

## CERTIFICO

Que he analizado la tesis presentada por la **Dra. CASTULA TANIA TRIANA CASTRO** como requisito para optar por el grado de **ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA**. El título de investigación es **“CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS. INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL. SOLCA DR. JUAN TANCA MARENGO 2009 - 2010”** que se realiza en el Instituto Oncológico Nacional SOLCA y puedo dar fe de que cumple con los requisitos metodológicos y de estilo para su aprobación, además de representar un aporte valioso al conocimiento científico de esta respetable institución.

Extiendo éste certificado para que la interesada haga del mismo el uso que estime conveniente.

---

Dr. Fernando Camacho Alvarez

Tutor de Tesis

Guayaquil, Octubre 22 del 2012

Guayaquil, Octubre 22 del 2012

Dr. Sixto Buenaño Aldaz. Msc.  
Director de Escuela de Graduados  
Facultad de Ciencias Médicas  
Universidad de Guayaquil.

A su despacho.-

De mis consideraciones:

Le comunico de manera comedida, que he analizado la tesis presentada por la **Dra. CASTULA TANIA TRIANA CASTRO** como requisito previo para optar por el grado de **ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA**. El título de investigación es **“CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS. INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL SOLCA DR. JUAN TANCA MARENDO 2009- 2010”** que se realiza en el Instituto Oncológico Nacional SOLCA y puedo dar fe de que cumple con los requisitos metodológicos y de estilo para su aprobación, además de representar un aporte valioso al conocimiento científico de esta respetable institución.

---

Dr. Fernando Camacho Alvarez  
Director de Postgrado de Anatomía Patológica  
ION-SOLCA



**INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL  
“DR. JUAN TANCA MARENGO”  
SOCIEDAD DE LUCHA CONTRA EL CÁNCER**

**TEMA DE INVESTIGACIÓN:  
“CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DE LAS LEUCE-  
MIAS AGUDAS. INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL SOLCA  
DR. JUAN TANCA MARENGO. 2009- 2010”**

---

Dr. Guido Panchana Eguez

Jefe de Docencia

---

Dr. Fernando Camacho Alvarez

Director Postgrado de Anatomía Patológica

---

Dr. Fernando Camacho Alvarez.

Tutor de Tesis

---

Dra. Aurora Romero Coronel

Asesora de tesis

---

Dr. Gaetano Leone Stay.

Coordinador Hospitalario

---

Dra. Castula Tania Triana Castro

Médico Postgradista

Guayaquil, Octubre 26 del 2012

Dr. Sixto Buenaño Aldaz Msc  
Director de Escuela de Graduados  
Facultad de Ciencias Médicas  
Universidad de Guayaquil.  
A su despacho.-  
De mis consideraciones:

Como estudiante del **POSTGRADO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA** en el **INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL “DR. JUAN TANCA MARENGO”**, y como requisito previo a la obtención del Título de Especialista, pongo a su consideración para revisión y aprobación, la Tesis cuyo título es **“CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS. INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL SOLCA DR. JUAN TANCA MARENGO 2009- 2010”** que se realizó en esta institución.

Atte.

---

Dra. Castula Tania Triana Castro  
Postgradista



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
ESCUELA DE GRADUADOS**

**TESIS**

**PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:  
ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**TÍTULO:**

**“CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DE LAS LEUCE-  
MIAS AGUDAS. INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL SOLCA  
DR. JUAN TANCA MARENGO. 2009-2010”**

**AUTORA: DRA. CASTULA TANIA TRIANA CASTRO**

**TUTOR: DR. FERNANDO CAMACHO ÁLVAREZ**

**AÑO**

**2012**

**GUAYAQUIL-ECUADOR**

## **AGRADECIMIENTO**

La planificación, diseño, ejecución y evaluación de éste trabajo de tesis no hubiese sido posible sin contar con la apertura de las autoridades del Instituto Oncológico Nacional SOLCA “ Dr. Juan Tanca Marengo”, el gran apoyo brindado por el Dr. Fernando Camacho Álvarez, jefe del Departamento de Anatomía Patológica, la Dra. Aurora Romero Coronel jefa del Servicio de Citometría de Flujo, todo el personal que colabora en el departamento de anatomía patológica, a todos ellos mi más sincero agradecimiento por su participación en el desarrollo del presente estudio.

También agradezco a todos los médicos Anatómo-Patólogos de SOLCA que compartieron sus conocimientos sin egoísmo durante mis años de formación académico-científica.

Un especial agradecimiento al Dr. Sixto Buenaño Aldaz, Director de la Escuela de Graduados de la Universidad de Guayaquil por sus valiosas acotaciones metodológicas, que me ayudaron a culminar ésta investigación con éxito.

## **DEDICATORIA**

A Dios que me ha dado la vida y oportunidad de realizar mis sueños personales y profesionales,

A mis hijos Adriana, Luis y Diego, quienes son el principal motor de mi vida,

A mi esposo Juan Luis, compañero cuyo amor me hace sentir especial y capaz de lograr todo lo que me propongo,

A mis padres Eliecer y Lelys, quienes han sido pilares importantes en mi formación personal,

A mi hermana Bedia , sobrino Marco Andrés y familia política Efraín, Betty, Jonathan y Yolanda, quienes con su apoyo incondicional me han acompañado durante éste periodo de preparación.

## RESUMEN

Las leucemias agudas son trastornos neoplásicos del sistema hematopoyético y reticuloendotelial relativamente frecuentes y unas de las que mayor mortalidad producen en este grupo de enfermedades en el Ecuador. El análisis inmunofenotípico de esta patología se viene realizando desde hace varios años en el Instituto Oncológico Nacional SOLCA “Dr. Juan Tanca Marengo” pero no se contaba con un informe que indique las características inmunes de estas patologías. Con el propósito de solucionar tal situación se desarrolló un estudio de tipo observacional, descriptivo, de diseño no experimental - transversal. Los resultados mostraron que las leucemias agudas representaron el 93,1% de los casos. La frecuencia por sexo fue similar (53,9% y 46,1%). EL rango de edad más frecuente fue de 1-4 años (34,8%). El diagnostico más frecuente fue el de leucemia linfocítica aguda B con el 73,9%. El 100%% expresó marcadores citológicos de inmadurez. El 75,7% reportò positividad en los marcadores inmunofenotípicos para linfoides B. Solo el 7,8% fue positivo con marcadores linfoides T. La positividad para marcadores mieloides fue del 17,4%.

Palabras claves: LEUCEMIA AGUDA. INMUNOFENOTIPO

## ABSTRACT

Acute leukemias son neoplastic disorders of hematopoietic and reticuloendothelial system and Frequently Relatively few of the product that Mayor Mortality in this group of diseases in Ecuador. Immunophenotypic analysis of this pathology itself has been doing for several years in the National Cancer Institute "Dr. Juan Tanca Marengo" But there was no scammers UN report indicating the characteristics vegas THESE immune pathologies. In order to solve this situation on itself a Development a cross sectional study with the aim of knowing these Characteristics in a sample of patients with This story of pathologies seen in 2009-2010 . For Information Retrieval employment if the OS Observation addressed by using UN para Designed Form Effect subparagraph processing data calculated frequencies, percentages and means and standard deviations. The results showed acute leukemias represented 93,1% of cases. The frequency by sex was similar (53,9% and 46,1%). The 34,8% of the cases were between 1-4 years. 73,9% had no diagnosis of acute lymphocytic leukemia B. 100% express cytological markers of immaturity. The reported 75,7% positivity in paragraph B lymphoid immunophenotypic markers. Only 7,8% were positive with T lymphoid markers. The positivity paragraph myeloid markers was 17,4%

Keywords: ACUTE LEUKEMIA. IMMUNOPHENOTYPE.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

Título	Contenido	pag.
INTRODUCCIÓN.....		XI
1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....		1
1.1 DETERMINACIÓN DEL PROBLEMA.....		1
1.2 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....		1
1.3 JUSTIFICACIÓN.....		1
2 FORMULACIÓN DE OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....		3
2.1 OBJETIVOS .....		3
2.1.1 Generales .....		3
2.1.2 Específicos .....		3
2.2 HIPÓTESIS .....		3
2.2.1 Enunciado .....		3
2.2.2 Definición operacional de términos.....		4
2.2.3 Variables.....		4
3 MARCO TEÓRICO.....		6
3.1 LEUCEMIAS AGUDAS.....		6
3.1.1 Generalidades.....		6
3.1.2 Fisiopatología .....		8
3.1.3 Epidemiología.....		9
3.1.4 Clasificación de las Leucemias Agudas. ....		11
3.1.5 Estudios de Laboratorio .....		14
3.2 EVALUACIÓN INMUNOFENOTÍPICA.....		19
3.2.1 Evaluación Inmunofenotípica de la Médula Ósea Normal .....		19
3.2.2 Anticuerpos monoclonales para el inmunofenotipaje celular .....		23
3.3 ESTUDIO INMUNOFENOTÍPICO DE LAS LEUCEMIAS.....		25
3.3.1 Estudio inmunofenotípico de la leucemia linfocítica aguda.....		25

3.3.2 Estudio inmunofenotípico de la leucemia mieloide aguda .....	27
3.3.3 Estudio inmunofenotípico de la leucemia aguda bifonotípica .....	29
4 MATERIALES Y METODO .....	33
4.1 MATERIALES.....	33
4.1.1 Lugar de la investigación .....	33
4.1.2 Periodo de investigación .....	33
4.1.3 Presupuesto .....	33
4.1.4 Universo y muestra .....	35
4.2 MÉTODOS .....	35
4.2.1 Tipo de investigación.....	35
4.2.2 Procedimientos para la recolección de información .....	36
5 PLAN DE ANÁLISIS DE DATOS .....	37
5.1 MÉTODO Y MODELO PARA EL ANÁLISIS DE DATOS.....	37
5.2 PROGRAMAS PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS .....	37
6 RESULTADOS .....	38
7 DISCUSIÓN .....	48
8 CONCLUSIONES .....	51
9 RECOMENDACIONES .....	52
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
REFERENCIAS INTERNET .....	57
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CLÁSICAS.....	58
ANEXOS .....	65

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tablas	Contenido	pag.
	2-1: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES. ....	5
	3-1: Puntuación de las Leucemias Bifenotípicas.....	30
	4-1: DETALLE DE GASTOS.....	34
	4-2: GASTOS POR CONGLOMERADOS.....	34

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadros	Contenido	pag.
6-1:	INCIDENCIA DE LEUCEMIA AGUDA CON INMUNOFENOTIPAJE EN EL INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL. SOLCA “DR. JUAN TANCA MARENGO”. 2009-2010 .....	38
6-2:	CLASIFICACIÓN POR SEXO EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA EN LOS QUE SE REALIZÓ ESTUDIO INMUNOFENOTÍPICO .....	39
6-3:	CLASIFICACIÓN POR EDAD EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA EN LOS QUE SE REALIZÓ ESTUDIO INMUNOFENOTÍPICO.....	40
6-4:	CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS CON INMUNOFENOTIPAJE. ....	41
6-5:	CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS CON INMUNOFENOTIPAJE SEGÚN SUB-TIPO.....	42
6-6:	CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS CON INMUNOFENOTIPAJE, SEGÚN TIPO Y GRUPO ETARIO.....	43
6-7:	CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS CON MARCADORES INMUNOFENOTÍPICOS.....	44
6-8:	CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS CON MARCADORES INMUNOFENOTÍPICOS LINFOIDES B.....	45
6-9:	CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS CON MARCADORES INMUNOFENOTÍPICOS LINFOIDES T.....	46
6-10:	CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS CON MARCADORES INMUNOFENOTÍPICOS PARA MARCADORES MIELOIDES.....	47

## INDICE DE GRÁFICOS

Gráficos	Contenido	pag.
6-1:	INCIDENCIA DE LEUCEMIA AGUDA CON INMUNOFENOTIPAJE EN EL INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL. SOLCA “DR. JUAN TANCA MARENGO”. 2009-2010 .....	38
6-2:	CLASIFICACIÓN POR SEXO EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA EN LOS QUE SE REALIZÓ ESTUDIO INMUNOFENOTÍPICO.....	39
6-3:	CLASIFICACIÓN POR EDAD EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA EN LOS QUE SE REALIZÓ ESTUDIO INMUNOFENOTÍPICO.....	40
6-4:	CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS CON INMUNOFENOTIPAJE. ....	41
6-5:	CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS CON INMUNOFENOTIPAJE SEGÚN SUB-TIPO.....	42
6-6:	CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS CON INMUNOFENOTIPAJE, SEGÚN TIPO Y GRUPO ETARIO.....	43
6-7:	CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS CON MARCADORES INMUNOFENOTÍPICOS.....	44
6-8:	CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS CON MARCADORES INMUNOFENOTÍPICOS LINFOIDES B.....	45
6-9:	CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS CON MARCADORES INMUNOFENOTÍPICOS LINFOIDES T.....	46
6-10:	CLASIFICACIÓN DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS CON MARCADORES INMUNOFENOTÍPICOS PARA MARCADORES MIELOIDES. ....	47

## ÍNDICE DE ANEXOS

1: CUESTIONARIO PARA OBSERVACIÓN DIRIGIDA.....	65
2: BASE DE DATOS.....	66

## INTRODUCCIÓN

Las leucemias agudas son un grupo de neoplasias hematológicas que producen en los pacientes que las padecen, síndrome anémico, infección, trastornos metabólicos, neurológicos, obstructivos y hemorrágicos, lo cual puede resultar en una tasa elevada de mortalidad.

En el Instituto Oncológico Nacional SOLCA “Dr. Juan Tanca Marengo” de Guayaquil, no existen datos sobre la clasificación de las leucemias agudas, sin embargo, hay estudios de otras ciudades de Ecuador, como Quito donde las leucemias linfoblásticas agudas tienen una presentación del 64.4%, y las leucemias mieloides agudas del 33,6% (Lopez –Cortez et al, 2009).

Estos trastornos neoplásicos producen las más altas tasas de mortalidad entre pacientes con cáncer en el Ecuador (INEC, 2008). Un tratamiento oportuno es un requisito importante para aumentar la sobrevida. Sin embargo la falta de una clara identificación del tipo de leucemia hace que el tratamiento no sea oportuno y en el caso de las leucemias híbridas, cambiar radicalmente el pronóstico de la enfermedad y alterar el curso del tratamiento (Sánchez, 2002).

En estas circunstancias la evaluación morfológica de las células leucémicas está considerada como la base principal para evitar este problema, pero no siempre puede aportar con toda la información requerida. Actualmente con el inmunofenotipaje celular, se puede obtener una mejor caracterización de estas enfermedades, propiciando que los pacientes puedan beneficiarse de diferentes avances terapéuticos. (Sánchez, et al. 2002)

En Nueva York, Sivendrán (2010) reporta la necesidad del estudio inmunofenotípico en pacientes con leucemia mielogénica aguda ya que las anomalías estructurales genéticas tienen características inmunológicas se asocian a un pronóstico de sobrevida pobre.

En Bogotá, Medina (2010), en su estudio sobre los perfiles inmunofenotípicos de las LLA, indica que la citometría de flujo es una herramienta diagnóstica y de seguimiento altamente útil en las LLA, mencionando

además el uso del fenotipo diagnóstico en la predicción de aparición de blastos en estudios de seguimiento con niveles superiores o iguales a 5%.

En China un estudio efectuado por Cheng, y cols. (2012), señaló que la citometría de flujo es importante para la detección de pacientes cuyas células expresan F23O4, pudiendo llegar a desencadenar resistencia a varias drogas citostáticas.

En Ecuador Ruíz (2007) presentó una serie investigativa con 103 casos en una investigación efectuado para evaluar la supervivencia de pacientes con LLA tratadas con el esquema Terapéutico SOLCA97, donde no se informa haber tomado en consideración el inmunotipaje.

Era imperativo la realización de una caracterización de las leucemias agudas en el Instituto Oncológico Nacional SOLCA “Dr. Juan Tanca Marengo”. Mediante un estudio de tipo observacional – descriptivo, de diseño no experimental transversal en el Período 2009-2010.

Como resultados se observó que el mayor porcentaje de casos con leucemias agudas estuvo en el grupo etario de 1-4 años, siendo la linfocítica aguda B el fenotipo más frecuente. La expresión de marcadores citológicos de inmadurez en todos los casos, importante para el diagnóstico. La expresión de marcadores B fue más común (75,7%), en cambio sólo un 7,8% expresó marcadores T. Un 17,4% expresó marcadores mieloides.

Se espera que estos resultados permitan al equipo de salud mejorar los estándares de tratamiento y establecer definición de riesgo aplicable a los pacientes, que será de gran utilidad para la toma de decisiones terapéuticas, favoreciendo a quienes padecen leucemia aguda.

## **1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1 Determinación del problema**

Las leucemias agudas son un grupo de neoplasias hematológicas que producen en los pacientes que las padecen, síndrome anémico, infección, trastornos metabólicos, neurológicos, obstructivos y hemorrágicos, lo cual puede resultar en una tasa elevada de mortalidad.

En el Instituto Oncológico Nacional SOLCA “Dr. Juan Tanca Marengo” a pesar de que el inmunofenotipaje es un procedimiento diagnóstico que se emplea por varios años, pero diversos motivos han contribuido a que esta casa de salud no cuente con un reporte estadístico sobre la frecuencia de las características inmunofenotípicas en este grupo de enfermedades.

La falta de este tipo de diagnóstico puede retrasar el tratamiento al evitar el inicio de una terapia específica lo que tiene un alto impacto sobre la mortalidad y sobre la inversión de recursos tanto humanos como económicos para los sistemas de salud ya que esta circunstancia promueve la aparición de complicaciones entre los pacientes con estos padecimientos además de retraso en el tratamiento, lo que tiene un alto costo en vidas.

### **1.2 Pregunta de investigación**

¿Cuáles fueron las características inmunofenotípicas de las leucemias agudas diagnosticadas en el Instituto Oncológico Nacional SOLCA “Dr. Juan Tanca Marengo” en el 2009-2010?

### **1.3 Justificación**

La investigación es conveniente ya que la información beneficia de forma importante al paciente con leucemia aguda atendido en el Instituto Oncológico Nacional SOLCA “Dr. Juan Tanca Marengo”, para así ofrecerle la

oportunidad de recibir un tratamiento terapéutico eficaz y eficiente que le permita aumentar su posibilidad de sobrevida.

El estudio fue también relevante ya que el Instituto Oncológico Nacional SOLCA “Dr. Juan Tanca Marengo” es una institución que atiende aproximadamente 160 casos nuevos de leucemias agudas al año los cuáles se beneficiarán de forma directa con los resultados del estudio.

Por otra parte toda actividad investigativa se traducirá en un mejoramiento científico del equipo de salud que maneja pacientes con neoplasias ya que les permitirá establecer los fenotipos de mayor prevalencia y en este sentido mejorar el análisis de tratamientos, diagnóstico y sobrevida.

Si bien no se emplea un nuevo modelo metodológico, el estudio es pionero ya que no existe evidencia de que se haya efectuado uno de características similares. Además se aporta con una base de datos que podrá ser utilizada en estudios de cohorte histórica, de gran importancia.

## **2 FORMULACIÓN DE OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

### **2.1 Objetivos**

#### **2.1.1 Generales**

Determinar las características inmunofenotípicas de las leucemias agudas en pacientes tratados en el Instituto Oncológico Nacional SOLCA. “Dr. Juan Tanca Marengo” 2009 – 2010

#### **2.1.2 Específicos**

- Identificar los casos de leucemias agudas que se evaluaron con inmunotipaje.
- Listar según las características inmunofenotípicas a las leucemias agudas y su frecuencia.
- Distribuir las particularidades inmunofenotípicas según las características etarias, sexo, de los pacientes con leucemias agudas.

### **2.2 Hipótesis**

#### **2.2.1 Enunciado**

“Aproximadamente un 80% de los pacientes con leucemias agudas expresan antígenos inmunofenotípicos de estirpe linfoidea”.

### **2.2.2 Definición operacional de términos**

- Leucemia: enfermedad neoplásica del sistema hematopoyético caracterizada por un recuento aumentado de leucocitos
- Leucemia Aguda: Proliferación incontrolada de una clona de blastos que infiltran la médula ósea e invaden la sangre periférica y otros órganos. Aunque su curso es habitualmente agudo, la inmadurez de la célula que prolifera es lo que define a una leucemia como aguda y la distingue de las leucemias crónicas, que afectan a células más diferenciadas de la hematopoyesis.
- Leucemia Linfoblástica aguda: Tipo de leucemia aguda debida a la proliferación de precursores linfoides inmaduros, ya sean de línea B o de T.
- Leucemia mieloblástica aguda: Tipo de leucemia aguda debida a la proliferación de precursores mieloides inmaduros.

### **2.2.3 Variables**

#### **2.2.3.1 Listado de variables**

Dependientes

- Características inmunofenotípicas

Independientes

- Tipo de leucemia aguda

Intervinientes

- Sexo
- Edad

### 2.2.3.2 Operacionalización de variables

Variable	Dimensión	Indicadores	Tipo de variable
Dependiente			
Características Inmunofenotípicas	*Estirpe *Inmunogénica	*Celularidad *Grado de infiltración por blastos *Grado de celularidad hematopoyética residual	*cualitativa nominal
Variable	Dimensión	Indicadores	Fuente
Características Inmunofenotípicas	*Estirpe *Inmunogénica	*Granularidad *Tamaño celular *Marcadores inmunológicos celulares	*cualitativa nominal
Independiente Tipo de leucemia aguda	*LLA *LMA	*Tipo de precursores linfoides.	*cualitativa nominal
Intervinientes			
Edad	*0-9 *10-19 *20-29 *30-39 *40-49 *50-59 *60-69 *70-79 *80-89	*Edad de presentación	*cuantitativa continua
Sexo	*masculino *femenino	*Características fenotípicas	*cualitativa nominal

Tabla 2-1: Cuadro de operacionalización de variables.

## **3 MARCO TEÓRICO**

### **3.1 Leucemias Agudas**

#### **3.1.1 Generalidades**

Las leucemias son un grupo heterogéneo de trastornos neoplásicos de las células blancas de la sangre. Sobre la base de su origen, mieloide o linfoide, se pueden dividir en 2 tipos. Las Leucemias tradicionalmente han sido designadas como aguda o crónica, dependiendo de su curso sin tratamiento.

Las leucemias agudas generalmente se presentan con hemorragia, anemia, infección, o infiltración de órganos (Lihteh, 2012). Otras leucemias se presentan con esplenomegalia, fiebre, pérdida de peso, malestar general, frecuentes infecciones, hemorragias, trombosis, o linfadenopatía (Swerdlow, 2008).

Existe una implicación primaria de la médula ósea y la liberación secundaria a la sangre periférica. Los linfocitos recirculantes selectivamente infiltran los ganglios linfáticos, el bazo y el hígado. La mayoría de los pacientes son asintomáticos al momento del diagnóstico (Chillón, 2010).

A medida que la enfermedad progresa, linfadenopatía, esplenomegalia y hepatomegalia se desarrollan. Existe una deficiencia inmunitaria secundaria con hipogammaglobulinemia (Beitinjaneh, 2010).

La leucemia linfocítica aguda (LLA) es un trastorno maligno clonal de las células de médula ósea precursoras linfopoyéticas. En la LLA, hay acumulación progresiva medular y extramedulares de linfoblastos que no tienen el potencial de diferenciación y maduración. Una inhibición del desarrollo

normal de elementos de células hematopoyéticas se produce (Jácomo, 2007).

El cuadro clínico está dominado por una debilidad progresiva y fatiga secundaria a la anemia, infección secundaria a la leucopenia y la trombocitopenia secundaria a sangrado. Cuando el 50% de la médula ósea se sustituye, a continuación, se observan citopenias de la sangre periférica (Lucena, 2010).

La leucemia mielógena aguda (LMA) es un grupo de trastornos neoplásicos de las células hematopoyéticas precursoras de la médula ósea. LMA se divide por el sistema franco-americano-británica en 6 categorías en función de la morfología. LMA no es un trastorno de proliferación rápida de células neoplásicas. El tiempo para la división de una célula se prolonga con respecto a la de las células normales blásticas en la médula (Ono, 2011).

Existe un fallo de la maduración del clon de células neoplásicas. La médula ósea es reemplazada gradualmente por células blásticas. Por lo tanto, las complicaciones más importantes son la anemia progresiva, leucopenia y trombocitopenia (Chauffaile, 2008).

La leucemia aguda bifenotípica o híbrida (LAB) constituye un tipo poco frecuente de leucemia, probablemente con arresto de la maduración en una célula progenitora multipotencial con capacidad para diferenciarse a ambos linajes, mieloide o linfoide, demostrado por la participación de determinados genes, sus productos o ambos eventos, tanto en células mieloides como linfoides (Marsán et al. 1999).

En las leucemias agudas híbridas (LAB), los blastos expresan características de más de un linaje, lo que representa la transformación maligna de

una célula progenitora, su inmortalización y la expresión de genes aberrantes por alteraciones genéticas específicas. (Terstappen et al. 1991; Cabrera et al. 1996; Reilly 1996; Orfao et al. 1995; Mirro et al. 1985)

### ***3.1.2 Fisiopatología***

En las leucemias, un clon de células malignas pueden surgir en cualquier etapa de maduración, es decir, en la etapa linfoide, mieloide, o pluripotencial. La causa de esta expansión clonal implica un reordenamiento del ADN. Los factores externos, tales como las drogas alquilantes, radiaciones ionizantes y productos químicos, y los factores internos, tales como anomalías cromosómicas, dar lugar a cambios en el ADN (Lo-Coco, 2007).

Los reordenamientos cromosómicos pueden alterar la estructura o regulación de los oncogenes celulares. Por ejemplo, en las leucemias linfocíticas de las células B, las translocaciones cromosómicas pueden poner los genes que normalmente regulan la síntesis de la cadena pesada de la inmunoglobulina y la luz al lado de los genes que regulan la activación y la proliferación celular normal. Esto resulta en la proliferación de linfoblastos (Foulks, 2012).

A medida que la población de células se expande, la médula ósea comienza a fallar. La pancitopenia es típica y resulta en parte de la sustitución física anormal de elementos de médula por las células inmaduras. Además, las células anormales pueden secretar factores que inhiben la hematopoyesis normal (Melnich).

Como la médula ósea se sustituye, el paso de células anormales en la circulación puede hacer que exista infiltración en otros órganos, como el hígado, el bazo, y el ojo. Las manifestaciones oculares puede ser secundaria a la infiltración directa de las células leucémicas, así como un resultado anor-

mal de parámetros hematológicos sistémicos, infecciones oportunistas, o complicaciones iatrogénicas que surgen de la quimioterapia (Alvarez, 2010).

### **3.1.3 Epidemiología**

Alrededor de 300.000 nuevos casos de leucemia (2,8% de todos los casos nuevos de cáncer) son diagnosticados cada año en el mundo. La leucemia representa cerca de la tercera parte de las neoplasias en niños, correspondiendo hasta el 80% a leucemia linfoblástica B, 17% a leucemia mieloide aguda, y el porcentaje restante a leucemias agudas y crónicas poco frecuentes. (Ziegler 2005)

El pico de mayor incidencia de las LLA es entre los 2 y 5 años de edad, con ligero predominio en el sexo masculino. (García et al. 2008, Cabrera et al. 1996; Paredes et al. 1999; Melnick 1999; Malta et al. 1997).

Puede presentarse a cualquier edad, pero representa la forma más común de leucemia aguda en adultos, particularmente en individuos mayores de 60 años. Su incidencia es de 2.5 por cada 100.000 personas y en el año 2002 fueron reportados a nivel mundial alrededor de 260 000 nuevos casos. (Redaelli et al. 2004; Cassanovas R et al. 2003)

Cuando todas las leucemias se agrupan, la supervivencia global a 5 años es del 20%. En los países desarrollados, el 31% sobrevive 5 años o más, en comparación con el 15% en los países en desarrollo. Esto pone de relieve la falta de acceso a la alta tecnología de tratamiento en el mundo en desarrollo.

En 2002, 222.506 muertes fueron reportadas a nivel mundial, secundaria a todas las leucemias. Se ha informado que las muertes secundaria a todas las LMA es de entre 1.400 y 6.900 (Chauffaile, 2008). La mortalidad en

pacientes con LLA ha sido calculada en 0.5 por 100000 habitantes ajustado por edad, con ligero incremento en el género masculino con 0.6 por 100000. (Medina, 2010). Siendo la segunda causa de muerte en la niñez. (Nathan et al. 1998)

En los niños con LLA, el 90% de los pacientes logran una remisión completa, y hasta un 80% puede permanecer libre de enfermedad a los 5 años después del tratamiento. En los adultos con LLA, remisiones ocurren en el 60-80%, 20-35%, mientras que mantendrá una supervivencia libre de leucemia (Ono, 2011). En la actualidad, el 65-70% de los pacientes con LMA alcanzan la remisión. La tasa de supervivencia a 5 años durante el período 1989-1994 fue del 43% (Foulks, 2012).

En un estudio realizado en Italia, la presencia de determinadas lesiones orbitarias u ocular en la LLA y la LMA se asoció con una mayor frecuencia de las recaídas de médula ósea y el sistema nervioso central, lo que llevó a una menor supervivencia (Foulks, 2012).

Las leucemias agudas híbridas (LAH) aparecen inicialmente o raramente durante una recaída de las LLA o de las LMA con posterioridad al tratamiento inductor de remisión (Garand, 1996). Este tipo de leucemia es raro, con una incidencia aproximada de 5%, y es más frecuente en el sexo masculino y en adultos (Vizcaíno et al, 2010).

Se ha señalado que por lo general tienen un pronóstico reservado, de ahí que requieran de una terapia más agresiva para inducir períodos mayores de remisión completa, así como de alo o autoinjerto para erradicar permanentemente la enfermedad. (Catovsky, 1991; Garand, 1996; Del Vecchio, 1991)

### **3.1.4 Clasificación de las Leucemias Agudas.**

#### **3.1.4.1 Clasificación de las Leucemias Agudas según FAB**

En 1976 se propuso la clasificación FAB (French-American British Co-operative group), donde los hallazgos morfológicos son preponderantes.

Se basa en tamaño celular, morfología nuclear, nucléolos, basofilia citoplasmática y vacuolas citoplasmáticas.

Así las leucemias Linfoides Agudas se clasificaban:

- L1                    células pequeñas
- L2                    células pequeñas y grandes
- L3                    Tipo Burkitt

#### Leucemias Mieloides Agudas

- M0                    Mínimamente diferenciada
- M1                    Sin maduración
- M2                    Con maduración
- M3                    Promielocítica
- M4                    Mielomonocítica
- M5                    Monoblástica
- M6                    Eritroleucemia
- M7                    Megacarioblástica

Sin embargo ésta clasificación ha tenido varios problemas como:

- No todas las Leucemias agudas presentan el 30% de blastos (translocaciones).
- Excluye leucemias bifenotípicas.
- No incluye leucemias multilíneas u otras poco frecuentes.
- Excluye información esencial para el tratamiento y pronóstico.

### **3.1.4.2 Clasificación de las Leucemias Agudas según la OMS**

En el 2001 se propone la **clasificación de la OMS** (organización Mundial de la Salud), que conjuga: Morfología (20% de blastos), fenotipo y genética. (Merino, 2007)

Leucemias Linfoidea Agudas

- De precursor T
- De precursor B
- De Burkitt

Las leucemias Mieloides Agudas.

- Con Anomalías Genéticas recurrentes
- Con displasia multilínea
- Relacionadas a tratamientos previos
- LMA no categorizadas, que incluyen los subtipos de la clasificación FAB: incluye todos los tipos de la LMA según FAB; leucemia aguda basofílica, panmielosis aguda con mielofibrosis y sarcoma mieloide (Merino, 2007)

### **3.1.4.3 Clasificación EGIL**

Es la clasificación de las leucemias agudas que se basa en las características inmunofenotípicas, utilizada desde 1995 y las clasifica en

Leucemias Linfoblásticas Agudas

Origen B:

- LLA B1 o pro B (5%): CD 79 a+ y/o CD22+ y/o CD19+, CD34+
- LLA B2 o común (60%): CD79 a+ y/o CD22+ y/o CD19+, CD34+- CD10+

- LLA B3 o pre B (15%): CD79 a+ y/o CD22+ y/o CD19+, Cad u intra-citoplasmática.
- LLA B4 o maduros (3%): CD79 a+ y/o CD22+ y/o CD19+, Ig sup+

#### Origen T:

- LLA T1 o pro-T : CD7+ y CD3 citoplasmático+, CD34+
- LLA T 2 o pre-T: A lo anterior añadir CD2+ y/ CD5+ y/o CD8+
- LLA T 3 o timocortical: CD1 a+
- LLA T4 o madura: Demostración de la existencia de CD3 de sup en ausencia de CD 1 a

#### Leucemias Mieloblasticas Agudas

De acuerdo a las expresiones inmunofenotípicas:

- M0: MPO cit, CD13 o CD33
- M1: CD33, CD13, CD34
- M2: MPO, CD34, HLA-DR, CD13 y CD15, también CD117
- M3: MPO, CD13 y CD33+; HLA-DR- y CD34-
- M4: CD34+, CD13, CD15 y CD33 además de marcadores monocíticos como CD11b, CD11c, CD14, CD64 y CD4
- M5: HLA-DR+, CD14, CD68, CD4, CD11c y CD64
- M6: LMA 6 a CD13, CD33, CD15,  
LMA 6b Glicoforina A o Glicoforina C
- M7: CD1 (glicoproteína IIIa), CD41 (glicoproteína IIb/IIIa) y CD42 (glicoproteína Ib)

#### Leucemias Bifenotípicas

Criterios para leucemia bifenotípica: Requiere 2 puntos mieloides y 1 linfoide. Si no cumple los puntos es expresión aberrante de otros marcadores (Merino, 2007, Labardini et al; 2011).

### ***3.1.5 Estudios de Laboratorio***

#### **3.1.5.1 Contaje de Células Sanguíneas (CCS) y diferencial**

El CCS es la primera prueba de laboratorio más útil en pacientes con sospecha de leucemia. La mayoría de los pacientes muestran alguna anormalidad en el CCS y algunas explosiones se verán en el frotis de sangre periférica en pacientes con leucemias agudas. El diferencial muestra que los precursores de los neutrófilos están presentes. Esto va acompañado de basofilia y eosinofilia.

#### **3.1.5.2 Aspiración de médula ósea**

La aspiración de médula ósea establece el diagnóstico de la leucemia. La morfología de los blastos normalmente puede diferenciar entre LLA y LMA.

En definitiva, un infiltrado homogéneo de linfoblastos reemplaza los elementos óseos normales de la médula ósea. Los linfoblastos generalmente son pequeñas y miden aproximadamente 14 micras de diámetro. Tienen escaso citoplasma sin gránulos. El núcleo no tiene nucleolos o un ser indistinto pequeño.

Para el diagnóstico de la LMA, 30% de las células nucleadas en el aspirado debe ser blastos de origen mielóide. Los múltiples nucléolos grandes, cromatina delicada, citoplasma gris-azul y bastones de Auer caracterizan a los mieloblastos. La presencia de bastones de Auer es prácticamente diagnóstico de la LMA, debido a que estos condensados azurófilos de lisosomas citoplásmicos en forma de barra estructuras no aparecen en LLA.

#### **3.1.5.3 Las tinciones histoquímicas**

Las tinciones histoquímicas para mieloperoxidasa (Leder mancha) y esterasa no específica tienen una fuerte afinidad para los precursores mieloides pero no mancha precursores linfocíticos.

La demostración de enzima nuclear de ADN que polimeriza una desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT) es indicativa de un origen linfoide. Sin embargo, hasta 2-5% de los pacientes con LMA expresan esta enzima. Las excepciones pueden ocurrir cuando un clon maligno surge de las células multipotentes que pueden expresar tanto las características mielógenas y características linfocíticas (Russo, 2008).

#### **3.1.5.4 El análisis cromosómico**

Métodos como PCR, PCR anidado, PCR en tiempo real, RT-PCR, qPCR, FISH, southern blot, western blot, dot blot, han sido evaluadas y han demostrado utilidad en la detección de aberraciones génicas y productos de fusión génica presente en enfermedades hematolinfoides. Dichas estrategias de análisis han sido también evaluadas para establecer la presencia de Enfermedad Mínima Residual alcanzando en condiciones óptimas niveles de detección de 1 en  $10^5$ . (Cazzaniga, 2005)

Actualmente la metodología más empleada y de mayor aceptación por gran número de centros es la detección de rearreglos de IgH en las zonas VDJ y del receptor de células T por técnicas de RqPCR, detectando rearreglos en el 95% de los casos de LLA. (Cazzaniga,2005).

El 60-80% de los casos de leucemias agudas presentan alteraciones cromosómicas estructurales y/o numéricas (Van Dongen, et al, 2010). Las alteraciones cromosómicas más importantes relacionadas a la leucemia linfoide aguda son:

- Numéricas: Hiperploidias, hipoploidia y pseudohipoploidia/Translocación.
- Translocaciones: t(9;22) (q34;q11) o Cr Ph+ más común en adulto (mal pronóstico), t(v11q23) niños menores de un año y adulto (mal

pronóstico), t(12;21) (p12;q22) (buen pronóstico) (Kaufman, 2009; Van Dongen et al, 2010), t(8;14), t(8;2) propias de la LLA 3 la t(11;14) (p13;q11) se asocia a la LLA T (Merino, 2007).

El análisis cromosómico de la célula leucémica en la actualidad proporciona la información para el pre-tratamiento y el pronóstico más importante en la LMA. Las alteraciones cromosómicas más importantes relacionadas a la leucemia mieloide aguda son:

t(8;21) (q22;q22) AML1/ETO  
 t(15;17) (q22;q11-12) y variantes  
 inv16(p13;q22) y variantes: t(16;16) (p13q11) (LMA 4) (Merino, 2007)

Según López-Cortez et al, la translocación más frecuentes en pacientes con LLA de Quito, es la t(9;22) (q34;q11), mientras que existen diferencias significativas en las translocaciones t(15;17)(q21;q11), t(8;21)(q22;q22) y la inversión 16 (p13;q22), observadas en pacientes con LMA.

### **3.1.5.5 Estudios histológicos**

El estudio citomorfológico de especímenes obtenidos por biopsia ósea se ha constituido en el estándar diagnóstico de neoplasias hematolinfoides. Gran parte de los conocimientos actuales de maduración normal de líneas hematológicas ha surgido por el estudio de leucemias, y de igual manera ha mejorado la comprensión de las neoplasias facilitando, además, su seguimiento buscando enfermedad residual.

Los estudios histopatológicos han demostrado la infiltración leucémica a órganos como la coroides (Radich 2009). Se ha observado que la malla trabecular se obstruye con células leucémicas, lo que conduce a glaucoma.

Un cloroma de la órbita está compuesto de células inmaduras de granulocitos, que contienen grandes cantidades de la enzima mieloperoxidasa, dando el tumor una tonalidad verdosa en el examen macroscópico (Jemal 2009).

El estudio histológico también permite identificar con otras lesiones linfoproliferativas, como el linfoma, aunque poco frecuentes a nivel de órbita (Wang, 2011).

### **3.1.5.6 Inmunofenotipaje por Citometría de Flujo**

La hematopoyesis es un proceso continuo que finaliza con la generación de células altamente especializadas con períodos vitales que varían desde horas, incluso hasta años. Este proceso se fundamenta sobre una base de células pluripotenciales que se autorrenuevan, y modifican su velocidad de diferenciación e incrementan ciertas líneas acorde a las necesidades propias del organismo. (Medina 2010)

La inmunofenotipificación mediante citometría de flujo multiparamétrica sigue siendo fundamental para identificar el origen de célula B o T de los linfoblastos. Existe un sistema de denominación de los principales antígenos y anticuerpos de importancia médica que se conoce como CD (cluster of differentiation) ó grupo de diferenciación. Cada grupo es identificado por un número que describe el anticuerpo dirigido a un antígeno celular. (Medina, 2010).

La citometría de flujo es una técnica descrita hace más de 30 años que permite realizar una evaluación cuantitativa de las características celulares basado en sus propiedades de dispersión de la luz y características fenotípicas que pueden ser determinadas usando marcadores fluorescentes. (Medina, 2010)

La técnica permite realizar un análisis celular multiparamétrico de forma rápida, sensible, específica y capaz de proporcionar información cuantitativa sobre cada célula en particular, permitiendo identificar en una muestra diferentes subpoblaciones celulares (Juarez-Velasquez, Perez-Vera, 2012). Consiste en hacer pasar células en suspensión alineadas y de una frente a un haz luminoso, midiendo diferentes parámetros celulares: nucleares, citoplasmáticos, de superficie y extracelulares

Inicialmente, la técnica fue desarrollada con fines de investigación, desde finales de los setenta a principios de la década de los noventa se utilizaba para la caracterización de células leucémicas de sangre periférica (SP) y médula ósea (MO) y la clasificación de la enfermedad, una vez establecido su diagnóstico por otro método, como fue de gran utilidad para la clasificación EGIL (European Group for the Immunological classification of Leukemias). (Orfao, 2008).

Posteriormente, algunos marcadores se asociaron con pronóstico, así como por ejemplo el valor pronóstico adverso del CD38, CyZAP-70 y del CD49d, en la LLC-B. (Orfao, 2008).

En el primer consenso colombiano de Citometría de Flujo al igual que en el Segundo Consenso Latinoamericano, se considera que la determinación del inmunofenotipo por citometría de flujo en las hemopatías se puede aplicar para el diagnóstico, clasificación, pronóstico y extensión y seguimiento en seis grupos de enfermedades hematológicas: LLA, LMA, Síndrome linfoproliferativo crónico, Síndrome mielodisplásico, Síndrome mieloproliferativo y Gammapatia monoclonal. (Saavedra, 2010).

## **3.2 Evaluación inmunofenotípica**

### ***3.2.1 Evaluación Inmunofenotípica de la Médula Ósea***

#### ***Normal***

En general, se reconocen 3 niveles celulares o compartimentos de diferenciación: 1.-Células pluripotenciales autosostenibles. 2.-Células progenitoras con grados variados de restricción de linaje y con mínima capacidad de autorenovación; y 3.-Células maduras con actividad mitótica o postmitótica que conforman las poblaciones de granulocitos, eritrocitos y plaquetas. El equilibrio en la diferenciación de las líneas depende de la homeostasis corporal. (Medina 2010).

#### **3.2.1.1 Expresión de marcadores antigénicos.**

La identificación de hematológica normal consistió durante mucho tiempo en la observación morfológica de las células no obstante los progenitores hematopoyéticos normales y las células neoplasias presentan características morfológicas y biológicas similares, por lo que puede ser muy difícil su diferenciación únicamente por observaciones al microscopio.

Se reconoce la presencia en MO de precursores hematopoyéticos CD34+ dentro de los que se encuentran estadios madurativos bien definidos como son los precursores linfoides y precursores mieloides (Orfao, 2004, 2008). Los progenitores hematopoyéticos inmaduros se caracterizan por expresar además antígeno AC33, CD82y CD135 (Muñoz, 2005).

Los precursores linfoides B CD34+/CD19+ muestran positividad nuclear para la enzima deoxinucleotidil transferasa terminal (Tdt), expresión débil de CD45 y CD22, expresión citoplasmática (cy) de CD79a y reactividad fuerte para CD10 y HLA-DR entre otros marcadores (Orfao, 2004).

Por otra parte, los precursores que darán origen al linaje mieloide muestran expresión débil de CD45 pero en conjunto con los marcadores CD117, CD123, HLA-DR, CD38, CD71, CD13 con expresión parcial de CD15 y mieloperoxidasa (MPO) a nivel citoplasmático (Roa, 2009).

Según Medina 2010, con el análisis de las células con Citometría de flujo se demuestra lo siguiente:

#### **2.2.1.1.1 Diferenciación células B:**

Las células CD19 poseen 4 estados de diferenciación basado en análisis CD10/CD20 dado por la pérdida del primero y ganancia del segundo; las células plasmáticas a este nivel son CD10-/CD20- y se emplean fluorocromos tipo APC y PE. En la subpoblación CD10 brillante el marcador TdT ofrece mayor información de la maduración al perderse; la demora que presenta la tinción citoplasmática del TdT se compensa con la mayor información ofrecida.

La expresión CD10+ con TdT- marca los precursores B; la razón CD10+TdT+/CD10+TdT- puede indicar regeneración medular inducida por drogas. (van Lochem 2004)

Dentro de las células CD19 se distingue toda la maduración B, observando las CD10+TdT+ correspondientes con las CD22+CD34+CD45débil, y se incrementa con la maduración la expresión de CD45 y CD22; las células CD10-CD20+ maduras se corresponden con las CD45 fuertes CD22 fuertes; se puede observar una diferenciación adicional CD34+CD22+CD19- de células proB.

En niños menores de 4 años predominan las células CD10+ y en los adultos las células CD10-CD20+, y en los mayores de 75 años una gran población de CD10-CD20- plasmáticas; luego de terapia de supresión se incre-

mentan las CD10+TdT+ sobre las CD10+TdT- y es mayor a medida de la mayor supresión. Las expresiones aberrantes se corresponden con alteraciones neoplásicas en su mayoría.

CD22 puede ser más útil que CD19 para reconocer toda la línea B, aunque su expresión variable y la expresión en basófilos pueden dificultar su interpretación. Otros antígenos de maduración B pueden resultar útiles (IgMcyt, IgMs, SIgM). (van Lochem 2004)

#### **2.2.1.1.2 Diferenciación monocítica:**

Para su estudio se debe evitar anticuerpos monoclonales IgG2a porque se une inespecíficamente a FcRs (CD64). CD13 y CD33 son antígenos granulocíticos y monocíticos. La discriminación inicial se logra con CD45 y SSC; mieloblastos, monoblastos, precursores B y eritroblastos son CD45 débiles.

CD34 se expresa en todos los precursores y CD13.33 y CD117 en los granulocíticos/monocíticos. CD117 (CD13.33+CD34débil) se expresa en algunos promielocitos, en poblaciones menores de células B y en altos niveles en mastocitos. Las células CD34+CD117+CD13.33+CD45débil son mieloblastos y monoblastos, mientras que las CD34+CD117-CD13.33-CD45débil son precursores linfoides B.

El paso de monoblasto a promonocito se evidencia por la pérdida de CD34 y la ganancia de CD33. Los promonocitos CD34-CD33 fuerteCD45 intermedio tienen bajos niveles de CD15. CD45 se gana con la ganancia de CD14. HLA-DR está presente en todas las fases de maduración de los monocitos.

El CD68 marca el estado final de diferenciación monocítica (macrófago) que tienen alto FSC y SSC. CD15 puede indicar diferenciación monocítica temprana en células neoplásicas CD34+ y marca la maduración de blastos CD34+CD15- a promielocitos CD34-CD15fuerte. (van Lochem 2004)

### **2.2.1.1.3 Diferenciación granulocítica:**

Los promielocitos son CD34 débil, CD117+CD13.33 fuerte con SSC alto. CD45/CD13 sumado a la dispersión de luz es útil para definir poblaciones mieloides. CD13 se expresa en precursores mieloblastos y monocitos y decae en expresión en mielocitos para volver a ganar expresión con la segmentación; sumarlo con CD16 y CD11b permite reconocer 4 estadios de maduración.

Los mielomonoblastos son CD16-CD13+CD11b-CD45 intermedio con SSC intermedio y FSC bajo que corresponden a CD34+CD117+CD45 intermedioCD13.33+. El SSC se incrementa con el paso a promielocito y aparece CD15. En la maduración subsecuente se gana CD11b seguido por CD16. En FSC/SSC los eosinófilos tienen más SSC con menor FSC que los granulocitos. Expresión de CD16, CD11b y CD13 es menor que los neutrófilos, siendo CD45 mayor.

Los basófilos tienen SSC menor que los otros granulocitos, y es difícil de diferenciar de los linfocitos y monocitos, aunque CD13 es menor que en los monocitos y mayor que en los linfocitos con CD45 intermedio, también expresan CD22. La variación en la granulación se puede observar en el SSC.

CD65 es un marcador panmieloide. CD15 no es mieloide específico y se puede observar con baja expresión en promocitos; CD66b precede a CD11b como el CD16 y se expresa en (pro) mielocitos. CD16 y CD11b son una buena pareja para establecer maduración granulocítica, así como otros antígenos inespecíficos como CD64 o CD35 son útiles para definir maduración en combinación con CD13 y/o CD33. (van Lochem 2004)

#### **2.2.1.1.4 Diferenciación eritroide:**

La lisis por cloruro de amonio mantiene sólo las células eritroides nucleadas. Las células eritroides a medida que maduran pierden CD45; sólo los precursores CD117+CD71+ marcan CD45 débil; durante la maduración se intensifica CD71 y luego se expresa CD235a (glicoforina A); luego, con la pérdida del núcleo, se pierde CD71. El 50% de las células en MO luego de lisis pueden corresponder a eritroides incluyendo reticulocitos y son CD45-CD71+CD235a. (Medina, 2010, van Lochem 2004)

#### **3.2.2 Anticuerpos monoclonales utilizados para el inmunofenotipaje celular**

El uso actual de anticuerpos monoclonales con el equipo de Citometría de flujo, permite identificar y definir de forma objetiva, reproducible y rápida las diferentes líneas celulares y su estado de madurez a lo que se lo denomina inmunofeotipificación. Por lo que esta técnica es considerada como un método de elección en el estudio del estado hematopoyético (Muñoz, 2005).

Dirigidos contra antígenos expresados por células B:

- anti-CD10 (OKB CALLA)
- anti-CD19; anti CD20 (B1)
- Institute of Cancer Research, Londres
- anti CD22 (Leu 14)
- anti-cadena  $\mu$
- anti-cadena K
- anti-cadena l

Dirigidos contra antígenos expresados por células T:

- anti-CD1 (NA 134)
- anti-CD7 (Leu 9)

- anti-CD2 (OKT 11)
- anti-CD4 (OKT 4)
- anti-CD8 (OKT 8)
- anti-CD3(OKT3)
- anti-CD5 (Cris 1)

Dirigidos contra antígenos expresados por células mieloides:

- anti-CD13 (My 7)
- anti-muramidasa
- anti-CD41 (943 D)
- anti-CD33 (My 9)
- anti-CD14 anti-CD15 (Leu M1)
- Otros:
- anti-HLA-DR
- anti-deoxi-nucleotidil transferasa terminal (Tdt)

El análisis inmunológico de diferentes poblaciones hematológicas malignas se basa en la detección de marcadores que representan antígenos que se asocian a la diferenciación celular normal, pero cuya combinación puede ser específica de un estadio de diferenciación concreto bloqueado, aberrante o poco frecuente.

### **3.3 Estudio inmunofenotípico de las leucemias**

#### ***3.3.1 Estudio inmunofenotípico de la leucemia linfoide agudas***

La leucemia linfoide aguda (LLA) constituye una expansión clonal en una etapa de la hematopoyesis linfoide, expresada por una detención en la diferenciación celular, con proliferación y crecimiento no controlados de células leucémicas, que se originan en la médula ósea (MO) y luego se diseminan a sangre periférica (SP), bazo, ganglios y al resto de los tejidos. (Maneghello J et al. 1997; Nathan et al. 1998)

El estudio de los antígenos de diferenciación celular sobre las células blásticas, ha permitido establecer el origen de los diferentes subtipos de LLA: de estirpe B (pro-B, común, pre-B y B) y de estirpe T (pro-T, pre-T, cortical y T), así como comprender su diversidad clínica. (Van Dongen et al. 1996; Farhi et al. 2000; Orfao et al. 1995)

Basado en la expresión de linaje restringido antígenos B y reordenamientos clonales de los genes de inmunoglobulina pesada y la cadena ligera, se ha estimado que hasta el 80% de todos los casos surgen a partir de precursores de células B.

La LLA-común (LLA-c) es la variedad más frecuente en la infancia, se plantea que puede ser la consecuencia de una respuesta anómala a una infección común, probablemente viral, que ocurre relativamente tardía en la infancia en los países más desarrollados (Marsán et al. 2004).

Mielcarek y colaboradores (Mielcarek et al. 1997) han encontrado una correlación inversa entre la expresión del antígeno CD54, que constituye una molécula de adhesión intercelular (ICAM-1), el número de leucocitos, la infiltración del SNC y la presencia de esplenomegalia al inicio de la enfer-

medad. El 76,1 % de los pacientes con LLA-c expresan el CD54. (Marsán et al. 2004).

Las agregaciones homotípicas de los blastos mediadas por CD54/LFA-1, pueden interferir con la liberación de estos a la circulación, y una vez allí, pueden ser lisados por las células asesinas naturales que expresan en su membrana las moléculas correceptoras LFA-1 y Mac-1.

La expresión del antígeno CD20, está presente normalmente en estadios de madurez de la célula B. La expresión de antígenos de linaje T en la LLA-c no es frecuente. La expresión del CD20 en la LLA-c indica la presencia de un asincronismo de la maduración al asociarse con antígenos de inmadurez celular. (Orfao et al. 1994)

La LLA es una enfermedad fenotípicamente heterogénea con subtipos clínicamente diversos, que representan expansiones clonales de linfoblastos en diferentes estados de maduración, por lo que el conocer las características inmunológicas de las células leucémicas, es esencial para la generación de respuestas fenotipo-específicas en el contexto de la terapia moderna de las LLA (Marsán et al. 2004).

El primer consenso colombiano de citometría de flujo, recomienda que el estudio morfológico y citoquímico de los blastos debe complementarse con un análisis fenotípico y citogenético de los mismos, que demuestre de forma inequívoca que se trata de precursores linfoides (CD34+ o TdT+ o CD45+débil) de línea B (CyCD79a y CD19+) o T (CD7+ y CyCD3+). (Saavedra et al, 2010).

Así como, que las leucemias linfoblásticas agudas de precursores B se han de subclasificar fenotípicamente, según las recomendaciones del grupo

EGIL, en: 1) pro-B (B-I), 2) común (B-II), 3) pre-B (B-III) y 4) madura (B-IV), y las leucemias linfoblásticas T, en T-I a T-IV. (Saavedra et al, 2010).

### ***3.3.2 Estudio inmunofenotípico de la leucemia mieloide aguda***

La leucemia mieloide aguda (LMA) constituye un grupo heterogéneo de neoplasias caracterizadas por la expansión clonal de blastos mieloides que se acumulan en la médula ósea y en la sangre periférica (Yanelkys et al. 2005).

La mayoría de las LMA exhiben fenotipos heterogéneos en contraste con las LLA, las cuales generalmente muestran expresiones homogéneas. Virtualmente los antígenos pan-mieloides CD13 y CD33 son expresados juntos por los blastos mieloides; sin embargo, en una minoría de los casos, estos expresan solo uno de estos antígenos.(Ghosh et al. 2003; Khalidi et al. 1998; Piedras et al. 2000)

Las técnicas de inmunofenotipificación son esenciales para determinar la línea específica de origen de las células leucémicas y su nivel de maduración, así como para distinguir la leucemia linfocítica aguda (LLA) de la LMA mínimamente diferenciada (LMA-M0) y de la LMA megacarioblástica (LMA-M7), además de contribuir a caracterizar a la LMA en los distintos subtipos inmunológicos. (Reilly, 1996)

La expresión de varias proteínas, considerados como relativamente específicos al linaje para la LMA comprenden CD33, CD13, CD14, CDw41 (o antiglicoproteína plaquetaria IIB/IIIA), CD15, CD11B, CD36 y antiglicoforina A, se han utilizado para diagnosticar la LMA.

La variedad M0 o indiferenciada puede representar hasta un 4% del total de LMA. En esta variedad los blastos son positivos frente a uno o más anticuerpos monoclonales dirigidos contra los antígenos mieloides CD13 y CD33 y son negativos frente a los marcadores linfoides, sin embargo pueden expresar los antígenos CD2, CD7, y Tdt, lo que no excluye el diagnóstico de LMA-M0 debido a que en esta situación no se consideran específicos de linaje. (Casanovas et al. 2003; Van Dongen et al. 1996; Catovsky, 1992)

La variedad M3 constituye el único subtipo inmunológico donde la morfología y el inmunofenotipaje habitualmente coinciden. Generalmente se caracteriza por un tipo más homogéneo, con expresión de los antígenos CD13 y CD33 y con la ausencia o pérdida de la expresión del marcador HLA-DR. En las leucemias mieloides promielocíticas el antígeno CD15 ha sido encontrado en un rango entre 10-15%. (Van dongen et al. 1996; Catovsky, 1992, Paletta et al. 2003)

El diagnóstico de las Leucemias promielocíticas (LPM) no puede ser basado solo en la morfología y en la ausencia de la expresión de HLA-DR, sino que se requiere también de la confirmación citogenética y molecular. (Rivero et al. 1995)

La variedad M4 muestra una alta heterogeneidad tanto morfológica como fenotípica, lo que explica que en algunos casos esta exprese marcadores antigénicos que también lo hacen en las variedades M2 y M5. (Van Dongen, 1996; Catovsky, 1992)

Existen algunos marcadores que muestran una alta correlación con la clasificación FAB como es el CD14 en los subtipos M4 y M5. Algunos autores han comunicado que este marcador se expresa frecuentemente en dichos subtipos, pero raramente en las variedades M0 y M1. (Lauria. 1995).

En otros estudios el marcaje simultáneo para CD36 y CD64 ha demostrado ser más sensible que el uso aislado de CD14 para la identificación de compromiso madurativo de los blastos leucémicos a línea monocítica. (Orfao et al, 2008).

La prueba para la presencia de glicoproteína Ib, glicoproteína IIB/IIIa o expresión del antígeno del Factor VIII es útil para el diagnóstico de la M7 (leucemia megacariocítica). La expresión de glucoforina contribuye al diagnóstico de la M6 (eritroleucemia)

La coexpresión de un solo antígeno linfoide en LMA se observa con mucho más frecuencia que la coexistencia de 2 o más de estos marcadores. Las asociaciones de CD2/CD5, CD2/CD7, CD7/CD19 en los mieloblastos ya han sido comunicadas previamente. (Marsán et al. 1999).

Los antígenos linfocíticos relacionados al linaje B CD10, CD19, CD20, CD22 y CD24 están presentes en 10% a 20% de los casos de LMA, pero suelen faltar la inmunoglobulina monoclonal de superficie y las cadenas pesadas de inmunoglobulina citoplasmática; de manera parecida, los antígenos linfocíticos específicos de linaje T CD2, CD3, CD5 y CD7 están presentes en 20% a 40% de los casos de LMA. (Hasle, 2003)

### ***3.3.3 Estudio inmunofenotípico de la leucemia aguda bifonotípica***

La leucemia bifenotípica aguda se define como una leucemia en la que la población de blastos expresa simultáneamente marcadores de linaje mieloides y linfoides (T o B). Son raras en niños y representan menos del 5% de todas las leucemias agudas (Vizcaíno et al, 2010).

Esta entidad ha sido previamente clasificada como leucemia mixta o híbrida, y se representa como leucemia mieloides aguda con marcador linfoides

de (LMA-Ly+) y leucemia linfóide aguda con marcador mielóide (LLA-My) (Vizcaíno et al, 2010).

Los subtipos de las leucemias bifenotípicas o híbridas se la realiza basados en un sistema de puntuación basado en la utilización de varios marcadores. (Garand et al. 1996, Catovsky et al. 1999). Actualmente se utiliza el sistema basado en la clasificación EGIL, la cual describe cuatro subtipos principales de leucemia bifenotípica aguda, basados en un sistema de puntuación que incluye: B-mielóide, T-mielóide, B y T-linfóide, y la leucemia de tres linajes. (Vizcaíno et al; 2010).

Este sistema de clasificación tiene por objeto distinguir las leucemias bifenotípicas agudas (LMA-Ly+ o LMA-My) de las leucemias agudas que presentan expresión aberrante de marcadores de otros linajes (infidelidad de línea). ( Matutes et al, 2000, Vizcaíno et al, 2010)

La clasificación EGIL se basa en un sistema de puntuación con varios marcadores a los que se les asigna una puntuación de 2, 1 o 0,5 en función de su especificidad para el linaje mielóide o linfóide; de esta manera, una leucemia que exprese marcadores mieloides con un valor total superior a 2 y marcadores linfoides con valor superior a 1, podría considerarse bifenotípica. (Matutes et al, 2000; Merino, 2007; Labardini et al, 2011)

PUNTOS	SERIE LINFOI- DE B	SERIE LINFOI- DE T	SERIE MIE- LOIDE
2	CD79 a cit IgM cit CD22	CD3 TCR	MPO
1	CD19, 10,20	CD2,5,8	CD13,33,117,65
0.5	TdT, CD24	CD 7 1a	CD14;15,64

**Tabla 3-1: Puntuación de las Leucemias Bifenotípicas**

Entre los marcadores analizados en el sistema de puntuación, se considera la positividad a nivel del citoplasma de los marcadores específicos de linaje mielóide, como mieloperoxidasa, marcadores específicos de linaje B CD79a, CD22 e IgM y marcadores específicos de linaje T como CD3. Los casos de leucemia bifenotípica aguda con marcadores de línea T y B o trilineales (presencia de marcadores mieloides, B y T) son muy raros (Matutes et al, 2000, Merino, 2007; Labardini et al, 2011)

Los antígenos CD2 y CD7 no se expresan solamente en células T, se han encontrado también en mieloblastos leucémicos. De igual forma, el antígeno CD5, que es un antígeno asociado a las células T, se expresa también en una subpoblación de células B representada anormalmente en la leucemia linfocítica crónica, y en algunos precursores mieloides (Mirro et al. 1985; Greaves et al. 1986; Terstappen et al 1991, del Vecchio et al. 1991; Vidriales et al. 1993).

La frecuencia de la positividad de Tdt en pacientes con LMA varía del 5 al 40 %, en dependencia del método de detección (Vidriales et al. 1993; homwar et al. 1994; Macedo et al. 1995). Se ha señalado que la expresión del antígeno CD7 en LMA condiciona un peor pronóstico, sin embargo, la expresión de CD56 (asociado a célula NK) favorece el pronóstico de éstas.

Las LLA- Mi+ se observan con mayor frecuencia en adultos que en niños. Las LLA-c Mi+ se han encontrado entre el 5 y 40 % de los niños. (Cabrera et al. 1996; Garand et al. 1993; Orfao et al. 1994; Mielcarek et al. 1997; Mizutani et al. 1997; Howard et al. 1994)

Se ha demostrado por estudios in vitro que los blastos de enfermos con LLA-c Mi+ muestran una gran habilidad para proliferar y liberar espontáneamente interleucina-6 y factor de necrosis tumoral, comportándose de forma similar a los blastos mieloides (Marsán et al. 2004).

Estas semejanzas encontradas en el comportamiento proliferativo, en el perfil de citocinas y en la expresión de receptores para citocinas entre los blastos de la LLA-c Mi+ y de la LMA, sugiere que ambas variedades pueden originarse de una célula precursora hematopoyética que coexpresa características de ambos linajes linfóide y mieloide. (Howard et al. 1994; García et al., 2000; Wiersma et al. 1991)

Makrynikota y colaboradores (Makrynikota et al. 1995) encontraron que el antígeno CD13, es selectivamente expresado en la LLA en respuesta a estímulos proliferativos. Este antígeno, en cooperación con el CD10 y quizás con otras enzimas de superficie celular, puede actuar como regulador de la concentración de moléculas en la membrana celular e influir en el crecimiento de las células B precursoras. El CD13/CD33 puede ser expresado hasta en el 60% de los pacientes con LLA. (van Lochem 2004)

## 4 MATERIALES Y METODO

### 4.1 Materiales

#### 4.1.1 Lugar de la investigación

Servicio de Citometría de Flujo . Instituto Oncológico Nacional SOLCA “ Dr. Juan Tanca Marengo”. Guayaquil - Ecuador

#### 4.1.2 Periodo de investigación

1 de enero de 2009 a 30 de diciembre de 2010

#### 4.1.3 Presupuesto

##### 4.1.3.1 Fuente de financiación

El 90% ha sido financiado por la autora y el 10% por la institución.

##### 4.1.3.2 Descripción de gastos

Código	Rubro	Cantidad	Costo Unitario	Costo Total (\$)
01.1	01 Materiales y Suministros Hojas A4 75 grs.(Xerox)	1000	\$ 0,009	\$ 9,00
01.2	CD-R (Imation)	3	\$ 0,500	\$ 1,50
01.3	Esferográficos (BIC)	4	\$ 0,350	\$ 1,40
01.4	Cartucho Tinta negra	1	\$ 32,000	\$ 32,00
01.5	Cartucho Tinta color	1	\$ 38,000	\$ 38,00
01.6	Computador portátil	1	\$ 1324,000	\$ 1324,00

Código	Rubro	Cantidad	Costo Unitario	Costo Total (\$)
			subtotal	\$ 1405,90
02.1	02 Operativos Encuadernado	3	\$ 5,000	\$ 15,00
02.2	Internet	10	\$ 0,500	\$ 5,00
02.3	Anillado	5	\$ 2,000	\$ 10,00
02.4	Gastos varios	1	\$ 50,000	\$ 50,00
			Subtotal	\$ 80,00
03.1	03 Personal Estadígrafo	1	\$ 400,000	\$400,00
03.1	04 Imprevistos Imprevistos	10%	\$ 178.500	\$ 178.500
			Subtotal	\$ 178.500

**Tabla 4-1: Detalle de gastos**

Código	Rubro	Costo Total (\$)
01.0	Materiales y suministros	\$ 1405,90
02.0	Operativos	\$ 80,00
03.0	Personal	\$ 300,00
04.0	Imprevistos	\$ 178,50
	Total	\$ 2064,40

**Tabla 4-2: Gastos por conglomerados**

#### **4.1.3.3 Recurso humano**

- Tutor de tesis
- Asesor de tesis
- Postgradista

#### ***4.1.4 Universo y muestra***

##### **4.1.4.1 Universo**

Pacientes de cualquier edad y sexo con leucemia aguda en los cuales se solicitó estudio de inmunofenotipaje que cumplan con los siguientes criterios de selección:

Criterios de inclusión

- Estudio inmunofenotípico en el periodo de investigación
- Informe completo del estudio inmunofenotípico.

Criterios de exclusión

- Informe no concluyente.

##### **4.1.4.2 Muestra**

Se escogieron por aleatorización sistemática 115 pacientes incluidos como población de estudio.

#### **4.2 Métodos**

##### ***4.2.1 Tipo de investigación***

Observacional, descriptiva,

##### **4.2.1.1 Diseño del estudio**

No experimental- transversal.

#### ***4.2.2 Procedimientos para la recolección de información***

##### **4.2.2.1 Instrumentos y técnicas de recolección de datos**

- Citómetro de flujo FACS Calibur BD (Programa Cell Quest para adquirir),
- Hoja de reporte del examen
- Formulario de recolección de información.

##### **4.2.2.2 Método de recolección de información**

- Observación dirigida

## **5 PLAN DE ANÁLISIS DE DATOS**

### **5.1 Método y modelo para el Análisis de datos**

Para el análisis de las muestras se utilizó el programa Paint Gate.

Para la descripción de las variables cualitativas se utilizó porcentajes y frecuencias, para la descripción de variables cuantitativas, promedio y desviación estándar

### **5.2 Programas para el análisis estadístico de datos**

- Excel 2010.

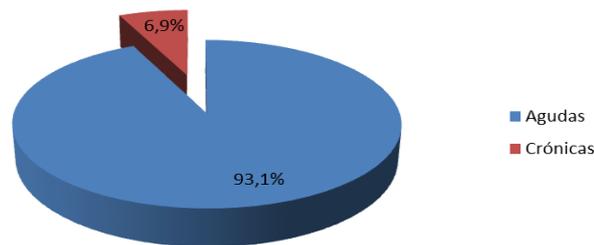
## 6 RESULTADOS

Los pacientes fueron seleccionados a partir de una base de datos de la institución donde se encuentran registrados todos los casos de leucemias. Se identificaron los casos de tipo agudo y se incluyó aquellos que tuvieron estudio inmunofenotípico. Se revisó el expediente electrónico, información que se incluyó en un formulario, para su posterior tabulación y procesamiento.

**Cuadro 6-1: Incidencia de Leucemia aguda con Inmunofenotipaje en el Instituto Oncológico Nacional. SOLCA “Dr. Juan Tanca Marengo”. 2009-2010**

Tipo	Frecuencia	Porcentaje
Agudas	230	93,1
Crónicas	17	6,9
Total	247	100,0

**Gráfico 6-1: Incidencia de Leucemia aguda con Inmunofenotipaje en el Instituto Oncológico Nacional. SOLCA “Dr. Juan Tanca Marengo”. 2009-2010**



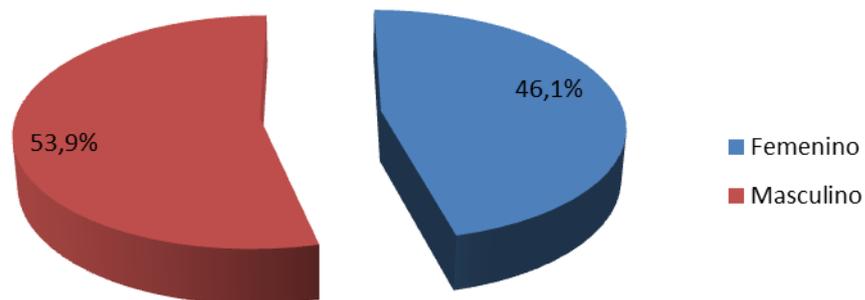
### Análisis e interpretación

Los estudios inmunofenotípicos revelan que hay predominio de las leucemias agudas, las cuales se presentan en el 93,1% de todos los casos de leucemias.

**Cuadro 6-2: Clasificación por sexo en pacientes con Leucemia aguda en los que se realizó estudio inmunofenotípico**

Género Sexual	Frecuencia	Porcentaje
Femenino	53	46,1
Masculino	62	53,9
Total	115	100,0

**Gráfico 6-2: Clasificación por sexo en pacientes con Leucemia aguda en los que se realizó estudio inmunofenotípico.**



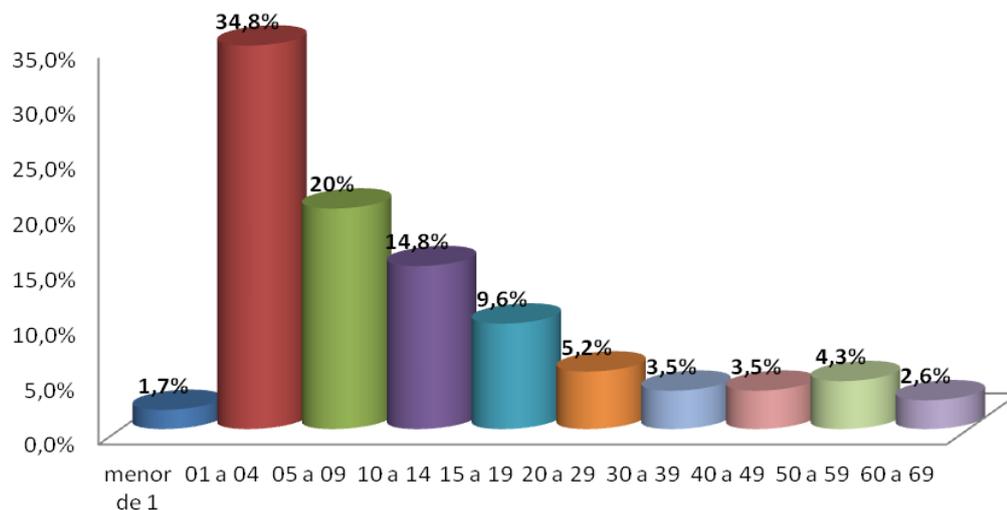
### **Análisis e interpretación**

Los pacientes en quienes se realizó inmunofenotipaje por leucemia aguda tuvieron frecuencias muy similares en hombres y mujeres, con predominio de los primeros (53,9%).

**Cuadro 6-3: Clasificación por edad en pacientes con Leucemia aguda en los que se realizó estudio inmunofenotípico.**

Edad (años)	Frecuencia	Porcentaje
menor de 1	2	1,7
01 a 04	40	34,8
05 a 09	23	20
10 a 14	17	14,8
15 a 19	11	9,6
20 a 29	6	5,2
30 a 39	4	3,5
40 a 49	4	3,5
50 a 59	5	4,3
60 a 69	3	2,6
<b>Total</b>	<b>115</b>	<b>100,0</b>

**Gráfico 6-3: Clasificación por edad en pacientes con Leucemia aguda en los que se realizó estudio inmunofenotípico.**



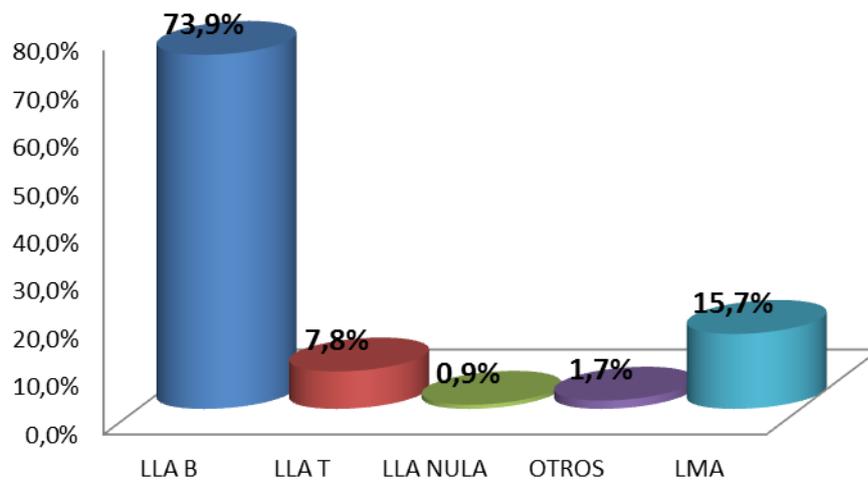
### **Análisis e interpretación**

El grupo etario con el mayor número de observaciones fue el de 1 a 4 años (34,8%). El promedio de edad fue de  $12,1 \pm 11,5$  años.

**Cuadro 6-4: Clasificación de las leucemias agudas con inmunofenotipaje.**

Tipo	Frecuencia	Porcentaje
LLA B	85	73,9
LLA T	9	7,8
LLA NULA	1	0,9
OTROS	2	1,7
LMA	18	15,7
Total	115	100,0

**Gráfico 6-4: Clasificación de las leucemias agudas con inmunofenotipaje.**



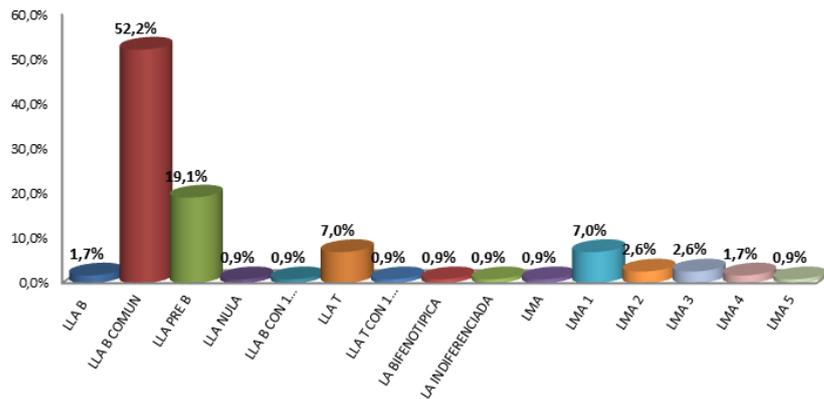
### **Análisis e interpretación**

De todas las leucemias agudas las leucemias linfoides representan el 82,6%, mientras que las leucemias mieloides el 15,7%.

**Cuadro 6-5: Clasificación de las leucemias agudas con inmunofenotipaje según sub-tipo.**

Tipo	Frecuencia	Porcentaje
LLA B	2	1,7
LLA B COMUN	60	52,2
LLA PRE B	22	19,1
LLA NULA	1	0,9
LLA B CON 1 MARCADOR MIE-LOIDE	1	0,9
LLA T	8	7,0
LLA T CON 1 MARCADOR B	1	0,9
LA BIFENOTIPICA	1	0,9
LA INDIFERENCIADA	1	0,9
LMA	1	0,9
LMA 1	8	7,0
LMA 2	3	2,6
LMA 3	3	2,6
LMA 4	2	1,7
LMA 5	1	0,9
Total	115	100,0

**Gráfico 6-5: Clasificación de las leucemias agudas con inmunofenotipaje según sub-tipo.**



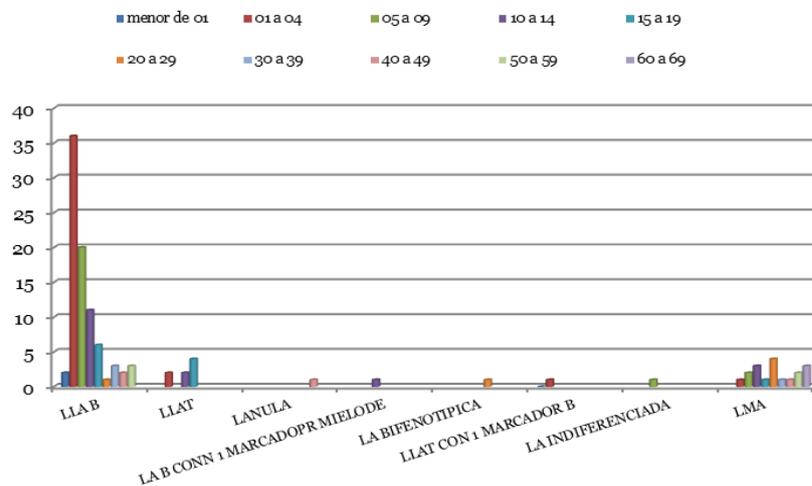
### Análisis e interpretación

Las leucemias linfocítica aguda B común es el tipo que se presenta con mayor frecuencia (52,2%), seguida de la Leucemia linfocítica aguda pre B (19,1%).

**Cuadro 6-6: Clasificación de las leucemias agudas con inmunofenotipaje, según tipo y grupo etario..**

Tipo	menor de 01	01 a 04	05 a 09	10 a 14	15 a 19	20 a 29	30 a 39	40 a 49	50 a 59	60 a 69
LLA B	2	36	20	11	6	1	3	2	3	
LLAT		2		2	4					
LANULA									1	
LA B CONN 1 MARCADOPR MIELODE				1						
LA BIFENOTIPICA						1				
LLAT CON 1 MARCADOR B		1								
LA INDIFERENCIADA			1							
LMA		1	2	3	1	4	1	1	2	3
Total	2	40	23	17	11	6	4	4	5	3

**Gráfico 6-6: Clasificación de las leucemias agudas con inmunofenotipaje, según tipo y grupo etario.**



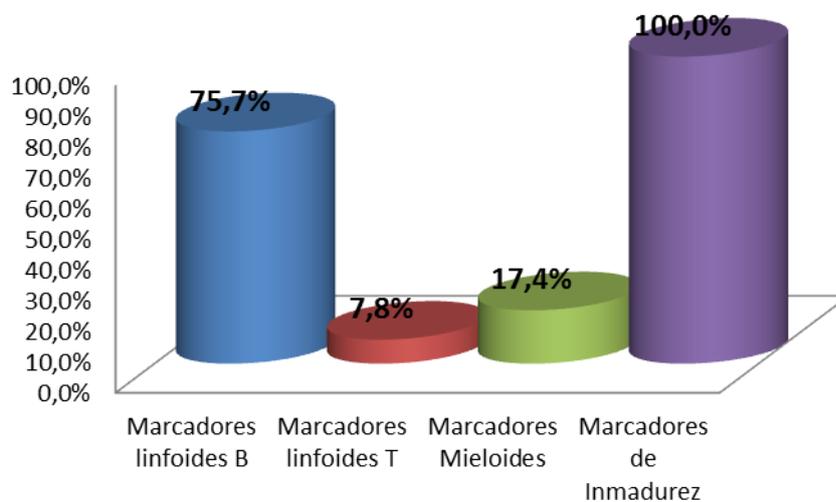
### Análisis e interpretación

Las LLA B tiene un pico de presentación entre 01-04 años (36 casos), mientras que las leucemias mieloides agudas se presentan de manera homogénea en todos los grupos etarios

**Cuadro 6-7: Clasificación de las leucemias agudas con marcadores inmunofenotípicos.**

<b>Tipo</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
Marcadores linfoides B	87	75,7
Marcadores linfoides T	9	7,8
Marcadores Mieloides	20	17,4
Marcadores de Inmadurez	115	100,0

**Gráfico 6-7: Clasificación de las leucemias agudas con marcadores inmunofenotípicos.**



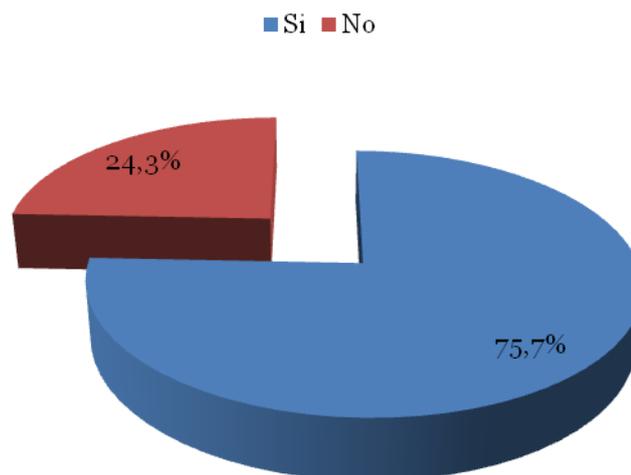
### **Análisis e interpretación**

La presentación de los marcadores inmunofenotípicos está en relación al tipo de leucemia, así siendo agudas el 100 % expresan marcadores de inmadurez que responde a la presencia de células inmaduras, de las cuales la mayor proporción (75,7%) es de estirpe B

**Cuadro 6-8: Clasificación de las leucemias agudas con marcadores inmunofenotípicos linfoides B.**

Marcadores Linfoides B	Frecuencia	Porcentaje
Si	87	75,7
No	28	24,3
Total	115	100,0

**Gráfico 6-8: Clasificación de las leucemias agudas con marcadores inmunofenotípicos linfoides B.**



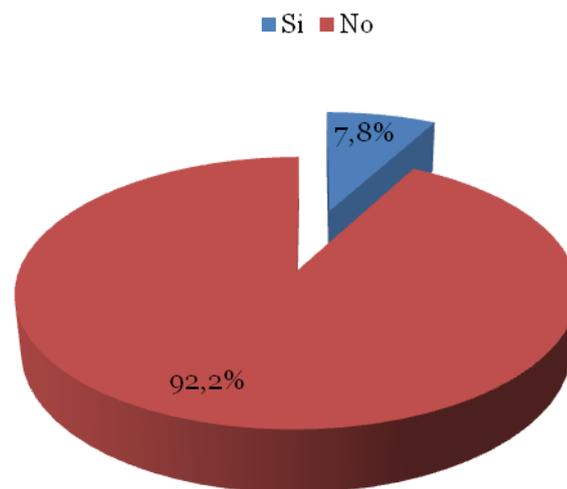
### **Análisis e interpretación**

El 75,7 % de los pacientes evaluados expresaron marcadores inmunofenotípicos linfoides B, lo cual se relaciona con la mayor frecuencia de leucemias tipo B común y pre B observada.

**Cuadro 6-9: Clasificación de las leucemias agudas con marcadores inmunofenotípicos linfoides T**

Marcadores Linfoides T	Frecuencia	Porcentaje
Si	9	7,8
No	106	92,2
Total	115	100,0

**Gráfico 6-9: Clasificación de las leucemias agudas con marcadores inmunofenotípicos linfoides T.**



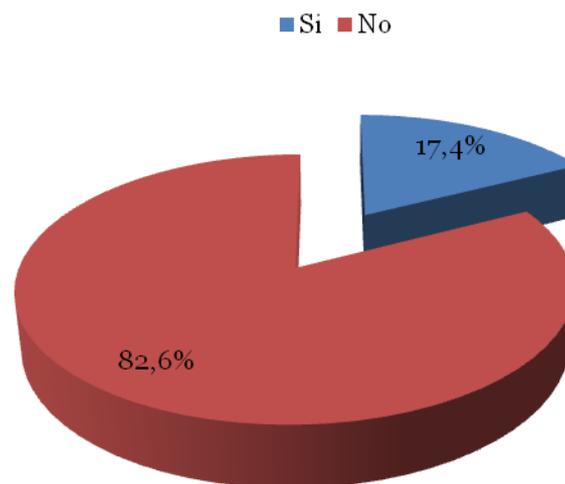
### **Análisis e interpretación**

La frecuencia de pacientes que expresaron marcadores linfoides T fue baja (7,8%), en relación a la presentación de las leucemias linfoides T.

**Cuadro 6-10: Clasificación de las leucemias agudas con marcadores inmunofenotípicos para marcadores mieloides.**

Marcadores Mielodes	Frecuencia	Porcentaje
Si	20	17,4
No	95	82,6
Total	115	100,0

**Gráfico 6-10: Clasificación de las leucemias agudas con marcadores inmunofenotípicos para marcadores mieloides.**



### **Análisis e interpretación**

El 17,4 % de los pacientes estudiados expresaron marcadores mieloides, relacionado con las leucemias mieloides agudas y la expresión aberrante de un marcador mieloides en un caso de LLA B.

## 7 DISCUSIÓN

Siendo las neoplasias hematolinfoides un grupo de enfermedades que causan morbimortalidad en niños y adultos, ha sido la preocupación de muchos científicos a nivel nacional e internacional, realizando esfuerzos en investigar y analizar principalmente las técnicas de diagnóstico como pruebas moleculares e inmunofenotipo que ayuden a escoger mejor la terapéutica y den datos sobre el pronóstico de la enfermedad.

Los últimos consensos médicos ponen de manifiesto que es importante un adecuado diagnóstico y clasificación de las leucemias, recomendando utilizar la clasificación propuesta por la OMS desde el 2001, para lo cual es muy necesario correlacionar datos morfológicos, fenotípicos y cromosómicos. (Saavedra et al, 2010).

Para el análisis inmunofenotípico la técnica más utilizada y recomendada es la citometría de flujo (Kalina et al, 2012, Saavedra et al, 2010), en SOLCA Guayaquil, es una técnica utilizada para el diagnóstico y clasificación de las leucemias agudas desde el 2004, por protocolo se realiza a todo paciente con diagnóstico clínico de LA.

La citometría de flujo ya no sólo se utiliza para el diagnóstico y la clasificación de las leucemias, pues es una herramienta que aporta datos sobre el pronóstico, se la está utilizando mucho para la evaluación de la enfermedad mínima residual (EMR) y la relación del inmunofenotipo con las alteraciones cromosómicas.

Para el análisis inmunofenotípico la técnica más utilizada y recomendada es la citometría de flujo (Kalina et al, 2012, Saavedra et al, 2010), en SOLCA Guayaquil, es una técnica utilizada para el diagnóstico y clasificación de las leucemias agudas desde el 2004, por protocolo se realiza a todo paciente con diagnóstico clínico de LA.

Los equipos siempre se están actualizando, así en este trabajo se estudiaron muestras analizadas con el citómetro de flujo modelo Facscalibur que utiliza dos láser hasta el 2012, en este año se lo cambió por el modelo Facs

Canto II que utiliza 4 laser y puede analizar 10 parámetros a la vez, e incluso actualmente se utiliza un programa nuevo para analizar, el Infinicyt, que da mayor facilidad al análisis.

Los hallazgos encontrados en ésta revisión con respecto al sexo muestra un ligero incremento en hombres (53,9%), similar al encontrado en otros estudios (Medina, 2010).

Algunos estudios revelan que la Leucemia aguda tiene un pico de incidencia en niños de 5 años de edad, éste estudio revela que el grupo etario más afectado fue el de 1-4 años (34,8 %), con una alta incidencia entre 1-14 años (69,6%), siendo menos frecuentes en mayores de 50 años (6,9%).

Los datos encontrados referente a la frecuencia de las LLA y LMA son similares a los de otros países de Latinoamérica (Medina, 2010). Este estudio revela una incidencia del 82,6% para las LLA y 15,7% para las LMA, es decir que el predominio es más marcado para las LLA; en comparación con un estudio en pacientes de la Sierra ecuatoriana (López-Cortez, 2009), que muestra un incremento en la presentación de las LMA (LLA 66.4%, LMA 33.6%)

La distribución de las leucemias agudas linfoblásticas muestra un predominio para la LLA B común (52,2%), similar a la encontrada en la literatura médica (Medina 2010).

Otros subtipos de LLA son menos frecuentes, sin embargo la LLA pre-B se presenta en el 19,1% de casos, contrastando con los datos encontrados por García, donde únicamente representa el 2,2%.

A diferencia de otros estudios que manifiestan que la leucemia aguda bifenotípica se presenta en el 5% de todas las leucemias agudas (Vizcaíno et al, 2010), este trabajo reportó un solo caso (0,9%), y únicamente se registró 0,9% de LLA pre B con un marcador mielóide, probablemente debido a que estos datos fueron obtenidos cuando el área de citometría de flujo estaba pasando por un proceso de estandarización del método y que no se contaba con todos los marcadores disponibles actualmente.

La presentación de las leucemias con linaje T (7,8%), es baja respecto a los datos que revela la literatura médica internacional 15-19% (Medina et al, 2010).

Los resultados con respecto a la distribución de la LMA en muy variable según datos consultados, así en este estudio la M1 es la más frecuente de todas las leucemias agudas, sin embargo para Duque-Sierra et al, 2006, es la LMA M5, para Padrón et al, 2005 son M1 y M4, para Pérez y Santoscoy, 2005 Mo/M2.

## 8 CONCLUSIONES

Los resultados expuestos, permiten las siguientes conclusiones:

- Las leucemias agudas en el periodo de estudio, predominan con un alto porcentaje en relación a las de tipo crónico (93,1%).
- El inmunofenotipaje se realizó en todos los pacientes con diagnóstico clínico de leucemia aguda.
- La leucemia linfoblástica aguda, es el inmunofenotipo más frecuente (82,6%).
- La frecuencia por sexo en pacientes con leucemia aguda fue similar en hombres y mujeres (53,9% y 46,1%) respectivamente.
- El grupo etario con más casos fue el de 1 a 4 años (34,8%).
- La leucemia linfocítica aguda B fue la más frecuente (73,9%).
- Todos los casos expresaron marcadores citológicos de inmadurez (100%).
- Con mayor frecuencia los pacientes expresaron marcadores inmunofenotípicos de tipo linfoides B (75,7%).
- La frecuencia de pacientes positivos a marcadores linfoides T fue baja (7,8%).
- El 17,4% de los pacientes estudiados expresaron marcadores mieloides.
- El inmunofenotipaje es un importante aporte diagnóstico para la precisa clasificación de las leucemias.
- La correcta clasificación de las leucemias agudas permite un tratamiento más eficaz y por lo tanto incide en el pronóstico y calidad de vida de los pacientes que padecen esta neoplasia.

## **9 RECOMENDACIONES**

Las conclusiones presentadas, llevan a realizar las siguientes recomendaciones:

- Promover la utilización del inmunofenotipaje de las leucemias como método de ayuda diagnóstica indispensable en los casos de leucemias agudas.
- Destacar la buena relación costo-beneficio del uso orientado del inmunofenotipaje de las leucemias
- Diseñar un protocolo terapéutico en base a las principales marcadores inmunofenotípicos presentes en el estudio.
- Promover el desarrollo de estudios multicéntricos para evaluar la influencia del tipo inmunofenotípico en la sobrevida de los pacientes con leucemia aguda tratados en esta institución.
- Socializar los resultados del estudio con el equipo de salud de la institución.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alvarez S, et al. (2010). DNA methylation profiles and their relationship with cytogenetic status in adult acute myeloid leukemia. *PLoS One*, 5:12197.
2. Beitinjaneh A, et al. (2010). Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication and tyrosine kinase domain mutations in acute promyelocytic leukemia: A systematic review. *Leuk Res*, 34:831–836.
3. Chauffaille ML, et al. (2008). Acute Promyelocytic Leukemia With t(15;17): frequency of additional clonal chromosome abnormalities and FLT3 mutations. *Leuk Lymphoma*, 49:2387–2389. Disponible desde: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
4. Cheng, J et al. (2012) Effect of magnetic nanoparticles of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and wogonin on the reversal of multidrug resistance in K562/A02 cell line. *Int J Nanomedicine*. 2012;7:2843-52. Epub 2012 Jun 8.
5. Chillón MC, et al. (2010). Long FLT3 internal tandem duplications and reduced PML-RAR $\alpha$  expression at diagnosis characterize a high-risk subgroup of acute promyelocytic leukemia patients. *Haematologica*, 95:745–751. Disponible desde: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
6. Foulks JM, et al. (2012). Epigenetic drug discovery: targeting DNA methyltransferases. *J Biomolec Scr*, 17:2–17.
7. García JL, et al. (2008). Estudio de Inmunofenotipo en pacientes pediátricos con Leucemia Linfática Aguda (LLA) en el INEN y su importancia pronóstica. *Revista Peruana de Oncología Médica*. 7 :01.
8. INEC. (2008). Indicadores Básicos de Salud 2007. Quito.
9. Jácomo RH, et al. (2007). Clinical features and outcomes of 134 Brazilians with acute promyelocytic leukemia who received ATRA and anthracyclines. *Haematologica*, 92:1431–1432. Disponible desde: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
10. Jemal A, et al (2009). Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin*. Jul-Aug 59(4):225-49.

11. Juárez-Velásquez. (2012). Citometría de flujo en la evaluación de enfermedad mínima residual en leucemia linfoblástica aguda. *Acta pediátrica de México*. Vol 33, Num 4: 198-206.
12. Kaufman M, et al. (2009) Diagnosing and treating chronic lymphocytic leukemia in 2009. *Oncology (Williston Park)*. Nov 15 ;23(12):1030-7.
13. Labardini J et al. (2011). Oncoguía: Leucemia Linfoblástica aguda. *Cancerología* 6, 111-115
14. Lihteh W et al. (2012) Leukemias Workup. Actualizado ene 17 2012. Disponible en <http://emedicine.medscape.com>.
15. Lo-Coco F, et al. (2007). Current treatment of acute promyelocytic leukemia. *Haematologica*, 92:289–291.
16. Lopez-Cortez et al. (2009). Frecuencia de los rearrreglos cromosómicos y genéticos en Leucemias agudas en Población Ecuatoriana de Altura. *SOLCA*. Vol 19 3-4.
17. Lucena-Araújo AR et al. (2010). Results of FLT3 mutation screening and correlations with immunophenotyping in 169 Brazilian patients with acute myeloid leukemia. *Ann Hematol*, 89:225–228. Disponible desde: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
18. Medina A. (2010). Determinación de los Perfiles Inmunofenotípicos con Citometría de Flujo de Leucemia Linfoblástica Aguda en niños y su valor en la detección de Enfermedad Mínima Residual. Trabajo previo a obtención de Título de especialista en Patología Anatómica y Clínica. Universidad Nacional de Colombia. 2010. Bogota DC.
19. Melnick AM et al (2010) Epigenetics in AML. *Best Pract Res Clin Haematol* 2010, 23:463–468. Disponible desde: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
20. Merino (2007). Leucemias Agudas. Educación continuada en laboratorio clínico. Hospital Clínico. Universidad de Barcelona. Ed Cont lab 2007

21. Ono T, et al. (2011). Impact of additional chromosomal abnormalities in patients with acute promyelocytic leukemia: 10-year results of the Japan Adult Leukemia Study Group APL97 study. *Haematologica*, 96:174–176. Disponible desde: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
22. Orfao A, et al. (2008). Inmunofenotipaje de hemopatías malignas: de la investigación básica a la práctica asistencial. *Haematologica*, 93:79-86.
23. Radich JP. (2009) How I monitor residual disease in chronic myeloid leukemia. *Blood*. Oct 15 114(16):3376-81.
24. Ruíz G. (2008). Esquema terapéutico SOLCA 97 y su impacto en la sobrevida. Estudio en pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda. ION-SOLCA. Periodo 1997-2007. Tesis. Universidad de Guayaquil.
25. Roa D. (2009). Análisis de la expresión de marcadores asociados a linaje celular en muestras normales de médula ósea. Tesis. Pontificia Universidad Javeriana de Bogotá.
26. Russo V, et al. (2008). Orbital and ocular manifestations of acute childhood leukemia: clinical and statistical analysis of 180 patients. *Eur J Ophthalmol*. Jul-Aug 18(4):619-23.
27. Saavedra C. et al. (2010). Reporte del Primer Censo Colombiano de Citometría de Flujo para el estudio de trastornos hematológicos. *Biomédica*; 30:11-21
28. Sivendran S. et al. (2010). Ring chromosome 18 abnormality in acute myelogenous leukemia: The clinical dilemma. *J Hematol Oncol* 22;3:25.
29. SOLCA. (2011). (editores). Registro de tumores. Cáncer en Guayaquil 2003-2006. EDUQUIL-Guayaquil. 2011
30. Swerdlow SH, et al. (2008). WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC press;:112.
31. Vizcaíno M. et al. (2010). Diagnostico de leucemias bifenotípicas por citometría de flujo. Presentación de caso.. *Biomédica*; 30:22-26

32. Wang L, et al. (2011) SF3B1 and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. Dec 29 365(26):2497-506. Disponible desde: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

**REFERENCIAS INTERNET**

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

[www.scielo.org.co/scielo.php](http://www.scielo.org.co/scielo.php)

[www.bdigital.unal.edu.co](http://www.bdigital.unal.edu.co)

[www.seth.es/potencias/2008/lec](http://www.seth.es/potencias/2008/lec)

[www.revistabiomedica.org.index](http://www.revistabiomedica.org/index)

[www.seqc.es/dl.asp](http://www.seqc.es/dl.asp)

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS CLÁSICAS

33. Cabrera ME, et al (1996). Inmunofenotipo, características clínicas y de laboratorio de la leucemia linfoblástica aguda en Chile. Rev Med Chile 124:293-9.
34. Cabrera ME, et al. (1996). Inmunofenotipo, características clínicas y laboratorio de la leucemia linfoblástica aguda en Chile. Estudio de 500 niños y 131 adultos. Rev Med Chile 124:293-9.
35. Casanovas RO, et al. (2003) Immunological classification of acute myeloblastic leukemias: relevance to patient outcome. Leukemia 17:515-27.
36. Catovsky D, et al. (1991) A classification of acute leukaemia for the 1990's. Ann Hematol 62:16-112.
37. Catovsky D. (1992) Leucemias mieloides agudas. Enciclopedia Iberoamericana de Hematología. Ediciones Universidad de Salamanca 2:141-6.
38. Cotran RS, et al. (2000). Patología estructural y funcional. McGraw-Hill-Interamericana. 6º edición.
39. Cazzaniga G, Bondi A. (2005) Molecular Monitoring of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia using Antigen Receptor Gene Rearrangements and Quantitative Polymerase Chain Reaction Technology. Haematologica; 90: 382-90
40. Del Vecchio L, et al. (1991) Co-ordinate expression of T-cell antigens on acute myelogenous leukemia and of myeloid antigens on T-acute lymphoblastic leukemia. Speculation on a highly balanced bilinearity. Leukemia 5:815-8.
41. Derek L. et al. (2001). Radich "FLT3, RAS, and TP53 mutations in elderly patients with acute myeloid leukemia". Blood. Ingles. Junio 97(11). pp. 3589-3595.
42. Dresler HG, et al. (1998). Review of the incidence and clinical relevance of myeloid antigen positive in acute lymphoblastic leukemia. Leukemia 5:637-45.

43. Duque-Sierra et al. (2006). Características Morfológicas, citogenéticas e inmunofenotípicas de pacientes con leucemia mieloide aguda. Medellín, Colombia. CIMEL 11(2). Pp. 72-77
44. Farhi DC, et al. (2000). Acute lymphoblastic leukemia. Clin Lab Med 20:17-28.
45. Fauci et al. (2000). Principios de medicina interna de Harrison. McGraw-Hill-Interamericana. 14ª edición. .
46. Garand R, et al. (1993). Incidence, clinical and laboratory features and prognostic significance of immunophenotypic subgroups in acute lymphoblastic leukemia: The GEIL experience. Rec Res Cancer Res 131:283-95.
47. Garand R, et al. (1996). Immunophenotypic characterization of acute leukemias and chronic lymphoproliferative disorders: practical recommendations and classifications. Hematol Cell Ther 38:471-86.
48. García JA, et al (2000). Aberrant immunophenotypes detected by flow cytometry in acute lymphoblastic leukemia. Leuk Lymphoma 2000;36:275-84
49. Ghosh S, et al. (2003) Haematologic and immunophenotypic profile of acute myeloid leukaemia: an experience of Tata Memorial Hospital . Indian J Cancer 40:71-6.
50. Greaves MF, et al (1986). Lineage promiscuity in hematopoietic differentiation and leukemia. Blood 67:1-11
51. Harmening D. (1995). Clinical hematology and fundamentals of hemostasis. F.A Davis company. 2ª edición.
52. Hasle H, et al. (2003) A pediatric approach to the WHO classification of myelodysplastic and myeloproliferative diseases. Leukemia 17 (2): 277-82, 2003.
53. Howar MR, et al. (1994). Expression of myeloid antigens in acute lymphoblastic leukemia. Br J Haematol 88:897-8.
54. Howard MR, et al. (1994) Expression of myeloid antigens in acute lymphoblastic leukemia. Br J Haematol 88:897-8.

55. Khalidi HS, et al. (1998). The immunophenotype of adult acute myeloid leukemia: high frequency of lymphoid antigen expression and comparison of immunophenotype, French-American-British classification, and karyotypic abnormalities. *Am J Clin Pathol* 109:211-20.
56. Kuerbitz SJ, et al. (1992) Expression of myeloid-associated and lymphoid-associated cell-surface antigens in acute myeloid leukemia of childhood: a Pediatric Oncology Group study. *J Clin Oncol* 10 (9): 1419-29.
57. Kuerbitz SJ, et al. (1992) Expression of myeloid-associated and lymphoid-associated cell-surface antigens in acute myeloid leukemia of childhood: a Pediatric Oncology Group study. *J Clin Oncol* 10 (9): 1419-29.
58. Lara M, et al. (2001). Leucemia Linfoblástica Aguda del Adulto en el Instituto Oncológico Nacional "Dr. Juan Tanca Marengo". 1996 – 2000.
59. Lauria F, et al. (1995) The presence of lymphoid-associated antigens in adult acute myeloid leukemia is devoid of prognostic relevance. *Stem Cell* 1995;13:428-34
60. Linker CA. (2004). Sangre. En Tierney L, McPhee S, Papadakis M (editores). *Diagnóstico Clínico y tratamiento*. 39ª ed. Manual Moderno – México. 2004: p 482-83.
61. Luidier J et al. (2004) Impact of the new Beckman Coulter Cytomics FC 500 5-color flow cytometer on a regional flow cytometry clinical laboratory service. [Lab Hematol](#). 2004;10(2):102-8.
62. Macedo A, et al. (1995) Immunological detection of blast cell subpopulations in acute myeloblastic leukemia at diagnosis: implications for minimal residual disease studies. *Leukemia* 9:993-8.
63. Macedo A, et al. (1995) Characterization of aberrant phenotypes in acute myeloblastic leukemia. *Ann Hematol* 70:189-94.

64. Makrynika V, et al. (1995). Functional and phenotypic upregulation of CD13/aminopeptidase-N on precursor-B acute lymphoblastic leukemia after in vitro stimulation. *Exp Hematol* 23:1173-9.
65. Malta A, et al. (1997) Childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int J Pediatr Hematol Oncol* 4:121-5.
66. Marsán V et al. (1999). Inmunofenotipaje celular en el diagnóstico de las leucemias agudas híbridas. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 15(3):190-6
67. Marsán V et al. (2004). Leucemia linfocítica aguda común. Estudio del inmunofenotipo y las características clínicas y morfológicas. *Rev Cubana Hematol* 20(2).
68. Marsán V, et al. (1999) Inmunofenotipaje celular en el diagnóstico de las leucemias agudas híbridas. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 15:190-6.
69. Matutes E et al. (2000). Morphological and immunophenotypic features of chronic lymphocytic leukemia. *Rev Clin Exp Hematol* 4(1):22-47.
70. McPhee S, et al. (editores). (2006). *Current Medical Diagnosis & Treatment*. Disponible en: <http://www.accessmedicine.com>
71. Melnick SJ. (1999) Acute lymphoblastic leukemia. *Clin Lab Med* 19:169-86.
72. Meneghello J, et al. (1997) *Pediatría*. 5ed. Buenos Aires: Panamericana;1812-22.
73. Mielcarek M, et al. (1997). Expression of intercellular adhesion molecule I (ICAM-1) in childhood acute lymphoblastic leukaemia: correlation with clinical features and outcome. *Br J Hematol* 96:301-7.
74. Mirro J, et al. (1985) Acute mixed lineage leukemia: clinicopathologic correlations and prognostic significance. *Blood* 66:1115-23.
75. Mizutani M, et al. (1997) Cellular characteristic of acute leukemia cells simultaneously expressing CD13/CD33, CD7 and CD19. *Int J Haematol* 66:479-91.

76. Monserrat E. (2002). Hematología. En Farreras, Rozman C (editores). Medicina Interna. Harcourt – Madrid . (CD ROM)
77. Muñoz L. (2005). Aportacion del análisis inmunofenotipico en la caracterización de la leucemia aguda y en la identificacino de subgrupos moleculares. Universidad Autronoma de Barcelona. Departamento de Medicina
78. Nathan D, et al. (1998) Hematology of infancy and childhood. 5ed. Phyladelphia: WB. Saunders Company; p.245-85.
79. Orfao A, et al. (1994). Acute lymphoblastic leukemia(ALL):Detection of minimal residual diseases(MRD) at Flow Cytometry. Leukemia and Lymphoma 13:87-90.
80. Orfao A, et al (1995). Flow cytometry in the diagnosis of cancer. Scand J Clin Lab Invest 221:145-52.
81. Orfao A, et al. (2004). Immunophenotyping of Acute Leukemias and Myelodysplastic Syndromes. Cytometry Part A. 58A:62–71
82. Padrón T, et al. (2005). Inmunofenotipaje celular en el diagnostic de la leukemia mieloide aguda. Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana. Cuba. Disponible en [www.bvs.sld.cu/revistas/hih](http://www.bvs.sld.cu/revistas/hih)
83. Paletta E. (2003) Expression of cell-surface antigens in acute promyelocytic leukaemia. Best Pract Res Clin Haematol 16:369-85
84. Paredes R, et al. (1999) Inmunofenotipo de la leucemia aguda linfoblástica en niños mexicanos. Sangre 44:188-94.
85. Pérez E et al. (2006). Imunofenotipo leucémico de 1356 pacientes con diagnóstico de leucemia aguda por citofluorometría multiparamétrica Rev Mex Patol Clin 53(1):69-70.
86. Piedras J, et al. (2000). Classification of acute myeloid leukemia according to the first latin-american consensus conference for the immunophenotyping of leukemias. Rev Invest Clin 52:524-8.
87. Pui CH, et al. (1990) Myeloid associated antigens expression lacks prognostic value in childhood acute lymphoblastic leukemia treated with intensive multiagent chemotherapy. Blood 75:198-202.

88. Redaelli A, et al. (2004). Economic burden of acute myeloid leukemia: a literature review. *Cancer Treat Rev* 30:237-47.
89. Reilly JT. (1996) Use and evaluation of leucocyte monoclonal antibodies in the diagnostic laboratory: a review. *Clin Lab Haem* 18:1-5
90. Reilly JT. (1996) Use and evaluation of leucocyte monoclonal antibodies in the diagnostic laboratory: a review. *Clinic Lab Haem* 18:1-5.
91. Ribera JM. (2001). Tratamiento de la leucemia aguda linfoblástica del adulto. En Sans J, Besses C, Vives J. (editores). *Hematología Clínica*. Harcourt – Madrid. 2001, 345-347.
92. Ruiz G. 1998. *Fundamentos de hematología*. Editorial Médica Panamericana. 2º edición. 1998.
93. Sánchez M et al. (2002). Inmunofenotipaje celular en el diagnóstico de leucemia linfoides crónicas. *Rev Cubana Hematol Inmunol hemoter* 18(2).
94. Smith FO, et al. (1992) Expression of lymphoid-associated cell surface antigens by childhood acute myeloid leukemia cells lacks prognostic significance. *Blood* 79 (9): 2415-22
95. SOLCA. (2005). (editores). *Registro de tumores. Cáncer en Guayaquil 2001-2002*. SENEFELDER-Guayaquil. 2005.
96. Terstappen L, et al. (1991) Flow cytometric characterization of acute myeloid leukemia. Part II. Phenotypic heterogeneity at diagnosis. *Leukemia* 5:757-67.
97. Terstappen L, et al. (1991). Flow cytometric characterization of acute myeloid leukemia. Part II. Phenotypic heterogeneity at diagnosis. *Leukemia* 5:757-67.
98. Tierney T et al. (2006). *Diagnostico clinico y tratamiento*. Manual Moderno. .
99. Van Dongen J. et al. (1996) Immunobiology of leukemia. In: Henderson ES, Lister TA, Greaves MF (eds.). *Leukemia*, 6 th edition. Philadelphia 83-130.

100. Van Dongen JM, et al (1996) Immunobiology of Leukemia. In: Henderson ES, Lister TA, Greaves MF, eds. Leukemia. 6ed. Philadelphia: WB Saunders; 83-130.
101. van Lochem EG, et al. (2004) Immunophenotypic Differentiation Patterns of Normal Hematopoiesis in Human Bone Marrow: Reference Patterns for Age-Related Changes and Disease-Induced Shifts. Cytometry Part B (Clinical Cytometry); 60B: 1-13
102. Vidriales MB, et al. (1994). Expression of NK and lymphoid associated antigens in blast cells of acute myeloblastic leukemia. Leukemia 1993;7:2026-9.
103. Wiersma SR, et al (1991). Clinical importance of myeloid-antigen expression in acute lymphoblastic leukemia of childhood. N Engl J Med 324:800-3.
104. Woessner S, et al. (2000). La citología óptica en el diagnóstico hematológico. 4ª ed. Acción Médica – Madrid.
105. Woessner S, et al. (2001). Introducción al estudio de las Leucemias Agudas. Clasificación. Descripción de las distintas variedades. Formas especiales. En Sans J, Besses C, Vives J. (editores). Hematología Clínica. Harcourt – Madrid. 345-347.
106. Yanelkys et al. (2005). Inmunofenotipaje celular en el diagnóstico de la leucemia mieloide aguda. Rev Cubana hematol Inmunol Hemoter
107. Ziegler DS, Dalla Pozza L, Waters KD, Marshall GM. (2005) Advances in Childhood Leukaemia: Successful Clinical-trials Research leads to individualized therapy. Med J Aust; 182: 78-81



### Anexo 2: Base de datos

CARACTERÍSTICAS INMUNOFENOTÍPICAS DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS. INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL. SOLCA "DR. JUAN TANCA MARENGO". 2009-2010

ORDEN	FECHA	NOMBRE	HC	SEXO	EDAD	DIAGNOSTICO INMUNOFENOTIPICO	Marcadores de Inmadurez	Marcadores linfoides B	Marcadores linfoides T	Marcadores Mieloides
1	07/01/2009	MTB	20090026	M	11	LMA PROMIELOCITICA LMA M3				
2		MS	20090392	F	12	LLA B COMUN	1	1		
3	02/02/2009	CCJ	20090529	M	9M	LLA B COMUN				
4		LHA	20087158	F	3	LLA B COMUN	1	1		
5	04/02/2009	CPD	20090583	M	13	LLA T				
6	11/02/2009	OGA	20090681	M	11	LLA B COMUN	1	1		
7	13/02/2009	JOD	20080416	M	12	LMA M2				
8		CPE	20090812	F	7	LLA PRE B	1	1		
9	19/02/2009	LBM	20084754	F	54	LLA B COMUN				
10		MTE	20090909	M	1	LLA T	1		1	
11	27/02/2009	CHAI	20090973	M	57	LLA B COMUN				
12		VTL	20091066	M	21	LMA M1	1			1
13	09/03/2009	LLGM	20091231	F	58	LLA B COMUN				
14		ACS	PARTICULAR	M	4	LLA B COMUN	1	1		
15		LL G VI	20091399	F	11	LLA PRE B				
16	18/03/2009	P P A	20091401	M	11	LLA T	1		1	
17		A LA	20091465	F	13	LLA PRE B				
18	25/03/2009	E G J C	20091573	M	13	LLA B COMUN	1	1		
19	30/03/2009	B C J	20091665	M	5	LLA PRE B				
20		P R M	20091663	F	6	LLA B COMUN	1	1		
21	13/01/2009	PPM	20086671	F	11	LMA				
22	02/04/2009	T L S	20091746	F		LLA NULA	1			
23		PCHJ	20090259	F	4	LLA-B COMUN				
24	06/04/2009	ABC	20091805	M	1	LLA T	1		1	
25		RPD		M	12	LLA B COMUN				
26	07/03/2009	TFN	20091804	M	8	LMA M1	1			1
27	14/03/2009	CAW	20091949	F	13	LMA M0				

Continuación....

ORDEN	FECHA	NOMBRE	HC	SEXO	EDAD	DIAGNOSTICO INMUNOFENOTIPICO	Marcadores de Inmadurez	Marcadores linfoides B	Marcadores linfoides T	Marcadores Mieloides
28	16/03/2011	FME	20083343	M	2	LLA B COMUN	1	1		
29		B MH	20092094	M	2	LMA M1				
30	23/04/2009	CMT	IESS	M	34	LLA B COMUN	1	1		
31	28/04/2009	TTD	20092133	F	8	LLA B COMUN				
32	04/05/2009	BGA	20092307	F	2	LLA PRE B	1	1		
33		RCG	20092351	M	44	LLA B COMUN				
34	08/05/2009	BGF	20092201	F	52	LLA B COMUN	1	1		
35		MM	20092400	F	63	LLA B COMUN				
36		HMT	20092549	F	18	LLA T	1		1	
37	26/05/2009	BSM	20092753	M	5	LLA B COMUN				
38		CPR	20092729	M	51	LLA B COMUN	1	1		
39		VHL	20092809	F	11	LLA B COMUN				
40	05/06/2009	MQM	20092962	F	8	LLA PRE B	1	1		
41		BOE	20092982	F	5	LLA PRE B				
42		VCHD	20093117	F	1	LLA PRE B	1	1		
43	17/06/2009	PPJ	20093220	M	7	LLA PRE B				
44	25/06/2009	SMA	20093146	F	46	LMA M1	1			1
45		EMJ	20096293	F	3	LLA B				
46	26/06/2009	CBV	20093391	F	13	LLA PRE B CON EXPRESION DE 1 MARCADOR MIELOIDE	1	1		1
47		CSJ	2009635	F	19	LLA B COMUN				
48		FAA	20093388	M	4	LLA B COMUN	1	1		
49		RBC	20093441	F	10	LLA B COMUN				
50	02/07/2009	MAM	20093505	M	29	LLA B COMUN	1	1		
51	03/07/2009	ZMA	20093561	F	9	LLA B COMUN				
52		BCL	PORTOVIEJO	F	1	LLA PRE B	1	1		
53	09/07/2009	SFD	20093682	F	1	LLA B COMUN				
54	10/07/2009	LCA	20093702	F	1	LLA PRE B	1	1		

Continuación....

ORDEN	FECHA	NOMBRE	HC	SEXO	EDAD	DIAGNOSTICO INMUNOFENOTIPICO	Marcadores de Inmadurez	Marcadores linfoides B	Marcadores linfoides T	Marcadores Mieloides
55		GEP	19956586	F	44	LMA M2				
56		CPM	20093821	M	14	LMA M1	1			1
57		GLK	20093885	M	59	LLA B COMUN				
58		MMA	20093809	M	4	LLA B COMUN	1	1		
59	24/07/2009	EGG	20093889	F	62	LMA M2				
60		LIG	20094023	M	9	LLA B COMUN	1	1		
61	31/07/2009	AOA	20094082	M	5	LLA PRE B				
62		RHI	20094091	M	2	LLA PRE B	1	1		
63	04/08/2009	ABM	20094116	F	5	LLA B COMUN				
64		ARY	20094118	F	7	LLA B COMUN	1	1		
65		VSC	20094112	M	15	LMA M1				
66	07/08/2009	LRD	20094227	F	14	LLA B COMUN	1	1		
67		VAE	20094319	M	8	LMA M3 (PROMIELOCITICA)				
68	18/08/2009	AII	20094364	F	2	LLA B COMUN	1	1		
69	24/08/2009	QRA	HOSP-UNIVERSITARIO	F	32	LMA M1				
70	25/08/2009	VIBR	SHC	M	18	LLA T				1
71	27/08/2009	LCHC	20094511	M	8	LLA B COMUN				
72	01/09/2009	GBE	20094042	M	9	LEUCEMIA PROMIELOCITICA M3	1			1
73		RRD	20094639	F	6	LLA-B				
74		CLM	20094385	F	24	LMA M3				1
75		VMV	20093648	M	15	LLA PRE B				
76		LCJC	20094496	M	28	LMA M1	1			1
77		QDM	20063769	F	32	LMA M1				
78		MOJ	20094970	M	20	LLA B COMUN	1	1		
79		NVJ	20094564	M	25	LMA M1				
80		BVN	20095075	M	1	LLA B COMUN	1	1		
81	25/09/2009	RRM	20095135	F	4	LLA B COMUN				

Continuación....

ORDEN	FECHA	NOMBRE	HC	SEXO	EDAD	DIAGNOSTICO INMUNOFENOTIPICO	Marcadores de Inmadurez	Marcadores linfoides B	Marcadores linfoides T	Marcadores Mieloides
82	28/09/2009	VCJ	20095208	M	2	LLA B COMUN	1	1		
83		RFA	20094614	M	10	LMA M1				
84		MRC	20073845	M	44	LLA PRE B	1	1		
85		VMC	20095212	M	18	LLA B COMUN				
86		ZRI	HOSP. DEL NIÑO	F	2	LLA B COMUN	1	1		
87		MSN	20095345	M	5	LLA PRE B				
88		RJD	20095411	F	6	LLA B COMUN	1	1		
89		PVM	20095006	M	67	LMA M1				
90		ORJ	20095349	M	16	LLA B COMUN	1	1		
91		VEK	20095443	F	15	LLA PRE B				
92		PMS	20095444	F	2	LMA M5	1			1
93		GUR	20095456	M	12	LLA B COMUN				
94		JCK	20072337	M	11	LMA M2	1			1
95		MCD	20095655	M	4	LLA PRE B				
96		PBO	20095724	M	6	LLA PRE B	1	1		
97		NVJ	20094564	M	25	LMA M1				
98		YCT	20095767	F	14	LLA PRE B	1	1		
99	28/10/2009	MTJ	20095814	F	1	LLA B COMUN				
100		FCHO	20087109	F	39	LLA B COMUN	1	1		
101		CBM	20095205	F	67	LMA M4				
102		QMA	20095924	M	4	LLA B COMUN	1	1		
103		ESJ	20095954	M	4	LMA M4				
104		GMA	HOSP. DEL NIÑO	M	21	LA BIFENOTIPICA	1	1		1
105		MAC	20096294	F	38	LMA M2				
106		ZPP	20096275	M	64	LMA - M1	1			1
107		MQD	20086530	F	7	LLA B COMUN				
108	05/12/2009	SMRV	PARTICULAR	F	4	LLA B COMUN	1	1		

Continuación....

ORDEN	FECHA	NOMBRE	HC	SEXO	EDAD	DIAGNOSTICO INMUNOFENOTIPICO	Marcadores de Inmadurez	Marcadores linfoides B	Marcadores linfoides T	Marcadores Mieloides
109	08/12/2009	SMV	SOLCA-MANABI	F	21	LLA PRE B				
110	11/12/2009	BGL	HOSP.NIÑO	F	2	LLA B COMUN	1	1		
111	15/12/2009	VSCG	20096713	F	11	LLA B COMUN				
112	22/12/2009	TDA	20096899	F	1	LLA B COMUN	1	1		
113		CVM	20096846	F	11	LLA PRE B				
114	29/12/2009	HBC	20096976	M	10m	LLA PRE B	1	1		
115		CLN	197968163	F	60	LMA - M2				
116		GRD	20097053	M	4	LLA B COMUN	1	1		
117	05/01/2010	MRI	20100031	M	2	LLA B COMUN				
118		GLLL	20100286	M	19	LLA B COMUN	1	1		
119	21/01/2010	MCF	20100357	M	4	LLA B COMUN				
120		LSJ	20100382	M	6	LLA B COMUN	1	1		
121		JVD	20100510	M	3	LLA PRE B				
122		BLM	20100578	F	11	LLA B COMUN	1	1		
123		CHBCH	20100406	M	1	LMA MEGACARIOCITI- CA LMA M-7				
124		PLV	20100617	F	3	LLA B COMUN	1	1		
125		SFV	20100714	F	7	LMA M1				
126	09/02/2010	RPL	20100712	F	17	LLA T	1		1	
127		ZQJ	20100754	F	2	LLA PRE B				
128		SGJ	20100784	M	1	LLA T CON EXPRESIÓN DE MARCADOR LINFOCITOS B	1	1	1	
129	10/02/2010	MOG	20100387	F	17	LMA M1				
130	11/02/2010	GSM	PARTICULAR	M	6	LLA PRE B	1	1		
131		FSD	20101185	M	5	LLA B COMUN				
132	15/03/2010	VSJ	20094257	M	79	LMA M4	1			1
133		CVL	20101422	F	56	LMA M4				
134		CJL	20101469	F	3	LLA B COMUN	1	1		
135		FCJ	IESS	M	45	LMA M3				

Continuación....

ORDEN	FECHA	NOMBRE	HC	SEXO	EDAD	DIAGNOSTICO INMUNOFENOTIPICO	Marcadores de Inmadurez	Marcadores linfoides B	Marcadores linfoides T	Marcadores Mieloides
136		BLJ	20101713	F	14	LLA T	1		1	
137	15/04/2010	PCP	20101759	M	57	LLA B COMUN				
138		EGM	20101836	F	54	LMA M2	1			1
139	16/04/2010	GJ	20101855	M	40	LLA B COMUN				
140		ABN	20101934	F	9	LLA B COMUN	1	1		
141		MVF	HOSP.GILBERT	F	4	LMA M1				
142		VALF	201002061	M	2	LLA B		1		
143	30/04/2010	PBA	20060931	F	4	LLA B COMUN				
144		MAR	PARTICULAR	F	3	LLA B COMUN	1	1		
145		DMJ	20102250	M	7	LLA B COMUN				
146	12/05/2010	BMM	20102279	F	10	LLA B COMUN	1	1		
147		SAM	20102323	F	2	LLA B COMUN				
148		VBC	20102358	M	14	LLA B COMUN	1	1		
149	19/05/2010	YRY	20102411	F	2	LLA B COMUN				
150		LNH	20102228	M	11	LMA M1	1			1
151		MHE	20102514	F	15	LLA B COMUN				
152	01/06/2010	AQI	20102610	F	2	LLA B COMUN	1	1		
153		ER	20102688	F	4	LLA B COMUN				
154		VPJ	20102740	M	15	LLA T	1		1	
155	16/06/2010	LA	20102673	M	87	LMA M4				
156		EB	20102916	M	15	LMA M2	1			1
157		AMM	SOLCA PORTO-VIEJO	F	2	LLA PRE B				
158		VLLZ	20102874	F	34	LLA PRE B	1	1		
159		TBG	20102915	F	25	LMA M1				
160		CVW	SOLCA PORTO-VIEJO	M	9	LLA B COMUN	1	1		
161		PNK	20103075	M	9	LLA B COMUN				
162	25/06/2010	MFG	20102999	F	2	LLA B COMUN	1	1		

Continuación....

ORDEN	FECHA	NOMBRE	HC	SEXO	EDAD	DIAGNOSTICO INMUNOFENOTIPICO	Marcadores de Inmadurez	Marcadores linfoides B	Marcadores linfoides T	Marcadores Mieloides
163	28/06/2010	MNJ	IDYTES	M	20	LLA B COMUN				
164		SCHK	20103039	F	8	LLA PRE B	1	1		
165		NFM	IDYTES	F	3	LLA PRE B				
166		CBK	20103094	F	12	LLA B COMUN	1	1		
167		VOM	20103105	F	2	LLA PRE B				
168		BVV	SOLCA PORTO-VIEJO	F	9	LEUCEMIA AGUDA INDIFERENCIADA	1			
169	09/07/2010	CCK	20103244	F	3	LLA B COMUN				
170		SBE	20103646	M	8	LLA B COMUN	1	1		
171		TE	20091865	M	20	LLA PRE B				
172	16/07/2010	RJ	20103339	M	2	LLA PRE B	1	1		
173		MAN	20103269	F	20	LLA PRE B				
174	19/07/2010	MCK	20103362	F	21	LMA M3	1			1
175		PSN	20103443	F	8	LLA B COMUN				
176	22/07/2010	GCD	20103444	M	4	LLA B COMUN	1	1		
177		PLV	20093111	F	69	LLA B COMUN				
178		MCHJ	20103582	F	4	LLA B COMUN	1	1		
179		ZPA	20103625	M	10	LLA B COMUN				
180		MPA	20103651	F	3	LLA B COMUN	1	1		
181		OHD	20103628	M	6	LLA B COMUN				
182		DLCBH	IDYTES	M	48	LLA PRE B	1	1		
183		VSL	20103656	F	46	LMA M1				
184	12/08/2010	VDF		M	18	LLA PRE B	1	1		
185		CVCH	20103836	M	16	LLA PRE B				
186		GNB	20103889	M	5	LLA B COMUN	1	1		
187		SVB	20103888	F	4	LLA B COMUN				
188		RNM	20102449	F	63	LMA M1	1			1
189	31/08/2010	RER	20104045	M	9	LMA B COMUN				

Continuación....

ORDEN	FECHA	NOMBRE	HC	SEXO	EDAD	DIAGNOSTICO INMUNOFENOTIPICO	Marcadores de Inmadurez	Marcadores linfoides B	Marcadores linfoides T	Marcadores Mieloides
190	01/09/2010	MHA	HOS. NIÑO	M	2	LLA B COMUN	1	1		
191	02/09/2010	ASL	IDYTES	M	31	LMA M2				
192	07/09/2010	LGD	SOLCA PORTO-VIEJO	F	9	LLA B COMUN	1	1		
193	08/09/2010	RVR	20104169	F	4	LLA B COMUN				
194	10/09/2010	OES	SOLCA PORTO-VIEJO	F	14	LLA B COMUN	1	1		
195	14/09/2010	ZSC	SOLCA PORTO-VIEJO	M	4	LLA B COMUN				
196	16/09/2010	AAJ	20104271	M	3	LLA PRE B	1	1		
197	22/09/2010	DCB	20104403	F	3	LLA B COMUN				
198		AVM	20104443	M	5	LLA B COMUN	1	1		
199		MMO	IDYTES	M	9	LLA B COMUN				
200		BPJ	20104449	M	2M	LLA B COMUN	1	1		
201		VMJ	20104516	F	12	LLA B COMUN				
202		PGM	20104432	F	52	LMA M4	1			1
203		BHJ	20104545	M	16	LLA B COMUN				
204	07/10/2010	MZR	20104608	M	12	LLA B COMUN	1	1		
205	12/10/2010	RCS	20104679	M	6	LLA B COMUN				
206	14/10/2010	LZK	HOSP. R. GILBERT	F	16	LLA B COMUN	1	1		
207		CHEG	20104836	M	15	LLA PRE B				
208	25/10/2010	MMSH	20104871	F	2	LLA PRE B	1	1		
209		MZJ	20104902	M	8	LLA T				
210	28/10/2010	CCR	20104949	M	8	LLA PRE B	1	1		
211		DMA	SOLCA PORTO-VIEJO	F	3	LLA B COMUN				
212		CML	SOLCA PORTO-VIEJO	F	4	LLA B COMUN	1	1		
213	17/11/2010	SML	20105191	F	3	LLA B COMUN				
214	06/12/2010	MCJ	20082766	F	9	LLA B		1		
215	26/11/2010	GMS	20105313	F	5	LLA PRE B				
216	01/12/2010	NW	20100658	M	31	LMA	1			1

Continuación....

ORDEN	FECHA	NOMBRE	HC	SEXO	EDAD	DIAGNOSTICO INMUNOFENOTIPICO	Marcadores de Inmadurez	Marcadores linfoides B	Marcadores linfoides T	Marcadores Mieloides
217		DMJ	20105421	M	13	LLA B				
218	03/12/2010	GPC	20105451	M	19	LLA B COMUN	1	1		
219	07/12/2010	BMA	SOLCA PORTO-VIEJO	M	3	LLA B COMUN				
220	15/12/2010	CHRK	20105539	M	5	LLA PRE B	1	1		
221	20/12/2010	AFE	20085353	M	19	LLA B COMUN				
222	22/12/2010	SER	20105654	M	5	LLA B COMUN	1	1		
223	23/12/2010	HBM	SHC	F	61	LMA M1				
224		MFJ	20105682	M	3	LLA PRE B	1	1		
225		YMS	20105651	M	3	LLA PRE B				
226	24/12/2010	SCHV	20105693	M	2	LLA B COMUN	1	1		
227	28/12/2010	TVA	20102359	M	11	LLA T				
228	29/12/2010	RVJ	SOLCA PORTO-VIEJO	M	4	LLA B COMUN	1	1		
229		CSE	20105739	M	8	LLA B COMUN				
230	30/12/2010	EMA	20105719	F	50	LLA B COMUN	1	1		