



**UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

**“FRECUENCIA DE MARCADORES MOLECULARES EN LEUCEMIA
MIELOIDE CARACTERIZADA POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN
PACIENTES DE SOLCA 2015-2019”**

Proyecto de investigación previo a la
obtención del título de Licenciado en
Laboratorio Clínico.

Autores:

Maybery Rosibel Suárez Elizalde

C.I. 0106699358

Correo electrónico: mayberysuarezelizalde@gmail.com

Christian Andrés Quezada Alvear

C.I. 0105820641

Correo electrónico: christian.q14@hotmail.com

Director:

Dr. Gabriele Davide Bigoni Ordoñez

C.I. 1711901429

Cuenca, Ecuador

13- octubre - 2021



RESUMEN

Antecedentes: La citometría de flujo es un método rápido, objetivo y cuantitativo de análisis de características físicas/químicas celulares, técnica de gran utilidad en el diagnóstico de la leucemia y su clasificación por medio de la inmunofenotipificación celular.

Objetivo: Describir la frecuencia de marcadores moleculares en leucemia mieloide caracterizada por citometría de flujo en pacientes de SOLCA, 2015 —2019.

Metodología: El presente estudio fue de tipo descriptivo transversal cuyo universo estuvo conformado por todas las historias clínicas completas de pacientes diagnosticados con LM en el período 2015-2019 en SOLCA/Cuenca. Se analizó los datos demográficos de cada paciente que se realizó pruebas para detección de marcadores moleculares de la LMA mediante Citometría de Flujo y PCR. Los datos se recopilaron a través del sistema de información de SOLCA, la interpretación de la información se realizó mediante tablas y gráficos estadísticos.

Resultados: los casos analizados en el estudio comprendían edades entre los 0 a 90 años, las edades más frecuentes fueron desde los 11 a 20 años. La provincia con más casos fue Azuay. De los casos analizados 55 fueron del sexo femenino y 52 del sexo masculino, 40 casos con diagnóstico de LMA presentaron el subtipo M3 siendo el más frecuente en el estudio, el marcador celular con predominancia fue el CD33 con una positividad en 103 de los casos y la alteración cromosómica con mayor frecuencia detectada fue la PML/RARa t(15;17) con presencia en 29 casos.

Palabras clave: Cáncer. Leucemia mieloide aguda. Leucemia mieloide crónica. Marcadores moleculares. Citometría de Flujo.



ABSTRACT

Background: Flow cytometry is a rapid, objective and quantitative method of analysis of cellular physical/chemical characteristics, a very useful technique in the diagnosis of leukemia and its classification by cellular immunophenotyping.

General Objective: To describe the frequency of molecular markers in myeloid leukemia characterized by flow cytometry in SOLCA patients, 2015 - 2019.

Methodology: The present study was a cross-sectional descriptive study whose universe consisted of all complete medical records of patients diagnosed with AML in the period 2015-2019 in SOLCA/Cuenca. The demographic data of each patient who underwent testing for AML molecular markers by Flow Cytometry and PCR was analyzed. Data were collected through the SOLCA information system, interpretation of the information was performed using statistical tables and graphs.

Results: The cases analyzed in the study ranged in age from 0 to 90 years, with the most frequent ages ranging from 11 to 20 years. The province with more cases was Azuay. Of the cases analyzed 55 were female and 52 were male, 40 cases with a diagnosis of AML presented the M3 subtype being the most frequent in the study, the predominant cell marker was CD33 with positivity in 103 cases and the most frequent chromosomal alteration detected was PML/RARa t(15;17) with presence in 29 cases.

Keywords: Cancer. Acute myeloid leukemia. Chronic myeloid leukemia. Molecular markers. Flow cytometry.



ÍNDICE

RESUMEN	2
ABSTRACT	2
CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	7
CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	8
CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL	9
CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL	10
AGRADECIMIENTO.....	11
DEDICATORIA.....	12
AGRADECIMIENTO.....	13
DEDICATORIA.....	14
CAPITULO I	15
1.1 INTRODUCCIÓN.....	15
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
1.3 JUSTIFICACIÓN	17
CAPITULO II	18
2. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	18
2.1 Hematopoyesis.....	18
2.2 Regulación de la hematopoyesis.....	23
2.3 Cáncer.....	26
2.4 Leucemia.....	27
2.4.1 Clasificación de las leucemias según el grado de diferenciación celular.	27
2.4.2 Epidemiología.....	28
2.5 Leucemia Mieloide Aguda	28
2.5.1 Epidemiología.....	29
2.5.2 Clasificación de la leucemia mieloide aguda	30
2.5.3 Factores de riesgo.....	32
2.6. Leucemia Mieloide Crónica	32
2.6.1 Epidemiología.....	33
2.6.2 Factores de riesgo.....	33
2.7 Diagnóstico de la Leucemia mieloide	33
2.7.1 Citometría de Flujo	33



2.7.1.1	Aplicación clínica de la citometría de flujo	33
2.7.1.2	Marcadores en la Leucemia mieloide aguda por Citometría de Flujo....	34
2.7.1.3	Marcadores moleculares usados en el diagnóstico de Leucemia mieloide en el Instituto del Cáncer - Solca por Citometría de Flujo.....	35
2.7.1.3.1	Panel Mieloide	35
-	CD117	35
-	CD33	35
-	CD13	35
-	Mieloperoxidasa citoplasmática.....	35
-	HLA-DR:.....	35
2.7.1.3.2	Panel de marcadores moleculares de descarte para Leucemia mieloide en el Instituto del Cáncer - Solca por Citometría de Flujo.....	36
2.7.1.3.2.1	Panel linfoide	36
-	CD79a	36
-	CD3	36
2.7.2	Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	36
2.7.2.1	PCR en Tiempo Real	37
2.7.2.2	Marcadores moleculares usados en el diagnóstico de Leucemias mieloide en el Instituto del Cáncer - Solca por PCR	37
-	BCR-ABL p210/190.....	37
-	ITD- FLT3.....	37
-	AML-1 ETO t (8,21)	38
-	PML-RAR α t (15.17).....	38
-	CBFB-MYH 11 INV (16)	38
-	ALL-AFB t (9,11)	38
CAPITULO III	39
3.	OBJETIVOS	39
3.1	Objetivo general	39
3.2	Objetivos específicos	39
CAPITULO IV	40
4.	METODOLOGÍA.....	40
4.1	TIPO DE ESTUDIO	40
4.2	ÁREA DE ESTUDIO.....	40
4.3	UNIVERSO Y MUESTRA.....	40
4.4	CRITERIOS DE INLCUSION Y EXCLUSION.....	40



UNIVERSIDAD DE CUENCA

4.5	VARIABLES DEL ESTUDIO.....	41
4.6	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES (ANEXO 1).....	41
4.7	MÉTODO, TÉCNICAS E INSTRUMENTOS.....	41
4.8	PROCEDIMIENTO	41
4.9	PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS	42
4.10	CONSIDERACIONES BIOÉTICAS	42
CAPITULO V		44
5.	RESULTADOS	44
CAPITULO VI		66
6.	DISCUSIÓN.....	66
CAPITULO VII		72
7.1	CONCLUSIONES.....	72
7.2	RECOMENDACIONES	73
CAPITULO VIII		74
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
CAPITULO IX		79
9.	ANEXOS.....	79
9.1	ANEXO 1: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	79
9.2	ANEXO 2: FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.....	82
9.3	ANEXO 3: OFICIO AL DIRECTOR DEL INSTITUTO DEL CÁNCER SOLCA-CUENCA.....	84



CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Maybery Rosibel Suárez Elizalde en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del proyecto de investigación **“FRECUENCIA DE MARCADORES MOLECULARES EN LEUCEMIA MIELOIDE CARACTERIZADA POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN PACIENTES DE SOLCA 2015-2019”**, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este proyecto de investigación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 13 de octubre de 2021

Maybery Rosibel Suárez Elizalde
C.I: 0106699358



CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Christian Andrés Quezada Alvear en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del proyecto de investigación **“FRECUENCIA DE MARCADORES MOLECULARES EN LEUCEMIA MIELOIDE CARACTERIZADA POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN PACIENTES DE SOLCA 2015-2019”**, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este proyecto de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 13 de octubre de 2021

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and vertical strokes, positioned above a horizontal line.

Christian Andrés Quezada Alvear
C.I: 0105820641



CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Maybery Rosibel Suárez Elizalde, autora del proyecto de investigación **“FRECUENCIA DE MARCADORES MOLECULARES EN LEUCEMIA MIELOIDE CARACTERIZADA POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN PACIENTES DE SOLCA 2015-2019”** certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 13 de octubre de 2021

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Maybery Rosibel Suárez Elizalde'.

Maybery Rosibel Suárez Elizalde
C.I: 0106699358



CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Christian Andrés Quezada Alvear, autor del proyecto de investigación **“FRECUENCIA DE MARCADORES MOLECULARES EN LEUCEMIA MIELOIDE CARACTERIZADA POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN PACIENTES DE SOLCA 2015-2019”** certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 13 de octubre de 2021

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and vertical strokes, positioned above a horizontal line.

Christian Andrés Quezada Alvear
C.I: 0105820641



AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios y a mi Ángel de la guarda por protegerme y guiarme en todo momento, a mi familia (Nani, Mamita Piya, Papito Jesús, Jordito, Negrita, Chinita, Papito Manuel y Emilita) por ser mi inspiración y mi apoyo incondicional en este camino y por siempre quererme con mis aciertos y desaciertos, además por siempre confiar y creer en mí y convertirme en una mujer empoderada y llena de valores, sin ustedes nada de esto sería posible, mi norte y horizonte son ustedes.

Un agradecimiento especial al Dr. Gabriele Bigoni O. por haber compartido sus conocimientos a lo largo de estos años en la carrera y sobre todo por empujarnos siempre a salir adelante y seguir subiendo peldaños en nuestra vida profesional, además por haber sido nuestro tutor de tesis por todo el tiempo y dedicación que le empleo a este proyecto de investigación.

Agradezco también con mucho amor y cariño a mi compañero de tesis y mi novio Christian Quezada por que juntos hicimos un gran equipo para poder llevar a cabo la elaboración del proyecto de investigación, gracias por siempre estar junto a mí.

Finalmente, agradezco a todos los maestros de la carrera de Laboratorio Clínico por haber impartido sus conocimientos con gran dedicación y responsabilidad, a lo largo de estos años de estudio, quiero extender también mis agradecimientos a SOLCA-Cuenca por la cavidad dada para poder realizar el proyecto de investigación en su institución.

Maybery Rosibel Suárez Elizalde



DEDICATORIA

Enfócate en tu meta y en lo que quieres lograr y lo que ayer era un sueño hoy es un logro. Dedico este trabajo a Dios, a mi familia y a todas las personas que hicieron que esto sea posible. Se lo dedico también a mi pequeño cachorrito mi Nano por todo su cariño y amor que me brinda todos los días. Se lo dedico a los docentes de la carrera que con una palabra de aliento me inspiraban a continuar el camino y darme cuenta de todo el potencial que poseo, también le quiero dedicar este logro a esa estrella que brilla en lo más alto del cielo a la Dra. Sandra Sempértegui Coronel gracias por todos los conocimientos que nos brindó.

Dedico todo este trabajo y logro al Dr. Gabriele Bigoni por ser un docente excepcional y extraordinario que me enorgullezco de haber sido su estudiante y haber aprendido tanto de alguien como él como persona y profesional.

Dedico este proyecto a mi novio Christian gracias por siempre apoyarme, creer en mí y por siempre hacerme sentir especial y amada, gracias porque sin ti no hubiera sido posible todo esto.

Y por último me dedico este logro a mí por nunca haberme rendido por continuar siempre frente a las adversidades y por demostrarme a mí mismo de todo lo que soy capaz.

Maybery Rosibel Suárez Elizalde



AGRADECIMIENTO

Ante todo, agradezco a Dios por guiarme y bendecirme a lo largo de todos estos años de estudio.

A mi madre, a mis hermanos por ser un pilar fundamental e incondicional en cada momento, quienes supieron guiarme y aconsejarme en los momentos más difíciles.

A mi profesor y director de tesis el Dr. Gabriele Bigoni quien fue motivo de inspiración y superación a lo largo de mi carrera universitaria, gracias por sus palabras, consejos y conocimiento que aportó en mí, para poder llegar a esta meta.

Un agradecimiento especial, a mi novia Maybery, que sin ella nada de esto fuera posible, gracias por darme cariño, comprensión y nunca dejarme solo en los momentos más difíciles de mi vida. Por enseñarme a no darme por vencido y que soy capaz de lograr grandes cosas.

Christian Andrés Quezada Alvear



DEDICATORIA

Por todas las bendiciones brindadas dedico este proyecto a Dios, quien es la base fundamental de mi vida.

A mi madre Patricia quien me ha acompañado día a día en este proceso, eres mi mayor inspiración, gracias por tus consejos, sabiduría y enseñanzas que me bridas, todos mis triunfos personales y profesionales te los debo a ti.

A mis hermanos Karen y Jorge, que me han apoyado siempre, son mi mejor motivación e inspiración, a ellos se los debo todo, gracias por ser esas personas admirables, por brindarme su apoyo y demostrarme que con esfuerzo y perseverancia lo puedo conseguir todo. A mis sobrinas Victoria, Amelia y Juan David, son el mejor regalo del cielo, que con sus ocurrencias me llenan de alegría y felicidad todos los días.

A mi novia Maybery, por ser mi apoyo, mi confidente, mi mejor amiga, eres la parte más fundamental de todos mis logros, agradezco a dios por ponerte en mi camino y por ser el motor de mi vida día a día.

Christian Andrés Quezada Alvear



CAPITULO I

1.1 INTRODUCCIÓN

La leucemia es una neoplasia maligna de la sangre que se caracteriza por la producción y proliferación anormal de leucocitos u otros tipos de células hemáticas que se encuentran en estadios inmaduros o indiferenciados, generando la supresión en la producción de células sanguíneas normales en la médula ósea. La transformación maligna de la célula tiene lugar a nivel de la célula troncal multipotente, aunque en ciertas ocasiones la mutación celular puede originarse en una célula progenitora temprana con capacidad de autorrenovación limitada. La leucemia mieloide aguda (LMA) se origina por modificaciones cromosómicas (translocaciones, deleciones, inserciones, inversiones, monosomías, trisomías y poliploidías) y diversas alteraciones genéticas (activación de oncogenes o desactivación de genes supresores de tumores), conduciendo a la inhibición de la hematopoyesis normal, generando un predominio de blastos sobre el resto de estirpes celulares. En cambio, la leucemia mieloide crónica (LMC) el 90% de los casos se produce por una translocación recíproca entre los cromosomas 9 y 22 (cromosoma Philadelphia) produciendo un gen de fusión denominado BCR-ABL, que altera la función de la kinasa intracelular lo que permite el desarrollo de la enfermedad, el 10% de los casos de LMC se origina debido a factores de riesgo ambientales como la exposición a radiación (1-3).

La Biología Molecular ha permitido profundizar en el componente molecular de múltiples enfermedades; en el campo de la oncohematología ha contribuido a obtener diagnósticos más precisos para implementar esquemas terapéuticos específicos. La citometría de flujo ha sido de utilidad para determinar tanto el número de células como las características de las mismas (tamaño y forma), además de identificar proteínas de superficie, intracelulares y nucleares. La aplicación de la citometría de flujo es esencial para el diagnóstico e identificación de leucemias (4-6).

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cáncer es la segunda causa de muerte a nivel mundial, en el 2015 ocasionó 8.8 millones de defunciones, según las estadísticas 1 de cada 6 decesos es debido al cáncer y el 70% de muertes reportadas por esta enfermedad se registra en países de medios y bajos ingresos. Un tercio de las muertes producidas es debido a factores de riesgo de tipo conductuales y dietéticos como el índice de masa



corporal elevado, alimentación deficiente y de mala calidad, falta de actividad física, además del consumo de tabaco y alcohol (7).

Según las estadísticas del Observatorio Mundial del Cáncer en el año 2018 a nivel mundial se presentaron 8'078.957 de casos nuevos de cáncer en ambos sexos, de los cuales el 52% correspondieron al sexo masculino y el 48% al sexo femenino; en ese mismo año se produjeron 9'555.027 de muertes a causa del cáncer. La tasa de incidencia del cáncer cada año en el mundo es de 439,2 casos por cada 100.000 hombres y mujeres, la tasa de mortalidad por cada 100.000 hombres es de 196,8 y 139,6 por cada 100.000 mujeres. En América Latina y el Caribe en el 2018 hubieron 3.7 millones de casos nuevos de cáncer (8-10).

En el 2018 los casos nuevos de leucemias fueron de 437.033 personas que comprendían edades de entre los 0 a 85 años que desarrollaron dicha patología a nivel mundial, causando la muerte de 309.006 personas con una tasa de mortalidad del 3,2%. La tasa de incidencia de casos nuevos por año de leucemia por cada 100.000 habitantes fue de 5,6 y 3,9 casos por hombres y mujeres respectivamente. En América Latina y el Caribe se presentaron 36.804 casos nuevos de leucemias con una tasa de incidencia del 2,6% y se produjo la muerte de 26.222 personas con una tasa de mortalidad del 3,9% (11).

La detección del cáncer en una fase avanzada y la falta de diagnóstico son problemas frecuentes, en el año 2017 más del 90% de los países con ingresos altos ofrecen tratamientos a todos los pacientes con neoplasias, en tanto que en los países de ingresos bajos menos del 30% de los pacientes oncológicos reciben tratamiento, demostrando una falta de accesibilidad a las terapias clínicas las personas de bajos ingresos, debido a que el cáncer presenta el más devastador impacto económico de todas las causas de muerte en el mundo, incluso mayor que la enfermedad cardiovascular, el costo anual de los cuidados médicos de los pacientes oncológicos supera los 60 billones de dólares anuales a nivel mundial, considerándose como una carga económica a esta enfermedad en países en vías de desarrollo y aún más en países con condiciones de extrema pobreza donde los médicos no pueden ofrecer el tratamiento oportuno a pacientes con cáncer (12).

Ante los datos expuestos surge la necesidad de dar respuesta a la siguiente interrogante: ¿Cuáles son los marcadores moleculares más frecuentes en leucemia mieloide caracterizada por citometría de flujo en pacientes de Solca 2015-2019 y por qué es importante el estudio de los mismos?



1.3 JUSTIFICACIÓN

La leucemia es más frecuente en hombres que en mujeres, además la edad es un factor de riesgo fundamental en el desarrollo del cáncer, el aumento de la edad acrecienta las probabilidades de la incidencia de la enfermedad, debido a que la acumulación de factores de riesgo se asocia con la pérdida de eficacia de los mecanismos de reparación celular en el organismo que suele suceder con el avance de la edad. En el 2015, SOLCA reportó en su informe anual la tasa de incidencia de la leucemia mieloide en el Ecuador observándose que tanto en el sexo masculino y femenino el grupo de edad comprendido entre los 75 a 79 años poseía la tasa más alta de incidencia, en hombres con el 19,4% y en mujeres con el 17,4%. En cambio, la tasa más baja de incidencia corresponde al grupo de edad entre los 10 a 14 años con el 0.8% tanto en el sexo masculino como femenino. A nivel nacional en el 2018 se registraron 28.058 casos nuevos de cáncer y para el año 2023 los casos de cáncer ascenderán a 63.729 (13).

La leucemia es una enfermedad multifactorial debido al efecto combinado de los factores genéticos y ambientales que actúan de forma simultánea y secuencial, por lo cual requiere de un diagnóstico pertinente fundamentado en técnicas como la citometría de flujo para la detección de moléculas que se expresan en la superficie de los leucocitos, que reflejan diferentes etapas de su diferenciación que es específica de su linaje o de diferentes estados de activación o desactivación celular, ayudando al pronóstico y tratamiento que se le brindará al paciente de acuerdo al tipo de LM detectado. Localmente no existen suficientes análisis sobre la inmunofenotipificación celular razón por lo cual la información aportará con datos estadísticos que reflejarán la frecuencia de los marcadores moleculares en la leucemia mieloide que colaborará con el estudio y comprensión de este tipo de cáncer.

El estudio se enmarca en las líneas de investigación establecidas por el Modelo de Priorización de Investigaciones en Salud 2013-2017 elaborado por el Ministerio de Salud Pública (MSP) del Ecuador, constando en el área de neoplasias, en la línea de investigación hematológica incluyendo el estudio de su perfil epidemiológico.



CAPITULO II

2. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1 Hematopoyesis

La hematopoyesis es el proceso biológico mediante el cual se da la generación, regulación, producción y mantenimiento de las células de la sangre como son los hematíes, leucocitos y plaquetas. Las células hemáticas se desarrollan a partir de una célula troncal. Estos elementos formes de la sangre presentan una vida media relativamente corta en la circulación sanguínea por lo que deben ser reemplazadas constantemente para mantener los niveles celulares estables a lo largo de la vida del individuo, además la generación de células periódicamente debe ajustarse a los requerimientos de las necesidades periféricas del organismo. Los eritrocitos presentan una vida media de 120 días, las plaquetas de 8 a 10 días y en los leucocitos su vida media dependerá según su tipo (granulocitos 8 a 10 horas mientras están en el torrente circulatorio, cuando migran hacia tejidos este tiempo varía de 1 a 2 días, los linfocitos tienen una vida media larga que puede extenderse hasta varios años). La hematopoyesis se origina en diversos sitios anatómicos durante el desarrollo embrionario, dándose como primer punto de origen de producción de células sanguíneas el saco vitelino en las primeras semanas de gestación, aquí se formarán agregados de células troncales que formarán colonias de células sanguíneas, estos agregados primigenios son los precursores de las células endoteliales. A partir del segundo mes de desarrollo embrionario la producción de células se origina en el hígado, bazo, ganglios linfáticos y timo, en cambio en el séptimo mes de gestación la médula ósea es el principal órgano hematopoyético hasta el nacimiento, siendo el único sitio anatómico de hematopoyesis, en el recién nacido el tejido hematopoyético activo o médula ósea roja rellena las cavidades de todos los huesos y a partir de los 5 hasta los 20 años los huesos van perdiendo su capacidad de originar células hemáticas, desde los 20 años en adelante el tejido hematopoyético queda conformado solo por las vértebras, esternón, costillas y pelvis. En condiciones patológicas el bazo y el hígado reasumen funciones en la producción de células sanguíneas proceso que se conoce como hematopoyesis extramedular. En la médula ósea las células germinales se diferencian hasta células más maduras cuyo proceso se regula por mecanismos complejos, además para el desarrollo de las células sanguíneas deben intervenir elementos químicos como son los factores de crecimiento. Las células sanguíneas emigran de la médula ósea hacia la circulación donde completan su maduración en el árbol vascular o tejidos. Para mantener las cifras normales de las células producidas debe existir un equilibrio entre proliferación, diferenciación y apoptosis de las mismas (14,15).

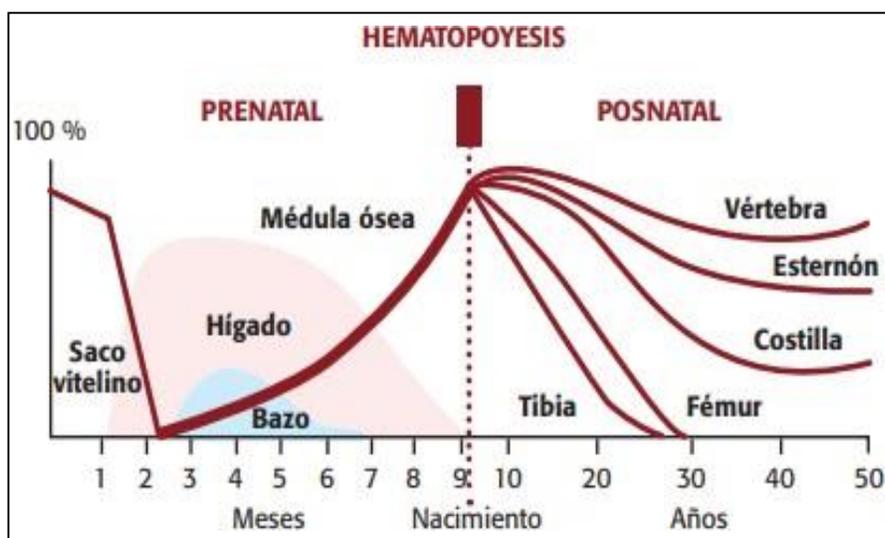


Figura 1: Localización de la Hematopoyesis en el ser Humano. **Fuente:** García, C; Moraleda, J.2017

La médula ósea provee de un microambiente óptimo para el anidamiento, proliferación y diferenciación de las células troncales hematopoyéticas, dicho microambiente consiste en una estructura tridimensional que se encuentra formado por células (endoteliales, reticulares adventiciales, macrófagos, linfocitos, adipocitos, osteoblastos), también contiene factores solubles como: de crecimiento, citocinas, interleucinas y quimiocinas, presenta proteínas de la matriz extracelular que son fibronectina, colágeno y laminina, estos componentes son esenciales para el desarrollo normal y correcto funcionamiento de las células troncales (14,16).

El sistema hematopoyético se encuentra conformado por diversos tipos celulares organizados en base jerárquica, por lo que se reconocen tres tipos de grupos que son: células troncales hematopoyéticas, células progenitoras y células maduras.

- 1. Células troncal hematopoyéticas o stem cell:** es un tipo de célula inmadura que puede dar origen a todos los linajes celulares diferenciados maduros como son los glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas. Es una célula pequeña, mononucleada, que se encuentra entre 1 a 5 por cada 10.000 células nucleadas de la médula ósea, aunque también se encuentran presentes en sangre periférica en valores mucho menores, pero pueden incrementar su número debido a procesos de quimioterapia o el uso de factores de crecimiento hematopoyéticos. La principal característica de estas células es su capacidad de autorrenovación, proliferación y diferenciación, dichas características se van perdiendo a medida que avanza el proceso de



maduración de una célula. La célula troncal inmadura no es detectable por microscopía convencional por lo que se requiere de técnicas inmunocitoquímicas para su identificación, las características inmunofenotípicas de este tipo de célula es la alta expresión del antígeno CD34 y la baja expresión de CD45 con la nula expresión de CD38, HLA-DR y CD33, la célula troncal común origina a la célula troncal progenitora y la diferenciación entre estos tipos celulares se asocia con la pérdida de expresión de CD34 (14,15).

TIPO	CARACTERISTICA
Célula troncal totipotencial	Presenta la capacidad de originar cualquier célula del organismo, incluyendo a tejidos embrionarios.
Célula troncal pluripotencial	Origina células de las tres capas germinales (endodermo, mesodermo y ectodermo), además produce células de origen fetal y adulta, pero no tiene la capacidad para originar tejidos extraembrionarios.
Célula troncal multipotencial	Son las encargadas de producir células específicas de una misma capa germinal (endodermo, mesodermo y ectodermo). Se encuentra en todos los tejidos en pequeñas proporciones, son las encargadas de reemplazar las células destruidos en los mismos.

Tabla 1: Tipos de células troncales hematopoyéticas. **Fuente:** García, I; Moraleda, J. 2017

- 2. Células progenitoras:** como se mencionó anteriormente este tipo de células se derivan de las células troncales hematopoyéticas, estas células progenitoras han perdido su capacidad de autorrenovación, pero aún conservan su potencial proliferativo. Las células precursoras pueden ser multipotenciales o bien puede limitarse a dos linajes por lo cual serían bipotenciales, en otros casos se restringe a un solo linaje o monopotenciales. Las células progenitoras pueden ser reconocidas por microscopía convencional a pesar de ser inmaduras ya que pueden ser identificadas por su morfología, estas células constituyen más del 90% de la celularidad de la médula ósea, al madurar los precursores originarán a las células sanguíneas circulantes en sangre periférica (16).
- **Progenitores granulomonocíticos:** los precursores mieloides incluyen unidades formadoras de colonias granulo-monocíticas (CFU-GM) que originan unidades formadoras granulocíticas (CFU-G) y unidades



formadoras de colonias monocíticas (CFU-M). Las CFU-G originan a los mieloblastos, promielocitos, mielocitos, metamielocitos y células maduras como: eosinófilos, neutrófilos y basófilos. En cambio, las CFU-M se diferencian sucesivamente a monoblastos, promonocitos, monocitos hasta finalmente macrófagos.

Inmunofenotípicamente se expresa en la línea granulocítica CD34, HLA-DR, CD33, CD13 y en la línea monocítica CD14.

1. **En la línea granulocítica:** en la etapa de mieloblasto se expresa el antígeno CD15, en el mielocito se expresa CD11b y en metamielocito CD14 y CD16, a medida que se van adquiriendo estos antígenos en cambio se va perdiendo CD33 y CD34.
 2. **En la línea monocítica:** la célula precursora CD34 primero adquiere CD33 y CD4, para posteriormente perder CD34 y expresar CD11b, CD14 y CD64.
- **Progenitores eritroides:** los precursores eritroides más inmaduros o primitivos son las unidades formadoras de colonias eritroides (BFU-E) con una alta capacidad de proliferación, las BFU-E van a originar a los progenitores eritroides más maduros o unidades formadoras de colonias eritroides (CFU-E) los cuales presentan una limitada tasa de proliferación, los mismos que darán lugar a los proeritoblastos, eritroblastos basófilos, eritroblastos policromatófilos, eritroblastos ortocromáticos, reticulocitos para convertirse finalmente en eritrocitos (15,16).
 - La eritropoyetina producida principalmente en las células renales y en menor cantidad en las células hepáticas es una de las principales citocinas que regulan la eritropoyesis cuya actividad es la de controlar la producción de la línea celular eritroide en la médula ósea. En las BFU-E la eritropoyetina actúa como agente mitogénico en cambio en las CFU-E su acción es de agente de sobrevivencia celular (16).
 - Inmunofenotípicamente los precursores eritroides más inmaduros expresan antígenos como CD34, CD38, CD71, CD45 a medida que las células van convirtiéndose en células maduras presentarán glicoforina C y A, además que la expresión de CD34, CD38, CD71, CD45 va disminuyendo, y se pierde la actividad de la expresión de HLA-DR (15).
 - **Progenitores megacariocíticos:** los precursores más primitivos son células formadoras de brotes megacariocíticos (meg-BFC) que originan posteriormente a las células formadoras de colonias de megacariocitos



(meg-CFC), estas colonias forman precursores poliploides llamados megacariocitos inmaduros que desarrollaron un citoplasma maduro que dará lugar a megacariocitos maduros para posteriormente convertirse en plaquetas.

- El regulador del proceso megacariocítico es la trombopoyetina ya que origina el crecimiento de los meg-CFC aumentando la tasa de endocitosis para estimular el proceso de diferenciación a megacariocitos maduros (16).
- Inmunofenotípicamente los precursores megacariocíticos expresan antígenos CD34, CD33, CD61, CD41 y CD42, los marcadores CD41, CD42 y CD61 son específicos en esta línea celular y permanecen a lo largo de la maduración del megacariocito.
- **Progenitores linfoides:** los precursores linfoides tempranos (ELPs) son los encargados de originar a los progenitores linfoides comunes (CLPs) que a su vez originan a los linfocitos B y células natural Killer (NK) en la médula ósea. Los ELPs colonizan el timo para iniciar en ese sitio la linfopoyesis de linfocitos T.

Inmunofenotípicamente en la línea celular linfoide se expresa:

1. **Precursores celulares de la línea B:** en esta línea celular se expresa antígenos como CD34, CD38, CD19, HLA-DR y la enzima TdT. En una etapa posterior se adquieren CD10, CD20, CD21, CD22, CD24, con el proceso de maduración se pierden los marcadores CD10, CD34 y la enzima TdT.
2. **Precursores celulares de la línea T:** se expresarán marcadores como CD34, CD117, HLA-DR, CD7, CD45, CD44 y la enzima TdT. Posteriormente se adquiere CD1, CD2, CD5. En sangre periférica los linfocitos T maduros expresan CD7, CD2, CD5, CD3 y CD4/CD8.

La maduración celular en cada uno de los linajes hematopoyéticos está definida por dos procesos fundamentales, primero la pérdida de su capacidad de autorrenovación y la adquisición de una identidad específica, para lograr esto los genes que mantienen la capacidad de autorrenovación se apagan, en cambio los genes que regulan la diferenciación celular se encienden, con este proceso se distinguen a las células progenitoras, conjuntamente con la participación de los factores de crecimiento que ayudan a determinar el destino de cada célula madura originada y su función definitiva. Las células sanguíneas maduras y diferenciadas en la médula ósea deben migrar a la circulación periférica desde los cordones



medulares atravesando la pared sinusoidal que está conformada por células endoteliales, membrana basal y capa adventicia, en su paso de salida las células deben originar una apertura endotelial con lo cual se forma una barrera selectiva de primer orden, mientras que la capa adventicia modula la intensidad de paso de las células medulares hacia la circulación sanguínea. Las células maduras que en procesos normales circulan son los reticulocitos y eritrocitos; granulocitos en banda y segmentados, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos, linfocitos y plaquetas. En procesos patológicos como neoplasias o fibrosis se altera la estructura de la pared sinusoidal lo que genera el paso de células inmaduras hacia la sangre periférica (15-17).

2.2 Regulación de la hematopoyesis

En el organismo de un individuo adulto la hematopoyesis está regulada por el microambiente medular como por los factores de crecimiento, para el desarrollo de las células troncal y la diferenciación de las mismas es necesario un microambiente adecuado.

- **Factores de crecimiento de colonias**

Los factores de crecimiento cumplen su acción por medio de los receptores de membrana de la célula diana que son sitios específicos para cada uno de ellos, cuya expresión de los factores juega un papel importante en la regulación celular. Los factores de crecimiento son sintetizados por los macrófagos, linfocitos T estimulados, células endoteliales y fibroblastos, aunque también se producen en lugares distantes y son transportados a la médula ósea, ejemplo la eritropoyetina que se origina en las células intersticiales en el riñón. Estos factores son glicoproteínas codificadas por genes que se han clonado, cada factor actúa sobre los receptores de una célula concreta, pero en general se necesitan varios que actúen de forma conjugada para estimular la diferenciación hacia una línea celular en específico (14,15).

Clasificación

Algunos factores pueden presentar más de un tipo de acción o incluso ser antagónicos, por lo que se clasifica a los reguladores de la hematopoyesis en los siguientes grupos:

- a. Factores estimuladores:** su acción es de inducir por si mismos la proliferación de determinados progenitores hematopoyéticos.

Estos a su vez se clasifican en los siguientes tipos de factores de crecimiento:

Tipo	Acción	Factores
Clase I	Actúan sobre células primitivas o inducen una diferenciación en cualquier línea celular.	Stem cell factor, interleucina (IL) 3, factor granulocito/monocito (GM-CSF ¹) y IL-6.
Clase II	Actúan sobre células más maduras y son específicos para cada línea celular. Además de inducir la proliferación y diferenciación de las células progenitoras mejoran la función de las células maduras.	Granulocitos (G-CSF), macrófagos (M-CSF), eritropoyetina (EPO), trombopoyetina (TPO).

Tabla 2: Tipos de factores estimuladores de crecimiento de colonia celulares.

Fuente: Gámez, I; Porrino, M; Ibáñez, A. 2010.

b. Factores potenciadores: estos no tienen actividad estimuladora propia, pero aumentan la acción de los factores estimuladores.

Tipo	Acción
Interleucina 1	Su acción es la de aumentar la activación de las células T en respuesta al antígeno.
Interleucina 2	Encargada de la proliferación clonal de las células T, células B, macrófagos y células natural Killer (NK).
Interleucina 4	Actúa en la proliferación de los linfocitos B en reposo, estimula el crecimiento de eosinófilos y mastocitos.
Interleucina 6	Estimula la diferenciación de los linfocitos B a plasmocitos, además aumenta el número de células progenitoras megacariocíticas y el número de plaquetas circulantes.
Interleucina 7	Actúa en la regulación de la diferenciación de células B y T, además participa en el proceso de megacariocitopoyesis.
Interleucina 9, 10 y 11	Actúa sobre los progenitores primitivos de la línea eritroide y megacariocítica.

Tabla 3: Tipos de factores potenciadores de crecimiento.

Fuente: Gámez, I; Porrino, M; Ibáñez, A. 2010.

¹ Los CSFs son citocinas cuya acción es la estimulación de la proliferación de células troncales pluripotenciales.



c. **Factores inhibidores:** su función radica en el control de la producción normal celular. La regulación de las células progenitoras medulares para que mantengan un nivel adecuado de los elementos maduros circulantes en sangre periférica es un proceso complejo en el que actúan el microambiente medular, y diferentes moléculas como hormonas, factores de crecimiento y de transcripción, conjuntamente con las señales de retroalimentación provenientes de los tejidos periféricos basados en las necesidades del organismo (14,15).

Tipo	Acción
Interferón alfa o caquectina	Estimula la expresión de otros factores de crecimiento de forma autocrina, aumenta la sensibilidad celular de factores de crecimiento e induce la proliferación celular.
Interferón beta o linfotóxica	Su característica principal es su capacidad de provocar la muerte a diversas líneas celulares y estimula la diferenciación terminal de otras células.
Proteína inflamatoria de macrófagos	Presenta acción potenciadora sobre el desarrollo de los progenitores hematopoyéticos maduros, además presenta acción supresora sobre la proliferación de precursores primitivos.
Lactoferrina	Su acción es de forma indirecta por medio de la supresión de la liberación de interleucina 1.
Ferritina H	Su función es la de inhibir la formación de colonias de precursores maduros e inmaduros.
Prostaglandina E-1, E-2	Su acción es la inhibición de los precursores monocitarios y también en la línea granulocítica.
Factor inhibidor de leucemia	Es un factor capaz de inducir la diferenciación mieloide y de promover la proliferación e inhibir la diferenciación de las células pluripotentes embrionarias.
Factor de crecimiento transformador	Presenta acciones antiproliferativas sobre células endoteliales, macrófagos y linfocitos T y B, estos efectos actúan además sobre la supresión de hematopoyesis.

Tabla 4: Tipos de factores inhibidores de crecimiento.

Fuente: Gámez, I; Porrino, M; Ibáñez, A. 2010.

Alteraciones en el sistema hematopoyético puede conllevar a procesos de una sobreproducción de células hemáticas como es el caso de las leucemias en el que existe una alteración en la célula troncal o en su progenie cuya consecuencia



se observa en la proliferación y supervivencia celular por lo que en sangre periférica se observa células muy inmaduras, como resultado ocurre la inhibición de la hematopoyesis normal. A su vez las alteraciones en el proceso hematopoyético pueden ocasionar una producción celular deficiente como lo que se observa en la anemia aplásica donde el tejido medular es reemplazado por tejido adiposo como consecuencia de la disminución de los precursores hematopoyéticos (16,17).

2.3 Cáncer

El cáncer se origina mediante un proceso denominado carcinogénesis causado por anomalías hereditarias o adquiridas y mutaciones que modifican el material genético durante la replicación del ADN en células epiteliales o mesenquimatosas, plasmáticas, escamosas, melanocitos, astrocitos, células germinativas y células secretoras de hormonas, las anomalías que afectan al material genético pueden ser translocaciones, amplificaciones, deleciones o duplicaciones en el o los cromosomas de una célula. Las alteraciones pueden estar provocadas por agentes carcinógenos como irradiaciones de tipo ionizantes o ultravioleta, también intervienen en el desarrollo de cáncer algunos productos químicos como el humo de tabaco, de leña o el de la contaminación ambiental, además de agentes infecciosos como el virus del papiloma humano o el virus de la hepatitis B. Se conoce además que existen en el organismo proto-oncogenes que son susceptibles a mutar y convertirse en oncogenes que pueden desencadenar en cáncer, estos genes codifican receptores de factores de crecimiento y su mutación produce que siempre permanezcan activados lo que ocasiona un crecimiento celular en exceso y sin control (18,19).

Los genes que se alteran o modifican en el cáncer son de tres clases:

1. **Oncogén:** en su normalidad este gen se denomina proto-oncogén cuya actividad principal es la regulación de la división celular e inducir la apoptosis en las células como mecanismo normal de las mismas, por lo consiguiente cuando el proto-oncogén se encuentra alterado por algún tipo de lesión genética se transforma en un oncogén el cuál producirá una división celular descontrolada contribuyendo al desarrollo de cáncer (20).
2. **Genes supresores tumorales:** su función principal es la de detener la división celular y provocar la apoptosis, si estos genes llegan a alterarse como resultado se obtiene una célula que se divide sin control con una multiplicación excesiva, cuando estos genes pierden su funcionalidad normal ya sea por deleciones, translocaciones o mutaciones se van a originar los tumores.



- 3. Genes de reparación del ADN:** cuando el sistema encargado de reparación del ADN no funciona correctamente debido a mutaciones heredadas o adquiridas la tasa de acumulación de errores en el genoma será elevada a medida que se vayan produciendo las divisiones celulares. De acuerdo al grado en que estas mutaciones afecten a oncogenes o a los genes supresores tumorales aumentará la probabilidad de padecer de neoplasias malignas.

Por las mutaciones irreversibles en el material genético celular; el crecimiento, la división y la apoptosis celular se verá afectado ocasionando células inmortales, estas células que se multiplican de forma descontrolada llegan a formar masas de tejidos originando tumores en el organismo. Las células anaplásicas o mal diferenciadas pueden presentar un grado de diferenciación muy bajo indicando que las células tumorales son muy diferentes de la célula de la que se originan y pueden presentar una falta de especialización celular, entre más indiferenciada sea la célula mucho mayor será el grado de malignidad celular. El cáncer puede diseminarse y causar metástasis o la invasión de otros órganos y tejidos distantes de dónde se originó principalmente (19).

2.4 Leucemia

La leucemia se caracteriza por presentar una proliferación clonal, autónoma y anormal de las células hematopoyéticas que dan origen al resto de las células normales sanguíneas. Esto implica que una célula inmadura sufre un cambio genético que hará que se produzca sin control una clona anormal de sí misma. Las células anormales se multiplican en imagen y semejanza de ellas mismas, por lo que ocupan gradualmente el espacio de la médula ósea normal provocando anemia progresiva, sangrado anormal y predisposición a las infecciones en los pacientes que adquieren esta enfermedad. Cuando las células anormales invaden otros tejidos, se producirá falla del funcionamiento del órgano que se ocupa (21).

2.4.1 Clasificación de las leucemias según el grado de diferenciación celular

- 1. Leucemias agudas:** es una enfermedad de tipo invasiva en la que la transformación maligna ocurre en etapas precoces de diferenciación de las células progenitoras hematopoyéticas por lo que las células neoplásicas son indiferenciadas como blastos, produciéndose fallo medular e infiltración orgánica por acumulación. Sin tratamiento pueden llegar a ser fatales este tipo de enfermedad, pero pueden llegar a responder a las terapias de manera satisfactoria.



- 2. Leucemias crónicas:** las células neoplásicas transformadas conservan cierta capacidad de diferenciación por lo que esta enfermedad es menos invasiva que las de tipo agudas, los pacientes sufren un curso natural de la enfermedad más lento y crónico (14).

Las leucemias agudas y crónicas pueden clasificarse a su vez en: Leucemia linfoblástica aguda (ALL), Leucemia mieloide aguda (AML), Leucemia linfocítica crónica (CLL) y Leucemia mieloide crónica (CML), considerando la línea celular proliferativa de la cual derivan las células anaplásicas, las de tipo mieloide son las que el cambio celular se origina en el tipo de célula medular que generan los glóbulos rojos, blancos o plaquetas. Las de tipo linfocíticas o linfoblásticas se generan en el tipo celular medular que forman a los linfocitos. Los pacientes afectados presentan síntomas diferentes dependiendo del tipo de leucemia que presenten y son tratados terapéuticamente de forma distinta dependiendo de la variante de la enfermedad (22).

2.4.2 Epidemiología

En el 2018 se presentaron 1.188 casos nuevos de leucemia en el país con una incidencia del 4,2%, causando 887 muertes que representan una tasa de mortalidad del 6.1% de fallecimientos ocasionadas por el cáncer, según el Observatorio Mundial para el Cáncer en el Ecuador dentro de 5 años se presentarán 3.301 casos nuevos de leucemia. Por cada 100.000 personas la incidencia de leucemia en hombres es de 7,8%, mientras que en mujeres es del 6,1%. De los 10 tipos de cáncer más frecuentes en el país la leucemia ocupa el octavo lugar con una mortalidad del 5% en mujeres y del 7% en hombres (13).

2.5 Leucemia Mieloide Aguda

Este tipo de leucemia es una neoplasia maligna que se produce en una célula hematopoyética multipotencial que se caracteriza por la proliferación clonal de células blasticas anormales y trastornos en la producción de células sanguíneas normales que llegan a infiltrar la médula ósea, sangre periférica y tejidos, como resultado el paciente presenta anemia, trombocitopenia y leucopenia, o también pueden existir niveles normales o elevados de glóbulos rojos, blancos y plaquetas todo dependiendo del número de células leucémicas en sangre. Se puede evidenciar la acumulación de células anaplásicas en distintos estadios de maduración incompleta que desplaza a los elementos hemáticos sanos causando insuficiencia medular e infiltración extramedular en el bazo, hígado, piel, encías y

sistema nervioso central, la leucemia mieloide aguda es más común en adultos (23,24).

El proceso de origen de la AML se origina a partir de una célula troncal hematopoyética o célula progenitora en la cual se produce una serie de alteraciones genéticas que transforman el sistema de señalización celular, como consecuencia se ocasionan cambios en la funcionalidad y expresión de proteínas que son clave en los procesos de proliferación, muerte y diferenciación celular. Para la evolución de la leucemia mieloide aguda deben producirse dos clases de mutaciones, primero se producen las alteraciones de clase I que le ofrecen a la célula una ventaja proliferativa, seguido se originan las alteraciones de clase II cuya acción es la de bloquear el proceso de diferenciación celular, este modelo explica que la mayoría de las leucemias agudas son la consecuencia de dos mutaciones a nivel celular (25).

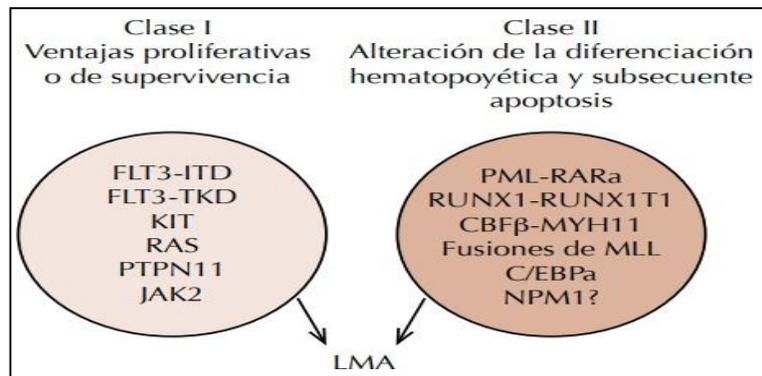


Figura 2: Modelo de interacción de las mutaciones asociadas con la aparición de Leucemia Mieloide Aguda.

Fuente: Lagunas, F; Pérez, V; Cortés, C. 2015

2.5.1 Epidemiología

La leucemia mieloide aguda es más frecuente en adultos presentándose en un 80% y en niños representa el 20% de casos de leucemia, muestra una tasa de incidencia anual por cada 100,000 personas de 3.9% y 3.4% en hombres y mujeres respectivamente a nivel mundial en pacientes menores a los 60 años, dicha patología es la causante del 1.2% de muertes por cáncer en el mundo, la incidencia de casos de la LMA aumenta con la edad, en mayores de 65 años los casos aumentan a 15 por cada 100.000 habitantes (23).



2.5.2 Clasificación de la leucemia mieloide aguda

Según la FAB ²	Subtipo	Morfología
M0	Leucemia mieloblástica aguda mínimamente indiferenciada	Blastos de tamaño mediano con cromatina nuclear dispersa, citoplasma agranular. Los blastos presentan rasgos morfológicos linfoides y mieloides, la LMA0 constituye el 5% de las LMA en el adulto y tiene un mal pronóstico.
M1	Leucemia mieloblástica aguda sin maduración	Blastos son de tamaño mediano, elevada relación núcleo-citoplasma, núcleo de cromatina laxa con presencia de varios nucléolos prominentes. Los blastos pueden contener una fina granulación azúrofila, puede haber bastones de Auer, el 3% de las células blásticas son mieloperoxidasa positiva.
M2	Leucemia mieloblástica aguda con maduración	Presenta células en estadios madurativos posteriores al mieloblasto en un porcentaje mayor al 10%, los blastos son pequeños a medianos, elevada relación núcleo-citoplasma, el núcleo presenta cromatina laxa con uno o varios nucléolos, el citoplasma es basófilo y puede contener un esbozo de granulación primaria azúrofila, ocasionalmente se pueden encontrar bastones de Auer. Las células blasticas son positivas para la mieloperoxidasa y el negro de Sudán B. La LMA2 corresponde al 30% de los casos de la LMA.
M3	Leucemia promielocítica aguda	Las células que se encuentran son promielocitos atípicos con granulación azúrofila, el núcleo tiene un aspecto monocitoide con presencia de una hendidura, el citoplasma es poco basófilo y se pueden observar inclusiones citoplasmáticas o astillas, las células son

² FAB: Grupo Cooperativo Franco Americano Británico.

		positivas para mieloperoxidasa y negro de Sudán B.
M4	Leucemia mielomonocítica aguda	Presenta un componente granulocítico y otro monocítico, los blastos monocíticos son de gran tamaño con relación núcleo-citoplasma moderado con basofilia variable, el núcleo puede ser arriñonado. Los blastos mieloides son positivos para la cloroacetatoesterasa y los monocitos para el naftol As-D-acetatoesterasa o la a-naftilbutiratoesterasa.
M5	Leucemia monocítica aguda	La LMA5 incluye dos subtipos: Monoblástica: monoblastos basofílicos grandes, citoplasma abundante basófilo con núcleos redondos con 1 o más nucléolos, se pueden observar bastones de Auer y prolongaciones o mamelones. Monocítica: promonocitos con núcleo irregular o arriñonado, citoplasma basófilo con gránulos azurófilos y presencia de vacuolas. Los blastos monocíticos son positivos para esterasas y negativos para mieloperoxidasa. La LMA5 constituye el 15% de los casos de la LMA.
M6	Leucemia eritroide aguda	La Eritroleucemia es la proliferación de elementos eritroides displásicos junto a elementos blásticos de origen mieloides. Los eritroblastos son medianos a grandes, presentan núcleos redondos con cromatina fina con uno o más nucléolos, citoplasma basófilo y vacuolas ocasionales, pueden observarse cuerpos de Howell-Jolly o anillos de Cabot. Este tipo de leucemia constituye el 5-6% de los casos de LMA.
M7	Leucemia megacarioblástica aguda	Megacarioblastos medianos agrandados, núcleo redondo o dentado con nucléolos de 1 a 3, el citoplasma es basófilo agranular con presencia de mamelones o seudópodos. La LMA7 representa el 3-5% de las LMA.

Tabla 5: Clasificación de la Leucemia Mieloides Aguda. **Fuente:** Asociación Española de Afectados por Linfoma, Mieloma y Leucemia. 2014.



2.5.3 Factores de riesgo

1. **Aspectos genéticos:** anemia de Fanconi, síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome de Down, síndrome de Klinefelter, síndrome de Patau.
2. **Administración de fármacos:** alquilantes, inhibidores de topoisomerasa II, fenilbutazona, cloroquina, cloranfenicol.
3. **Alteraciones hematológicas:** policitemia vera, trombocitemia esencial, mielofibrosis, hemoglobinuria nocturna paroxística, anemia aplásica.
4. **Factores ambientales:** exposición a radiación, bencenos, herbicidas, pesticidas, obesidad, alcohol.
5. **Factores biológicos:** edad avanzada o envejecimiento, sexo masculino (24).

2.6. Leucemia Mieloide Crónica

La LMC es una alteración mieloproliferativa crónica que se va a presentar debido a una anomalía genética que va a ocasionar la transformación maligna de una célula linfohematopoyética pluripotencial, este tipo de leucemia se origina principalmente debido a una translocación recíproca o balanceada entre el protooncogén ABL el cual se ubica en el cromosoma 9 y que se va a sobreponer sobre el gen BCR ubicado en el cromosoma 22 originándose un cromosoma 9 más largo de lo normal y un cromosoma 22 más corto que se denomina cromosoma Philadelphia que contiene la combinación de dos tipos de genes que funcionarán como un oncogén cumpliendo con la función de codificar una proteína llamada tirosina fosfocinasa que activará una serie de vías de transducción de señales que intervienen en el crecimiento y desarrollo normal de las células del tejido hematopoyético, dando como resultado un aumento en la proliferación celular que va a afectar la diferenciación y bloqueará la apoptosis de las células mutadas. En condiciones normales el gen ABL cumple con la funcionalidad de inducir la apoptosis en la célula, pero cuando esta se encuentra alterada cumplirá con la función contraria (2,17,24,26,27).

La leucemia mieloide crónica está asociada en el 95% de los casos con la presencia del cromosoma Philadelphia, mientras que el resto de los pacientes presentan translocaciones extrañas o complejas que pueden involucrar un tercer cromosoma. Hay excepciones de casos en que los sujetos presentan el cromosoma Philadelphia, pero no desarrollan la enfermedad por lo que se sugiere que esta alteración cromosómica se ha originado en células progenitoras comprometidas o



células precursoras cuya descendencia está destinada a morir después de cierto número determinado de divisiones celulares, explicando de esta manera porque no desarrollan la LMC (27).

2.6.1 Epidemiología

A nivel mundial, la leucemia mieloide crónica presenta una incidencia anual de 1 a 2 casos por cada 100.000 habitantes, el aumento de casos anualmente aumenta con la edad de <0,1 casos por 100.000 niños a 2,5 casos por 100.000 ancianos, la incidencia es más frecuente entre personas de 57 a 60 años, con una relación de 1,2 -1,7 hombre/mujer. No se han informado variaciones étnicas o geográficas significativas en la incidencia, pero se ha informado una edad de inicio más temprana del paciente en áreas donde el nivel socioeconómico es más bajo.

2.6.2 Factores de riesgo

No se conocen factores predisponentes para desencadenar la leucemia mieloide crónica, pero se ha relacionado con la exposición aguda a la radiación debido a la alta incidencia que se reportó de LMC en los sobrevivientes de la bomba atómica, además a diferencia de otros síndromes mieloproliferativos existe una ligera predisposición hereditaria (28).

2.7 Diagnóstico de la Leucemia mieloide

2.7.1 Citometría de Flujo

Es una técnica que permite analizar y cuantificar de manera simultánea diversas características de la célula, núcleos, cromosomas, mitocondrias u otras partículas en suspensión a medida que estas son transportadas en un fluido de manera alineadas e incididas por un haz de luz. El citómetro de flujo mide el tamaño y la granularidad de la célula, así como la fluorescencia emitida por la misma. Estas características se determinan mediante el uso de un sistema óptico que se encuentra acoplado a un procesador electrónico que registra y graba en la manera en que las células dispersan el haz de luz y emiten fluorescencia al ser excitadas las partículas por un rayo luminoso, estas señales de luz que se detectan se convierten en impulsos eléctricos los cuales se amplifican para ser medidas por medio de un software especial en la computadora (29,30).

2.7.1.1 Aplicación clínica de la citometría de flujo

- **Inmunofenotipificación**



La citometría de flujo permite el análisis de un gran número de células habitualmente entre 10,000 células por muestra y más de un millón en los estudios de enfermedad mínima residual. La aplicación de la citometría de flujo al análisis celular permite conocer aspectos físicos de la célula (tamaño y complejidad) y determinar la presencia o ausencia de determinados antígenos en los diferentes compartimentos celulares (superficie celular, citoplasma, mitocondria y núcleo) lo que contribuye a aumentar, tanto la especificidad como la sensibilidad de la prueba (30).

- **Valoración de marcadores de superficie celular**

La utilización de la inmunofluorescencia directa en la que los anticuerpos llevan directamente unido un fluorocromo identificativo para moléculas de superficie leucocitaria es sin duda la aplicación metodológica de base principalmente utilizada en citometría de flujo. Tanto en el campo de la definición de poblaciones “normales” como en la valoración de fenotipos alterados como en síndromes linfocíticos o mieloproliferativos. Se utiliza anticuerpos monoclonales como instrumentos moleculares, denominados de manera principal con las siglas CD (del inglés Cluster of Differentiation pues se definieron por la agrupación de anticuerpos monoclonales contra una molécula leucocitaria) más un número. Existen por el momento más de 350 CDs (desde el CD1 al CD350, y, además, existen subgrupos, como el de CD11a, CD11b, CD11c y CD11d o CD62L, CD62P o CD62E), diversas empresas los proveen con fluorocromos distintos y combinables en citometría multicolor. La “citometría multicolor de antígenos de superficie” es una herramienta ineludible en el diagnóstico y seguimiento de las neoplasias linfoides y mieloides, siendo una herramienta esencial para la subclasificación de estas enfermedades neoplásicas. Sin los datos de la citometría de flujo es ya imposible manejar correctamente pacientes con estas hematopatías (31).

2.7.1.2 Marcadores en la Leucemia mieloide aguda por Citometría de Flujo

Fenotipo	Normalmente Positivo
Mieloblástica	CD11b, CD13, CD15, CD33, CD117, HLA-DR
Mielomonocítica	CD11b, CD13, CD14, CD15, CD32, CD33, HLA-DR
Eritroide	Glucoforina, espectrina, antígenos ABH, anhidrasa carbónica I, HLA-DR
Promielocítica	CD13, CD33



Monocítica	CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD33, CD65, HLA-DR
Megacarioblástica	CD34, CD41, CD42, CD61, factor anti von Willebrand
Basófila	CD11b, CD13, CD33, CD123, CD203c

Tabla 6: Marcadores Moleculares en la Leucemia Mieloide Aguda. **Fuente:** Lichtman, M; Kaushansky, K; Kipps, T; Prchal, J; Levi; M. Williams Manual de Hematología.

2.7.1.3 Marcadores moleculares usados en el diagnóstico de Leucemia mieloide en el Instituto del Cáncer – Solca por Citometría de Flujo:

2.7.1.3.1 Panel Mieloide

- **CD117:** es una proteína transmembrana codificada por el protooncogén c-kit, que pertenece a la subfamilia del tipo III de los receptores tirosina quinasa, al unirse a su ligando el factor de células madre (SCF) esta proteína desempeña funciones de regulación de las actividades celulares como la apoptosis, diferenciación celular, proliferación y adhesión celular (32).
- **CD33:** es una molécula de sialoadhesina, se expresa en los mieloblastos, monoblastos, monocitos, macrófagos y en los mastocitos. Esta molécula no se expresa en los eritrocitos, plaquetas, células B, células T o en las células NK. El CD33 es un excelente marcador mieloide y se utiliza habitualmente para el diagnóstico de la LMA (33).
- **CD13:** es un ectoenzima de transmembrana que se expresa en los monocitos y granulocitos, pero no en los linfocitos, se observa además en células endoteliales, epiteliales y fibroblastos, así como en un amplio conjunto de tejidos (túbulos proximales renales, intestino y placenta). El CD13 cumple funciones como el procesamiento de antígenos, la adhesión y migración de células (34).
- **Mieloperoxidasa citoplasmática:** es una glicoproteína que se encuentra distribuida en el organismo cuya fuente principal son los neutrófilos, monocitos y macrófagos, esta enzima se utiliza como índice de diferenciación entre las leucemias linfoblásticas y mieloblásticas, por el aumento de la enzima en las leucemias de tipo mieloides (35).
- **HLA-DR:** antígeno leucocitario humano que codifica moléculas de superficie celular especializadas para presentar péptidos antigénicos al receptor de linfocito T (TCR) en los linfocitos T, suele estar presente sólo en las células presentadoras de antígenos (linfocitos B, macrófagos, células dendríticas, células de Langerhans) (36).



2.7.1.3.2 Panel de marcadores moleculares de descarte para Leucemia mieloide en el Instituto del Cáncer – Solca por Citometría de Flujo:

2.7.1.3.2.1 Panel linfoide

- **CD79a:** El CD79 es una molécula heterodimérica que comprende dos cadenas polipeptídicas, B29 (CD79b) y mb-1 (CD79a). Se encuentra unida a la superficie de las células B específicamente a la inmunoglobulina de membrana formando de esta manera el complejo receptor de antígeno de células B. La expresión de la cadena mb-1 (CD79a) está presente en la mayoría de las leucemias linfoblásticas agudas (LLA) de linaje B. Los anticuerpos contra CD79a y CD79b son útiles en el diagnóstico diferencial de neoplasias de células B con respecto a las neoplasias de células T o a neoplasias de tipo mieloides (37,38).
- **CD3:** es un antígeno de membrana que se expresa en los linfocitos T, primariamente se expresa en el citoplasma y posteriormente migra a la membrana celular donde se encontrará en todas las células T maduras sin expresarse en ningún otro tipo de célula, su principal función es catalogar la estirpe T del linfoma (39).

2.7.2 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

La PCR es una reacción enzimática *in vitro* que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que una secuencia blanca es copiada exactamente, para llevar a cabo este proceso la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la característica principal de sintetizar naturalmente el ADN de las células. La reacción se compone de un templado o molde a partir del cual la reacción se producirá ya que será el elemento inicial para comenzar a copiar las secuencias a estudiar, este proceso además requiere de la enzima, de oligonucleótidos o primers, los desoxirribonucleótidos trifosfatados o dNTPs (adenina, timina, citosina y guanina), el ion magnesio, una solución buffer y H₂O. Estos componentes interactúan en tres etapas principales que componen la PCR las cuales son: desnaturalización, hibridación y extensión. El equipo donde se lleva a cabo la reacción se denomina termociclador, que es diseñado para establecer un sistema homogéneo en donde las condiciones de temperatura y tiempo específicos no se modifiquen en cada uno de los ciclos que se producen. Al momento que ha finalizado la reacción es necesario verificar si la secuencia blanca se amplificó, los productos finales de la PCR se denominan amplicones y deben ser analizados en geles de agarosa donde se confirmará el éxito de la reacción.



2.7.2.1 PCR en Tiempo Real

El fundamento de la técnica de PCR en tiempo real es igual o parecida al principio de la PCR punto final o tradicional, con una variación en la forma en cómo se detectan y analizan los productos de la amplificación de la reacción debido a que esto es diferente en este tipo de PCR. El termino tiempo real hace referencia que en cada ciclo de la reacción se podrán detectar los productos amplificados, en cambio el termino cuantitativo indica que es posible cuantificar la cantidad de ADN en la muestra a diferencia de la PCR tradicional donde no es posible la cuantificación de la secuencia blanco. Estas características representan las grandes ventajas de la PCR en tiempo real ya que el producto de amplificación es monitoreado de acuerdo a como transcurra la reacción sin la necesidad de la utilización de un gel de agarosa para verificar si la reacción fue exitosa como ocurre en la PCR punto final (40).

2.7.2.2 Marcadores moleculares usados en el diagnóstico de Leucemias mieloide en el Instituto del Cáncer – Solca por PCR:

Fenotipo	Panel de diagnóstico Mieloide
LMA M0	BCR-ABL p190, p210, ITD FLT3
LMA M1	BCR-ABL p190, p210, ITD FLT3
LMA M2	AML-1 ETO t(8,21), ITD FLT3
LMA M3	PML-RAR α t(15.17), ITD FLT3
LMA M4	CBFB-MYHI 1 INV (16), ITD FLT3
LMA M5	BCR-ABL p190, p210, ALL-AFB t(9,11), ITD FLT3
LMA M6	BCR-ABL p190, p210, ITD FLT3

Tabla 7: Marcadores moleculares de la Leucemia mieloide por PCR. **Fuente:** Solca, 2020.

- **BCR-ABL p210/190:** cuando el gen ABL ubicado en el cromosoma 9 se une con el gen BCR en el cromosoma 22 se formará el gen de fusión BCR-ABL, a causa de estos reordenamientos se originan proteínas de fusión como p190 BCR-ABL, p210 BCR-ABL, que se asocian principalmente a leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide crónica y en la leucemia mieloide aguda estos genes de fusión BCR-ABL corresponden al 2% de los casos y sobre el 30% en la leucemia bifenotípica, siendo en ambas también un factor de mal pronóstico del curso de la enfermedad (41).
- **ITD- FLT3:** es un protooncogén que codifica una proteína de 993 aminoácidos de longitud que posee cinco dominios de tipo inmunoglobulina en la región extracelular encontrándose un dominio yuxtamembrana en



donde ocurren las mutaciones ITD o en tándem del gen, es tipo de gen participa en el proceso de la hematopoyesis en las fases de proliferación, diferenciación y apoptosis celular. El FLT3 se expresa en neoplasias como la leucemia mieloide aguda, leucemia linfoblástica aguda, y en la leucemia mieloide crónica asociándose su presencia en dichas patologías con un mal curso de la enfermedad (42).

- **AML-1 ETO t (8,21):** la translocación de tipo recíproca entre el cromosoma 8 (gen ETO) y cromosoma 21 (gen AML 1) genera dos genes de fusión AML 1/ETO en el cromosoma 21 ocasionándose por esta alteración una proteína anormal con múltiples efectos en la proliferación, diferenciación y viabilidad de las células, alterándose el proceso hematopoyético normal. La proteína de fusión reduce la reparación del ADN que al combinarse con una disminución de la expresión del gen de supresión tumoral p53 provoca un incremento del riesgo de la aparición de eventos leucemogénicos en el organismo, este tipo de alteración cromosómica se observa en pacientes con leucemia mieloide aguda subtipo M2 (43,44).
- **PML-RAR α t (15.17):** la translocación recíproca entre el gen PML que se encuentra situado en el cromosoma 15 y el gen RARA localizado en el cromosoma 17 originan un gen de fusión PML-RARAa el cual causa la proliferación anormal de células y bloquea la diferenciación de células blancas de la sangre en la etapa de promielocitos, este tipo de alteración estructural cromosómica se observa mayormente en pacientes con leucemia mieloide aguda subtipo M3 (45).
- **CBFB-MYH 11 INV (16):** debido a una inversión en el cromosoma 16 ocurrida en el brazo corto en la región 13 y en el brazo largo en la región 22 se produce un reordenamiento cromosómico originando un gen de fusión conocido como Cbfb-MYH11, cuyo gen tiene como función principal inhibir la diferenciación de las células hematopoyéticas, ralentizar la progresión del ciclo celular y retrasar la respuesta apoptótica de la célula, la expresión de Cbfb-MYH11 no es suficiente para la leucemogénesis, debe producirse una combinación de Cbfb-MYH11 y mutaciones adicionales para conducir al desarrollo de leucemia mieloide aguda observado este tipo de alteración en el subtipo M4Eo (46).
- **ALL-AFB t (9,11):** la translocación entre el cromosoma 9 y 11 entre sus regiones p21.3; q23.3 es uno de los reordenamientos más comunes de la lisina metiltransferasa 2A en la leucemia mieloide aguda de novo, presenta igual prevalencia en la leucemia mieloide aguda asociada al subtipo M5a algunas son M5b o M4 y en la leucemia linfoblástica aguda, presentando una predilección por los pacientes en el grupo de edad pediátrica (47).



CAPITULO III

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

- Describir la frecuencia de marcadores moleculares en leucemia mieloide caracterizada por citometría de flujo en pacientes de SOLCA período 2015 - 2019.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar los marcadores celulares más frecuentes y en qué tipo de leucemia mieloide se expresan.
- Relacionar los marcadores moleculares presentes con las variables edad, género y residencia.



CAPITULO IV

4. METODOLOGÍA

4.1 TIPO DE ESTUDIO

- Se realizó un estudio de tipo descriptivo transversal.

4.2 ÁREA DE ESTUDIO

- El estudio se realizó a partir de las historias clínicas completas de pacientes diagnosticados con Leucemia Mieloide Aguda en el área de Biología Molecular y Citometría de Flujo de SOLCA, ubicada en la provincia del Azuay, ciudad Cuenca, en la dirección: Av. Paraíso y Agustín Landívar.

4.3 UNIVERSO Y MUESTRA

- El universo estuvo conformado por todas las historias clínicas completas de pacientes diagnosticados con leucemia mieloide aguda en el Instituto del Cáncer, SOLCA- Cuenca, en el período 2015-2019. La muestra empleada para el estudio contempló la totalidad de fichas clínicas de los pacientes con leucemia mieloide aguda dentro del período establecido y que se hayan realizado las respectivas pruebas de análisis en el Área de Citometría de Flujo y Biología Molecular.

4.4 CRITERIOS DE INLCUSION Y EXCLUSION

Criterios de inclusión

- Historias clínicas completas de pacientes que hayan sido atendidos en SOLCA en el período 2015 - 2019.
- Historias clínicas completas de pacientes confirmados con leucemia mieloide aguda por citometría de flujo y que se hayan realizado las pruebas moleculares.

Criterios de exclusión

- Historias clínicas de pacientes que no hayan sido atendidos en SOLCA en el período 2015 - 2019.



- Historias clínicas de pacientes diagnosticados con leucemia linfocítica y leucemia mieloide crónica.
- Historias clínicas de pacientes incompletas.

4.5 VARIABLES DEL ESTUDIO

- **Variables dependientes:** subtipo de leucemia mieloide (M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7).
- **Variables independientes:** Edad, género, residencia, año de diagnóstico, marcadores moleculares por PCR (BCR-ABL p210, BCR-ABL p190, ALL/AFB t (9.11), AML-1 ETO t (8.21), PML/RAR α t (15.17), CBFb/MYHI 1 INV (16), ITD FLT3), marcadores de superficie y citoplasmáticos por citometría de flujo (CD 117, CD33, CD13, HLA-DR y mieloperoxidasa citoplasmática), panel linfocítico B (CDc79a), panel linfocítico T (CDc3), leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica.

4.6 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES (ANEXO 1).

4.7 MÉTODO, TÉCNICAS E INSTRUMENTOS

- **Método:** Análisis cuidadoso de los datos demográficos y variables clínicas y de laboratorio de cada paciente obtenidos de su historia clínica en el Instituto del Cáncer Solca- Cuenca.
- **Técnicas:** La información de cada historia clínica fue recolectado utilizando el formulario creado (**ANEXO 2**).
- **Instrumento:** Los datos fueron recopilados utilizando la base de datos obtenida del sistema de información del Instituto del Cáncer - SOLCA/Cuenca.

4.8 PROCEDIMIENTO

- **Autorización:** Se solicitó permiso al director del Instituto de Cáncer Solca-Cuenca mediante un oficio y una vez aprobado el consentimiento se procedió a realizar la recolección de datos (**ANEXO 3**).
- **Capacitación:** De acuerdo a la malla curricular de la carrera de Laboratorio Clínico, se cursaron las asignaturas necesarias para el desarrollo de la investigación, obteniendo el conocimiento necesario para correlacionar los resultados de Laboratorio con la Clínica del paciente, además de la consulta de fuentes bibliográficas.



- **Supervisión:** La presente investigación estuvo supervisada por el docente de la Universidad de Cuenca, Dr. Gabriele Bigoni.

4.9 PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS

Para la tabulación y análisis de los resultados de esta investigación se utilizó el programa estadístico SPSS Statistics 25 versión libre, además se usó Microsoft Excel 2017 para la edición de tablas y gráficos estadísticos para la interpretación de los resultados.

Las variables cualitativas como las características sociodemográficas y su asociación con los marcadores moleculares por Citometría de Flujo y PCR se analizaron mediante frecuencias y porcentajes y se presentaron en tablas simples y cruzadas. Los resultados se expresan mediante medidas de frecuencia absolutas y porcentuales.

4.10 CONSIDERACIONES BIOÉTICAS

Dicho proyecto de investigación fue aprobado por el Comité de Bioética en Investigación del Área de la Salud y el Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Médicas, y cumplió con las siguientes condiciones éticas necesarias:

- **Confidencialidad:** Los datos obtenidos de esta investigación fueron manejados con absoluta confidencialidad, manteniendo el anonimato de las identidades de los historiales utilizados y siendo únicamente accesibles para las personas que estén a cargo de este estudio, según lo expresado en el Acuerdo Ministerial 5216 para el Manejo de información confidencial en el Sistema Nacional de Salud del Ecuador siguiendo lo señalado en los siguientes enunciados:

Artículo 7: "El uso de documentos que contengan información de salud no se podrá autorizar para fines diferentes a los concernientes a la atención de las/los usuarios/usuarios, evaluación de la calidad de los servicios, análisis estadísticos, investigación y docencia. Toda persona que intervenga en su elaboración o tenga acceso a su contenido está obligada a guardar la confidencialidad respecto a la información."

Artículo 12: "En el caso de historias clínicas cuyo uso haya sido autorizado por la/el usuario respectivo para fines de investigación o docencia, la identidad del/a usuario/a deberá ser protegido sin que puede ser revelada por ningún concepto."



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- **Balance riesgo-beneficio:** La investigación tuvo un riesgo mínimo, referente a la posibilidad muy reducida de que los datos pudieran filtrarse a terceras personas y pueda ser utilizada con otros fines. El beneficio del estudio es que permitió obtener estadísticas actualizadas en relación a la frecuencia de marcadores moleculares en leucemia mieloide y diferentes factores de riesgo asociados a nuestra población, siendo un aporte importante a los profesionales de la salud.
- **Conflicto de intereses:** Declaramos no tener ningún conflicto de interés, ya sea de tipo personal, económico, político o financiero que pueda influir en nuestro juicio, así como tampoco hemos recibido algún tipo beneficio de fuentes externas que pudieran tener interés en la información que se pueda obtener del estudio.
- **Idoneidad del investigador:** Al ser estudiantes egresados de la carrera de Laboratorio Clínico cumplimos con todos los requisitos y aprobación de asignaturas para la ejecución de dicha investigación.

CAPITULO V

5. RESULTADOS

Posterior a la recolección de los datos y la previa exclusión de fichas clínicas incompletas y de aquellas que no se ajustaban a los criterios de inclusión, se analizaron 107 fichas de pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide aguda en el período 2015-2019 en SOLCA-Cuenca. De acuerdo a las fichas clínicas analizadas el rango de edad con más presencia de casos en el estudio fueron aquellos pacientes de 11 a 20 años (18,7%) principalmente del género femenino (51,4%), siendo el año 2019 el que presentó un mayor número de casos de la enfermedad (30,8%) y la mayoría de los pacientes eran residentes de la provincia del Azuay (48,6%). (Tabla 1)

Tabla 1
Características sociodemográficas de los pacientes con diagnóstico de LMA en el Instituto del Cáncer SOLCA-Cuenca

CARACTERÍSTICA		N	%
EDAD	0-10 años	13	12,1%
	11-20 años	20	18,7%
	21-30 años	13	12,1%
	31-40 años	13	12,1%
	41-50 años	9	8,4%
	51-60 años	14	13,1%
	61-70 años	15	14,0%
	71-80 años	8	7,5%
	81-90 años	2	1,9%
	TOTAL	107	100%
GÉNERO	Masculino	52	48,6%
	Femenino	55	51,4%
	TOTAL	107	100%
RESIDENCIA	Azuay	52	48,6%
	Loja	12	11,2%
	El Oro	19	17,8%
	Cañar	12	11,2%
	Morona Santiago	7	6,5%
	Guayas	3	2,8%
	Manabí	1	0,9%
	Pichincha	1	0,9%
	TOTAL	107	100%

Fuente: Bases de datos Elaborado por: Los autores

En el sexo masculino existió 10 casos de pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide aguda tendencia similar en el sexo femenino que también presentó 10 casos de LMA en el rango de edad de entre los 11-20 años siendo este grupo de edad el más frecuente, en la población con rango de edad entre los 81-90 años se evidenció que existe 2 casos en el sexo masculino y 0 casos en el sexo femenino de diagnósticos de leucemia mieloide aguda siendo el rango de edad menos frecuente. **(Figura 1)**

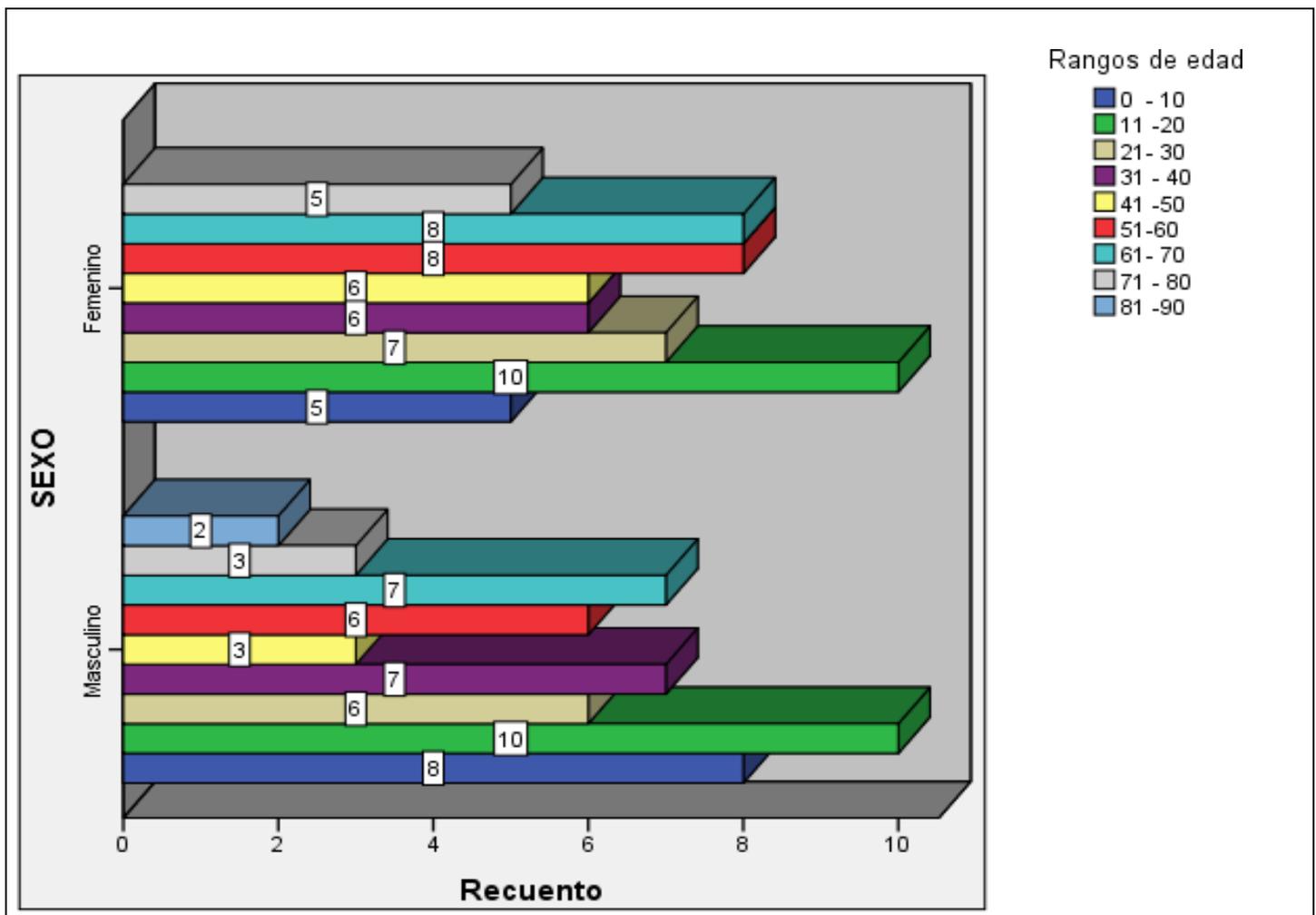


Figura 1: Distribución del número de pacientes diagnosticados con leucemia mieloide aguda en Solca en el período 2015-2019, agrupados por sexo y rango de edad. Fuente: Bases de datos Elaborado por: Los autores



Sé evidenció que el tipo de leucemia mieloide aguda más frecuente fue el subtipo M3 con 40 casos de LMA analizados en ambos sexos, en cambio el subtipo menos frecuente fue el M6 con 1 caso en el sexo masculino y 0 casos en el femenino. De acuerdo a los años en los que se realizó el estudio se evidenció que el año con más diagnósticos de leucemia mieloide aguda fue el año 2019 con 33 casos y los años 2016 y 2017 fueron los años con menos diagnósticos con 16 casos cada uno. **(Tabla 2)**

Tabla 2: Frecuencia de casos según el subtipo de leucemia mieloide aguda de acuerdo al sexo y año de diagnóstico en pacientes de SOLCA en el período 2015 -2019.

Subtipo de Leucemia Mieloide Aguda		Sexo		Total	Año de Diagnóstico					Total
		Masculino	Femenino		2015	2016	2017	2018	2019	
M1	N°	8	4	12	2	3	1	1	5	12
	%	7,5%	3,7%	11,2%	1,9%	2,8%	0,9%	0,9%	4,7%	11,2%
M2	N°	6	9	15	3	1	2	3	6	15
	%	5,6%	8,4%	14,0%	2,8%	0,9%	1,9%	2,8%	5,6%	14,0%
M3	N°	20	20	40	2	9	5	12	12	40
	%	18,7%	18,7%	37,4%	1,9%	8,4%	4,7%	11,2%	11,2%	37,4%
M4	N°	1	19	20	7	2	2	5	4	20
	%	0,9%	17,8%	18,7%	6,5%	1,9%	1,9%	4,7%	3,7%	18,7%
M5	N°	5	1	6	2	1	2	0	1	6
	%	4,7%	0,9%	5,6%	1,9%	0,9%	1,9%	0,0%	0,9%	5,6%
M6	N°	1	0	1	0	0	0	1	0	1
	%	0,9%	0,0%	0,9%	0,0%	0,0%	0,0%	0,9%	0,0%	0,9%
M7	N°	4	1	5	0	0	2	2	1	5
	%	3,7%	,9%	4,7%	0,0%	0,0%	1,9%	1,9%	0,9%	4,7%
M0	N°	7	1	8	2	0	2	0	4	8
	%	6,5%	,9%	7,5%	1,9%	0,0%	1,9%	0,0%	3,7%	7,5%
Total	N°	52	55	107	18	16	16	24	33	107
	% del total	48,6%	51,4%	100,0%	16,8%	15,0%	15,0%	22,4%	30,8%	100%

Fuente: Bases de datos

Elaborado por: Los autores

Se muestra la distribución en porcentajes de acuerdo al sexo y tipo de leucemia mieloide, en el subtipo M3 se observa 18,7% en el sexo masculino y el 18,7% en el sexo femenino siendo el subtipo más frecuente, el subtipo M6 registra una frecuencia del 0,93% en el sexo masculino y el 0% en el sexo femenino, siendo el subtipo menos frecuente. **(Figura 2)**

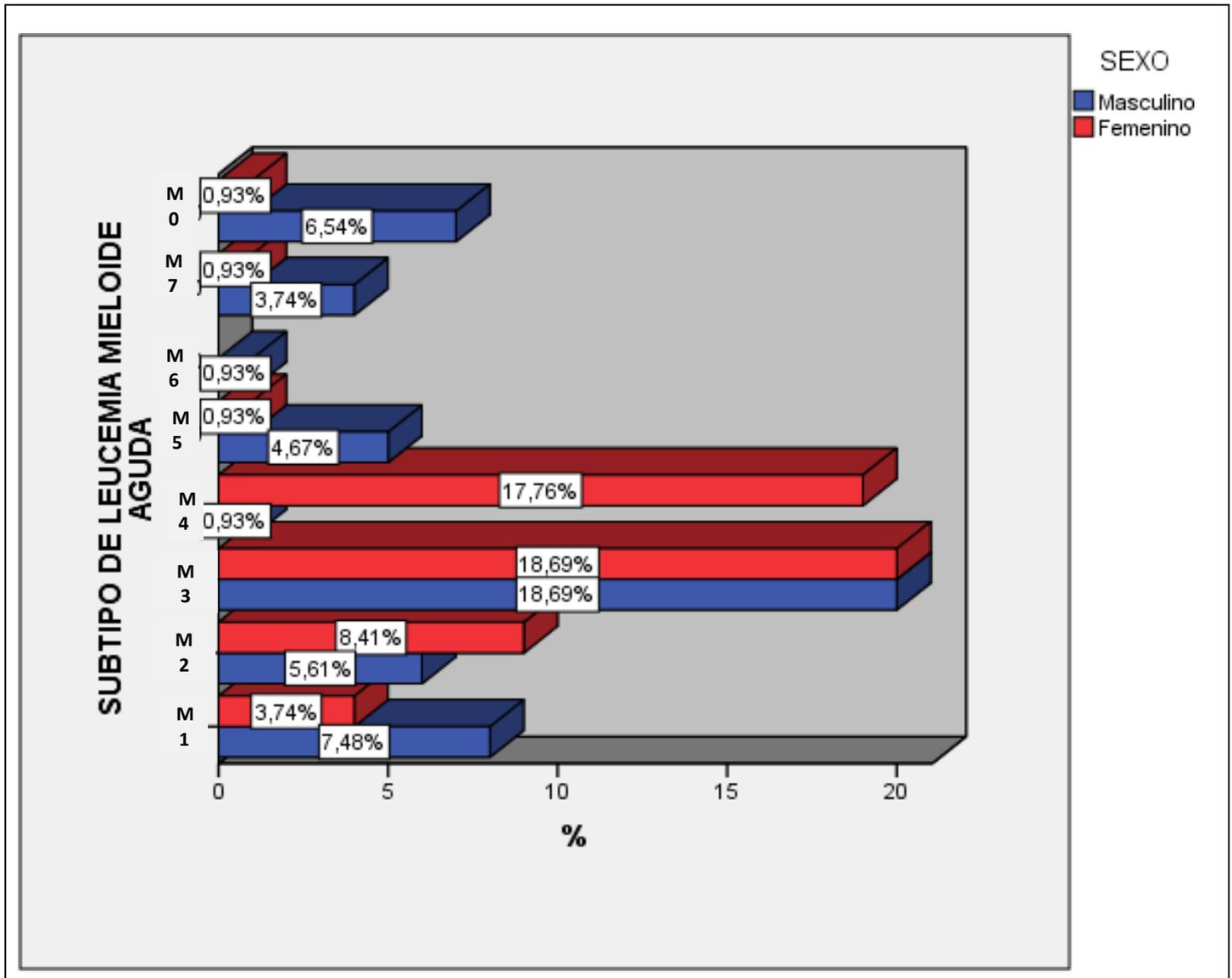


Figura 2: Distribución de casos de acuerdo al sexo con el subtipo de la leucemia mieloide aguda, en SOLCA en el período 2015-2019. Fuente: Bases de datos Elaborado por: Los autores

En el período 2015-2019 el subtipo de leucemia mieloide aguda M3 fue el tipo más frecuente de leucemia con el 33,4% de casos registrados, dentro de este rango de años analizados el subtipo M6 fue el menos frecuente dentro de los subtipos de leucemia en esta población estudiada con 0,9% de casos registrados. **(Figura 3)**

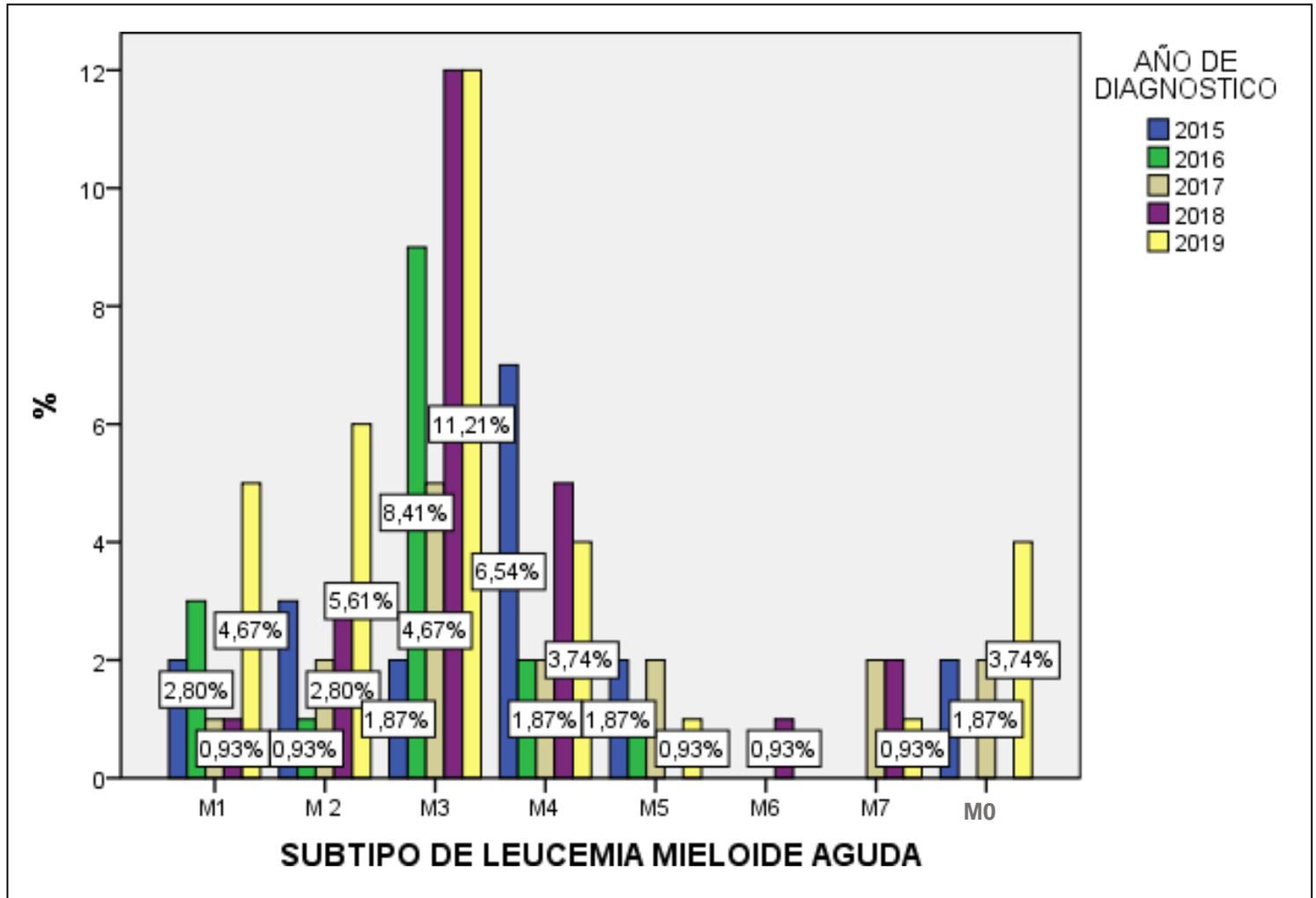


Figura 3: Distribución de casos de leucemia mieloide aguda de acuerdo al año de diagnóstico, en SOLCA en el período 2015-2019. Fuente: Bases de datos Elaborado por: Los autores



La provincia con más casos diagnosticados de leucemia mieloide aguda en SOLCA sede Cuenca correspondió a los pacientes residentes en la provincia del Azuay con 52 casos (48,6%) y las provincias con menos frecuencia de casos atendidos en esta casa de salud fueron las provincias de Manabí y Pichincha con 1 caso (0,9%) cada uno. **(Tabla 3)**

Tabla 3: Frecuencia de casos según el subtipo de leucemia mieloide aguda de acuerdo a la residencia de los pacientes de SOLCA en el período 2015 - 2019.

Subtipo de Leucemia Mieloide Aguda		Residencia (Provincia)								Total
		Azuay	Loja	El Oro	Cañar	Morona Santiago	Guayas	Manabí	Pichincha	
M1	N°	7	0	2	3	0	0	0	0	12
	%	6,5%	0,0%	1,9%	2,8%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	11,2%
M2	N°	7	1	5	1	1	0	0	0	15
	%	6,5%	0,9%	4,7%	0,9%	0,9%	0,0%	0,0%	0,0%	14,0%
M3	N°	21	3	5	6	4	0	1	0	40
	%	19,6%	2,8%	4,7%	5,6%	3,7%	0,0%	0,9%	0,0%	37,4%
M4	N°	8	4	5	2	0	1	0	0	20
	%	7,5%	3,7%	4,7%	1,9%	0,0%	0,9%	0,0%	0,0%	18,7%
M5	N°	3	1	1	0	1	0	0	0	6
	%	2,8%	0,9%	0,9%	0,0%	0,9%	0,0%	0,0%	0,0%	5,6%
M6	N°	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	%	0,9%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,9%
M7	N°	1	1	0	0	1	1	0	1	5
	%	0,9%	0,9%	0,0%	0,0%	0,9%	0,9%	0,0%	0,9%	4,7%
M0	N°	4	2	1	0	0	1	0	0	8
	%	3,7%	1,9%	0,9%	0,0%	0,0%	0,9%	0,0%	0,0%	7,5%
N°		52	12	19	12	7	3	1	1	107
% del total		48,6%	11,2%	17,8%	11,2%	6,5%	2,8%	0,9%	0,9%	100,0%

Fuente: Bases de datos

Elaborado por: Los autores



En la siguiente tabla se relaciona la frecuencia de marcadores moleculares analizados mediante citometría de flujo con los diferentes subtipos de leucemia mieloide aguda, se observó que el subtipo M3 presentó una mayor expresión de los marcadores celulares siendo el CD33 con mayor positividad, evidenciándose en 103 casos, el CDc79a y CDc3 no presentan expresión en ningún caso. **(Tabla 4)**

Tabla 4: Frecuencia de marcadores moleculares por citometría de flujo según el tipo de LMA en pacientes de SOLCA, período 2015-2019.

Marcadores moleculares por Citometría de Flujo		Subtipo de Leucemia Mieloide Aguda								
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M0	Total
		N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°
CD 117	Positivo	11	15	38	13	5	0	4	6	92
	Negativo	1	0	2	7	1	1	1	2	15
	Total	12	15	40	20	6	1	5	8	107
CD 33	Positivo	12	14	38	20	5	1	5	8	103
	Negativo	0	1	2	0	1	0	0	0	4
	Total	12	15	40	20	6	1	5	8	107
CD 13	Positivo	10	15	36	16	4	1	3	7	92
	Negativo	2	0	4	4	2	0	2	1	15
	Total	12	15	40	20	6	1	5	8	107
MPO	Positivo	12	15	37	14	6	0	2	5	91
	Negativo	0	0	3	6	0	1	3	3	16
	Total	12	15	40	20	6	1	5	8	107
HLA - DR	Positivo	11	13	14	17	3	0	2	5	65
	Negativo	1	2	26	3	3	1	3	3	42
	Total	12	15	40	20	6	1	5	8	107
CDc79a	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	12	15	40	20	6	1	5	8	107
	Total	12	15	40	20	6	1	5	8	107
CDc3	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	12	15	40	20	6	1	5	8	107
	Total	12	15	40	20	6	1	5	8	107

Fuente: Bases de datos

Elaborado por: Los autores



En la siguiente tabla se observó los marcadores moleculares analizados mediante PCR donde se pudo evidenciar que los genes BCR-ABL p210/p190 y ALL/AFB t(9.11) no se expresaron en ningún subtipo de LMA, en cambio los genes ITD FLT3, AML1-ETO t(8.21), PML-RARat (15.17 y CFBF/MYHI 1 INV (16) si presentaron expresión en algún subtipo de LMA, siendo la alteración cromosómica PML-RARa t(15.17) más frecuente presentándose en 29 casos de LMA siendo el subtipo M3 que mayor número de casos (26) con esta alteración. (Tabla 5)

Tabla 5: Frecuencia de marcadores moleculares por PCR según el tipo de LMA en pacientes de SOLCA, período 2015-2019.

Marcadores moleculares por PCR		Subtipo de Leucemia Mieloide Aguda								Total
		M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M0	
		N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	
BCR-ABL p210	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	12	15	40	20	6	1	5	8	107
	Total	12	15	40	20	6	1	5	8	107
BCR-ABL p190	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	12	15	40	20	6	1	5	8	107
	Total	12	15	40	20	6	1	5	8	107
ITD FLT3	Positivo	0	0	0	1	1	0	1	0	3
	Negativo	12	15	40	19	5	1	4	8	104
	Total	12	15	40	20	6	1	5	8	107
AML1-ETO t(8.21)	Positivo	0	4	2	1	0	0	0	0	7
	Negativo	12	11	38	19	6	1	5	8	100
	Total	12	15	40	20	6	1	5	8	107
PML-RARat (15.17)	Positivo	0	1	26	0	0	0	1	1	29
	Negativo	12	14	14	20	6	1	4	7	78
	Total	12	15	40	20	6	1	5	8	107
CBFB/MYHI 1 INV (16)	Positivo	0	0	0	2	1	0	0	0	3
	Negativo	12	15	40	18	5	1	5	8	104
	Total	12	15	40	20	6	1	5	8	107
ALL/AFB t(9.11)	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	12	15	40	20	6	1	5	8	107
	Total	12	15	40	20	6	1	5	8	107

Fuente: Bases de datos

Elaborado por: Los autores



En la tabla se pudo observar que la provincia del Azuay es el lugar donde mayor registro de expresión de marcadores moleculares se evidencia, además se observó que el marcador más frecuente es el CD33 registrándose en 103 casos de 107 pacientes analizados. El CDc79a y CDc3 no tiene expresión en ningún paciente proveniente de ninguna provincia con cero casos registrados donde se haya evidenciado su expresión. **(Tabla 6)**

Tabla 6: Frecuencia de marcadores moleculares por citometría de flujo de acuerdo a su residencia en pacientes de SOLCA, período 2015-2019.

Marcadores moleculares Citometría de Flujo		Residencia (Provincia)								Total
		Azuay	Loja	El Oro	Cañar	Morona Santiago	Guayas	Manabí	Pichincha	
		N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	
CD 117	Positivo	46	10	17	11	6	1	1	0	92
	Negativo	6	2	2	1	1	2	0	1	15
	Total	52	12	19	12	7	3	1	1	107
CD 33	Positivo	49	11	19	12	7	3	1	1	103
	Negativo	3	1	0	0	0	0	0	0	4
	Total	52	12	19	12	7	3	1	1	107
CD 13	Positivo	43	9	17	12	6	3	1	1	92
	Negativo	9	3	2	0	1	0	0	0	15
	Total	52	12	19	12	7	3	1	1	107
MPO	Positivo	46	8	18	10	7	1	1	0	91
	Negativo	6	4	1	2	0	2	0	1	16
	Total	52	12	19	12	7	3	1	1	107
HLA – DR	Positivo	31	6	13	9	4	2	0	0	65
	Negativo	21	6	6	3	3	1	1	1	42
	Total	52	12	19	12	7	3	1	1	107
CDc79a	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	52	12	19	12	7	3	1	1	107
	Total	52	12	19	12	7	3	1	1	107
CDc3	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	52	12	19	12	7	3	1	1	107
	Total	52	12	19	12	7	3	1	1	107



En la siguiente tabla se observó la frecuencia de marcadores moleculares analizados por PCR relacionándose con la residencia del paciente evidenciándose que el gen PML-RARat (15.17) es el más frecuente, demostrándose que la provincia del Azuay es donde mayor expresión presenta (18 casos), además los genes BCR-ABL p210/p190 y ALL/AFB t(9.11) no presentaron positividad en los casos analizados. **(Tabla 7)**

Tabla 7: Frecuencia de marcadores moleculares por PCR de acuerdo a su residencia en pacientes de SOLCA, período 2015-2019.

Marcadores moleculares por PCR		Residencia (Provincia)								Total
		Azuay	Loja	El Oro	Cañar	Morona Santiago	Guayas	Manabí	Pichincha	
		N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	
BCR-ABL p210	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	52	12	19	12	7	3	1	1	107
	Total	52	12	19	12	7	3	1	1	107
BCR-ABL p190	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	52	12	19	12	7	3	1	1	107
	Total	52	12	19	12	7	3	1	1	107
ITD FLT3	Positivo	1	1	1	0	0	0	0	0	3
	Negativo	51	11	18	12	7	3	1	1	104
	Total	52	12	19	12	7	3	1	1	107
AML1-ETO t(8.21)	Positivo	0	0	2	1	2	1	1	0	7
	Negativo	52	12	17	11	5	2	0	1	100
	Total	52	12	19	12	7	3	1	1	107
PML-RARat (15.17)	Positivo	18	3	1	5	2	0	0	0	29
	Negativo	34	9	18	7	5	3	1	1	78
	Total	52	12	19	12	7	3	1	1	107
CBFB/MYHI 1 INV (16)	Positivo	3	0	0	0	0	0	0	0	3
	Negativo	49	12	19	12	7	3	1	1	104
	Total	52	12	19	12	7	3	1	1	107
ALL/AFB t(9.11)	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	52	12	19	12	7	3	1	1	107
	Total	52	12	19	12	7	3	1	1	107



Se observó que el marcador celular CD13 fue el más frecuente en ambos sexos con 52 casos para el sexo masculino y 51 casos para el sexo femenino siendo casi similar la expresión del marcador tanto en hombres como mujeres, en cambio el HLA-DR presentó una variación de casos en su expresión siendo más notoria su positividad en el sexo femenino que en el masculino. El CDc79a y CDc3 no presentó expresión ni en el sexo masculino como femenino. **(Tabla 8)**

Tabla 8: Frecuencia de marcadores moleculares por Citometría de Flujo de acuerdo a su género en pacientes de SOLCA, período 2015-2019.

Marcadores moleculares por Citometría de Flujo		Sexo		
		Masculino N°	Femenino N°	Total
CD 117	Positivo	46	46	92
	Negativo	6	9	15
	Total	52	55	107
CD 33	Positivo	52	51	103
	Negativo	0	4	4
	Total	52	55	107
CD 13	Positivo	46	46	92
	Negativo	6	9	15
	Total	52	55	107
MPO	Positivo	43	48	91
	Negativo	9	7	16
	Total	52	55	107
HLA – DR	Positivo	25	40	65
	Negativo	27	15	42
	Total	52	55	107
CDc79a	Positivo	0	0	0
	Negativo	52	55	107
	Total	52	55	107
CDc3	Positivo	0	0	0
	Negativo	52	55	107
	Total	52	55	107

Fuente: Bases de datos **Elaborado por:** Los autores

Se evidenció que el sexo masculino presentó mayor positividad para CD33 en un 48,6% y con una expresión del 23,4% el HLA-DR siendo el marcador con menos frecuencia de expresión en el sexo masculino, en el sexo femenino el CD33 se expresó en el 47,7% de los casos siendo el marcador con mayor expresión y con 37,4% el HLA-DR fue el marcador menos frecuente en mujeres, siendo el HLA-DR el marcador con menor porcentaje de positividad tanto en el sexo masculino como femenino. **(Figura 4)**

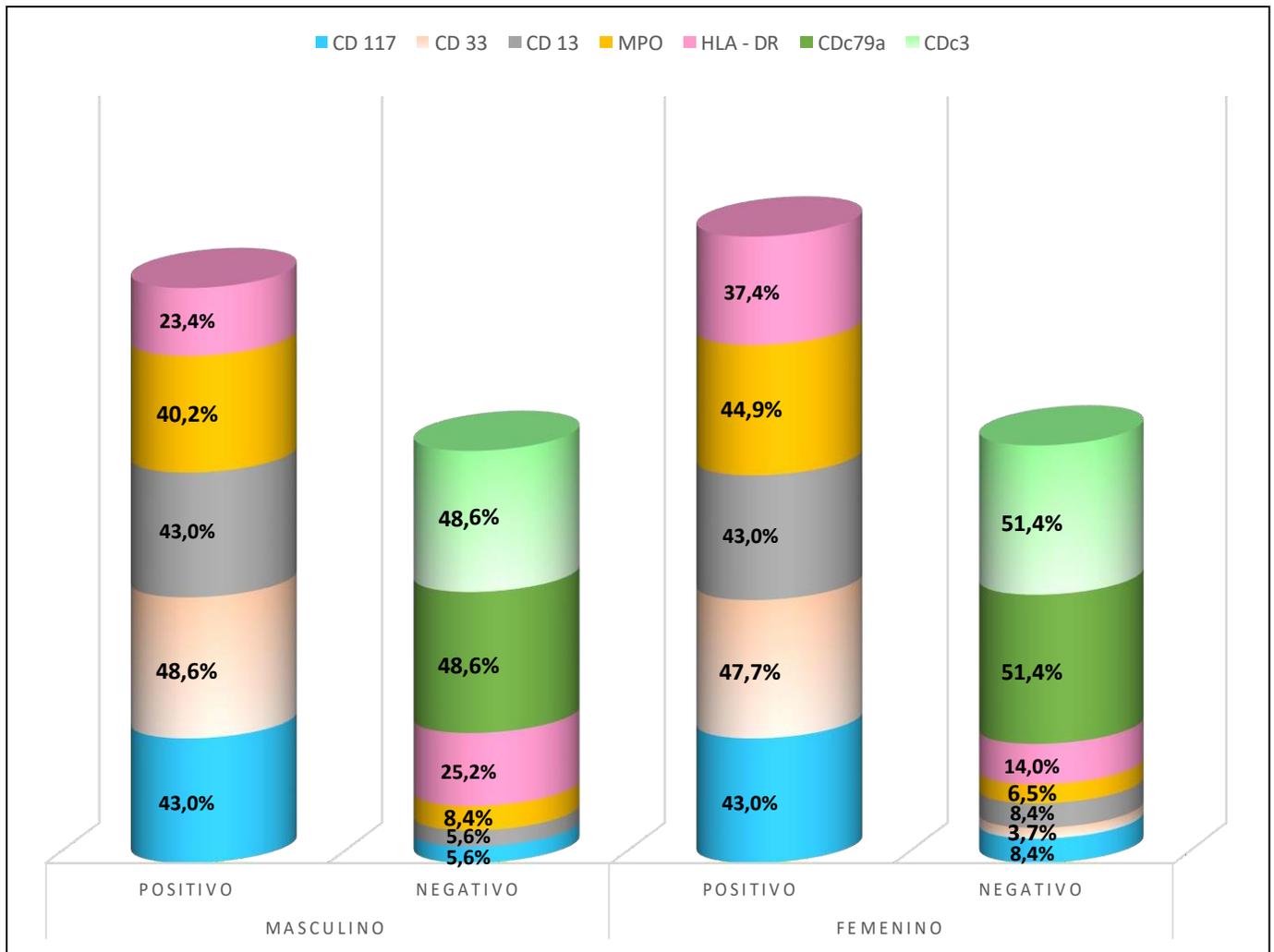


Figura 4: Frecuencia de marcadores moleculares por Citometría de Flujo de acuerdo a su sexo en pacientes de SOLCA, período 2015-2019. Fuente: Bases de datos Elaborado por: Los autores

Se observó que de acuerdo al sexo y los marcadores moleculares mediante PCR, los genes BCR-ABL p210/p190 y ALL/AFB t(9.11) no presentaron positividad ni en el sexo masculino ni el femenino, los genes ITD FLT3, AML1-ETO t(8.21), PML-RARat (15.17) y CFBF/MYHI 1 INV (16) presentaron expresión tanto en ambos sexos con diagnóstico de LMA, siendo el gen PML-RARa t(15.17) que con más frecuencia se expresó (29 casos) en ambos sexos. **(Tabla 9)**

Tabla 9: Frecuencia de marcadores moleculares por PCR de acuerdo a su sexo en pacientes de SOLCA, período 2015-2019.

Marcadores moleculares por PCR		Sexo		
		Masculino	Femenino	Total
		N °	N °	
BCR-ABL p210	Positivo	0	0	0
	Negativo	52	55	107
	Total	52	55	107
BCR-ABL p190	Positivo	0	0	0
	Negativo	52	55	107
	Total	52	55	107
ITD FLT3	Positivo	1	2	3
	Negativo	51	53	104
	Total	52	55	107
AML1-ETO t(8.21)	Positivo	3	4	7
	Negativo	49	51	100
	Total	52	55	107
PML-RARat (15.17)	Positivo	15	14	29
	Negativo	37	41	78
	Total	52	55	107
CBFB/MYHI 1 INV (16)	Positivo	1	2	3
	Negativo	51	53	104
	Total	52	55	107
ALL/AFB t(9.11)	Positivo	0	0	0
	Negativo	52	55	107
	Total	52	55	107

Fuente: Bases de datos **Elaborado por:** Los autores



En el sexo masculino el gen que presentó una mayor expresión es el PML-RARat (15.17) con una frecuencia del 28,8 % a diferencia de los genes ITD FLT3 y CFBF/MYHI 1 INV (16) que mostraron una positividad del 1,9% cada uno, en el sexo femenino al igual que en el masculino el gen que con mayor frecuencia se expresó fue el PML-RARat (15.17) con el 25,5% de positividad, y los genes con menor expresión fueron el ITD FLT3 y CFBF/MYHI 1 INV (16) expresándose en un 3,6% cada uno. **(Figura 5)**

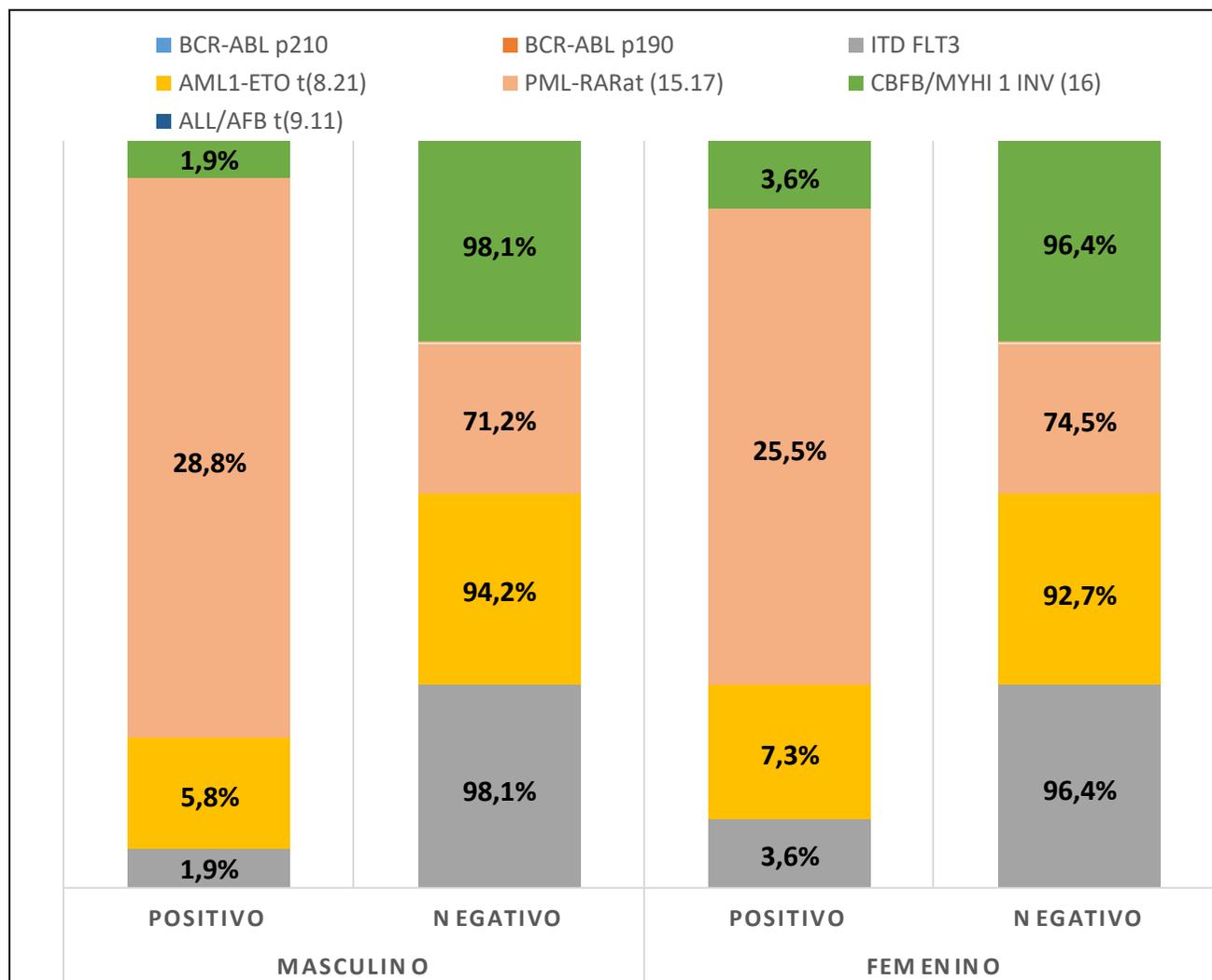


Figura 5: Frecuencia de marcadores moleculares por PCR de acuerdo a su sexo en pacientes de SOLCA, período 2015-2019. Fuente: Bases de datos Elaborado por: Los autores



Se pudo evidenciar que el CD117, CD33, CD13, MPO, HLA-DR se expresaron con mayor frecuencia entre los pacientes de 11 a 20 años, observándose también que en ningún rango de edad el CDc79a y CDc3 presentan positividad. **(Tabla 10)**

Tabla 10: Frecuencia de marcadores moleculares por Citometría de Flujo de acuerdo a su rango de edad en pacientes de SOLCA, período 2015-2019.

Marcadores moleculares por Citometría de Flujo		Rango de edad									Total
		0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90	
		N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	
CD 117	Positivo	11	16	12	11	9	13	14	5	1	92
	Negativo	2	4	1	2	0	1	1	3	1	15
	Total	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
CD 33	Positivo	12	20	13	13	7	13	15	8	2	103
	Negativo	1	0	0	0	2	1	0	0	0	4
	Total	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
CD 13	Positivo	11	18	11	10	7	13	13	7	2	92
	Negativo	2	2	2	3	2	1	2	1	0	15
	Total	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
MPO	Positivo	11	16	12	10	8	12	14	7	1	91
	Negativo	2	4	1	3	1	2	1	1	1	16
	Total	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
HLA – DR	Positivo	8	13	6	6	8	7	10	6	1	65
	Negativo	5	7	7	7	1	7	5	2	1	42
	Total	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
CDc79a	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
	Total	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
CDc3	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
	Total	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107

Fuente: Bases de datos

Elaborado por: Los autores



Se observó que el gen ITD FLT3 se expresó en los rangos de edades de entre 0 a 10, de 11 a 20 y de 61 a 70 años con un caso cada uno respectivamente, en cambio el gen AML1-ETO t (8.21) se presentó con mayor frecuencia entre las edades de 11 a 20 años en 2 pacientes, el gen PML-RARat (15.17) presentó una mayor positividad entre las edades de 21 a 30 años con 7 casos y el gen CBFβ/MYH11 INV (16) registró un caso entre las edades de 11 a 20, 21 a 30 y de 41 a 50 años. **(Tabla 11)**

Tabla 11: Frecuencia de marcadores moleculares por PCR de acuerdo a su rango de edad en pacientes de SOLCA, período 2015 -2019.

Marcadores moleculares por PCR		Rango de edad									Total
		0-10	11 - 20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90	
		N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	
BCR-ABL p210	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
	Total	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
BCR-ABL p190	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
	Total	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
ITD FLT3	Positivo	1	1	0	0	0	0	1	0	0	3
	Negativo	12	19	13	13	9	14	14	8	2	104
	Total	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
AML1-ETO t(8.21)	Positivo	1	2	1	1	0	0	1	0	1	7
	Negativo	12	18	12	12	9	14	14	8	1	100
	Total	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
PML-RARat (15.17)	Positivo	0	6	7	4	3	5	4	0	0	29
	Negativo	13	14	6	9	6	9	11	8	2	78
	Total	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
CBFB/MYH11 INV (16)	Positivo	0	1	1	0	1	0	0	0	0	3
	Negativo	13	19	12	13	8	14	15	8	2	104
	Total	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
ALL/AFB t(9.11)	Positivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Negativo	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107
	Total	13	20	13	13	9	14	15	8	2	107

Fuente: Bases de datos

Elaborado por: Los autores

Se presentó algún tipo de mutación cromosómica en 42 casos de los 107 diagnósticos de LMA, observándose que el CD33 es el marcador celular por Citometría de Flujo que con más frecuencia se expresa en los marcadores moleculares por PCR que se han estudiado en este análisis, identificando que el CD33 está presente en 40 pacientes de los cuales el marcador por PCR con más predominio en el CD33 fue el gen de fusión PML-RARa t(15.17) encontrándose la alteración en 27 individuos. (Tabla 12)

Tabla 12: Frecuencia de marcadores moleculares por Citometría de Flujo de acuerdo a los marcadores moleculares expresados por PCR.

Marcadores moleculares por Citometría de Flujo	Marcadores moleculares por PCR							TOTAL	%
	BCR-ABL p210	BCR-ABL p190	ITD-FLT3	AML-1 ETO t(8.21)	PML-RARa t(15.17)	CBFB-MYH11 INV(16)	ALL-AFB t(9.11)		
CD 117	0	0	3	6	27	2	0	38	90,5
CD 33	0	0	3	7	27	3	0	40	95,2
CD 13	0	0	3	7	24	3	0	37	88,1
MPO	0	0	3	7	26	3	0	39	92,8
HLA-DR	0	0	3	6	5	2	0	16	38,1
CD79a	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CD 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Fuente: Bases de datos

Elaborado por: Los autores



CAPITULO VI

6. DISCUSIÓN

Es importante el estudio de las LMA por medio de citometría de flujo, ya que permite evaluar alteraciones antigénicas, expresión asincrónica o una sobreexpresión antigénica de los marcadores celulares expresados en las células leucémicas cuyos niveles altos de expresión, podría indicar un fallo terapéutico o un pronóstico no favorable para el cuadro clínico del paciente. Conjuntamente para evaluar un diagnóstico de LMA, se utiliza la PCR misma que es una prueba gold estándar para la detección de pacientes que sean portadores de alteraciones cromosómicas en la LMA, sin embargo, su aplicabilidad se ve limitada al 40% debido a que dependerá si las modificaciones ocurridas a nivel de los cromosomas pueden ser monitoreadas en el individuo. El rastreo de mutaciones en genes es útil para la valoración después de la terapia administrada al paciente ya que la persistencia de alteraciones genéticas es un fuerte predictor de recaída en el individuo (48,49).

La LMA es poco frecuente ya que representa alrededor del 1% de los cánceres y es el segundo tipo de leucemia más frecuente diagnosticada en adultos y niños, aunque la mayoría de casos se presentan en personas adultas representando el 31% de casos de leucemia, la bibliografía nos explica que la edad media de aparición de la LMA es a los 68 años ya que la edad avanzada es un factor de riesgo asociado a este tipo de cáncer, sin embargo, la leucemia mieloide aguda puede ser diagnosticada en cualquier edad aunque la detección antes de los 45 años es menos habitual. En un estudio realizado por los autores Santoyo, A; Ramos, C; y colaboradores, describen que la media de edad en los individuos analizados con diagnóstico de LMA es de 43,5 años tendencia similar a la reportada en el estudio realizado en SOLCA que fue de 38 años y el rango de edad más frecuente en esta institución fue de 11 a 20 años difiriendo con un estudio realizado en Quito entre los años 2016 a 2018 por Guerrero, R; Páez, J y Terán, R donde se registra que los pacientes con menos frecuencia de casos de LMA son aquellos con edades comprendidas entre los 10 a 40 años (50-52).

La edad del paciente es también considerada como un factor pronóstico de la enfermedad, según avanza la edad del individuo las probabilidades de que responda al tratamiento son progresivamente peores, debido a que algunos medicamentos pueden ser solo suministrados en pacientes jóvenes debido a la toxicidad que pueden causar en el adulto mayor, por lo que pacientes de 60 o 70 años en adelante necesitarán una terapia adaptada para ellos. La tasa de supervivencia a 5 años en pacientes mayores a 20 años que presentan un



diagnóstico de LMA es del 26%, en cambio la tasa de supervivencia a 5 años en pacientes menores a 20 años es del 67%, es necesario tener presente que la supervivencia del individuo también se basa en factores como las características biológicas de la enfermedad y el avance de la misma. La leucemia mieloide aguda es un tipo de cáncer grave pero tratable y a menudo curable con la administración de la quimioterapia, trasplante o no de médula ósea y la utilización o no del tratamiento con células madres (50,53).

No solo la edad es un factor de predisposición de padecer LMA sino también el sexo masculino es considerado como causa de riesgo debido a que comúnmente la incidencia es mayor en hombres que en mujeres, desconociéndose actualmente la razón específica por la cual el género masculino es más susceptible a la enfermedad, no obstante, el riesgo promedio en ambos sexos de desarrollar LMA es alrededor del 1%. En un estudio realizado en el año 2010 por Gómez, R; Fernández, J y colaboradores en el hospital “Dr. Gustavo Aldereguía Lima” en Cuba donde se analizó a 96 sujetos con diagnóstico de LMA en el cual se concluyó que el 57,2% de la población estudiada corresponde a pacientes del sexo masculino con predominio sobre el sexo femenino que registró el 42,7% de presencia en el análisis concordando con lo enunciado en las fuentes bibliografías, sin embargo en el estudio que se realizó en SOLCA en los años 2015-2019 hay un diferimiento con lo enunciado en la teoría de acuerdo a que el género femenino presentó un ligero predominio sobre el masculino. En otro análisis realizado en el 2012 en el Hospital General de México por los autores González, W; Olarte, I y colaboradores se muestra como se mantiene lo descrito en la literatura ya que el género masculino mostró una mayor incidencia del 52% en comparación con el género femenino con el 48%. Sin embargo, los porcentajes de frecuencia de hombres y mujeres con diagnóstico de LMA en SOLCA no muestran una variación significativa de predominio de casos de un género sobre otro, casi presentando una similaridad de frecuencia de casos en ambos sexos (54,55).

Los 8 subtipos de LMA descritos gracias a la clasificación de la FAB de acuerdo al tipo de célula y grado de madurez de la misma basándose en la observación de la morfología celular mediante microscopia o por medio el uso de técnicas más sensibles y específicas como la utilización de la citometría de flujo, permitió identificar el linaje del cual procede la leucemia mieloide aguda ayudándonos a comprender como influye las características celulares en el pronóstico de la enfermedad permitiéndonos así elegir la terapia clínica para el paciente. En un estudio realizado por Guerrero, T en el Hospital de Especialidades Carlos Andrade Marín en Quito, donde cuya población de análisis fue de 119 pacientes con Leucemia Mieloide Aguda, se registró que el subtipo con más frecuencia fue el M2 o Leucemia Mieloblástica aguda con maduración que presentó



un 17,65% de casos, la bibliografía nos indica que este subtipo está presente en el 25% de los pacientes adultos con diagnóstico de LMA y presenta un pronóstico favorable para el curso de la misma, este estudio difiere con el nuestro elaborado en SOLCA ya que aquí predominó el M3 sobre los otros subtipos, el M3 representa el 10% de los casos de LMA en pacientes adultos según lo descrito en las fuentes bibliográficas, el diagnóstico oportuno de la Leucemia Promielocítica aguda (APL) o M3 es de mucha importancia debido a que los pacientes presentan severos problemas de coagulación y sangrados que pueden ser fatales para el individuo si no se tratan a tiempo, el tratamiento utilizado es diferente a los que se manejan en los otros subtipos de LMA ya que en la M3 el medicamento de preferencia es el ácido transretinoico y como terapia secundaria se administra la quimioterapia si lo primero no llegará a funcionar, por esta razón de es de suma importancia reconocer el linaje celular de la leucemia para brindar la terapia médica adecuada, alrededor del 80% de pacientes con APL presentan un pronóstico favorable desarrollando remisiones completas cuando son tratados tempranamente con ácido transretinoico. En un artículo realizado en el período 2008-2012 por Pinos, D; Macías, C; Lahera, T; Marsán, V; Sánchez, M; y colaboradores difiere de los estudios anteriormente mencionados debido a que el subtipo M4 o Leucemia Mielomonocítica aguda fue el predominante en su investigación de acuerdo a la población en estudio que perteneció al Instituto de Hematología e Inmunología de Cuba, la M4 representa el 20% de los casos totales de LMA y presenta un pronóstico favorable de supervivencia de la enfermedad a 5 años con un 61% de probabilidades de recuperación, el pronóstico de la enfermedad dependerá del subtipo de LMA y del tratamiento suministrado al paciente, además también influye en el curso de la patología el inmunofenotipo celular y los hallazgos de alteraciones moleculares encontrados (50,52,56,57).

Los avances en las técnicas de diagnóstico en el laboratorio han permitido estudiar de manera adecuada la caracterización fenotípica de las células normales en la médula ósea y de las células presentes en neoplasias hematológicas, debido al progreso en el campo de la citometría de flujo, de la química de fluorocromos, tecnología láser y métodos de separación celular. La determinación del inmunofenotipo en las leucemias agudas nos permite establecer o clasificar el tipo de leucemia de acuerdo a los antígenos o marcadores expresados por la célula que permiten conocer de qué estirpe citológico ya sea mieloide o linfóide procede la célula leucémica. En un estudio realizado por Novoa, V; Núñez, N; Carballo, C; Lessa, C. en el Hospital de Agudos en Argentina, dónde se analizó la expresión de antígenos de membrana por medio de citometría de flujo en pacientes con leucemias agudas, se obtuvieron resultados demostrando que el marcador CD13 se expresaba en el 93% de los pacientes, el CD33 en el 92%, CD117 en el 68%, Mieloperoxidasa en el 70% y el HDL-DR en el 33% de casos de LMA,



evidenciándose que el CD 33 y CD13 son los marcadores más frecuentes, demostrándose una similitud con el estudio en SOLCA ya que el CD 33 y CD 13 son los más frecuentes en los pacientes atendidos en esa casa de salud y los demás marcadores presentan un menor porcentaje de expresión, estos estudios se pueden también comparar con otro análisis realizado por Legrand, O; Yves, J; Baudard, M; Cordier, A; Lautier, R; y colaboradores que registran que CD13 y CD33 son los predominantes sobre otros marcadores con 95% y el 91% de expresión respectivamente, además la literatura nos indica que los marcadores CD33, CD13, CD117, HLA-DR y Mieloperoxidasa se encuentran presentes comúnmente en las células de pacientes con LMA corroborando de esta manera los estudios anteriormente mencionados, actualmente no se ha definido un punto de corte para considerar una leucemia aguda positiva para un cierto marcador; no obstante, se utiliza el criterio del 20% o más de células que expresen el marcador para considerarlo positivo; mientras que marcadores como CD3, MPO, TdT, CD34 y CD117 solamente requieren de una expresión del 10% (58-61).

El estudio de las leucemias mieloides agudas por medio de la biología molecular ha permitido identificar genes de fusión que se forman como consecuencia de reordenamientos cromosómicos, además de reconocer alteraciones moleculares no observables comúnmente por citogenética, mediante la técnica de PCR se han evidenciado y relacionado la presencia de anomalías cromosómicas en tipos específicos de leucemias y linfomas, por ejemplo el subtipo M2 de la LMA se asocia comúnmente a t(8;21) o formación del gen AML1/ETO, la M3 con la alteración t(15;17) que origina los genes de fusión PML/RAR α que se deriva del oncogén PML (gen de la leucemia promielocítica) con el gen del receptor del ácido retinoico (RAR α), la t(9;11)(p22;q23) que implica a los genes MLLT3/MLL y la inv(16)(p13q22) formando los genes CBF β /MYH11 se relacionan frecuentemente con M4 y la M5 suele asociarse con la t(9;11), la t(6;11) o la t(8;16), además se pueden presentar mutaciones en el gen ITD/FLT3 en la M3, M4 y M5 que se encuentra asociado a cariotipos normales o con alteraciones como t(15;17)(q22;q12) y t(6;9)(p23;q34). El estudio de las LMA por biología molecular ha permitido también clasificar a los pacientes de acuerdo al pronóstico clínico de la enfermedad y los estratifica en 3 clases que son favorable, intermedio y desfavorable, los pacientes que presentan alteraciones cromosómicas como t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13q22) y t(15;17)(q24;q21) tienen un pronóstico favorable ya que tienen una buena respuesta al tratamiento con remisiones completas, sin embargo, los pacientes con alteraciones como t(9;11) (p22;q23) se consideran como un pronóstico intermedio y los pacientes con t(6;9)(p23;q34), inv(3)(q21q26) y t(1;22)(p13;q13) el pronóstico clínico es adverso debido a la agresividad del padecimiento, además el gen ITD/FLT3 se relaciona a un mal pronóstico de la enfermedad debido a la baja respuesta que presenta al tratamiento, los genes de



fusión formados por estas alteraciones codifican proteínas aberrantes con propiedades funcionales alteradas en las células explicando de esta manera porque algunas variaciones genéticas son más agresivas que otras provocando que el curso de la enfermedad varié de un paciente a otro (3,62,63)

En un estudio realizado por Zapata, M; Angeles, T; Parra, I; Klunder, M; Vilchis, A; y colaboradores en el Departamento de Hemato-Oncología del Hospital Infantil Federico Gómez de México, en el período 2013-2014 donde se analizó a 84 pacientes con diagnóstico de LA mediante la utilización de la técnica de RT-PCR para la detección de reordenamientos cromosómicos se obtuvo como resultado que del universo de la muestra el 37% de los pacientes dieron positivo para la presencia de algún tipo de translocación cromosómica y el 63% de los individuos en el estudio no presentó ninguna alteración cromosómica, en el caso de la LMA, 6 pacientes presentaron translocaciones las cuales $t(15;17)$ (q22;q12) y $t(8;21)$ (q22;q22) fueron las más frecuentes con dos casos cada alteración y los menos frecuentes fueron $t(10;11)$ (p12;q23) y $t(10;11)$ (p12;q23) con un caso de positividad cada uno. El estudio realizado en SOLCA difiere con la publicación anteriormente expuesta debido a que se obtuvo que la alteración más frecuente fue la $t(15;17)$. Cabe recalcar que la alteración $t(15;17)$ con los genes de fusión PML/RARa es más predominante en el subtipo M3 de la LMA en el análisis, confirmando de esta manera lo expuesto en la bibliografía que expresa que esta alteración (PML/RARa) se encuentra comúnmente y mayoritariamente en el subtipo M3. La literatura indica que alrededor del 45% de pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide aguda presentan un cariotipo normal y estos pacientes se encuentran catalogados o clasificados con un pronóstico de tipo intermedio debido a que clínicamente no se tiene un marcador de referencia, en el estudio realizado en SOLCA un porcentaje mayor al 50% de casos de diagnósticos de LMA no presentó alteraciones cromosómicas por lo que presentarían un pronóstico intermedio para el curso de la enfermedad (64,65).

La identificación de alteraciones genéticas en el paciente se ha convertido en la herramienta más confiable para valorar el pronóstico del curso de la enfermedad, la recuperación total de individuos con LMA sigue siendo razón de estudio para investigadores, aunque la posibilidad de la realización de trasplantes alogénicos de progenitores hematopoyéticos mejoraría en un gran porcentaje las probabilidades de supervivencia de los pacientes con pronósticos adversos e intermedios a causa de la presencia de alteraciones moleculares desfavorables en el cuadro clínico del individuo (3,65).



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Para concluir se puede indicar que al no existir datos o estudios que relacionen los marcadores celulares detectados por citometría de flujo con la presencia de anomalías cromosómicas analizadas por medio de PCR en la leucemia mieloide aguda, se puede establecer que este trabajo es el primero en su categoría a nivel local y nacional.



CAPITULO VII

7.1 CONCLUSIONES

- El rango de edad más frecuente en el análisis correspondió al grupo comprendido entre los 11 a 20 años de edad registrando una frecuencia de 20 casos en el estudio, el rango de edad menos frecuente fueron las edades entre los 81 a 90 años con la presencia de 2 casos.
- La mayor parte de pacientes atendidos en SOLCA-Cuenca eran residentes de la provincia del Azuay, sin embargo, existió un porcentaje significativo de pacientes provenientes de provincias diferentes que son atendidos en esta casa de salud.
- Se demostró un leve predominio del sexo femenino con una frecuencia de 55 casos sobre el masculino con 52 casos en el estudio.
- El subtipo de LMA con mayor frecuencia en el análisis fue el M3 o Leucemia Promielocítica aguda con 40 casos, el subtipo menos frecuente fue la M6 o Eritroleucemia con 1 caso en el estudio.
- El inmunofenotipo celular con mayor predominio en el estudio fue el CD33 con una expresión en 103 casos. Los marcadores CD79a y CD3c no presentaron expresión en ningún caso.
- La alteración cromosómica con mayor expresión en el estudio llevado a cabo fue la alteración PML/RARa t(15;17) con una presencia en 29 casos, las anomalías cromosómicas BCR-ABL p210/190 y ALL/AFB t(9;11) no presentaron expresión en ningún caso en el análisis.



7.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar más estudios o análisis sobre la frecuencia de marcadores celulares y su relación con la expresión de alteraciones cromosómicas en la LMA, además de evaluar la relación entre factores de riesgo a los que se encuentran susceptibles los pacientes con variables como edad, género y residencia. Los estudios pueden llevarse a cabo en cada provincia en la que SOLCA cuente con una institución para poder tener datos o cifras de un universo poblacional más amplio y los cuales indiquen datos epidemiológicos que reflejen la realidad a nivel nacional de la LMA.
- Además de utilizar la técnica de citometría de flujo y PCR en el diagnóstico de las LMA, se debería relacionar los resultados mediante el área de Citogenética mediante la realización de un cariotipo para poder detectar anomalías o alteraciones a nivel de los cromosomas.



CAPITULO VIII

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Manual MSD Versión para Profesionales. Generalidades sobre las leucemias. [Online].; 2018 [cited 2020 Septiembre 13. Available from: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/hematolog%C3%ADa-y-oncolog%C3%ADa/leucemias/generalidades-sobre-las-leucemias>.
2. Beligoy L, Bengio R, Enrico A, Freitas J, Larripa I, Pavlovsky C, et al. Leucemia mieloide crónica. Sociedad Argentina de Hematología. 2012;; p. 205-229.
3. Lagunas F. Leucemia Mieloide Aguda. Una perspectiva de los mecanismos moleculares del cáncer. Gaceta Mexicana de Oncología. 2016; 15(3): p. 150-157.
4. Amor A, Hernández L, Díaz C, Fernández L, Ruíz V, Garrote H. La biología molecular en la precisión diagnóstica de las leucemias. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia. 2018; 34(3): p. 1-7.
5. Instituto Nacional del Cáncer. Citometría de Flujo. [Online].; 2020 [cited 2020 Septiembre 18. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/citometria-de-flujo>.
6. Valdez C, Gaxiola A. Utilidad de RT-PCR multiplex en el diagnóstico de leucemias. Perspectiva. 2019; 13(2): p. 78-82.
7. Organización Mundial de la Salud. Cáncer. [Online].; 2018 [cited 2020 Abril 17. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer#:~:text=El%20c%C3%A1ncer%20es%20la%20segunda,de%20ingresos%20medios%20y%20bajos>.
8. International Agency for Research on Cancer. Globocan. [Online].; 2018 [cited 2020 Septiembre 18. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-fact-sheets.pdf>.
9. Instituto Nacional del Cáncer. Estadísticas del Cáncer. [Online].; 2020 [cited 2020 Septiembre 2018. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/estadisticas#:~:text=El%20n%C3%BAmero%20de>.
10. Organización Panamericana de la Salud. Programa de Cáncer. [Online].; 2018 [cited 2020 Septiembre 2018. Available from: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=292:cancerprogram&Itemid=39.
11. International Agency for Research on Cancer. Globocan. [Online].; 2018 [cited 2020 Septiembre 18. Available from:



<https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-factsheets.pdf>.

12. Solidoro A. Pobreza, inequidad y cáncer. *Acta Médica Peruana*. 2010; 27(3): p. 204-206.
13. Organización Mundial para la Salud. Informe Anual Ecuador. , Organización Mundial para la Salud, Observatorio Mundial para el Cáncer (GLOBOCAN); 2019.
14. García I, Moraleda J. Hematopoyesis. Hematíes: estructura y función. In Moraleda J. *Pregrado de Hematología.:* Sociedad Española de Hematología y Hematoterapia.; 2017. p. 15-33.
15. Gámez I, Porrino M, Ibañez A. Fisiología de la Hematopoyesis y factores de crecimiento hematopoyéticos. In Rca. GE, editor. *Hematología del Laboratorio a la Práctica Clínica.*; 2010. p. 17-29.
16. Mayani H, Flores E, Pelayo R, Montesinos J, Flores P, Chávez A. Hematopoyesis. *Revista de Cancerología*. 2007; 2(1): p. 95-107.
17. Jaime J, Almaguer D. *Hematología: la sangre y sus enfermedades*. Tercera ed.: McGraw Hill; 2015.
18. Organización Mundial de la Salud. Cáncer. [Online].; 2020 [cited 2020 Septiembre 13. Available from: <https://www.who.int/topics/cancer/es/>.
19. De la Garza J, Juárez P. *El Cáncer*. Primera ed.: La ciencia a tu alcance; 2014.
20. National Human Genome Research Institute. Oncogén. [Online].; 2020 [cited 2020 Septiembre 13. Available from: <https://www.genome.gov/es/genetics-vglossary/Oncogen>.
21. Hurtado R, Solano B, Vargas P. Leucemia para el médico general. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*. 2012; 55(2): p. 11-25.
22. Walter J. La leucemia. *Leukemia & Lymphoma Society*. 2012; 1(1): p. 1-28.
23. Cruz L. Leucemia mieloide aguda. *Revista de Hematología*. 2018; 19(1): p. 24-40.
24. Lichtman M, Kaushansky K, Kipps T, Prchal J, Levi M. *Williams Manual de Hematología*. Octava ed.: McGraw Hill.; 2014.
25. Lagunas F, Pérez V, Cortés C. FLT3, NPM1 y C/EBP α como amrcadores de pronóstico en pacientes con leucemia mieloide aguda. *Revista de Hematología*. 2015; 16(2): p. 152-167.
26. *Leukemia & Lymphoma Society*. Leucemia mieloide crónica. *Leukemia & Lymphoma Society*. 2017;; p. 1-60.
27. Chavéz M, Ayala M, Mayani H. La leucemia mieloide crónica en el siglo XXI: biología y tratamiento. *Revista de Investigación Clínica*. 2009; 61(3): p. 221-232.
28. Swerdlow S, Campo E, Lee N, Jaffe E, Pileri S, Stein H, et al. *WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Cuarta ed.: International Agency for Research on Cancer; 2017.



29. Pérez J, Cruz S, Romero H, Rodríguez J. Fundamentos de Citometría de flujo: Su aplicación diagnóstica en la investigación biomédica y clínica. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*. 2018; 8(2): p. 41-52.
30. Barrera L, Drago M, Pérez J, Zamora A, Gómez F, Sainza T, et al. Citometría de flujo: vínculo entre la investigación básica y la aplicación clínica. *Revista Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*. 2004; 17(1): p. 42-55.
31. Otero M, González E. Aplicaciones clínicas de la citometría de flujo. *Revista Educación Continuada en el Laboratorio Clínico*. 2014; 17(2): p. 62-70.
32. Zhao F, Chen Y, Wu Q, Wang Z, Lu J. Prognostic value of CD117 in cancer: a meta-analysis. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2014; 7(3): p. 1012-1021.
33. Naeim F, Rao N, Song S, Phan R. *Atlas of Hematopathology*. SEGunda ed.: Academic Press; 2018.
34. Bioscience DX. CD13 PE. [Online].; 2011 [cited 2021 Mayo 05. Available from: <https://www.fr.bindingsite.com/-/media/productcollection/documents/9012-0138-es.pdf>.
35. García O, Pereira N, Sanchez R. ENZIMAS GENERADORAS DE ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO: MIELOPEROXIDASA. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 2008; 17(3).
36. Delves P. MANUAL MSD Versión para Profesionales. [Online].; 2020 [cited 2021 Mayo 05. Available from: <https://www.msmanuals.com/es-es/professional/inmunolog%C3%ADa-y-trastornos-al%C3%A9rgicos/biolog%C3%ADa-del-sistema-inmunitario/sistema-del-ant%C3%ADgeno-leucocitario-humano-hla>.
37. Astsaturov A, Matutes E, Morilla R, Seon B, Masson D, Farahat N. Differential expression of B29 (CD79b) and mb-1 (CD79a) proteins in acute lymphoblastic leukaemia. *National Library of Medicine*. 2010; 10(5): p. 769-773.
38. Chu P, Arber D. CD79: a review. *National Library of Medicine*. 2011; 9(2): p. 97-106.
39. Provencio M. Biomarcadores moleculares y genómica en los linfomas. *Oncobyg*. 2012; 4(2): p. 1-14.
40. Tamay de Dios L, Ibarra C, Velasquillo C. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Revista Investigación en Discapacidad*. 2013; 2(2): p. 70-78.
41. Artigas C, Melo A, Roa J, Paez E, Vittini C, Arriagada M, et al. Detection of BCR-ABL gene sequences using polymerase chain reaction reverse transcriptase in patients with leukemia. *Revista Médica de Chile*. 2008; 130(6): p. 623-630.
42. Muñoz D, Prada J, Castillo E. The Role of FLT3 as Biomarker in Acute Myeloid Leukemia. *Archivos de medicina*. 2018; 14(1): p. 1-9.



43. Garrote H, Amor A, Diaz C, Suarez Y, Gomez M. Gen de fusión AML1-ETO: particularidades en la leucemia mieloide aguda. *Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2014; 30(2): p. 98-107.
44. Llimpe Y, Monteza R, Ticlahuanca J, Rubio P, Ortiz C, Arias A. LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA SUBTIPO M2 CON VARIANTE DE LA TRANSLOCACIÓN t(8;21) Y EXPRESIÓN AML1/ETO. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2013; 30(1): p. 142-158.
45. Liquori A, Ibañez M, Sargas C, Sanz M, Barragan E, Cervera J. Acute Promyelocytic Leukemia: A Constellation of Molecular Events around a Single PML-RARA Fusion Gene. *Cancers*. 2020; 12(3): p. 624-626.
46. Kundu M, Liu P. Function of the inv(16) fusion gene CBFβ-MYH11. *Ocurrent Opinion in Hematology*. 2001; 8(4): p. 201-205.
47. Abdullah A, Beshlawi I, zachariah M, Wali Y. KMT2A-MLLT3 AML Masquerading as JMML may Disguise Fatal Leukemia. *Oman Medical Journal*. 2019; 34(6): p. 553-555.
48. Ramírez M. Citometría de flujo: qué puede aportar al diagnóstico hematológico en pediatría. *Anales de Pediatría Conitnuada*. 2012; 10(5): p. 282-285.
49. Zanella L. Enfermedad residual medible en leucemia mieloide aguda. ¿Cómo evaluarla? Conceptos y aspectos de laboratorio. *Hematología*. 2019; 23(24): p. 174-183.
50. American Society of Clinical Oncology. *Cancer. Net*. [Online].; 2021 [cited 2021 Julio 15. Available from: <https://www.cancer.net/es/tipos-de-c%C3%A1ncer/leucemia-mieloide-aguda-aml-en-adultos/estad%C3%ADsticas>.
51. Santoyo A, Ramos C, Saavedra A, González L, Martínez A, Olarte I, et al. Frecuencias de edad y género de pacientes con leucemia observada en dos centros de referencia del Valle de México. *GACETA MÉDICA DE MÉXICO*. 2016; 152(1): p. 208-212.
52. Guerrero T, Páez J, Terán R. Caracterización de los pacientes con leucemia aguda en un hospital de tercer nivel de Quito - Ecuador. *Revista Médica Científica CAMBIOS*. 2019; 18(2): p. 105-114.
53. Asociación Española de Afectados por Linfoma, Mieloma y Leucemia. AEAL. [Online].; 2021 [cited 2021 Julio 15. Available from: <http://www.aeal.es/leucemia-mieloide-aguda-espana/3-la-leucemia-mieloide-aguda/>.
54. González W, Olarte I, Gutiérrez M, Montaña E, Martínez C, Ramos C. Frecuencia de leucemias agudas en un hospital de referencia. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2012; 50(2): p. 167-171.
55. Gómez R, Fernández J, Dita L, Guerra T. Sobrevida en pacientes con leucemia aguda no linfoblástica en el Hospital "Dr. Gustavo Aldereguía Lima". *Revista Electrónica de las Ciencias Médicas en Cienfuegos*. 2010; 8(5): p. 32-41.



56. Pino D, Macías C, Lahera T, Mársan V, Sánchez Mea. Caracterización inmunofenotípica de pacientes con leucemia mieloide aguda. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2014; 30(1): p. 27-35.
57. Solís E, Balbuena V. Leucemia aguda mieloide M3 (promielocítica). *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*. 2008; 55(1): p. 37-41.
58. Coronel R. Importancia del laboratorio en el diagnóstico y pronóstico de leucemia aguda linfoblástica de la infancia. *Revista Acta Pediátrica de México*. 2005; 26(3): p. 129-136.
59. Novoa V, N N, Carballo O, Lessa C. INMUNOFENOTIPOS ABERRANTES EN LEUCEMIAS AGUDAS EN UNA POBLACIÓN HOSPITALARIA DE BUENOS AIRES. *Revista Medicina*. 2013; 73(1): p. 9-16.
60. Legrand O, Yves J, Baudard M, Cordier A, Lautier R, al. e. The immunophenotype of 177 adults with acute myeloid leukemia: proposal of a prognostic score. *The American Society of Hematology*. 2000; 96(3): p. 870-877.
61. Cruz L, Garza M, Méndez N, Cárdenas D, Gómez D. Observaciones relacionadas con los métodos diagnósticos ideales en el paciente con leucemia mieloide aguda. *Revista Hematologica de México*. 2016; 17(3): p. 187-194.
62. Merino A. Clasificación de las leucemias agudas mieloides. *Revista del Laboratorio Clínico*. 2010; 3(3): p. 139-147.
63. Amor A, Hernandez L. La biología molecular en el diagnóstico de la leucemia mieloide aguda. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2019; 35(3): p. 103-110.
64. Zapata M, Sánchez J, Angeles T, Parra I, KLunder M, al. e. Identification of molecular disorders in pediatric patients with diagnosis of acute leukemia. *Revista de Hematología*. 2017; 18(2): p. 47-57.
65. Quintero Y, Fernández Y, Hernández C, Romero A, Macia I, Lam R. Supervivencia de pacientes adultos con leucemia mieloide aguda no promielocítica tratados con altas dosis de antraciclinas. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2020; 36(1): p. 50-63.
66. Beligoy L, Bengio R, Enrico A, Freitas J, Larripa I, Pavlovsky C, et al. Leucemia Mieloide Crónica. *Sociedad Argentina de Hematología*. 2012; 1(1): p. 205-229.



CAPITULO IX

9. ANEXOS

9.1 ANEXO 1: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición Conceptual	Dimensión	Indicador	Escala
EDAD	Tiempo que transcurre en años desde el nacimiento hasta la fecha actual.	Tiempo	Historia clínica	0-10 años 11-20 años 21-30 años 31-40 años 41-50 años 51-60 años 61-70 años 71-80 años 81-90 años
SEXO	Conjunto de peculiaridades que caracterizan a los individuos de una especie dividiéndolos en masculinos y femeninos.	Fenotipo	Historia clínica	Masculino Femenino
PROCEDENCIA	Lugar, cosa o persona de que procede alguien o algo.	Procedencia	Historia clínica	24 provincias del Ecuador



<p>AÑO DE DIAGNÓSTICO</p>	<p>Año en que se dio la determinación de la presencia de una enfermedad en un individuo.</p>	<p>Año</p>	<p>Historia clínica, formulario de datos.</p>	<p>Año 2015 Año 2016 Año 2017 Año 2018 Año 2019</p>
<p>LEUCEMIA MIELOIDE</p>	<p>Es un tipo de cáncer en el que la medula ósea produce mieloblastos, glóbulos rojos o plaquetas anormales.</p>	<p>Biológico</p>	<p>Historia clínica, formulario de datos.</p>	<p>LMA: M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7</p>
<p>PANEL MIELOIDE DE MARCADORES MOLECULARES POR CITOMETRÍA DE FLUJO (CD117, CD33, CD13, HLA-DR y Mieloperoxidasa citoplasmática)</p>	<p>Son antígenos de diferenciación o marcadores en la superficie o citoplasma celular que son reconocidos por ciertos anticuerpos y son usados para la identificación del tipo de célula, estado de activación y diferenciación celular.</p>	<p>Biológico</p>	<p>Historia clínica, formulario de datos.</p>	<p>Positivo Negativo</p>



<p>PANEL LINFOIDE B DE MARCADORES MOLECULARES POR CITOMETRÍA DE FLUJO (CDc79a)</p>	<p>Es una proteína transmembranal que forma un complejo con el receptor del linfocito B y que genera una señal después de reconocer el antígeno.</p>	<p>Biológico</p>	<p>Historia clínica, formulario de datos.</p>	<p>Positivo Negativo (marcador molecular de descarte de leucemia mieloide)</p>
<p>PANEL LINFOIDE T DE MARCADORES MOLECULARES POR CITOMETRÍA DE FLUJO (CDc3)</p>	<p>Es una glicoproteína que se encuentra en las células T e interviene en la transducción de señales, expresión del receptor de linfocitos T en la superficie de las células.</p>	<p>Biológico</p>	<p>Historia clínica, formulario de datos.</p>	<p>Positivo Negativo (marcador molecular de descarte de leucemia mieloide)</p>
<p>MARCADORES MOLECULARES POR PCR PARA LEUCEMIA MIELOIDE</p>	<p>Es un segmento de ADN con una ubicación física identificable en un cromosoma y cuya herencia genética se puede rastrear.</p>	<p>Biológico</p>	<p>Historia clínica, formulario de datos.</p>	<p>Positivo Negativo (BCR-ABL p210/190, ITD FLT3, AML-1 ETO t (8.21), PML/RARα t(15.17), CBFB/MYH 11 INV (16), ALL/AFB t (9.11).)</p>



9.2 ANEXO 2: FORMULARIO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

CARRERA DE LABORATORIO CLINICO

MARCADORES MOLECULARES EN LEUCEMIA MIELOIDE CARACTERIZADA POR CITOMETRIA DE FLUJO

Formulario Número _____

1. Datos personales:

Edad: _____ años

Residencia: _____

Sexo: Masculino

Año de diagnóstico: _____

Femenino

2. Diagnóstico

> Leucemia mieloide

Aguda

Sub tipo de leucemia mieloide aguda			
M0	<input type="checkbox"/>	M5	<input type="checkbox"/>
M1	<input type="checkbox"/>	M6	<input type="checkbox"/>



M2	<input type="checkbox"/>	M7	<input type="checkbox"/>
M3	<input type="checkbox"/>		
M4	<input type="checkbox"/>		

➤ **Marcadores citoplasmáticos y de superficie celular por Citometría de flujo:**

Panel mielóide

CD 117	<input type="checkbox"/>
CD 33	<input type="checkbox"/>
CD 13	<input type="checkbox"/>
Mieloperoxidasa citoplasmática	<input type="checkbox"/>
HLA-DR	<input type="checkbox"/>

Panel linfóide B

CDc79a	<input type="checkbox"/>
--------	--------------------------

Panel linfóide T

CDc3	<input type="checkbox"/>
------	--------------------------

➤ **Marcadores moleculares expresados por PCR:**

BCR-ABL p210	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	PML/RAR α (15.17)
BCR-ABL p190	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	CBFB/MYH11 INV(16)
ITD FLT3	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	ALL/AFB t(9.11)
AML-1 ERO t(8.21)	<input type="checkbox"/>		



9.3 ANEXO 3: OFICIO AL DIRECTOR DEL INSTITUTO DEL CÁNCER SOLCA-CUENCA



UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Cuenca, 21 de Mayo del 2021

Señor Doctor
Raúl Alvarado Corral
DIRECTOR DEL INSTITUTO DEL CÁNCER SOLCA-CUENCA
Su despacho.

De nuestra consideración:

Con un cordial saludo nos dirigimos a usted con la finalidad de solicitar de la manera más comedida su autorización para que nosotros: Christian Andrés Quezada Alvear con CI: 0105820641 y Maybery Rosibel Suárez Elizalde con CI: 0106699358, estudiantes de la Carrera de Laboratorio Clínico, de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca podamos acceder a la base de datos del área de Biología Molecular del Instituto de Cáncer SOLCA-Cuenca, con el objetivo de recolectar información necesaria para realizar el proyecto de investigación aprobado y titulado: **“FRECUENCIA DE MARCADORES MOLECULARES EN LEUCEMIA MIELOIDE CARACTERIZADA POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN PACIENTES DE SOLCA 2015 – 2019”**, dirigido por el Dr. Gabriele Bigoni Ordoñez, previo a la obtención del título de Licenciados en Laboratorio Clínico. Además, mediante el presente documento nos comprometemos que toda la información recolectada de los pacientes, se utilizarán explícitamente en el estudio investigativo y bajo confidencialidad. La investigación proporcionará datos importantes sobre la casuística de nuestra población.

Por la favorable acogida expresamos nuestros agradecimientos y le deseamos éxitos en sus funciones.

Atentamente,

Christian Quezada A.
C.I. 0105820641
Autor de la investigación

Maybery Suarez E.
C.I. 0106699358
Autora de la investigación