

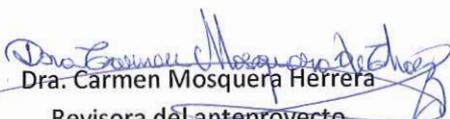
VTO Bno  
Mreale

Guayaquil, 7 de Septiembre 2017

Sr.  
Dr. Guillermo Campuzano Castro Msc  
Director de Escuela de Graduados  
Facultad de Ciencias Médicas  
Universidad de Guayaquil  
Ciudad.

De mis consideraciones:

Por medio de la presente certifico haber analizado el Proyecto final de Investigación del Md. Víctor Roberto Villarroel Laínez como requisito previo del Título de Especialista de Anatomía Patológica con el tema: "LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B, CORRELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL Y RECAÍDA MEDULAR EN PACIENTES PEDIÁTRICOS", se han realizado las correcciones pertinentes y puedo dar fe que cumple con los lineamientos metodológicos y de estilos requeridos.

  
Dra. Carmen Mosquera Herrera  
Revisora del anteproyecto  
Universidad de Guayaquil

ESCUELA DE GRADUADOS  
FECHA: \_\_\_\_\_  
HORA: 11:46  
RECIBIDO POR: radia

## Urkund Analysis Result

Analysed Document: borrador de tesis DEFINITIVO 5.docx (D34426358)  
Submitted: 1/8/2018 1:29:00 AM  
Submitted By: fuadhuamangaraicoa@gmail.com  
Significance: 0 %

Sources included in the report:

Instances where selected sources appear:

0



Dra. Aurora Romero C.  
ANATOMO PATOLOGO

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS ESCUELA DE GRADUADOS  
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO PREVIO PARA LA OBTENCIÓN  
DEL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA TEMA

TÍTULO: "LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B, CORRELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD MINIMA  
RESIDUAL Y RECAIDA MEDULAR EN PACIENTES PEDIÁTRICOS"

INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL SOLCA 2015-2017.

AUTOR: MD. VICTOR ROBERTO VILLARROEL LAINEZ

TUTOR: DRA AURORA ROMERO CORONEL

AÑO: 2017 GUAYAQUIL-ECUADOR

#### DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a los niños del Hospital de SOLCA, quienes a pesar que les toca luchar cada día contra la terrible Leucemia, mantienen esa fortaleza inigualable y esas ganas de vivir que conmueve

A mi querida e inolvidable abuelita Teresita, siempre con una palabra de aliento y cariño fue un pilar importante en mi formación y además me demostró con ternura y valor como se lucha contra el cáncer hasta las últimas consecuencias, sé que desde el cielo nos cuidas

A mi admirada tutora, no solo por lo aprendido, sino por ser el mejor ejemplo de que a pesar de cualquier diagnóstico y las adversidades siempre se debe seguir adelante.

#### AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la oportunidad de cumplir mis sueños y que por el poder de su gracia siga sirviendo como herramienta para ayudar a los enfermos con humildad, conocimiento y responsabilidad

A mis padres Víctor y Cecilia, a mi hermano Gabriel, quienes siempre creyeron en mí y a pesar de cualquier dificultad su invaluable ayuda jamás dejo de llegar, infinitas gracias.

A mis maestros y tutores tanto del ION-SOLCA como del Hospital Teodoro Maldonado Carbo, por la paciencia y dedicación en mi formación, y a todo el personal del Departamento de Anatomía Patológica de ambas instituciones les agradezco más por brindarme su amistad y un lugar al que puedo llamar hogar

A mis compañeros de residencia con los que se formó una fuerte amistad, muchas gracias, de cada uno me llevo los mejores recuerdos y enseñanzas

A Amada y Roberto mi fuerza e inspiración, son el motor que impulsa mi vida y mi soporte para toda adversidad, los amo con todo mi ser

**DEPARTAMENTO DE DOCENCIA E INVESTIGACION  
INSTITUTO ONCOLOGICO NACIONAL**

**“Dr. Juan Tanca Marengo”**

**de la Sociedad de Lucha Contra EL Cáncer del Ecuador, SOLCA  
Sede Nacional Guayaquil**

*Dr. Juan Tanca Campozaño  
Presidente, Consejo Directivo Nacional  
Presidente, Consejo Hospitalario  
ION-SOLCA, Sede Nacional  
(593-4) 2-281-744*

*Dr. Ramón Villacreses  
Presidente, Consejo Hospitalario  
ION-SOLCA, Sede Nacional  
(593-4) 2-281-744*

*Dr. Carlos Marengo Baquerizo  
Director Médico ION-SOLCA  
(593-4) 2-288-088 Ext. 123 - 124*

*Dr. Gonzalo Puga Peña  
Gerente del Instituto ION-SOLCA  
(593-4) 2-288-088 Ext. 137 - 138*

*Dr. Guido Panchana Egúez  
Jefe Dpto. Docencia e Investigación  
ION-SOLCA Sede Nacional  
(593-4) 2-288-088 Ext. 281*



**CERTIFICADO**

*El suscrito Dr. Guido Panchana Eguez, Jefe del departamento de Docencia e Investigación, del Instituto Nacional “Dr. Juan Tanca Marengo”, S.O.L.C.A., certifica:*

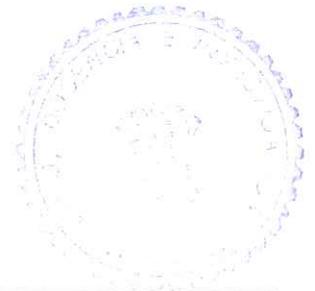
*Aprobar el Proyecto final de Titulación: “Leucemia Linfoblástica Aguda B, Correlación entre Enfermedad Mínima Residual y Recaída Medular en Pacientes Pediátricos”; cuyo autor es el Md. Víctor Villarroel Lainez; previa la obtención de su título como especialista en Anatomía Patológica.*

*Atentamente*

*Dr. Guido Panchana Eguez  
Jefe Dpto. Docencia e Investigación*

*Guayaquil, 13 de septiembre del 2017*

*c.c.: Archivo*



---

Dirección Ofic:  
Av. Pedro Menéndez Gilberth, Cdla. Atarazana  
Casilla Postal # 3623  
Guayaquil – Ecuador  
FAX: (593-4) 287-151



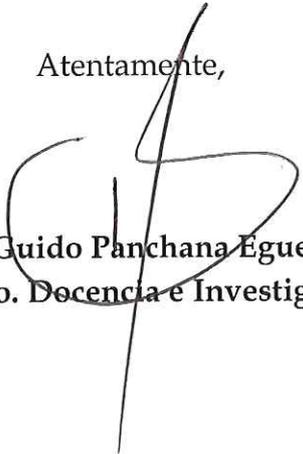
**SOCIEDAD DE LUCHA CONTRA EL CÁNCER DEL ECUADOR  
MATRIZ GUAYAQUIL**

## **CERTIFICADO**

El suscrito Dr. Guido Panchana Eguez, Jefe del Departamento de Docencia e Investigación de SOLCA, certifica que:

Se ha revisado la base de datos de las historias clínicas para la realización del proyecto de Tesis: "LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA B, CORRELACION ENTRE ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL Y RECAIDA MEDULAR EN PACIENTES PEDIATRICOS"; cuyo autor es la Dr. Víctor Villarroel Láinez, previa la obtención del Título de especialista en Anatomía Patológica; son del Sistema Médico Informático de SOLCA Guayaquil.

Atentamente,

  
**Dr. Guido Panchana Eguez**  
**Jefe Dpto. Docencia e Investigación**

Guayaquil, 19 de octubre del 2017

c.c.: Archivo



Guayaquil, 12 de septiembre del 2017

## CERTIFICADO

El suscrito, Dr. Fernando Camacho Álvarez, Coordinador del Postgrado de Anatomía Patológica, certifica:

Aprobar el proyecto final de titulación: "LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B, CORRELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL Y RECAIDA MEDULAR EN PACIENTES PEDIÁTRICOS" presentado por la médico residente, Víctor Roberto Villarroel Laínez, como requisito para la obtención del título de especialista en Anatomía Patológica.

Agradeciendo por la atención prestada.

Atentamente.

*Dr. Jorge Fernando Camacho Álvarez*  
JEFE DE ANATOMIA PATOLOGICA SOLCA  
ESPECIALISTA EN PATOLOGIA  
Registro de especialistas del W.S.P.  
Libro IV Folio 1198 No. 3666

Dr. Fernando Camacho Álvarez

COORDINADOR DEL POSGRADO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA

ION SOLCA

Guayaquil, 12 de septiembre del 2017

## CERTIFICADO

El suscrito, Dra. Aurora Romero Coronel, Tutor de tesis, certifica:

Aprobar el proyecto final de titulación: "LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B, CORRELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL Y RECAIDA MEDULAR EN PACIENTES PEDIATRICOS" presentado por la médico residente, Víctor Roberto Villarroel Laínez, como requisito para la obtención del título de especialista en Anatomía Patológica.

Agradeciendo por la atención prestada.

Atentamente.

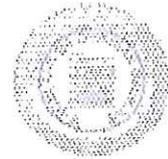
*Dra. Aurora Romero Coronel*  
ANATOMO PATOLOGO  
COLCA



Dra. Aurora Romero Coronel

Médico Especialista en Anatomía Patológica

TUTOR DE TESIS



OÍ. CPFCMUG-110-ANTEP

Septiembre 1 de 2017

*Médico*

*Victor Roberto Villarroel Lainez*

*RESIDENTE ESPECIALIDAD ANATOMIA PATOLÓGICA*

*MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA*

*Ciudad*

Por medio del presente oficio comunico a usted, que aplicando lo que consta en la Unidad Curricular de Titulación vigente en esta Escuela su Anfeproyecto de Investigación con el tema:

"CORRELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL Y EL RIESGO DE RECAIDAS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B. ION SOLCA 2015-2017".

Ha sido modificado de la siguiente manera:

"LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B, CORRELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL Y RECAIDA MEDULAR EN PACIENTES PEDIÁTRICOS".

Tutor: Dra. Aurora Romero Coronel

Ha sido revisado y aprobado por la Subdirección de Escuela de Graduados el día 16 de agosto del 2017, por lo tanto, puede continuar con la ejecución del Proyecto final de titulación.

Revisor asignado: Dra. Carmen Mosquera Herrera

Atentamente,

*Clara Jaime Game*  
Dra. Clara Jaime Game MSc.  
COORDINADORA (E)

C. archivo

Elaborado/Aprobado	On Control/Reserva
Elaborado	Reservado



UNIDAD CURRICULAR DE TITULACIÓN  
FORMULARIO DE REGISTRO DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

FECHA: Día:  Mes:  Año:

PROGRAMA DE ESPECIALIZACIÓN  
ANATOMÍA PATOLÓGICA

UNIDAD ASISTENCIAL DOCENTE (UAD)  
MSP

Fecha Inicio Programa:  
Día: 01 Mes: 07 Año: 2014

Fecha Culminación Programa:  
Día: 30 Mes: 06 Año: 2017

DATOS DEL POSGRADISTA			
NOMBRES:	VICTOR ROBERTO	APELLIDOS:	VILLARROEL LAINEZ
Cédula No:	0919839381	Dirección:	LA JOYA ETAPA AMBAR MZ4 V12
E-mail Institucional:	victor.villarroel@ug.edu.ec	E-mail personal:	vvillarroel17@gmail.com
Teléfono convencional:	046024854	Teléfono móvil:	0939691254

TRABAJO DE TITULACIÓN  
TÍTULO: "LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA B, CORRELACION ENTRE ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL Y RECAIDA MEDULAR EN PACIENTES PEDIATRICOS"

MODALIDAD/OPCIÓN DE TITULACIÓN:  
1. TRABAJO DE INVESTIGACION ( x )    2. EXAMEN COMPLEXIVO ( )    3. ARTICULO CIENTIFICO ( )

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.	
UNIDAD DE POSGRADO, INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO – UG.	
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:	4. SALUD HUMANA
SUBLÍNEA:	4. METODOLOGIAS DIAGNOSTICAS Y TERAPEUTICAS, BIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS Y MOLECULARES
MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA.	
ÁREA/LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:	4. NEOPLASIA, 9. HEMATOLÓGICO, 4. NUEVAS TECNOLOGÍAS
LÍNEA DE INVESTIGACIÓN INSTITUCIONAL	EPIDEMIOLOGIA
SUBLÍNEA	INVESTIGACION CLINICA

PALABRAS CLAVE: Enfermedad Mínima Residual, Citometría de flujo, Leucemia Linfoblástica Aguda B

TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN:  
Descriptivo, Correlacional, De corte transversal, No Experimental.

TUTOR:	DRA. AURORA ROMERO CORONEL
REVISOR METODOLÓGICO:	DRA CARMEN MOSQUERA
COORDINADOR DEL PROGRAMA:	DR. FERNANDO CAMACHO ALVAREZ

No. DE REGISTRO:  No. CLASIFICACIÓN:

VALIDACIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN. DIRECTOR / COMISIÓN DE INVESTIGACIÓN.		
F)	F)	F)



**REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGIA**

**FICHA DE REGISTRO DE TESIS**

**TÍTULO Y SUBTÍTULO:** "Leucemia Linfoblástica aguda B, correlación entre Enfermedad Mínima Residual y recaída medular en pacientes pediátricos".

**AUTOR/ ES:**

Villarroel Láinez Victor Roberto

**REVISORES:**

Dra Aurora Romero Coronel

**INSTITUCIÓN:** Universidad de Guayaquil

**FACULTAD:** Ciencias Médicas

**CARRERA:** Posgrado en Anatomía Patológica

**FECHA DE PUBLICACION:** Enero

**Nº DE PÁGS:** 47

**ÁREAS TEMÁTICAS:** Cuarta línea de Salud Humana; Sublínea: número cuatro metodologías diagnósticas y terapéuticas. Línea o área del Ministerio de Salud Pública: área 9: Hematológico; sublínea: Nuevas tecnologías.

**PALABRAS CLAVE:** Enfermedad Mínima Residual, Citometría de Flujo, Leucemia Linfoblástica aguda B.

**RESUMEN:**

La Enfermedad Mínima Residual permite la detección temprana de mínimas cantidades de blastos en muestras de médula ósea de pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda B, lo cual sería imposible diagnosticarlo por métodos histopatológicos, por lo que es fundamental para la conformación de los grupos de riesgo y respuesta al tratamiento. El objetivo de este trabajo de investigación es determinar la correlación entre la Enfermedad Mínima Residual y recaída medular en pacientes pediátricos. El trabajo que se plantea es de carácter descriptivo, correlacional, de corte transversal, no experimental, a través de la recolección de datos de las historias clínicas de los pacientes de SOLCA-Guayaquil, de Mayo del 2015 a Mayo del 2017. Los resultados concluyeron que 203 pacientes fueron diagnosticados con Leucemia Linfoblástica Aguda de los cuales 140 eran de estirpe B entre 1 y 14 años (68.9%), la incidencia fue del 2.02% en el 2016, de los 107 pacientes escogidos para el estudio 81 presentaron Enfermedad Mínima Residual post-consolidación positiva (75,7%) de ellos 31 presentaron recaída medular (38,2%); mientras que 26 pacientes fueron negativos (24,3%) y de estos 6 presentaron recaída medular (23.1%), por lo que se concluye que el estudio de Enfermedad Mínima Residual post-consolidación es un importante factor predictivo para la aparición de recaída medular en los pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B.

**Nº DE REGISTRO (en base de datos):**

**Nº DE CLASIFICACIÓN:**

**DIRECCIÓN URL (tesis en la web):**

**ADJUNTO PDF:**

SI

NO

**CONTACTO CON AUTOR/ES:**

Teléfono 0939691254

E-mail: vvillarroel17@gmail.com

**CONTACTO EN LA INSTITUCIÓN:**

Nombre: Coordinación de Posgrado

Teléfono: 2288086

E-mail: egraduadosug@hotmail.com

## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Victor Roberto Villarroel Laínez, CI0919839381 autor/a del trabajo de graduación: **"LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B, CORRELACIÓN ENTRE ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL Y RECAIDA MEDULAR EN PACIENTES PEDIATRICOS"** previo a la obtención del título de Especialista en Anatomía Patológica en la Universidad de Guayaquil.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de educación superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión publica respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de graduación, con el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, 10 de Enero del 2018.

f.   
\_\_\_\_\_

Nombre: Victor Roberto Villarroel Laínez

CI: 0919839381



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
COORDINACIÓN DE POSGRADO**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PRESENTADO COMO  
REQUISITO PREVIO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**TEMA**

**“LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B, CORRELACIÓN ENTRE  
ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL Y RECAIDA MEDULAR EN  
PACIENTES PEDIÁTRICOS”**

**INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL SOLCA 2015-2017.**

**AUTOR**

**MD. VICTOR ROBERTO VILLARROEL LAINEZ**

**TUTOR**

**DRA AURORA ROMERO CORONEL**

**AÑO**

**2017**

**GUAYAQUIL-ECUADOR**

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo de investigación a los niños del Hospital de SOLCA, quienes a pesar que les toca luchar cada día contra la terrible Leucemia, mantienen esa fortaleza inigualable y esas ganas de vivir que conmueve

A mi querida e inolvidable abuelita Teresita, siempre con una palabra de aliento y cariño fue un pilar importante en mi formación y además me demostró con ternura y valor como se lucha contra el cáncer hasta las últimas consecuencias, sé que desde el cielo nos cuidas

A mi admirada tutora, no solo por lo aprendido, sino por ser el mejor ejemplo de que a pesar de cualquier diagnóstico y las adversidades siempre se debe seguir adelante.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por darme la oportunidad de cumplir mis sueños y que por el poder de su gracia siga sirviendo como herramienta para ayudar a los enfermos con humildad, conocimiento y responsabilidad

A mis padres Víctor y Cecilia, a mi hermano Gabriel, quienes siempre creyeron en mí y a pesar de cualquier dificultad su invaluable ayuda jamás dejo de llegar, infinitas gracias.

A mis maestros y tutores tanto del ION-SOLCA como del Hospital Teodoro Maldonado Carbo, por la paciencia y dedicación en mi formación, y a todo el personal del Departamento de Anatomía Patológica de ambas instituciones les agradezco más por brindarme su amistad y un lugar al que puedo llamar hogar

A mis compañeros de residencia con los que se formó una fuerte amistad, muchas gracias, de cada uno me llevo los mejores recuerdos y enseñanzas

A Amada y Roberto mi fuerza e inspiración, son el motor que impulsa mi vida y mi soporte para toda adversidad, los amo con todo mi ser

## **RESUMEN**

La Enfermedad Mínima Residual permite la detección temprana de mínimas cantidades de blastos en muestras de médula ósea de pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda B, lo cual sería imposible diagnosticarlo por métodos histopatológicos, por lo que es fundamental para la conformación de los grupos de riesgo y respuesta al tratamiento. El objetivo de este trabajo de investigación es determinar la correlación entre la Enfermedad Mínima Residual y recaída medular en pacientes pediátricos. El trabajo que se plantea es de carácter descriptivo, correlacional, de corte transversal, no experimental, a través de la recolección de datos de las historias clínicas de los pacientes de SOLCA-Guayaquil, de Mayo del 2015 a Mayo del 2017. Los resultados concluyeron que 203 pacientes fueron diagnosticados con Leucemia Linfoblástica Aguda de los cuales 140 eran de estirpe B entre 1 y 14 años (68.9%), la incidencia fue del 2.02% en el 2016, de los 107 pacientes escogidos para el estudio 81 presentaron Enfermedad Mínima Residual post-consolidación positiva (75,7%) de ellos 31 presentaron recaída medular (38,2%); mientras que 26 pacientes fueron negativos (24,3%) y de estos 6 presentaron recaída medular (23.1%), por lo que se concluye que el estudio de Enfermedad Mínima Residual post-consolidación es un importante factor predictivo para la aparición de recaída medular en los pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B.

Palabras clave: Enfermedad Mínima Residual, Citometría de Flujo, Leucemia Linfoblástica Aguda B.

## **ABSTRACT**

The Minimal Residual Disease allows the early detection of minimal amounts of blasts in bone marrow samples from patients with Acute B Lymphoblastic Leukemia, which would be impossible to diagnose by histopathological methods, so it is essential for the conformation of risk groups and response to the treatment. The objective of this research is to determine the correlation between Minimum Residual Disease and bone marrow relapse in pediatric patients. The work proposed is descriptive, correlational, non-experimental, through the collection of data from the clinical records of SOLCA-Guayaquil patients, from May 2015 to May 2017. The results concluded that 203 patients were diagnosed with Acute Lymphoblastic Leukemia of which 140 were of line B between 1 and 14 years (68.9%), the incidence was 2.02% in 2016, of the 107 patients chosen for the study, 81 patients had post-consolidation Minimal Residual Disease positive (75.7%) of them 31 presentation bone marrow relapse (38.2%); while 26 patients were negative (24.3%) and of these 6 were bone marrow relapse (23.1%), so it is concluded that the study of post-consolidation Minimum Residual Disease is an important predictive factor for the appearance of bone marrow relapse in pediatric patients with Acute B Lymphoblastic Leukemia.

Key words: Minimal Residual Disease, Flow Cytometry, Acute B Lymphoblastic Leukemia.

# INDICE

## CARATULA

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTO.....	II
RESUMEN.....	III
ABSTRACT.....	IV
INDICE.....	V
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	VIII
LISTA DE TABLAS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
CAPITULO 1.....	1
INTRODUCCION.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.2.1. DETERMINACIÓN DEL PROBLEMA.....	3
1.2.2. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	3
1.2.3. JUSTIFICACIÓN.....	4
1.2.4. VIABILIDAD.....	4
1.3. FORMULACIÓN DE OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS.....	5
1.3.1. OBJETIVO GENERAL:.....	5
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	5
1.3.3. HIPÓTESIS.....	5
1.3.4. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES.....	5
CAPITULO 2.....	8
MARCO TEORICO.....	8
2. 1. TEORIAS GENERALES.....	8
2.1.1. ONTOGENIA LINFOIDE B.....	8
2.1.2. LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.....	9
2.1.2.1. EPIDEMIOLOGIA.....	9
2.1.2.2. ETIOLOGIA.....	9
2.1.2.3. MANIFESTACIONES CLINICAS.....	9
2.1.2.4. DIAGNÓSTICO.....	10
2.1.3. CITOMETRÍA DE FLUJO.....	11

2.1.4. CLASIFICACION .....	12
2.1.5. DETERMINACIÓN DEL INMUNOFENOTIPO.....	14
2.2. TEORIAS SUSTANTIVAS .....	18
2.2.1. ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL.....	18
2.2.2. TRATAMIENTO.....	20
2.3. REFERENTES EMPÍRICOS .....	22
CAPITULO 3 .....	25
3. MARCO METODOLÓGICO .....	25
3.1. METODOS .....	25
3.1.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	25
3.1.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN .....	25
3.2. MATERIALES .....	25
3.2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN .....	25
3.2.2. PERIODO DE LA INVESTIGACIÓN.....	25
3.2.3. RECURSOS UTILIZADOS .....	25
3.2.4. UNIVERSO Y MUESTRA.....	26
3.2.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN .....	26
3.2.6. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN .....	26
CAPITULO 4 .....	27
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	27
4.1. RESULTADOS .....	27
4.1.1. Incidencia de la Leucemia Linfoblástica Aguda B en pacientes pediátricos	27
4.1.2. Correlación entre la presencia de Enfermedad Mínima Residual positiva post-consolidación y la presencia de recaída medular .....	28
4.2. DISCUSIÓN .....	30
CAPITULO 5 .....	32
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	32
5.1. CONCLUSIONES .....	32
5.2. RECOMENDACIONES.....	32
CAPITULO 6 .....	33
6. BIBLIOGRAFIA .....	33
ANEXO 1 .....	37
ANEXO 2 .....	38
SOCIEDAD DE LUCHA CONTRA EL CÁNCER DEL ECUADOR .....	38

INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL.....	38
DR. JUAN TANCA MARENGO .....	38
MISIÓN .....	38
VISIÓN.....	38
DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLÓGICA.....	38
SERVICIO DE CITOMETRÍA DE FLUJO .....	38
PROTOCOLO ESTANDARIZADO PARA EL USO DEL ESTUDIO DE CITOMETRIA DE FLUJO DE PACIENTES PEDIATRICOS CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA B.....	38
INTRODUCCIÓN .....	38
OBJETIVO GENERAL.....	39
OBJETIVO ESPECÍFICO .....	39
FASES DEL PROCESO:.....	39
FASE PRE-ANALÍTICA .....	39
FASE ANALÍTICA .....	40
TUBO ALOT .....	40
TUBO LLA – B .....	40
Resultados del Análisis del inmunofenotipo .....	41
TUBO LLA – B EMR .....	41
PROTOCOLO DE PROCESOS PARA EL ESTUDIO POR CITOMETRIA DE FLUJO EN PACIENTES PEDIATRICOS CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA B.....	42
ANEXO 3 .....	43
ANEXO 4 .....	45
TOTAL DE CASOS EN RELACIÓN AL SEXO Y GRUPOS DE EDAD.....	45
ANEXO 5 .....	46
TOTAL DE CASOS EN RELACIÓN A LOS GRUPOS DE RIESGO.....	46
ANEXO 6 .....	47
TOTAL DE CASOS DE RECAÍDA MEDULAR EN RELACIÓN A LAS TRANSLOCACIONES ENCONTRADAS POR BIOLOGÍA MOLECULAR EN LOS PACIENTES PEDIÁTRICOS CON DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B .....	47

## LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

### LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación FAB (Moreno, y otros, 2016)(Orfao, Inmunofenotipo en Leucemias Agudas, 2002) .....	12
Tabla 2 CLASIFICACIÓN DE LAS LLA- B POR EL INMUNOFENOTIPO .....	13
Tabla 3 Tubo de protocolo EuroFlow para inmunofenotipo de LLA-B (Cytognos) (Córdoba, 2016) (Recalde, 2016) .....	14
Tabla 4 : tubo de protocolo EuroFlow para Enfermedad Mínima Residual de LL-B (Cytognos) (Córdoba, 2016) (Recalde, 2016) .....	19
Tabla 5 : Grupos de Riesgo según protocolo SOLCA 2012 (ION-SOLCA, 2016) .....	20
Tabla 6 FASE PRE-ANALÍTICA (Córdoba, 2016) .....	39
Tabla 7 FASE ANALÍTICA (Córdoba, 2016) .....	40
Tabla 8 Tubo ALOT (Córdoba, 2016) (Cytognos) (Recalde, 2016) .....	40
Tabla 9 Tubo LLA-B (Cytognos) (Córdoba, 2016) (Recalde, 2016) .....	40
Tabla 10 Resultado del análisis del inmunofenotipo (Moreno, y otros, 2016) (Orfao, Inmunofenotipo en Leucemias Agudas, 2002) .....	41
Tabla 11 Tubo LLA-B EMR (Cytognos) (Córdoba, 2016) (Recalde, 2016) .....	41
Tabla 12 Tabla de datos con las frecuencias observadas (fo) entre las dos variables: Enfermedad Mínima Residual post-consolidación y la presencia de recaída medular ..	43
Tabla 13 Tabla de datos con las frecuencias esperadas (fe) entre las dos variables: Enfermedad Mínima Residual post-consolidación y la presencia de recaída medular ..	43
Tabla 14 : $\chi^2$ (chi cuadrado) .....	44
Tabla 15 TOTAL DE CASOS EN RELACIÓN AL SEXO Y GRUPOS DE EDAD ..	45
Tabla 16 TOTAL DE CASOS EN RELACIÓN A LOS GRUPOS DE RIESGO .....	46
Tabla 17 TOTAL DE CASOS DE RECAÍDA MEDULAR EN RELACIÓN A LAS TRANSLOCACIONES ENCONTRADAS POR BIOLOGÍA MOLECULAR EN LOS PACIENTES PEDIÁTRICOS CON DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B .....	47

## LISTA DE FIGURAS

figura 1 Maduración linfocito B en médula ósea, sangre periférica y tejidos linfoides secundarios (Perez-Andres, Paiva, Nieto, Caraux, & Schmitz, (2010)).....	8
figura 2 Linfoblastos: se observa su relación alta núcleo-citoplasma y la distribución de la cromatina (Mihova D., 2013) .....	10
figura 3 : Esquema del principio de la Citometría de Flujo las células pasan en flujo laminar a través del laser (Universidad Autónoma de Madrid, 2015).....	11
figura 4 Parámetros que detecta la Citometría de Flujo (Barrera Ramirez, y otros, 2004) .....	12
figura 5 : LLA – Pro B (Córdova, 2016) .....	15
figura 6 : LLA – B común (Córdova, 2016).....	16
figura 7 LLA –Pre B (Córdova, 2016) .....	17
figura 8 Incidencia de Leucemia Linfoblástica Aguda B en pacientes pediátricos 2016 .....	27
figura 9 : EMR VS RECAIDA MEDULAR .....	28
figura 10 chi cuadrado .....	29
figura 11 CASOS EN RELACIÓN AL SEXO Y GRUPOS DE EDAD .....	45
figura 12 CASOS EN RELACIÓN A LOS GRUPOS DE RIESGO .....	46
figura 13 CASOS DE RECAÍDA MEDULAR EN RELACIÓN A LAS TRANSLOCACIONES.....	47

# CAPITULO 1

## INTRODUCCION

La Leucemia es una enfermedad neoplásica que se produce por un trastorno genético que ocasiona la transformación maligna de una determinada célula hematopoyética linfoide o mieloide dando origen a una proliferación monoclonal de la misma y constituyen las neoplasias malignas de mayor frecuencia en la infancia. (Berhman, Kliegman, & Jenson, 2006) (Aixalá, Basack, Chiappe, & Deana, 2012) (Kumar, Abbas, & Fausto, 2010)

Según la estirpe celular afectada la Leucemia será mieloide o linfoide, esta última a su vez se divide en B o T, y de acuerdo a su evolución en aguda o crónica

Para el 2017 la Sociedad Americana Contra el Cáncer calculó que en los Estados Unidos (incluyendo tanto adultos como niños) aproximadamente habrá 5,970 nuevos casos de Leucemia Linfoide Aguda (3,350 hombres y 2,620 mujeres) diagnosticados y aproximadamente 1,440 personas (800 hombres y 640 mujeres) morirán por su causa. (Sociedad Americana contra el Cancer, 2017)

Según datos de la página del Registro de Tumores de SOLCA la Leucemia Linfoide en Guayaquil en el año 2010 tuvo una incidencia de 2,7% en hombres y 3,8% en mujeres. (Solca, 2017)

La Leucemia Linfoide o Linfoblástica Aguda B (LLA-B) representa el 85% de las leucemias y se da principalmente en niños, en los cuales la proliferación monoclonal de células inmaduras (linfoblastos) en médula ósea(> 20%) produce un desplazamiento de los elementos medulares normales lo que ocasiona citopenias (anemia, neutropenia, trombocitopenia) con los consiguientes síntomas de palidez, fatiga, presencia de hematomas, epistaxis y fiebre además de dolor óseo y articular. (Berhman, Kliegman, & Jenson, 2006) (Kumar, Abbas, & Fausto, 2010) (Rubin & Strayer, 2012)

La Enfermedad Mínima Residual, es la presencia de células patológicas posterior a un tratamiento quimioterapéutico, que no pueden ser detectadas por el estudio histopatológico, constituye un factor para la clasificación de los grupos de riesgo, permite la detección temprana de recaídas en etapas previas a la aparición de los síntomas y de esta manera contribuye en la toma de decisiones clínicas dirigidas a la remisión completa de la enfermedad. (Aixalá, Basack, Chiappe, & Deana, 2012) (Sajaroff, Rubio, Medina, & Sanz, 2012) (Schrappe, Stanulla, & Harrison, 2010)

El estudio de la Enfermedad Mínima Residual del día 15, post-inducción y al terminar la consolidación permiten definir la adecuada respuesta al tratamiento con un rápido descenso de blastos y la remisión de la enfermedad, considerándose a estos tres estudios

como predictivos de recaídas, luego se la realiza durante el mantenimiento y al terminar el tratamiento como estudios de control. (Aixalá, Basack, Chiappe, & Deana, 2012) (Sajaroff, Rubio, Medina, & Sanz, 2012) (Schrappe, Stanulla, & Harrison, 2010)

La recaída medular es la presencia de células patológicas (linfoblastos) en valores superiores al 5% después de una remisión completa durante o después del tratamiento (Leach & Drummond, 2015)

El propósito de este trabajo de investigación es la correlación de los datos obtenidos en los estudios de Enfermedad Mínima Residual que se realizan al terminar la fase de consolidación del tratamiento con el número de pacientes en los que se produjo recaída medular y de esta manera sea utilizado como un factor predictivo de recaídas

Por tanto se propone el diseño de un protocolo estandarizado del servicio de Citometría de Flujo para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B el cual colaborará como una herramienta importante para el Departamento de Pediatría con el fin de obtener una mayor cantidad de pacientes en remisión de la enfermedad

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Según datos de la Organización Mundial de la Salud, el cáncer es una de las principales causas de morbi- mortalidad a nivel mundial. En el 2012 se registraron cerca de 14 millones de nuevos casos, siendo la segunda causa de muerte en el mundo; en el 2015, ocasionó 8,8 millones de defunciones que aproximadamente una de cada seis se debe a esta enfermedad (OMS, 2017)

Se estima que el número de nuevos casos de Leucemia en el 2017 será de 13,7 por cada 100.000 hombres y mujeres por año que corresponde al 3,7% de nuevos casos de cáncer y el número de muertes será de 6,8 por cada 100.000 hombres y mujeres por año que corresponde al 4,1% de todas las causas de muertes al año en los Estados Unidos (NIH, 2017)

Según datos de la página del Registro de Tumores de SOLCA la Leucemia Linfocítica en Guayaquil en el año 2010 tuvo una incidencia de 2,7% en hombres y 3,8% en mujeres, siendo la causa más importante de cáncer en la infancia (40%). (Solca, 2017).

La Leucemia Linfoblástica Aguda está incluida dentro del Programa de Enfermedades Catastróficas del Estado Ecuatoriano, amparados por la Constitución en el capítulo tercero artículo 35 el cual indica que recibirán atención prioritaria y especializada en los ámbitos público y privado, así como también se incluye en los objetivos del Plan Nacional del Buen Vivir, asegurando la prestación universal y gratuita de los servicios de atención integral de salud (M.S.P, 2013).

### **1.2.1. DETERMINACIÓN DEL PROBLEMA**

El problema planteado es la deficiencia por parte del Departamento de Pediatría al no utilizar el estudio de Enfermedad Mínima Residual que se realiza al terminar la fase de consolidación del tratamiento como factor predictivo de recaída medular dentro del protocolo de manejo de los pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B en el ION-SOLCA Guayaquil.

Las causas de este problema provienen de: la falta de un criterio unificado para solicitar el examen de Enfermedad Mínima Residual post-consolidación, la falta de información del paciente, el costo del estudio, el abandono de los controles, provocando así un tratamiento inadecuado, la detección tardía de recaídas, la aparición de complicaciones e incluso el aumento de la mortalidad

### **1.2.2. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es la incidencia de la Leucemia Linfoblástica Aguda en pacientes pediátricos?

¿Cuál es la relación entre la presencia de Enfermedad Mínima Residual positiva post-consolidación y la presencia de recaída medular?

### **1.2.3. JUSTIFICACIÓN**

El problema al no utilizar el estudio de Enfermedad Mínima Residual post consolidación lleva a la pérdida de un importante factor predictivo de recaída medular, el cual ayudaría a tener una mayor cantidad de casos con remisión de la enfermedad.

El presente trabajo investigativo plantea que se establezca el estudio de Enfermedad Mínima Residual post consolidación como factor predictivo de recaída medular en el protocolo de manejo de los pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B en el ION-SOLCA Guayaquil.

Justificándose proponer el diseño de un protocolo estandarizado del servicio de Citometría de Flujo de diagnóstico y seguimiento de los pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B

Colaborar de esta manera con una herramienta de utilidad en la decisión terapéutica del médico oncólogo pediatra.

### **1.2.4. VIABILIDAD**

El proyecto de investigación se realiza en el Instituto Oncológico Nacional SOLCA Guayaquil, con el apoyo del Departamento de Docencia, Departamento de Investigación, Departamento de Estadística, Departamento de Anatomía Patológica, Departamento de Citometría de Flujo y Departamento de Pediatría.

El estudio es viable ya que resulta de interés para la institución y existen los permisos correspondientes para su investigación y realización. Se dispone acceso a las historias clínicas del sistema informático hospitalario, datos del departamento de estadística, e información referente a los informes de los estudios de Enfermedad Mínima Residual que se encuentran en el servicio de Citometría de Flujo, con el fin de seleccionar los pacientes que han sido diagnosticados con Leucemia Linfoblástica Aguda B.

Se cuenta con la colaboración del equipo del servicio de Citometría de Flujo constituido por: un Médico especialista en Anatomía Patológica, dos Biólogos, un Químico y una secretaria administrativa, así como también de los Médicos Tratantes del departamento de Anatomía Patológica y de Pediatría

### 1.3. FORMULACIÓN DE OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS

#### 1.3.1. OBJETIVO GENERAL:

Determinar la correlación entre la Enfermedad Mínima Residual y recaída medular en pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B.

#### 1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Establecer la incidencia de Leucemia Linfoblástica Aguda B en pacientes pediátricos.

Indicar cuál es la relación entre la presencia de Enfermedad Mínima Residual positiva post-consolidación y recaída medular

Diseñar un protocolo estandarizado del servicio de Citometría de Flujo para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B

#### 1.3.3. HIPÓTESIS

Existe una relación entre la detección de Enfermedad Mínima Residual post-consolidación y la presencia de recaída medular en los pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B

#### 1.3.4. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Variables	Definición	Dimensiones	Indicadores	Instrumento	Escala Valorativa
Leucemia Linfoblástica Aguda B	Enfermedad neoplásica en la cual un trastorno genético produce la transformación maligna de una célula hematopoyética linfoide dando origen a una proliferación monoclonal de la misma	Presencia de células neoplásicas en médula ósea en un porcentaje de infiltración $\geq 20\%$	Presencia de infiltración blástica  Ausencia de infiltración blástica	Microscopio óptico  Citometría de Flujo  Estudios de Biología Molecular	Escala de la FAB: L1,L2,L3  EGIL: Pre B, Pro B, B Común  Con traslocación  Sin traslocación

Enfermedad Mínima Residual post consolidación	Es la presencia de células patológicas posterior a la fase de consolidación de tratamiento, que no pueden ser detectadas por el estudio histopatológico	Presencia de células neoplásicas en médula ósea en un porcentaje de infiltración $\geq$ 0.01%	Presencia de infiltración blástica  Ausencia de infiltración blástica	Citometría de Flujo  PCR	Positivo  Negativo
Recaída Medular	Es la presencia de células patológicas (linfoblastos) en valores superiores al 5% después de una remisión completa durante o después del tratamiento	Presencia de células neoplásicas en médula ósea en un porcentaje de infiltración $\geq$ 5%	Presencia de infiltración blástica con o sin síntomas  Ausencia de infiltración blástica	Citometría de Flujo  PCR	Positivo  Negativo
Edad	Edad de los pacientes desde el momento del diagnóstico	Medida en años desde el momento del nacimiento hasta el momento del diagnóstico	Presencia o ausencia de la enfermedad	Datos de la historia clínica	Grupos de edades : 1-4 años 5-10 años 11-14 años
Sexo	Sexo de los pacientes con mayor frecuencia de presentación de la enfermedad	Masculino o femenino	Presencia o ausencia de la enfermedad	Datos de la historia clínica	Masculino o femenino

Inmunofenotipo	De acuerdo al estudio inicial de Citometría de Flujo esta los clasifica en Pro B, Pre B, B Común	Presencia o ausencia de respuesta a los anticuerpos marcados medidos por el citómetro	Presencia o ausencia de respuesta a los anticuerpos marcados usados por Citometría	Datos de la historia clínica y de Citometría de Flujo	Pre B Pro B B Común
Grupos de Riesgo	Los grupos de riesgo se los obtiene a partir de la suma de los parámetros clínicos, hematológicos, inmunofenotipoc itogenético, respuesta inicial al tratamiento y la evaluación de la Enfermedad Mínima Residual (EMR)	La medición de los criterios está establecido por protocolos internacionales Como el BFM-ALLIC Y en el ION-SOLCA el protocolo SOLCA 2012	Datos hematológicos, inmunofenotipo, citogenético, respuesta inicial al tratamiento y la evaluación de la Enfermedad Mínima Residual (EMR)	Datos de la historia clínica	Estándar Alto riesgo Muy alto riesgo

## CAPITULO 2

### MARCO TEORICO

#### 2. 1. TEORIAS GENERALES

##### 2.1.1. ONTOGENIA LINFOIDE B

Los linfocitos se originan en la médula ósea a partir de una célula madre hematopoyética que se diferencia hacia una unidad formadora de colonias de linfocitos T y B respectivamente (Carr & Rodak, 2010). Las células progenitoras de linfocitos B pasan por diversas etapas de diferenciación las cuales dependen del reordenamiento en los genes de la cadena pesada y ligera de inmunoglobulina. (Kumar, Abbas, & Fausto, 2010) (Barrena, 2011)

Una vez que se han reordenado los segmentos genéticos de ambas cadenas los linfocitos B inmaduros, que expresan inmunoglobulina de membrana (IgM), abandonan la médula y pasan al torrente sanguíneo en busca de los órganos linfoides secundarios de manera inicial los ganglios linfáticos, en base a esto se han identificado en la médula: precursores pro-B, pre-B-I, pre-B-II, linfocitos B inmaduros y células B naïve (vírgenes). (Barrena, 2011)

Las células pro-B expresan los típicos marcadores de las células precursoras CD34, CD38, Tdt y HLA-DR, además de expresión débil de CD22, PAX5, CD45 y ausencia de expresión de CD19. Las células pre B-I expresan: CD34, CD38, Tdt, CD19, CD79a citoplasmático. Las pre B- II expresan CD10, CD19, CD20, CD45 I $\mu$  citoplasmática (CyI $\mu$ ), y disminuye la expresión de CD34 y Tdt. (Barrena, 2011)

El linfocito B inmaduro expresa además de los mencionados en el estadio anterior, IgM en su superficie y por último la célula B madura expresa además IgD, CD19, CD20, CD22 citoplasmático, CD79b. (Barrena, 2011)

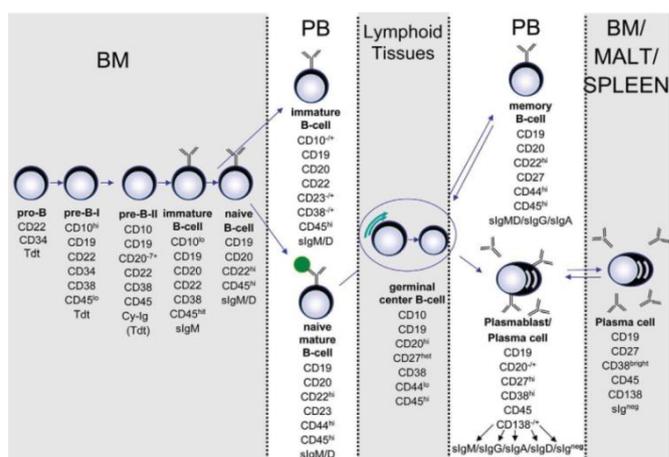


figura 1 Maduración linfocítica B en médula ósea, sangre periférica y tejidos linfoides secundarios (Perez-Andres, Paiva, Nieto, Caraux, & Schmitz, (2010))

## **2.1.2. LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA**

La Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) es una enfermedad neoplásica que se produce por un trastorno genético que deriva en la transformación maligna de una determinada célula hematopoyética linfoide dando origen a una proliferación monoclonal de la misma (Kumar, Abbas, & Fausto, 2010); (Berhman, Kliegman, & Jenson, 2006); (Aixalá, Basack, Chiappe, & Deana, 2012)

La Leucemia Linfoblástica Aguda tiene una distribución bimodal con un primer pico en pacientes menores de 20 años aproximadamente el 60% y un segundo pico después de los 45 años de edad con un 20%. (Aixalá, Basack, Chiappe, & Deana, 2012)

### **2.1.2.1. EPIDEMIOLOGIA**

La Sociedad Americana Contra el Cáncer calculó para el 2017 que en los Estados Unidos tanto en adultos y niños aproximadamente habrá 5,970 nuevos casos de Leucemia Linfoblástica Aguda (3,350 hombres y 2,620 mujeres) diagnosticados y aproximadamente 1,440 personas (800 hombres y 640 mujeres) morirán por su causa

El riesgo promedio de padecer Leucemia Linfoide Aguda durante la vida es de menos de 1 en 750 siendo mayor en hombres que en mujeres y más en personas de raza blanca que en afroamericanos. (Sociedad Americana contra el Cancer, 2017) y la incidencia a nivel mundial es de 1-4.75 por 100.000 personas por año, siendo la Leucemia Linfoblástica Aguda B la causa más frecuente de leucemia de la infancia y alrededor del 75% de los afectados son niños menores de 6 años (Borowitz & Chan, 2008); (Rubin & Strayer, 2012)

### **2.1.2.2. ETIOLOGIA**

La causa específica de la Leucemia Linfoblástica Aguda se desconoce, sin embargo numerosos factores se asocian a la aparición de la misma entre ellos tenemos: trastornos genéticos como Síndrome de Down, Ataxia-telangiectasia, Síndrome de Bloom, Fanconi, Klinefelter, Neurofibromatosis, Turner, Li Fraumeni, Hemoglobinuria Paroxística Nocturna, tener un gemelo idéntico con leucemia, factores ambientales como radiaciones ionizantes, alquilantes, nitrosoureas, benceno (Berhman, Kliegman, & Jenson, 2006) (Rubin & Strayer, 2012)

### **2.1.2.3. MANIFESTACIONES CLINICAS**

El cuadro clínico suele ser de inicio brusco y se da como consecuencia del desplazamiento de los elementos medulares normales por parte de los linfoblastos, lo que ocasiona citopenias (anemia, neutropenia, trombocitopenia) con los consiguientes síntomas de palidez, fatiga, presencia de hematomas, epistaxis y fiebre además de dolor

óseo y articular (Rubin & Strayer, 2012) (Berhman, Kliegman, & Jenson, 2006) (Raetz, 2014)

Al examen físico se suele encontrar además adenopatías, esplenomegalia y en menor frecuencia hepatomegalia, la presencia de signos de hipertensión intracraneal como cefalea, edema de papila o parálisis de los pares craneales son indicativos de afectación del sistema nervioso central (Berhman, Kliegman, & Jenson, 2006) (Rubin & Strayer, 2012)

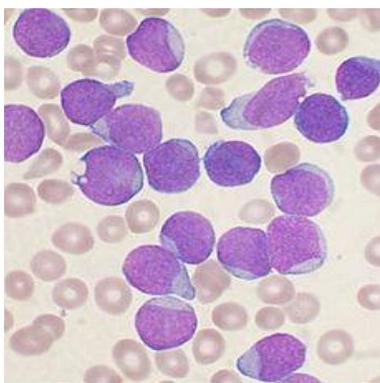
#### **2.1.2.4. DIAGNÓSTICO**

El diagnóstico se lo realiza por la suma del cuadro clínico, datos de laboratorio, el estudio histopatológico, la determinación del inmunofenotipo y los estudios genéticos.

El examen de laboratorio en busca de citopenias, la evaluación cito-morfológica de sangre periférica, médula ósea, líquido cefalorraquídeo, complementado con la Citometría de flujo y la Citogenética (Aixalá, Basack, Chiappe, & Deana, 2012)

Entre los exámenes de laboratorio se encuentra el hemograma para verificar disminución de los valores de glóbulos rojos, hematocrito, hemoglobina y plaquetas, los valores de glóbulos blancos pueden estar normales, elevados o bajos y la lactato deshidrogenasa (LDH) generalmente esta elevada (Husain, 2016)

En la evaluación histopatológica de la médula ósea el porcentaje de infiltración blástica para el diagnóstico es  $\geq 20\%$  (Borowitz & Chan, 2008). El linfoblasto se caracteriza por tener una relación alta núcleo-citoplasma, la cromatina se dispersa de manera uniforme con un delicado punteado y puede haber nucléolos, es difícil distinguirlo muchas veces del mieloblasto por lo cual es necesario estudiar el inmunofenotipo para la designación del linaje (Husain, 2016)



**figura 2 Linfoblastos: se observa su relación alta núcleo-citoplasma y la distribución de la cromatina (Mihova D., 2013)**

Mediante inmunohistoquímica expresan Tdt, Cd19, Cd10 variable y carecen de expresión para Cd20 (Rubin & Strayer, 2012)

El estudio de Citometría de flujo permite identificar las etapas de maduración de la célula B (inmunofenotipo) y no solo confirmar el diagnóstico, sino que servirá para clasificarla y valorar tratamiento (Rubin & Strayer, 2012)

La citogenética determina la presencia de anomalías numéricas y traslocaciones las cuales son parte fundamental dentro de la clasificación de la OMS 2008

### 2.1.3. CITOMETRÍA DE FLUJO

La Citometría de flujo tiene como principio fundamental el análisis de células aisladas dentro de una población heterogénea. Las células previamente marcadas con anticuerpos específicos en suspensión se las hace pasar de forma laminar (una sola línea de células) por un haz de luz (laser) mediante el cual se detectan el tamaño de la célula, complejidad, granulosidad y características inmunofenotípicas este tipo de estudio se lo realiza en médula ósea, sangre periférica, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural y aspirado de ganglios linfáticos (Leach & Drummond, 2015)

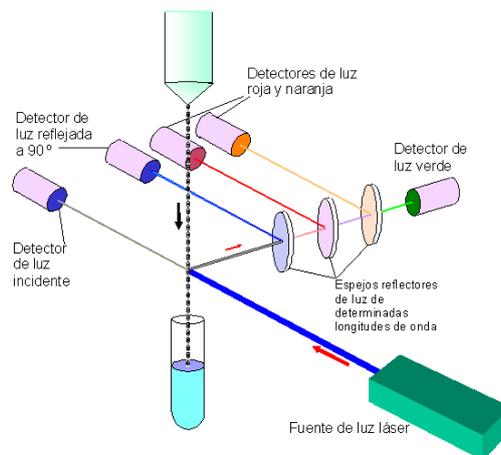
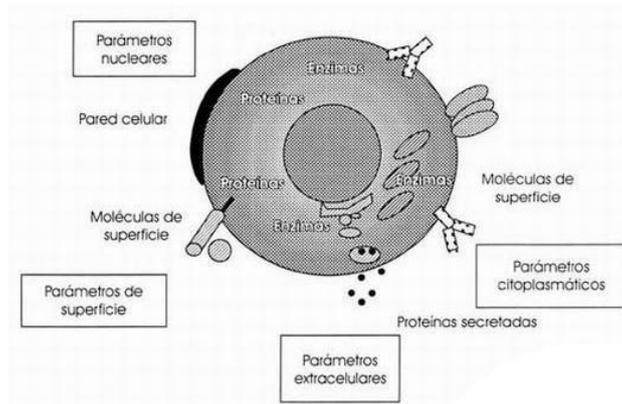


figura 3 : Esquema del principio de la Citometría de Flujo las células pasan en flujo laminar a través del laser (Universidad Autónoma de Madrid, 2015)

La Citometría de flujo (CMF) emplea anticuerpos monoclonales conjugados a fluorocromos para identificar de forma paralela antígenos de superficie, nucleares y citoplasmáticos de las células a estudiar, de esta manera se obtiene el inmunofenotipo y la probable expresión de antígenos aberrantes (Marsán, Del Valle, Socarrás, Sánchez, & Macías, 2012) (Barrera Ramirez, y otros, 2004)



**figura 4 Parámetros que detecta la Citometría de Flujo (Barrera Ramirez, y otros, 2004)**

La información que se obtiene está dada por: la dispersión de la luz al chocar con la célula y por la emisión de luz generada por los fluorocromos al ser excitados por el rayo luminoso que se convierten en señales eléctricas y luego digitales que son interpretadas por un computador (Barrera Ramirez, y otros, 2004) (Orfao, Ciudad, López, Lopez, Vidriales, & Macedo, 1993)

#### **2.1.4. CLASIFICACION**

El grupo Franco-Americano-Británico(FAB) en 1976 utilizaba características como la morfología, el tamaño, características del núcleo y la cromatina, presencia de nucléolos, cantidad de citoplasma, basofilia, la existencia de vacuolas dando origen a los tipos L1, L2, L3 (Orfao, Inmunofenotipo en Leucemias Agudas, 2002) (Rosay, 2013)

**Tabla 1 Clasificación FAB (Moreno, y otros, 2016)(Orfao, Inmunofenotipo en Leucemias Agudas, 2002)**

L1	Células pequeñas, núcleo grande, regular, cromatina homogénea y citoplasma escaso, estirpe linfóide B o T, 70-80% de los casos de LLA
L2	Células más grandes y heterogéneas, núcleo irregular, cromatina heterogénea y citoplasma variables, estirpe linfóide B o T, 25% de los casos de LLA
L3	Células grandes y homogéneas, núcleo grande, y citoplasma pequeño, cromatina homogénea con nucléolos evidentes y vacuolas citoplasmáticas, corresponde al linfoma de Burkitt 1-2% de los casos de LLA

El Grupo Europeo de Clasificación Inmunológica de las Leucemias (EGIL) en 1995 gracias al estudio del inmunofenotipo clasificó a las Leucemias Linfoblásticas Agudas B en: Pro-B, B Común, Pre B y B Madura (Orfao, Inmunofenotipo en Leucemias Agudas, 2002) (Moreno, y otros, 2016) (Ciudad, 2007) (Ortolani, 2011)

**Tabla 2 CLASIFICACIÓN DE LAS LLA- B POR EL INMUNOFENOTIPO**

LLA de células B	INMUNOFENOTIPO
Pro- B	CD79+CD19+CD10-CyIg-SmIg-
B- Común	CD79+CD19+CD10+CyIg-SmIg-
Pre-B	CD19+CD10+CyIg+SmIg-
B- Madura	CD19+CD10+CyIg-/SmIg+ CD 20+

CyIg: clasificación EGIL; Inmunoglobulinas en el citoplasma .Sm Ig: Inmunoglobulinas en la superficie de la membrana (Moreno, y otros, 2016) (Orfao, Inmunofenotipo en Leucemias Agudas, 2002) (Ortolani, 2011)

La clasificación de la OMS incorpora además de la morfología, los conocimientos inmunofenotípicos y citogenéticos y fue publicada en el año 2008 (Rosay, 2013) (Borowitz & Chan, 2008)

Leucemia Linfoblástica B/linfoma, sin otras especificaciones (Borowitz & Chan, 2008) (Rosay, 2013)

Leucemia Linfoblástica B/linfoma, con anomalías genéticas recurrentes (Borowitz & Chan, 2008) (Rosay, 2013)

Leucemia Linfoblástica B/linfoma con t(9;22) BCR-ABL 1 (Borowitz & Chan, 2008) (Rosay, 2013)

Leucemia Linfoblástica B/linfoma con t(v;11q23) MLL reordenado (Borowitz & Chan, 2008) (Rosay, 2013)

Leucemia Linfoblástica B/linfoma con t(12;21)TEL-AML1(ETV6-RUNX 1) (Borowitz & Chan, 2008) (Rosay, 2013)

Leucemia Linfoblástica B/linfoma con hiperdiploidía (Borowitz & Chan, 2008) (Rosay, 2013)

Leucemia Linfoblástica B/linfoma con hipodiploidía (Borowitz & Chan, 2008) (Rosay, 2013)

Leucemia Linfoblástica B/linfoma con t (5;14) IL 3 -IgH (Borowitz & Chan, 2008) (Rosay, 2013)

Leucemia Linfoblástica B/linfoma con t (1;19) TCF-3 -PBX1 (Borowitz & Chan, 2008) (Rosay, 2013)

### 2.1.5. DETERMINACIÓN DEL INMUNOFENOTIPO

La identificación del inmunofenotipo de las células blásticas depende del reconocimiento de la expresión de antígenos propios de la fase de maduración del linfocito B y además de la presencia de patrones no aleatorios de expresiones antigénicas que son diferentes a lo normal (Leach & Drummond, 2015)

Estos patrones no aleatorios son:

Expresión de antígenos aberrantes (por ejemplo marcadores mieloides en Leucemia Linfoblástica Aguda B)

Coexpresión de marcadores tanto de madurez como de inmadurez (asincronismo madurativo)

Expresión aumentada o disminuida de un antígeno o expresión homogénea de un antígeno normalmente heterogéneo (Leach & Drummond, 2015)

Por lo que el grupo EuroFlow propone el uso del siguiente panel de identificación con anticuerpos monoclonales marcados (Cytognos)

**Tabla 3 Tubo de protocolo EuroFlow para inmunofenotipo de LLA-B (Cytognos) (Córdova, 2016) (Recalde, 2016)**

V450	V500	FITC	PE	PERCP	PECY7	APC	APCH7
CD20	CD45	CD58	CD66c	CD34	CD19	CD10	CD38
SmIgKappa	CD45	cyIgM	CD33	CD34	CD19	SmIgM	SmIgLambda
CD9	CD45	TDT	CD13	CD34	CD19	CD22	CD24
CD21	CD45	CD15 & CD65	NG2	CD34	CD19	CD123	CD81

El cual incluye diversos anticuerpos en los cuales no solo existen aquellos de linaje B sino también algunos de tipo mieloides tomando en cuenta la probable expresión aberrante de los mismos

La determinación del inmunofenotipo depende de la expresión por parte de la población blástica de los antígenos de las células precursoras B más comunes estos son CD34 y Tdt, así como también de los de activación celular como son HLA-DR y CD 38 (Leach & Drummond, 2015). La clasificación EGIL agrupa a las Leucemias Linfoblásticas Agudas B en: Pro-B, B Común, Pre B y B Madura (Orfao, Inmunofenotipo en Leucemias Agudas, 2002) (Moreno, y otros, 2016) (Ciudad, 2007) teniendo cada una su propio patrón de expresión antigénica

La Leucemia Linfooblástica Aguda Pro-B se caracteriza por tener el siguiente patrón de expresión TdT (+), HLA-DR (+), CD19 (+), CD34 (+), CD10 (-), CD20 (-) (Córdova, 2016)

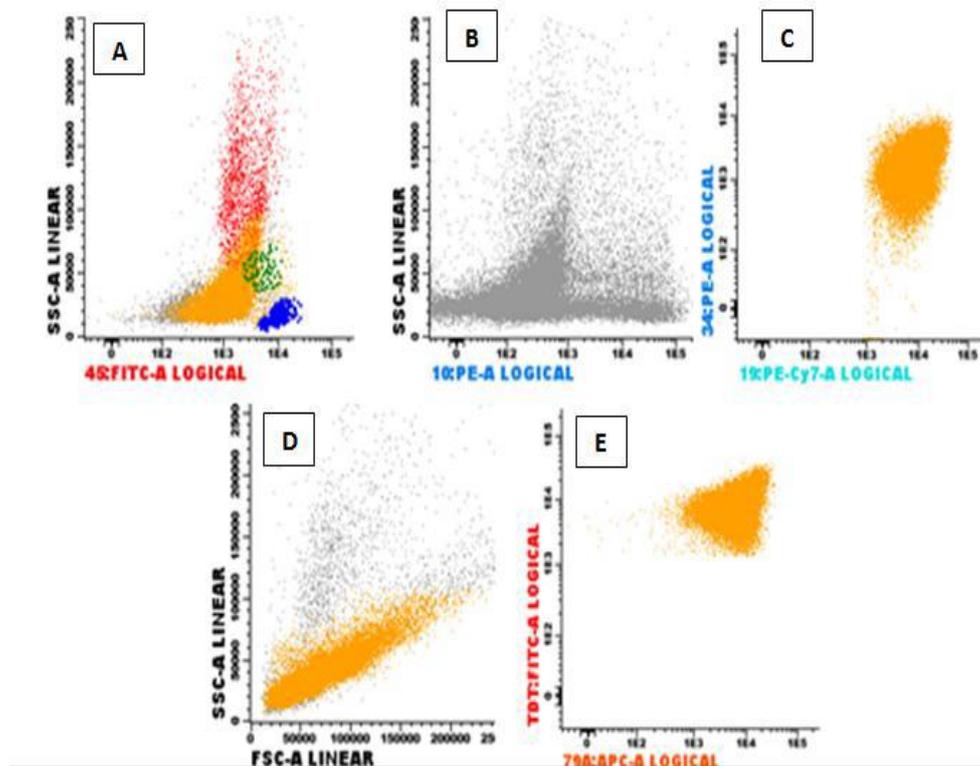


figura 5 : LLA – Pro B (Córdova, 2016)

En la Leucemia Linfooblástica Aguda Pro-B. A) CD45/SSC se observa la cantidad de blastos leucémicos (naranja). B) La ausencia en la expresión de CD10 (-), C) Sobreexpresión de los blastos a los marcadores CD34(+) / CD19(+). D) en el contraste entre SSC frente FSC se observan los blastos B (naranja). E) Sobreexpresión de los blastos a los marcadores Tdt(+)/CD79a(+) (Córdova, 2016)

La Leucemia Linfoblástica Aguda B Común se caracteriza por el siguiente patrón de expresión Tdt (+), HLA-DR (+), CD10 (+), CD34 (+), CD19 (+), CD20 (-) (Córdova, 2016)

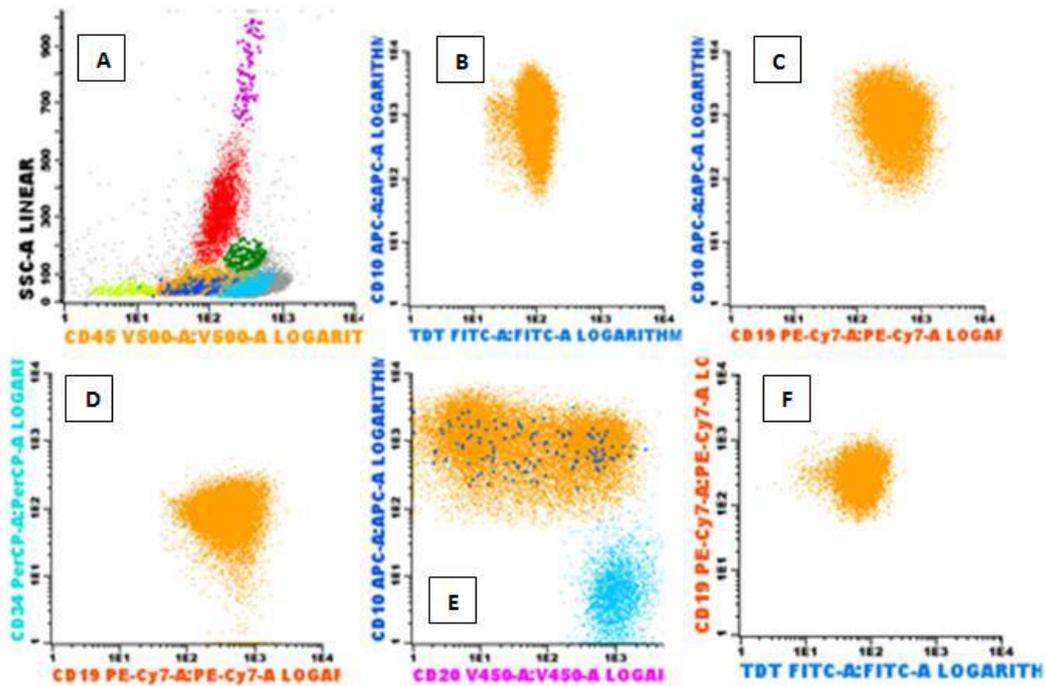


figura 6 : LLA – B común (Córdova, 2016)

En la Leucemia Linfoblástica Aguda B Común. A) En el histograma se observa CD45/SSC la cantidad de blastos leucémicos (naranja), B) La sobreexpresión de CD10 (+) / Tdt (+), C) La sobreexpresión de CD10 (+) / CD19 (+), D) La sobreexpresión de los blastos a CD34(+), E) Curva de maduración CD10(+)/CD20(-), se observan los blastos B (naranja), y los linfocitos B maduros (celeste). E) Sobreexpresión de los blastos a los marcadores Tdt (+) / CD19(+) (Córdova, 2016)

La Leucemia Linfoblástica Aguda Pre-B se caracteriza por el siguiente patrón de expresión Tdt (+), HLA-DR (+), CD19 (+), CD10 (+), IgMcit (+), CD34 (-), CD20 (-) (Córdova, 2016)

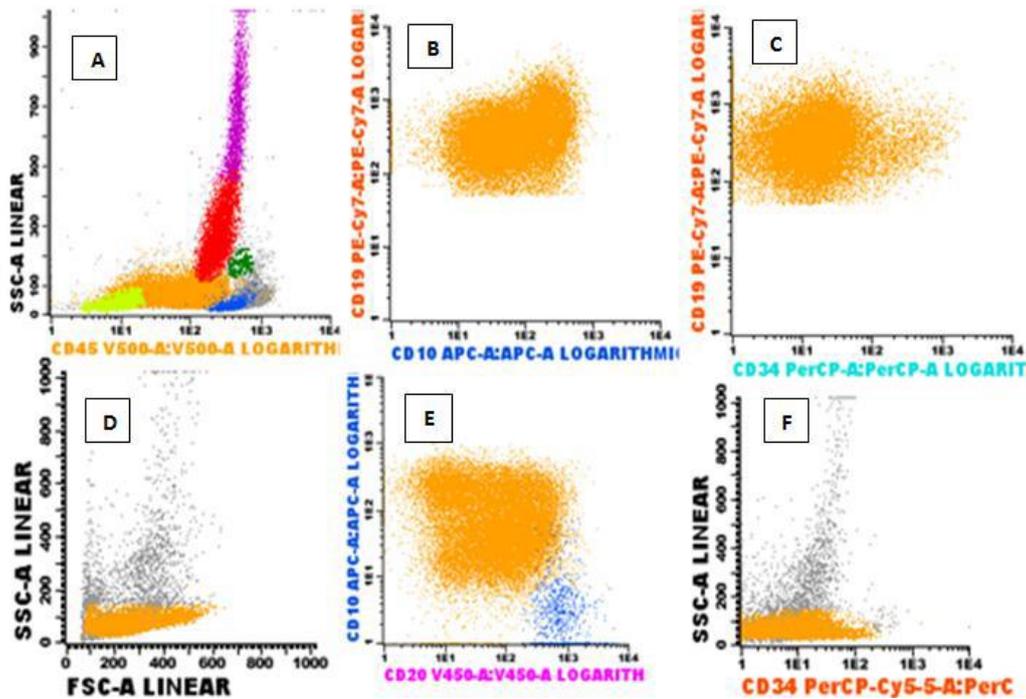


figura 7 LLA –Pre B (Córdova, 2016)

En la Leucemia Linfoblástica Aguda Pre-B: A) En el histograma se observa CD45/SSC la cantidad de blastos leucémicos (naranja), B) La sobreexpresión en los blastos de CD19 (+) /CD10 (+). C) La sobreexpresión en los blastos de CD19 (+) y la ausencia del CD34 (-). D) En el SSC vs FSC se observan los blastos B (naranja). E) Curva de maduración CD10 (+) / CD20 (-), están los blastos B (naranja) y los linfocitos B maduros (azul). F) Ausencia en la expresión del CD34 (-) (Córdova, 2016)

## **2.2. TEORIAS SUSTANTIVAS**

### **2.2.1. ENFERMEDAD MINIMA RESIDUAL**

Se conoce como remisión de la enfermedad a la presencia de menos del 5% de células leucémicas en médula ósea, lo que se traduce a la detección de un blasto por cada 20-30 células usando criterios morfológicos (estudio histopatológico) sin embargo a pesar de esto muchos pacientes continuaban haciendo recaídas de la enfermedad (Leach & Drummond, 2015)

El empleo de métodos ultrasensibles como la Citometría de Flujo, FISH y PCR permiten detectar una célula neoplásica por cada 10.000 dando origen al estudio de Enfermedad Mínima Residual, lo que permite tomar medidas terapéuticas oportunas ante el riesgo de una probable recaída medular (Leach & Drummond, 2015), (Schrappe, Stanulla, & Harrison, 2010)

Por lo tanto la Enfermedad Mínima Residual, es la presencia de células patológicas posterior a un tratamiento quimioterapéutico, que no pueden ser detectadas por el estudio histopatológico (Sajaroff, Rubio, Medina, & Sanz, 2012), (Juarez-Velazquez & Perez, 2012)

Las aplicaciones clínicas del estudio de Enfermedad Mínima Residual incluyen la evaluación a la respuesta inicial, determinar los grupos de riesgo, valoración de la respuesta al tratamiento intensificándolo o reduciéndolo de acuerdo al caso, control de recaídas y estudio previo y post trasplante de células madre alogénicas (Leach & Drummond, 2015); (Sajaroff, Rubio, Medina, & Sanz, 2012)

El estudio del grupo BFM (Berlín-Frankfurt-Múnich) reportado por Van Dogen et al en 1998 demostró que existen dos momentos importantes para valorar la Enfermedad Mínima Residual estos son después de la inducción y antes de la consolidación lo cual permitió dividir a los pacientes en bajo riesgo con una tasa de recaída del 2%, de riesgo intermedio con una tasa de recaída del 22% y de alto riesgo con una tasa de recaída del 80% a 5 años, siendo ahora parte integral de los protocolos de tratamiento (Leach & Drummond, 2015) (Van Dogen & Van der Velden, 2010)

Este estudio fue evaluado por instituciones como el Grupo Oncológico de Niños, el Saint Judes Children's Research Hospital, el Hospital de Niños de Birmingham y se llegó a la conclusión de que aquellos pacientes con valores  $> 0.01\%$  al final de la inducción tenían un riesgo de recaída del 40-50%, aquellos con un valor  $< 0.01\%$  el riesgo era del 5% y aquellos con valores  $> 10\%$  tenían un riesgo de recaída de aproximadamente del 50% y se los considera de muy alto riesgo (Leach & Drummond, 2015)

Sin embargo el estudio de Enfermedad Mínima Residual que se realiza al terminar la fase de consolidación está asociada a un pobre pronóstico por lo cual se lo considera también como un valor predictivo de recaídas (van Dongen, van der Velden, Bruggemann, & Orfao, 2016) (Bastida Viláa, Palacio García, Solsona Riera, & Ortega Aramburua, 2005)

Dworzak et al.(BFM Austria, 2002) en el estudio ALL-BFM 95, de Abril de 1996– Octubre 1998, con 108 pacientes determinaron que los días considerados importantes para la realización de EMR son el día 15 y 33, la semana 12 y las semanas 22-24 (Athale, Gibson, & Bradley, 2016)

Borowitz et al., en el estudio P9900, de Enero del 2000– Marzo 2005 con 2,143 pacientes determinaron que el valor para considerar positiva la EMR es de >0.01% y se la realiza los días 8 en sangre periférica, al final de la inducción (día 29) y al final de la consolidación en médula ósea (Athale, Gibson, & Bradley, 2016)

Zhou et al., en el estudio DFCI 95-01, de 1996–2000, con 284 pacientes, se determinó que el valor de EMR >0.1% al final de la inducción era de importante valor pronóstico de recaídas (Athale, Gibson, & Bradley, 2016)

Conter et al., en el 2010 con los datos del estudio AIEOP-BFM ALL 2000 de Julio 2000–Junio 2006 con un total de 3,184 pacientes, determinó que el valor de EMR considerado positivo es >0.01% y las fechas a realizarla como predictivo de recaídas eran los días 33 y 78 (Athale, Gibson, & Bradley, 2016)

La Asociación Italiana de Hematología y Oncología Pediátrica (AIEOP)-BFM 2000 determinó que los estudios de Enfermedad Mínima Residual realizados en los días 33 (fin de la inducción) y día 78 (fin de la consolidación) en el cual los valores de EMR > 0.01% constituyen un importante factor predictivo de recaída medular (Athale, Gibson, & Bradley, 2016)

El grupo EuroFlow propone el uso del panel para valoración de la Enfermedad Mínima Residual con los siguientes anticuerpos monoclonales marcados (Cytognos)

**Tabla 4 : tubo de protocolo EuroFlow para Enfermedad Mínima Residual de LL-B (Cytognos) (Córdoba, 2016) (Recalde, 2016)**

V450	V500	FITC	PE	PERCP	PECY7	APC	APCH7
CD20	CD45	CD81	CD66c + CD123	CD34	CD19	CD10	CD38
CD20	CD45	CD81	CD73 + CD304	CD34	CD19	CD10	CD38

La suma de los parámetros clínicos, hematológicos, el inmunofenotipo, el estudio citogenético, la respuesta inicial al tratamiento y la evaluación de la Enfermedad Mínima Residual (EMR), son la base para conformar los grupos de riesgo: en estándar, riesgo intermedio y alto riesgo (Aixalá, Basack, Chiappe, & Deana, 2012)

En el ION-SOLCA se utiliza el protocolo de tratamiento SOLCA 2012 el cual está basado en el BFM-ALLIC 2010 y clasifica a los pacientes en grupos de riesgo estándar, alto riesgo y muy alto riesgo (ION-SOLCA, 2016)

**Tabla 5 : Grupos de Riesgo según protocolo SOLCA 2012 (ION-SOLCA, 2016)**

GRUPO DE RIESGO	EDAD	Nº GB	INMUNOFENOTIPO	BIOLOGIA MOLECULAR	RESPUESTA AL TRATAMIENTO		
					DIA 8	DIA 15	DIA 35
STANDAR	1 AÑO A 10 AÑOS	<50.0000	LLA B	t(12;21) Trisomia 4 y 10 Hiperdiploidia 51 a 65	<1000 blastos en sp	MO M1 EMR <0.01%	MO M1 EMR <0.01%
ALTO RIESGO	< 1 AÑO Y > 10 A	>50.0000	LLA PRE B IgC- LLAT	Hipodiploidia 44 a 45 t(11;19)	>1000 blastos en s.p.	MO M1 o M2 EMR:0.01% a < 1%	MO M1 o M2 EMR:0.01% a < 1%
MUY ALTO RIESGO		>100.000		t(9;22) t(4;11) Hipodiploidia 24-28	CORTICO RESISTENTE	MO M3 EMR:>1%	MO M3 EMR:>1%

El protocolo SOLCA 2012 utiliza como factor predictivo de recaída a los estudios de Enfermedad Mínima Residual en médula ósea de los días 15 y 35, que corresponden a la fase de inducción y posterior a eso se realizan estudios de Enfermedad Mínima Residual al final de la consolidación, durante y posterior al mantenimiento, sin embargo no le da el carácter de factor predictivo de recaída al estudio post-consolidación como si está establecido en otros protocolos internacionales (ION-SOLCA, 2016)

### 2.2.2. TRATAMIENTO

Los tratamientos están basados en el Protocolo BFM (Berlín-Frankfurt-Múnich) ALLIC 2010 (Aixalá, Basack, Chiappe, & Deana, 2012) y consta de:

Una fase de inducción en la cual se busca la erradicación rápida de los blastos en la médula ósea, la duración de la misma suele ser alrededor de cuatro semanas, esta logra

aproximadamente el 95% de remisión, y en ella se utiliza un corticoide (que puede ser prednisona, prednisolona o dexametasona), vincristina y una antraciclina (De Vita, Lawrence, & Rosenberg, 2015)

La fase de consolidación se da una vez que los pacientes se encuentran en remisión y variara su duración dependiendo del grupo de riesgo de cada uno (Berhman, Kliegman, & Jenson, 2006) y generalmente consiste en la rotación de medicamentos como metotrexate, citarabina, ciclofosfamida y asparginasa (De Vita, Lawrence, & Rosenberg, 2015)

La fase de mantenimiento es la última del tratamiento en la cual se usa dosis diarias de mercaptopurina, semanales de metotrexate y mensuales de vincristina y prednisona y puede durar de dos a tres años (Berhman, Kliegman, & Jenson, 2006) (De Vita, Lawrence, & Rosenberg, 2015)

El trasplante alogénico de células madre se lo utiliza en pacientes de alto y muy alto riesgo y con ella se ha conseguido mayores probabilidades de supervivencia libre de enfermedad (Berhman, Kliegman, & Jenson, 2006)

Se suele agregar una quimioterapia intratecal en la cual se utiliza corticoides, metotrexate, citarabina para reducir el riesgo de afectación del sistema nervioso central y en pacientes considerados de alto riesgo se administra radioterapia cráneo espinal. (Berhman, Kliegman, & Jenson, 2006) (De Vita, Lawrence, & Rosenberg, 2015)

### 2.3. REFERENTES EMPÍRICOS

Según datos de la Sociedad Americana Contra el Cáncer para el 2017 en los Estados Unidos tanto en adultos y niños habrá aproximadamente 5,970 nuevos casos de Leucemia Linfoblástica Aguda (3,350 hombres y 2,620 mujeres) diagnosticados y aproximadamente 1,440 personas (800 hombres y 640 mujeres) morirán por su causa. (Sociedad Americana contra el Cancer, 2017)

El proyecto GLOBOCAN (2012) de la Organización Mundial de la Salud, determinó que la incidencia de Leucemia a nivel mundial es de 2.7% en hombres y 2.3% en mujeres por 100.000 habitantes por año a nivel mundial, en América es de 2.8% en hombres y 2.3% en mujeres por 100.000 habitantes por año, siendo la Leucemia Linfoblástica Aguda B la causa más frecuente de leucemia de la infancia y alrededor del 75% de los afectados son niños menores de 6 años (OMS, 2017)

En el 2015 la Sociedad Argentina de Hematología se registran 370 casos/año en menores de 15 años (30 casos/1.000.000).y tiene una distribución bi-modal tanto en pacientes menores de 20 años (60%) y en mayores de 45 años (20%) siendo el 75 – 80% en edad pediátrica con un pico de incidencia entre los 2 a 5 años y el 20% de las de edad adulta.

En un estudio hecho en el Hospital Universitario Materno-Infantil Vall d'Hebron, Barcelona- España, con 80 niños entre 6 meses y 19 años en pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda B de Alto Riesgo tratada con transplante alogénico con precursores hematopoyéticos, dividiéndolos en dos grupos: Enfermedad Mínima Residual positiva (>0.01%) y negativa(<0.01%) se comprobó que los pacientes tenían Enfermedad Mínima Residual positiva tenían una supervivencia libre de recaída del 50% y los que tenían Enfermedad Mínima Residual negativa era del 80% a 3 años (Alvarez, 2016)

Córdoba (2016) realizó un estudio en el ION-SOLCA con 140 pacientes pediátricos, diagnosticados con Leucemia Linfoblástica Aguda B por Citometría de flujo, de los cuales el 67% fue Leucemia Linfoblástica Aguda B Común, el 32% Leucemia Linfoblástica Aguda Pre – B, y el 1% Leucemia Linfoblástica Aguda Pro – B. (Córdoba, 2016)

Y se determinó que la relación entre la carga de blastos al momento del diagnóstico y la Enfermedad Mínima Residual (EMR) posterior a la inducción, el 14% (20) obtuvieron EMR de 0.01% (negativa), mientras que el 64% (90), valores de EMR entre 0.02 y el 1% además que el 35% (49) presentaron recaída medular durante el tiempo de muestreo, el 9% recayó durante la etapa de tratamiento de inducción, y el 12% durante la etapa de consolidación y concluyó que existe diferencia significativa entre la carga de blastos al momento del diagnóstico y la EMR post-inducción. (Córdoba, 2016)

Un estudio realizado en el Hospital Oncológico de Sonora – México (Larios-Farak, Rendón-García, & Ornelas-Ceballos, 2016) en el que con 20 casos diagnosticados con Leucemia Linfoblástica Aguda B, 18 presentaron Enfermedad Mínima Residual post-inducción positiva, en total se presentaron 10 casos de recaídas dando un 50%.

EL Instituto de Hematología e Inmunología de La Habana, Cuba realizó un estudio (2016) con 150 pacientes pediátricos con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda por Citometría de Flujo de los cuales 111 (74 %) pacientes se diagnosticó Leucemia Linfoblástica Aguda B y 39 (26 %) Leucemia Linfoblástica Aguda T; 122 pacientes (81,3 %) se encontró correspondencia entre la morfología linfoide de los blastos y el diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda por Citometría de Flujo. (Suárez, O del Valle Pérez, Díaz Domínguez, Macías Abraham, & Machín García, 2016).

En 28 pacientes no se encontró correspondencia entre el diagnóstico morfológico e inmunológico. En un paciente, mostró características de mieloides pero la Citometría concluyó como una Leucemia Linfoblástica Aguda pro-B. Por lo que los resultados demuestran que la Citometría de Flujo es altamente sensible y específica, no solo para definir el linaje celular leucémico sino para identificar aquellos de difícil diagnóstico, lo que permite la aplicación del tratamiento específico. (Suárez, O del Valle Pérez, Díaz Domínguez, Macías Abraham, & Machín García, 2016)

En un estudio hecho por el departamento de Oncología Pediátrica del Hospital Infantil de Sonora-México (Rendón-García, Álvarez-Hernández, & Covarrubias-Espinoza, 2015) con 35 niños con Leucemia Linfoblástica Aguda evaluados por Citometría de Flujo, de los cuales 5 se consideraron con EMR positiva en la semana 5 de tratamiento (post-inducción), la mayor proporción (91%) correspondió a Leucemia Linfoblástica Aguda B la prueba de EMR por Citometría de Flujo fue positiva en 14.3% de niños, en aparente remisión clínica y cito-morfológica en médula ósea.

Por lo que se concluyó que la Citometría de Flujo permite la valoración más eficaz de remisión de Leucemia Linfoblástica Aguda en pacientes pediátricos. (Rendón-García, Álvarez-Hernández, & Covarrubias-Espinoza, 2015)

En un estudio en el hospital Garrahan (2014) con 208 pacientes diagnosticados Leucemia Linfoblástica Aguda, se evaluaron por Citometría de Flujo en médula ósea del día 15, 33 y 78, se obtuvo como resultados que los estudios del día 15 el 29% de los pacientes presentaron Enfermedad Mínima Residual <0,1%, 56% entre 0,1 y 10% de blastos en medula ósea y 12% de los casos Enfermedad Mínima Residual >10%.

En cuanto a los grupos de riesgo: el 13% fue asignado a Estándar, el 66% a Intermedio y 21% a Alto Riesgo. El uso de el estudio de Enfermedad Mínima Residual al día 15 por Citometría de Flujo determinó la reasignación de grupos de riesgo en 30 casos (18% de los pacientes): 20 pacientes de Estándar a Intermedio, 2 de Estándar a Alto Riesgo y 8 de Intermedio a Alto Riesgo. Esta reasignación permitió la adecuada intensidad del tratamiento con el objetivo de disminuir las recaídas.

En el Hospital de Niños “R. Gutiérrez”, Argentina (2012) se hizo un estudio con 84 pacientes pediátricos con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda, tratados de acuerdo al protocolo ALLIC-BFM-GATLA 2002. Tomando como valor de Enfermedad Mínima Residual positiva fue 0.01%. Se encontró con Enfermedad Mínima Residual positiva en el día 15 al 57.5% de los pacientes, la Enfermedad Mínima Residual fue positiva al día 33 en el 13.3% de los pacientes. (Soria, Gailliard, & Gutiérrez, 2012)

Se correlacionó significativamente con una pobre respuesta al tratamiento, recaída y baja sobrevida libre de enfermedad y sobrevida global. La Enfermedad Mínima Residual positiva en el día 15 y día 33 de tratamiento son datos importantes para anticipar recaídas en Leucemia Linfoblástica Aguda pediátrica (Soria, Gailliard, & Gutiérrez, 2012).

Conter et al., en el 2010 con los datos del estudio AIEOP-BFM ALL 2000 de Julio 2000–Junio 2006 (Asociación Italiana de Hematología y Oncología Pediátrica) con un total de 3,184 pacientes, determinó que el valor de Enfermedad Mínima Residual considerado positivo es  $>0.01\%$  y las fechas a realizarla como predictivo de recaídas eran los días 33 y 78 (Athale, Gibson, & Bradley, 2016).

En el Hospital Universitario Materno-Infantil Vall d’Hebron, Barcelona-España (Bastida Viláa, Palacio García, Solsona Riera, & Ortega Aramburua, 2005) con un total de 199 muestras demostraron que el 37% de las muestras analizadas post-inducción y el 20% post-consolidación tenían Enfermedad Mínima Residual positiva con una mediana de seguimiento de 26 meses, la supervivencia libre de enfermedad del grupo completo fue del 92%.

Los pacientes con una Enfermedad Mínima Residual positiva post-inducción tuvieron una tasa de supervivencia libre de enfermedad del 79%. Ningún paciente con Enfermedad Mínima Residual negativa post-inducción ha presentado recidiva, por lo que se concluyó que el estudio de la Enfermedad Mínima Residual es imprescindible y debe estar incluida en todos los protocolos de tratamiento de Leucemia Linfoblástica Aguda representando un impacto en el pronóstico de respuesta al tratamiento de inducción. (Bastida Viláa, Palacio García, Solsona Riera, & Ortega Aramburua, 2005)

## **CAPITULO 3**

### **3. MARCO METODOLÓGICO**

#### **3.1. METODOS**

##### **3.1.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

La presente investigación se trata de un estudio descriptivo, correlacional, de corte transversal

##### **3.1.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

Es un estudio no experimental

#### **3.2. MATERIALES**

##### **3.2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN**

Este trabajo se realiza en el Servicio de Citometría de Flujo que pertenece al Departamento de Patología del Instituto Oncológico Nacional Dr. Juan Tanca Marengo (ION - SOLCA), localizado en la Avenida Pedro Menéndez Gilbert, Guayaquil, Ecuador.

##### **3.2.2. PERIODO DE LA INVESTIGACIÓN**

Mayo del 2015 a Mayo del 2017

##### **3.2.3. RECURSOS UTILIZADOS**

###### **3.2.3.1. Recursos humanos**

El investigador

El tutor

El equipo del Servicio de Citometría de Flujo constituido por: un Médico especialista en Anatomía Patológica, dos Biólogos, un Químico y una secretaria administrativa

###### **3.2.3.2. Recursos físicos**

Citómetro de Flujo FACSCanto II con el software asociado FACS DIVA.

Computador con Software INFINICYT (Cytgnos SL, Salamanca, España).

Computador con la base de datos de historias clínicas Intranet-SOLCA

Impresora

Material de papelería : papel, bolígrafos, lápiz, marcadores

Material bibliográfico: Libros y artículos de referencia tanto de la biblioteca del Servicio de Citometría de Flujo y del Departamento de Anatomía Patológica

#### **3.2.4. UNIVERSO Y MUESTRA**

Universo: 203 pacientes diagnosticados con Leucemia Linfoblástica Aguda entre Mayo del 2015 a Mayo del 2017

Muestra: 107 pacientes pediátricos diagnosticados con Leucemia Linfoblástica Aguda B que se consideran aptos cumpliendo los criterios de inclusión.

Muestreo y selección de la muestra: El método de muestreo es no probabilístico de conveniencia. Se seleccionarán pacientes a partir de los datos de las historias clínicas que se tiene en la base de datos del INTRANET del ION SOLCA, que cumplan con los criterios de inclusión

Selección de pacientes: Se trabajará con datos de pacientes de 0 a 14 años con Leucemia Linfoblástica Aguda B diagnosticados entre mayo 2015 a mayo del 2017

#### **3.2.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

Se tomará datos de pacientes masculinos y femeninos entre 0 – 14 años, con Leucemia Linfoblástica Aguda B, que se hubieran realizado el estudio de inmunofenotipo, con estudios posteriores de detección de Enfermedad Mínima Residual en muestras de médula ósea en el Departamento de Citometría de Flujo del ION – SOLCA y que se tratan en la institución.

#### **3.2.6. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

Pacientes que no cumplan con la edad, que no tengan estudio de inmunofenotipo inicial, estudios de Enfermedad Mínima Residual o que no se realicen el tratamiento dentro de la institución.

## CAPITULO 4

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. RESULTADOS

##### 4.1.1. Incidencia de la Leucemia Linfoblástica Aguda B en pacientes pediátricos

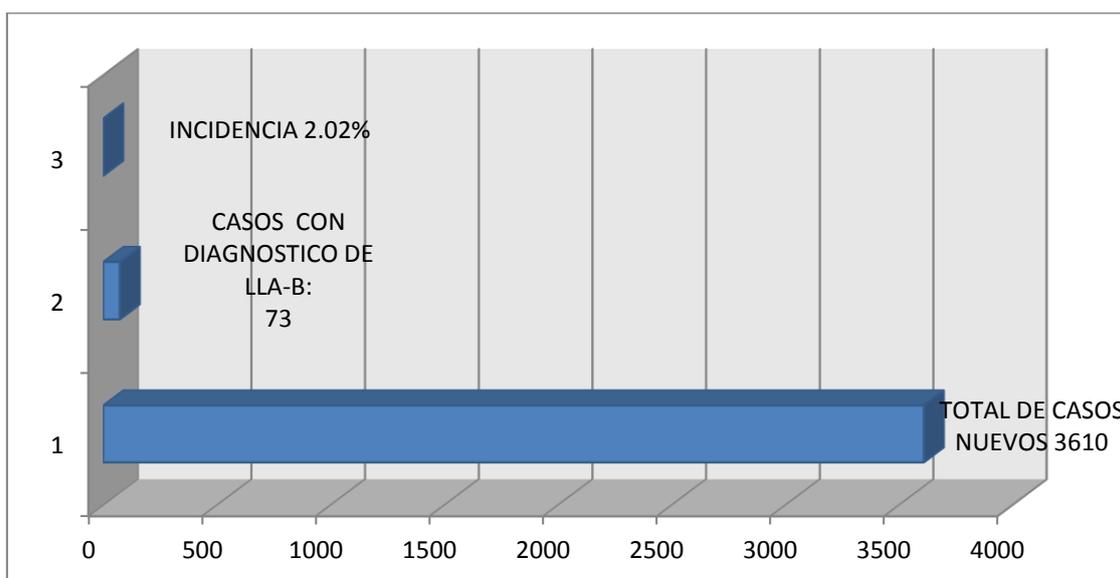


figura 8 Incidencia de Leucemia Linfoblástica Aguda B en pacientes pediátricos 2016

El total de casos diagnosticados como Leucemia Linfoblástica Aguda B en pacientes pediátricos en SOLCA Guayaquil en el año 2016 fue de 73 teniendo una incidencia del 2.02%.

#### 4.1.2. Correlación entre la presencia de Enfermedad Mínima Residual positiva post-consolidación y la presencia de recaída medular

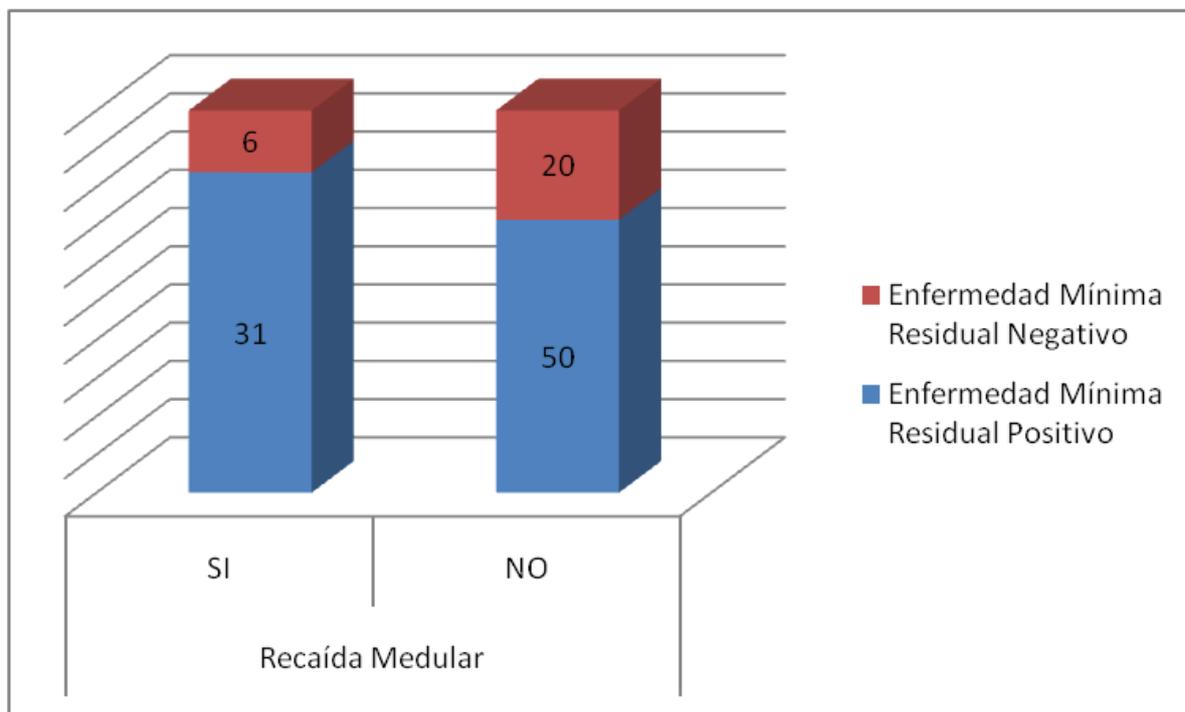


figura 9 : EMR VS RECAIDA MEDULAR

De los 107 pacientes estudiados 81 presentaron Enfermedad Mínima Residual post-consolidación positiva lo que representa el 75,7%, de ellos 31 hicieron recaída medular esto es el 38,2%; mientras que 26 pacientes tuvieron Enfermedad Mínima Residual post-consolidación negativa 24,3% y de estos 6 presentaron recaída medular lo que representa el 23.1%

Se establece las hipótesis: Hipótesis Nula (H0): Las variables son independientes y la Hipótesis Alterna (Ha): La variables están relacionadas.

Luego se utilizo la siguiente la siguiente fórmula para calcular el **chi**-cuadrado:

$$\chi^2 = \sum \frac{(fo - fe)^2}{fe}$$

Donde el  $\chi^2 = \text{frecuencia observada} - \text{frecuencia esperada})^2 / \text{frecuencia esperada}$

Siendo el valor del chi cuadrado experimental de 2,01

$\chi^2$ : 2.01

Se calcula el grado de libertad (GL) con la siguiente fórmula:

$GL = (\text{número de filas} - 1) * (\text{número de columnas} - 1) = 1$

Usando la tabla de chi-cuadrado teórico, con un grado de libertad de 1 y con un margen de error de 0.05 (5%)

$\chi^2_{0.05 * 1} = 3,841$

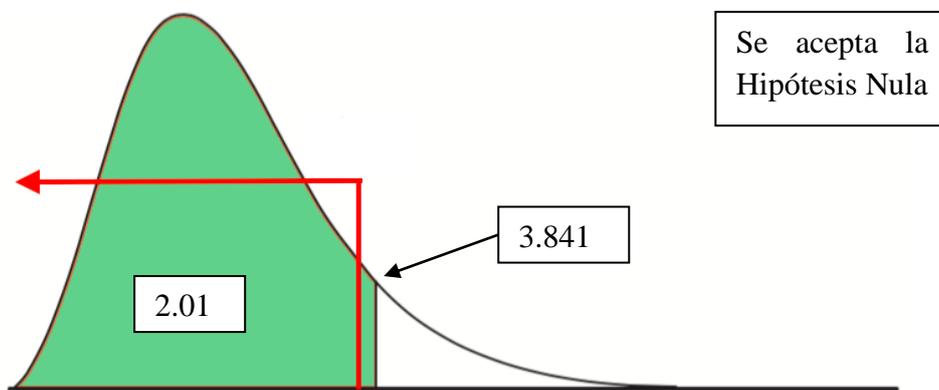


figura 10 chi cuadrado

Siendo el valor experimental menor al valor teórico; se concluye que la presencia de Enfermedad Mínima Residual post-consolidación y de recaída medular son variables independientes la una de la otra, confirmando la validez de la Hipótesis nula (H0)

## 4.2. DISCUSIÓN

La incidencia de Leucemia Linfoblástica Aguda B en pacientes pediátricos (1-14 años) en ION-SOLCA en el 2016 fue de 2.02%, a nivel mundial (2012) según datos del proyecto Globocan de la Organización Mundial de la Salud la incidencia fue de 2.3 %, por lo que comparado con este estudio el porcentaje es menor , en países desarrollados como Estados Unidos la incidencia es más baja siendo del 1,6 % (2015), al igual que en México que es del 1.3/% (2015), en Argentina y en España el porcentaje es más alto llegando al 3% (2015).

En cuanto a la Enfermedad Mínima Residual positiva de 107 pacientes estudiados 81 fueron positivos post-consolidación (75,7%) comparado con el estudio hecho por el departamento de Oncología Pediátrica del Hospital Infantil de Sonora-México (Rendón-García, Álvarez-Hernández, & Covarrubias-Espinoza, 2015) con 35 niños con Leucemia Linfoblástica Aguda, de los cuales 5 tuvieron Enfermedad Mínima Residual positiva post-inducción (14.3%), por lo que se observa que existe un porcentaje mucho más alto de diagnóstico de Enfermedad Mínima Residual post-consolidación que post-inducción.

En otro estudio hecho en el Hospital de Niños “R. Gutiérrez”, Argentina (2012) con 84 pacientes pediátricos con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda, se encontró con Enfermedad Mínima Residual positiva post-inducción el 13.3 % de los pacientes, por lo que de igual manera se observa que existe un porcentaje mucho más alto de diagnóstico de Enfermedad Mínima Residual post-consolidación que post-inducción.

En el Hospital Universitario Materno-Infantil Vall d’Hebron, Barcelona-España (Bastida Viláa, Palacio García, Solsona Riera, & Ortega Aramburua, 2005) con un total de 199 muestras demostraron que el 37 % de las muestras analizadas post-inducción y el 20 % post-consolidación tenían Enfermedad Mínima Residual positiva por lo que se observa que el porcentaje siguió siendo más alto en este estudio hecho en el ION-SOLCA

Mientras que entre la correlación de la Enfermedad Mínima Residual post-consolidación con la Recaída Medular en este estudio 81 pacientes presentaron Enfermedad Mínima Residual post-consolidación positiva y de ellos 31 presentaron recaída medular lo que representa el 38,2% el cual comparado con el estudio hecho por Córdova (2016) en el ION-SOLCA con 140 pacientes pediátricos, diagnosticados con

Leucemia Linfoblástica Aguda B por Citometría de flujo 90 tuvieron valores de Enfermedad Mínima Residual positiva post-inducción ( $>0.01\%$ ) y 49 presentaron recaída medular lo que representa el 54%, por lo que se observa un porcentaje mayor de recaídas en relación al examen de Enfermedad Mínima Residual positiva post-inducción comparado con el de post-consolidación.

En otro estudio realizado en el Hospital Oncológico de Sonora – México (Larios-Farak, Rendón-García, & Ornelas-Ceballos, 2016) en el que con 20 casos, 18 presentaron Enfermedad Mínima Residual post-inducción positiva, se presentaron 10 casos de recaídas dando un total del 50% siendo un valor más alto que el obtenido en este estudio

## **CAPITULO 5**

### **5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### **5.1. CONCLUSIONES**

- Se determinó que la incidencia de Leucemia Linfoblástica Aguda B en pacientes pediátricos en el ION- SOLCA Guayaquil coincide con los datos registrados a nivel mundial.
- Se establece que el estudio de Enfermedad Mínima Residual post-consolidación es un importante factor predictivo para la aparición de recaída medular, por lo que constituye una herramienta fundamental para obtener una mayor cantidad de pacientes en remisión de la enfermedad

#### **5.2. RECOMENDACIONES**

Por los resultados obtenidos se recomienda: la evaluación periódica de la Enfermedad Mínima Residual por Citometría de Flujo en los pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B, ya que es una prueba sensible, específica, confiable y de menor costo; para el diagnóstico de recaída medular.

Además se recomienda la aplicación de un protocolo estandarizado para el uso de la Citometría de Flujo en pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B (ver Anexos).

## CAPITULO 6

### 6. BIBLIOGRAFIA

Aixalá, M., Basack, N., Chiappe, G., & Deana, A. (2012). *Guías de Diagnóstico y Tratamiento*. Buenos Aires-Argentina: Sociedad Argentina de Hematología pag 83-115.

Alvarez, I. (2016). Enfermedad Mínima Residual Medida por Citometría de Flujo Multiparamétrica en Niños con Leucemia Linfoblástica Aguda sometidos a Trasnsplante Alogénico de Progenitores Hematopoyéticos. *TESIS DOCTORAL, UNIVERSIDAD DE BARCELONA* .

Athale, U., Gibson, P., & Bradley, N. (2016). Minimal Residual Disease and Childhood Leukemia: Standard of Care Recommendations From the Pediatric Oncology Group of Ontario MRD Working Group. *Pediatr Blood Cancer* , 973–982.

Barrena, S. (2011). Nuevas Estrategias Inmunofenotípicas Aplicadas al Diagnóstico y Clasificación de Síndromes Linfoproliferativos Crónicos”. Salamanca- España: Universidad de Salamanca pag 4-14.

Barrera Ramirez, L. M., Drago Serrano, M. E., Pérez Ramos, J., Sainz, T., Zamora, A. C., Gómez Arroyo, F., y otros. (2004). *Citometría de Flujo: Vínculo entre la Investigación Básica y la Aplicación Clínica*. Recuperado el 25 de Junio de 2017, de Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, 17(1), 42-55: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-75852004000100007&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-75852004000100007&lng=es&tlng=es).

Bastida Viláa, P., Palacio García, C., Solsona Riera, M., & Ortega Aramburua, S. d. (2005). Leucemia mínima residual:nuevo concepto de remisión completa. *An Pediatr (Barc)* , 390-395.

Berhman, R., Kliegman, R., & Jenson, H. (2006). *Pediatría de Nelson* . Madrid: Elseiver, pag 1694-1696.

Borowitz, M., & Chan, J. (2008). *World Health Organization Classification of Tumours*. Lyon- Francia: International Agenc y for Research 00 Cancer (IARC), pag 167-175.

Carr, J., & Rodak, B. (2010). *Atlas de Hematología Clínica*. Buenos Aires- Argentina: Editorial Medica Panamericana, pag 79-88.

Ciudad, J. y. (2007). Utilidad del inmunofenotipo en el diagnóstico. *Med Clin Monogr (Barc)*; 129(Supl 1) , 3-14.

Córdova, N. (2016). Relación entre la Carga Blástica inicial y la Enfermedad Mínima Residual en pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B Precursora en la Sociedad de Lucha Contra el Cáncer (SOLCA) de Guayaquil durante el periodo de 2012 al 2014". Guayaquil.

Cytognos. (s.f.). *Cytognos- EuroFlow*. Recuperado el 15 de Julio de 2017, de <http://www.cytognos.com/index.php/es/euroflow/cytognos-y-euroflow->

De Vita, V., Lawrence, T., & Rosenberg, S. (2015). *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. Philadelphia-EEUU: Lippincott Williams and Wilkins, pag 1628-1633.

Husain, A. (2016). *Interpretacion de Biopsias en Lesiones Pediatricas*. Philadelphia-EEUU: Amolca, pag 226-227.

ION-SOLCA, D. d. (2016). Protocolo para Leucemia Linfoblastica Aguda en Pediatria SOLCA 2012. Guayaquil, Guayas, Ecuador: SOLCA .

Juarez-Velazquez, R., & Perez, P. (2012). Citometria de Flujo en la Evaluacion de Enfermedad Minima Residual en Leucemia Linfoblastica Aguda . *Acta Pediatrica de Mexico Volumen 33 N4* , 198-206.

Kumar, V., Abbas, A., & Fausto, N. (2010). *Patologia Estructural y Funcional Octava Edicion*. Madrid-España: Elsevier, pag 682-689.

Larios-Farak, T., Rendón-García, H., & Ornelas-Ceballos, J. (2016). Supervivencia de Niños con Leucemia Linfoblástica Aguda de Riesgo Intermedio. *Boletín Clínico Hospital Infantil Edo Sonora* , 19-25.

Leach, m., & Drummond, M. (2015). *Citometria de Flujo, Practica en el Diagnostico Hematologico*. Glasgow UK: John Wiley and sons Ltda ; AMOLCA .

M.S.P, M. d. (Septiembre de 2013). Recuperado el 3 de Julio de 2017, de <https://aplicaciones.msp.gob.ec/salud/archivosdigitales/documentosDirecciones/dnn/archivos/Acuerdo%204194%20NORMA%20TECNICA%20PARA%20DERIVACI%C3%93N%20Y%20FINANC.%20COBERTURA%20INTERNACIONAL%20ENF.%20CATASTR%C3%93FICAS.pdf>

Marsán, V., Del Valle, L., Socarrás, B., Sánchez, M., & Macías, C. (2012). Validación del ultramicrométodo inmunocitoquímico (UMICIQ). *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia* . , 282-288.

Mihova D., M. (2013). *Pathology outline*. Recuperado el 20-21 de Junio de 2017, de <http://www.pathologyoutlines.com/topic/leukemiaALL.html>

Moreno, M., Aranda, L., Andía, C., Lovato, P., Rodríguez, J., Bustinza, A., y otros. (2016). Protocolo de Tratamiento Pediatrico. Lima, Peru: Hospital Edgardo Rebagliati Martins.

- NIH, N. C. (2017). *National Cancer Institute*. Recuperado el 1-10 de Junio de 2017, de <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/leuks.html>
- OMS, O. M. (2017). *Organizacion Mundial de la Salud*. Recuperado el 1-10 de Junio de 2017, de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>
- Orfao, A. (2002). *Inmunofenotipo en Leucemias Agudas*. Salamanca- España: Centro de Investigación del Cáncer y Departamento de Medicina Universidad de Salamanca.
- Orfao, A., Ciudad, J., López, A., Lopez, M., Vidriales, B., & Macedo, A. (1993). La citometría de flujo en el diagnóstico clínico. 115-130.
- Ortolani, C. (2011). *Flow Cytometry of Hematological Malignancies*. Londres: Wiley-Blackwell.
- Perez-Andres, Paiva, B., Nieto, W. G., Caraux, A., & Schmitz, A. ((2010)). Human Peripheral Blood B-Cell Compartments: A Crossroad in B-Cell Traffic. *Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 78B (Suppl. 1)* , S47–S60.
- Raetz, E. (2014). *Acute Lymphoblastic Leukemia*. Utah- EEUU: Leukemia & Lymphoma Society, University of Utah.
- Recalde, M. (2016). Valoración De La Calidad De Vida Mediante El Cuestionario (Pedsq1 Cancer Module 3.0 ) En Pacientes De 2 A 18 Años, En Tratamiento Con Quimioterapia, Por Diagnóstico De Leucemia Linfoblástica Aguda, Que Acuden A Solca - Núcleo Quito, Comparado Con Los Paci.
- Rendón-García, H., Álvarez-Hernández, G., & Covarrubias-Espinoza, G. (2015). Determinación cuantitativa de la enfermedad mínima residual por. *Gaceta Mexicana de Oncología. :* , 152-156.
- Rosay, J. (2013). *Rossai y Ackerman Patologia Quirurgica*. New York: Elsevier, pag 1939-1943.
- Rubin, R., & Strayer, D. (2012). *Patologia: Fundamentos Citopatologicos en Medicina*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2012, pag 1006-1008.
- Sajaroff, E., Rubio, P., Medina, A., & Sanz, M. (2012). Determinacion de Enfermedad Minima Residual en Leucemias Agudas . *Medicina infantil Vol XIX N 4* , 287-295.
- Schrappe, M., Stanulla, M. S., & Harrison, C. (2010). *SIOP EDUCATION BOOK 2010*. Boston: S I O P.
- Sociedad Americana contra el Cancer, A. (2017). *Sociedad Americana contra el Cancer*. Recuperado el 1-10 de Junio de 2017, de <https://www.cancer.org/es/cancer/leucemia-en-ninos.html>

Solca, R. d. (2017). *Registro de Tumores Solca Matriz*. Recuperado el 1-10 de Junio de 2017, de <http://www.estadisticas.med.ec/webpages/index.jsp>

Soria, M., Gailliard, M., & Gutiérrez, M. (2012). ENFERMEDAD MINIMA RESIDUALPOR CITOMETRIA DE FLUJO EN NIÑOS CON LESUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA . *SOCIEDAD ARGENTINA DE HEMATOLOGIA* , Vol. 16 N° 1: 42-46.

Suárez, V. M., O del Valle Pérez, L., Díaz Domínguez, G., Macías Abraham, C., & Machín García, S. (2016). Correlación entre morfología y citometría de flujo en la Leucemia Linfoide Aguda Infantil. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia* .

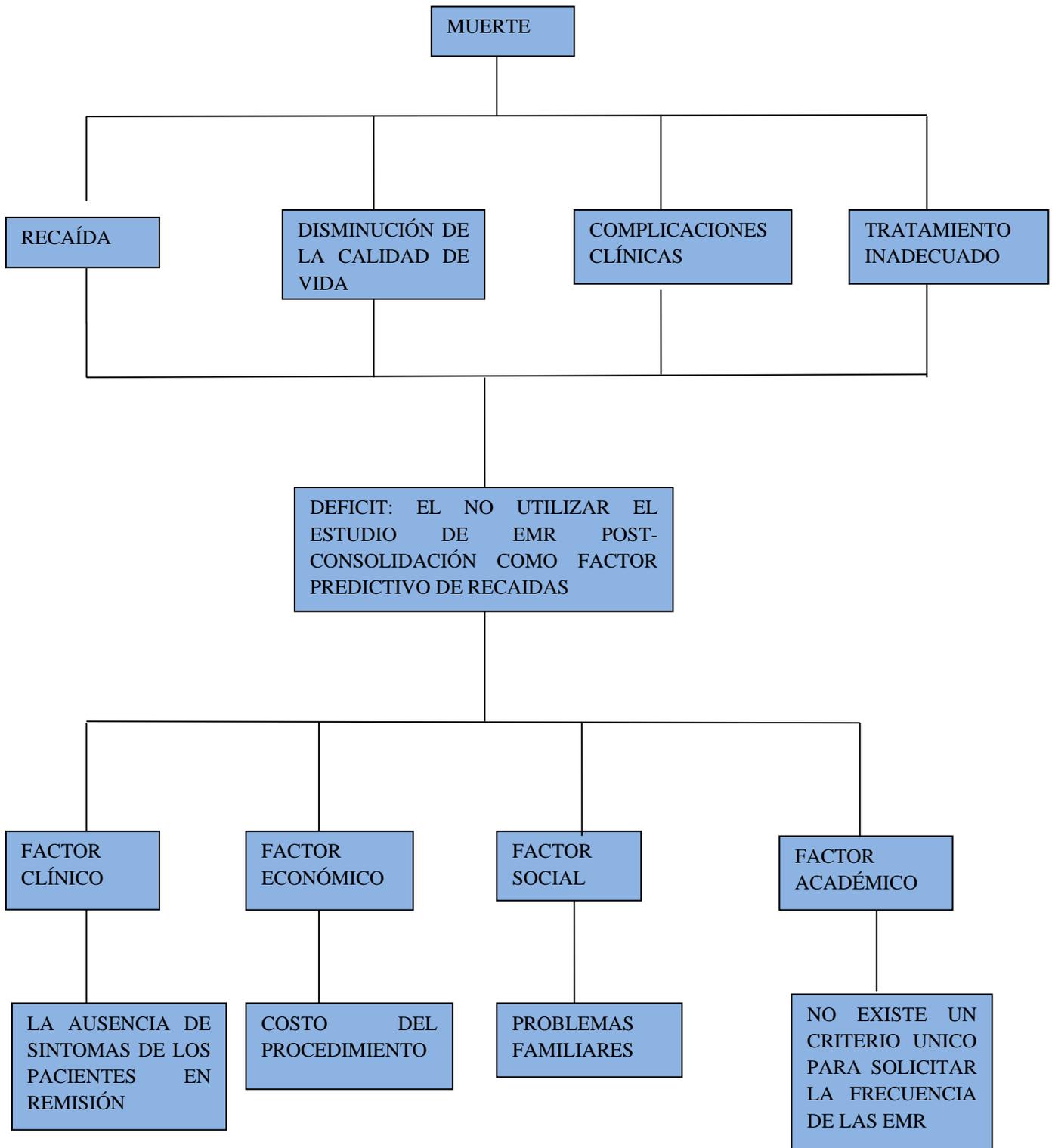
Universidad Autónoma de Madrid, C. N. (2015). *DIO-FOTONIC*. Recuperado el 20-21 de Junio de 2017, de [http://wwwuser.cnb.csic.es/~fotonica/Photonic\\_en/Review/citometria\\_de\\_flujo.htm](http://wwwuser.cnb.csic.es/~fotonica/Photonic_en/Review/citometria_de_flujo.htm)

Van Dogen, J., & Van der Velden, V. (2010). Detection of Minimal Residual Disease in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Sociedad Internacional de Oncología Pediátrica* , 43-50.

van Dongen, J., van der Velden, V., Brüggemann, M., & Orfao, A. (2016). Minimal residual disease diagnostics in acute lymphoblastic leukemia:need for sensitive, fast, and standardized technologies. *Review Series, BLOOD, 25 JUNE 2015 x VOLUME 125, NUMBER 26* , 3996-4009.

# ANEXO 1

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA: ARBOL DEL PROBLEMA LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA B



## ANEXO 2

**SOCIEDAD DE LUCHA CONTRA EL CÁNCER DEL ECUADOR**

**INSTITUTO ONCOLÓGICO NACIONAL**

**DR. JUAN TANCA MARENGO**



### **MISIÓN**

Brindamos a la comunidad atención integral, basada en evidencia científica y contenido ético. Procurando su seguridad y bienestar, involucrando al paciente y a la familia en su tratamiento.

### **VISIÓN**

Somos una institución de salud, del más alto nivel en lo científico, tecnológico y humano. Tenemos como visión fundamental realizar el control del cáncer en nuestra comunidad, contribuyendo para reducir su morbilidad y mortalidad, mejorando la calidad de vida del paciente y su familia.

**DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLÓGICA**

**SERVICIO DE CITOMETRÍA DE FLUJO**

## **PROTOCOLO ESTANDARIZADO PARA EL USO DEL ESTUDIO DE CITOMETRIA DE FLUJO DE PACIENTES PEDIATRICOS CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA B**

### **INTRODUCCIÓN**

La Leucemia Linfoblástica Aguda B es una enfermedad neoplásica que se produce por un trastorno genético que ocasiona la transformación maligna de la célula hematopoyética linfoide B dando origen a una proliferación monoclonal de la misma, constituyen los tumores malignos más frecuentes de la infancia y representan alrededor del 41% de las neoplasias malignas en menores de 15 años, el 85% de las leucemias se da principalmente en niños (Berhman, Kliegman, & Jenson, 2006) (Kumar, Abbas, & Fausto, 2010) (Rubin & Strayer, 2012)

Se ha considerado instaurar este protocolo en base a datos obtenidos a partir de los estudios hechos por el grupo Cytognos y EuroFlow, la Guía Práctica para el Diagnóstico Hematológico por Citometría de Flujo (Leach & Drummond, 2015),

Protocolo de Tratamiento Pediátrico Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, Protocolo de la Sociedad Argentina de Hematología (SAH), el trabajo de tesis titulado: Relación entre la Carga Blástica inicial y la Enfermedad Mínima Residual en pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B Precursora en la Sociedad de Lucha Contra el Cáncer (SOLCA) de Guayaquil durante el periodo de 2012 al 2014” (Córdoba, 2016) y el aporte de los miembros del Departamento de Citometría de Flujo del ION-SOLCA.

### **OBJETIVO GENERAL**

Establecer un Protocolo de diagnóstico estandarizado para el uso de la Citometría de Flujo de Pacientes Pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B

### **OBJETIVO ESPECÍFICO**

Proporcionar al Departamento de Citometría un flujo grama específico para el diagnóstico del inmunofenotipo y control de Enfermedad Mínima Residual en los pacientes pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda B

### **FASES DEL PROCESO:**

- Fase pre-analítica
- Fase analítica

### **FASE PRE-ANALÍTICA**

**Tabla 6 FASE PRE-ANALÍTICA (Córdoba, 2016)**

<ul style="list-style-type: none"> <li>• La recepción de las muestras en el servicio de Citometría de Flujo es en tubos de 5ml con anticoagulante y se las almacena a 8<sup>o</sup> C hasta el momento de su análisis.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Correcta rotulación e identificación del espécimen con su respectiva solicitud de estudio, indicando datos completos del paciente</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Para obtener mejores resultados se trabaja con 100ml de la muestra, tomando en cuenta que puede existir contaminantes extracelulares y recuentos leucocitarios mayores a 20.000 cel/<math>\mu</math>L; en tal situación se realiza una dilución 1:1 con solución salina (NaCl 0.5%) estéril, hasta obtener una concentración aproximada de <math>1 \times 10^4</math> células/<math>\mu</math>L (esto solo se realiza para la determinación del inmunofenotipo)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Para la marcación de anticuerpos en la superficie. Se coloca 5<math>\mu</math>L de cada anticuerpo monoclonal marcado con el fluorocromo en cada tubo de acuerdo al panel que se va a utilizar.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agregar 100<math>\mu</math>L de la suspensión de la muestra con <math>1 \times 10^4</math> células/<math>\mu</math>L a los distintos tubos marcados previamente se agita y se incuba por 15-20 minutos en oscuridad y a temperatura ambiente</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Añadir 2 ml de la solución lisante ( FACS lysing solution) y se agita</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• La muestra lisada se la deja a temperatura ambiente y oscuridad de 10-15 minutos</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se procede a centrifugar a 1600 rpm y descartar el líquido de la superficie</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se realiza dos lavados con 2 ml de PBS y se centrifuga y luego se agrega 500<math>\mu</math>L de PBS a cada tubo</li> </ul>

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Para la tinción intracelular A las células que quedaron en la base (pellet) se le agrega 100 µL de solución Permeabilizante Perm 2 y se incuba por 15 minutos a temperatura ambiente y oscuridad.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lavar con 2mL de PBS, y agitar.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se centrifuga y se elimina lo que queda en la superficie.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se procede a marcar con los anticuerpos de tipo intracitoplasmáticos y se deja incubar.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Por último se agrega PBS en cada tubo y se adquiere en el Citómetro.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• La calibración y compensación del citómetro se realiza a diario mediante el uso de las perlas para calibrar CS&amp;T.</li> </ul>

## FASE ANALÍTICA

Tabla 7 FASE ANALÍTICA (Córdova, 2016)

<ul style="list-style-type: none"> <li>• El Citómetro de Flujo FACS Canto II, utiliza el programa FACS DIVA 6.0</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Para el estudio inicial (inmunofenotipo) se adquiere a 50.000 eventos por tubo.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Para estudio de Enfermedad Mínima Residual se adquiere 1'000.000 de eventos</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los paneles de anticuerpos monoclonales que se usan en el laboratorio de Citometría de Flujo del ION- SOLCA, toman como base los diseñados por el grupo Euroflow</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• La determinación del inmunofenotipo se lo realiza a todos los pacientes con sospecha diagnóstica de Leucemia Linfoblástica Aguda como primer estudio de Citometría de Flujo para establecer su estirpe, siendo un primer panel general:</li> </ul>

## TUBO ALOT

Tabla 8 Tubo ALOT (Córdova, 2016) (Cytognos) (Recalde, 2016)

V450	V500	FITC	PE	PERCP	PECY7	APC	APCH7
CyCD3	CD45	CyMPO	CD79a	CD34	CD19	CD7	SmCD3

Una vez que se determina que la muestra pertenece a una LLA-B, se realiza el siguiente panel

## TUBO LLA – B

Tabla 9 Tubo LLA-B (Cytognos) (Córdova, 2016) (Recalde, 2016)

V450	V500	FITC	PE	PERCP	PECY7	APC	APCH7
CD20	CD45	CD58	CD66c	CD34	CD19	CD10	CD38
SmIgKappa	CD45	cyIgM	CD33	CD34	CD19	SmIgM	SmIgLambda
CD9	CD45	TDT	CD13	CD34	CD19	CD22	CD24
CD21	CD45	CD15 & CD65	NG2	CD34	CD19	CD123	CD81

## Resultados del Análisis del inmunofenotipo

Tabla 10 Resultado del análisis del inmunofenotipo (Moreno, y otros, 2016) (Orfao, Inmunofenotipo en Leucemias Agudas, 2002)

LLA de células B	INMUNOFENOTIPO
Pro- B	CD79+CD19+CD10-CyIg-SmIg-
B- Común	CD79+CD19+CD10+CyIg-SmIg-
Pre-B	CD19+CD10+CyIg+SmIg-
B- Madura	CD19+CD10+CyIg-/SmIg+

CyIg: Inmunoglobulinas en el citoplasma.

Sm Ig: Inmunoglobulinas en la superficie de la membrana (Orfao, Inmunofenotipo en Leucemias Agudas, 2002) (Moreno, y otros, 2016)

Para la realización de los estudios posteriores en los pacientes pediátricos con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda B, se utiliza los paneles de Enfermedad Mínima Residual

La valoración de la Enfermedad Mínima Residual se debe realizar en todos los pacientes con diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda B que hubieran iniciado su esquema de tratamiento.

Se lo realiza el día 15 (durante la inducción), día 35 (al finalizar la inducción), al finalizar la consolidación (día 78 para los de Riesgo estándar, día 43 para los de alto y muy alto riesgo) como factores predictores de recaída

En los pacientes sometidos a trasplante los controles son a los 30, 60 y 90 días post-trasplante y luego cada 3 meses según el criterio de Oncología Pediátrica Luego se los realiza al finalizar la fase de mantenimiento y los controles post-tratamiento de acuerdo a solicitud de la valoración por el departamento de Oncología Pediátrica

El panel a utilizar para el estudio de Enfermedad Mínima Residual es el siguiente:

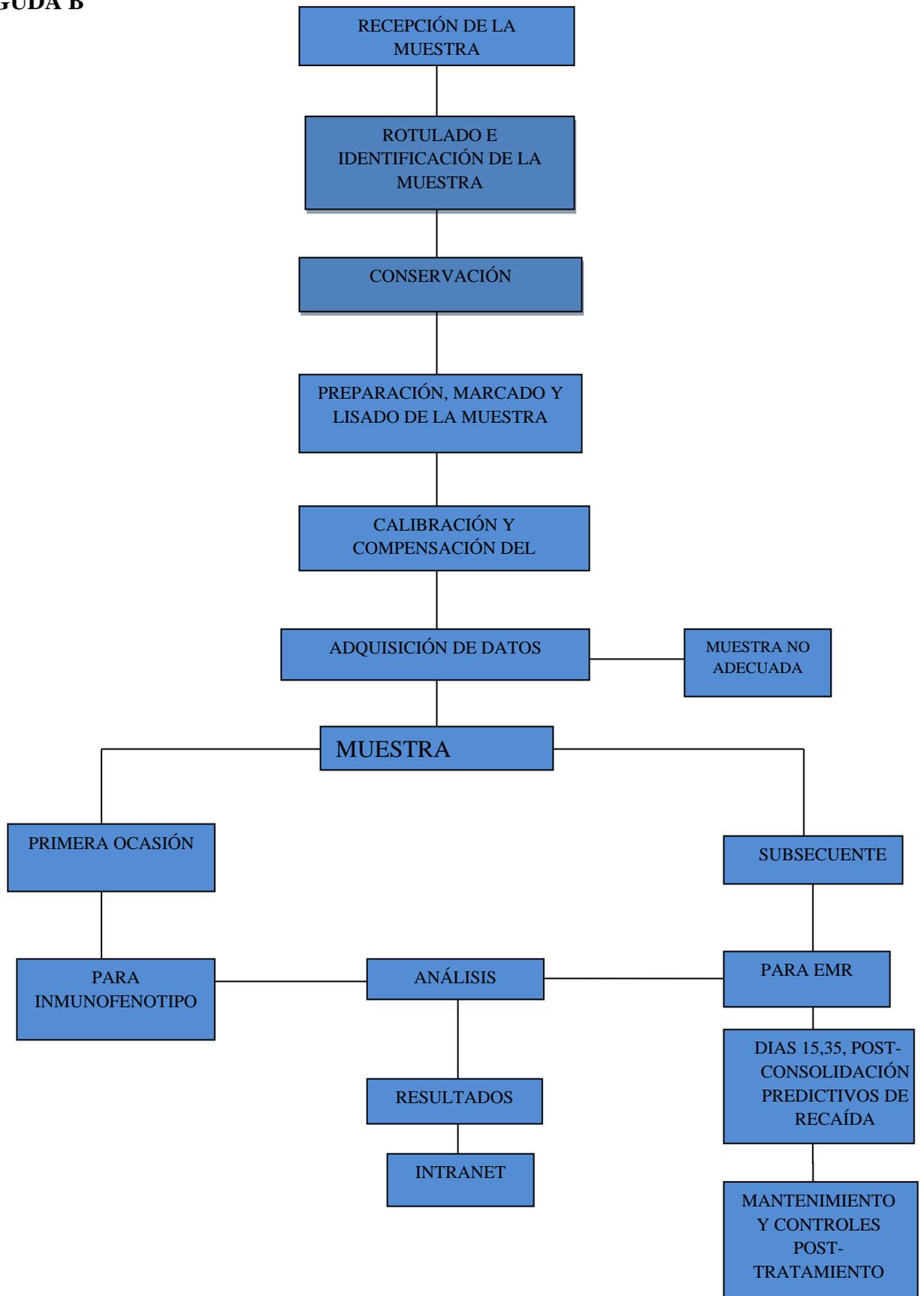
### TUBO LLA – B EMR

Tabla 11 Tubo LLA-B EMR (Cytognos) (Córdova, 2016) (Recalde, 2016)

V450	V500	FITC	PE	PERCP	PECY7	APC	APCH7
CD20	CD45	CD81	CD66c + CD123	CD34	CD19	CD10	CD38
CD20	CD45	CD81	CD73 + CD304	CD34	CD19	CD10	CD38

Revisado y aprobado por: Dra. Aurora Romero Coronel Jefe del Servicio de Citometría de Flujo. Elaborado por: Md Victor Villarroel Laínez R3 Anatomía Patológica.

**PROTOCOLO DE PROCESOS PARA EL ESTUDIO POR CITOMETRIA DE FLUJO EN PACIENTES PEDIATRICOS CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA B**



### ANEXO 3

#### CÁLCULO COMPLETO DEL CHI CUADRADO

¿Cuál es la relación entre la presencia de Enfermedad Mínima Residual positiva post-consolidación y la presencia de recaída medular?

**Tabla 12** Tabla de datos con las frecuencias observadas (fo) entre las dos variables: Enfermedad Mínima Residual post-consolidación y la presencia de recaída medular

EMR post-consolidación	Recaída Medular		Frecuencias marginales
	No	Si	
Negativa	20	6	26
Positiva	50	31	81
Frecuencias marginales	70	37	107

Fuente: Historias clínicas de los pacientes del Hospital ION SOLCA

En base a este cuadro de datos aplicamos la Hipótesis Nula (H0): Las variables son independientes y la Hipótesis Alternativa (Ha): Las variables están relacionadas. Se calculo las frecuencias totales marginales de las filas y las columnas.

**Tabla 13** Tabla de datos con las frecuencias esperadas (fe) entre las dos variables: Enfermedad Mínima Residual post-consolidación y la presencia de recaída medular

EMR post-consolidación	RECAIDAS	
	No	Si
Negativa	17,01	8,99
Positiva	52,99	28,01

La tabla de frecuencias esperadas (fe) la obtenemos según la fórmula:

$$fe = (\text{total de la fila}) (\text{total de la columna}) / \text{total}$$

Luego se utilizo la siguiente la siguiente fórmula para calcular el chi-cuadrado:

$$\chi^2 = \sum \frac{(fo - fe)^2}{fe}$$

Donde el  $\chi^2$  se obtiene  $(\text{frecuencia observada} - \text{frecuencia esperada})^2 / \text{frecuencia esperada}$

**Tabla 14 :  $\chi^2$  (chi cuadrado)**

EMR post-consolidación	RECAIDAS		Total general
	No	Si	
Negativa	0,53	0,99	
Positiva	0,17	0,32	X2
Total general	0,69	1,31	2,01

Siendo el valor del chi cuadrado experimental es de 2,01

Se calcula el grado de libertad (GL) con la siguiente fórmula:

$$GL = (\text{número de filas} - 1) * (\text{número de columnas} - 1) = 1$$

Usando la tabla de chi-cuadrado teórico, con un grado de libertad de 1 y con un margen de error de 0.05 (5%)

$$X^2_{0.05 * 1} = 3,841$$

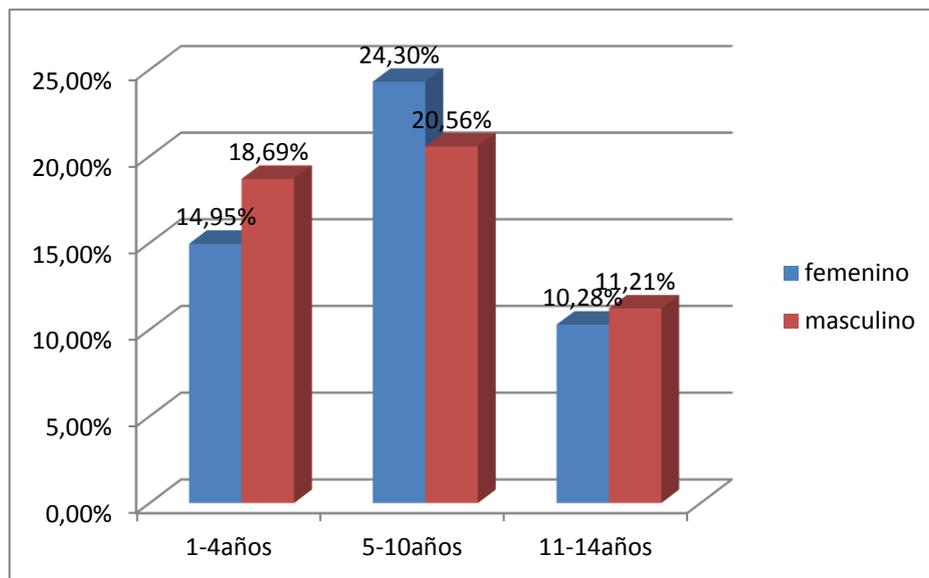
Siendo el valor experimental menor al valor teórico; se concluye que la presencia de Enfermedad Mínima Residual post-consolidación y de recaída medular son variables independientes la una de la otra, confirmando la validez de la Hipótesis nula (H0)

## ANEXO 4

### TOTAL DE CASOS EN RELACIÓN AL SEXO Y GRUPOS DE EDAD

EDAD	SEXO		Total general
	Femenino	masculino	
1-4años	16	20	36
5-10años	26	22	48
11-14años	11	12	23
Total general	53	54	107

**Tabla 15 TOTAL DE CASOS EN RELACIÓN AL SEXO Y GRUPOS DE EDAD**



**figura 11 CASOS EN RELACIÓN AL SEXO Y GRUPOS DE EDAD**

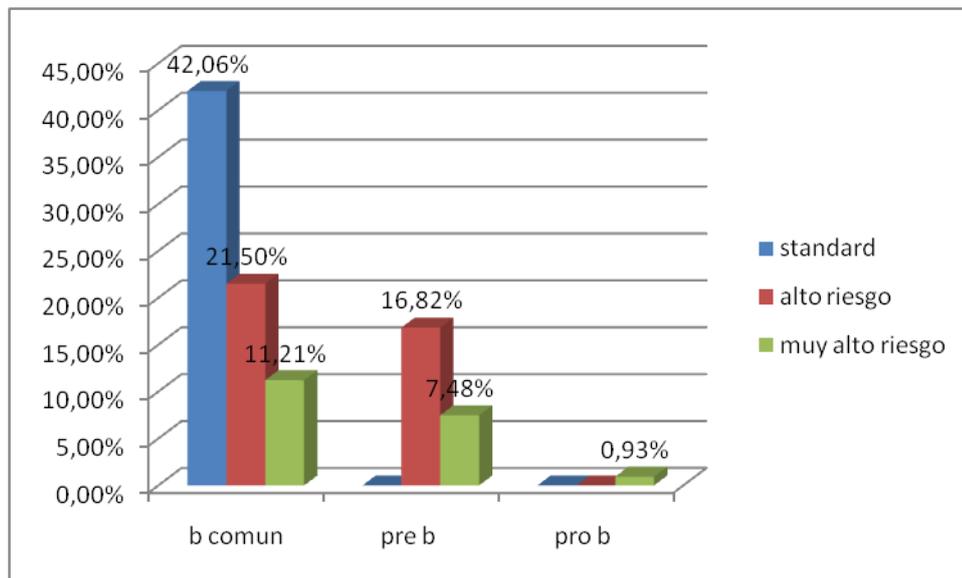
De acuerdo a la edad; en el grupo de 1-4 años: 16 eran femeninos (14,95%) y 20 masculinos (18.69%); en el grupo de 5-10 años: 26 femeninos (24,3%) y 22 masculinos (20,56%); y en el grupo de 11-14 años: 11 femeninos (10.28%) y 12 masculinos (11.21%)

## ANEXO 5

### TOTAL DE CASOS EN RELACIÓN A LOS GRUPOS DE RIESGO

INMUNOFENOTIPO	GRUPOS DE RIESGO			Total general
	stándard	alto riesgo	muy alto riesgo	
b Común	45	23	12	80
pre b		18	8	26
pro b			1	1
<b>Total general</b>	<b>45</b>	<b>41</b>	<b>21</b>	<b>107</b>

**Tabla 16 TOTAL DE CASOS EN RELACIÓN A LOS GRUPOS DE RIESGO**



**figura 12 CASOS EN RELACIÓN A LOS GRUPOS DE RIESGO**

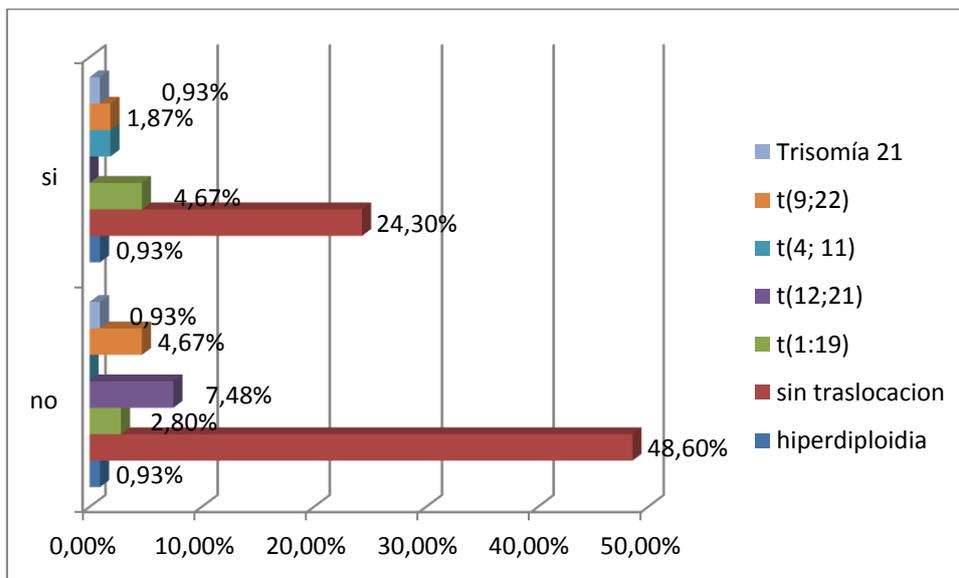
En cuanto al inmunofenotipo de acuerdo a los grupos de riesgo: en el tipo B Común 45 pertenecían al grupo Standard (42.06%), 26 al de Alto Riesgo (21,5%), 12 al de Muy Alto Riesgo (11.21%); al tipo Pre-B : ninguno pertenecía al grupo Standard , 18 al de Alto Riesgo (16,82%) y 8 al de Muy Alto Riesgo (7.48%); y al tipo Pre-B solo hubo un paciente de Muy Alto Riesgo (0.93%) del total de pacientes estudiados

## ANEXO 6

### TOTAL DE CASOS DE RECAÍDA MEDULAR EN RELACIÓN A LAS TRANSLOCACIONES ENCONTRADAS POR BIOLOGÍA MOLECULAR EN LOS PACIENTES PEDIÁTRICOS CON DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B

	hiperdiploidía	sin traslocación	t(1;19)	t(12;21)	t(4; 11)	t(9;22)	Trisomía 21	Total general
No	1	52	3	8		5	1	70
Si	1	26	5		2	2	1	37
<b>Total general</b>	<b>2</b>	<b>78</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	<b>107</b>

**Tabla 17 TOTAL DE CASOS DE RECAÍDA MEDULAR EN RELACIÓN A LAS TRANSLOCACIONES ENCONTRADAS POR BIOLOGÍA MOLECULAR EN LOS PACIENTES PEDIÁTRICOS CON DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B**



**figura 13 CASOS DE RECAÍDA MEDULAR EN RELACIÓN A LAS TRANSLOCACIONES**

Grafico . Los datos fueron obtenidos de las historias clínicas del Hospital ION SOLCA

En cuanto a la presencia de translocaciones en los casos estudiados observamos que de los 107 casos 78 no presentaron translocación y de esos 52 hicieron recaída (24,30%), 8 presentaron t(1;19) de ellos 5 hicieron recaída (4.67%), 8 presentaron t(12;21) de ellos ninguno hizo recaída, 2 presentaron t(4;11) y ambos hicieron recaída (1,87%), 7 presentaron t(9;22) y 2 de ellos hicieron recaída(1,87%), 2 presentaron trisomía 21 y uno de ellos hizo recaída (0.93%), con lo que se deduce que a pesar de que las translocaciones t(1;19) y t(12;21) son más frecuentes que las otras, la t(4;11) presento recaída en todos sus casos (2)