pacientes con CD56 + la supervivencia global mediana fue más corta que en los casos CD56 (6 vs 12 meses, respectivamente). Sin embargo, cabe señalar que este hallazgo tuvo una significación estadística ( $P = 0,032$ ) junto con otros factores pronósticos como la edad, la intensidad de expresión de CD34, anomalías citogenéticas y Expresión de CD56. En contraste, en el análisis multivariado, probablemente debido al bajo número de casos, la supervivencia global sólo se afectó significativamente por la edad, el recuento de glóbulos blancos, la expresión de CD34 y no por la expresión de CD56.

## ANEXO N°3

### Clasificación de las leucemias agudas según Grupo Franco-Americano-Británico

|  | Categoría                                | Comentarios  |
|--|--|--|
| LMA  |  |  |
| M0   | LMA no diferenciada                      | Pobre pronóstico   |
| M1   | LMA con diferenciación mínima            | Bastones de Auer en blastos                              |
| M2   | LMA con maduración                       | Pronóstico favorable en jóvenes                          |
| M3   | Leucemia promielocítica                  | Blastos granulados; coagulopatías                        |
| M4   | Leucemia mielomonocítica                 | Diferenciación mieloide/monocítica                       |
| M4eo   | Leucemia mielomonocítica con eosinofilia | Relativo buen pronóstico                                 |
| M5a  | Leucemia monocítica, poco diferenciada   | Enfermedad extramedular                                  |
| M5b  | Leucemia monocítica, bien diferenciada   | Igual que la M5a   |
| M6   | Leucemia eritroide                       | Rara; pronóstico pobre                                   |
| M7   | Leucemia megacariocítica                 | Rara; médula ósea fibrótica; pronóstico pobre            |
| LLA  |  |  |
| L1   | LLA infantil                             | Los blastos son células pequeñas con citoplasma pequeño  |
| L2   | LLA adulto                               | Los blastos son células grandes con citoplasma medio     |
| L3   | B-células maduras                        | Los blastos son células redondas con citoplasma basófilo |
| LMA = leucemia mieloide aguda; LLA = leucemia linfocítica aguda. |  |  |

\*Fuente: Hematología Clínica (2014), capítulo 10, tabla N°2, p. 1033.

## ANEXO N° 4

### Citoquímica de Leucemia Mieloides Agudas

| Citoquímica                            | M <sub>1</sub> | M <sub>2</sub> | M <sub>3</sub> | M <sub>4</sub> | M <sub>5</sub> | M <sub>6</sub> | M <sub>7</sub> |
|--|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Peroxidasa                             | Positivo       | Positivo       | Positivo       | Positivo       | Débil positivo | Positivo       | Negativo       |
| Negro Sudán                            | Positivo       | Positivo       | Positivo       | Positivo       | Débil positivo | Positivo       | Negativo       |
| Ácido peryódico de Schiff (PAS)        | Débil positivo | Débil positivo | Positivo       | Positivo       | Débil positivo | Positivo       | Débil positivo |
| Cloroacetato esterasa específica (CAE) | Débil positivo | Positivo       | Positivo       | Positivo       | Negativo       | Positivo       | Negativo       |
| Naftol-AS-D-acetato esterasa (NASDA)   | Positivo       |
| Alfa naftil acetato esterasa (ANAE)    | Negativo       | Negativo       | Negativo       | Positivo       | Positivo       | Positivo       | Positivo       |
| Alfa naftil butirato esterasa (ANBE)   | Negativo       | Negativo       | Negativo       | Positivo       | Positivo       | Positivo       | Negativo       |
| Muramidasa                             | Variable       | Variable       | Variable       | Elevada        | Elevada        | Variable       | Negativo       |
| Fosfatasa ácida                        | Débil positivo | Positivo       | Positivo       | Positivo       | Positivo       | Positivo       | Positivo       |

\*Fuente: Laboratorio Clínico (1999), cap. 26, tabla 3.23.

## ANEXO N° 5

### Inmunofenotipo de Leucemias Mieloides Agudas

| Antibody | AML<br>M0-2 | AML-M2<br>t(8:21) | AML-M3<br>(APL) | AML-M4 |           | AML-M5  | AML-M6  | AML-M7   |
|----------|-------------|-------------------|-----------------|--------|-----------|---------|---------|----------|
|          |             |                   |                 | Blasts | Monocytes |         |         |          |
| CD2      | -           | -                 | +/-             | -      | -         | -       | -       | -        |
| CD3      | -           | -                 | -               | -      | -         | -       | -       | -        |
| CD4      | +/-         | +/-               | +/-             | +/-    | +         | +       | -       | -/+      |
| CD7      | -/+         | -/+               | -/+             | -/+    | +/-       | +/-     | -       | -/+      |
| CD10     | -           | -                 | -               | -      | -         | -       | -       | -        |
| CD11b    | -           | -                 | -               | -      | +         | +       | -       | -        |
| CD11c    | -/+         | -/+               | -/+             | +/-    | +         | +       | -       | -        |
| CD13     | +           | +                 | +               | +      | +         | dim+    | -       | -/dim+   |
| CD14     | -           | -                 | -               | -      | +         | +/-     | -       | -        |
| CD16     | -           | -                 | -               | -      | -         | -/+     | -       | -        |
| CD19     | -           | +                 | -               | -      | -         | -       | -       | -        |
| CD20     | -           | -                 | -               | -      | -         | -       | -       | -        |
| CD22     | -           | -                 | -               | -      | -         | -       | -       | -        |
| CD33     | +           | +                 | +               | +      | +         | bright+ | -       | bright+  |
| CD34     | +           | +                 | -               | +      | -         | +/-     | +/-     | -/rare+  |
| CD41     | -           | -                 | -               | -      | -         | -       | -       | +        |
| CD45     | +           | +                 | +               | +      | +         | +       | -/rare+ | +/-rare- |
| CD56     | -/+         | +/-rare-          | -/+             | -      | -/+       | +/-     | -/rare+ | -/rare+  |
| CD61     | -           | -                 | -               | -      | -         | -       | -       | +        |
| CD64     | -/+         | -/+               | -/+             | -/+    | +         | +/-     | -       | -        |
| CD79a    | -           | -                 | -               | -      | -         | -       | -       | -        |
| CD117    | +           | +                 | +               | +      | -         | -/+     | dim+    | dim+     |
| HLA-DR   | +/-rare-    | +/-rare-          | -               | +      | +         | +/-     | +       | -/dim    |
| TdT      | -/+         | -/+               | -               | -      | -         | -       | -       | -        |
| GPHA     | -           | -                 | -               | -      | -         | -       | +       | -        |
| clgM     | -           | -                 | -               | -      | -         | -       | -       | -        |

\*Fuente: Wood B. Multicolor immunophenotyping: Human immune system hematopoiesis (2004), cap. 75, p 559-576.

## ANEXO N°6

### Factores de Riesgo de LMA

| Grupo de riesgo           | Cromosomas <sup>1</sup> (análisis citogenético)                                       | Genes (análisis molecular)   |
|---------------------------|---|--|
| <b>El más favorable</b>   | Translocación 8;21 (Subtipo M2)   | <i>RUNX1-RUNX1T1</i>   |
|                           | Translocación 15;17 (subtipo M3, APL)   | <i>PML-RAR<math>\alpha</math></i> (APL)  |
|                           | Translocación 16;16 o inversión 16 (Subtipo M4)                                       | <i>CBF-<math>\beta</math>MYH11</i>   |
|                           | Sin cambios cromosómicos  | Mutación de <i>NPM1</i> o <i>CEBPA</i> , sin <i>FLT3-ITD</i>                                 |
| <b>Intermedio</b>         | Sin cambios cromosómicos  |  |
|                           | Translocación 9;11  | <i>MLL3-MLL</i>  |
|                           | Otros cambios cromosómicos no identificados (menos de 3 cambios)                      |  |
|                           | Trisomía 8 <sup>2,3</sup>   |  |
| <b>El menos favorable</b> | Delección de la totalidad o parte de los cromosomas 5 y 7b                            |  |
|                           | Translocación 6;9   | <i>DEK-NUP214</i>  |
|                           | Inversión 3 o translocación 3;3   | <i>RPNI-EVI1</i>   |
|                           | v; translocación 11q23  | <i>MLL</i> reordenado  |
|                           | Monosomía 5, del(5q), monosomía 7   |  |
|                           | 3 o más cambios cromosómicos sin una de las translocaciones o inversiones recurrentes |  |
|                           | Sin cambios cromosómicos  | <i>FLT3-ITD</i> con o sin mutación <i>NPM1</i> y sobreexpresión de <i>ERG</i> y <i>BAALC</i> |

<sup>1</sup> Los cambios citogenéticos a veces se abrevian. Por ejemplo:  
 ○ Una translocación puede escribirse como t(8;21)  
 ○ Una inversión puede escribirse como inv(16)  
 ○ Una delección puede escribirse como del(7) o -7  
 ○ La letra "v" es una abreviatura que se usa para indicar un cromosoma variable. Por ejemplo, una translocación 11q23 a veces afecta a genes aparte del *MLL*.

Vea las páginas 33 a 50 para obtener definiciones de los términos.

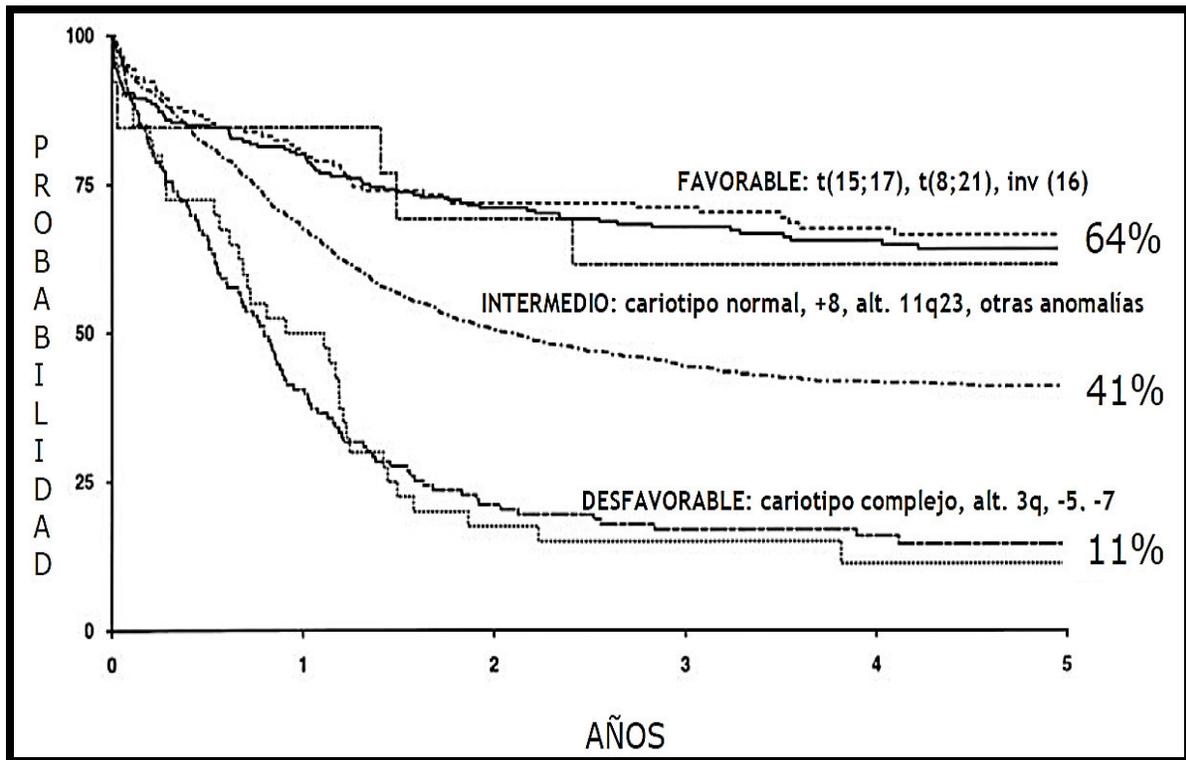
<sup>2</sup> Asociación de genes que no se define.

<sup>3</sup> La trisomía 8 está distribuida igualmente entre los subgrupos de riesgo y no afecta el riesgo en ausencia de cambios genéticos. Se continúa estudiando el impacto de otros genes como *IDH1*, *IDH2* y *WT1*.

\*Fuente: Revista sobre Leucemia Mieloide Aguda (2011), tabla 2, p. 13

## ANEXO N° 7

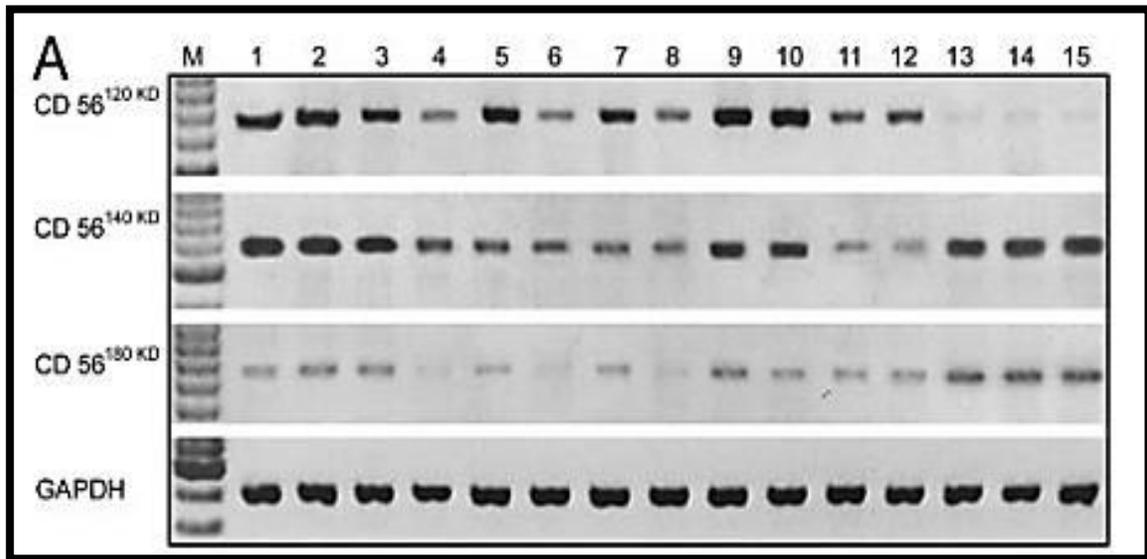
### Supervivencia global de los pacientes con LMA según el riesgo citogenético



\*Fuente: Caracterización Biológica de la LMA con translocación t(8;16)(p11;p13) y reordenamiento MYST3-CREBBP, fig. 1, p. 17

## ANEXO N° 8

### CD56 RT-PCR cuantitativa específica de la isoforma usando cDNAs de tejidos normales y neoplasmas malignos.

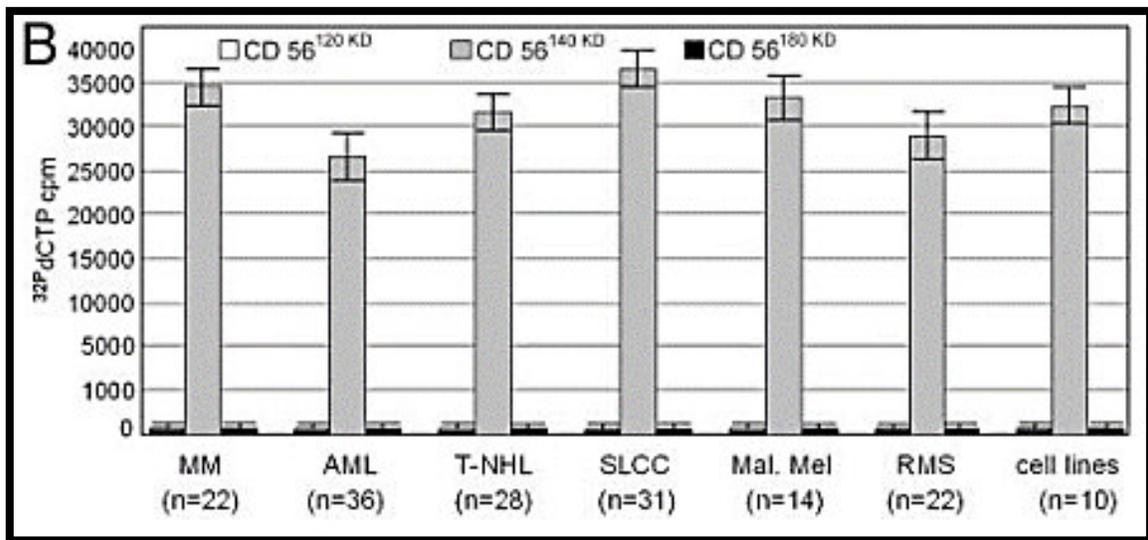


\*Fuente: Blood Journal, fig. 1, p1163

A: Detección de ARN isoforma de CD56 en tejidos normales (carril 1 = duodeno, carril 2 = glándula salival, carril 3 timo, carril 4 = nódulo linfático, carril 5 = bazo, carril 6 = hígado, carril 7 = testículos, carril 8 = pulmón, carril 9 = riñón, carril 10 = páncreas, carril 11 = amígdala, carril 12 = placenta, carril 13 = corteza cerebral, carril 14 = ganglios basales, carril 15 = cerebelo) en cinco muestras diferentes de pacientes individuales en comparación con los transcritos de GAPDH (control de carga).

## ANEXO N° 9

### CD56 RT-PCR cuantitativa específica de la isoforma usando cDNAs de tejidos normales y neoplasmas malignos.



\*Fuente: Blood Journal, fig. 1, p1163

B: Detección de ARN isoforma CD56 muestras humanas ex vivo de CD56+ maligna (n = 153) de diferente tipo Mieloma múltiple (MM, n = 22), Leucemia mieloide aguda (LMA, n = 36), maligno T-NHLs y NK/linfomas de células T (T-NHL, n = 28), Carcinomas de células (SLCC, n = 31), Melanomas malignos (Mal. Mel, n = 14) y Rbdomiosarcomas (RMS, n = 22) así como en líneas celulares de tumores CD56 (líneas celulares, n = 10).

## ANEXO N° 10

### Operacionalización de Variables

| Variable                       | Definición conceptual de la variable  | Dimensiones | Definición dimensional de la variable   | Naturaleza y escala    | Indicador                                      | Valores             | Instrumento de recolección      |
|--------------------------------|---|-------------|---|------------------------|--|---------------------|---------------------------------|
| <b>Antígeno CD56</b>           | Glicoproteínas de superficie celular  | Frecuencia  | Presencia del antígeno CD56 en las LMA  | Cuantitativo Intervalo | Expresión (Porcentaje %)                       | >20                 | Formato de Recolección de Datos |
| <b>Leucemia Mieloide Aguda</b> | Proliferación de células muy inmaduras (blastos) que desplazan la hematopoyesis normal. | Hemograma   | Cuento sanguíneo completo que incluye los recuentos celulares totales y diferenciales, junto al dosaje de hemoglobina.                                | Cuantitativa Intervalo | Hemoglobina (g/dl)                             | M: <8<br>H: <9      | Formato de Recolección de Datos |
|                                |   |             |   |                        | Trombocitopenia (células/L)                    | <20x10 <sup>9</sup> |                                 |
|                                |   |             |   |                        | Leucocitosis (Células/mm <sup>3</sup> )        | <11x10 <sup>3</sup> |                                 |
|                                |   |             |   |                        | Blastos o Blastos equivalentes* (Porcentaje %) | >20                 |                                 |
|                                |   | Mielograma  | Procedimiento de aspiración de médula ósea para preparación de frotis, tinción, examen al microscopio, interpretación y diagnóstico de tejido medular | Cuantitativa Intervalo | Blastos o Blastos equivalentes* (Porcentaje %) | >20                 | Formato de Recolección de Datos |

|  |  |                |  |              |   |   |                                 |
|--|--|----------------|--|--------------|---|---|---------------------------------|
|  |  | Inmunofenotipo | Procedimiento para determinar, clasificar y caracterizar a las células | Cualitativa  | Presencia o ausencia                    | HLA-DR<br>MPO<br>CD11b<br>CD13<br>CD14<br>CD15<br>CD16<br>CD33<br>CD34<br>CD36<br>CD41<br>CD42a<br>CD42b<br>CD64<br>CD71<br>CD117 | Formato de Recolección de Datos |
|  |  | Citogenético   | Cariotipo en médula ósea   | Cualitativa  | Presencia o ausencia                    | t(8;21)<br>t(15;17)<br>inv(16)<br>t(6;9)<br>inv(3)<br>t(1;22)   | Formato de Recolección de Datos |
|  |  | Pronóstico     | Evolución de una enfermedad y las posibilidades de curación.           | Cuantitativa | Ingreso del Paciente hasta su Inducción | 1 mes   | Formato de Recolección de Datos |

\*Acute myeloid leukemia, Introduction and overview of the classification of myeloid neoplasmas, WHO (2017), pag. 25.

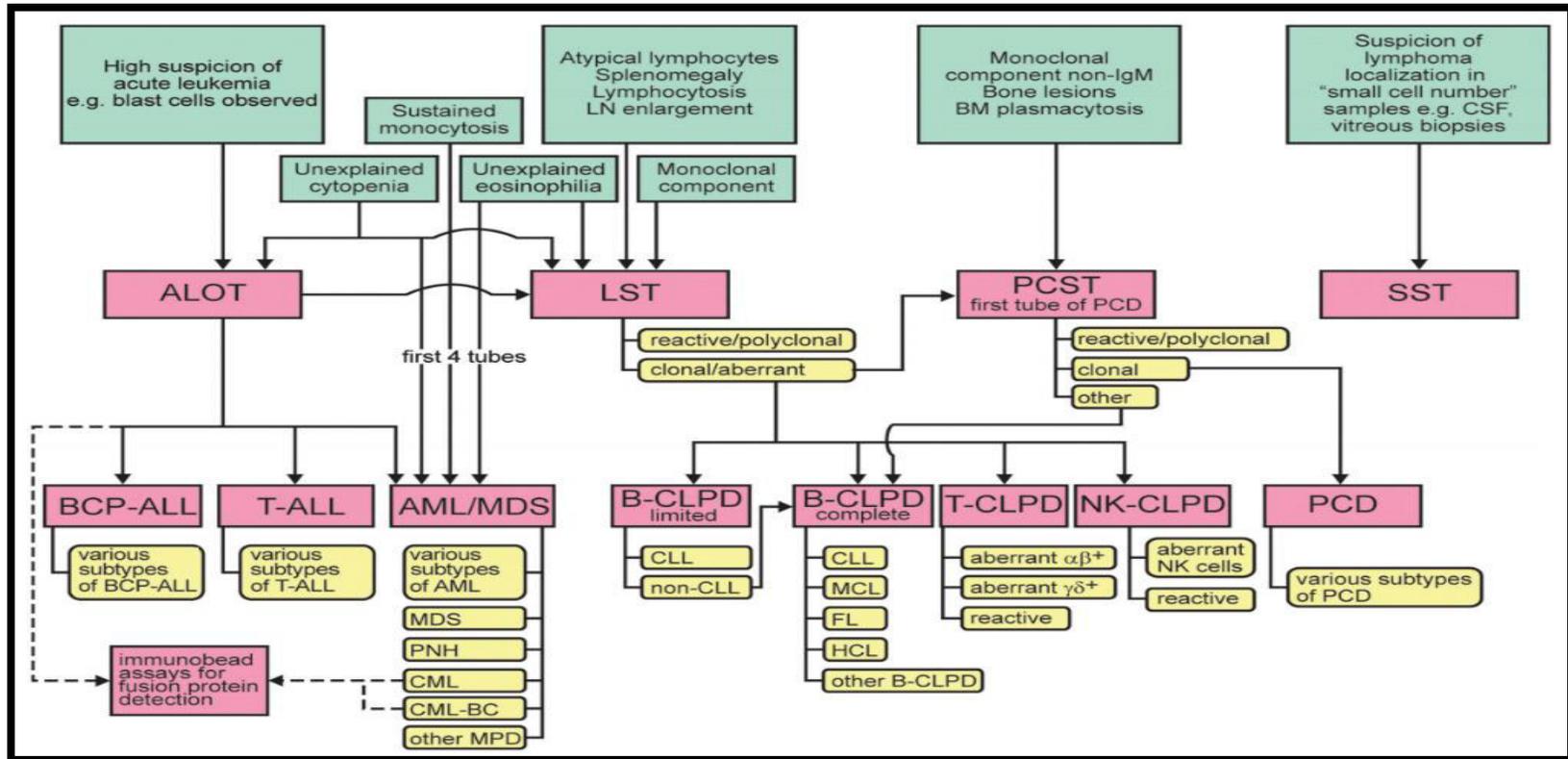
## ANEXO N°11

### Formato de Recolección

|   |   |                         |                       |  |       |
|---|---|-------------------------|-----------------------|--|-------|
| <h1 style="margin: 0;">CÓDIGO</h1> <hr style="border: 1px solid black;"/> | <b>NÚMERO DE HISTORIA CLÍNICA:</b><br><br><b>EDAD:</b><br><br><b>SEXO:</b> MASCULINO <input type="checkbox"/> FEMENINO <input type="checkbox"/><br><br><b>CD56:</b> AUSENCIA: <input type="checkbox"/> _____<br>PRESENCIA: <input type="checkbox"/> _____<br>HETEROGENEIDAD: <input type="checkbox"/> _____ |                         |                       |  |       |
| <b>HEMOGRAMA</b>  |   |                         | <b>INMUNOFENOTIPO</b> |  |       |
| HEMOGLOBINA   |   | g/dl                    | HLA-DR                |  | CD34  |
| PLAQUETAS   |   | células/l               | MPO                   |  | CD36  |
| LEUCOCITOS  |   | células/mm <sup>3</sup> | CD11b                 |  | CD41  |
| BLASTOS   |   | %                       | CD13                  |  | CD42a |
| <b>MIELOGRAMA</b>   |   |                         | CD14                  |  | CD42b |
| BLASTOS   |   | %                       | CD15                  |  | CD64  |
|   |   |                         | C16                   |  | CD71  |
|   |   |                         | CD33                  |  | CD117 |
| <b>PRONÓSTICO</b>   |   |                         | <b>OBSERVACIONES</b>  |  |       |
| PASIVO (MUERTO)   |   |                         |                       |  |       |
| ACTIVO (VIVO)   |   |                         |                       |  |       |
| FECHA DE DIAGNÓSTICO:   |   |                         |                       |  |       |
| FECHA DE FINAL DE INDUCCIÓN:  |   |                         |                       |  |       |

## ANEXO N°12

### Flujograma de la estrategia *EuroFlow* para la caracterización inmunofenotípica de las hematologías malignas



\*Fuente: EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes, Leukemia (2012), tabla. 14, p. 1909.

## ANEXO N°13

### Panel de anticuerpos *EuroFlow* para LMA/SMD

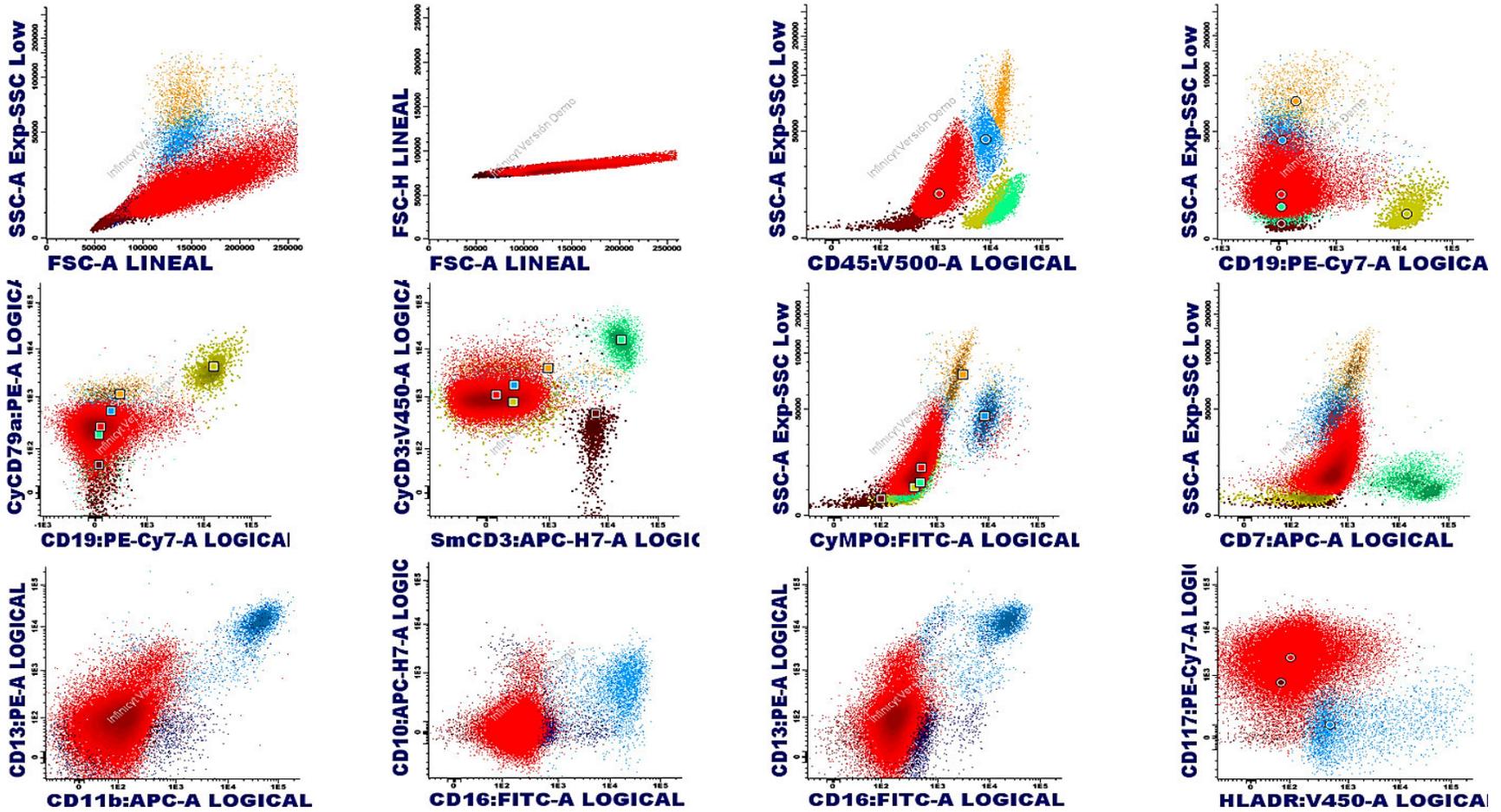
| The EuroFlow AML/MDS antibody panel <sup>a,b</sup> |             |             |                |           |                   |              |                |              |  |
|--|-------------|-------------|----------------|-----------|-------------------|--------------|----------------|--------------|--|
| <i>Tube</i>  | <i>PacB</i> | <i>PacO</i> | <i>FITC</i>    | <i>PE</i> | <i>PerCPCy5.5</i> | <i>PECy7</i> | <i>APC</i>     | <i>APCH7</i> | <i>Aim</i>   |
| 1  | HLADR       | CD45        | CD16           | CD13      | CD34              | CD117        | CD11b          | CD10         | Diagnosis and classification, neutrophilic maturation, PNH   |
| 2  | HLADR       | CD45        | CD35           | CD64      | CD34              | CD117        | CD300e (IREM2) | CD14         | Diagnosis and classification, monocytic maturation, PNH  |
| 3  | HLADR       | CD45        | CD36           | CD105     | CD34              | CD117        | CD33           | CD71         | Diagnosis and classification, erythroid maturation   |
| 4  | HLADR       | CD45        | NuTdT          | CD56      | CD34              | CD117        | CD7            | CD19         | Aberrant expression of lymphoid markers, abnormal B lymphoid maturation                                  |
| 5  | HLADR       | CD45        | CD15           | NG2       | CD34              | CD117        | CD22           | CD38         | Aberrant marker expression, stem cells   |
| 6  | HLADR       | CD45        | CD42a and CD61 | CD203c    | CD34              | CD117        | CD123          | CD4          | Diagnosis and classification of AML Megakaryocytic, basophilic, and plasmacytoid dendritic cell lineages |
| 7  | HLADR       | CD45        | CD41           | CD25      | CD34              | CD117        | CD42b          | CD9          | Characterization of megakaryoblastic leukemia, and systemic mastocytosis                                 |

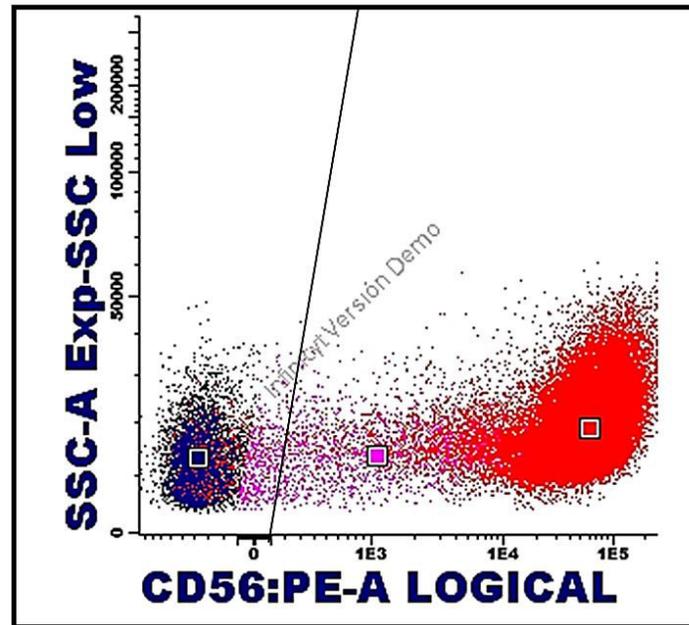
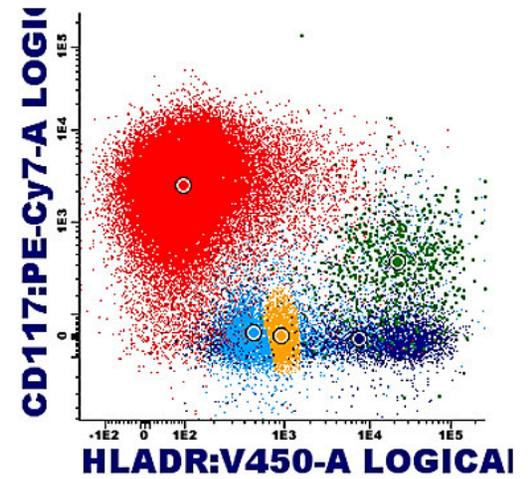
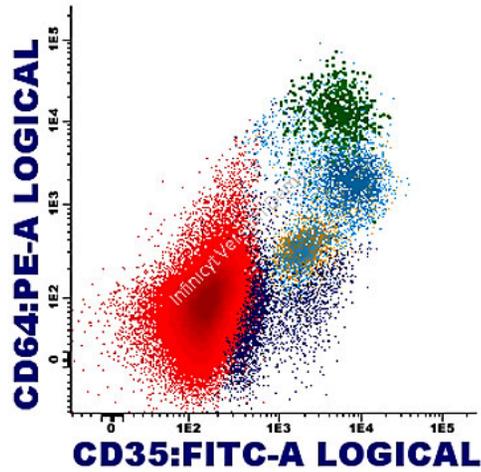
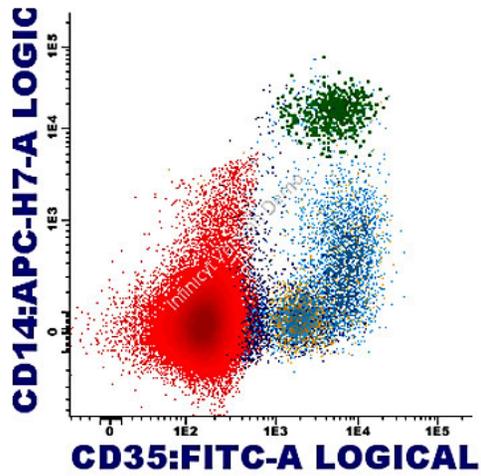
Abbreviations: AML, acute myeloid leukemia; APC, allophycocyanin; BB, backbone; BM, bone marrow; Cy7, cyanin7; FITC, fluorescein isothiocyanate; H7, hilite7; MDS, myelodysplastic syndrome; Nu, nuclear; PacB, pacific blue; PacO, pacific orange; PE, phycoerythrin; PerCPCy5.5, peridinin-chlorophyll-protein-cyanin5.5; PNH, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. <sup>a</sup>Further information about markers and hybridomas is provided in the Appendix. <sup>b</sup>A total of 96 BM samples were evaluated for selection of the BB markers. An additional 84 BM AML samples were evaluated with this version (final) of the panel.

\* Fuente: EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes, *Leukemia* (2012), tabla. 14, p. 1939

# ANEXO N°14

## Análisis de un caso en el *Infinicyt*





- Los blastos mieloides son el 67.65%, de los cuales el 100% son CD56+
- CD56+++

# ANEXO N°15

## Solicitud de autorización de investigación al INEN



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS  
Av. Angamos Este 2520 Lima 34 - Perú



### SOLICITUD DE REVISIÓN DE PROYECTOS

N° PROYECTO.....  
(Retrospectivo)

N° PROTOCOLO.....  
(Prospectivo)

TÍTULO FRECUENCIA DEL MARCADOR CD56 EN  
PACIENTES DIAGNOSTICADOS CON LEUCEMIA MIELOIDE  
AGUDA EN EL INEN EN EL PERÍODO 2014-2016

INVESTIGADOR PRINCIPAL, TELÉFONO, E-MAIL:

CÉSAR RICARDO PONCE JAUREGUI  
Nombres y Apellidos

[Firma]  
Sello y Firma

Edad: 20 a 30  30a40  40a50  50a60  60 a más

Título Profesional: \_\_\_\_\_

Grado Académico: ESTUDIANTE

Lugar de Trabajo: UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Correo Electrónico: RICARDOUNMSM9@GMAIL.COM

Teléfonos: 964 286 323 46047 11

Institución al que pertenece: \_\_\_\_\_

INVESTIGADORES ASOCIADOS Y/O ASESOR(ES):

1.- RICARDO M. RODRIGUEZ TORRES .....  
Nombre Apellidos Sello y firma

2.- JUDITH VIDAL AYLLON .....  
Nombre Apellidos Sello y firma

3.- JULIA MOYA NARANJO .....  
Nombre Apellidos Sello y firma

4.- DANIEL ENRIQUEZ VERA .....  
Nombre Apellidos Sello y firma

5.- \_\_\_\_\_ .....  
Nombre Apellidos Sello y firma

Departamento de Investigación

## ANEXO N°16

### Carta de aprobación del Trabajo de Investigación por el INEN



PERÚ

Ministerio  
de Salud

Instituto Nacional de Enfermedades  
Neoplásicas



“AÑO DEL DIÁLOGO Y LA RECONCILIACIÓN NACIONAL”

Surquillo, 08 de Mayo de 2018

CARTA N° 045 - 2018-CRP-DI-DICON/INEN

Sr.:  
**CESAR RICARDO PONCE JAUREGUI**  
Investigador Principal  
Presente.-

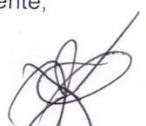
De nuestra consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarle cordialmente e informarle que el Comité Revisor de Protocolos del Departamento de Investigación del INEN, ha revisado y aprueba el trabajo de Investigación Titulado: **“FRECUENCIA DEL MARCADOR CD56 EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS CON LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA EN EL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS 2014 - 2016”**. INEN 18-40

De acuerdo con las normas deberá presentar un informe sobre los avances del dicho proyecto, así como las conclusiones del mismo a esta Oficina.

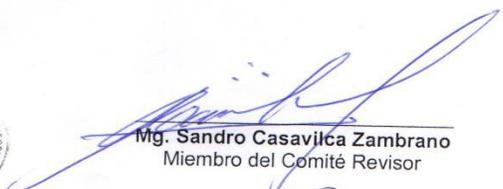
Esperando la respuesta para la respectiva aprobación, quedamos de Usted.

Atentamente,

  
M.C. Vásquez Chávez Jule  
Presidente del Comité Revisor

  
M.C. Henry Valdivia Franco  
Miembro del Comité Revisor



  
Mg. Sandro Casavilca Zambrano  
Miembro del Comité Revisor

  
M.C. Marga López Contreras  
Miembro del Comité Revisor

  
M.C. Alberto Lachos Dávila  
Miembro del Comité Revisor

## ANEXO N°17

### Crterios de Respuesta en LMA

| Category   | Definition  | Comment   |
|--|---|---|
| <b>Response</b>  |   |   |
| • CR without minimal residual disease (CR <sub>MRD</sub> )   | If studied pre-treatment, CR with negativity for a genetic marker by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR), or CR with negativity by multi-color flow cytometry  | Sensitivities vary by marker tested, and by method used; therefore, test used and sensitivity of the assay should be reported; analyses should be done in experienced laboratories (centralized diagnostics)                                  |
| • Complete remission (CR)                                    | Bone marrow blasts <5%; absence of circulating blasts and blasts with Auer rods; absence of extramedullary disease; absolute neutrophil count $\geq 1.0 \times 10^9/L$ (1,000/ $\mu$ L); platelet count $\geq 100 \times 10^9/L$ (100,000/ $\mu$ L) | MRD positive or unknown   |
| • CR with incomplete hematologic recovery (CR <sub>i</sub> ) | All CR criteria except for residual neutropenia [ $<1.0 \times 10^9/L$ (1,000/ $\mu$ L)] or thrombocytopenia [ $<100 \times 10^9/L$ (100,000/ $\mu$ L)]   |   |
| • Morphologic leukemia-free state (MLFS)                     | Bone marrow blasts <5%; absence of blasts with Auer rods; absence of extramedullary disease; no hematologic recovery required   | Marrow should not merely be "aplastic"; at least 200 cells should be enumerated or cellularity should be at least 10%   |
| • Partial remission (PR)                                     | All hematologic criteria of CR; decrease of bone marrow blast percentage to 5% to 25%; and decrease of pretreatment bone marrow blast percentage by at least 50%  | Especially important in the context of phase 1-2 clinical trials  |
| <b>Treatment failure</b>                                     |   |   |
| • Primary refractory disease                                 | No CR or CR <sub>i</sub> after 2 courses of intensive induction treatment; excluding patients with death in aplasia or death due to indeterminate cause   | Regimens containing higher doses of cytarabine (see Table 8) are generally considered as the best option for patients not responding to a first cycle of 7+3; the likelihood of responding to such regimens is lower after failure of a first |
| • Death in aplasia   | Deaths occurring $\geq 7$ days following completion of initial treatment while cytopenic; with an aplastic or hypoplastic bone marrow obtained within 7 days of death, without evidence of persistent leukemia                                      |   |
| • Death from indeterminate cause                             | Deaths occurring before completion of therapy, or <7 days following its completion; or deaths occurring $\geq 7$ days   |   |

\*Fuente: ELN AML Recommendations (2017), tabla. 6, p. 48

## ANEXO N°18

### Estratificación del Riesgo por genética según European Leukemia Net (2017)

| Risk Category <sup>b</sup> | Genetic Abnormality  |
|----------------------------|--|
| <b>Favorable</b>           | t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i><br>inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i><br>Mutated <i>NPM1</i> without <i>FLT3-ITD</i> or with <i>FLT3-ITD</i> <sup>low(c)</sup><br>Biallelic mutated <i>CEBPA</i>   |
| <b>Intermediate</b>        | Mutated <i>NPM1</i> and <i>FLT3-ITD</i> <sup>high(c)</sup><br>Wild type <i>NPM1</i> without <i>FLT3-ITD</i> or with <i>FLT3-ITD</i> <sup>low(c)</sup> (w/o adverse-risk genetic lesions)<br>t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i> <sup>d</sup><br>Cytogenetic abnormalities not classified as favorable or adverse  |
| <b>Adverse</b>             | t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i><br>t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> rearranged<br>t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i><br>inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2,MECOM(EVI1)</i><br>-5 or del(5q); -7; -17/abn(17p)<br>Complex karyotype, <sup>e</sup> monosomal karyotype <sup>f</sup><br>Wild type <i>NPM1</i> and <i>FLT3-ITD</i> <sup>high(c)</sup><br>Mutated <i>RUNX1</i> <sup>g</sup><br>Mutated <i>ASXL1</i> <sup>g</sup><br>Mutated <i>TP53</i> <sup>h</sup> |

<sup>a</sup> Frequencies, response rates and outcome measures should be reported by risk category, and, if sufficient numbers are available, by specific genetic lesions indicated.

<sup>b</sup> Prognostic impact of a marker is treatment-dependent and may change with new therapies.

<sup>c</sup> Low, low allelic ratio (<0.5); high, high allelic ratio (≥0.5); semi-quantitative assessment of *FLT3-ITD* allelic ratio (using DNA fragment analysis) is determined as ratio of the area under the curve (AUC) "*FLT3-ITD*" divided by AUC "*FLT3-wild type*"; recent studies indicate that acute myeloid leukemia with *NPM1* mutation and *FLT3-ITD* low allelic ratio may also have a more favorable prognosis and patients should not routinely be assigned to allogeneic hematopoietic-cell transplantation.<sup>57-59,77</sup>

<sup>d</sup> The presence of t(9;11)(p21.3;q23.3) takes precedence over rare, concurrent adverse-risk gene mutations.

<sup>e</sup> Three or more unrelated chromosome abnormalities in the absence of one of the World Health Organization-designated recurring translocations or inversions, i.e., t(8,21), inv(16) or t(16;16), t(9;11), t(v;11)(v;q23.3), t(6;9), inv(3) or t(3;3); AML with *BCR-ABL1*.

<sup>f</sup> Defined by the presence of one single monosomy (excluding loss of X or Y) in association with at least one additional monosomy or structural chromosome abnormality (excluding core-binding factor AML).<sup>116</sup>

<sup>g</sup> These markers should not be used as an adverse prognostic marker if they co-occur with favorable-risk AML subtypes.

<sup>h</sup> *TP53* mutations are significantly associated with AML with complex and monosomal karyotype.<sup>37,66-69</sup>

\*Fuente: ELN AML Recommendations (2017), tabla. 5, p. 47

## ANEXO N°19

### Expresión de los blastos CD56-/CD7

TABLA DE FRECUENCIA DE OTROS MARCADORES Y CD56-

|  |       | CD56-     |
|--|-------|-----------|
| <i>Otros marcadores<br/>(Cd7, CD19, CD79a)</i> | +     | 47% (42)  |
|  | -     | 53% (48)  |
|  | Total | 100% (90) |

TABLA DE FRECUENCIA DE CD7 Y CD56-

|            |       | CD56-     |
|------------|-------|-----------|
| <i>CD7</i> | +     | 30% (27)  |
|            | -     | 70% (63)  |
|            | Total | 100% (90) |

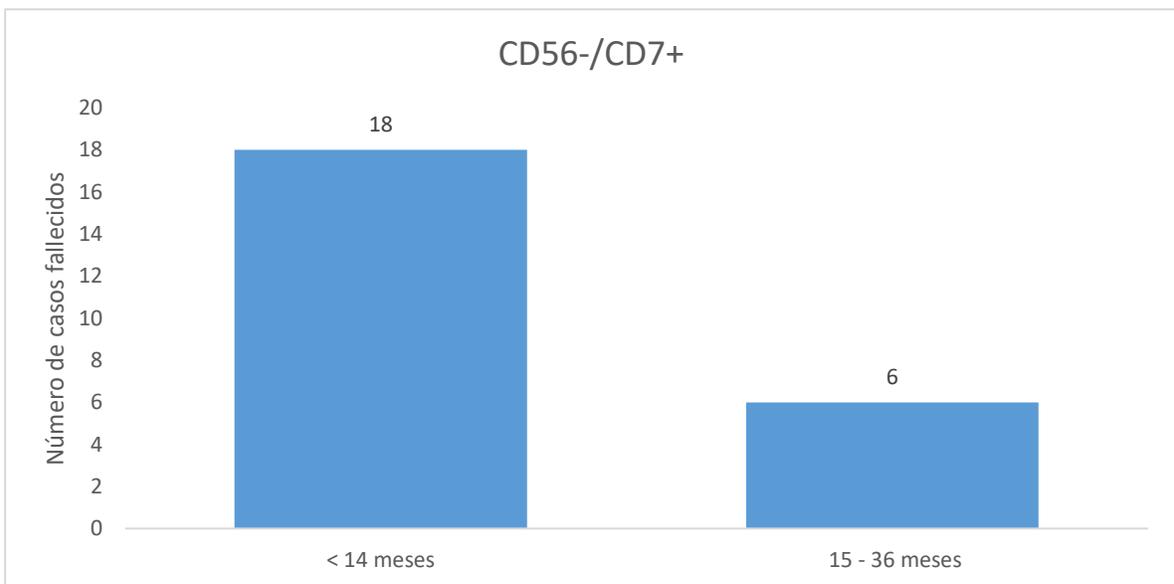


GRÁFICO DE NÚMERO DE CASOS FALLECIDOS EN GRUPOS DE MESES