



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Tecnología Médica

**Características inmunofenotípicas de las leucemias
linfoblásticas agudas diagnosticadas en un laboratorio
de Lima-Perú durante el periodo 2013-2015**

TESIS

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

AUTOR

Carlos Jesús CORTEZ RODRIGUEZ

ASESORES

Mg. Eduardo Augusto VERÁSTEGUI LARA

Lic. César RIVERA ORCOAPAZA (Coasesor)

Lima, Perú

2020



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Cortez C. Características inmunofenotípicas de las leucemias linfoblásticas agudas diagnosticadas en un laboratorio de Lima-Perú durante el periodo 2013-2015 [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Tecnología Médica; 2020.

Hoja de metadatos complementarios

Código ORCID del autor	-----
DNI o pasaporte del autor	46106711
Código ORCID del asesor	0000000281652419
DNI o pasaporte del asesor	10686383
Grupo de investigación	-----
Agencia financiadora	-----
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	<p>Lugar: Av. Del Aire 1308, San Luis. Lima-Perú</p> <p>Coordenadas geográficas:</p> <p>GD (grados decimales) *</p> <ul style="list-style-type: none"> • Latitud: -12.0813161 • Longitud: -77.0051227 <p>GMS (grados, minutos, segundos) *</p> <ul style="list-style-type: none"> • Latitud: Sur 12°4'52.738" • Longitud: Oeste 77°0'18.441"
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2013 al 2019
Disciplinas OCDE	Medicina Clínica, Hematología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.02.06



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
 Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Medicina
Escuela Profesional de Tecnología Médica



"AÑO DE LA UNIVERSALIZACIÓN DE LA SALUD"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS



Firmado digitalmente por
 FERNANDEZ GIUSTI VDA DE PELLA
 Alicia Jesus FAU 20148092282 soft
 Motivo: Soy el autor del documento
 Fecha: 08.12.2020 11:14:02 -05:00

Conforme a lo estipulado en el Art. 113 inciso C del Estatuto de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (R.R. No. 03013-R-16) y Art. 45.2 de la Ley Universitaria 30220. El Jurado de Sustentación de Tesis nombrado por la Dirección de la Escuela Profesional de Tecnología Médica, conformado por los siguientes docentes:

- Presidente: Lic. Ricardo Mafalky Rodriguez Torres
- Miembros: Lic. Boris Moisés Valdivia Vizarraga
 Mg. Miguel Arturo Vásquez Medina
- Asesor : Mg. Eduardo Augusto Verástegui Lara

Se reunieron en la ciudad de Lima, el día 29 de octubre del 2020, siendo las 15:00 horas, procediendo a evaluar la Sustentación de Tesis, titulado "**Características inmunofenotípicas de las leucemias linfoblásticas agudas diagnosticadas en un laboratorio de Lima-Perú durante el periodo 2013-2015**", para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica del Señor:

CARLOS JESÚS CORTEZ RODRIGUEZ

Habiendo obtenido el calificativo de:

.....17.....
 (En números)

.....DIECISIETE.....
 (En letras)

Que corresponde a la mención de:MUY BUENO.....

Quedando conforme con lo antes expuesto, se disponen a firmar la presente Acta.

.....
 Presidente
 Lic. Ricardo Mafalky Rodriguez Torres
 D.N.I: 10426839

.....
 Miembro
 Lic. Boris Moisés Valdivia Vizarraga
 D.N.I: 25557178

.....
 Miembro
 Mg. Miguel Arturo Vásquez Medina
 D.N.I: 10049097

.....
 Asesor de Tesis
 Mg. Eduardo Augusto Verástegui Lara
 D.N.I: 10686383

Datos de plataforma virtual institucional del acto de sustentación: Datos de la plataforma virtual institucional del acto de sustentación <https://medical-int.zoom.us/j/95968326102>

ID:

Grabación archivada en:



Firmado digitalmente por PAREDES
 ARRASCUE Jose Antonio FAU
 20148092282 soft
 Motivo: Soy el autor del documento
 Fecha: 07.12.2020 14:31:04 -05:00

Características inmunofenotípicas de las leucemias linfoblásticas
agudas diagnosticadas en un laboratorio de Lima-Perú durante el
periodo 2013-2015

Autor:

Asesor: Mg. Verástegui Lara, Eduardo Augusto

Docente Principal de Tiempo Completo

Co-asesor: Lic. TM. Rivera Orcoapaza, César

Dedicatoria:

- *A Dios, a mis padres, hermana, a mi pareja y en especial a mi hermano, por ser quien me enseñó a perseverar y descubrir que los límites no son más que percepciones subjetivas de etapas, situaciones y lugares por los que se cursa en algún momento; por ser quien llevó mis capacidades a nuevas etapas y me mostró que detrás de una meta hay muchas otras esperando a mi arribo. Por eso, este logro lleva el sello de “Manolo Cortez”.*

Agradecimientos:

- *Al Mg. Eduardo Augusto Verástegui Lara por su asesoramiento y consejos brindados durante este trabajo.*
- *Al Dr. Miguel Sandoval Vegas por la dedicación y compromiso constante.*
- *Al Lic. César Rivera Orcoapaza por el ímpetu y tiempo brindados para que este trabajo pueda desarrollarse.*
- *Al Dr. Bladimiro Choque Calderón, a la Mg. Jeniffer Azaña Yupanqui, a la Mg. Julia Moya Naranjo y al Lic. Ricardo Rodríguez Torres por sus consejos y aportes brindados.*
- *Al Dr. Richard Dyer e Ing Alberto Zafra como ejes principales de Cytometric Bioservices SAC, quienes me permitieron tomar información de la empresa en mención.*

ÍNDICE

CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 DESCRIPCIÓN DE LOS ANTECEDENTES	2
1.2 IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN	6
1.3 OBJETIVOS	7
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	7
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
1.4 BASES TEÓRICAS	7
1.4.1 BASE TEÓRICA	7
1.4.1.1 CAUSAS Y FACTORES DE RIESGO EN LEUCEMIAS AGUDAS	7
A) EXPOSICIÓN A RADIACIONES	7
B) EXPOSICIÓN A CIERTAS SUSTANCIAS QUÍMICAS	8
C) CIERTAS INFECCIONES VIRALES	8
D) FACTORES FAMILIARES Y GENÉTICOS	8
1.4.1.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	9
1.4.1.3 DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN	10
A. INMUNOFENOTIPO POR CITOMETRÍA DE FLUJO	11
A.1 INMUNOFENOTIPO DE LA LLA-B	12
A.2 INMUNOFENOTIPO DE LLA-T	15
B. GENÉTICA DE LLA Y CORRELACIÓN CON INMUNOFENOTIPO.	17
1.4.1.4 EPIDEMIOLOGÍA	19
1.4.2 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS	20
1.4.3 FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS	21
CAPÍTULO II	22
MÉTODOS	22
2.1 DISEÑO METODOLÓGICO	23
2.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	23
2.1.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	23
2.1.3 POBLACIÓN	23
2.1.4 MUESTRA Y MUESTREO	23

2.1.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN	23
2.1.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	23
2.1.5 VARIABLES: Tabla 6 (Ver anexo 1).	23
2.1.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	24
2.1.7 PROCEDIMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS	24
2.1.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS	25
CAPÍTULO III	27
RESULTADOS	27
3.1 DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS EN LLA - B	28
3.2 DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS EN LLA-T	29
3.3 FRECUENCIA DE LLA POR ESTADIO MADURATIVO	30
3.4 CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS	32
3.4.1 EXPRESIÓN DE MARCADORES DE LINAJE Y ESTADIO MADURATIVO EN LLA-B.	32
3.4.2 FRECUENCIA DE FENOTIPOS ABERRANTES EN LLA-B	33
3.4.3 FRECUENCIA DE EXPRESIÓN DE MARCADORES DE LINAJE Y ESTADIO MADURATIVO EN LLA-T.	35
3.4.4 FRECUENCIA DE FENOTIPOS ABERRANTES EN LLA-T	35
3.5 ASOCIACIÓN ENTRE LINAJE DE LLA CON SEXO Y EDAD	37
CAPÍTULO IV	40
DISCUSIÓN	40
CAPÍTULO V	46
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	46
5.1 CONCLUSIONES	47
5.2 RECOMENDACIONES	47
ANEXOS	54

ÍNDICE DE TABLAS

BASES TEÓRICAS.....	7
TABLA 1.....	10
TABLA 2.....	14
TABLA 3.....	16
TABLA 4.....	17
TABLA 5.....	28
MÉTODOS.....	22
TABLA 6.....	55
TABLA 7.....	58
RESULTADOS.....	27
TABLA 8.....	28
TABLA 9.....	29
TABLA 10.....	29
TABLA 11.....	29
TABLA 12.....	30
TABLA 13.....	31
TABLA 14.....	32
TABLA 15.....	32
TABLA 16.....	33
TABLA 17.....	34
TABLA 18.....	36
TABLA 19.....	37
TABLA 20.....	38
TABLA 21.....	38
TABLA 22.....	39
TABLA 23.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICOS

BASES TEÓRICAS.....	7
FIGURA 1.....	13
FIGURA 2.....	13
FIGURA 3.....	15
FIGURA 4.....	16
RESULTADOS.....	27
GRÁFICO 1.....	30
GRÁFICO 2.....	31
GRÁFICO 3.....	37

RESUMEN

Introducción: La Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) se encuentra dentro de las neoplasias hematológicas y se caracteriza por el incremento de linfoblastos generadas por un bloqueo madurativo y subsecuente proliferación clonal en la médula ósea. La citometría de flujo (CF) es una técnica multiparamétrica que se utiliza para estudiar a mayor detalle las poblaciones celulares patológicas, permite cuantificar la carga tumoral, establecer el linaje celular, determinar el estadio madurativo, describir las características fenotípicas aberrantes e investigar la enfermedad mínima residual (EMR). El presente estudio tiene por objetivo describir las características inmunofenotípicas de las leucemias linfoblásticas agudas diagnosticadas en un laboratorio de Lima-Perú durante el periodo 2013-2015. **Métodos:** Estudio observacional, descriptivo, transversal donde se revisó los reportes de citometría de flujo de todos los pacientes con diagnóstico de novo de LLA obtenidos a partir de médula ósea y sangre periférica. Las muestras habían sido procesadas utilizando anticuerpos monoclonales conjugados con los fluorocromos FITC, PE, PerCP y APC; adquiridas en el citómetro de flujo BD FACSCalibur con el programa CELLQuestPro y analizadas en el programa PAINT-A-GATE. **Resultados:** Se registraron 129 pacientes con LLA, de los cuales 91.5% (118 casos) correspondieron a LLA-B y 8.5% (11 casos) a LLA-T. El estadio madurativo más frecuente fue B-común (75.4%) en LLA-B y T-cortical (54.5%) en LLA-T. En relación a las características inmunofenotípicas el marcador de línea B más importante fue el CD19 y de línea T fue cyCD3. La pérdida parcial/total de CD45 (77.1%) y expresión de CD66c (82.8%), CD123 (87.5%) y CD13 (78.6%) fueron las alteraciones más frecuentes en LLA-B; mientras que la pérdida parcial/ total de smCD3 (81.8%) y CD34 (72.7%) fueron las más frecuentes en LLA-T a diferencia del cyCD3, el cual siempre estuvo presente, a pesar de mostrar pérdida parcial en 72.7% de los casos. El 100% de los casos de LLA-T fueron hombres. Se observó asociación significativa entre el linaje de LLA y el sexo ($p=0.001\%$). **Conclusiones:** La citometría de flujo es una técnica indispensable al momento de estudiar las características inmunofenotípicas de las leucemias; nos permite establecer el linaje celular y estadio madurativo, así mismo evidencia fenotipos aberrantes frecuentes; información útil en el seguimiento de la EMR. **Palabras clave:** Leucemia linfoblástica aguda, citometría de flujo, inmunofenotipo, linaje, estadio madurativo, expresiones aberrantes.

ABSTRACT

Introduction: Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) is a hematological neoplasm characterized by an increase in lymphoblasts generated by a maturational block and subsequent clonal proliferation in the bone marrow. Flow cytometry (CF) is a multiparameter technique that is used to study pathological cell populations in greater detail; since, it allows quantifying the tumor burden, establishing the cell lineage, determining the maturation stage, describing aberrant phenotypic characteristics and investigating minimal residual disease (EMR) after treatment. The purpose of this study is to describe the immunophenotypic characteristics of acute lymphoblastic leukemias diagnosed in a laboratory in Lima-Peru during the 2013-2015 period. **Methods:** Observational, descriptive, cross-sectional study where the flow cytometry reports of all patients with de novo diagnosis of ALL obtained from bone marrow and peripheral blood were reviewed. Samples were processed using monoclonal antibodies conjugated with the FITC, PE, PerCP and APC fluorochromes; acquired in the BD FACSCalibur flow cytometer with the CELLQuestPro program and analyzed in the PAINT-A-GATE program. **Results:** 129 patients with ALL were registered, of which 91.5% (118 cases) corresponded to ALL-B and 8.5% (11 cases) to ALL-T. The most frequent maturational stage was B-common (75.4%) in ALL-B and T-cortical (55%) in ALL-T. Regarding immunophenotypic characteristics, the most important B-line marker was CD19 and T-line was cyCD3. The partial / total loss of CD45 (77.1%) and expression of CD66c (82.8%), CD123 (87.5%) and CD13 (78.6%) were the most frequent alterations in ALL-B; while the partial / total loss of smCD3 (81.8%) and CD34 (72.7%) were the most frequent in ALL-T in contrast to cyCD3, which was always present, despite showing partial loss in 72.7% of cases. 100% of the T-ALL cases were men. There was a significant association between the ALL lineage and sex ($p = 0.001\%$). **Conclusions:** Flow cytometry is a useful tool to study the immunophenotypic characteristics of leukemia; since it allows us to establish the cell lineage and maturation stage; as well as describe frequent aberrant phenotypes, which are very useful for the monitoring of EMR. **Key words:** Acute lymphoblastic leukemia, flow cytometry, immunophenotype, lineage, maturation stage, aberrant expressions.

CAPÍTULO I
INTRODUCCIÓN

1.1 DESCRIPCIÓN DE LOS ANTECEDENTES

Las leucemias son un grupo diverso de enfermedades que afectan a las células del sistema hematopoyético, se originan en médula ósea y pueden infiltrar otros tejidos. Estas neoplasias se clasifican según su evolución en agudas o crónicas, y según la estirpe comprometida en linfocítica o mielocítica. La LLA resulta de una lesión adquirida o congénita del ADN que da lugar a una célula con alteraciones genéticas, otorgándole la capacidad de proliferar de manera descontrolada, originando múltiples células neoplásicas. La presencia y acumulación de estos blastos leucémicos altera la producción de células normales en médula ósea, es así, que al diagnóstico los pacientes suelen presentar pancitopenia, lo que produce cuadros de anemia, trombocitopenia y neutropenia que conllevan finalmente a la manifestación clínica (astenia, disnea, cansancio, sangrados, etc) (1).

Las causas por las que se desarrolla la LLA no han sido determinadas con claridad, sin embargo, existen factores de riesgo. Las investigaciones apoyan la idea de que pueden estar involucrados varios factores complejos; como, por ejemplo, la exposición a dosis altas de radiación. Actualmente los científicos siguen estudiando, pero aún no encuentran resultados definitivos y hasta el momento la pregunta ¿qué podríamos hacer para evitar esta enfermedad? queda sin respuesta. No obstante, existen reportes bibliográficos que relacionan la presentación de una LLA con las alteraciones genéticas desarrolladas por el feto durante el embarazo sumado a las mutaciones genéticas adquiridas posterior al nacimiento, lo cual crearía el potencial necesario para producir una proliferación clonal descontrolada desencadenando, de esta forma, la enfermedad (2).

Durante el proceso madurativo de las células linfocíticas, se dan diversas interacciones (entre células, con el microambiente, con la matriz extracelular y con factores de crecimiento). El proceso madurativo de un linfoblasto se da a través de moléculas de adhesión celular y receptores, las cuales le confieren la capacidad de transmitir señales. Es así que, durante el proceso ontogénico, los linfocitos van encendiendo y apagando de manera secuencial la expresión de ciertas proteínas, las cuales permitirán definir el estado de diferenciación celular. Para identificar estas proteínas, existen técnicas como la citometría de flujo, que permite reconocer de manera específica antígenos de membrana, citoplasmáticos e intranucleares, empleando anticuerpos monoclonales conjugados a fluorocromos,

permitiendo de esta forma la detección del linaje y estadio madurativo de las células estudiadas.

Según los datos epidemiológicos mostrados por el MINSA, las leucemias se encuentran ubicando el sexto lugar en el promedio anual de casos notificados de cáncer según localización topográfica durante el periodo 2006-2011; del mismo modo el INEI registra a las leucemias en cuarto lugar con respecto al total de personas atendidas con diagnóstico de cáncer, según órgano comprometido durante el periodo 2002-2012 (3,4). Así mismo, El MINSA y el INEI, concuerdan que las leucemias afectan con más frecuencia a los hombres que a las mujeres; sin embargo, se observa que estas neoplasias cobran mayor importancia en los niños, debido a que representa el 44.2% del total de cánceres encontrados durante el mismo periodo, y se encuentran ubicados como el cáncer más frecuente en contraste con los adultos, en los cuales representan el 5.1%, siendo más frecuentes los cánceres de cérvix, estómago y mama (3,4).

Los cánceres del sistema hematológico en el departamento de Lima; así como en la región metropolitana del Callao, se encuentran ubicados en el sexto lugar (4.9% del total); del mismo modo, las neoplasias hematológicas tienen un gran número de casos registrados en la población de la selva, llegando a superar el 7% del total registrado en esta zona del país. Amazonas y Madre de Dios mostraron las mayores tasas de mortalidad por leucemias con respecto a otros departamentos, durante el periodo 2000-2011. Finalmente, en este mismo reporte las neoplasias hematológicas constituyeron la principal causa de hospitalización y egreso hospitalario durante el 2011. (3)

La citometría de flujo cobra gran importancia en el diagnóstico de las leucemias, permite realizar el estudio de inmunofenotipo de células patológicas presentes en muestras biológicas como médula ósea y sangre periférica. Un adecuado estudio del inmunofenotipo apoya al diagnóstico y permite clasificar, cuantificar y caracterizar para asignar el linaje y estadio madurativo a las leucemias agudas, por tal motivo, es necesario que se haga un estudio detallado del inmunofenotipo con el fin de brindar un diagnóstico certero con información útil que contribuya a la evaluación y asignación del esquema terapéutico más adecuado (1, 5). Seleccionar y emplear la combinación de conjugados más adecuada en el estudio de leucemias es indispensable para obtener la mayor cantidad de información útil, por todo ello, es importante conocer las características inmunofenotípicas más frecuentes de las LLA en

nuestra población; esto permitirá direccionar con mayor precisión la formación de paneles; además se obtendría información más precisa sobre la elección de marcadores según su utilidad para el seguimiento de las enfermedades mínimas residuales que hayan sido diagnósticas sólo por morfología; para ello, es imprescindible conocer la frecuencia de fenotipos aberrantes y expresión de marcadores asociados (6,7).

Wimalachandra y col. (2020)⁸ en un estudio realizado en Sri Lanka evidenció que la frecuencia de casos de LLA-T (20%) fue menor respecto a otros países de Asia, África y Oriente Medio, esto posiblemente debido a que la población de Sri Lanka obtiene beneficios de un sistema de salud más organizado. Según datos bibliográficos, en este estudio se menciona que altas frecuencias de LLA-T y bajas de LLA-B respecto a valores reportados en Europa y EEUU, estaría relacionado a niveles socioeconómicos bajos (8).

Sayed DM y col. (2017)⁹, en el estudio “*Resultado e importancia clínica de los marcadores inmunofenotípicos expresados en diferentes protocolos de tratamiento para pacientes pediátricos con LLA-T en países en desarrollo*”, menciona que el antígeno cyCD3 fue el marcador que se encontró expresado de manera constante en casi todos los casos, llegando a representar 96.1% del total de leucemias evaluadas, seguido de los marcadores CD7, CD5 y CD2, los cuales se encuentran expresados en el 95.7%, 93% y 87.2% respectivamente; asimismo, se observó que el CD3 de superficie se encontró expresado en el 68.2% de los casos (9).

Así mismo, Adnan y col (2016)¹⁰, estudiaron 56 pacientes pediátricos egipcios e informaron que 34 (60.7%) mostraron fenotipo de LLA-B común, 21 (35.7%) de LLA-preB y 1 (1.8%) de LLA-proB. En este estudio se investigó la correlación entre anomalías citogenéticas y nuevos marcadores seleccionados (CD79a, CD123, CD200) para enfermedad mínima residual, encontrando una asociación significativa entre la expresión de CD123 y el grupo de LLA-B con hiperdiploidía; otra asociación observada ocurrió entre la negatividad de CD79b y el grupo t(12;21); es así, que estos marcadores podrían tener algunos valores pronósticos favorables. Del mismo modo, se informó que CD200 podría servir en la monitorización de la EMR (Enfermedad Mínima Residual) y como potencial blanco terapéutico; debido a que al momento del diagnóstico fue positivo en casi todos los casos (80.3%) y se mantuvo de forma estable en blastos de EMR. Estos hallazgos novedosos deben seguir siendo evaluados en estudios posteriores (10).

Soriano-Villalobos y col (2015)¹¹, en un estudio realizado en un Hospital de nivel III de Chiclayo-Perú, tuvo por objetivo, caracterizar inmunofenotípicamente las leucemias agudas diagnosticadas durante el periodo 2010-2013. Se informó que el 58.62% correspondían a LLA (54.31%, LLA-B/ 4.31%, LLA-T). Así mismo, se estudió los principales fenotipos aberrantes hallándose la mayor frecuencia en las LLA-B con infidelidad de línea (52.4%), seguido por hiperexpresiones (47.6%) intensas para CD34 (38.1%) y CD10 (12.7%). Con respecto, a las LLA-T no se estudió las infidelidades de línea, ni ausencia de expresión antigénica dentro de los posibles inmunofenotipos aberrantes, cabe resaltar que las LLA-T fueron pocas (5 casos) (11).

Novoa y col (2013)¹², en un estudio realizado en el Hospital de Agudos Dr. G. Carlos Durand en Buenos Aires-Argentina, determinó que de 364 muestras estudiadas el 28.8% fueron LLA-B, siendo caracterizadas como LLA-proB (9.5%), LLA-B común (83.4%) y LLA-B madura (4.5%). Además, el 6.5% eran compatibles con LLA-T, de las cuales el 13% corresponden a LLA-pro T, el 63% LLA-T cortical y LLA-T madura (25%). Así mismo se observó de todos los marcadores B utilizados, CD19 fue el más frecuente (100%), mientras que cyCD79a y CD10 mostraron frecuencias de 94% y 83% respectivamente. Para LLA-T el marcador más frecuente fue el CD3 citoplasmático (100%), no pasó lo mismo con el CD3 superficial el cual se expresó sólo en 29% de los casos; este porcentaje es menor al observado por Sayed y col. (2017)⁹, el cual reportó que el 68.2% de casos expresó este marcador (9,12).

Tasayco (2013)¹³ informó en un estudio desarrollado en infantes menores de un año de Perú, que el 52.4% de las 65 historias clínicas revisadas fueron reportadas con diagnóstico de LLA, de las cuales, el 79.4% eran LLA-B en sus diferentes estadios madurativos: pro-B (38%), B común (26%), pre-B (9%), B común/pro-B (6%). Estos hallazgos se corresponden con la información emitida por la OMS, la cual nos dice que la LLA-B más común en infantes menores de un año es la pro-B y agrega que, esta neoplasia se asocia a la t(4;11), información con la que no se cuenta en este estudio (1,2,13). Además 20.58% (7 casos) de las LLA no tuvieron un diagnóstico específico o sus inmunofenotipos no fueron reportados. No se reportó ninguna LLA-T (13).

Marsán y col (2009)¹⁴ informan sobre el valor biológico y clínico a los antígenos mieloides asociados a las LLA; mencionan que estudios realizados “in vitro” de blastos de LLA-Mi+ (con expresión de antígenos mieloides) muestran gran capacidad de proliferación y además

liberan de manera espontánea factor de necrosis tumoral e IL-6 comportándose de forma similar a blastos de origen mieloide. De otro lado, en adultos con LLA-Mi+, adquiere un valor pronóstico desfavorable y probable falla al tratamiento. En este estudio realizado en 238 niños con LLA se halló que 21.8% presentaron expresión de antígenos mieloides. Al evaluar por linaje, se observó en 20.6% de LLA-B y 27.3% de LLA-T expresaron al menos algún antígeno mieloide.

Seegmiller y col (2009)¹⁵ en su estudio “*Caracterización de anomalías inmunofenotípicas en 200 casos de leucemia linfoblástica aguda B*”, informaron que el 86.5% de los casos examinados mostraron la expresión de al menos un antígeno mieloide, este dato contrasta con Marsán; el cual informó un porcentaje mucho menor; sin embargo, la explicación según Seegmiller se debería, al menos en parte, a la cantidad de antígenos mieloides analizados, al clon de anticuerpo usado y a la estrategia de análisis elegida (15).

El presente estudio se dirigió hacia la evaluación del inmunofenotipo de pacientes con LLA diagnosticados en un laboratorio de Lima-Perú, para lo cual se plantea la pregunta: ¿Cuáles son las características inmunofenotípicas de las leucemias linfoblásticas agudas diagnosticadas en un laboratorio de Lima-Perú durante el periodo 2013 -2015?

1.2 IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

La LLA es el tipo de neoplasia hematológica predominante a nivel mundial. El diagnóstico de esta etiología se hace en base a estudios morfológicos, inmunofenotípicos y citogenéticos principalmente. La caracterización inmunofenotípica de las LLA otorga el linaje de las células leucémicas, define el estadio madurativo y evidencia fenotipos aberrantes, además de servir en la búsqueda de EMR después del tratamiento (7,16,17, 18).

Con esta investigación se pretende brindar información sobre las características inmunofenotípicas de las LLA en población peruana, las cuales servirán para determinar los marcadores de mayor importancia en los paneles. Hasta la actualidad son muy pocos los estudios de investigación realizados en el país relacionados a este campo, a pesar que los datos epidemiológicos en la población indican una necesidad de ampliar los conocimientos y difundir la información. Un adecuado estudio de inmunofenotipo apoya el diagnóstico de manera rápida, siendo más sensible y específica, lo que permite dar un tratamiento oportuno

y ajustado según la información analizada e interpretada en el informe de citometría. Por otro lado, si bien actualmente se maneja una amplia información sobre paneles dirigidos para el diagnóstico y seguimiento de diversas neoplasias hematológicas, también se entiende en el contexto local sea por razones económicas, sociales o étnicas; que es necesario estudiar a la propia población para obtener información detallada sobre las características fenotípicas de la enfermedad que permita ajustar la elaboración de paneles de descarte y control.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Describir las características inmunofenotípicas de las leucemias linfoblásticas agudas diagnosticadas en un laboratorio de Lima-Perú durante el periodo 2013-2015.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar los marcadores más frecuentes de las LLA según linaje, estadio madurativo y marcadores asociados.

Determinar la asociación entre linaje de LLA y sexo.

Determinar la asociación entre linaje de LLA y edad.

1.4 BASES TEÓRICAS

1.4.1 BASE TEÓRICA

1.4.1.1 CAUSAS Y FACTORES DE RIESGO EN LEUCEMIAS AGUDAS

A) EXPOSICIÓN A RADIACIONES

Los niveles altos de radiación a los que se expone una persona pueden significar un factor de riesgo para desarrollar leucemia aguda (LA); no obstante, depende de muchas variables, como la fuente de exposición, la dosis, la intensidad, el tiempo de exposición, entre otras, es por ello que no existe un consenso entre los distintos trabajos de investigación que abarcan este tema (19).

No se ha demostrado que el daño gonadal por radiactividad en potenciales padres aumenta el riesgo de desarrollo de cáncer en los hijos que se puedan engendrar, afirmación apoyada en estudios realizados en descendientes de sobrevivientes de la segunda guerra mundial que habían sido expuestas a irradiación por la bomba atómica (20).

Se debe evitar la exposición de una gestante a dosis bajas de radiación como las emitidas en un estudio radiográfico. El riesgo de desarrollar leucemia se ve incrementado, sobre todo en la fase inicial del embarazo (20,21). Así mismo, algunos estudios también concluyen que dosis terapéuticas de radiación incrementan la posibilidad de desarrollar una LA secundaria al tratamiento (22,23).

B) EXPOSICIÓN A CIERTAS SUSTANCIAS QUÍMICAS

El tratamiento quimioterapéutico y ciertas sustancias químicas en ámbitos ocupacionales como el benceno y otros hidrocarburos, pesticidas, metales pesados y sustancias agroquímicas pueden elevar el riesgo de desarrollar una LA; siendo el riesgo mayor para desarrollar una LMA respecto a una LLA (5). La relación entre el consumo de tabaco antes de la concepción y durante el embarazo con el desarrollo de LA en los infantes, no ha podido ser demostrada (24).

C) CIERTAS INFECCIONES VIRALES

Existen algunas neoplasias hematológicas que se encuentran relacionadas a infección por ciertos virus, como es el caso de la Leucemia T del Adulto, la cual está ligada al acoplamiento del material genético del HTLV-1 en los linfocitos T reguladores CD4+CD25++, sin embargo, no existen estudios concluyentes que relacionen la infección por este virus con el desarrollo de LLA (1,5,25), no obstante, el EBV (Epstein Barr Virus) a parte de haber sido relacionado al desarrollo del linfoma de células B centro germinal (Linfoma de Burkitt), también ha tenido implicancia en la presentación de LLA (25).

D) FACTORES FAMILIARES Y GENÉTICOS

Si bien es cierto que no existen estudios científicos que concluyan que la LLA sea una enfermedad que se hereda, se conoce que la presencia de alguna alteración genética que condiciona al desarrollo de algún síndrome hereditario como la Anemia de Fanconi,

Síndrome de Down, Síndrome de Klinefelter, Ataxia Telangiectasia, entre otros, si aumentan el riesgo de desarrollar LA (21,26).

Así mismo, la probabilidad de desarrollar leucemia es mayor en hermanos de un paciente con dicha neoplasia, llegando a incrementar el riesgo hasta 4 veces más, del mismo modo, si estos son gemelos homocigotos el riesgo se eleva hasta un 25%, y si uno de ellos desarrolla la enfermedad durante su primer año esta probabilidad es cercana al 100% (posiblemente por un proceso de metástasis durante el embarazo); sin embargo, el riesgo se reduce pasado el tiempo y llega a ser igual al de los demás hermanos posterior al séptimo año de vida (5,26). Finalmente se ha visto que la LLA es más común en hombres que en mujeres, aunque se desconoce la razón (21).

1.4.1.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

La LLA produce diversos síntomas y signos, resultado de una proliferación descontrolada de células blásticas patológicas, lo que conlleva a un mal funcionamiento de la médula ósea y una merma en la producción de elementos formes sanguíneos; sin embargo, muchos de estos síntomas se encuentran también en todas las LA independientemente sea el linaje afectado; no obstante, algunos pueden estar presentes y ser más comunes en ciertos linajes y/o estadios madurativos, sin embargo, cabe resaltar que sólo un tercio de los pacientes puede presentar síntomas (27).

De todos los síntomas, los problemas causados por los bajos recuentos sanguíneos son los más comunes; las carencias que se dan producto de una hematopoyesis anormal se manifiestan en las pruebas hematológicas comunes y se observan en el paciente a través de síntomas como: agotamiento, sensación de desvanecimiento, disnea, sangrados constantes, petequias, hematomas, gingivorragia, epistaxis, además de infecciones recurrentes (1), sin embargo, como ya se mencionó, muchos de los síntomas también se presentan en otros pacientes sin LLA; por lo que, se debe tener en cuenta al momento de hacer el estudio del caso clínico, del mismo modo, se debe considerar que existen casos de pacientes que cursan sin la sintomatología correspondiente y en la mayoría la enfermedad se encuentra en estadio limitado (1,27).

Es muy común ver hepatoesplenomegalia y linfadenopatías, así mismo, es importante ponerles especial atención a los dolores óseos y de las articulaciones; estos podrían ser síntomas fundamentales al momento de orientar el diagnóstico. Cabe resaltar, que la hematopoyesis en casos de LLA T podría respetarse con cierta relatividad (1).

1.4.1.3 DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN

El diagnóstico de las LLA se logra mediante un estudio integrado, por lo que es necesario aunar los datos clínicos, morfológicos, inmunofenotípicos y citogenéticos. En la actualidad se cuenta con muchas herramientas y pruebas de laboratorio que proporcionan a la medicina una información más detallada sobre características que se encuentran en las LLA, permitiendo de esta manera clasificarlas según el linaje y estadio madurativo, además de otorgar un pronóstico al paciente.

La citometría de flujo cumple un papel indispensable en el estudio del inmunofenotipo de las células leucémicas, además de otorgar el linaje celular, detecta rasgos fenotípicos aberrantes, por lo cual es primordial al momento de diferenciar blastos leucémicos de normales (16,18).

La FAB (Franco-Americano-Británico) toma como base criterios morfológicos y celulares para clasificar a las LLA en tres grupos: (*tabla 1*)

Tabla 1. Clasificación FAB de las LLA

	L1	L2	L3
Tamaño celular	Pequeño	Moderado	Moderado
Cromatina nuclear	Homogénea	Heterogénea	Homogénea
Contorno nuclear	Regular	Irregular	Regular
Nucléolos	No es visible	Visible	Evidente
Citoplasma	Escaso	Variable abundante	Moderado Abundante
Basofilia citoplasmática	Ligera a moderada	Variable	Intensa
Vacuolas citoplasmáticas	Variable	Variable	Prominente

Fuente: Sociedad Argentina de Hematología. Guía para el diagnóstico y tratamiento. Argentina. 2013. http://www.sah.org.ar/guias_hematolo_anteriores.asp.

No obstante, debido a que las formas morfológicas L1 y L2 no representan grupos de significancia biológica, y brindar muy limitada información pronóstica; la clasificación tiene valor netamente histórico. El estudio inmunofenotípico del subgrupo L3 demostró que es un Linfoma de Burkitt en fase leucémica (2).

Posteriormente, para una mejor clasificación de las leucemias, la OMS se valió de la citometría de flujo multiparamétrica (CFM) siendo una disciplina indispensable en cuanto a información brindada. Actualmente existen procesos estratégicos para el screening de estas neoplasias hematológicas, así determinar el linaje involucrado (linfoide B, linfoide T o mieloide) y posteriormente a través de los marcadores necesarios identificar el clon leucémico. Además, la OMS consideró el perfil citogenético-molecular para definir el diagnóstico y orientar el tratamiento; para lo se detectan alteraciones moleculares como la fusión de genes: BCR/ABL1, MLL/AF4, ETV6/RUNX1 y TCF3-PBX1; con técnicas como FISH y la PCR en tiempo real (1). (*ver tablas 4 y 5*)

A. INMUNOFENOTIPO POR CITOMETRÍA DE FLUJO

Esta técnica permite estudiar de manera indirecta expresiones antigénicas de importancia, así mismo, las combinaciones usadas en los paneles de anticuerpos permiten establecer vías madurativas normales y, por lo tanto, ayuda a diferenciarlas de las anómalas encontradas en alteraciones displásicas (maduraciones asincrónicas, distribuciones de los diversos estadios madurativos no adecuadas, sobreexpresiones, infraexpresiones, ausencia parcial, pérdida antigénica, etc.) y procesos leucémicos. (18). Además de todo ello la citometría de flujo, para el descarte de LA, brinda valores relativos de la población aberrante y de las demás poblaciones, no obstante, cabe resaltar que durante el proceso se tiende a perder cierta cantidad de población por los lavados, en tal sentido, es necesario revisar la morfología para definir el porcentaje de blastos de manera más exacta. Actualmente podemos clasificar inmunofenotípicamente las leucemias gracias a la información brindada por el Grupo Europeo para la clasificación de las leucemias (EGIL European Group for immunological classification for leukemias) y la OMS; así mismo, existen grupos de investigación como EUROFLOW que han dado recomendaciones para el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad (1,18,28).

A.1 INMUNOFENOTIPO DE LA LLA-B

A.1.1 MADURACIÓN NORMAL LINFOIDE B Y VÍAS MADURATIVAS

La maduración de las células B se da en dos localizaciones diferentes. La primera se lleva a cabo en la médula ósea (MO) y va desde las stem cell hasta los linfocitos B maduros naive; y la segunda que continúa la maduración hasta linfocitos B de memoria/efectoras que se da en los órganos secundarios. Para el siguiente estudio, solo se brindará información sobre la primera etapa de la maduración (MO) (29).

Las células pro-B expresan en primera instancia CD22 y CD45 débilmente, así mismo, se expresa marcadores de inmadurez como el CD34, nuTdT y expresión intensa de CD38; es importante resaltar que el CD19 aún no se expresa en este estadio. Con la expresión de PAX-5 (marcador estudiado por inmunohistoquímica), estas células comprometen su linaje a línea B en estadio Pre B I (B común), estadio en el cual, se observa positividad para CD19, CD10, cyCD79a y se conserva la expresión de CD38, CD34 y nuTdT (29).

Posteriormente, se expresará IgM citoplasmática, antígeno que evidencia la llegada al estadio madurativo Pre B-II (Pre-B), en el cual, también se observará aumento de intensidad de CD45, expresión de CD20 y disminución antigénica de CD34 y nuTdT. Luego, las células B inmaduras/transicionales mostrarán una expresión completa de IgM en la superficie celular (smIgM), así mismo, en estas etapas de la maduración aún se expresa débilmente CD10 y continúan expresando fuertemente CD38 y CD81, además la expresión de smIgM es más intensa con respecto a la smIgD. Posteriormente, luego de un proceso de selección negativa, las células B sobrevivientes pasarán a formar parte de los linfocitos B naive maduros, los cuales pierden CD38 y CD10, además muestran una expresión débil parcial de CD5; estos abandonan la MO y salen hacia la SP para luego migrar a los órganos linfoides secundarios y continuar con el proceso de diferenciación y especialización (29).

En la *figura 1*, se muestra las diferentes vías madurativas relacionadas a cada marcador, ya sean de linaje o estadio.

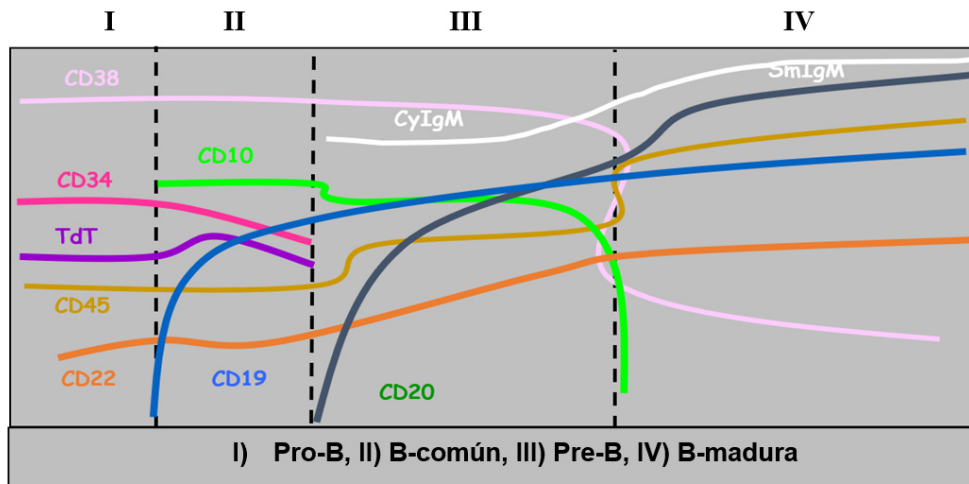


Figura 1: Vías madurativas inmunofenotípicas hacia linfocitos B

Es importante, ver la distribución poblacional de los diferentes estadios madurativos, ello permitirá realizar una comparación entre las curvas madurativas al momento del estudio y las que se encuentra en muestras de personas sanas. Un ejemplo, resulta la curva CD10/CD20, donde se observa que la expresión de CD10 va disminuyendo en intensidad a medida que vayan madurando las células B, hasta perderse totalmente en linfocitos B maduros, pasa lo todo lo contrario con la expresión de CD20 (Ver figura 2).

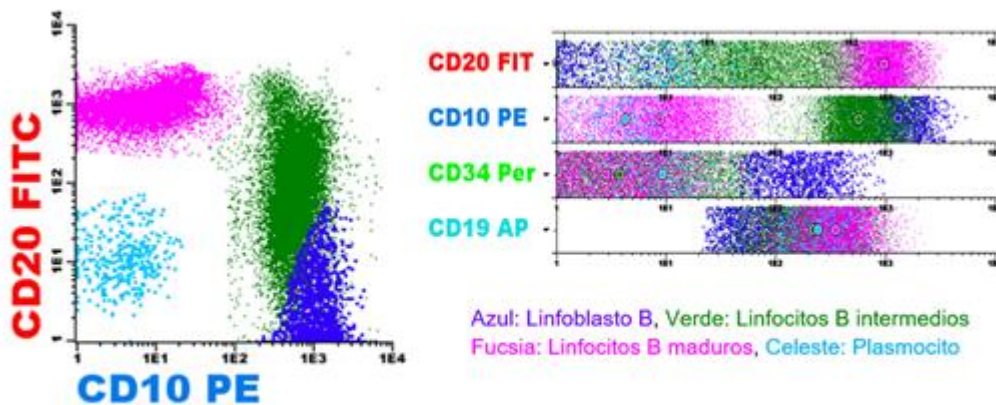


Figura 2: Curva madurativa linfocitoide B CD10/CD20

A.1.2 FENOTIPO ABERRANTE DE LAS LLA-B

Los linfoblastos generalmente muestran expresión para marcadores como el CD19, cyCD79a y cyCD22; cabe resaltar, que la expresión intensa o la positividad en combinación de estos marcadores es indicativo de linaje B. Los linfoblastos son positivos para CD10, smCD22,

CD24, PAX5 y frecuentemente expresan el marcador de inmadurez nuTdT, mientras las expresiones de CD20 y CD34 son variables. No es raro que el CD45 esté ausente.

Además, se puede observar infidelidad de línea al observar la presencia de marcadores mieloides como el CD13, CD33. La expresión de cyMPO en las células leucémicas excluye el diagnóstico e indicaría Leucemia Mieloide Aguda o Leucemia Aguda de Linaje Mixto B/Mieloide (1). Por otra parte, en función a la expresión de diversos marcadores, se estableció cuatro categorías según el estadio de maduración de la clona aberrante. Estas categorías son: Pro-B, B-común, Pre-B y B-madura (1,2, 28). *Ver tabla 2*

Tabla 2. Clasificación inmunológica de las neoplasias de precursores linfoides B

Línea B (criterio OMS-2008)	Estadio	Definición (Criterio EGIL-1995)
CD19 intenso con al menos uno de: CD79a, cyCD22, CD10, expresado intensamente. ó CD19 débil con al menos dos de: CD79a, CD22, CD10 expresados intensamente.	Pro-B (B-I)	No expresa otros antígenos de diferenciación B. son CD10 (-).
	B-común (B-II)	CD10 (+), IgM citoplasmático (-)
	Pre-B (B-III)	IgM citoplasmático (+).
	B-madura (B-IV) *	Lambda o Kappa de citoplasma o superficie (+).

**Muchos casos son TdT (+), HLA-DR (+) excepto el B-IV que frecuentemente es TdT (-).*

Fuentes: OMS-2008 y EGIL 1995

Finalmente, para un correcto análisis, el analizar expresiones fenotípicas en conjunto ayudará a diferenciar distribuciones poblacionales dentro de las gráficas de puntos, además facilita identificar, si la población evaluada presenta una secuencia madurativa adecuada o no. Considerar que no basta la presencia de marcadores y sus intensidades por separado, sino más bien, las combinaciones pertinentes.

A continuación, la *figura 3* muestra un ejemplo de los espacios de localización más comunes de linfoblastos B con fenotipo aberrante en comparación a la distribución de linfoblastos B

normales, en la curva madurativa CD10/CD20 (izquierda) y un ejemplo de linfoblastos B aberrantes dentro de esta curva (derecha) (30). Ver figura 3.

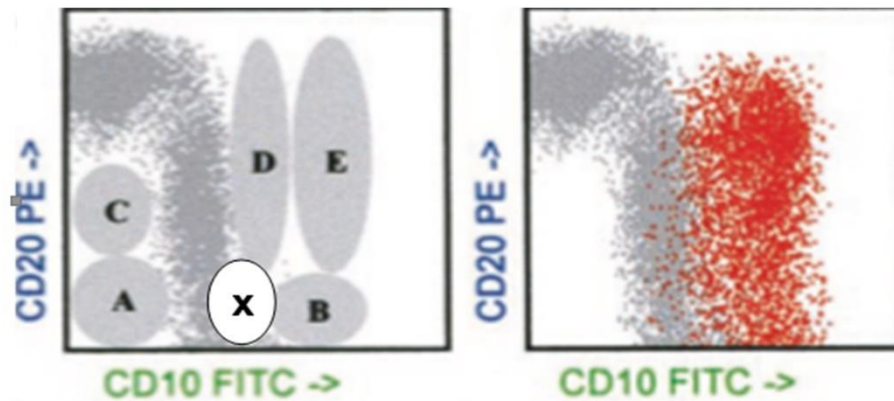


Figura 3: “X”: distribución normal de linfoblastos B/ A, B, C, D, E distribuciones aberrantes típicas de linfoblastos B leucémicas.

A.2 INMUNOFENOTIPO DE LLA-T

A.2.1 MADURACIÓN NORMAL LINFOIDE T Y VÍAS MADURATIVAS

La maduración se da mayoritariamente en el timo, a partir de precursores hematopoyéticos de MO de fenotipo $CD34^+/nTdT^+/CD7^{++}/CD117^+/CD44^+$. Cuando estos precursores llegan a la zona subcapsular del timo se pierde expresión de HLA-DR y CD44, pero se adquiere expresión de otros antígenos pan-T de membrana (CD2 y CD5), así como, la positividad citoplasmática de CD3. Posteriormente, en estadios corticales de la maduración, los timocitos adquieren coexpresión de los antígenos CD4 y CD8, además de CD1a y pierden reactividad de CD117, CD34 y nuTdT. Continuando con la maduración, un timocito maduro (estadio medular) perderá expresión de CD1, además tendrá una pérdida selectiva de CD4 o CD8, así mismo, se observará una clara expresión de CD3 y de TCR α/β ; de este modo, al volverse linfocitos T naive ($CD45RA^+$, $CD45RO^-$, $CD28^+$, $CCR7^+$, $CD27$) abandonan el timo para ir a sangre periférica; cabe resaltar, que los linfocitos T $CD3^+/TCR\ gd^+$, abandonan el timo de manera precoz siendo negativos para CD4 y débilmente positivos para CD8 (29). Ver figura 4.

B. GENÉTICA DE LLA Y CORRELACIÓN CON INMUNOFENOTIPO.

El estudio de las alteraciones genéticas es importante, se presentan en 75% de LLA y muchas son marcadores pronósticos de la enfermedad, los cuales serán útiles para la terapia. (2, 31). A continuación, en las tablas 4 y 5 se muestran las principales alteraciones citogenéticas y/o moleculares encontradas en ambos linajes (B y T). Del mismo modo, existen diversas características fenotípicas que en conjunto se correlacionan con una alteración genética específica (1)

Tabla 4. Alteraciones citogenéticas y/o moleculares: correlato con inmunofenotipo, edad y pronóstico.

Citogenética	Gen/Rearreglo génico	Linaje LLA	Frecuencia en adultos	Frecuencia en niños	Pronóstico
Hiperdiploidía		B	7%	25%	Favorable
Hipodiploidía/ Cariotipo complejo		B	2%	1%	Desfavorable
t(9;22)(q34;q11)	BCR-ABL1	B (muy raramente T)	25%	3%	Desfavorable
t(12;21)(p13;q22)	ETV6-RUNX1 (TEL-AML1)	B común, pre-B y muy raramente pro-B	2%	22%	Favorable
t(v;11q23),ej: t(4;11)(q21;q23) t(11;19)(q23;p13.3)	MLL	Pro-B	10%	8%	Desfavorable
t(1;19)(q23;p13)	TCF3-PBX1 (E2A-PBX1)	Pre-B	3%	5%	Favorable
t(5;14)(q31;q32)	IL3-IGH	B (con hipereosinofilia)	<1%	<1%	Desfavorable
t(8;14)(q24;q32) t(2;8)(p12;q24) t(8;22)(q24;q11)	C-MYC	T	4%	2%	Desfavorable
t(1;14)(p32;q11)	TAL1	T	12%	7%	Desfavorable
t(10.14)(q24;q11)	HOX11	T	8%	1%	Desfavorable
t(5;14)(q35;q32)	HOX11L2	T	1%	3%	Desfavorable

Fuente: Sociedad Argentina de Hematología. Guía para el diagnóstico y tratamiento. Argentina. 2013. http://www.sah.org.ar/guias_hematolo_anteriores.asp/

Tabla 5. Correlación inmunofenotípica de las LLA con la genética

LEUCEMIA/LINFOMA LINFIBLÁSTICO B
Leucemia/Linfoma Linfoblástico B, NOS (No especificado de otro modo)
CD19+, cCD22+, cCD79a+, sCD22-/+ , CD10+, nuTdT+, CD24+, CD34 y CD20variable, CD45-/+ , CD33 y CD13 variable.
Leucemia/Linfoma Linfoblástico B con anomalías genéticas recurrentes
t(9;22)(q34;q11.2);BCR/ABL1: CD19+, cCD79a+, cCD22+, CD10+, nuTdT+, CD34+, CD38-/+ , CD25+, CD66c+, CD13 y CD33 variable.
Rearreglo MLL: CD19+, cCD79a+, cCD22+, CD10-, nuTdT+, CD34++, CD45+, NG2+, CD15 y CD65 variable.
t(12;21)(p13;q22); TEL/AML1: CD19+, cCD79a+, cCD22+, CD10+, nuTdT+, CD34+, CD9-, CD20-, CD66c- y CD13 variable.
Hiperdiploidía: CD19+, cCD79a+, cCD22+, CD10+, nuTdT+, CD34+, CD123+, CD45-
Hipodiploidía: CD19+, cCD79a+, cCD22+, CD10+, Índice ADN <1.
t(5;14)(q31;q32); IL3-IGH: CD19+, cCD79a+, cCD22+, CD10+ con eosinofilia.
t(1;19)(q23;p13); TCF3-PBX1 (E2A-PBX1): CD19+, cCD79a+, cCD22+, CD10+, clgM+, CD34-, CD9-

Fuente: Sociedad Argentina de Hematología. Guía para el diagnóstico y tratamiento. Argentina. 2013. http://www.sah.org.ar/guias_hematolo_anteriores.asp y OMS 2008.

LEUCEMIA/LINFOMA LINFOBLÁSTICO T
No se encontró bibliografía que relacionen perfiles fenotípicos específicos con alteraciones genéticas encontradas en las LLA-T.

1.4.1.4 EPIDEMIOLOGÍA

La LLA es una neoplasia que es más prevalente en niños, no obstante, también puede presentarse, aunque en menor frecuencia, en todas las edades, alcanzando un número considerable de casos en personas con más de 70 años de vida (32). La incidencia mundial es de 1-4.75/100 000 casos por año. En el 2000 el número de casos en los Estados Unidos fue de aproximadamente 3200 (85% LLA-B, 15% LLA-T). La mayoría de casos de LLA-B se presentó en niños no mayores de 6 años sin predilección por ningún género, no obstante, las LLA-T fueron más frecuente en pacientes varones, así mismo, la frecuencia de las LLA fue mayor en la población blanca con respecto a la negra (razón = 10:6) (1,32,33).

En México en el año 2002 las leucemias linfoides y el linfoma de Hodgkin conformaron el 8.2% del total de enfermedades oncológicas reportadas y alcanzaron a estar dentro de las 15 neoplasias más prevalentes, del mismo modo, las LLA y las LMA representaron el 4.6% del total de muertes registradas (34).

La Dirección General de Epidemiología del Ministerio de Salud de Perú ha notificado que los cánceres del sistema hematopoyético ocuparon el 6to lugar de todas las neoplasias reportadas en el periodo 2006-2011, siendo en niños los cánceres de mayor prevalencia junto con los del sistema reticuloendotelial, llegando a representar el 44.25% del total de neoplasias (3).

La Sociedad Americana del Cáncer estimó una tasa de incidencia por año de 1.6 por cada 1000 000 habitantes (21), no obstante, en un estudio de vigilancia, epidemiología y resultados finales (*Surveillance Epidemiology and End Results, SEER*) se demostró que la incidencia en la población hispana es mayor (2.6 cada 100 000 habitantes) (35), del mismo modo, en un estudio realizado en población pediátrica hecho en México concluye que los polimorfismo genéticos pueden originar diferencias raciales en la incidencia de las LLA cuando su prevalencia de la predisposición genética difiere por raza específica, de este modo se trata de explicar su alta incidencia en pacientes hispano-latinos (36).

1.4.2 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

Blastos: Célula inmadura precursora cuyo origen se da en la médula ósea. Si durante la maduración se compromete la línea linfoide este se llamará linfoblasto.

De novo: Literalmente “de nueva procedencia”, para referirse a algo no heredado.

Estadio Madurativo: Término aplicado para indicar el momento en el que se dio la interrupción madurativa en el proceso ontogénico de las células analizadas. En caso de las LLA, la interrupción madurativa se da en estadios blásticos.

Inmunofenotipo: Caracterización de las células según la expresión de marcadores inmunológicos en la superficie, citoplasma o núcleo celular.

Infidelidad de línea: expresión aberrante de marcadores de otros linajes respecto al linaje comprometido de la leucemia desarrollada, una vez que se halla descartado un posible linaje mixto.

Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA): Neoplasia hematológica en la cual se ven afectados los linfoblastos, ya sean de linaje B o T.

Linaje celular: Compromiso celular hacia un programa de diferenciación específico. Las leucemias Agudas pueden comprometer el linaje mieloide o linfoide, si es el linfoide, entonces la neoplasia hematológica será llamada LLA.

Pérdida parcial: Expresión parcial de algún marcador, que por la naturaleza de blastos debería estar expresado en todos ellos.

Pérdida total o Ausencia: Ausencia de expresión de algún marcador, que por la naturaleza de los blastos debería estar expresado de manera normal. Característica fenotípica aberrante.

Sobreexpresión: Característica fenotípica aberrante que indica una alta intensidad de algún marcador que por la naturaleza de los blastos debería estar expresado en menor intensidad.

1.4.3 FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Las características inmunofenotípicas de las LLA diagnosticadas un laboratorio de Lima-Perú durante el periodo 2013 -2015 son para el linaje B el marcador más frecuente CD19, el estadio madurativo B común y el fenotipo aberrante corresponde a la ausencia de CD45, para las LLA-T el marcador más frecuente hallado es cyCD3, estadio T cortical y la ausencia de CD34 como fenotipo aberrante.

CAPÍTULO II

MÉTODOS

2.1 DISEÑO METODOLÓGICO

2.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

El enfoque del estudio es cuantitativo, se basa en el análisis estadístico de una serie de datos de laboratorio (reportes de citometría de flujo). El alcance es descriptivo, caracteriza el inmunofenotipo de las LLA a través de tablas de frecuencias absolutas y porcentuales.

2.1.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Estudio no experimental, no se realizó ninguna intervención o manipulación de las variables en estudio. Observacional de corte retrospectivo, se recogieron los datos de un grupo de pacientes ingresados durante el periodo 2013-2015.

2.1.3 POBLACIÓN

Pacientes con resultados de inmunofenotipo compatible con LLA obtenidos en el laboratorio Cytometric Bioservices SAC durante el periodo octubre del 2013 a julio del 2015.

2.1.4 MUESTRA Y MUESTREO

El tamaño de muestra estuvo comprendido por 129 pacientes.

El tipo de muestreo empleado fue censal, debido a que se trabajó con todos los resultados de LLA ingresados durante el periodo de estudio.

2.1.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Resultados de pacientes con diagnóstico *de novo* para Leucemia Linfoblástica Aguda.

2.1.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Resultados de pacientes con diagnóstico *de novo* compatibles con Leucemia Aguda de Fenotipo Mixto B/Mieloide.
- Estudios de inmunofenotipo para enfermedad mínima residual (EMR).

2.1.5 VARIABLES: Tabla 6 (Ver anexo 1).

2.1.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La técnica de estudio es la observación; la información fue obtenida a través de la revisión de los archivos (registros del laboratorio, solicitudes médicas, etc.).

Para recolectar la información se utilizó una ficha de recolección de datos de registros que pertenecen a Cytometric Bioservices SAC (Ver anexo 2), la cual consta de tres partes. La primera muestra el código de ingreso y reúne información de sexo, edad, tipo de muestra (médula ósea o sangre periférica) y porcentaje de blastos hallados. La segunda brinda información sobre el inmunofenotipo detectado (linaje, estadio madurativo y marcadores de expresión aberrante-infidelidad de línea). Finalmente, en la tercera parte se da el reporte de la conclusión final del estudio por inmunofenotipo.

Para la realización de los estudios de citometría de flujo se había utilizado, según los registros, los siguientes anticuerpos: (anti CD20, CD10, CD19, cyCD79a, cyIgM), linfoides T (anti CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8), mieloides (anti CD13, CD33, CD11b, CD15, CD66c, CD123) y precursores hematopoyéticos (anti CD34, nuTdT), conjugados con fluorocromos FITC, PE, PerCP y APC de las compañías Becton-Dickinson, Dako, Invitrogen, Immunostep y Cytognos. (Ver anexo 3-Tabla 7) y se empleó las técnicas de marcaje mostradas en los anexos 4 y 5.

Además, para la adquisición de eventos se empleó el citómetro de flujo modelo BD FACSCalibur a través del programa de adquisición CELLQuest Pro versión 5.2. Para el análisis del inmunofenotipo se empleó el programa de análisis PAINT-A-GATE versión 3.0.2.

2.1.7 PROCEDIMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Para poder acceder a los registros de información de Cytometric Bioservices SAC se redactó una solicitud de autorización para la recolección y/o uso de datos en procesos formales de investigación, la cual, estuvo dirigida al gerente general, mismo que remitió su aprobación (Ver anexo 6).

Se revisó los archivos de todos los pacientes que ingresaron al laboratorio Cytometric Bioservices SAC para el estudio de inmunofenotipo durante el periodo octubre del 2013 a julio del 2015, posteriormente se llenó el formato de ficha de recolección de datos con la

información de todos los casos que cumplían con el criterio de inclusión (casos que al diagnóstico mostraban resultados que reportaban LLA de novo).

Se elaboró una base de datos en Microsoft Excel 2013, a la cual se transfirió toda la información obtenida para su almacenamiento y análisis.

Se recolectó las características inmunofenotípicas por intensidades de fluorescencias de los marcadores inmunológicos según criterios de la OMS-2008. Se tomó también datos sobre el linaje celular, estadio madurativo, fenotipos aberrantes, sexo y edad. Esta última fue categorizada en grupos etarios según MINSA y se empleó medidas de tendencia central como media \pm DS, mediana y rango; mientras que las demás fueron expresadas usando tablas de frecuencias absolutas y relativas (1,37). Para determinar la asociación entre variables se empleó el test de Chi-cuadrado (X^2) y el test exacto de Fisher. Para el análisis de datos se utilizó los softwares estadísticos SPSS versión 24 y Stata versión 14. Se consideró un nivel de significancia $p < 0.05$ para todas las pruebas estadísticas.

Referente a la validez y confiabilidad del instrumento, por las características del estudio no se requirió realizarlo, por lo cual, solo se aplicó una verificación del instrumento por expertos, con desempeño en la materia (citometría de flujo) no menor a 5 años (Ver anexos del 7-12).

2.1.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Para la realización de la investigación se tuvo en cuenta las consideraciones éticas mencionadas a continuación:

- El estudio se puso a disposición del comité de investigación de la Escuela Profesional de Tecnología Médica (Facultad de Medicina-UNMSM), para que pueda ser evaluado y obtener la aprobación para su realización. (Ver anexo 13).
- Debido a que la realización del estudio no tiene participación directa de seres humanos, no fue necesario emitir un consentimiento informado, sólo se evaluó la viabilidad y factibilidad para su ejecución.
- La base de datos se manejó en base a códigos de ingreso, manteniendo de esta forma en reserva los nombres y datos que al ser expuestos pueden vulnerar la privacidad de los pacientes de los cuales se tomó sus resultados para la realización del estudio.

- Para la obtención de los datos se emitió una solicitud de autorización para la recolección y/o uso de datos en procesos formales de investigación dirigida al gerente general de Cytometric Bioservices SAC (Ver anexo 6).

CAPÍTULO III

RESULTADOS

Durante el periodo de octubre del 2013 a julio del 2015 fueron reportados un total de 129 pacientes con inmunofenotipos compatibles con LLA con una mediana de 11 años (rango 0.5-78 años), de ellos 65 fueron hombres (50.4%) y presentaron una mediana de 12 años, mientras que las mujeres fueron 64 (49.6%) con una mediana de 9.5 años. Para el análisis de los datos se elaboró grupos etarios según la clasificación dada por el MINSA (37). Todos los reportes cumplieron con los criterios OMS 2008 para ser categorizados como LA (presencia de blastos $\geq 20\%$) (1).

Tabla 8. Frecuencia de LLA, según grupo etario

Grupo etario	Media \pm DS	Frecuencia	%
Niño (0-11 años)	5.9 \pm 3.03	69	53.5
Adolescente (12-17 años)	14.1 \pm 1.91	16	12.4
Joven (18-29 años)	21.7 \pm 3.29	14	10.8
Adulto (30-59 años)	43 \pm 8.37	25	19.4
Adulto mayor (60 a más años)	69.2 \pm 5.67	5	3.9
Todos		129	100

Fuente: Propia

Se observó una frecuencia alta en niños (69 casos, 53.5%) con una media de 5.9 \pm 3.03 años; y un segundo incremento, aunque con menos casos en adultos (25 casos, 19.4%) con una media de 43 \pm 8.37. Las poblaciones de adolescentes y jóvenes mostraron frecuencias similares, mientras que en el grupo de adultos mayores se encontró solo 5 casos (3.9%).

3.1 DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS EN LLA - B

De los 129 casos de LLA, 118 casos correspondieron a linaje B (91.5%) y 11 casos fueron de linaje T (8.5%); ambos presentaron una mediana de 11 años.

En los 118 casos LLA-B, se observó la mayor frecuencia en niños con 63 casos (53.4%), 15 adolescentes (12.7%), 13 jóvenes (11%), 22 adultos (18.7%) y 5 adultos mayores (4.2%). *Ver tabla 9.* La media de edad en niños fue 5.7 \pm 2.99, mientras en adultos la media fue 42.6 \pm 8.66).

En relación al sexo, 54 casos fueron hombres (45.8%) y 64 mujeres (54.2%), tanto en grupos etarios niños y adultos la frecuencia de casos fue mayor en mujeres respecto a hombres, mientras que en adolescentes y adultos mayores el resultado fue inverso (mayor frecuencia en hombres), así mismo. *Ver tabla 10.*

Tabla 9. Frecuencia de LLA-B, según grupo etario

Grupo etario	Media \pm DS	Frecuencia	%
Niño (0-11 años)	5.7 \pm 2.99	63	53.4
Adolescente (12-17 años)	14.2 \pm 1.90	15	12.7
Joven (18-29 años)	21.8 \pm 3.41	13	11
Adulto (30-59 años)	42.6 \pm 8.66	22	18.7
Adulto mayor (60 a más años)	69.2 \pm 5.67	5	4.2
Total		118	100

Fuente: Propia

Tabla 10. Frecuencia de LLA-B por sexo, según grupo etario

Etapas de vida	hombre	%	mujer	%
Niño (0-11 años)	26	41.3	37	58.7
Adolescente (12-17 años)	11	73.3	4	26.7
Joven (18-29 años)	6	46.2	7	53.8
Adulto (30-59 años)	7	31.8	15	68.2
Adulto mayor (60 a más años)	4	80	1	20
Total	54	45.8	64	54.2

Fuente: Propia

3.2 DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS EN LLA-T

De los 11 casos registrados como LLA-T, la mayor frecuencia de casos se presentó en el grupo de niños, seguida del de adultos. *Ver tabla 11.* No hubo ningún adulto mayor registrado y todos correspondieron a varones.

Tabla 11. Frecuencia de LLA-T, según grupo etario

Grupo etario	Número de casos	%
Niño (0-11 años)	6	54.5
Adolescente (12-17 años)	1	9.1
Joven (18-29 años)	1	9.1
Adulto (30-59 años)	3	27.3
Adulto mayor (60 a más años)	0	0
Total	11	100

Fuente: Propia

3.3 FRECUENCIA DE LLA POR ESTADIO MADURATIVO

Dentro del grupo de pacientes con fenotipos compatibles con LLA-B, se hallaron 89 casos de estadio B-común (mediana: 12 años), 25 casos pre-B (mediana: 8 años) y 4 pro-B (mediana: 10 años), representando el 75.4%, 21.2% y 3.4% respectivamente del total de LLA-B registradas. *Ver gráfico 6.*

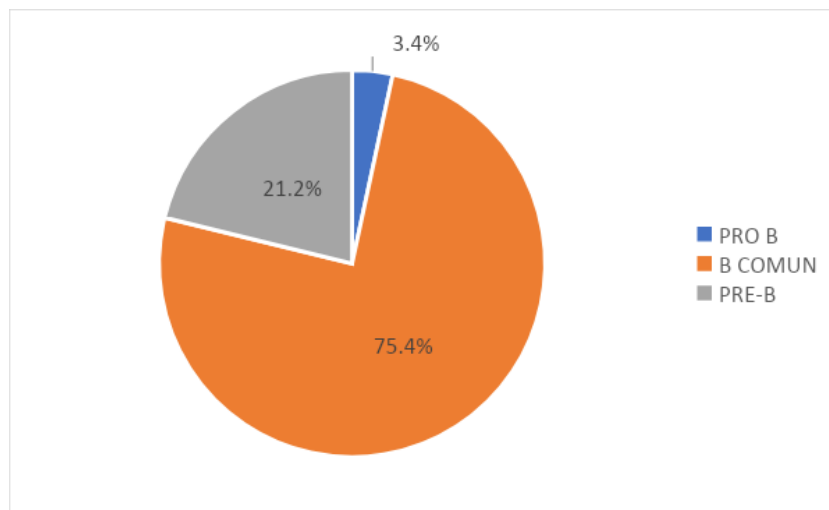


Gráfico 1: Frecuencia de LLA-B por estadio madurativo

Fuente: Propia

En el estado madurativo pro-B se observó, que 50% (2/4) fueron niños, todos menores de 3 años, mientras en el estadio B-común, se observaron mayores frecuencias en niños (41/89; 46.1%) y adultos (21/89; 23.6%), seguido de los adolescentes y adultos mayores. Finalmente, en pre-B, la mayor frecuencia se observó en niños (20/25; 80%), seguida de los jóvenes (3/25; 12%). *Ver tabla 12.*

Tabla 12. Frecuencia de LLA-B por estadio madurativo, según grupo etario

	Niño	Adolescente	Joven	Adulto	Adulto mayor	Total (%)
Pro- B	2 (50%)	1 (25%)	1 (25%)	-	-	4 (100%)
B- común	41 (46.1%)	13 (14.6%)	9 (10.1%)	21 (23.6%)	5 (5.6%)	89 (100%)
Pre-B	20 (80%)	1 (4%)	3 (12%)	1 (4%)	-	25 (100%)

Fuente: Propia

En todos los estadios madurativos registrados para la LLA-B, se observó mayor frecuencia en mujeres respecto a hombres. Ver gráfico 7.

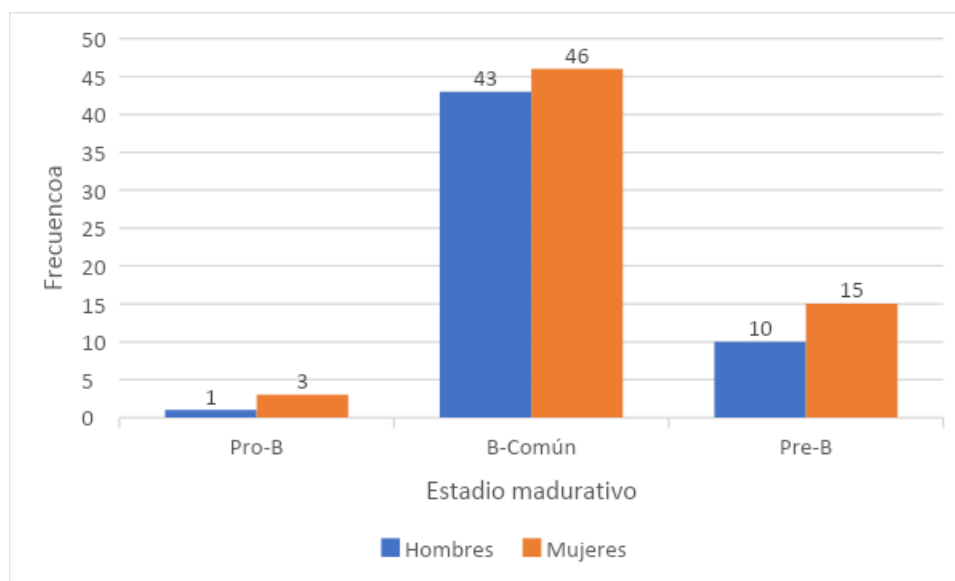


Gráfico 2. Frecuencia de LLA-B por estadio madurativo, según sexo.

Fuente: Propia

No obstante, en el estadio madurativo B-común, el cual tuvo mayor cantidad de datos, las frecuencias encontradas fueron similares, encontrándose 43 casos en hombres (48.3%) y 46 en mujeres (51.7%). Ver tabla 13 y gráfica 7.

Tabla 13. Frecuencia de LLA-B por estadio madurativo, según sexo

	Hombres	%	Mujeres	%	Total (%)
Pro-B	1	25	3	75	4 (100)
B-Común	43	48.3	46	51.7	89 (100)
Pre-B	10	40	15	60	25 (100)

Fuente: Propia

Al evaluar las frecuencias de estadio madurativo de LLA-B por sexo, según grupos etarios; se observó gran variación entre un grupo etario y otro. No obstante, se observó, que los grupos en donde hubo mayores registros de datos (niños y adultos en estadios B-común) la frecuencia siempre fue mayor en mujeres.

En el grupo de pacientes con fenotipos compatibles con LLA-T, se halló un predominio de casos en el estadio T cortical, siendo la frecuencia del 54.5%. *Ver tabla 14.*

Tabla 14. Frecuencia de LLA-T por estadio madurativo

Estadio madurativo	Frecuencias	%
Pro-T	1	9.1
Pre-T	1	9.1
T-cortical	6	54.5
T-medular	3	27.3
Total	11	100

Fuente: Propia

En el grupo de niños hubo 4 casos en estadio T-cortical y 2 en estadio medular. *Ver tabla 15.*

Tabla 15. Frecuencia de LLA-T por estadio madurativo

	Niños	Adolescente	Joven	Adulto	Adulto mayor
Pro-T	-	-	-	1 (100%)	-
Pre-T	-	-	-	1 (100%)	-
T-cortical	4 (66.6%)	1 (16.7%)	1 (16.7%)	-	-
T-medular	2 (66.7%)	-	-	1 (33.3%)	-

Fuente: Propia

3.4 CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS

3.4.1 EXPRESIÓN DE MARCADORES DE LINAJE Y ESTADIO MADURATIVO EN LLA-B.

Con respecto a las características inmunofenotípicas, se observó expresión del marcador panleucocitario CD45 en 102 casos (86.4%). Los marcadores de inmadurez descritos fueron CD34 y nuTdT, siendo este el más frecuente, expresado en 116 casos (98.3%), mientras que el CD34 se encontró en 106 (89.8%).

Los marcadores para asignar linaje B fueron CD19, cyCD79a y CD10, los dos primeros se encontraron en todos los casos (100%), mientras CD10 se halló en 106 casos (89.8%), su ausencia determinó el estadio madurativo pro-B (según criterios EGIL), así mismo, su expresión en ausencia de cyIgM definió el estadio madurativo B-común, lo cual explica los registros positivos para CD10 en 100% de casos correspondientes a este estadio y 0% de cyIgM. 25 casos registrados como estadio madurativo pre-B expresaron cyIgM. (el estadiaje se determinó según criterios EGIL) (28) *Ver tabla 16.*

Es importante resaltar que, si bien en muchos casos se observó expresiones de los marcadores descritos, en algunos no estuvieron presentes al 100% de blastos patológicos, pues se registraron con intensidades parciales y esto, dependiendo de los marcadores analizados, pudo indicar expresiones aberrantes junto a la infidelidad de línea; que se abordan posteriormente.

Tabla 16. Frecuencia de Expresión de marcadores de linaje y estado madurativo en LLA-B

Marcador \ Estadio madurativo		LLA Pro-B	LLA-B común	LLA pre-B	Todos
Panleucoitario	CD45	3 (75%)	79 (88.8%)	20 (80%)	102 (86.4%)
Inmadurez	CD34	4 (100%)	79 (88.8%)	23 (92%)	106 (89.8%)
	nuTdT	4 (100%)	88 (98.9%)	24 (96%)	116 (98.3%)
Linaje B y estadio madurativo*	CD19	4 (100%)	89 (100%)	25 (100%)	118 (100%)
	CyCD79a	4 (100%)	89 (100%)	25 (100%)	118 (100%)
	CD10	-	89 (100%)	25 (100%)	114(96.6%)
	CD20	-	67 (75.3%)	23 (92%)	90 (76.3%)
	cyIgM	-	-	25 (100%)	25 (21.18%)

Fuente: Propia

3.4.2 FRECUENCIA DE FENOTIPOS ABERRANTES EN LLA-B

Los hallazgos más comunes estuvieron dentro de las expresiones de infidelidad de línea, siendo lo más frecuente la expresión aberrante de CD123 (87.5%), CD66c (83.9%) y CD13 (78.6%); las expresiones de CD33 (49.7%) y CD15 (34.5%) mostraron una frecuencia menor respecto a las anteriores; sin embargo, no en todos los casos se emplearon estos marcadores o al menos no se contaba con la información de su uso en los registros. La expresión de CD66c fue más frecuente en los estadios madurativos B común y pre-B, y en menor caso en pro-B, asimismo el antígeno CD15 fue expresado más comúnmente en el estadio pro-B 3/4 (75%).

Otra característica aberrante frecuentemente observada fue la pérdida total o parcial del marcador panleucocitario CD45, descrita en 91 casos (77.1%); de estos 16 mostraron ausencia total (13.6%) y 75 ausencia parcial (63.5%).

La sobreexpresión de CD20 se observó en más de la mitad de los casos (55.9%), mientras que la sobreexpresión de otros marcadores como el CD10 (16.9%), CD19 (3.4%) y CD34 (2.5%), mostraron frecuencias más bajas.

Con respecto a los marcadores de inmadurez, la pérdida total o parcial de estos mostraron frecuencias moderadas y se evidenció para el CD34 en 57 casos (48.3%), de los cuales, 12 (10.2%) fueron pérdidas totales y para el nuTdT en 43 casos (36.4%), solo 2 (1.7%) mostraron ausencia total.

Finalmente, los marcadores de linaje, CD19 y CD79a citoplasmático, como se había mencionado estuvieron expresados en todos los casos, no obstante, también se registraron pérdidas parciales, llegando a representar en el caso del CD79a citoplasmático el 48.3%, mientras que este fenotipo aberrante en el CD19 mostró una frecuencia mucho menor (3.4%). Cabe resaltar, que en ninguno de estos casos ambas pérdidas parciales coexistieron, además todos ellos expresaron CD10 y en ningún caso se expresó MPO citoplasmático (se cumplió criterios OMS 2008) (1). Ver tabla 17.

Tabla 17. Frecuencia de fenotipos aberrantes en LLA-B

FENOTIPOS ABERRANTES LLA-B		Nº	%
n= 118			
Pérdida de CD45	Total: 16 (13.6%)	91	77.1
	Parcial: 75 (63.5%)		
Pérdida de CD34	Total: 12 (10.2%)	57	48.3
	Parcial: 45 (38.1%)		
Pérdida de nuTdT	Total: 2 (1.7%)	43	36.4
	Parcial: 41 (34.7%)		
Pérdida parcial de CD19		7	5.9
Pérdida parcial de cyCD79a		57	48.3
Sobreexpresión de CD34		5	4.2
Sobreexpresión de CD20		66	55.9
Sobreexpresión de CD10		20	16.9
Sobreexpresión de CD 19		4	3.4
Infidelidad de línea			
Expresión de CD13* n=117		92	78.6
Expresión de CD15* n=116		40	34.5
Expresión de CD33* n=117		56	47.9
Expresión de CD123* n= 112		98	87.5
Expresión de CD66c* n=62		52	83.9

Fuente: Propia

3.4.3 FRECUENCIA DE EXPRESIÓN DE MARCADORES DE LINAJE Y ESTADIO MADURATIVO EN LLA-T.

Con respecto a las características fenotípicas, se observó expresión del marcador panleucocitario CD45 en todos los casos (100%). Los marcadores de inmadurez registrados fueron CD34 y nuTdT, este último fue el más frecuente, encontrándose expresado en 9 casos (81.8%), mientras que el CD34 se encontró en 6 (54.5%).

Los marcadores para otorgar linaje T fueron CD3 superficial y citoplasmático (criterio OMS 2008), de estos, el CD3 citoplasmático se halló en todos los casos (11/100%), mientras que el CD3 superficial tuvo una frecuencia mucho menor (6/54.5%). Así mismo, otros marcadores pan-T como el CD7 y CD5 se encontraron en 81.8% y 100% de casos respectivamente. Del mismo modo, la expresión de CD2 se observó en 10 casos (90.9%), hubo un solo caso en el que se reportó su ausencia y que conjuntamente con una expresión doble negativa CD4(-)CD8(-) definieron el único caso en estadio madurativo pro-T, este reporte cumple con los criterios EGIL para su clasificación (1,28). El único caso pre-T expresó de CD2, también con doble negatividad. El 54.5% de casos mostró doble positividad CD4(+)CD8(+) y corresponde a los casos clasificados como T corticales; el marcador CD1a es considerado de inmadurez, sin embargo, es específico para este estadio, no obstante, solo 3 casos registraron su uso y solo uno lo expresó y se encontró en estadio T-cortical. El 27.3% mostró expresión CD4(+)CD8(-) y corresponden al estadio T medular. No se encontraron casos CD4(-)CD8(+). *Ver tabla 18.*

En algunos casos los marcadores de linaje y de inmadurez se expresaron de manera parcial, esta información será tratada en fenotipos aberrantes.

3.4.4 FRECUENCIA DE FENOTIPOS ABERRANTES EN LLA-T

La característica fenotípica aberrante más frecuente fue la pérdida parcial o total del marcador de linaje CD3 superficial, llegando a observarse en 9 casos (81.8%), de los cuales, 5 (45.5%) fueron pérdidas totales. El CD3 citoplasmático también registró pérdida parcial en 8 casos (72.2%). El CD7, marcador pan-T, mostró pérdida de expresión total o parcial en 4 casos (36.4%), no obstante, solo 2 de ellos (18.2%) no lo expresaron, los mismos, que se encontraban en estadio madurativo T medular.

Los pérdidas totales o parciales en marcadores de inmadurez también mostraron frecuencias altas; en CD34 la característica aberrante se observó en 8 casos (72.7%), de los cuales 5 (45.5%) fueron ausencia total; mientras que nuTdT se observó en 7 casos (63.6%), solo 2 (18.2%) no lo expresaron.

Las LLA-T también mostraron expresiones de marcadores de infidelidad de línea, dentro de los cuales el de mayor frecuencia fue el CD10 llegando a expresarse en el 45.5% de los casos. Además, se observó que el 45.5% expresó al menos un marcador mielóide. Las frecuencias de CD13 y CD15 fueron 20% y 22.2% respectivamente. No se encontró expresión de CD33 en ninguno de los 9 casos de LLA-T donde se registró el panel con este marcador.

No se registró ningún caso con pérdida total del marcador panleucocitario CD45, no obstante, 3 casos (27.3%) mostraron pérdidas parciales. Finalmente, solo hubo un caso que mostró sobreexpresión de CD34 (9.1%), y fue la característica fenotípica aberrante menos frecuente de todas las estudiadas. *Ver tabla 19.*

Tabla 18. Frecuencia de expresiones de marcadores de linaje y estadio madurativo en LLA-T

Estadio madurativo Marcador		LLA-Pro T	LLA-Pre T	T-Cortical	LLA-T Medular	Todos
Panleucoitario	CD45	1 (100%)	1 (100%)	6 (100%)	3 (100%)	11 (100%)
Inmadurez	CD34	1 (100%)	1 (100%)	2 (33.3%)	2 (66.6%)	6 (54.5%)
	nuTdT	-	1 (100%)	6 (100%)	2 (66.6%)	9 (81.8%)
Linaje T y estadio madurativo*	smCD3	-	-	5 (83.3%)	1 (33.3%)	6 (54.5%)
	cyCD3	1 (100%)	1 (100%)	6 (100%)	3 (100%)	11 (100%)
	CD7	1 (100%)	1 (100%)	6 (100%)	1 (33.3%)	9 (81.8%)
	CD5	1 (100%)	1 (100%)	6 (100%)	3 (100%)	11 (100%)
	CD2	-	1 (100%)	6 (100%)	3 (100%)	10 (90.9%)
	CD4	-	1 (100%)	6 (100%)	3 (100%)	10 (90.9%)
	CD8	-	-	6 (100%)	-	6 (54.5%)
CD1a	-	-	1 (100%)*	-	1 (9.1%)	

Fuente: Propia

Tabla 19. Frecuencia de fenotipos aberrantes en LLA-B

FENOTIPOS ABERRANTES LLA-T		Nº	%
n=11			
Pérdida parcial de CD45		3	27.3
Pérdida de CD34	Total: 6 (54.5%)	8	72.7
	Parcial: 2 (18.2%)		
Pérdida de nuTdT	Total: 2 (18.2%)	7	63.6
	Parcial: 5 (45.4%)		
Pérdida parcial de cyCD3**		8	72.7
Pérdida de CD7	Total: 2 (18.2%)	4	36.4
	Parcial: 2 (18.2%)		
Pérdida de smCD3	Total: 5 (45.4%)	9	81.8
	Parcial: 4 (36.4%)		
Sobrexpresión de CD34		1	9.1
Infidelidad de línea			
Expresión parcial de CD13* n=10		2	20
Expresión parcial de CD15* n=9		2	22.2
Expresión de CD33* n=9		-	-
Expresión parcial de CD10		5	45.5

Fuente: Propia

3.5 ASOCIACIÓN ENTRE LINAJE DE LLA CON SEXO Y EDAD

Como se mencionó anteriormente, las frecuencias de LLA-B en mujeres fue mayor respecto a los hombres, mientras que todas las LLA-T registradas (11 casos) fueron hombres.

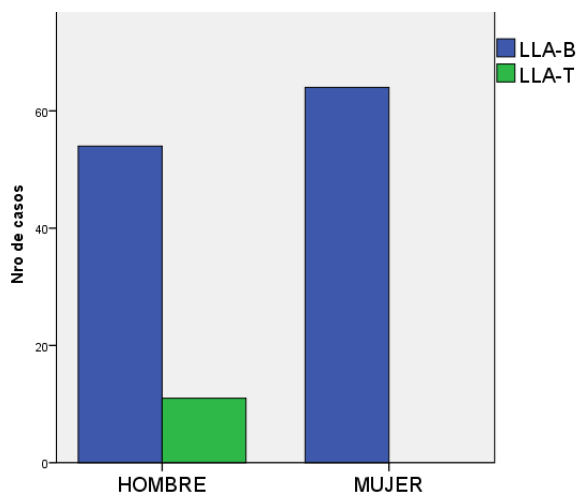


Gráfico 3. Distribución de las LLA por linaje, según el sexo.

Fuente: propia

En este apartado, se buscó encontrar significancia estadística para la asociación entre linaje de LLA y sexo, por tal motivo, se empleó el test de Chi-cuadrado (X^2), hallándose el siguiente resultado:

Tabla 20. Prueba de asociación chi cuadrado entre linaje de LLA y sexo.

Sexo \ Linaje	B	T	TOTAL
Mujer	64	0	64
Hombre	54	11	65
TOTAL	118	11	129

Chi-cuadrado (X^2) = p-valor: 0.001

Fuente: propia

El sexo se encuentra asociado al tipo de linaje de LLA ($p < 0.05$).

Para determinar la asociación entre linaje de LLA y edad se, se formó grupos etarios según MINSA y se utilizó, según las frecuencias esperadas encontradas, el test exacto de Fisher, hallando el siguiente resultado:

Tabla 21. Prueba de asociación test exacto de Fisher entre linaje de LLA y edad.

Edad \ Linaje	B	T	TOTAL
Niño	63	6	69
Adolescente	15	1	16
Joven	13	1	14
Adulto	22	3	25
A. Mayor	5	0	5
TOTAL	89	25	129

Test exacto de Fisher = p-valor: 0.973

Fuente: propia

La edad no se encuentra asociada al tipo de linaje de LLA ($P > 0.05$).

Para determinar la asociación entre los diferentes estadios madurativas de LLA-B registrados y el sexo, se utilizó la prueba estadística test exacto de Fisher, hallando el siguiente resultado:

Tabla 22. Prueba de asociación entre estadio madurativo de LLA-B y sexo.

E.M. \ Sexo	Pro-B	B-común	Pre-B	TOTAL
Mujer	3	46	15	64
Hombre	1	43	10	54
TOTAL	4	89	25	118

Fuente: propia

Test exacto de Fisher = p-valor: 0.615

El sexo no se encuentra asociado al estadio madurativo de LLA-B ($P > 0.05$).

Del mismo modo, luego de observar que los casos pro-B no se encontraron en los grupos de adultos y adultos mayores y más bien fue el estadio B-común el que representó el 95% y 100% respectivamente de los casos de LLA-B se empleó el test exacto de Fisher para encontrar asociación entre los diferentes estadios madurativos de LLA-B registrados y la edad, tabla 23.

Tabla 23. Prueba de asociación entre estadio madurativo de LLA-B y edad.

E.M. \ Edad	Pro-B	B-común	Pre-B	TOTAL
Niño	2	41	20	63
Adolescente	1	13	1	15
Joven	1	9	3	13
Adulto	0	21	1	22
A. Mayor	0	5	0	5
TOTAL	4	89	25	118

Fuente: propia

Test exacto de Fisher = p-valor: 0.046

La edad se encuentra asociada al estadio madurativo de LLA-B ($p < 0.05$).

No se pudo realizar estos estudios de asociación en las LLA-T debido al escaso número de casos.

CAPÍTULO IV

DISCUSIÓN

Se recogieron los datos correspondientes a 129 casos de pacientes con diagnóstico de LLA ingresados a Cytometric Bioservices SAC durante el periodo 2013 al 2015, con un rango etario de 0.5 a 78 años, fueron categorizados en grupos etarios según MINSA, se obtuvieron frecuencias similares entre hombres y mujeres (37).

Algunas limitaciones del estudio fueron la variación en el uso de marcadores asociados para determinar expresiones de infidelidad de línea, debido a la adquisición de nuevos reactivos con mejor desempeño. Además, los resultados de frecuencias entre bibliografías fueron diversos al no existir un número determinado de marcadores mieloides evaluados. Por otra parte, debe considerarse también otras causas, como el uso de diferentes fluorocromos, clones de anticuerpos monoclonales, las características de la muestra, la técnica, la estrategia de análisis utilizada y el número de los pacientes estudiado. Dentro de estas diferencias pudimos observar que en algunas referencias el punto de corte utilizado para considerar la expresión positiva de un marcador fue \geq al 20% del total de los blastos patológicos, mientras que otros autores como Sayed prefirieron no usar este criterio arbitrario (9). Para este estudio, por ser retrospectivo, no se contó con la información porcentual de expresión del marcador evaluado (los datos registrados estaban descritos por intensidades). Ante ello para lograr estandarizar la citometría de flujo, actualmente existen grupos de investigación que mediante protocolos bien estructurados plantean la estandarización y disminuir la variabilidad interlaboratorios, aunque, su aplicación en el Perú es de cumplimiento parcial (18,38). Como los datos obtenidos del presente estudio pertenecen a una sola institución ubicada en Lima y siendo de naturaleza privada, se debe considerar que la población de estudio podría estar limitada a un solo sector sociodemográfico. Problemas similares han afectado otros estudios, como lo discute Pereira (39).

Del total de LLA, 128 casos evaluados 91.5% fueron de linaje linfoide B y 8.5% restante de linaje linfoide T, mostrando claramente menor frecuencia para este linaje, en los estudios realizados por Pereira y col. (B: 73.8%, T:26.2%) y Wimalachandra y col. (B: 80%; T: 20%), la diferencia entre linajes es probable debido al origen étnico y al estado socioeconómico de la población, aunque se le da mayor importancia a la última causa (8,38). Así mismo, en LLA-B se observó mayor registro de niños (53.4%) con una media de 5.6 ± 2.99 años y predominio ligero en mujeres, estos resultados son similares a los reportados por Seegmiller y col. quien muestra que la mayor cantidad de casos se da entre las edades de 2 y 10 años con

una mediana de 4 años; no obstante, Seegmiller en su estudio observa predominio en varones (15). En LLA-T todos los casos fueron hombres; se encontró que el sexo está asociado al linaje con significancia estadística ($p=0.001$); en referencia a esto, la OMS-2008 menciona que las LLA-T se presentan con mayor frecuencia en hombres respecto a las mujeres (1).

En relación a los marcadores de linaje, todas las LLA-B expresaron CD19 y cyCD79a, además el 96.6% expresó CD10, estas frecuencias son parecidas a las reportadas por Novoa y col., donde similarmente informa expresión de CD19 en todos los casos, además de una frecuencia alta para cyCD79a (94%) y CD10 (83%) (12). Mientras en LLA-T, se observó que CD3 citoplasmático estuvo presente en todos los casos, aunque en muchos hubo expresión de manera parcial (72.7%), todo lo contrario, ocurrió con CD3 superficial ausente en 45.5% de casos. El resultado hallado para CD3 citoplasmático fue semejante a lo reportado en los estudios de Novoa (100%) y Sayed (96.1%), sin embargo, la ausencia de CD3 superficial mostró un valor intermedio (67% y 31.8% respectivamente), esta diferencia se explica principalmente a variaciones en los puntos de corte para considerar positivo un marcador en las estrategias de análisis (punto de corte positivo $\geq 20\%$) (9,12). Otros marcadores pan-T como el CD7 y CD5 estuvieron expresados en 81.8% y 100% de los casos respectivamente. Es coincidente con la investigación de Wimalachandra, que la evaluación conjunta de CD3 citoplasmático, CD7 y CD5 aumentan la sensibilidad y permiten mejorar la tipificación de las LLA-T (8).

Establecer el estadio madurativo de la población celular analizada empleando más de un marcador al diagnóstico contribuye a confirmar la presencia de blastos y además incrementa la sensibilidad del método (18,38). De los marcadores de inmadurez utilizados, nuTdT fue el más frecuente en LLA-B (98.3%), mientras CD34 se halló expresado en 89.8% de casos; resultados similares fueron obtenidos por Seegmiller y col. (nuTdT: 96.3%; CD34: 85.5%), mientras Novoa obtuvo porcentajes menores (nuTdT: 64%; CD34: 79%). La diferencia entre frecuencias para CD34 pueda explicarse al anticuerpo conjugado empleado en este último estudio, siendo los fluorocromos mencionados para este marcador FITC y PE (el primero fluoresce con menor intensidad), no obstante, no se aclara cuál de ellos se utilizó en el diagnóstico de las LLA (12,15). Con respecto a LLA-T se observó que 81.8% expresó nuTdT y 54.5% expresa CD34; la frecuencia de este último marcador fue igual al reporte de Pereira y col; sin embargo, fue mayor a la informada por Sayed y Wimalachandra (41.8% y 27.6%

respectivamente); esto debido que en ambos estudios se registró un mayor número de casos, mientras que Pereira tuvo un grupo de casos igual a esta investigación, lo cual podría estar sujeto a sesgos de muestra (8,9,39).

Si bien en el presente estudio todos los casos de LLA expresaron nuTdT o CD34 o ambos; se ha descrito en la literatura casos que no los expresan (40), por lo cual, es importante revisar las expresiones de otros marcadores, como CD99, siendo así que Dworzak y col. (2004) hallaron que la expresión de este marcador se observó en todos los casos de LLA-T y además los linfoblastos T tenían una mediana 7.7 veces más alta respecto a los linfocitos T normales (41).

En la frecuencia según los tres estadios madurativos registrados para LLA-B, hubo predominio del estadio B-común (75.42%), con picos por número de casos en niños y adultos, a continuación, pre-B (21.19%) y pro-B (3.39%), con predominio leve del sexo femenino en todos los estadios. Estas frecuencias se corresponden con las halladas por Adnan y col. en 56 pacientes pediátricos egipcios con LLA-B, informando que 60.7% fue B-común, 35.7% pre-B y 1.8% pro-B (10). No obstante, los resultados hallados por Tasayco (2013) fueron diferentes al registrar los casos en menores de 1 año, con un fenotipo pro-B (38%) mayoritariamente, y se vincula con la OMS que indica a este estadio madurativo con mayor frecuencia a ese grupo etario (1,13). No se encontró asociación del estadio madurativo de LLA-B con el sexo ($p=0.615$), pero si con la edad ($p=0.046$).

Con respecto a las LLA-T, el estadio más frecuente fue el T-cortical (54.5%), seguida del T-medular (27.3%), mientras que los estadios más inmaduros pro-T y pre-T mostraron frecuencias iguales (9.1%). Debido a la poca disponibilidad de casos no se realizó el análisis con las pruebas de asociación entre estadio madurativo de LLA-T y sexo, o edad.

Actualmente se ha demostrado que determinados inmunofenotipos aberrantes estarían asociados a reordenamientos genéticos específicos que son importantes para la estratificación pronóstica y decisiones de tratamiento (10,42,43,44,45,46), información que también es compartida por OMS y otras guías (1,2). Los fenotipos aberrantes incluyen la ausencia o pérdida, la sobreexpresión antigénica, la maduración asincrónica, así como la presencia antigénica de un marcador de linaje distinto (infidelidad de línea) (6,16). Al igual que Seegmiller y Soriano y col., en este estudio también se observó en LLA-B, las expresiones

de infidelidad de línea (96.7%) siendo mayor a lo reportado por Seegmiller con 86.5% y Soriano, 76.2%, posiblemente relacionado a que en estos estudios se dirigieron a ciertos marcadores mieloides y ninguno evaluó la expresión de CD123 ni CD66c, cuyas frecuencias fueron altas 87.5% y 83.9% respectivamente (11,15).

CD123 y CD66c han sido estudiados y asociados con alguna alteración genética. Adnan y col. encontró diferencia significativa ($p=0.017$) al comparar los casos positivos a CD123 en trastornos hiperdiploides respecto a otros subgrupos con otros daños genéticos (10), indicando que la presencia de este marcador obligaría a comprobar la hiperdiploidía, confiriendo un mejor pronóstico al paciente (1,2). Del mismo modo, Guillaume y col. observó que CD66c fue el antígeno mieloides más comúnmente expresado (40%) y la presencia de este marcador se correlaciona al reordenamiento BCR/ABL-1 ($P=0.0001$), pero no de manera específica ($S=82\%$, $E=69\%$, $VPP=37\%$, $VPN=95\%$) y parecería mejor interpretar la ausencia de CD66c con la falta de esta alteración genética (47). Otros marcadores de expresión aberrante encontrados fueron el CD13 (78.6%), CD33 (47.9%) y CD15 (34.5%), este último mostró un valor intermedio entre las frecuencias reportadas por Seegmiller (36%) y Soriano (33.3%) (11,15). La literatura menciona que fenotipos pro-B con expresión de CD15 y NG2, además de ausencia de CD24 está relacionada a alteración genética de pronóstico desfavorable $t(v;11q23)$ /rearrreglo MLL (1,2,42,43); sin embargo, en el presente estudio no hubo casos en los cuales se hayan utilizado NG2 y CD24 al momento del diagnóstico, pero se observó expresión de CD15 en 75% de casos proB.

La pérdida total o parcial de CD45 también se observó en un alto número de casos (77.1%), aunque su ausencia completa solo estuvo presente en el 13.6%, este valor es similar al reportado por Seegmiller (14.5%), pero menor al reportado por Novoa (28%) y Soriano (22.2%) (11,12,15). La sobreexpresión de CD20 se encontró en el 55.9% de LLA-B y fue más frecuente junto con la pérdida total o parcial de CD34 en estadios inmaduros más avanzados, esta última característica se observó en 49.4% de casos B-común y 72% de pre-B.

La sobreexpresión de CD10, CD34 y CD19 estuvieron dentro de los fenotipos aberrantes menos frecuentes (16.9%, 4.2%, 3.4%); el valor encontrado para la sobreexpresión de CD10 fue menor en el estudio realizado por Soriano y col. (12.7%), mientras que la sobreexpresión de CD34 fue mayor (38.1%) (11). La importancia de una descripción correcta de las

sobreexpresiones es fundamental, sobre todo en aquellos casos donde no se haya expresado marcadores asociados, ello permitirá un adecuado seguimiento de EMR (40,48).

Con respecto a fenotipos aberrantes en las LLA-T, como se mencionó, las pérdidas totales o parciales de CD3 superficial y CD34 fueron frecuentes (81.8% y 72.7% respectivamente); así mismo, también se observó expresión de marcadores asociados, dentro de los cuales el más frecuente fue CD10 representando 45.5% de casos, este resultado es mayor al reportado por Novoa (17%) y semejante al informado por Sayed (45.9%) (9,12). El 40% de casos (n=4/10) expresó al menos un antígeno mielóide, resultado mayor a los informados por Marsán y col. (27.3%) y Pereira (36.4%), esto posiblemente debido a que, aparte del CD13 y el CD33, en el presente estudio se evaluó la expresión de CD15, marcador que mostró mayor frecuencia (22.2%) respecto a los otros mencionados (CD13: 20% y CD33: 0%) (14,38), del mismo modo, las frecuencias de expresión de CD13 fueron mayores respecto a los descritos por Novoa (12%) y Sayed (4.4%), pero menores a Marsán (25%) (8,9,14), Los pacientes en estadios medulares no expresaron antígenos mieloides. A diferencia de las LLA-B, la pérdida total de CD45 no se observó, pero 27.3% mostró pérdida parcial.

A pesar de estas limitaciones, la citometría de flujo es una herramienta útil e indispensable al momento de realizar el estudio de las leucemias agudas, por ello conocer las características fenotípicas de estas neoplasias en la población es una tarea pendiente. El presente estudio brinda un panorama respecto a las características fenotípicas de las LLA por ser de gran relevancia, debido a la mayor frecuencia que tienen dentro de las neoplasias hematológicas (1), logrando identificar marcadores de linaje y estadios madurativos más frecuentes, así como, marcadores de expresión aberrante; sin embargo, es necesario ampliar el estudio con un ingreso mayor de casos y no limitado a un sector sociodemográfico, además aprovechar los protocolos estandarizados que son utilizados actualmente, lo cual permitirá obtener información más representativa en población peruana.

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Luego de analizar los resultados se concluye:

1. Que, 118 casos (91.5%) corresponden a LLA-B, mientras 11 casos (8.5%) fueron LLA- T. Los marcadores más frecuentes para determinar el linaje B fueron CD19 y CD79a, mientras el marcador cyCD3 lo fue en linaje T. Cumpliéndose la hipótesis planteada para linaje.
2. Que, el estadio más frecuente en LLA-B fue B-común (75.4%) en linaje T fue T cortical (54.5%), cumpliéndose con la hipótesis planteada.
3. Que, los fenotipos aberrantes más frecuentes en LLA-B fueron las expresiones de infidelidad de línea, CD123 (87.5%), CD66c (82.8%) y CD13 (78.61%), además de ausencia de CD45 (77.1%). En LLA-T fueron la pérdida parcial o total de CD3 superficial (82%), pérdida de CD34 (73%).
4. Se encontró asociación significativa entre el linaje de LLA y el sexo ($p=0.001$), pero no con la edad ($p=0.973$).

5.2 RECOMENDACIONES

Luego de evaluar los resultados obtenidos en esta investigación se recomienda lo siguiente:

5. Debido al bajo número registros de LLA-T (11 pacientes) en el presente estudio, las inferencias extraídas a partir de este grupo pueden contener un sesgo elevado. Se sugiere realizar nuevos estudios descriptivos con un mayor tamaño muestral de pacientes con LLA- T
6. Debido a que actualmente existen paneles que siguen protocolos estandarizados que incluyen mayor cantidad de anticuerpos específicos para el diagnóstico y seguimiento de LLA-B y LLA-T, se recomienda realizar nuevos estudios que evalúen la frecuencia de nuevos marcadores fenotípicos que son reportados en la rutina médica.

7. Realizar estudios similares en centros médicos con mayor ingreso de muestras y no limitado a un sector sociodemográfico permitirá obtener datos más representativos en población peruana.
8. Se sugiere realizar estudios que correlacionen los hallazgos de fenotipos aberrantes y la presencia de alteraciones genéticas recurrentes con valor pronóstico.
9. Se sugiere realizar estudios que evalúen la modulación de la expresión antigénica post-quimioterapia; con la finalidad de determinar qué marcadores y con qué frecuencia varían de expresión, ello ayudaría a evitar falsos negativos en la evaluación de EMR.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L., Jaffe E.S., Pileri S.A., Stein H., Thiele J., Vardiman J.W. (Eds.). WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th Edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC). Octubre, 2007.
2. Sociedad Argentina de Hematología. Guía para el diagnóstico y tratamiento. Leucemia Linfoblástica Aguda. Pag 83-114. Argentina. 2013. Disponible en internet en: http://www.sah.org.ar/guias_hematolo_anteriores.asp.
3. Ministerio de Salud del Perú. Análisis de la situación del cáncer en el Perú 2013. Informe de la Dirección General de Epidemiología del MINSA. Primera edición. Lima; 2103. Disponible en internet en: http://www.dge.gob.pe/portal/docs/asis_cancer.pdf
4. INEI. Compendio estadístico Perú 2014, sector Salud. Lima-Perú.2014. Pag 416-422. Disponible en internet en: https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1173/cap06/cap06.pdf
5. Ferrís J, Tortajada I, García J, Castell I, López JA, Berbel TO. Risks factors for childhood acute leukemias. *An Esp Pediatr*. 1999; 50:439-446.
6. Marsán Suárez V, Del Valle Pérez LO, Díaz Domínguez G, Macías Abraham C. Metodología y aplicaciones de la citometría de flujo para el inmunofenotipaje de las leucemias agudas. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2015; 31(3):242-253.
7. Marie C. Béné, Jaspal S. Kaeda. How and why minimal residual disease studies are necessary in leukemia: a review from WP10 and WP12 of the European LeukaemiaNet. *Haematologica*. 2009; 94(8):1135-1150.
8. Wimalachandra M, Prabashika M, Dissanayake M, de Silva R, Gooneratne L. Immunophenotypic characterization of acute lymphoblastic leukemia in a flowcytometry reference centre in Sri Lanka. *Ceylon Med J*. 2020;65(1&2):23-27.
9. Sayed DM, Sayed HAR, Raslan HN, Ali AM, Zahran A, Al-Hayek R, et al. Outcome and Clinical Significance of Immunophenotypic Markers Expressed in Different Treatment Protocols of Pediatric Patients With T-ALL in Developing Countries. Egipto. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*. 2017; Volume 17, Issue 7, 443-449.

10. Adnan Awad, Shady et al. Immunophenotypic Characterization of Cytogenetic Subgroups in Egyptian Pediatric Patients With B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*. 2016; Volume 16, S19 - S24.e1
11. Soriano VI, Vásquez DE, Niquén FS, Fernández IM, Castañeda CK, Fernández M et al. Caracterización inmunofenotípica de las leucemias agudas diagnosticadas en un Hospital Nivel III en el periodo 2010-2013, Chiclayo-Perú. *Rev. cuerpo méd HNAAA*. 2015; 8(1).
12. Novoa V, Nuñez NA, Carballo OG, Lessa CF. Inmunofenotipos aberrantes en leucemias agudas en una población hospitalaria de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina. *MEDICINA*. 2013;73(1):9-16.
13. Tasayco. Características epidemiológicas, inmunofenotípicas y aspectos de laboratorio de las neoplasias hematológicas en niños menores de 1 año, diagnosticados en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) durante el periodo 2000-2010 [tesis de grado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013.
14. Marsán Suárez Vianed, Sánchez Segura Miriam, Socarrás Ferrer Bertha B., del Valle Pérez Lázaro O, Macías Abraham Consuelo, Nuñez Quintana Aramís et al. Significado biológico y clínico de la expresión de antígenos mieloides en la leucemia linfoide aguda pediátrica. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2009; 25(3).
15. Seegmiller AC, Kroft SH, Karandikar NJ, McKenna RW. Characterization of Immunophenotypic Aberrancies in 200 cases of B Acute Lymphoblastic Leukemia. *Am J Clin Pathol* 2009; 132:940-949.
16. Ortuño GF, Orfao A. Aplicación de la citometría de flujo al diagnóstico y seguimiento inmunofenotípico de las leucemias agudas. Servicio de Hematología y Oncología Médica. España, Murcia. *Medicina Clínica*. 2012; 118(11): 423-436. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025775302724081>
17. Thörn I., Forestier E., Botling J., Thuresson B., Wasslavik C., Björklund E. et al. Minimal residual disease assessment in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a Swedish multi-centre study comparing real-time polymerase chain reaction and multicolour flow cytometry. *Br J Haematol*. 2011;152(6):743-753.
18. Van Dongen JJM, Lhermitte L, Botcher S, Almeida J, Van der Velden VHJ, Flores MJ, et al. EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia* 2012; 26: 1908-1975.

19. Comité Científico de las Naciones Unidas para el Estudio de los Efectos de las Radiaciones Atómicas. Informe de la asamblea general con anexos científicos traducido al español. Nueva York: United Nations Publication; 2010. Sales No.E.10.XL.3.
20. Comisión Internacional de Protección Radiológica. Embarazo e irradiación médica. Informe de la ICRP/SEPR/SAR traducido al español. 1999. Publicación ICRP-84.
21. American Cancer Society. Leucemia Linfocítica aguda (en adultos). EEUU, 2014. Disponible en internet en: <http://www.cancer.org/leucemia-linfocitica-aguda-adultos--pdf>.
22. Igor Shuryak, Rainer K. Sachs, Lynn Hlatky, Mark P. Little, Philip Hahnfeldt, David J. Brenner. Radiation-Induced Leukemia at Doses Relevant to Radiation Therapy: Modeling Mechanisms and Estimating Risksd. *J Natl Cancer Inst.* 2006; 98(24):1794-806.
23. Wolff AC, Blackford AL, Visvanathan K, Rugo HS, Moy B, Goldstein LJ, et al. Risk of Marrow Neoplasms After Adjuvant Breast Cancer Therapy: The National Comprehensive Cancer Network Experience. *J Clin Oncol* 2015; 33:340-348.
24. Kaye SA, Robison LL, Smithson WA, Gunderson P, King FL, Neglia JP. Maternal reproductive history and birth characteristic in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer.* 1991; 68(6):1351-1355. Disponible en internet en: [http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142\(19910915\)68:6<1351::AID-CNCR2820680627>3.0.CO;2-J](http://dx.doi.org/10.1002/1097-0142(19910915)68:6<1351::AID-CNCR2820680627>3.0.CO;2-J)
25. Candelaria M, Luna OE, Labardini MJ, Herrera AA, Gutiérrez HO, Serrano OA. Virus y neoplasias hematológicas. *Cancerología.* 2009; 4 (2009): 217-225.
26. García M. Leucemia aguda infantil: caracterización clínico-biológica e investigación en modelo transgénico murino Sca1-TEL-AML1 [tesis doctoral]. Salamanca: Universidad de Salamanca. Facultad de Medicina; 2014.
27. Chan KW. Acute Lymphoblastic Leukemia. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care.* 2002; 32(2): 40-49.
28. MC Bene, G. Castoldi, W. Knapp, WD Ludwig, E Matutes, A. Orfao. European Group for the Immunological Characterization of Luekemias (EGIL). Proposals for the inmnunological classification of acute leukemias. *Leukemia* (Stockton). 1995; 9: 1783-1786.

29. Barrena Delfa. Nuevas estrategias inmunofenotípicas aplicadas al diagnóstico y clasificación de síndromes Linfoproliferativos crónicos. [Tesis Doctoral]. Universidad de Salamanca, Salamanca-España. 2011.
30. P Lucio, G Gaipa, EG van Lochem, ER van Wering, A Porwit-MacDonald, T Faria, et al. BIOMED-I concerted action report: flow cytometric immunophenotyping of precursor B-ALL with standardized triple-stainings. *Leukemia*. 2001; 15: 1185–1192.
31. Rubnitz JE, Pui CH. Recent Advances in the Treatment and Understanding of Childhood Acute Lymphoblastic Leukaemia. *Cancer Treat Rev*. 2003; 29(1): 31-44.
32. Redaelli A, Laskin BL, Stephens JM, Botteman MF, Pashos CL. A systematic Literature Review of the Clinical and Epidemiological Burden of Acute lymphoblastic Leukaemia (ALL). *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2005; 14(1): 53-62.
33. Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas-Departamento de Oncología Médica. *Guía de práctica clínica de leucemia linfática aguda*. Ministerio de Salud. Lima; 2013.
34. Tirado GL, Mohar BA. Epidemiología de las Neoplasias Hemato-Oncológicas. *Cancerología*. 2007; 2: 109-120.
35. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Bishop K, Altekruse SF, et al. SEER. Cancer Statistics Review, 1975-2013, National Cancer Institute. Disponible en internet en: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2013/, presentación de los datos SEER en Nov. 2015, publicado en el sitio web de SEER en Abril del 2016. Actualizado hasta el 12 de Setiembre del 2016.
36. Gallardo. Frecuencia de los polimorfismos de un solo nucleótido del gen ARID5B y su relación con el riesgo a desarrollar leucemia linfoblástica aguda en una cohorte de pacientes pediátricos mexicanos [tesis para especialidad]. Universidad Nacional Autónoma de México, México DF. 2013.
37. Ministerio de Salud del Perú. Estadística Poblacional [Internet]. Repositorio Único Nacional de Información en Salud (REUNIS). 2020 [citado 02 septiembre 2020]. Disponible en: https://www.minsa.gob.pe/reunis/data/poblacion_estimada.asp.
38. Van Dongen JJ, Van del Velden VH, Bruggemann M, Orfao A. Minimal residual disease diagnostics in acute lymphoblastic leukemia: need for sensitive, fast, and standardized technologies. *Blood*. 2015; 125(26): 3996-4009.

39. Pereira NE, Trindade MH, Fonseca TE, Assunção SC, Ramos VG, Gomes OR. Immunophenotypic characterization of acute leukemia at a public oncology reference center in Maranhão, northeastern Brazil. Sao Paulo. *Med. J.* 2011;129(6): 392-401.
40. Van Dongen JJ, Van del Velden VH, Bruggemann M, Orfao A. Minimal residual disease diagnostics in acute lymphoblastic leukemia: need for sensitive, fast, and standardized technologies. *Blood.* 2015; 125(26): 3996-4009.
41. Leach M., Drummond M., Doig A. Practical Flow Cytometry in Haematology Diagnosis. Edition 2015. UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2014.
42. Dworzak MN, Froschl G, Printz D, Zen LD, Gaipa G, Ratei R, Basso G, Biondi A, Ludwig WD, Gadner H. CD99 expression in T-lineage ALL: implications for flow cytometric detection of minimal residual disease. *Leukemia* 2004; 18:703-8
43. Sun T. Flow Cytometry Immunohistochemistry, and Molecular Genetics for Hematologic Neoplasms. 2nd ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer. 2008.
44. Schwartz S., Rieder H., Schläger B., Burmeister T., Fischer L., Thiel E. Expression of the human homologue of rat NG2 in adult acute lymphoblastic leukemia: close association with MLL rearrangement and a CD10⁻ /CD24⁻ /CD65⁺ /CD15⁺ B-cell phenotype. *Leukemia.* 2003;17: 1589-1595.
45. Cario G., Rhein P., Mitlöhner R., Zimmermann M., Bandapalli O.R., Romey R., et al. High CD45 surface expression determines relapse risk in children with precursor B-cell and T-cell acute lymphoblastic leukemia treated according to the ALL-BFM 2000 protocol. *Haematologica.* 2014;99(1): 103-110.
46. Hrušák O., Porwit-MacDonald A. Antigen expression patterns reflecting genotype of acute leukemias. *Leukemia.* 2002; 16: 1233-1258.
47. Marsán V, Macías C, Díaz G, Morales Y, Lam R, Machín S. et al. Expresión del antígeno CD45 en la Leucemia Linfóide Aguda Pediátrica. *Revista Cubana de Hematología, Inmunol y Hemoter.* 2017;33(2).
48. Guillaume N, Penther D, Vaida I, et al. CD66c expression in B-cell acute lymphoblastic leukemia: strength and weakness. *Int J Lab Hematol.* 2011;33(1):92-96.
49. Matos JC, Jorge FM, Queiroz JA. Análise comparativa da intensidade de fluorescência de CD10 e de CD19 em blastos leucêmicos e hematogônias. Fortaleza, Brazil. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2007;29(2):114-118.

ANEXOS

ANEXO 1

2.1.5. VARIABLES: Tabla 6: Operacionalización de variables

Variables	Definición operacional	Dimensiones	Tipo de variable	Escala de medición	Indicador		V.E.	Instrumento	
Características inmunofenotípicas de las LLA	Expresión de marcadores inmunológicos en la superficie, citoplasma y núcleo celular para determinar el linaje celular y estadio madurativo, así como para detectar fenotipos aberrantes de las células analizadas.	Linaje celular	Cualitativa	Nominal	• Linaje B	CD19, cyCD79a, cyCD22, CD10	+	Ficha de recolección	
						CyCD3, smCD3	-		
						cyMPO	-		
					• Linaje T	CD19, cyCD79a	-		
						CyCD3, smCD3	+		
						cyMPO	-		
		Estadio madurativo	Cualitativa	Nominal	LLA-B	Pro-B	CD10	-	Ficha de recolección
							cyIgM	-	
						B-común	CD10	+	
							cyIgM	-	
						Pre-B	CD10	+	
							cyIgM	+	
					LLA-T	Pro-T	CD2	-	
							CD5	v	
CD4, CD8, CD1a	-								
Pre-T	CD2, CD5					+			
	CD4, CD8, CD1a					-			
T-cortical	CD2, CD5, CD4, CD8, CD1a					+			
T-medular	CD2, CD5, CD8 o CD2, CD5, CD4	+							
	CD1a	-							

ANEXO 1

Variables	Definición operacional	Dimensiones	Tipo de variable	Escala de medición	Indicador		V.E.	Instrumento	
Características inmunofenotípicas de las LLA	Expresión de marcadores inmunológicos en la superficie, citoplasma y núcleo celular para determinar el linaje celular y estadio madurativo, así como para detectar fenotipos aberrantes de las células analizadas.	Fenotipos aberrantes	Cualitativa	Nominal	LLA-B	Pérdida total o parcial	CD45, CD34, nuTdT, CD19, cyCD79a	- -/+	Ficha de recolección
						Sobreexpresión	CD34, CD19, CD20	++ +++	
							CD10	+++	
					LLA-T	Infidelidad de línea	CD13, CD15, CD33, CD123	-/+ +	
						Pérdida total o parcial	CD45, CD34, nuTdT, cyCD3, smCD3, CD7	- -/+	
							Sobreexpresión	CD34	
Infidelidad de línea	CD13, CD15, CD33, CD10	-/+ +							

ANEXO 2

Tesis para optar el título de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica **“CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DE LAS LEUCEMIAS LINFOBLÁSTICAS AGUDAS DIAGNOSTICADAS EN UN LABORATORIO DE LIMA-PERÚ DURANTE EL PERIODO 2013-2015”**

Autor: Bach. T.M. Carlos Jesús Cortez Rodríguez / Asesor: Mg. Eduardo Verástegui Lara / Co-asesor: Lic. TM. César Rivera Orcoapaza

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS																	
I	DATOS GENERALES	CÓDIGO DE INGRESO	MOTIVO/ DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO					SEXO				EDAD	TIPO DE MUESTRA		PORCENTAJE (blastos leucémicos)		
								M	F			MO	SP				
II	INMUNOFENOTIPO DIAGNÓSTICO (Rellenar las cuadrículas en blanco describiendo la expresión de los marcadores por intensidad)	LINAJE (Criterio WHO 2008)															
		smCD3	cyCD3	CD19	cyCD79a	CyCD22	CD10	cyMPO									
		GRADO DE DIFERENCIACIÓN Y ESTADIO MADURATIVO B										EXPRESIONES ABERRANTES/ INFIDELIDAD (B)					
		núTdT	CD34	CD10	CD20	CD38	cyIgM	smIgM	smLambda	smKappa	CD13	CD33	CD15	CD117	CD123	CD66c	
		GRADO DE DIFERENCIACIÓN Y ESTADIO MADURATIVO T										EXPRESIONES ABERRANTES/ INFIDELIDAD (T)					
		núTdT	CD34	CD99	CD7	CD5	CD2	CD4	CD8	CD1a	TCR a/b	TCR g/d	CD45RA	CD13	CD33	CD15	CD117
III	CONCLUSIÓN FINAL																

ANEXO 3

Tabla 7. Marcadores usados en el análisis de citometría de flujo.

ANTICUERPO	FLUOROCROMO	CLONA	MARCA
CD1a	APC	HI149	INMUNOSTEP
CD2	PE	S5.2	BD
CD3	APC	SK7	BD
CD3	PERCP	33-2A3	INMUNOSTEP
CD3	APC	S4.1	INVITROGEN
CD4	PE	SK3	BD
CD4	PE	HPE2-6	INMUNOSTEP
CD5	FITC	L17F12	BD
CD5	FITC	L17F12	INMONOSTEP
CD7	FITC	M-T701	BD
CD7	FITC	HIT7	INMUNOSTEP
CD8	FITC	SK1	BD
CD10	PE	HI10a	BD
CD10	PE	HI10a	INMUNOSTEP
CD11b	Alexa Fluor	ICRF44	BD Farmagen
CD13	PE	L138	BD
CD15	FITC	MMA	BD
CD19	APC	A3B1	INMUNOSTEP
CD19	APC	SJ25-C1	INVITROGEN
CD20	FITC	L27	BD
CD66c	PE	B6.2-CD66	BD
CD123	PE	9F5	BD
CD79a	PE	HM57	DAKO
CD79a	PE	HM57	CYTOGNOS
CD34	APC	8G12	BD
CD34	PerCP	8G12	BD
nuTdT	FITC	HT-6	DAKO
CD1a	APC	HI149	INMUNOSTEP

APC: Alociocianina; Per-CR: Peridinin-clorofila-complejo de proteínas; PE: Ficoeritrina; FITC: isotiocianato de fluoresceína; nuTdT: terminal desoxinucleotidil transferasa.

ANEXO 4

MARCAJE DE ANTÍGENOS SUPERFICIALES

1. Rotular los tubos de acuerdo al panel
2. Agregar los anticuerpos monoclonales según el panel establecido y usando el volumen establecido por el fabricante: Las florescencias a usar son: APC, PerCP, PE y FITC.
3. Añadir la muestra bajo el siguiente criterio:

MOTIVO	REC. LEUCOCITOS	VOL. MUESTRA	AGREGAR AL TUBO
D/C	> 12 000	> 3 ml	100 ul
		1 - 3 ml	100 ul
		< 1ml	50 ul
	6 000 - 12 000	> 3 ml	100 ul
		1 - 3 ml	100 ul
		< 1ml	50 ul
	< 6 000	> 3 ml	200 ul
		1 - 3 ml	200 ul
		< 1ml	100 ul
CONTROL	> 12 000	> 3 ml	200 ul
		1 - 3 ml	200 ul
		< 1ml	100 ul
	6 000 - 12 000	> 3 ml	300 ul
		1 - 3 ml	300 ul
		< 1ml	200 ul
	< 6 000	> 3 ml	400 ul
		1 - 3 ml	300 ul
		< 1ml	200 ul

4. Vórtex
5. Incubar por 30 min a temperatura ambiente y en oscuridad.
6. Vórtex
7. Agregar FACS Lysing:
 - 2ml para tubos con 100 – 200 ul de muestra
 - 3ml para tubos con >300 ul de muestra a más
8. Vortex
9. Incubar por 10 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.
10. Centrifugar a 3500 rpm (velocidad high) por 3 minutos
11. Aspirar el sobrenadante cuidando de no arrastrar el pellet.
12. Vórtex
13. Agregar 2ml de PBS
14. Vórtex
15. Centrifugar a 3500 rpm (velocidad high) por 3 minutos
16. Aspirar el sobrenadante cuidando de no arrastrar el pellet.
17. Vórtex
18. Resuspender con PBS hasta obtener una turbidez adecuada.

ANEXO 5

MARCAJE DE ANTÍGENOS CITOPLASMATICOS Y NUCLEARES

1. Rotular los tubos de acuerdo al panel
2. Agregar los anticuerpos monoclonales según el panel establecido y usando el volumen establecido por el fabricante: Las florescencias a usar son: APC, PerCP, PE y FITC.
3. Añadir la muestra según el criterio antes descrito.
4. Vórtex
5. Incubar por 30 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad.
6. Vórtex
7. Lavar con 2 ml de PBS|
8. Agregar 100ul de solución fijadora (solución A).
9. Vórtex
10. Incubar por 10 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.
11. Vórtex
12. Lavar con 2 ml de PBS
13. Agregar 100ul de solución permeabilizante (solución B)
14. Agregar los anticuerpos monoclonales para antígenos citoplasmáticos y/o nucleares:
15. Homogenizar e incubar por 15 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.
16. Vórtex
17. Lavar con 2ml de PBS.
18. Resuspender con PBS hasta obtener una turbidez adecuada.

ANEXO 6



ANEXO 4

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA
E.A.P. TECNOLOGIA MÉDICA



SOLICITUD DE AUTORIZACION PARA LA RECOLECCION Y/O USO DE DATOS EN PROCESOS FORMALES DE INVESTIGACION

DATOS DE IDENTIFICACIÓN DEL SOLICITANTE

Nombre y apellidos: Carlos Jesús Cortez Rodríguez
Entidad / Institución: Cytometric Bioservices SAC
Dirección: Av. Del Aire 1308, San Luis, Lima Teléfono: (511)346 2167
Correo electrónico: contacto@cytometricbioservices.com

INFORMACION SOBRE LA SOLICITUD

Procedimiento a realizar:

1. El solicitante está interesado en recopilar los datos de los resultados de pacientes que acudieron al laboratorio Cytometric Bioservices SAC durante el período 2013-2015 los cuales fueron Ingresados con el apoyo de la misma a una base de datos general.
2. Debido a la naturaleza del trabajo, es necesario que se maneje la información de manera confidencial; antes, durante y en la etapa posterior.

Servicio: Laboratorio de Citometría de flujo

FINALIDAD Y JUSTIFICACIÓN

Objetivo de la solicitud:

Solicitar la autorización de acceso a la base de datos, información necesaria, así como a los resultados de Citometría de flujo de los pacientes que fueron diagnosticados con leucemia aguda durante el período 2013-2015.

Justificación

Realizar un trabajo de investigación tomando la base de datos de Cytometric Bioservices SAC a fin de presentarlo como tesis en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para optar el título de Licenciado en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica.

El uso de los datos del laboratorio Cytometric Bioservices SAC para el desarrollo de la tesis brindará información sobre estadísticas que podrán ser tomados como referencia para futuros trabajos de investigación, así como podrá ser usado como trabajos de investigación publicables para fines que el Laboratorio en mención considere necesario previa autorización del tesista.

El solicitante se compromete a:

1. Realizar únicamente la recolección de la información autorizada.

2. Mantener la confidencialidad y la seguridad de la información de los participantes, haciendo uso de esta únicamente para lo expuesto en esta solicitud
3. Para presentaciones públicas de la información recolectada se darán los créditos correspondientes al Laboratorio que incluyan la procedencia de los datos.

Firma del solicitante:

Fecha: **28/08/16**

Nombre: **Carlos Jesús Cortez Rodríguez**

Vinculación con **Cytometric Bioservices SAC:**

RESPUESTA A LA SOLICITUD:

Tras la verificación de lo expuesto en esta solicitud en relación con el uso de la información, el procedimiento propuesto y la pertinencia del mismo, esta solicitud es:

Autorizada:

No autorizada:

Observaciones:.....
.....
.....

En constancia de lo anterior y en señal de aceptación se firma el presente acuerdo:

Fecha: **28/08/16**

Nombre: **Agustín Carlos Alberto Zafra Escobar**

Gerente General de **Cytometric Bioservices SAC**

Elaboración realizada por Carlos Cortez R. Datos facilitados por:

CYTOMETRIC
Bioservices SAC

ANEXO 7



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA
EP TECNOLOGÍA MÉDICA

Título de la tesis: “Características inmunofenotípicas de las leucemias linfoblásticas agudas diagnosticadas en un laboratorio de Lima-Perú durante el periodo 2013 -2015”.

Autor: Bach. T.M. Carlos Jesús Cortez Rodriguez



LISTA DE EXPERTOS PARA LA VERIFICACIÓN DEL INSTRUMENTO

No	Nombres y Apellidos	Grado Académico- Especialidad	Cargo	Institución	Teléfono
1	Dr. Richard Dyer Velarde-Alvarez	Médico con especialidad en Anatomía Patológica y más de 20 años de experiencia en citometría de flujo	Jefe del área de Anatomía Patológica en Oncosalud. Director Médico y sub-gerente de Cytometric Bioservices SAC.	Oncosalud/ Cytometric Bioservices SAC	962335086
2	Dr. Bladimiro Sabino Choque Calderón	Médico con especialidad en Patología Clínica y 5 años de experiencia en citometría de flujo.	Jefe del servicio de Hematología especializada del servicio de Patología Clínica del INSN SB.	INSN-San Borja	916205854

3	Mg. Jeniffer Azaña Yupanqui	Licenciada en T.M con una maestría en Biología y Clínica del Cáncer realizada en el Centro de Investigación del Cáncer de la Universidad de Salamanca (España). Cuenta con más de 8 años de experiencia en citometría de flujo.	Especialista de Producto del área de Biosciencias (Citometría de Flujo) de Becton Dickinson (BD).	Becton Dickinson (BD)	949519736
4	Mg. Julia Moya Naranjo	Licenciada en T.M., con Maestría en Gestión de los Servicios de la Salud y 12 años de experiencia en diagnóstico de Neoplasias Hematológicas.	Analista en el servicio de citometría de flujo en el INEN y Especialista de aplicaciones en Cytbio.	INEN/ Cytbio	995060311
6	Msc (c). César Rivera Orcoapaza	Licenciado en T.M. Maestría en Ciencias en Investigación Epidemiológica y 7 años de experiencia en citometria de flujo.	Analista en el servicio de citometría de flujo en el INSN-SB.	INSN-SB	994334943

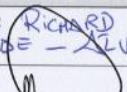

ANEXO 8

VERIFICACIÓN POR EXPERTOS DEL INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Tesis para optar el título de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica "CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DE LAS LEUCEMIAS LINFOBLÁSTICAS AGUDAS DIAGNOSTICADAS EN UN LABORATORIO DE LIMA-PERÚ DURANTE EL PERIODO 2013-2015"

Autor: Bach. T.M. Carlos Jesús Cortez Rodríguez / Asesor: Mg. Eduardo Verástegui Lara / Co-asesor: Lic. TM. César Rivera Orcoapaza

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS																		
I	DATOS GENERALES	CÓDIGO DE INGRESO	MOTIVO/ DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO	SEXO				EDAD	TIPO DE MUESTRA		PORCENTAJE (blastos leucémicos)							
				M	F	MO	SP											
II	INMUNOFENOTIPO DIAGNÓSTICO <small>(Rellenar las cuadrículas en blanco describiendo la expresión de los marcadores por intensidad)</small>	LINAJE (Criterio WHO 2008)																
		smCD3	cyCD3	CD19	cyCD79a	CyCD22	CD10	cyMPO										
		GRADO DE DIFERENCIACIÓN Y ESTADIO MADURATIVO B								EXPRESIONES ABERRANTES/ INFIDELIDAD (B)								
		nuTdT	CD34	CD38	CD10	CD20	cyIgM	smIgM	smLambda	smKappa	CD13	CD33	CD15	CD117	CD123	CD66c		
		GRADO DE DIFERENCIACIÓN Y ESTADIO MADURATIVO T								EXPRESIONES ABERRANTES/ INFIDELIDAD (T)								
		nuTdT	CD34	CD99	CD7	CD5	CD2	CD4	CD8	CD1a	TCR a/b	TCR g/d	CD45RA	CD13	CD33	CD15	CD117	CD123
III	CONCLUSIÓN FINAL																	

CONFORMIDAD DEL INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS			
Nombre del experto:	RICHARD RODEPEO DYER VELARDE - ALVAREZ	Aprobado	Aprobado con observaciones
Firma del experto:	 <small>CYROMETRIC BIOSERVICES S.A.C. RICHARD DYER VELARDE-ALVAREZ DIRECTOR MEDICO MEDICO ANATOMO PATOLOGO CMP 17738 RNE 11520</small>		Observaciones:


ANEXO 9

VERIFICACIÓN POR EXPERTOS DEL INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Tesis para optar el título de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica "CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DE LAS LEUCEMIAS LINFOBLÁSTICAS AGUDAS DIAGNOSTICADAS EN UN LABORATORIO DE LIMA-PERÚ DURANTE EL PERIODO 2013-2015"

Autor: Bach. T.M. Carlos Jesús Cortez Rodríguez / Asesor: Mg. Eduardo Verástegui Lara / Co-asesor: Lic. TM. César Rivera Orcoapaza

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS																	
I	DATOS GENERALES	CÓDIGO DE INGRESO	MOTIVO/ DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO				SEXO		EDAD	TIPO DE MUESTRA		PORCENTAJE (blastos leucémicos)					
							M	F		MO	SP						
II	INMUNOFENOTIPO DIAGNÓSTICO <small>(Rellenar las cuadrículas en blanco describiendo la expresión de los marcadores por intensidad)</small>	LINAJE (Criterio WHO 2008)															
		smCD3	cyCD3	CD19	cyCD79a	CyCD22	CD10	cyMPO									
		GRADO DE DIFERENCIACIÓN Y ESTADIO MADURATIVO B								EXPRESIONES ABERRANTES/ INFIDELIDAD (B)							
		nuTdT	CD34	CD38	CD10	CD20	cyIgM	smIgM	smLambda	smKappa	CD13	CD33	CD15	CD117	CD123	CD66c	
		GRADO DE DIFERENCIACIÓN Y ESTADIO MADURATIVO T								EXPRESIONES ABERRANTES/ INFIDELIDAD (T)							
		nuTdT	CD34	CD99	CD7	CD5	CD2	CD4	CD8	CD1a	TCR a/b	TCR g/d	CD45RA	CD13	CD33	CD15	CD117
III	CONCLUSIÓN FINAL																

CONFORMIDAD DEL INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS			
Nombre del experto: <i>BLADIMIRO ESTEBAN (ACERON)</i>	Aprobado	Aprobado con observaciones	No Aprobado
Firma del experto: 	X	Observaciones:	


ANEXO 10

VERIFICACIÓN POR EXPERTOS DEL INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Tesis para optar el título de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica "CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DE LAS LEUCEMIAS LIÑOBLÁSTICAS AGUDAS DIAGNOSTICADAS EN UN LABORATORIO DE LIMA-PERÚ DURANTE EL PERIODO 2013-2015"

Autor: Bach. T.M. Carlos Jesús Cortez Rodríguez / Asesor: Mg. Eduardo Verástegui Lara / Co-asesor: Lic. TM. César Rivera Orcoapaza

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS																		
I	DATOS GENERALES	CÓDIGO DE INGRESO	MOTIVO/ DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO	SEXO				EDAD	TIPO DE MUESTRA		PORCENTAJE (blastos leucémicos)							
				M	F	MO	SP											
II	INMUNOFENOTIPO DIAGNÓSTICO <small>(Rellenar las cuadrículas en blanco describiendo la expresión de los marcadores por intensidad)</small>	LINAJE (Criterio WHO 2008)																
		smCD3	cyCD3	CD19	cyCD79a	CyCD22	CD10	cyMPO										
		GRADO DE DIFERENCIACIÓN Y ESTADIO MADURATIVO B									EXPRESIONES ABERRANTES/ INFIDELIDAD (B)							
		nuTdT	CD34	CD38	CD10	CD20	cyIgM	smIgM	smLambda	smKappa	CD13	CD33	CD15	CD117	CD123	CD66c		
		GRADO DE DIFERENCIACIÓN Y ESTADIO MADURATIVO T									EXPRESIONES ABERRANTES/ INFIDELIDAD (T)							
nuTdT	CD34	CD99	CD7	CD5	CD2	CD4	CD8	CD1a	TCR a/b	TCR g/d	CD45RA	CD13	CD33	CD15	CD117	CD123	CD10	
III	CONCLUSIÓN FINAL																	

CONFORMIDAD DEL INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS			
Nombre del experto:	Aprobado	Aprobado con observaciones	No Aprobado
AZAÑA YUPANQUI JUDITH JENIFFER	X		
Firma del experto:  CTMP: 7526		Observaciones:	

ANEXO 11

VERIFICACIÓN POR EXPERTOS DEL INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Tesis para optar el título de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica "CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DE LAS LEUCEMIAS LINFOBLÁSTICAS AGUDAS DIAGNOSTICADAS EN UN LABORATORIO DE LIMA-PERÚ DURANTE EL PERIODO 2013-2015"

Autor: Bach. T.M. Carlos Jesús Cortez Rodríguez / Asesor: Mg. Eduardo Verástegui Lara / Co-asesor: Lic. TM. César Rivera Orcoapaza

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS																	
I	DATOS GENERALES	CÓDIGO DE INGRESO	MOTIVO/ DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO	SEXO				EDAD	TIPO DE MUESTRA		PORCENTAJE (blastos leucémicos)						
				M	F	MO	SP										
II	INMUNOFENOTIPO DIAGNÓSTICO <small>(Rellenar las cuadrículas en blanco describiendo la expresión de los marcadores por intensidad)</small>	LINAJE (Criterio WHO 2008)															
		smCD3	cyCD3	CD19	cyCD79a	CyCD22	CD10	cyMPO									
		GRADO DE DIFERENCIACIÓN Y ESTADIO MADURATIVO B								EXPRESIONES ABERRANTES/ INFIDELIDAD (B)							
		nuTdT	CD34	CD38	CD10	CD20	cyIgM	smIgM	smLambda	smKappa	CD13	CD33	CD15	CD117	CD123	CD66c	
		GRADO DE DIFERENCIACIÓN Y ESTADIO MADURATIVO T								EXPRESIONES ABERRANTES/ INFIDELIDAD (T)							
		nuTdT	CD34	CD99	CD7	CD5	CD2	CD4	CD8	CD1a	TCR a/b	TCR g/d	CD45RA	CD13	CD33	CD15	CD117
III	CONCLUSIÓN FINAL																

CONFORMIDAD DEL INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS			
Nombre del experto: <i>JULIA LUISA MOYA NARANJO</i>	Aprobado	Aprobado con observaciones	No Aprobado
Firma del experto: <i>J. Moya Naranjo</i> CTMP 5786	X	Observaciones:	

ANEXO 12

VERIFICACIÓN POR EXPERTOS DEL INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Tesis para optar el título de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica "CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DE LAS LEUCEMIAS LINFOBLÁSTICAS AGUDAS DIAGNOSTICADAS EN UN LABORATORIO DE LIMA-PERÚ DURANTE EL PERIODO 2013-2015"

Autor: Bach. T.M. Carlos Jesús Cortez Rodríguez / Asesor: Mg. Eduardo Verástegui Lara / Co-asesor: Lic. TM. César Rivera Orcoapaza

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS																		
I	DATOS GENERALES	CÓDIGO DE INGRESO	MOTIVO/ DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO					SEXO					EDAD	TIPO DE MUESTRA		PORCENTAJE (blastos leucémicos)		
								M	F					MO	SP			
II	INMUNOFENOTIPO DIAGNÓSTICO <small>(Rellenar las cuadrículas en blanco describiendo la expresión de los marcadores por intensidad)</small>	LINAJE (Criterio WHO 2008)																
		smCD3	cyCD3					CD19	cyCD79a					CyCD22	CD10		cyMPO	
		GRADO DE DIFERENCIACIÓN Y ESTADIO MADURATIVO B										EXPRESIONES ABERRANTES/ INFIDELIDAD (B)						
		nuTdT	CD34	CD38	CD10	CD20	cyIgM	smIgM	smLambda	smKappa	CD13	CD33	CD15	CD117	CD123	CD66c		
		GRADO DE DIFERENCIACIÓN Y ESTADIO MADURATIVO T										EXPRESIONES ABERRANTES/ INFIDELIDAD (T)						
		nuTdT	CD34	CD99	CD7	CD5	CD2	CD4	CD8	CD1a	TCR a/b	TCR g/d	CD45RA	CD13	CD33	CD15	CD117	CD123
III	CONCLUSIÓN FINAL																	

CONFORMIDAD DEL INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS			
Nombre del experto: César Rivera Orcoapaza	Aprobado	Aprobado con observaciones	No Aprobado
Firma del experto: CTMP: 10651	<input checked="" type="checkbox"/>		
		Observaciones:	

ANEXO 13



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE MEDICINA



«Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad»

Lima, 12 de julio de 2019

RESOLUCIÓN DE DECANATO N° 1522-D-FM-2019

Visto el Expediente N° 11677-FM-2019 de fecha 27 de junio de 2019 de la Unidad de Trámite Documentario y Archivo de la Facultad de Medicina, sobre aprobación de Proyectos de Tesis.

CONSIDERANDO:

Que, mediante Resolución de Decanato N° 1569-D-FM-2013 ratificada con Resolución Rectoral N° 01717-R-2016 de fecha 19 de abril de 2016, se aprueba el Reglamento para la Elaboración de Tesis para optar el Título Profesional en las Escuelas Académico Profesionales de la Facultad de Medicina, que en su **Capítulo I. Introducción, Art. 2:** establece que: "La tesis debe ser un trabajo inédito de aporte original, por la cual se espera que los estudiantes adquieran destrezas y conocimientos que los habiliten para utilizar la investigación como un instrumento de cambio, cualquiera sea el campo del desempeño" así mismo, en su **Capítulo VI: Del Asesoramiento de la tesis:** Art. 28 establece que: "La Dirección de la EAP con la opinión favorable del Comité de Investigación, solicitará a la Dirección Académica la Resolución Decanal respectiva para proceder a su ejecución";

Que, mediante Oficios N° 1273-1276/FM-EPTM/2019, el Director de la Escuela Profesional de Tecnología Médica, informa que los Proyectos de Tesis que figuran en la propuesta cuentan con opinión favorable de la Comisión de Investigación de la citada Escuela para su ejecución; y,

Estando a lo establecido por el Estatuto de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y las atribuciones conferidas por la Ley Universitaria N° 30220;

SE RESUELVE:

1° Aprobar los Proyectos de Tesis, según detalle:

Estudiante: Sofía Kimberly Yapias Bartolo Código de matrícula N° 14010447 E.P. de Tecnología Médica Área: Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica	Título del Proyecto de Tesis: "INTERVALOS DE REFERENCIA DE COLESTEROL SÉRICO TOTAL EN JÓVENES ADULTOS DE LIMA METROPOLITANA, 2019"
Asesor: Dr. Miguel Hernán Sandoval Vegas Código docente: 079839	
Estudiante: Carlos Jesús Cortez Rodríguez Código de matrícula N° 09010304 E.P. de Tecnología Médica Área: Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica	Título del Proyecto de Tesis: "CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DE LAS LEUCEMIAS LINFOBLÁSTICAS AGUDAS DIAGNOSTICADAS EN UN LABORATORIO DE LIMA-PERÚ DURANTE EL PERIODO 2013-2015 "
Asesor: Mg. Eduardo Augusto Verástegui Lara Código docente: 073784	

2° Encargar a la Escuela Profesional de Tecnología Médica el cumplimiento de la presente resolución.

Regístrese, comuníquese, archívese.



ANGELA R. CORNEJO V. DE ESPEJO
Vicedecana Académica

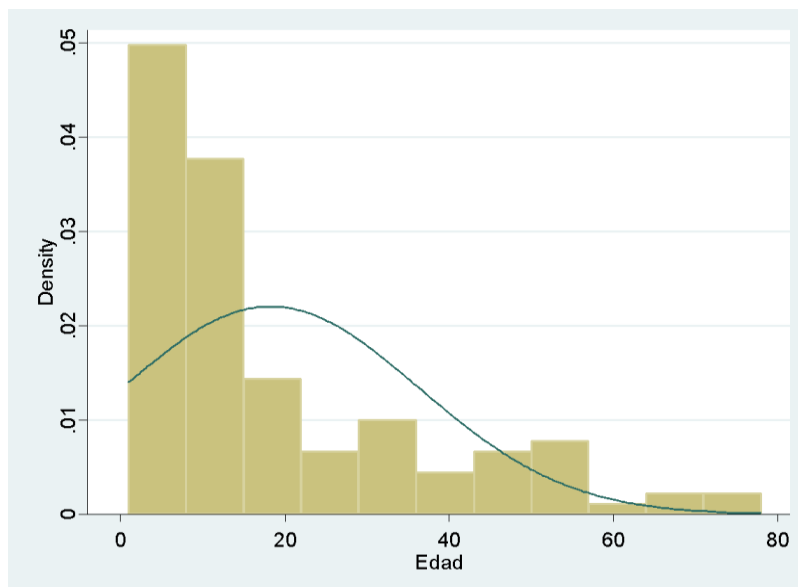


D. FERGIO G. RONCEROS MEDRANO
Decano

ANEXO 14

ANÁLISIS DE LA NORMALIDAD DE LA DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE LLA, SEGÚN LA EDAD

	Percentiles	Smallest		
1%	1	1		
5%	2	1		
10%	3	2	Obs	129
25%	5	2	Sum of Wgt.	129
50%	11		Mean	18.27907
		Largest	Std. Dev.	18.10256
75%	26	67		
90%	49	67	Variance	327.7028
95%	56	71	Skewness	1.365643
99%	71	78	Kurtosis	3.94792

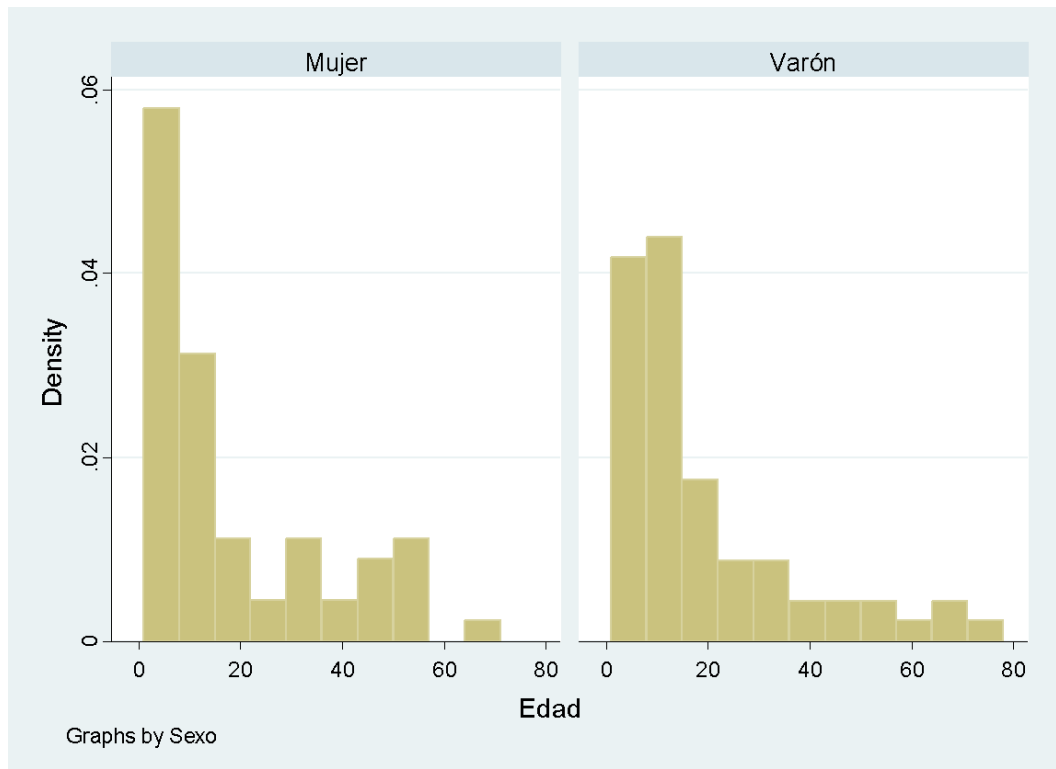


En este caso la mejor forma de representar la edad sería en mediana (p25 - p75) Edad: 11 (5 - 26).

ANEXO 15

EVALUACIÓN DE LA NORMALIDAD DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE LLA, SEGÚN LA EDAD Y SEXO

SEXO	mean	sd	p50	p25	p75
Mujer	17.78125	17.94566	9.5	4.5	30
Varón	18.76923	18.38203	12	6	22
Total	18.27907	18.10256	11	5	26



En el grupo género la edad debe ser expresada en mediana (p25 - p75)

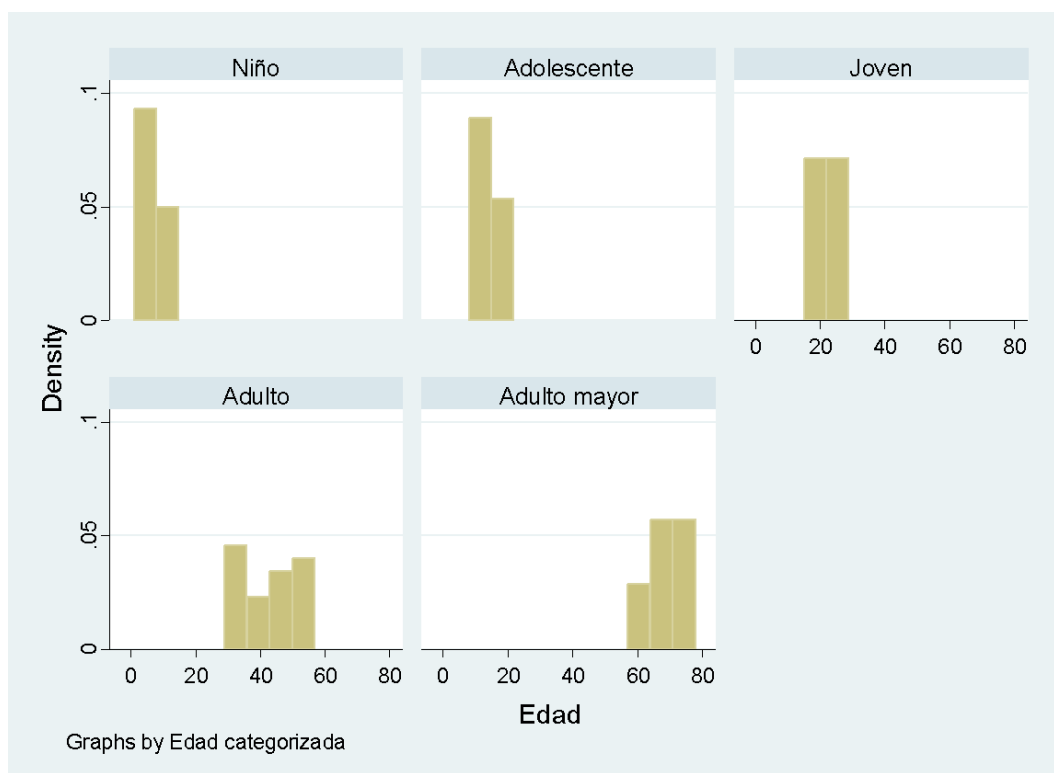
Mujer: 9.5 (4.5 - 30)

Varón: 12 (6 - 22)

ANEXO 16

EVALUACIÓN DE LA NORMALIDAD DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE LLA, SEGÚN LA EDAD CATEGORIZADA

Edad	N	mean	sd	p50	p25	p75
Niño	69	5.898551	3.025115	6	3	8
Adolescente	16	14.0625	1.913766	14	12	15.5
Joven	14	21.71429	3.291681	21.5	19	22
Adulto	25	43.04	8.36899	43	35	50
Adulto mayor	5	69.2	5.674504	67	67	71
Total	129	18.27907	18.10256	11	5	26

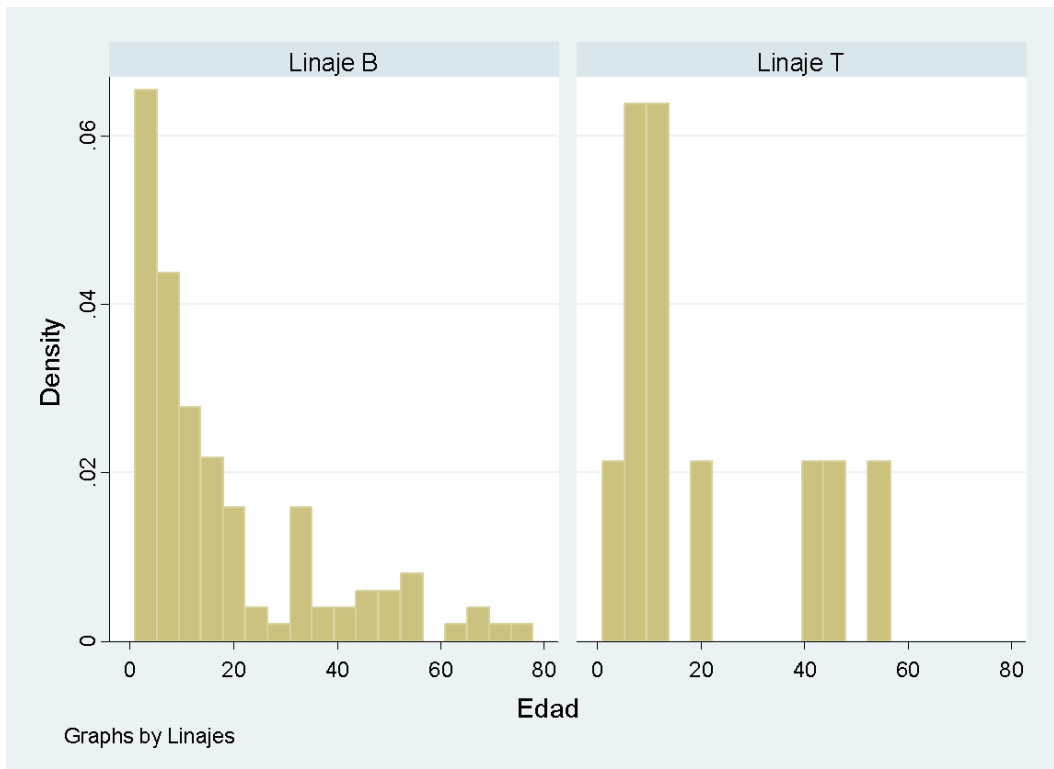


En este grupo usaría en todos los grupos promedios \pm desviación estándar

ANEXO 16

EVALUACIÓN DE LA NORMALIDAD DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE LLA, SEGÚN LA EDAD Y LINAJE

Linajes	N	mean	sd	p50	p25	p75
Linaje B	118	18.11864	18.20922	11	5	26
Linaje T	11	20	17.6522	11	8	42
Total	129	18.27907	18.10256	11	5	26



En linajes vs edad utilizaría medianas (p25 - p75)

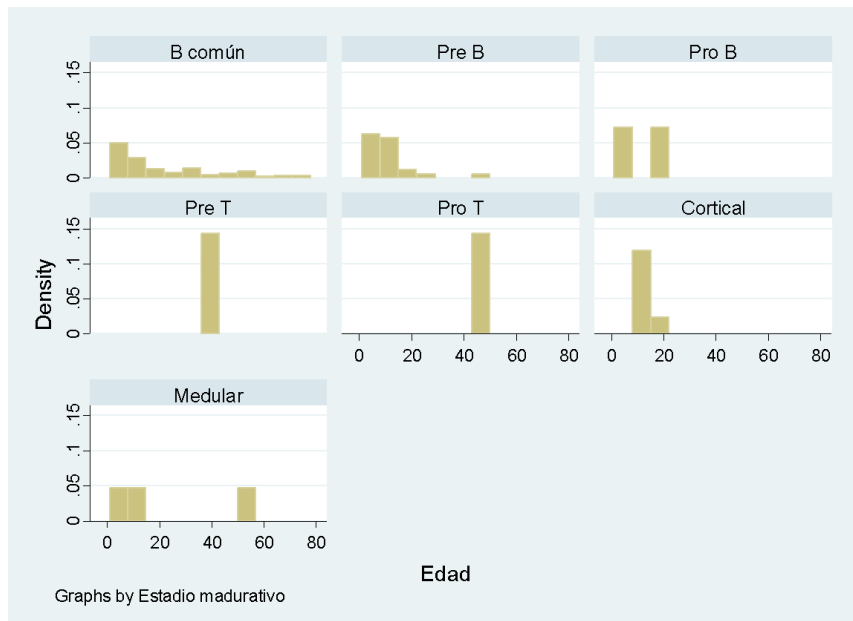
Linaje B: 11 (5 - 26)

Linaje T: 11 (8 - 42)

ANEXO 17

EVALUACIÓN DE LA NORMALIDAD DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE LLA B y T, SEGÚN LA EDAD Y ESTADIO MADURATIVO

Estadio	N	mean	sd	p50	p25	p75
B común	89	20.69663	19.58049	12	5	34
Pre B	25	10.24	9.976138	8	4	11
Pro B	4	10	9.309493	10	2	18
Pre T	1	42	.	42	42	42
Pro T	1	44	.	44	44	44
Cortical	6	11.66667	4.844241	10.5	8	12
Medular	3	21.33333	27.53785	8	3	53
Total	129	18.27907	18.10256	11	5	26



En edad vs estadio madurativo solo trabajaría en el linaje B y en medianas (p25 - p75)

B común: 12 (5 -34)

Pre B: 8 (4 - 11)

Pro B: 10 (2 -18)

En el linaje T hay estadios que tienen un solo individuo, por lo cual no es factible presentar los datos de edad con medidas de tendencia central.

ANEXO 18

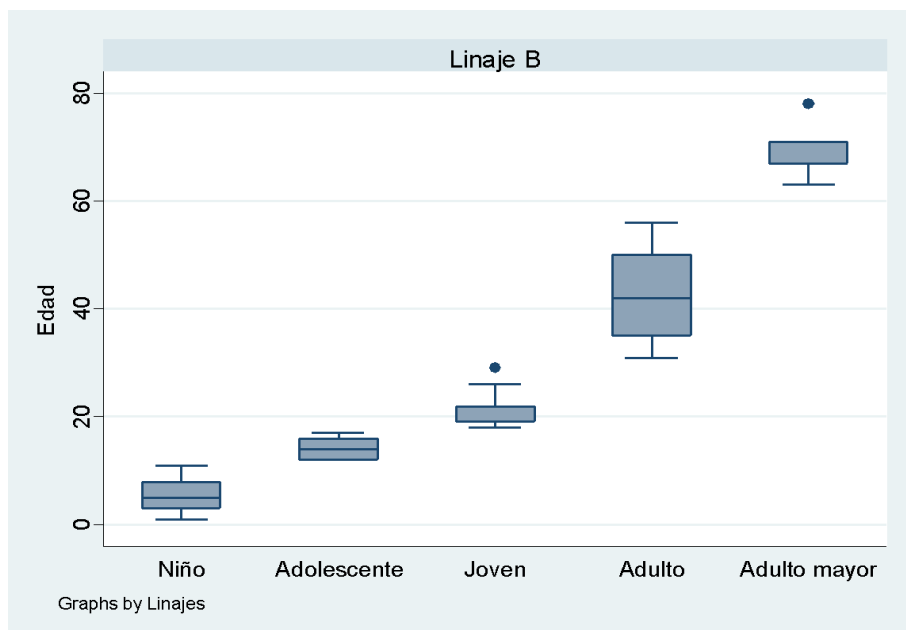
EVALUACIÓN DE LA NORMALIDAD DE PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE LLA B, SEGÚN EDAD CATEGORIZADA

> Linajes = Linaje B

Summary for variables: EDAD

by categories of: edad (Edad categorizada)

edad2	mean	sd	p25	p50	p75	N
Niño	5.698413	2.992652	3	5	8	63
Adolescente	14.2	1.897367	12	14	16	15
Joven	21.76923	3.419402	19	22	22	13
Adulto	42.59091	8.661129	35	42	50	22
Adulto mayor	69.2	5.674504	67	67	71	5
Total	18.11864	18.20922	5	11	26	118



Gráfica de cajas de la distribución de los casos de LLA-B, según la edad categorizada.