



UNIVERSIDAD DE ESPECIALIDADES ESPÍRITU SANTO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS “ENRIQUE ORTEGA MOREIRA”

ESCUELA DE MEDICINA

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN:

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA
EN PACIENTES PEDIÁTRICOS, EN SOLCA, GUAYAQUIL, TRATADOS DESDE
FEBRERO 2018 A SEPTIEMBRE 2019**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MÉDICO**

AUTOR:

STEFANO NICOLAS CHISESI DECKER

TUTOR:

DR. JUAN CARLOS RUIZ

SAMBORONDÓN, SEPTIEMBRE 2020



Samborondón 7 de septiembre 2020

Doctor:

PEDRO BARBERAN TORRES

Decano

Facultad de Medicina

Estimado Dr. Barberán:

Yo, STEFANO NICOLAS CHISESI DECKER, interna de la carrera de Medicina, hago la entrega oficial del trabajo de titulación “CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS, EN SOLCA, GUAYAQUIL, TRATADOS DESDE FEBRERO 2018 A SEPTIEMBRE 2019.”, previo a la obtención de título de Médico. Dicho trabajo ha sido debidamente revisado y certificado por el DR. JUAN CARLOS RUIZ, tutor de tesis.

Adjunto los documentos solicitados previo a la sustentación.

HOJA DE APROBACIÓN DEL TUTOR

Samborondón, 7 de septiembre 2020

Doctor.

PEDRO BARBERAN TORRES

Decano

Facultad de medicina

De mis consideraciones,

Yo, Dr. JUAN CARLOS RUIZ, en calidad de tutor del trabajo de titulación con el tema: "CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS, EN SOLCA, GUAYAQUIL, TRATADOS DESDE FEBRERO 2018 A SEPTIEMBRE 2019, presentado por el estudiante Stefano Nicolas Chisesi Decker egresado de la carrera de medicina.

Mediante la presente certifico que el trabajo ha sido revisado mediante los lineamientos establecidos y que reúne los criterios científicos y técnicos de un trabajo de investigación científica; así como los requisitos y méritos suficientes para ser sometidos a una evaluación de jurado examinador designado por el honorable consejo de la facultad de Ciencias Médicas "Dr. Enrique Ortega Moreira", de la Universidad de Especialidades Espíritu Santo.

Atentamente,


Dr. Juan Carlos Ruiz C.
Médico - Biólogo Molecular
Dr. JUAN CARLOS RUIZ
Co. Med. 0039



0108820

UNIVERSIDAD DE ESPECIALIDADES ESPIRITU SANTO

Sr. Dr.
Pedro Barberán Torres.
Decano Facultad de Medicina
Universidad de Especialidades Espíritu Santo.
Samborondón.

De mis consideraciones:

Yo Stefano Nicolas Chisesi Decker portadora de la cedula de identidad # 091841365-9, estudiante de 5to año de la carrera de medicina de la Facultad "Enrique Ortega Moreira" de Ciencias Médicas con código #2012100845 entrego a usted la ficha técnica para el desarrollo de mi trabajo de titulación cuyo tema es: CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS, EN SOLCA, GUAYAQUIL, TRATADOS DESDE FEBRERO 2018 A SEPTIEMBRE 2019.

El cual tiene como propósito describir la epidemiología molecular de la Leucemia linfoblástica Aguda en ámbito pediátrico.

El presente trabajo va a permitir caracterizar y describir los marcadores genómicos, moleculares y genéticos, que determinan la leucemiogénesis y su evolución ante la terapia.

He escogido como tutor de mi trabajo al Dr. Juan Carlos Ruiz porque su conocimiento me parece el más adecuado para guiarme en el curso de la investigación.

El tema por desarrollar tiene importancia porque en Ecuador no se ha realizado este tipo de trabajo anteriormente, además analizar la epidemiología molecular y genética de la Leucemia Linfoblástica Aguda Infantil, forma parte de la base para poder a futuro dirigir la terapia en base a la diferente presentación genómica de la LLA.

Motivo por el cual solicito a usted se sirva dar trámite a la aprobación de mi ficha técnica, a la aceptación o asignación de mi tutor de tesis ante el Consejo Directivo de la Facultad "Enrique Ortega Moreira" de Ciencias Médicas.

De usted muy atentamente.

Ced #.091841365-9

Stefano Nicolas Chisesi Decker

Se agradece por su contribución al desarrollo de esta tesis a mi padre, ejemplo y guía a través de estos años.

A mi tutor, elemento fundamental para la realización de este trabajo.

A Verónica, por haberme ayudado a derrotar la barrera del lenguaje y los formatos.

No hay palabras suficientes para expresar el agradecimiento que les tengo después de tanta paciencia, ayuda y perseverancia, juntos, logramos este trabajo que es más que una tesis, es una parte de mí, donada a la ciencia.

Stefano Nicolas Chisesi Decker

Dedico este trabajo a mi familia que nunca me ha fallado en estos difíciles años de estudio y trabajo. Me siento como un brote empujando la tierra para exponerse a la luz solar; estoy consciente que mi vida, como Médico recién empieza y tengo la intención de aprovecharla al máximo, hasta que mis hojas estén secas y mis frutos listos, para darle de comer al mundo, a través de las mismas enseñanzas que me hicieron crecer tanto en tan poco tiempo.

Stefano Nicolas Chisesi Decker

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	12
JUSTIFICACIÓN	13
CAPÍTULO 1	14
1.1. Antecedentes.....	14
1.2. Descripción del problema.....	15
1.3. Conveniencia	16
1.4. Relevancia social	17
1.5. Implicaciones prácticas	17
1.6. Valor teórico	18
1.7. Utilidad metodológica	18
OBJETIVOS	19
Objetivo general.....	19
Objetivos específicos	19
Hipótesis	19
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO.....	20
2.1.Glosario.....	20
2.2. Conceptos fisiopatológicos	22
CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA.....	31
3.1. Tipo de investigación	31
3.2. Lugar.....	31
3.2. Población y muestra.....	31
3.3. Descripción de instrumentos, herramientas y procedimientos de la investigación	31
3.5. Estrategia de Análisis Estadístico	35
3.6. Aspectos éticos y legales.....	35
CAPÍTULO 4: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	36

DISCUSIÓN	45
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	47
5.1. Conclusiones.....	47
5.2. Recomendaciones	47
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
ANEXOS	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Anomalías cromosómicas recurrentes en la leucemia linfoblástica aguda (Shago, 2016).....	26
Tabla 2. Alteraciones cromosómicas cualitativas y cuantitativas coexistentes.....	38
Tabla 3. Edad y EMR del día 30.....	41

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 2. Alteraciones cromosómicas cualitativas en pacientes con leucemia linfoblástica aguda.....	36
Gráfico 3. Alteraciones cromosómicas cuantitativas en pacientes con leucemia linfoblástica aguda.....	37
Gráfico 4. Porcentaje inicial de blastos	38
Gráfico 5. Enfermedad mínima residual (EMR) día 15.....	39
Gráfico 6. Enfermedad mínima residual (EMR) día 30.....	40
Gráfico 7. Fluctuación del porcentaje de blastos desde el día 1 al 30 (EMR)	41
Gráfico 8. Porcentaje inicial de blastos y EMR del día 30	42
Gráfico 9. Alteraciones cromosómicas cualitativas y EMR del día 30	43
Gráfico 10. Alteraciones cromosómicas cuantitativas y EMR del día 30	44

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La leucemia linfoblástica aguda (LLA) se caracteriza por presentar alteraciones citogenéticas, que se asocian con diferente sensibilidad a la terapia convencional inicial. La respuesta a la terapia se evalúa midiendo la enfermedad mínima residual (EMR). **OBJETIVOS:** Indicar las alteraciones citogenéticas encontradas, establecer la fluctuación de la EMR a los días 15 y 30, establecer el porcentaje inicial de blastos en relación con la EMR y la relación de alteraciones citogenéticas y susceptibilidad al tratamiento inicial. **METODOLOGÍA:** Estudio descriptivo, transversal, retrospectivo y analítico con pacientes pediátricos con LLA atendidos en SOLCA, Guayaquil atendidos entre 2018 y 2019. Se estudió una muestra de 98 pacientes. **RESULTADOS:** De los 98 pacientes, 61 fueron de sexo masculino (62,24%) y 37 femenino (37,76%), con media de edad de $8,65 \pm 4,22$ años. Todos presentaron LLA de fenotipo B y el 50% presentó al menos una alteración cromosómica. De estas, las cualitativas más frecuentes: t(9;22)-BCR-ABL(41,46%), t(12;21)-TEL-AML1(41,46%), t(1;19)-E2A-PBX1(9,76%); y las cuantitativas, hipodiploidía 45 XY(37,5%), trisomías(31,25%) y tetrasomías(12,5%). El porcentaje de blastos inicial fue $> 25\%$ en el 89,8%, la EMR día 15 fue positiva en 71,43% y la EMR día 30, positiva en el 51,02%. **CONCLUSIONES:** Las alteraciones cromosómicas encontradas fueron: t(9;22)-BCR-ABL (41,46%), t(12;21)-TEL-AML1 (41,46%), t(1;19)-E2A-PBX1 (9,76%), t(4;11) (4,88%) y t(15;17) (2,44%), 45 XY(37,5%), trisomías(31,25%), tetrasomías(12,5%), 46 XX - 9,+22(12,5%) e hiperdiploidía 57 XY(6,25%). Las alteraciones cualitativa y cuantitativa más frecuentes en este estudio, t(9;22)-BCR-ABL (41,46%) e hipodiploidía 45 XY (37,5%) y fueron de pronóstico desfavorable.

Palabras Claves: *Leucemia linfoblástica aguda (LLA), enfermedad mínima residual (EMR), aberraciones cromosómicas, citogenética.*

ABSTRACT

INTRODUCTION: Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is characterized by cytogenetic alterations, which are associated with different sensitivity to initial conventional therapy. Response to therapy is assessed by measuring minimal residual disease (MRD). **OBJECTIVES:** To indicate the cytogenetic alterations found, establish the fluctuation of the EMR at days 15 and 30, establish the initial percentage of blasts in relation to the EMR and the relationship of cytogenetic alterations and susceptibility to initial treatment. **METHODS:** Descriptive, cross-sectional, retrospective, and analytical study with pediatric patients with ALL seen at SOLCA, Guayaquil seen between 2018 and 2019. A sample of 98 patients was studied. **RESULTS:** Of the 98 patients, 61 were male (62.24%) and 37 female (37.76%), with a mean age of 8.65 ± 4.22 years. All had ALL of phenotype B and 50% had at least one chromosomal alteration. Of these, the most frequent qualitative: t (9; 22) -BCR-ABL (41.46%), t (12; 21) -TEL-AML1 (41.46%), t (1; 19) -E2A -PBX1 (9.76%); and the quantitative ones, 45 XY hypodiploidy (37.5%), trisomies (31.25%) and tetrasomies (12.5%). The initial blast percentage was > 25% in 89.8%, the EMR day 15 was positive in 71.43% and the EMR day 30, positive in 51.02%. **CONCLUSION:** The chromosomal alterations found were: t (9; 22) -BCR-ABL (41.46%), t (12; 21) -TEL-AML1 (41.46%), t (1; 19) -E2A -PBX1 (9.76%), t (4; 11) (4.88%) and t (15; 17) (2.44%), 45 XY (37.5%), trisomies (31.25%), tetrasomies (12.5%), 46 XX -9, + 22 (12.5%) and hyperdiploidy 57 XY (6.25%). The most frequent qualitative and quantitative alterations in this study, t (9; 22) -BCR-ABL (41.46%) and 45 XY hypodiploidy (37.5%), were of unfavorable prognosis.

Key Words: *Acute lymphoblastic leukemia, minimal residual disease (MRD), chromosomal aberrations, cytogenetics.*

INTRODUCCIÓN

La leucemia linfoblástica aguda es una enfermedad que se puede encontrar de forma muy agresiva, sobre todo, en la población pediátrica menor de 5 años. Esta enfermedad es causada por un desbalance genómico en el sistema linfático, por lo cual el pro-linfocito, cambia su predisposición a la apoptosis y empieza a multiplicarse sin fin (1). Actualmente se conocen numerosas alteraciones cromosómicas. La OMS reconoce que las anomalías cromosómicas están entre los criterios de mayor fiabilidad para la clasificación de las neoplasias pediátricas y en particular las leucemias agudas.

La aplicación de técnicas moleculares además ayuda en la subclasificación de las entidades y permite una valoración de riesgo en los pacientes con leucemia linfoblástica aguda (LLA) (2). La genética molecular tiene un papel fundamental para un mejor tratamiento, seguimiento y una estratificación efectiva de los diversos tipos de leucemia. Con estas técnicas se permite el análisis de las células tanto en metafase (proliferación) como en interfase (no proliferación). Además, es una herramienta tremendamente útil en el estudio de enfermedad mínima residual, que se define como la enfermedad mínima que se puede encontrar después de la terapia.

Gracias a la secuenciación genómica se puede estudiar la composición puntual de los nucleótidos a la base de dichas alteraciones genéticas. Esto significa que identificando los oncogenes precursores de la enfermedad se relacionan los marcadores expresados antes y después del tratamiento para analizar y medir el comportamiento de la leucemia durante los diferentes momentos terapéuticos (3). Los avances en este campo permiten generar fármacos dedicados a interactuar con las mutaciones específicas para inhibir el mecanismo oncogénico y completar la acción de la inmunoterapia con el uso de los anticuerpos recombinantes (4).

JUSTIFICACIÓN

La finalidad de este proyecto fue analizar los diversos tipos de Leucemia linfoblástica aguda en una población de pacientes pediátricos, que ingresaron al servicio de Pediatría de SOLCA durante el período febrero 2018- marzo 2019, y describir las diversas alteraciones citogenéticas y relacionarlas con la respuesta al tratamiento entendida como la enfermedad mínima residual (EMR), reconocida como principal factor de pronóstico en la evolución de las leucemias y finalmente identificar los genes asociados a un mal pronóstico; relacionando la sensibilidad de la diferente expresión genómica a la terapia convencional en función de individuar grupos de alto riesgo que ameritan una terapia dirigida.

CAPÍTULO 1

1.1. Antecedentes

Para el año 2019, las estimas de la Sociedad Americana Contra El Cáncer para LLA en los Estados Unidos son (incluyendo tanto adultos como niños) (5):

- Aproximadamente 5,930 nuevos casos de LLA (3,280 hombres y 2,650 mujeres) serán diagnosticados.
- Aproximadamente 1,500 personas (850 hombres y 650 mujeres) morirán a causa de LLA.

En Ecuador, Guayas es la provincia donde se diagnostican el mayor número de pacientes con este tipo de patologías de acuerdo a los datos que maneja el Instituto Ecuatoriano de Estadísticas y Censos (INEC) y, el ION-SOLCA que es el centro de referencia para la provincia y la región del litoral (6).

La población más en riesgo de contraer la enfermedad son los niños menores de 5 años(5) . Luego en los adultos el riesgo disminuye de forma drástica hasta elevarse otra vez, pasada la quinta década de vida. Solo 4 de cada 10 adultos tienen la probabilidad de contraer esta enfermedad. La mayoría de los casos de LLA ocurren en niños, pero la mayoría de las muertes ocurre en adultos. Los pacientes pediátricos pueden reaccionar mejor debido a diferencias en el tipo de LLA de la niñez y la adultez, diferencias en el tratamiento (En los niños se puede manejar un tratamiento agresivo mejor que en los adultos) y cierta combinación de estos factores (3).

En la actualidad tenemos varias clasificaciones que se han ido sumando una a la otra en el transcurso del tiempo: la clasificación French-American-British o mejor conocida como FAB es la más antigua, divide la leucemia linfoblástica aguda en consideración de un criterio morfológico en 3 grupos diferentes L1 con células uniformes de pequeño tamaño, L2 con células grandes no uniformes y L3 la cual aparte de tener células no uniformes y ser de gran tamaño también tiene vacuolas en su interior (1). Cuando las células se diferencian más entre ellas y aumentan de

tamaño entran en la FAB L3 generando leucemia tipo Burkitt. Esta primera división fue actualizada en el 2008 por la OMS (7) gracias a la inmunofenotipificación de los marcadores de superficie de los linfocitos afectados incrementando la clasificación y añadiendo un factor pronóstico a la individualización de los marcadores fenotípicos (7).

Lo último en cuanto a estratificación se pudo realizar en los últimos años gracias a la citogenética y las pruebas moleculares de diagnóstico (8). Integrando a la clasificación FAB los varios grupos citogenéticas e incluyendo el loci específico de la mutación génica se obtiene la clasificación moderna (7). Así la leucemia FAB L2 puede ser asociado con su respectiva translocación, entre las más comunes t (12; 21) (p12, q22), t (1,19) (q34; q11) o leucemias agudas multifenotípicas. Utilizando solo la citogenética podemos encontrar el cromosoma alterado y responsable de los grados de malignidad de la célula leucémica (9).

Actualmente la posibilidad de estudiar la alteración genética y analizar nucleótidos específicos, permite individualizar una alteración para cada clon específico responsable de las diferentes formas leucémicas, y estratificar la leucemia en base a un nuevo nivel de pronóstico integrando la oncogenómica en el proceso diagnóstico.

1.2. Descripción del problema

Dependiendo de los avances realizados en la genómica y proteómica, el diagnóstico y el tratamiento de la Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) Infantil se caracteriza por el uso combinado de recursos diagnósticos y terapéuticos basados en la posibilidad de integrar el fenotipo a las diferentes combinaciones terapéuticas para elegir un tratamiento lo más individualizado posible (9). Siendo así que términos como teragnóstica fueron acuñados para describir esta modalidad (10). Por lo tanto, la definición de la leucemia está respaldada por varios marcadores genéticos y moleculares que se encuentran caracterizados al realizar una biopsia de médula ósea en pacientes durante el diagnóstico inicial (11). Estudiando la alteración genética y analizando los nucleótidos específicos, se puede individuar una

alteración propia del clon leucémico responsable de la enfermedad de cada paciente.

Esto nos permite adentrarnos en el concepto de la medicina “personalizada”, asociando los marcadores propios de la Leucemia linfoblástica, y el tipo de variación genética expresada con la específica terapia evaluando en tiempo real la eventual variación del perfil genético en función de la respuesta después de un tratamiento de primera línea. El monitoreo, la sensibilidad de la célula leucémica al tratamiento durante la respectiva fase de la terapia y el número de células B patológicas presentes en cada paciente representan un factor pronóstico bien definido.

Todo esto ayuda a aplicar un fármaco determinado y dar el seguimiento adecuado con el monitoreo de la característica de la célula maligna con el objetivo específico de prever la eventual recaída lo más pronto posible, pues, al cuantificar la enfermedad mínima residual se pueden deducir la efectividad de la terapia y la intensidad de la eventual resistencia al tratamiento (12,13).

Lo que se desea establecer es el reconocimiento del marcador leucémico y al mismo tiempo estratificar a cada paciente identificando el cuadro genético y molecular en relación con la sensibilidad al tratamiento.

He revisado el repositorio de la UEES y no he encontrado trabajo alguno que se pueda usar como referencia. El único reporte que habla de leucemias, lo hace sobre las leucemias mieloides crónicas (14).

1.3. Conveniencia

El estudio se realizó en SOLCA matriz Guayaquil, en cuyo departamento de pediatría se recibe un gran número de niños afectados por LLA. Con la finalidad de diferenciar y adaptar la terapia a los diferentes pacientes en relación a la característica de la enfermedad, se pone actuación al estudio de la expresión molecular para caracterizar la leucemia, averiguar resultados y administrar el tratamiento correcto, realizando al mismo tiempo analizar la epidemiología y la características fisiopatológicas en relación con el perfil genómico y la LLA.

1.4. Relevancia social

La incidencia de LLA en pacientes menores a 20 años es del 56.1%, a diferencia de las demás edades las cuales extienden la porcentual de forma muy irregular. La enfermedad en niños afecta grandemente a la familia con repercusiones económicas, sociales y humanitarias significativas. La posibilidad de curar la leucemia varía de acuerdo con el tipo de leucemia y al tratamiento que pueda aplicarse. En la terapia individual actual es muy importante evaluar la Enfermedad Mínima Residual (EMR) después de aplicar el primer ciclo de tratamiento. La falta de este dato afecta en forma negativa el manejo de la enfermedad, contribuyendo al éxito negativo del tratamiento. Por lo tanto, la posibilidad de aplicar una metodología adecuada y de última generación permite mejorar la respuesta al tratamiento y la sobrevida a los 5 años posteriores al diagnóstico. Con una recaída social muy importante.

1.5. Implicaciones prácticas

Toda la información se recolectó en SOLCA, en las historias clínicas. El protocolo de la institución indica efectuar la toma de una muestra de médula ósea antes y después del tratamiento. Se evalúa el perfil diagnóstico de cada caso con exámenes morfo citológico, inmunológico con citometría de flujo, citogenética, molecular y a futuro, se ha previsto realizar un examen con la técnica de la secuenciación génica y a través tal metodología analizar la alteración genética específica responsable de la alteración de la célula leucémica. Por lo tanto se realiza una punción al momento del diagnóstico y después de un tiempo establecido, después del primer ciclo de terapia, para la evolución de la enfermedad mínima residual (EMR) y dependiendo de los resultados de esta última se estratifica el paciente en base a la sensibilidad y la respuesta a la terapia. Con la metodología de secuenciación génica se puede determinar la alteración estructural que se encuentra a la base de los diferentes marcadores genéticos de la enfermedad leucémica por lo tanto individuar una terapia dedicada por cada tipo de mutación. Finalmente, cada muestra viene criogénicamente congelada para poder generar nuevos datos con el avance de las técnicas de biología molecular.

1.6. Valor teórico

Teóricamente identificar y catalogar la presencia de las mutaciones génicas, nos permite adecuarnos y emplear de forma más efectiva el tratamiento ideal gracias al conocimiento natural de la mutación. Es un paso adelante en la terapia personalizada, ya que se aprovecha del conocimiento genómico y de la expresión de la enfermedad para adecuar la efectividad de la terapia usando diferentes drogas.

1.7. Utilidad metodológica

Entender la aplicación de la genómica en el diagnóstico, terapia y seguimiento de la leucemia linfoblástica aguda del niño, aplicando una metodología estandarizada y con una secuencia temporal adecuada permite evidenciar e identificar patrones moleculares útiles para el pronóstico, tratamiento y curación del paciente.

OBJETIVOS

Objetivo general

Describir las alteraciones citogenéticas presentes en pacientes con leucemia linfoblástica aguda y su asociación con la respuesta al tratamiento en la población pediátrica en SOLCA Guayaquil.

Objetivos específicos

- Indicar las alteraciones cromosómicas cualitativas y cuantitativas presentes en los pacientes con leucemia linfoblástica aguda.
- Establecer la fluctuación de la enfermedad mínima residual (EMR) durante el primer ciclo de terapia.
- Establecer el porcentaje inicial de blastos en relación con la EMR al día 15 y al día 30 del tratamiento inicial.
- Relacionar las alteraciones citogenéticas con la susceptibilidad al tratamiento inicial.

Hipótesis

Las alteraciones citogenéticas presentes en pacientes con leucemia linfoblástica aguda están relacionadas con la respuesta al tratamiento evaluada como la EMR en la población pediátrica en SOLCA Guayaquil.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1. Glosario

- **Biomarcadores:** suelen diferenciarse en exposición, efecto y de susceptibilidad. Estos marcadores indican una condición producida por un sistema biológico que puede ser interpretado como indicador del estado de salud.
- **AYA:** adolescentes y adultos jóvenes.
- **Pediatría:** ciencia de la medicina que se concentra en recién nacidos, infantes, adolescentes, niños y toda persona menor de 18 años de vida.
- **Proteómica:** disciplina medica que estudia las proteínas celulares en larga escala, cogiendo en examen cuales, cuantas y cuando estas vienen expresadas después de un determinado estimulo. Es complementar a la genómica cuando se focaliza en productos genéticos.
- **Genómica:** disciplina biológica que estudia la organización y la estructura de los genes en el determinado entorno, en el contexto de todo el genoma.
- **Teragnóstica:** palabra creada con dos raíces que implican diagnóstico (gnosis) y terapia o tratamiento (tera), se utiliza una molécula unida a isotopo radioactivo para identificar y tratar la enfermedad.
- **Gen de fusión:** estos genes se pueden producir en el laboratorio o de forma natural en el cuerpo, se debe al pasaje del contenido de un cromosoma a otro cromosoma. Estos utilizan proteínas de fusión.
- **Citogenética:** ramo de la medicina que estudia las estructuras celulares junto a fenómenos hereditarios y cromosómicos.
- **Mutación genética:** las mutaciones pueden ser puntuales o moleculares. Estas pueden afectar cingulos nucleótidos o grupos enteros de material genético.
- **FISH:** Hibridación fluorescente in situ.
- **GEN PROFILE:** Estudio del genoma y del exoma con técnica NGS.

- **NGS:** secuenciación masiva (Next-Generation Sequencing, NGS) con la tecnología Illumina.
- **CITOMETRIA DE FLUJO:** Es una tecnología basada en la utilización de luz láser, empleada en el recuento y clasificación de células según sus características morfológicas, presencia de biomarcadores.
- **LLA:** Leucemia Linfoblástica Aguda.
- **EMR:** Enfermedad mínima residual.
- **Trisomía:** Aberración cromosómica que consiste en la presencia de un cromosoma adicional en un par de cromosomas dado.
- **Tetrasomía:** Presencia de cuatro cromosomas iguales.
- **Linfoblasto:** Forma inmadura de linfocitos que presenta cromatina difusa y citoplasma sin granulaciones; A menudo se encuentra en la sangre de pacientes que padecen ciertos tipos de leucemia.
- **Translocación:** Se define como un tipo de aberración cromosómica derivada de un intercambio incorrecto de partes cromosómicas no homólogas durante el reordenamiento cromosómico.
- **Exoma:** Conjunto de exones del genoma, o secuencias en genes que codifican proteínas. Se estima que constituye solo el 1% de todo nuestro material genético, que consiste en más de 30 mega-bases de ADN.
- **Leucemia aguda de fenotipo mixto:** Se refiere a la leucemia aguda que muestra un patrón ambiguo de expresión antigénico, lo cual indica más de un linaje hematopoyético), en un grado que no se puede asignar de manera inequívoca a un linaje.
- **SOLCA:** Sociedad de Lucha contra el Cáncer.

2.2. Conceptos fisiopatológicos

La célula cancerosa en la LLA es el linfoblasto; que deriva de las células B o T que en la normalidad actúan inmunológicamente en contra de las infecciones, llamadas linfocitos. La cantidad de linfocitos está regida por un sistema de homeostasia biológica que mantiene el número equilibrado dependiendo de las necesidades que se caractericen por un mecanismo de defensa inmunológica (célula mediada) (15).

En la LLA, tanto el desarrollo normal de algunos linfocitos como el control sobre el número de células linfoides se vuelven defectuosos.

Clasificación de la leucemia linfoblástica aguda (LLA)

- **LLA de células B**
 - LLA pro-B: alrededor de un 10% de los casos.
 - LLA común: alrededor de un 50% de los casos.
 - LLA pre-B: alrededor de un 10% de los casos.
 - LLA de células B maduras (leucemia de Burkitt): alrededor de un 4% de los casos.

- **LLA de células T**
 - LLA pre-T: alrededor de 5 a 10% de los casos.
 - LLA de células T maduras: alrededor de 15 a 20% de los casos.

Los subtipos de LLA conllevan cada uno un pronóstico ligeramente diferente, pero otros factores (como cambios genéticos en las células leucémicas) también pueden tener un impacto en ellos. En la siguiente sección se listan algunos de estos factores pronósticos (11).

Factores pronósticos

La LLA emerge cuando el linfoblasto desarrolla varias mutaciones en los genes que afectan el maduración y la proliferación de las células sanguíneas. En la LLA infantil, este proceso comienza en la concepción con la herencia de algunos de estos genes.

Estos genes, a su vez, aumentan el riesgo de que se produzcan más eventos anormales en el desarrollo de células linfoides. Ciertos síndromes genéticos, como el síndrome de Down, tienen el mismo efecto.

Los factores de riesgo ambientales pueden influir para generar suficientes mutaciones genéticas causa de enfermedades. La evidencia del papel del medio ambiente se ve en la LLA infantil entre los gemelos, donde solo el 10-15% de los dos gemelos genéticamente idénticos obtienen la LLA. Ya que tienen los mismos genes, las diferentes exposiciones ambientales explican por qué un gemelo obtiene la enfermedad y el otro no (16).

La LLA infantil es una variante rara que se presenta en niños menores de un año. Los reordenamientos del gen *KMT2A* (anteriormente *MLL*) son más comunes y ocurren en el embrión o el feto antes del nacimiento. Estas reorganizaciones dan como resultado un aumento de la expresión de los genes del desarrollo de las células sanguíneas, al promover la transcripción de los genes y a través de cambios epigenéticos. Otro de los factores asociados a LLA son las hiperdiploidías este tipo de alteración es más común en niños (20-30% de la LLA infantil), con un máximo de 3-5 años, aunque es poco frecuente en los lactantes y tiene una baja incidencia en adultos (5% de la LLA en adultos) (15).

Los pacientes con hiperdiploidía de más de 50 cromosomas tienen clones de 51-68 cromosomas; aunque los clones hiperdiploides elevados rara vez son idénticos, tienden a mostrar un patrón de ganancia cromosómica con copias adicionales de los cromosomas 4, 6, 10, 14, 18 y 21; las ganancias, aparte del cromosoma 21, resultan más a menudo en trisomía en lugar de Tetrasomía para los cromosomas ganados (17).

La presentación leucémica con hiperdiploidía alta se asocia con un recuento bajo de glóbulos blancos, y FAB tipo L1 o L2. El pronóstico para los niños es bueno, con una supervivencia a largo plazo del 70% -80%; a los adultos les va menos bien, aunque se ha informado una supervivencia libre de eventos del 59% a los 3 años; se cree que el buen pronóstico está relacionado con la sensibilidad de las células

leucémicas a una serie de fármacos anti leucémicos y la propensión de las células a responder por apoptosis (17,18); no está claro por qué una proporción de pacientes no logran una remisión a largo plazo, pero existe evidencia de que los recuentos cromosómicos mayores de > 56 cromosomas y la presencia de trisomías 4 y 10 pueden asociarse con un buen pronóstico, mientras que la presencia de i (17q) es claramente asociada con un mal pronóstico (19).

La Citogenética molecular de alta resolución se vale de la aplicación de un panel de sondas que detectará el patrón característico de ganancia (FISH); esta técnica se puede aplicar a blastos de interfase, pero se debe tener cuidado en la interpretación y las translocaciones no aleatorias como t (9; 22), t (1; 19), t (12; 21) y t (4; 11) (20). La t (9; 22) en pacientes infantiles con leucemia linfoblástica aguda que recibe quimioterapia con protocolo estándar para la LLA podría manifestar patrones desfavorables hacia la resistencia (21).

Translocaciones anómalas estructurales están presentes en aproximadamente la mitad de los casos hiperdiploides, la duplicación 1q es el cambio adicional más común, la eliminación de 6q y las anomalías estructurales aleatorias no tienen un impacto pronóstico conocido; sin embargo, la presencia de translocaciones no aleatorias como t (9; 22), t (4; 11), t (1; 19) y t (12; 21) indican que la translocación es probablemente el cambio primario y que la hiperdiploidía es probablemente un evento secundario. En tales casos, la leucemia debe clasificarse de acuerdo con la translocación en lugar del grupo de ploidía para asignar las implicaciones pronosticas correctas (22).

Translocaciones ya estudiadas confieren a la investigación sobre los marcadores, algo muy importante para resolver los desafíos terapéuticos, sabemos que la t (9;22) BCR/ABL 1 es la anomalía genética recurrente más común vista en la leucemia aguda de fenotipo mixto (MPAL). Especialmente los pacientes adultos deben considerarse candidatos para la consolidación con tratamiento intensivo, protocolos de quimioterapia para la LLA junto con Inhibidores de tirosina quinasa para Philadelphia positivo MPAL y el trasplante de médula ósea han sido utilizados para

tratamiento de leucemia en primera remisión (23). Siendo considerada como una forma extremadamente maligna.

Así como translocaciones (1; 19) que resulta en la duplicación del brazo largo del cromosoma 1 y el brazo corto distal del cromosoma 19 (47, XX, t (1; 19) (p13; p13.1), + der (1) t (1; 19) [3] / 46, XX) están asociadas a anemia severa, trombocitopenia y transfusiones de hemoderivados frecuentes (24).

Mientras que la translocación t (12; 21) (p13; q22), que resulta en la fusión de los genes ETV6 (12p13) y RUNX1 (21q22) son entre los más comunes de las translocaciones recurrentes en la LLA- pediátrica. Se estima que ocurren en el 25% de B-LLA pediátrica y generalmente se asocia con un pronóstico favorable (17).

Tabla 1. Anomalías cromosómicas recurrentes en la leucemia linfoblástica aguda (Shago, 2016).

Section	Cytogenetic abnormality	Frequency (%) ^a	Outcome
<i>B-cell acute lymphoblastic leukemia</i>			
2.1	Hyperdiploidy	30	Good
2.2	t(12;21)(p13;q22)(<i>ETV6-RUNX1</i>)	25	Good
2.3	Ph-/ <i>BCR-ABL1</i> -like	10–15	Poor
2.4	<i>KMT2A (MLL)</i> gene rearrangements (11q23)	4	Poor
2.5	t(1;19)(q23;p13.3)(<i>TCF3-PBX1</i>)	5	Intermediate
2.6	t(9;22)(q34;q11.2) (<i>BCR-ABL1</i>)	3	Poor
2.7	Hypodiploidy	2	Poor
2.8	iAMP21 (21q)	2	Poor
2.9	<i>ZNF384</i> gene rearrangements (12p13)	1–2	Unknown
2.10	Dicentric (9;20)	2	Intermediate
2.11	t(17;19)(q22;p13.3)(<i>TCF3-HLF</i>)	<1	Poor
2.12	<i>IGH</i> gene rearrangements (14q32)	5	Intermediate
2.13	<i>MYC</i> gene rearrangements (8q24)	<1	Intermediate
<i>T-cell acute lymphoblastic leukemia</i>			
3.1	<i>TAL1</i> gene rearrangements (1p32)	20	Good
3.2	<i>TLX1 (HOX11)</i> gene rearrangements (10q24)	8	Good
3.3	<i>LMO2 (RBTN2)</i> gene rearrangements (11p13)	15	Unknown
3.4	t(5;14)(q35;q32)(<i>TLX3-BCL11B</i>)	20	Poor
3.5	<i>MYB</i> gene rearrangements (6q23)	1	Unknown
3.6	<i>MYC</i> gene rearrangements (8q24)	1	Unknown
3.7	t(10;11)(p12;q14)(<i>PICALM-MLLT10</i>)	10	Poor
3.8	<i>NUP214-ABL1</i> fusion and amplification	6	Poor
3.9	<i>KMT2A (MLL)</i> gene rearrangements (11q23)	6	Unknown ^b

^aFrequencies in childhood leukemia

^bt(11;19)(q23;p13.3) associated with a good outcome in T-ALL; outcome of other *KMT2A* gene rearrangements uncertain

Existe una variedad de mutaciones y cada una de esta tiene su propia evolución pronóstica, así como descrito en la tabla 1, exponiendo las anormalidades cromosómicas en orden de frecuencia asociada (17).

ETV6-RUNX1 (E/R): la lesión cromosómica más frecuente es t (12; 21) (p13; q22), lo que da como resultado su homólogo genético molecular, el gen de fusión ETV6 / RUNX1 (también conocido como TEL / AML1). Esta alteración ocurre en aproximadamente el 25% de la LLA infantil diagnosticada entre los 2 y los 10 años, con una edad media de 4 años. Sobre la base de la excelente respuesta molecular al tratamiento y el resultado clínico beneficioso, originalmente se creía que este reordenamiento es un indicador pronóstico bastante favorable. Sin embargo, esta noción se discutió posteriormente ya que otras encontraron recaídas predominantemente tardías en hasta el 20% de los pacientes. Por lo tanto, la implicación pronóstica de la fusión ETV6 / RUNX1 continúa siendo objeto de debate (25).

El gen de fusión E/R se desarrolla principalmente como un evento prenatal temprano en la LLA infantil. La expresión de E/R da como resultado la generación de un clon pre-leucémico persistente, que se convierte postnatalmente, a baja frecuencia, en LLA después de la adquisición de las anomalías genéticas secundarias necesarias (26). Inicialmente, la mayoría de los estudios que abordan los cambios genéticos secundarios que promueven la leucemia se han centrado en la eliminación del alelo ETV6 normal o no reorganizado. Esta anomalía genética representa aproximadamente el 70% de los casos de LLA positivos para t (12; 21).

Varios grupos de investigadores han demostrado que la fusión MEF2D es un indicador independiente de pronóstico desfavorable, y la tasa de supervivencia es similar a la de pacientes positivos para el cromosoma Filadelfia (Ph), se descubre inicialmente en una línea celular B-LLA TS-2 y contribuye a la leucemogénesis mediante la alteración de las vías de señalización normalmente reguladas por MEF2D de tipo salvaje y DAZAP1. Además, la fusión de MEF2D con CSF1R confiere a la leucemia una respuesta desfavorable hacia la inhibición de la tirosina

quinasa. A este gen se asocian Recuentos de glóbulos blancos relativamente altos (WBC) destacándose en la etapa preB (24).

La translocación de los cromosomas 1 y 18 genera la fusión MEF2D-SS18. Con la pérdida de CDKN2A / 2B, importantes genes supresores de tumores. Se identificó como un oncogén para la B-LLA; se pudo demostrar que la pérdida doble de Mef2c / Mef2d detiene la linfopoyesis B en la gran etapa de células pre-B, en ratones, por lo tanto, factores de transcripción MEF2 son reguladores esenciales del desarrollo de las células B (26).

Los genes de fusión que involucran ZNF384-R se han identificado recientemente en la leucemia linfoblástica aguda precursora de células B. Identificamos BMP2K como un nuevo socio de fusión para ZNF384 incluyendo el EP300-ZNF384, la frecuencia total de los genes de fusión relacionados con ZNF384 fue del 4.1% en 291 pacientes con leucemia linfoblástica aguda precursora de células B inscritos en un solo ensayo clínico, y TCF3-ZNF384 fue el más recurrente, con una frecuencia del 2,4% (27). El perfil de expresión en pacientes positivos para TCF3-ZNF384 se enriqueció con características de células madre hematopoyéticas y relacionado con el de los pacientes positivos para EP300-ZNF384, pero fue significativamente diferente del de Pacientes con TCF3-PBX1-positivo y ZNF384-fusión negativa (27).

Las características del inmunofenotipo de CD10 débil y la expresión aberrante de CD13 y / o CD33 se reveló como una característica común de las células leucémicas que albergan genes de fusión relacionados con ZNF384. Los pacientes positivos a ZNF384 son marcadamente diferentes de los pacientes positivos a EP300-ZNF384, exhibiendo recuentos celulares más altos y una edad más temprana en la presentación. Revelaron una respuesta esteroide significativamente más pobre, una mayor frecuencia de recaída y las mutaciones activadoras en los genes de la vía de señalización de RAS se detectaron mediante análisis completo del exoma en algunos de los casos (16,27). Estudios indican que los genes de fusión relacionados con ZNF384 consisten en un subgrupo distinto de la leucemia linfoblástica aguda precursora de células B con un inmunofenotipo característico, mientras que las

características clínicas dependen de las propiedades funcionales de las parejas de fusión individuales (27).

El DUX4-R representa un número de células NIH3T3. Estas últimas son expresadas de forma más significativas en tipos salvajes de esta última mutación. Finalmente, mutaciones salvajes de este gen son capaces de inducir la célula en un ciclo de apoptosis (28). Analizando el potencial leucemogénico de la fusión DUX4-IGH in vivo, introdujimos ADNc de fusión en células pro-B de ratón por transducción retroviral y luego inyectamos las células infectadas en ratones inmunocomprometidos. Células Pro-B que expresan DUX4-IGH expandido in vivo, pero permanecieron en una etapa inmadura (CD19 + CD43 + c-Kit + CD25 – IL-7R α + IgM-) suplementaria. También fueron capaces de sufrir una serie Trasplante a receptores secundarios y terciarios, indicativo de la actividad de autorrenovación. La expresión de la proteína DUX4-IGH se confirmó en células pro-B de estos ratones (28,29).

Las fusiones DUX4 pueden contribuir a la génesis leucémica por tres mecanismos. Primero, la mayoría de las translocaciones reposicionan el DUX4 cerca del potenciador de IGH, lo que resulta en un aumento de la expresión del DUX4. (36) Segundo, los eventos de fusión interrumpen el altamente conservado terminal C de DUX4, un requisito previo para la activación oncogénica, se demostró que disminuye la capacidad pro-apoptótica de DUX4, y un gen de fusión CIC-DUX4 que produce una proteína CIC casi completa fusionada con el C-terminal 100 amino ácidos de DUX4, que actúa como un activador para CIC en este contexto, ha sido identificado en sarcoma24 tipo Ewing (28).

También permite que DUX4 use una señal de poliadenilación. Se ha encontrado que los genes de fusión DUX4, ZNF384 y MEF2D representan aproximadamente el 40% de los casos de Leucemia linfoblástica aguda en adolescentes y adultos jóvenes (AYA-LLA) de células con cromosomas Ph- B, por lo tanto, los reordenamientos son un rasgo característico de este trastorno que lo distingue de la LLA de células B en otras edades (26,29)(28).

Es probable que estas fusiones oncogénicas sean eventos tempranos en la leucemogénesis, ya que el número de copias de los genes de fusión fue principalmente de 0,8-1,0 y las leucemias en la recaída también expresaron las fusiones correspondientes. Además, la línea celular NALM6 depende de DUX4-IGH para la proliferación celular. La identificación de los efectores posteriores de estos controladores oncogénicos podría proporcionar información importante para el Desarrollo de nuevos enfoques de tratamiento para AYA-LLA (29).

Enfermedad Mínima Residual (EMR)

La respuesta al tratamiento en pacientes con leucemia linfoblástica aguda (LLA) se evalúa mejor mediante estudios de enfermedad mínima residual (EMR). Se define como EMR negativa cuando el porcentaje de blastos B patológicos es menor al 0,01% e indica buena respuesta al tratamiento. La mayoría de los pacientes pediátricos suele alcanzar una ERM negativa a los 19 días de terapia inicial y, los que no lo hacen, requieren de tratamiento adicional para lograr un grado similar de citorreducción. Existen casos en los que la ERM permanece positiva (30). La relevancia clínica de los niveles de ERM durante las primeras fases de la terapia es su fuerte correlación con las tasas de recaída y el resultado general del tratamiento, constituyéndose en el predictor más fuerte del resultado de la LLA infantil. Los investigadores del Grupo de Oncología Infantil (COG) midieron la ERM en la sangre periférica recolectada el día 8 y en la médula ósea recolectada el día 29 (final de la terapia de inducción de remisión) en 2143 niños con LLA de linaje B. La presencia de ERM (0,01% o más) en cualquier intervalo predijo un peor resultado, y los niveles de ERM en el día 29 en la médula ósea fueron el factor pronóstico más fuerte en esta serie (31). La interpretación es sencilla, la reducción rápida o incluso eliminación de blastos es altamente predictiva de supervivencia libre de recaída mayor. El nivel de positividad de la ERM es proporcional al riesgo de recaída, valores iguales o mayores que 1% al final de la inducción a la remisión se relacionan con peor resultado (30).

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1. Tipo de investigación

Es un estudio descriptivo, transversal, retrospectivo y analítico.

3.2. Lugar

Guayaquil, SOLCA matriz (Sociedad de Lucha Contra el Cáncer)

3.2. Población y muestra

Se tomó como población de estudio 114 pacientes con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda atendidos en el servicio de pediatría de SOLCA, Guayaquil durante el período febrero 2018 a septiembre 2019. Luego de la aplicación de criterios de inclusión y exclusión, se obtuvo una muestra de 98 pacientes.

3.2.1. Criterios de inclusión

- Edad de 0 a 17 años
- Diagnostico confirmado de Leucemia Linfoblástica Aguda
- Tratamiento de primera línea empezado en SOLCA

3.2.2. Criterios de exclusión

- Edad superior a 17 años
- Terapia ya empezada por otra institución diferente a SOLCA
- Diagnostico no adecuado

3.3. Descripción de instrumentos, herramientas y procedimientos de la investigación

Todos los datos utilizados en este trabajo fueron tomados de las historias clínicas que se encuentran en el servidor del hospital SOLCA, Guayaquil.

La revisión de cada historia fue sistemática y se añadió a la hoja de recolección de datos lo siguiente:

- Numero de Historia clínica
- Edad
- Sexo
- Diagnóstico
- Tipo de examen realizado
- Mutaciones presentes
- Porcentaje de blastos B patológicos al diagnóstico y después de la terapia inicial (Enfermedad Mínima Residual).

Los resultados moleculares recogidos fueron obtenidos con la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) convencional y en tiempo real fueron confirmados con la técnica de la hibridación in situ con fluorescencia (FISH) para verificar reordenamientos del gen MLL, RARA, ABL, cadenas pesadas de inmunoglobulinas, de receptores B y T, pérdida del gen RB y p53, trisomías y pérdidas totales o parciales de los cromosomas 7, 8 y 12. Todas las muestras son guardadas para el examen del perfil génico según la técnica del Gen Profile y con los análisis del DNA se analizan CGH arrays, de expresión y microRNAs; para identificar nuevos cambios genéticos y nuevas mutaciones que determinan la leucemogénesis. Se realizó la detección de la enfermedad residual mínima (ERM) en muestras de médula ósea por citometría de flujo.

3.4. Operacionalización de las variables

Variable	Definición	Dimensión	Indicador	Tipo /Nivel de medición	Instrumentos de medición	Estadística
Sexo	Condición orgánica que distingue a los hombres de las mujeres	Conjunto de Condición orgánica que distingue a los hombres de las mujeres en pacientes con LLA	Masculino Femenino	Nominal, Independiente	Ficha Clínica	Frecuencia ; porcentaje
Edad	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo, contando desde su nacimiento	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento en pacientes con LLA	0 a 17	Ordinal/ Discreta	Ficha Clínica	Frecuencia ; porcentaje
Domicilio	Zona de residencia	Indica la zona geográfica de residencia	Guayaquil, Jipijapa, Quevedo Quito, etc.	Nominal, Independiente	Ficha Clínica	Frecuencia porcentaje
Inmunofenotipo	Caracterización fenotípica de los pacientes con LLA	B T	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	citometría de flujo	Frecuencia ; porcentaje
Alteraciones cromosómicas cuantitativas y cualitativas						
T (12:21)	Mutación genómica	Mutación genómica presente en pacientes pediátricos con LLA	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	Citogenética + FISH	Frecuencia ; porcentaje
45 XY	Mutación genómica	Mutación genómica presente en pacientes pediátricos con LLA	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	Citogenética + FISH	Frecuencia ; porcentaje
46 XX, -9, +22	Mutación genómica	Mutación genómica presente en pacientes pediátricos con LLA	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	Citogenética + FISH	Frecuencia ; porcentaje
47 XY	Mutación genómica	Mutación genómica presente en pacientes	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	Citogenética + FISH	Frecuencia ; porcentaje

		pediátricos con LLA				
57 XY	Mutación genómica	Mutación genómica presente en pacientes pediátricos con LLA	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	Citogenética + FISH	Frecuencia ; porcentaje
Trisomías, Tetrasomía	Mutación genómica	Mutación genómica presente en pacientes pediátricos con LLA	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	Citogenética + FISH	Frecuencia ; porcentaje
E2A PBX1	Mutación genómica	Mutación genómica presente en pacientes pediátricos con LLA	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	PCR	Frecuencia ; porcentaje
TELL AML1	Mutación genómica	Mutación genómica presente en pacientes pediátricos con LLA	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	PCR	Frecuencia ; porcentaje
MLL AF4	Alteración citogenética	Tipo de alteración cromosómica	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	PCR	Frecuencia ; porcentaje
T (4:11)	Alteración citogenética	Tipo de alteración cromosómica	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	Citogenética + FISH	Frecuencia ; porcentaje
T (15:17)	Alteración citogenética	Tipo de alteración cromosómica	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	Citogenética + FISH	Frecuencia ; porcentaje
T (9;22) BCR ABL	Alteración citogenética	Tipo de alteración cromosómica	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	Citogenética + FISH	Frecuencia ; porcentaje
T (1;19)	Alteración citogenética	Tipo de alteración cromosómica	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	Citogenética + FISH	Frecuencia ; porcentaje
Hiperdiploidías	Citogenética	implicación genética estructural de los cromosomas	Presente, No presenta	Cualitativas dicotómicas	Citogenética + FISH	Frecuencia ; porcentaje
Enfermedad Mínima Residual (ERM)	Porcentaje de blastos	Porcentaje de blastos	ERM	Cuantitativa /discreta Escala de intervalo,	Citometría de flujo	Frecuencia ; porcentaje

3.5. Estrategia de Análisis Estadístico

Se utilizaron medidas de tendencia central y chi cuadrado para validar los datos, usando el programa SPSS V25.0.

3.6. Aspectos éticos y legales

3.6.1. Ética

Por ser un estudio observacional no experimental y que no influenciando el curso de la terapia y del diagnóstico no necesita autorización específica del comité de bioética de la institución. El estudio será reportado y señalado al comité de bioética y al comité médico de la institución para la recolección de los datos. Se utilizará un consentimiento informado y genérico para cada paciente examinado, para tener el permiso de la recolección y comunicación de los datos que será en todos casos completamente de forma anónima. Toda la información fue transcrita a fichas clínicas previa aprobación del encargado de área estadística y médicos tratantes. Se debe aclarar que el procedimiento de este estudio no representó ningún riesgo para los pacientes seleccionados. No obstante, la información obtenida generará líneas base para un nuevo abordaje y avanzar un paso más hacia la medicina personalizada.

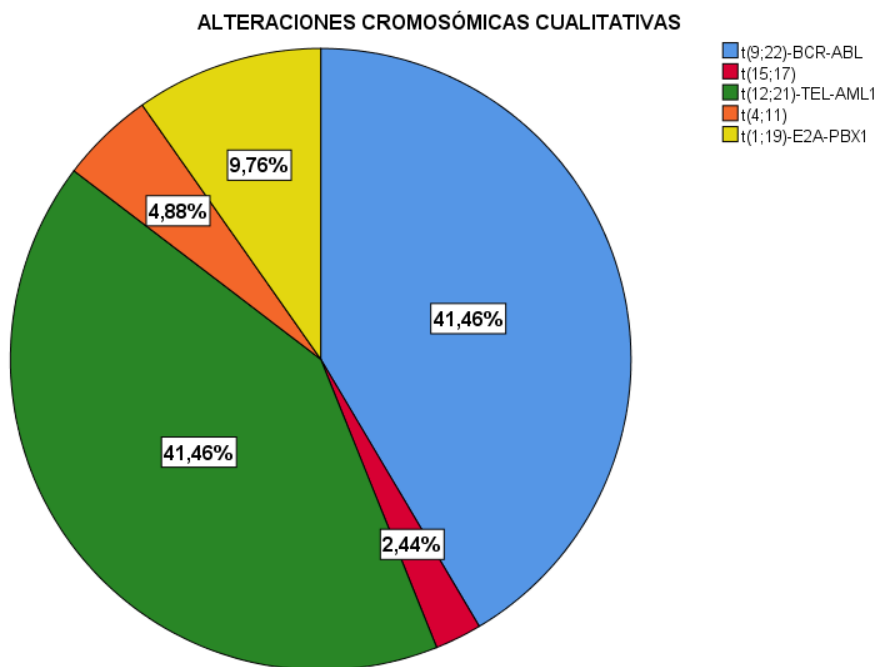
3.6.2. Marco legal

El marco constitucional, se va a cumplir, de forma legal, reglamentaria y rígida de forma nacional por artículos detallados en la sección 350 Constitución de la República del Ecuador y Artículo 8 inciso f, Artículo 12 inciso d y Artículo 138 de la Ley Orgánica de Educación Superior.^{31, 32}. Indicando el requerimiento de una actividad científica de investigación necesaria para el cumplimiento de una formación académica superior.

CAPÍTULO 4: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se estudiaron 98 pacientes con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda (LLA), 61 de sexo masculino (62,24%) y 37 femenino (37,76%), con media de edad de 8,65 \pm 4,22 años. El 54% de la muestra (n=53) provino de la ciudad de Guayaquil, principalmente de las parroquias Tarqui (37,7%) y Ximena (20,75%). Todos presentaron LLA de fenotipo B, 86 (87,75%) LLA B común y el resto LLA pre B. El 50% de pacientes presentó al menos una alteración cromosómica.

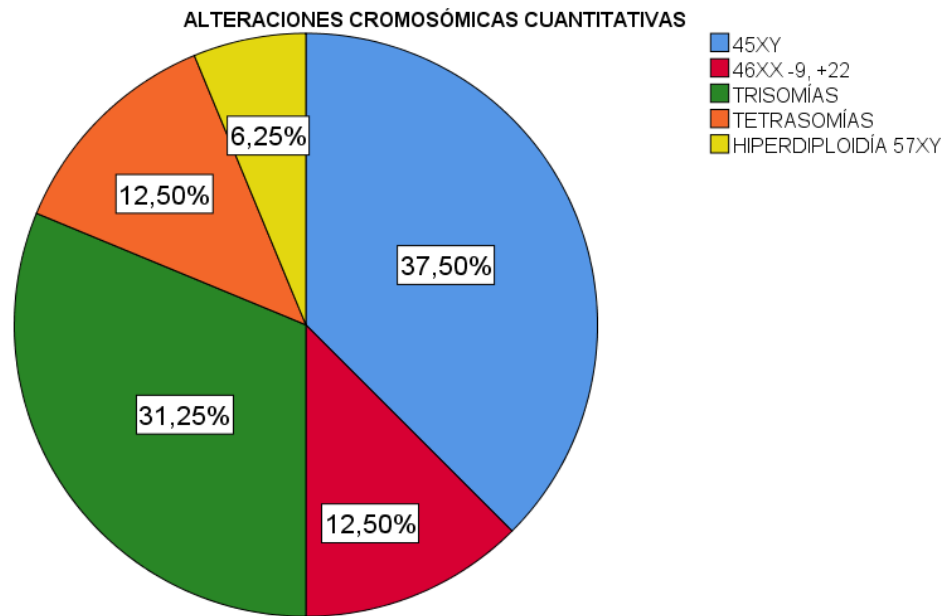
Gráfico 1. Alteraciones cromosómicas cualitativas en pacientes con leucemia linfoblástica aguda



Fuente: Base de datos del Hospital SOLCA de Guayaquil
Elaborado por: El autor

De los 49 pacientes que presentaron al menos una alteración cromosómica, 41 tuvieron una alteración cromosómica cualitativa. Las más frecuentes fueron t (9;22)-BCR-ABL y t (12;21)-TEL-AML1 con 41,46% (n=17) cada una; seguidas de t (1;19)-E2A-PBX1 (n= 4, 9,76%), t (4;11) (n=2, 4,88%) y t (15;17) (n=1, 2,44%).

Gráfico 2. Alteraciones cromosómicas cuantitativas en pacientes con leucemia linfoblástica aguda



Fuente: Base de datos del Hospital SOLCA de Guayaquil
Elaborado por: El autor

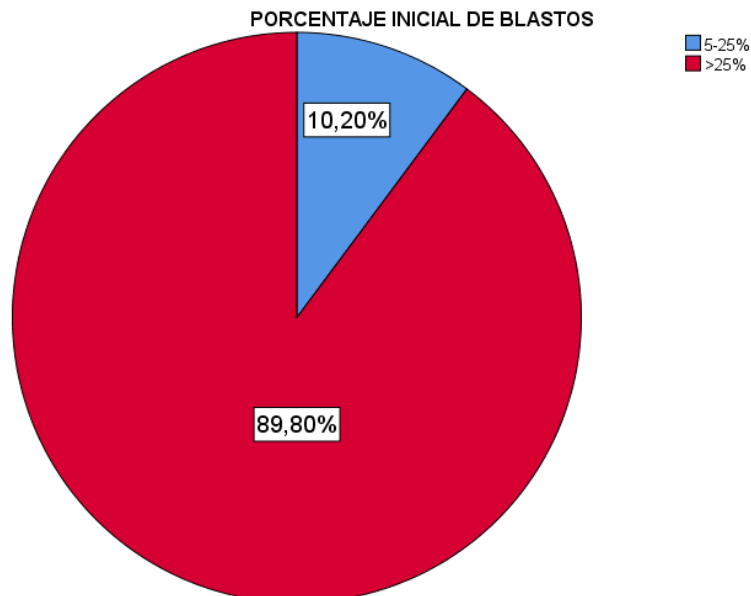
Por otra parte, 16 presentaron una alteración cromosómica cuantitativa. La más frecuente fue 45 XY (n=6, 37,5%), seguida de las trisomías (n=5, 31,25%), Tetrasomía y 46 XX -9, +22 con 12,5% (n=2) cada una y, por último, la hiperdiploidía 57 XY (n=1, 6,25%).

Tabla 2. Alteraciones cromosómicas cualitativas y cuantitativas coexistentes.

		ALTERACIONES CROMOSÓMICAS CUANTITATIVAS				Total
		45XY	46XX	TRISOMÍAS	TETRASOMÍAS	
ALTERACIONES CROMOSÓMICAS CUALITATIVAS	t(9;22)-BCR-ABL	1	1	3	1	6
	t(12;21)-TEL-AML1	1	0	0	0	1
	t(4;11)	1	0	0	0	1
Total		3	1	3	1	8

Algunas mutaciones cualitativas y cuantitativas coexistieron en el mismo paciente, 45 XY/ t(9;22)-BCR-ABL (n=1, 1,02%), 45 XY/ t(12;21)-TEL-AML1 (n=1, 1,02%), 45 XY/ t(4;11), 46 XX -9,+22/ t(9;22)-BCR-ABL (n=1, 1,02%), trisomía/ t(9;22)-BCR-ABL (n=3, 3,06%).

Gráfico 3. Porcentaje inicial de blastos

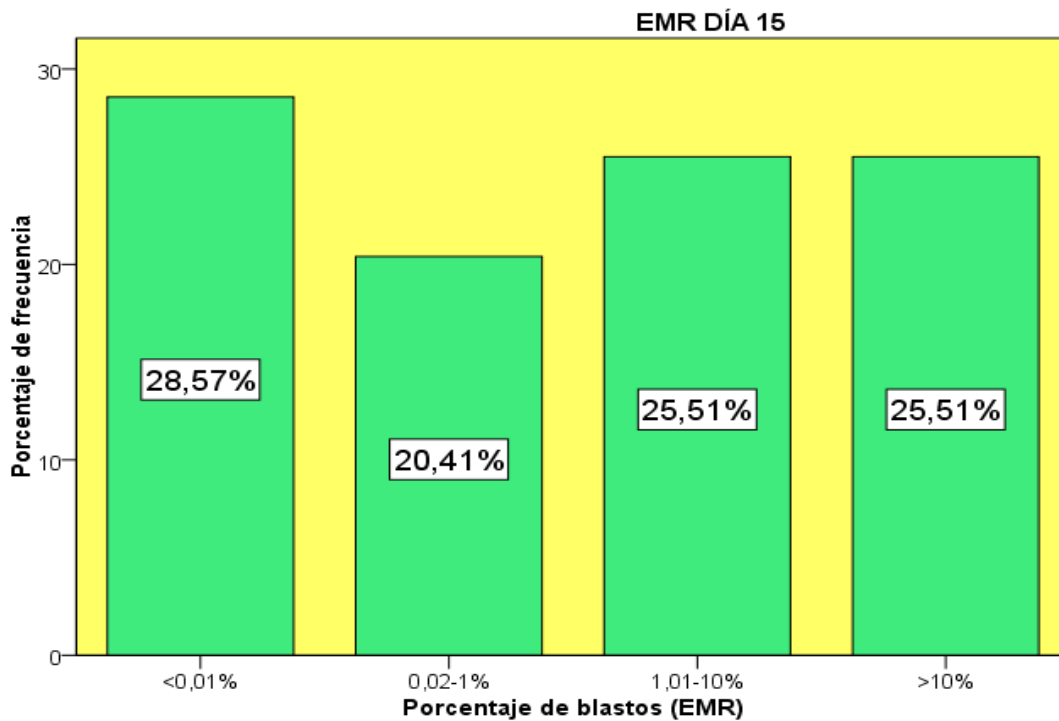


Fuente: Base de datos del Hospital SOLCA de Guayaquil

Elaborado por: El autor

Inicialmente, en pacientes recién diagnosticados, el porcentaje de blastos fue mayor al 25% en el 89,80% (n=88) y en el resto fue de entre 5 y 25%.

Gráfico 4. Enfermedad mínima residual (EMR) día 15

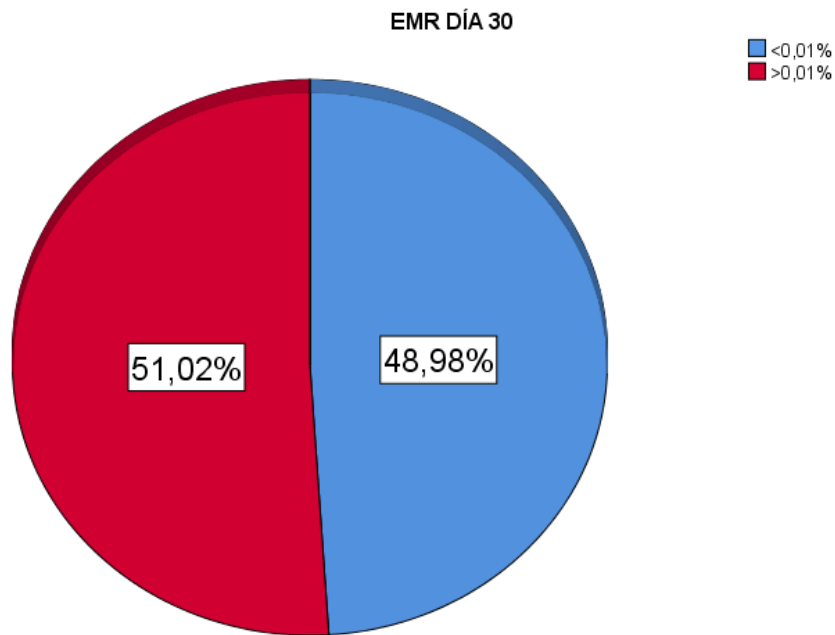


Fuente: Base de datos del Hospital SOLCA de Guayaquil

Elaborado por: El autor

La EMR medida al día 15 fue negativa (<0,01%) en 28 pacientes (28,57%) y positiva (>0,01%) en el 71,43% restante, con porcentaje de blastos entre 0,02-1% en el 20,41% (n=20), entre 1,01-10% (n=25, 25,51%) y mayor a 10% (n=25, 25,51%).

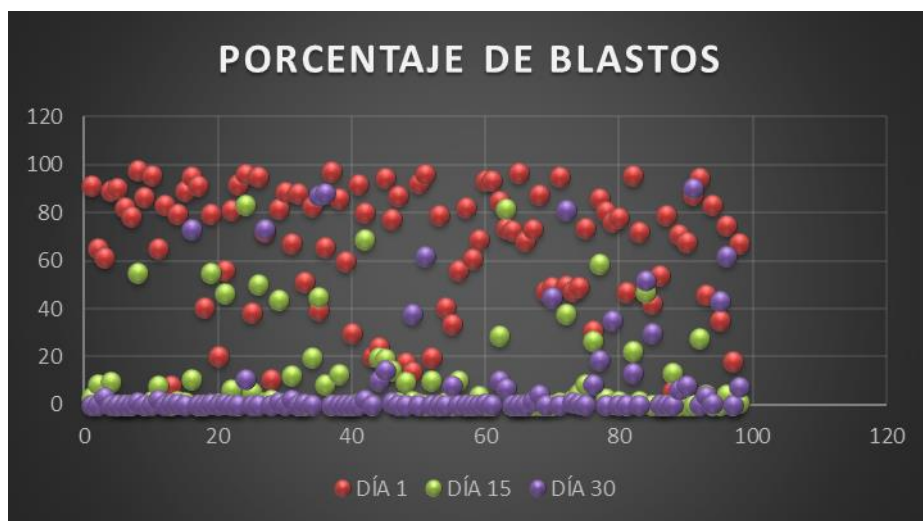
Gráfico 5. Enfermedad mínima residual (EMR) día 30



Fuente: Base de datos del Hospital SOLCA de Guayaquil
Elaborado por: El autor

La EMR medida al día 30 fue y positiva (>0,01%) en 50 pacientes (51,02%) y negativa (<0,01%) en 48 pacientes (48,98%).

Gráfico 6. Fluctuación del porcentaje de blastos desde el día 1 al 30 (EMR)



Fuente: Base de datos del Hospital SOLCA de Guayaquil

Elaborado por: El autor

En la gráfica se puede apreciar el descenso del porcentaje de blastos desde el día 1, en el que se encontraron con más frecuencia en valores entre 25 y 99%, al día 15, en el que a pesar de que el 28,57% ya tenía EMR negativa (<0,01%), el resto mantenía valores más altos, incluso hasta del 83%; y al día 30, en el que 48 pacientes (48,98%) logran EMR negativa.

Tabla 3. Edad y EMR del día 30

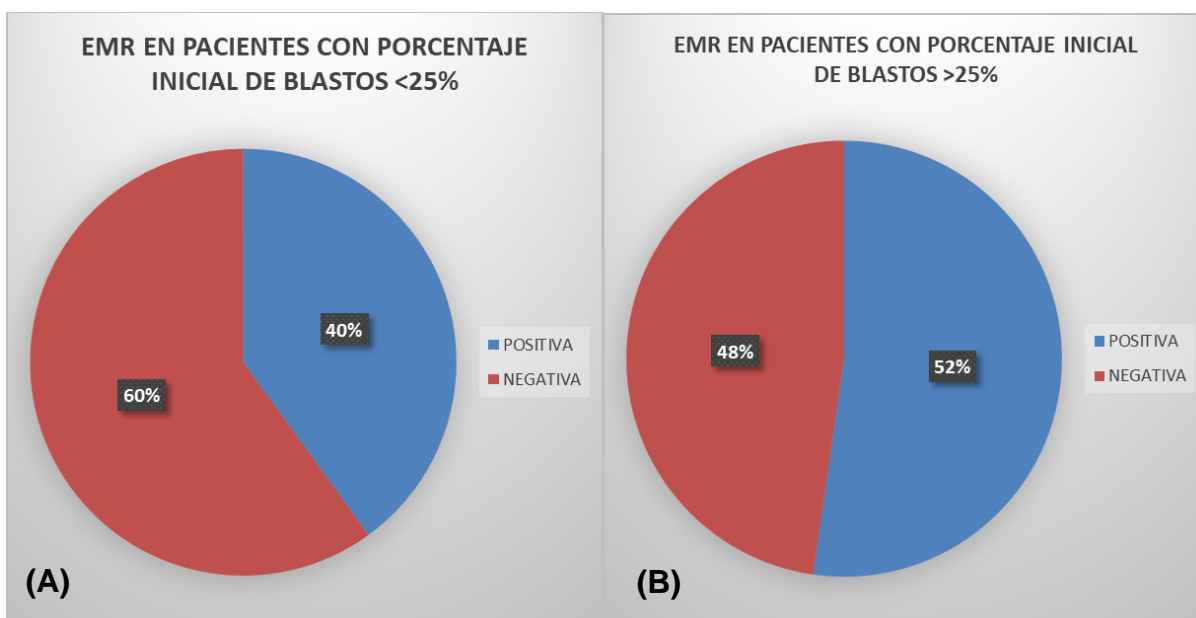
EDAD (AÑOS)	EMR DÍA 30		Total
	<0,01%	>0,01%	
0-3	5	6	11
4-7	19	18	37
8-11	12	7	19
12-15	12	14	26
≥16	0	5	5
Total	48	50	98

Fuente: Base de datos del Hospital SOLCA de Guayaquil

Elaborado por: El autor

Se encontró asociación estadísticamente significativa entre la edad y la EMR del día 30 ($p=0,04$). La EMR del día 30 resultó negativa ($<0,01$) en el 63,15% de los pacientes entre los 8 y 11 años. En el grupo etario ≥ 16 años, la EMR predominante fue positiva (100%).

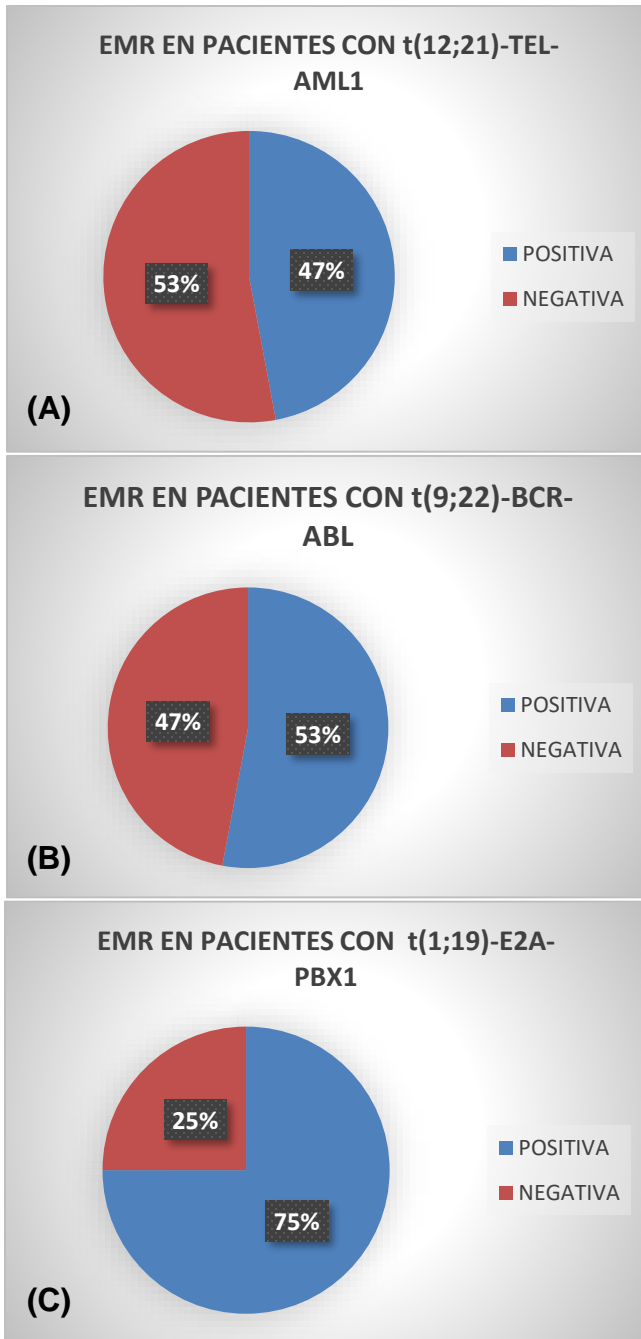
Gráfico 7. Porcentaje inicial de blastos y EMR del día 30



Fuente: Base de datos del Hospital SOLCA de Guayaquil
Elaborado por: El autor

10 pacientes tuvieron blastos iniciales entre 5 y 25%, de estos, 6 (60%) tuvieron EMR negativa al día 30 **(A)**. Los 88 pacientes restantes tuvieron >25% de blastos. De estos, 42 (47,7%) presentaron EMR negativa al día 30 **(B)**. No se encontró asociación estadísticamente significativa entre el porcentaje de blastos inicial y la EMR del día 30 ($p>0,05$).

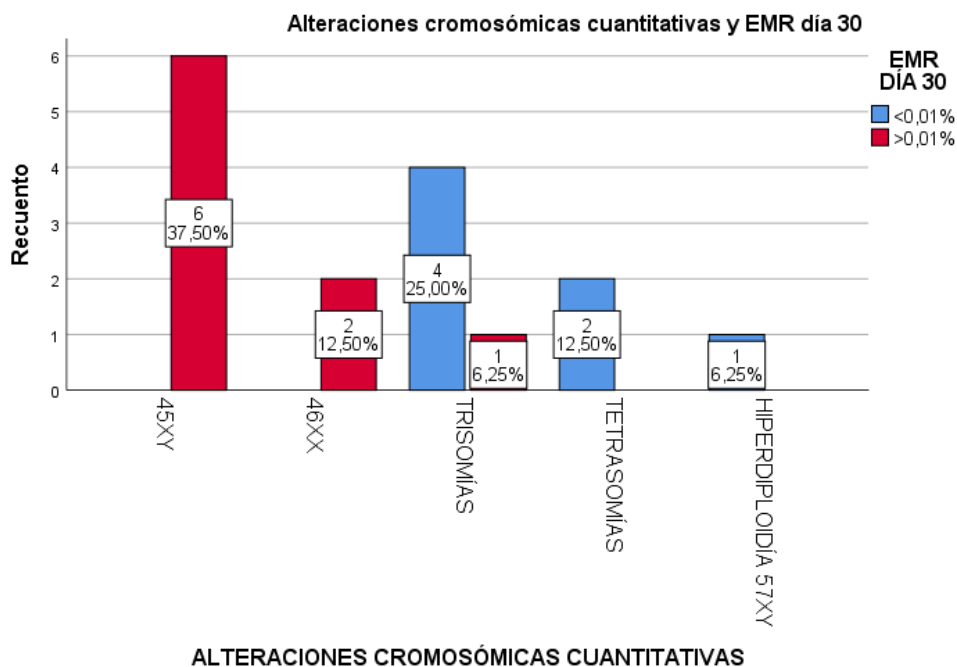
Gráfico 8. Alteraciones cromosómicas cualitativas y EMR del día 30



De entre las alteraciones cromosómicas cualitativas encontradas, la t(12;21)-TEL-AML1 fue la única que se asoció con mayor frecuencia a una EMR negativa (<0,01%) al día 30 (n=9/17, 52,9%) **(A)**. Los 81 pacientes restantes tuvieron una EMR positiva (>0,01%) **(B y C)**. Se encontró una asociación estadísticamente significativa para los 2 grupos (p=0,01).

Fuente: Base de datos del Hospital SOLCA de Guayaquil
Elaborado por: El autor

Gráfico 9. Alteraciones cromosómicas cuantitativas y EMR del día 30



Fuente: Base de datos del Hospital SOLCA de Guayaquil
Elaborado por: El autor

De entre las alteraciones cromosómicas cuantitativas encontradas, las tetrasomías y la hiperdiploidía 57 XY se asociaron en 100% con mayor frecuencia a una EMR negativa (<0,01%) al día 30, mientras que los pacientes que presentaron trisomías lo obtuvieron en un 80% (n=4/5). Las demás alteraciones, se relacionaron con EMR positiva (>0,01%). Entre los dos grupos se encontró asociación estadísticamente significativa (p= 0,01).

DISCUSIÓN

En el estudio, el sexo predominante fue el masculino (62,24%), con relación hombre mujer de 1,65:1, similar a lo encontrado en el estudio de Sousa et al. 2015, con relación 1,92:1 (11), y el estudio de Liu et al. 2016, con relación 1,31:1 (2). Esto sugiere que la LLA es ligeramente más frecuente en hombres. La media de edad fue $8,65 \pm 4,22$ años, mayor a la encontrada en Sousa et al., de $6,3 \pm 0,5$ años y en Liu et al., de $5,1 \pm 1,3$ (11).

En esta investigación, todos los pacientes presentaron LLA de fenotipo B, superior a lo encontrado en Sousa et al., donde fue el 89,5% (11), en Zhang et al. 2019 (32), del 81,4% y en Soria et al., 2012, del 94% (33). Lo que nos indica que la LLA de fenotipo B es más común que la de fenotipo T.

Las alteraciones cromosómicas cualitativas más frecuentes fueron: t (9;22)-BCR-ABL (41,46%), t (12;21)-TEL-AML1 (41,46%), t (1;19)-E2A-PBX (9,76%). En contraste con Liu et al., donde la más frecuente fue t(12;21)-TEL-AML1 (20,2%), seguida de t(1;19)-E2A-PBX1 (8,5%) y t(9;22)-BCR-ABL (7,4%) (2); y con Zhang et al. t(12;21)-TEL-AML1 (27,1%), t(9;22)-BCR-ABL (7%) y EVI1 (9,76%) (32). En este estudio la alteración más frecuente fue de pronóstico desfavorable, sin embargo, en los dos estudios comparados se presenta con una frecuencia baja de alrededor 7%. Esto puede explicar una respuesta al tratamiento no satisfactoria.

Las alteraciones cromosómicas cuantitativas más frecuentes fueron: hipodiploidía 45 XY (37,5%), trisomías (31,25%), tetrasomías (12,5%), 46 XX -9, +22 (12,5%) e hiperdiploidía 57 XY (6,25%). Contrario a lo encontrado por Zhang et al., donde las más frecuentes fueron las hiperdiploidías altas (51-67 cromosomas) (26,3%), seguidas de las hiperdiploidías bajas (47-50 cromosomas) (6,1%) e hipodiploidías (1,8%) en último lugar (32); y con el estudio de Liu et al., donde fueron: hiperdiploidías altas (2,7%) e hipodiploidías (0,9%) (2). Entonces, en este estudio la alteración cromosómica cuantitativa más frecuente (hipodiploidía) fue la menos frecuente en los estudios comparados, asimismo sucede con la menos frecuente de este estudio (hiperdiploidías altas), que constituyó la más frecuente en los otros

estudios. Las dos alteraciones más frecuentes de este estudio son de pronóstico desfavorable.

En la población estudiada, el porcentaje de blastos inicial fue mayor al 25% (89,8%), la EMR del día 15 fue positiva ($>0,01\%$) (71,43%) y la EMR del día 30 también fue positiva en el 51,02%. Diferente a lo encontrado en un estudio de cooperación internacional escrito por Schumich et al., 2019, donde en el mismo orden se encontró 99,2%, 58,5% y 11,1% (34). Mientras que en el estudio de Zhang et al., la EMR se midió al día 19 (positiva en el 36,3%) y al día 46 (positiva en 8,9%) (32). Esto pone en evidencia la diferencia que se puede encontrar cuando se mide la EMR en diferente tiempo. Además, la positividad de la EMR al día 30 da razón de una respuesta al tratamiento inicial no óptima, diferente a como se ha encontrado en los estudios comparados y en la literatura.

Además, se encontró asociación estadísticamente significativa de la EMR del día 30 con la edad ($p=0,04$), con EMR negativa en el 63,15% en el grupo etario entre 8 y 11 años, igual que en Sousa et al., con EMR negativa en el 73% entre 1 y 9 años (11). Existió también asociación estadísticamente significativa entre las alteraciones cromosómicas cualitativas ($p=0,01$) y cuantitativas ($p=0,01$) con la EMR del día 30. Las alteraciones $t(12;21)$ -TEL-AML1, tetrasomías, trisomías e hiperdiploidía 57 XY se asociaron con EMR negativa, lo que concuerda con la literatura, que las describe a todas ellas como alteraciones citogenéticas asociadas a buena respuesta al tratamiento inicial, además de ser de buen pronóstico (17).

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. Las alteraciones cromosómicas cualitativas encontradas, en orden de frecuencia, fueron: t (9;22)-BCR-ABL, t (12;21)-TEL-AML1, t (1;19)-E2A-PBX1, t (4;11) y t (15;17).
2. Las alteraciones cromosómicas cuantitativas encontradas, en orden de frecuencia, fueron: 45 XY, trisomías, tetrasomías, 46 XX -9, +22 e hiperdiploidía 57 XY.
3. Las dos alteraciones más frecuentes de cada grupo en este estudio (t (9;22)-BCR-ABL e hipodiploidía 45 XY) son de pronóstico desfavorable.
4. En la mayoría de los pacientes, el porcentaje de blastos inicial fue mayor al 25%, la EMR del día 15 fue positiva (>0,01%) y la EMR del día 30 también fue positiva.
5. Se encontró asociación estadísticamente significativa de la EMR del día 30 con la edad ($p=0,04$), pero no con el porcentaje de blastos inicial ($p>0,05$). De las alteraciones cromosómicas cualitativas y cuantitativas, la t(12;21)-TEL-AML1, las tetrasomías, la hiperdiploidía 57 XY y las trisomías se asociaron con buena respuesta al tratamiento inicial (EMR negativa).

5.2. Recomendaciones

1. Investigar las características de las zonas geográficas con mayor incidencia de leucemia linfoblástica aguda.
2. Elaborar estudios acerca de la sobrevida general y sobrevida libre de la enfermedad a 5 años y su relación con las alteraciones citogenéticas descritas en este estudio.
3. Debido al gran número de pacientes con citogenética desfavorable, justifica el análisis de la secuenciación génica con secuenciador (MiSeq) para individualizar eventuales características génicas propias de los pacientes pediátricos de nuestro medio. Por esto, se sugiere su uso en estudios futuros.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agraz-Doblas A, Bueno C, Bashford-Rogers R, Roy A, Schneider P, Bardini M, et al. Unraveling the cellular origin and clinical prognostic markers of infant B-cell acute lymphoblastic leukemia using genome-wide analysis. 1. 1 de junio de 2019;104(6):1176-88.
2. Liu Y-F, Wang B-Y, Zhang W-N, Huang J-Y, Li B-S, Zhang M, et al. Genomic Profiling of Adult and Pediatric B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. EBioMedicine. 1 de junio de 2016;8:173-83.
3. Alexander TB, Gu Z, Iacobucci I, Dickerson K, Choi JK, Xu B, et al. The genetic basis and cell of origin of mixed phenotype acute leukaemia. Nature. octubre de 2018;562(7727):373-9.
4. Burke MJ, Salzer WL, Devidas M, Dai Y, Gore L, Hilden JM, et al. Replacing cyclophosphamide/cytarabine/mercaptopurine with cyclophosphamide/etoposide during consolidation/delayed intensification does not improve outcome for pediatric B-cell acute lymphoblastic leukemia: a report from the COG. Haematologica. 2019;104(5):986-92.
5. What Is Acute Lymphocytic Leukemia (ALL)? | Acute Lymphocytic Leukemia (ALL) [Internet]. [citado 28 de septiembre de 2020]. Disponible en: <https://www.cancer.org/cancer/acute-lymphocytic-leukemia/about/what-is-all.html>
6. Instituto Nacional de Estadística y Censos. Leucemia linfoblástica aguda – Instituto Nacional de Estadística y Censos [Internet]. [citado 28 de septiembre de 2020]. Disponible en: <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/institucional/?s=leucemia+linfobl%C3%A1stica+aguda>
7. Agriello, Evangelina, Cazap, Nicolás, Dourisboure, Ricardo (✉), Fernández, Isolda, Ferrari, Luciana, Fischman, Laura, et al. Leucemias Agudas. Soc Arg de Hem [Internet]. 2017 [citado 4 de octubre de 2020]; Disponible en: <http://sah.org.ar/docs/2017/006-Leucemias%20Agudas.pdf>
8. Heng* HH, Horne SD, Chaudhry S, Regan SM, Liu G, Ye BY and CJ. A Postgenomic Perspective on Molecular Cytogenetics [Internet]. Vol. 19, Current Genomics. 2018 [citado 28 de septiembre de 2020]. p. 227-39. Disponible en: <https://www.eurekaselect.com/154248/article>
9. Angelbello AJ, Chen JL, Childs-Disney JL, Zhang P, Wang Z-F, Disney MD. Using Genome Sequence to Enable the Design of Medicines and Chemical Probes. Chem Rev. 28 de febrero de 2018;118(4):1599-663.

10. López Villar E, Wu D, Cho WC, Madero L, Wang X. Proteomics-based discovery of biomarkers for paediatric acute lymphoblastic leukaemia: challenges and opportunities. *J Cell Mol Med.* julio de 2014;18(7):1239-46.
11. Sousa DWL de, Ferreira FV de A, Félix FHC, Lopes MV de O, Sousa DWL de, Ferreira FV de A, et al. Acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents: prognostic factors and analysis of survival. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia.* agosto de 2015;37(4):223-9.
12. ElHarouni D, Yassin D, Ali N, Gohar S, Zaky I, Adwan H, et al. A Pharmacogenetic Study of VDR fok1 and TYMS Polymorphisms and Their Association With Glucocorticoid-Induced Osteonecrosis in Egyptian Children With Acute Lymphoblastic Leukemia. *Front Oncol* [Internet]. 2018 [citado 28 de septiembre de 2020];8. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2018.00541/full>
13. Roberts KG. TKI resistance in Ph-like ALL. *Blood.* 17 de 2018;131(20):2181-2.
14. Aldaz G, Joseph K. PREVALENCIA DEL CROMOSOMA FILADELFIA EN LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA EN PACIENTES DE SOLCA GUAYAQUIL PERIODO 2006-2016. octubre de 2018 [citado 28 de septiembre de 2020]; Disponible en: <http://localhost:8080/xmlui/handle/123456789/2620>
15. Brown P, Pieters R, Biondi A. How I treat infant leukemia. *Blood.* 17 de 2019;133(3):205-14.
16. Li J-F, Dai Y-T, Lilljebjörn H, Shen S-H, Cui B-W, Bai L, et al. Transcriptional landscape of B cell precursor acute lymphoblastic leukemia based on an international study of 1,223 cases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 11 de diciembre de 2018;115(50):E11711-20.
17. Shago M. Recurrent Cytogenetic Abnormalities in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Methods Mol Biol.* 2017;1541:257-78.
18. Zhang Y, Gao Y, Zhang H, Zhang J, He F, Hnízda A, et al. PDGFRB mutation and tyrosine kinase inhibitor resistance in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 17 de mayo de 2018;131(20):2256-61.
19. Paulsson K, Lilljebjörn H, Biloglav A, Olsson L, Rissler M, Castor A, et al. The genomic landscape of high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet.* junio de 2015;47(6):672-6.
20. Kim J, Kim HS, Shin S, Lee ST, Choi JR. t(12;17)(p13;q12)/TAF15-ZNF384 Rearrangement in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Ann Lab Med.* julio de 2016;36(4):396-8.
21. Liu G, Lu X, Kim YM, Wang X, Li S, Liu Y. Simultaneous involvement of 11q23 translocation resulting in chimeric MLL-AFF1 and a second translocation [t

(9;21) (p13; p11.2)] in an infant acute lymphoblastic leukemia patient at relapse. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 25 de mayo de 2018 [citado 28 de septiembre de 2020];97(21). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6392770/>

22. Wiemels JL, Walsh KM, de Smith AJ, Metayer C, Gonseth S, Hansen HM, et al. GWAS in childhood acute lymphoblastic leukemia reveals novel genetic associations at chromosomes 17q12 and 8q24.21. *Nat Commun* [Internet]. 18 de enero de 2018 [citado 28 de septiembre de 2020];9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5773513/>
23. Awasthi NP, Singh P, Agrawal N. Mixed Phenotype Acute Leukemia, B/Myeloid with t(9;22): Diagnostic and Therapeutic Challenges. *Indian J Hematol Blood Transfus.* enero de 2019;35(1):179-81.
24. Hilal T, Conley C. B-cell acute lymphoblastic leukemia with +der(1)t(1;19) (p13;p13.1) arising in the setting of CALR exon 9 mutated essential thrombocythemia. *Cancer genetics.* 2017;
25. Sun C, Chang L, Zhu X. Pathogenesis of ETV6/RUNX1 -positive childhood acute lymphoblastic leukemia and mechanisms underlying its relapse. *Oncotarget.* 18 de marzo de 2017;8(21):35445-59.
26. M Z, D M, W Z. The pathogenic role of MEF2D-SS18 fusion gene in B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Biochem Biophys Res Commun.* 3 de febrero de 2018;496(4):1331-6.
27. Hirabayashi S, Ohki K, Nakabayashi K, Ichikawa H, Momozawa Y, Okamura K, et al. ZNF384-related fusion genes define a subgroup of childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with a characteristic immunotype. *Haematologica.* enero de 2017;102(1):118-29.
28. Dong X, Zhang H, Cheng N, Li K, Meng G. DUX4HD2-DNAERG structure reveals new insight into DUX4-Responsive-Element. *Leukemia.* 2019;33(2):550-3.
29. CD371 cell surface expression: a unique feature of DUX4-rearranged acute lymphoblastic leukemia | *Haematologica* [Internet]. [citado 28 de septiembre de 2020]. Disponible en: <https://www.haematologica.org/article/view/9023>
30. Cárdenas-Araujo D, Gutiérrez-Aguirre CH. Métodos para detectar enfermedad mínima residual en leucemia linfoblástica aguda y su aplicación clínica. *Rev Hematol Mex.* enero de 2018;19(1):41-9.
31. Campana D. Molecular determinants of treatment response in acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2008;366-73.

32. Zhang H-H, Wang H-S, Qian X-W, Fan C-Q, Li J, Miao H, et al. Genetic variants and clinical significance of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Ann Transl Med* [Internet]. julio de 2019 [citado 28 de septiembre de 2020];7(14). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6694231/>
33. Marcela S, María G, Marcela G, Lorena M, Fernanda RP, Silvina P, et al. Enfermedad Mínima Residual por Citometría de Flujo en niños con Leucemia Linfoblástica Aguda. 2012;5.
34. Schumich A, Maurer-Granofszky M, Attarbaschi A, Pötschger U, Buldini B, Gaipa G, et al. Flow-cytometric minimal residual disease monitoring in blood predicts relapse risk in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia in trial AIEOP-BFM-ALL 2000. *Pediatr Blood Cancer*. 2019;66(5):e27590.

ANEXOS

Anexo 1. Carta de aceptación de desarrollo de investigación en SOLCA, Guayaquil



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

Abril 4 del 2019
Oficio 2019-072-DI

Doctor
Pedro Barberán Torres
Decano Facultad de Ciencias Médicas
Universidad de Especialidades Espíritu Santo
Presente

De mis consideraciones:

Por medio del presente me permito saludarlo y, al mismo tiempo informo a usted que ha sido autorizado el tema de trabajo de titulación: "Estudio Epidemiológico y caracterización molecular de leucemia linfoblástica aguda en pacientes pediátricos en SOLCA, Guayaquil, tratados desde febrero 2018 a agosto 2019"; trabajo que será realizado por el estudiante Nicolas Estefano Chisesi Decker, bajo la supervisión del Dr. Juan Carlos Ruíz.

Atentamente,

Dra. Tannia Rivera Rivera
Jefe. Dpto. Docencia e Investigación.

C.c.: Archivo.
/Alexandra

Anexo 2. Hoja de recolección de datos

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS			
AUTOR: STEFANO NICOLAS CHISESI DECKER			
HISTORIA CLÍNICA:			
EDAD:		SEXO:	
FENOTIPO DE LLA:	B	T	
1. AL MOMENTO DEL DIAGNÓSTICO			
ALTERACIÓN ROMOSÓMICA CUALITATIVA:			
ALTERACIÓN CROMOSÓMICA CUANTITATIVA:			
BLASTOS B PATOLÓGICOS%:			
2. AL DÍA 15 POSTERIOR A LA TERAPIA INICIAL			
BLASTOS B PATOLÓGICOS% (EMR):			
3. AL DÍA 30 POSTERIOR A LA TERAPIA INICIAL			
BLASTOS B PATOLÓGICOS% (EMR):			

Anexo 3. Tabla de lugar de procedencia de la población estudiada

Ciudad	FRECUENCIA	PORCENTAJE (%)
Guayaquil, Tarqui	20	20,40
Guayaquil, Ximena	11	11,22
Guayaquil, Pedro Carbo	4	4,08
Guayaquil, Febres cordero	11	11,22
Guayaquil, García moreno	1	1,02
Guayaquil, Pascuales	3	3,06
Guayaquil, Bolívar	3	3,06
Guayaquil, Lomas de Sargentillo	1	1,02
Jipijapa	1	1,02
Letamendi	2	2,04
Manta	2	2,04
Quevedo	4	4,08
Quito	1	1,02
Milagro	3	3,06
Salitre	1	1,02
Vinces	1	1,02
Santa Elena	5	5,10
Los Ríos	2	2,04
La Maná	1	1,02
Esmeraldas	1	1,02
El Oro	1	1,02
Playas	1	1,02
Balzar	1	1,02
Daule	4	4,08
Duran	3	3,06
El Empalme	2	2,04
El Triunfo	1	1,02
Loja	2	2,04
Mocache	1	1,02
Portoviejo	1	1,02
Puerto López	1	1,02
Salinas	1	1,02
Santo Domingo	1	1,02
TOTAL	98	100

Anexo 4. Cronograma de actividades

ACTIVIDAD	PERSONAL	CRONOGRAMA																																			
		TIEMPO 2019-2020																																			
		<u>Enero</u>				<u>Febrero</u>				<u>Marzo</u>				<u>Abril</u>				<u>Mayo</u>				<u>Junio</u>				<u>Julio</u>				<u>Agosto</u>				<u>Septiembre</u>			
1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4		
Elaboración de ficha técnica	Investigador STEFANO NICOLAS CHISESI DECKER	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X																										
Revisiones metodológicas y correcciones	Asesor metodológico (DR. JUAN CARLOS RUIZ) Asesor clínico (DR. JUAN CARLOS RUIZ)							X	X	X	X	X	X																								
Revisión de bibliografía	Asesor metodológico, DR. JUAN CARLOS RUIZ							X	X	X	X	X	X																								

Aprobación de la ficha técnica	Autoridades de la Facultad de Ciencias Médicas									X																						
Elaboración de Anteproyecto	Asesor metodológico (DR. JUAN CARLOS RUIZ)					X	X	X	X	X	X	X																				
	Investigador Asesor clínico (DR. JUAN CARLOS RUIZ)					X	X	X	X	X	X	X																				
Sustentación del Anteproyecto	STEFANO NICOLAS CHISESI DECKER											X	X																			
Recolección de Datos (historias clínicas)	STEFANO NICOLAS CHISESI DECKER									X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X									
Análisis Estadístico	Investigador																								X	X						
	Asesor metodológico (STEFANO NICOLAS CHISESI DECKER)																															

Interpretación de datos	STEFANO NICOLAS CHISESI DECKER																				X	X						
Primera Revisión de Tesis	Asesor metodológico (DR. JUAN CARLOS RUIZ)										X																	
Segunda Revisión de Tesis	Asesor metodológico (DR. JUAN CARLOS RUIZ)																					X						
Sustentación de Tesis final	STEFANO NICOLAS CHISESI DECKER																				X	X	X	X	X			

Nombre del estudiante: Stefano Nicolas Chisesi Decker

Nombre del tutor: Dr. JUAN CARLOS RUIZ

Trabajo de titulación: CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS, EN SOLCA, GUAYAQUIL, TRATADOS DESDE FEBRERO 2018 A SEPTIEMBRE 2019