

**VALIDEZ DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO PARA DIAGNÓSTICO DE
LEUCEMIA. LABORATORIOS REY FALS-REGISTRO POBLACIONAL DE
CÁNCER DE BARRANQUILLA. 2010-2015.**

**Joyce Vanessa Collante Jiménez (1045722453)
Linda Viviana De Ávila Jiménez (1143249797)
María Angélica Domenech Campo (1140875370)**

Asesor:

Rusvelt Vargas Moranth

**PROGRAMA DE MEDICINA
DIVISIÓN CIENCIAS DE LA SALUD
UNIVERSIDAD DEL NORTE
2016**



**UNIVERSIDAD DEL NORTE
PROGRAMA DE MEDICINA
DIVISIÓN CIENCIAS DE LA SALUD**

**VALIDEZ DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO PARA DIAGNÓSTICO DE
LEUCEMIA. LABORATORIOS REY FALS-REGISTRO POBLACIONAL DE
CÁNCER DE BARRANQUILLA. 2010-2015.**

**Joyce Vanessa Collante Jiménez (1045722453)
Linda Viviana De Ávila Jiménez (1143249797)
María Angélica Domenech Campo (1140875370)**

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE MÉDICO

**ASESOR: Doctor Rusvelt Vargas Moranth
MÉDICO
ESPECIALISTA EN EPIDEMIOLOGÍA
MAGISTER EN SALUD PÚBLICA
ESTUDIANTE DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**BARRANQUILLA, COLOMBIA
16 DE JUNIO DE 2016**

PÁGINA DE ACEPTACIÓN

BARRANQUILLA, COLOMBIA

FECHA DE ENTREGA: 16 DE JUNIO DE 2016

ASESOR

JURADO 1

JURADO 2

AGRADECIMIENTOS

Al finalizar este trabajo tan arduo es inevitable que nos asalte un muy humano egocentrismo que nos lleva a concentrar la mayor parte del mérito en el aporte que se ha hecho. Sin embargo, el análisis objetivo nos muestra inmediatamente que la magnitud de ese aporte hubiese sido imposible sin la participación de personas e instituciones que facilitaron las cosas para que este trabajo llegara a un feliz término. Por ello, es para nosotros un placer utilizar este espacio para expresarles nuestros agradecimientos.

Primero y antes que nada, damos gracias a Dios, por fortalecer nuestro corazón e iluminar nuestra mente y por haber puesto en nuestro camino a aquellas personas que han sido de soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

Agradecemos de manera especial y sincera al Doctor Rusvelt Moranth por aceptarnos al realizar este proyecto bajo su dirección. Su apoyo y confianza en nuestro trabajo y su capacidad para guiar nuestras ideas ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo del proyecto, sino también en nuestra formación como investigadores. Le agradecemos también el habernos facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de este proyecto, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido.

Hacemos extensiva nuestra gratitud a los laboratorios Rey Fals por su gran apoyo y soporte en la investigación realizada.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
GLOSARIO.....	9
RESUMEN.....	11
INTRODUCCIÓN.....	13
CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO.....	19
1.1 Citometría de flujo.....	19
1.2 Leucemias agudas.....	22
1.2.1 Parámetros de la citometría de flujo en el diagnóstico de leucemia aguda.....	25
1.3 Validez de la citometría de flujo.....	28
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA.....	31
2.1 Tipo de estudio.....	31
2.2 Población de estudio.....	31
2.3 Fuente de información.....	31
2.4 Variables.....	32
2.5 Plan de recolección.....	32
2.6 Procesamiento de la información.....	33
2.7 Aspectos éticos.....	33
CAPÍTULO 3. RESULTADOS.....	34
CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN.....	38
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES.....	40
CAPÍTULO 6. RECOMENDACIONES.....	38
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
ANEXOS.....	49

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Distribución de sujetos con citometría de flujo y biopsia de médula ósea, procedentes de Laboratorios Rey Fals y complementados en el RPCB, durante 2010-2015, según variables sociodemográficas	34
Tabla 2: Distribución de sujetos con citometría de flujo y biopsia de médula ósea procedentes de Laboratorios Rey Fals y complementados en el RPCB, durante 2010-2015, según pruebas de laboratorio.	36
Tabla 3: Relación entre citometría de flujo y biopsia en pacientes de laboratorio Rey Fals de la ciudad de Barranquilla, 2010-2014	37

LISTA DE GRÁFICAS

Pág.

- Gráfico 1. Distribución de sujetos con citometría de flujo y biopsia de médula ósea, procedentes de Laboratorios Rey Fals y complementados en el RPCB, durante 2010-2015, según Edad35
- Gráfico 2. Distribución de sujetos con citometría de flujo y biopsia de médula ósea, procedentes de Laboratorios Rey Fals y complementados en el RPCB, durante 2010-2015, según Sexo35
- Gráfico 3. Distribución de sujetos con citometría de flujo y biopsia de médula ósea, procedentes de Laboratorios Rey Fals y complementados en el RPCB, durante 2010-2015, según Régimen de salud365

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1. ÁRBOL DEL PROBLEMA.....	49
ANEXO 2. CARTA DE APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA.....	50

GLOSARIO

CÉLULA: Unidad fundamental de los organismos vivos, generalmente de tamaño microscópico, capaz de reproducción independiente y formada por citoplasma y un núcleo rodeados por una membrana.

CITOMETRÍA: Técnica de análisis celular multiparamétrico cuyo fundamento se basa en hacer pasar una suspensión de partículas (generalmente células) alineadas y de una en una por delante de un haz de láser focalizado. La citometría de flujo es un proceso que permite la medida simultánea de múltiples características físicas de una sola célula

ESPECIFICIDAD: Proporción entre la tasa de verdaderos negativos sobre el total de pacientes que no tienen la enfermedad.

LEUCEMIA: Cáncer que se origina en las células que normalmente madurarían hacia los diferentes tipos de células sanguíneas.

LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA (AML): Enfermedad maligna que afecta las líneas celulares de la médula ósea, de progresión rápida y fatal sin tratamiento
Sinónimos: leucemia mielocítica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia granulocítica aguda y leucemia no linfocítica aguda.

LINFOCITOS: Células maduras del sistema inmune provenientes de los linfoblastos, considerados sus precursores en médula ósea.

LINFOCITOS B: Células inmunitarias que protegen al cuerpo contra gérmenes invasores al madurar para formar células plasmáticas, que producen proteínas llamadas anticuerpos, los cuales se adhieren a los microorganismos lo que ayuda a los otros tipos de glóbulos blancos a reconocerlos y destruirlos.

LINFOCITOS T: Células diferenciadas capaces de reconocer las células infectadas con virus y destruirlas directamente. También ayudan a regular la respuesta inmunológica.

MÉDULA ÓSEA: Porción suave interior de algunos huesos como el cráneo, los omóplatos, las costillas, huesos de la pelvis (cadera) y la columna vertebral. Es conformada por un pequeño número de células madre sanguíneas, las cuales maduran para dar origen a células sanguíneas, células adiposas y tejidos de apoyo que ayudan al crecimiento celular.

SENSIBILIDAD: Proporción entre la tasa de verdaderos positivos sobre el total de los pacientes que sí tienen la enfermedad.

VALOR PREDICTIVO NEGATIVO: Probabilidad de estar sano si se ha obtenido un resultado negativo.

VALOR PREDICTIVO POSITIVO: Probabilidad de estar enfermo si se ha obtenido un resultado positivo.

RESUMEN

Introducción: La citometría de flujo es una prueba de laboratorio con un papel esencial en el campo de las enfermedades hematológicas, empleándose para el seguimiento de pacientes con leucemia y síndromes mielodisplásicos. Con una incidencia creciente de las leucemias, la prueba mencionada ha demostrado ser crucial en el diagnóstico y la evaluación de la progresión o remisión de la enfermedad. Existen muy pocos estudios que confirman las características de la citometría de flujo, por lo que no ha podido ser propuesta como prueba inicial para el diagnóstico de estas enfermedades, que suelen ser fatales sin una detección oportuna y un tratamiento eficaz.

Objetivo General: Determinar la validez de la citometría de flujo para diagnóstico de leucemias en Laboratorios Rey-Fals-Registro-Poblacional de Cáncer, de la ciudad de Barranquilla durante el período 2010 a 2015.

Materiales y métodos: Se realizó un estudio descriptivo transversal en Barranquilla entre los años 2010 a 2015, en pacientes con leucemia con citometría de flujo, llevada a cabo en laboratorios Rey Fals y registrados en la base de datos del Registro Poblacional de Cáncer de Barranquilla a quienes se le aplicaron los criterios de selección: residentes en la ciudad de Barranquilla con prueba diagnóstica negativa o positiva y con seguimiento citométrico obteniendo un total de 1826 pacientes. Se evaluaron las variables de sexo, edad, régimen de salud y pruebas diagnósticas que incluyen citometria de flujo e histopatología. Se analizó la información a través de Epiinfo 7 el cual permitió el procesamiento de los datos, la representación estadística y la tabulación de las mismas.

Resultados: Al comparar la citometría de flujo con la biopsia de medula ósea, se encontró en la citometria que su posibilidad de realizar un diagnóstico acertado con esta en pacientes realmente enfermos fue de 79%, la posibilidad de descartar no enfermos constituyo un 41%, mientras que su valor predictivo positivo fue del 93% y el negativo de un 15%.

Conclusión: La prueba tiene una sensibilidad moderada, pero una baja especificidad.

Palabras Clave: Citometría de flujo, leucemia aguda, validez, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo.

INTRODUCCIÓN

La citometría de flujo es una prueba de laboratorio que, pese a su creación en 1969, posee un gran número de aplicaciones en disciplinas como la biología molecular, la inmunología, la oncología, la genética y tiene un papel esencial en el campo de las enfermedades hematológicas,¹ empleándose para el seguimiento de pacientes con leucemia y síndromes mielodisplásico.

Es este último aspecto, el que a nivel internacional ha hecho que se preste atención especial en la evaluación del valor diagnóstico de la citometría de flujo, ya que esta prueba detecta marcadores patológicos² a pesar que el Gold estándar es la biopsia de medula ósea.

Dentro de las enfermedades que se tipifican a través de la citometría de flujo está la leucemia aguda, ya sea mieloide o linfoide. Éstas constituyen un grupo de enfermedades de gran relevancia para niños y adultos, puesto que representan entre el 6 y el 8%³ de los cánceres diagnosticados al año, e incluso constituyen a nivel mundial la primera causa de muerte por cáncer en personas menores de 39 años.⁴

Como es bien conocido, la leucemia linfoide aguda y otras patologías asociadas cobran vidas diariamente, ya que a pesar de estar en tratamiento, este muchas veces no tuvo su inicio en el momento más oportuno. La American Cancer Society estimó que en el 2010 se diagnosticaron 43,050 nuevos casos de leucemia y que 21,840 personas morirán por la enfermedad en los Estados Unidos.

Para el año 2014, en este mismo país, los cálculos de la Sociedad Americana Contra El Cáncer para ésta patología en los Estados Unidos fueron alrededor de 52,380 nuevos casos de leucemia (todos los tipos) y 24,090 muertes a causa de leucemia (todos los tipos), 18,860 nuevos casos de leucemia mieloide aguda (La mayoría se reportará en adultos) y 10,460 muertes a causa de LMA. Casi todas se reportará en adultos.

El Atlas Global de Cáncer muestra que en Colombia la incidencia de leucemia en hombres es de 1,338, en cambio en las mujeres difieren mínimamente con 1,290.⁵

A pesar de estas estadísticas existen muy pocos estudios que confirman la validez de la citometría de flujo, por lo que resulta difícil hablar de la magnitud del problema. Sin embargo, cuando no se detecta a tiempo y el diagnóstico sólo se realiza en estadios finales de la enfermedad, la letalidad es del 50% indistintamente del subtipo de leucemia, pues esto retrasa la instauración del tratamiento oportuno.

En el año 2002 en Colombia, al estimar la relación entre la incidencia y la mortalidad de la enfermedad fue de 1,3 siendo contrastada con la de Estados Unidos: 5,1⁶, es decir, aunque la incidencia fuera la misma, más personas mueren por leucemia en países en los cuales el diagnóstico sea retrasado, que en los que se haga pertinentemente.

Dentro de los factores determinantes de mortalidad en Colombia está en primer lugar la deficiencia en la prestación de los servicios de salud que condicionan el diagnóstico oportuno de la patología (16%), y es seguido por el retraso en la entrega del tratamiento (14%) y la negación de la atención.⁷

La leucemia aguda por lo general se diagnostica en una media de edad de 60 años, y el riesgo de desarrollarla aumenta proporcionalmente con el paso de la

edad.⁸ Por lo general, perjudica principalmente a personas de edad avanzada, siendo poco común en los menores de 45 años. Teniendo en cuenta el género, es ligeramente más común en hombres que en mujeres, mostrando un promedio de 1:227 en hombres contra 1:278 en mujeres.⁹

A nivel nacional, se desconocen las cifras exactas de la incidencia de esta enfermedad en adultos, ya que no se le hace un debido seguimiento como en los casos presentados en niños, los cuales son de notificación obligatoria y se lleva un control. Por las estadísticas registradas en la base de datos de Globocan, en Colombia están identificadas 909 muertes en hombres por leucemia, mientras que las mujeres 758.⁵

La frecuencia de casos en el año 2012 muestra que 4 de cada cien mil menores de 14 años presentan la enfermedad. Y mientras que en países desarrollados del continente europeo la supervivencia a los 5 años de las personas es del 85%, en Colombia éste valor solo llega al 41%.¹⁰

El tratamiento para este padecimiento muchas veces no brinda los resultados esperados, ya que cuando se les ha detectado y se les da el diagnóstico de LMA, se determina en etapas tardías, ocasionando así que la mortalidad aumente entre los que la sufren.¹¹

Para el diagnóstico de las leucemias se cuenta con pruebas como la biopsia de médula ósea y la citometría de flujo. Sin embargo, a pesar de la disponibilidad en el mercado de éstas pruebas, en Colombia hay evidencia que se sigue retrasando la confirmación del diagnóstico, con un tiempo registrado en las estadísticas de 2010 del Ministerio de Salud y Protección Social, de máximo 129 días, en el 2012 de 46 días y entre el diagnóstico y la instauración del tratamiento de 191 días en el 2010 y 149 días en 2012.¹²

Debido a lo expuesto, la detección oportuna y la instauración de tratamiento temprano se vuelven requisitos inequívocos para la mejoría en el estado de la salud de los enfermos y de igual manera en su calidad de vida. Un método como la citometría de flujo detecta de forma específica¹³ la patología subyacente en cada paciente y facilita la interpretación adecuada de un diagnóstico diferencial,¹⁴ haciendo necesario su uso pertinente para la detección de éstas enfermedades que si bien no son prevenibles, a un tiempo justo son tratables.

Llevar a cabo el análisis de las propiedades que brinda la citometría de flujo y las características hematológicas que proporciona del paciente, tendría un gran impacto en la sociedad que fuera más accesible en los pacientes con una clínica sugestiva de leucemia linfoblástica aguda a los cuales no se les ha encontrado el verdadero origen de sus síntomas y que debería seguirse buscando la razón de su clínica; sería concluyente realizarles la prueba para que en dado caso que se posea la enfermedad, sea hallada en un momento crucial para iniciar el tratamiento y sea este efectivo, dando un mejor pronóstico a los pacientes.

Lo cierto es que, si se lleva a cabo un diagnóstico oportuno de la enfermedad, es posible influenciar positivamente la calidad de vida de los pacientes, ya que se incrementa la probabilidad de establecer un tratamiento temprano, lo cual redundaría en un mejor número de años de vida saludable y menores costos para el sistema de salud.

El grupo de investigación considera que, a largo plazo, la investigación de la citometría de flujo y su validez, favorecerá que en un futuro cercano, se haga accesible ésta prueba a toda la población a riesgo, mejorando con ello el pronóstico de su enfermedad y su calidad de vida a corto, mediano y largo plazo.

Enfrentar con antelación a las características subsecuentes de una enfermedad, tratándolas antes de su aparición en la población a riesgo, permitirá disminuir las

tasas de mortalidad entre los afectados, se evitarán costosos tratamientos y manejo de complicaciones, y una de las cosas que se considera muy importantes, es que el impacto en la familia por la grave enfermedad de un ser amado será menos doloroso, al ver que existe una mayor posibilidad de vida en este.

Teniendo en cuenta que se ha encontrado escasa literatura acerca de estudios que estimen las características de la citometría de flujo en Colombia, ^{15 16} se ha limitado el establecimiento de ésta prueba como detector primario de las enfermedades hematológicas mencionadas con anterioridad, haciendo que el diagnóstico de las mismas se realice en estadios avanzados, por lo cual esto es un factor que reduce las posibilidades de un pronóstico favorable.

Son éstas mismas limitaciones, tanto económicas como documentales, las que han restringido la implementación de éste método diagnóstico en la población cuya clínica sugiere un síndrome mielodisplásico.

En Barranquilla se cuenta con los Laboratorios Rey Fals, una institución clínica con más de 66 años en el mercado, atendiendo a la comunidad del departamento del Atlántico¹⁷ y una de las principales entidades que realiza la citometría de flujo en dicha ciudad. A pesar de contar con éste organismo, no son muchos los reportes o resultados que den cuenta de las características operativas de la citometría de flujo o de su validez, solamente se cuenta con una investigación realizada en el año 2006 por el Residente de Medicina Interna Dr. Juan Rodríguez, de la Universidad Metropolitana, quien realizó una descripción del análisis de los diferentes resultados de la citometría de flujo realizada por el laboratorio mencionado.

Por todo lo anterior, se deben desarrollar las investigaciones de validez diagnóstica, pues con ella se facilitaría el reporte reglamentado de las enfermedades que se han mencionado y proporcionaría bases teóricas para el uso

de la citometría de flujo como prueba de tamizaje para enfermedades hematológicas, ya que éste grupo de enfermedades tiene connotaciones que van más allá de los aspectos clínicos, ya que influye notoriamente en las áreas económica y social, teniendo en cuenta los costos derivados del tratamiento, y la calidad de vida de los pacientes y sus familias, lo cual puede verse disminuido con la detección temprana y descripción de características específicas de la leucemia.

Los objetivos específicos del presente proyecto, son entonces caracterizar a la población de estudio según variables sociodemográficas: edad, sexo y régimen de salud y determinar validez de la prueba: sensibilidad, especificidad y valores predictivos, de manera general, y según edad y sexo, los cuales permitirán cumplir la finalidad general, que es determinar la validez de la citometría de flujo para diagnóstico de leucemias en Laboratorios Rey-Fals-Registro-Poblacional de Cáncer, de la ciudad de Barranquilla durante el período 2010 a 2015.

CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO

1.1 Citometría de flujo

La citometría de flujo es un método diagnóstico que permite el análisis tanto cuantitativo como cualitativo¹⁸ de las propiedades morfológicas de partículas individuales¹⁹ y su aplicación en la medicina se fundamenta en la medición de las características de un grupo de células que se encuentran suspendidas en un fluido y la cuantificación de las mismas, mediante la interrupción de un haz de luz.

Ésta prueba permite el análisis de dichas poblaciones, favoreciendo el diagnóstico y seguimiento enfermedades en distintas especializaciones médicas, es así como es utilizada en inmunología para la detección de marcadores para rechazo de trasplantes y aquellos que se presentan con frecuencia en las inmunodeficiencias; en oncología para la cuantificación de antígenos durante de proliferación tumoral; en hematología para la fenotipificación de leucemias y linfomas y el diagnóstico de mastocitosis sistémica y en el campo de la genética para la identificación de trastornos tales como la deficiencia de adhesión leucocitaria.²⁰

La técnica que es aplicada durante la citometría de flujo es sencilla: una vez la muestra es obtenida de algún fluido corporal se deposita dentro del citómetro de flujo y las células de las que se compone se distribuyen uniformemente en un espacio tridimensional,²¹ es en éste momento en el cual las partículas son atravesadas por un haz de luz que emite rayos fluorescentes²² y que a su vez somete las células a conteo y proporciona información acerca de las propiedades físicas e inmunofenotípicas de la partícula, reportando en especial la presencia o ausencia de antígenos²³ y registrando la información través de un histograma.

En el mencionado registro, cada punto representa de manera individual a una célula que, al travesar el haz de luz, ha expresado los antígenos propios de su grupo histológico. Algunos de estos antígenos son específicos para cierto grupo celular, tal como los CD3 que solamente pertenecen a los linfocitos T.²⁴ Pero algunos otros, se expresan simultáneamente en varios linajes, por ejemplo el CD5 que se asocia tanto a linfocitos T como a linfocitos B²⁵ ó el CD2 y CD7 que se ven tanto en linfocitos T como en células NK.²⁶ Es decir que cuando haya maduración anormal de algunas células, se interferirá en la expresión de antígenos de superficie propios, ya sea aumentándolos o disminuyéndolos cuantitativamente y es en éste precepto, en el que se fundamenta que la citometría de flujo pueda distinguir las células saludables de las que no lo son.²⁷

Otras pruebas que se realizan dentro de la unidad de citometría, son el recuento de células CD34+, utilizadas para los trasplantes de médula ósea. La gran fortaleza que ofrecen en este servicio consiste en la prontitud de entrega de los resultados; en un tiempo límite de dos horas.

Algo importante para destacar de ésta prueba diagnóstica, es que el citómetro es capaz de diferenciar entre las células y las partículas adicionales no deseadas que pueden hacer parte de la muestra, como lo son las células muertas y restos de las mismas, mediante una estandarización previa de las propiedades de todos los

grupos celulares que le permiten ser distinguidas de otros tipos de contaminantes, reduciendo al mínimo los resultados falsos positivos y con esto, favoreciendo a la precisión diagnóstica y el logro de los dos objetivos de la citometría: el diagnóstico apropiado y la evaluación de la efectividad de la terapia correspondiente, una vez ésta sea instaurada.

Según algunos autores “Para la leucemia aguda, la citometría de flujo multiparámetro (3 o más colores) es el método de elección para determinar la línea de blastos y así mismo para detectar perfiles antigénicos aberrantes, que pueden ser útiles para el monitoreo de la enfermedad”²⁸ y ésta afirmación está basada en que, cuando se realiza el recuento celular a partir de una muestra de biopsia de órganos sólidos, incluido médula ósea, generalmente son especímenes con distorsión del número real de células disponibles en dicho tejido, en contraste con la citometría en la cual el reporte final, se basa predominantemente en las manifestaciones antigénicas aberrantes en las células, diferenciándose entonces de las otras formas de diagnóstico y seguimiento.

El estudio discutido tiene una amplia gama de ventajas, así como de desventajas. Dentro del primer grupo, se encuentra la amplia cantidad de células que permite analizar en una sola muestra, estimándose este valor entre 1000 hasta 100.000 células, además facilita la detección antigénica de varios grupos celulares y además de hacerlo de manera colectiva, discrimina los valores cuanti y cualitativo de cada una de las células.

En las desventajas, se incluye que necesita la suspensión del tejido y la exposición de este a variables destructivas, que a su vez podrían alterar el resultado del estudio, es costoso y por último, no se pueden visualizar las células que se analizan, por lo cual es un estudio que depende puramente de la máquina.

Sin embargo, el beneficio de la citometría de flujo contrasta en varios niveles con las desventajas del estudio, en especial en las patologías en las que la citometría de flujo constituye un método diagnóstico importante, grupo en el que se encuentran las leucemias agudas, término que se utiliza a nivel mundial para abarcar el grupo de enfermedades malignas de tipo clonal presentes en la sangre.²⁹ En la leucemia mieloide aguda, se consideró que el uso de la citometría de flujo confirma el diagnóstico de leucemia aguda y permite diferenciarla de otras entidades como los síndromes mielodisplásicos y los síndromes mieloproliferativos crónicos.

1.2 Leucemias agudas

El término leucemia proviene del griego “leukos” palabra - blanco y “AIMA”- sangre, que atañe a un conjunto de malignidad (cáncer) que alcanza sangre, en la médula ósea. Es la neoplasia maligna más común en niños y adolescentes, lo que representa aproximadamente el 30% de los casos del cáncer infantil.³⁰

La causa de las leucemias agudas no se encuentra del todo dilucidada, pero se atribuyen los trastornos a una alteración en la diferenciación de una célula multipotencial de la médula ósea,³¹ llevando a que todas las progenies a las que de origen, sean también de morfología anormal y por lo tanto, se origine la enfermedad.

Esto explicaría el aspecto fisiopatológico de las leucemias agudas, en la que además de las variaciones celulares habrá también un cese en la maduración mieloide o linfóide (según sea el caso) y con esto, un aumento en el número de blastos en la médula ósea, llegando incluso a más del 20% según el National Cancer Institute,³² presentándose en sangre periférica tanto células inmaduras como maduras en ausencia de estadios intermedios de las mismas.

Debido a su incidencia, las leucemias agudas son patologías que llegan a ser preocupantes para todos los gobiernos, ya que se estima que cada año se reportan de 1-10 personas por cada 100000 habitantes en el mundo enfermas, ³³ representando un 2,5% de todos los cánceres diagnosticados.⁵ Un aspecto epidemiológico importante es que las leucemias se relacionan directamente con la edad, es así como el riesgo de padecerla es 4 veces más alto en adultos que en niños. Según el Instituto Nacional de Salud de Colombia, en el 2012 la leucemia aguda ocupó el segundo lugar en frecuencia, luego del cáncer de piel, con 4 casos por cada cien mil menores de catorce años correspondiendo a aproximadamente el 30% de las neoplasias malignas en dicho grupo.¹¹

Debido al comportamiento evidenciado en lo que respecta a la incidencia de las leucemias en Colombia, en el 2008 se dio inicio al programa de vigilancia de las leucemias en la infancia, favoreciendo el diagnóstico temprano y la aplicación del tratamiento, disminuyendo en grados importantes las estadísticas nacionales de la enfermedad.⁷

En las enfermedades en cuestión, la citometría de flujo juega un papel clave en la identificación del tipo específico de cáncer, en la estadificación de la enfermedad y en la fenotipificación de la misma, lo que a su vez mejorará el pronóstico y la respuesta al tratamiento, aspectos que varían entre un subtipo y otro.³⁴

Dependiendo del grupo celular que se encuentre comprometido, las leucemias agudas se clasifican en leucemia linfoblástica aguda (LLA) y leucemia mieloide aguda (LMA).

Las que son de tipo linfoblástica tienen mayor prevalencia en niños, adolescentes y adultos jóvenes;³⁵ se presenta en un 75% de los casos, en menores de 6 años y representa el 80% de todas las leucemias agudas en menores de 15 años y tiene una supervivencia mayor al 80% si es diagnóstico se realiza oportunamente y si el

tratamiento se instituye de manera pertinente. Sin embargo, el 15% restante sigue siendo un reto para la medicina moderna, pues es el indicio de que se requieren mayores esfuerzos para hacer una terapéutica más efectiva y un seguimiento más cerrado para dichos pacientes.

En contraste, la aparición de la leucemia mieloide aguda se relaciona más con adultos mayores³⁶ con una media de aparición de 72 años, aunque hay entre un 15 y un 25% de las leucemias agudas en edad pediátrica que se manifiestan como subtipo mieloblástico y es responsable del 30% de las muertes por leucemia en la edad pediátrica, atribuyéndose dicho porcentaje con una pobre respuesta al tratamiento, una más alta incidencia de complicaciones hemorrágicas y una mayor necesidad de trasplante medular.³⁷ En edad adulta, la leucemia mieloide aguda se representa con 1,5 casos por 100.000 habitantes cada año, comprendiendo el 80 % de las leucemias agudas en adultos.

En algunos casos, no es posible realizar el diagnóstico preciso de LMA o LLA, ya que se expresan diferentes tipos de antígenos,³⁸ por lo cual se constituye un subtipo diferente de leucemia aguda, denominado leucemia bifenotípica o leucemia aguda de fenotipo cruzado (LAPM).

Las leucemias bifenotípicas son un subtipo poco frecuente de leucemias agudas, que solo se presenta en un 5% en infantes¹⁴ y 8% de los adultos.³⁹ La LAPM se origina por el defecto en la multiplicación de una célula hematopoyética pluripotencial⁴⁰ y es definida por la OMS como la expresión simultánea de antígenos específicos de leucemia linfocítica aguda de células T (CD3), de leucemia linfocítica aguda de células B (CD19) y de leucemia mieloide aguda (mieloperoxidasa), y a través de la citometría de flujo hay evidencia de diferenciación monocítica.⁴¹ De acuerdo al sistema de puntuación EGIL⁴², el diagnóstico de leucemia bifenotípica se establece cuando la puntuación entre dos linajes celulares es mayor a 2.⁴³

Debido al conocimiento limitado de éste evento y a la difícil diferenciación entre LMA, LLA y LAPM, hay subdiagnóstico del último, y además no hay un tratamiento preciso (lo que se convierte en el problema más notable de este subtipo de leucemia aguda) ⁴⁴ y en consecuencia, el pronóstico es aún más sombrío en relación con otro tipo de leucemias.⁴⁵

Los síntomas y signos de las leucemias son inespecíficos y están dados por el reemplazo de la médula ósea y sangre periférica por blastos atípicos. Es frecuente que los pacientes hayan presentado síntomas más de 3 meses antes de que se realice el diagnóstico de la enfermedad. Lo más característico es la presencia de fatiga (50%), debilidad, anorexia, bajo peso, fiebre (con o sin infección asociada), hemorragias, dolor óseo, adenopatías, infiltración de tejidos blandos, hepato y/o esplenomegalia. En cuanto a los hallazgos de laboratorio destacan anemia de mayor o menor cuantía, generalmente normocítica-normocrómica, eritropoyesis inefectiva, con disminución el recuento de reticulocitos.⁴⁶

El tratamiento para la leucemia se basa principalmente en la quimioterapia, las drogas se administran de acuerdo a protocolos establecidos. En todos ellos, existe una fase de inducción, cuyo objetivo es lograr la remisión completa y otra fase de consolidación, que da cuenta de la sobrevida libre de enfermedad.⁴⁶

Sin embargo, es fundamental identificar el comportamiento de la enfermedad a lo largo del tratamiento y reconocer tempranamente la persistencia de enfermedad residual y modificar de manera eficaz el protocolo terapéutico, buscando prevenir la recurrencia.⁴⁷

1.2.1 Parámetros de la citometría de flujo en el diagnóstico de leucemia aguda.

Las manifestaciones clínicas generales de la leucemia son similares, pues todas ellas suponen un profundo deterioro de la función de la médula ósea, no obstante, existen manifestaciones clínicas y analíticas específicas, así como una notable variabilidad en cuanto a las respuestas al tratamiento y pronóstico.⁴⁶

La caracterización morfológica e inmunofenotípica son la base para el diagnóstico preciso y monitorización de la enfermedad frente al tratamiento.⁴⁸ En la citometría se pueden analizar parámetros nucleares y citoplasmáticos de las células, permitiendo así poder diferenciar con más exactitud los aspectos de diferenciación de las estructuras halladas en la muestra.

Un análisis molecular amplio de la muestra es poco práctico debido a la gran cantidad de diferentes genes, por lo que se evalúa rápidamente los datos morfológicos e inmunofenotípicos para así realizar una búsqueda estrecha y específica de las alteraciones moleculares existentes en el paciente.

Los mejores fluidos para una muestra de citometría de flujo son la sangre y la médula ósea, brindando los resultados más claros y veraces. El procesamiento de la muestra requiere varios pasos, para que así, la maquina pueda identificar claramente las células a evaluar y no se presenten alteraciones.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificó de la siguiente manera, la leucemia aguda.

Leucemia mieloide aguda

Con anomalías citogenéticas recurrentes:

En este grupo, muchas no tienen características inmunofenotípicas distintas, siendo esto porque han sido definidas por los cambios genéticos y moleculares que ocurren frecuentemente, que pueden estar asociados con una serie de características morfológicas e

inmunofenotípicos. Aún así, algunos subtipos contienen una “huella digital” inmunofenotípica característica, que al estar presente obliga a evaluar la lesión genética sospechada.

Los principales genotipos con alteraciones son los siguientes:

- **Leucemia Mieloide Aguda con t(8;21) (q22;q22); RUNX1-RUNX1T1:** La leucemia mieloide aguda recurrente con t (8;21) generalmente muestra la diferenciación granulocítica con la maduración, y no inmunofenotípificación específica o evidencia morfológica de monocitos, eritroides, o la diferenciación megacarioblástica.
- **Leucemia Mieloide aguda con inv(16) (p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11:** En la leucemia mieloide aguda recurrente con inv (16) o t (16;16) muestra en su contenido diferenciación mielomonocítica con una expansión en la cantidad de eosinófilos, que puede tener inusualmente grandes gránulos citoplasmáticos con coloración violeta.
- **Leucemia Mieloide aguda con t(15;17) (q22;q12); PML-RARA:** leucemia promielocítica aguda recurrente con t (15; 17) se compone de una población de granulocitos neoplásicos en la etapa de maduración del promielocito. La forma clásica hipergranular muestra las funciones más inmunofenotípicas reflectantes de este patrón, con “explosiones” neoplásicas.
- **Leucemia Mieloide Aguda con t(1;22)(p13;q13);RBM15-MKL1:** La leucemia mieloide aguda recurrente con t (1;22) en general muestra evidencia de diferenciación de megacariocitos, que se puede demostrar mediante el uso de anticuerpos dirigidos a CD41 (glicoforina IIb) y CD61 (glicoforina IIIa).

- Con cambios mielodisplásicos.
- Neoplasias mieloides relacionadas con el tratamiento.
- Sarcoma mieloide

La importancia clínica de la inmunotipificación en el diagnóstico de las leucemias agudas es ampliamente aceptada, ya que muestra el diagnóstico y la clasificación de LA en 99% de los casos.¹⁵

1.3 Validez de la citometría de flujo

Con el aumento de la incidencia de las leucemias, la citometría de flujo ha demostrado jugar un papel importante, tanto en el diagnóstico como en la evaluación continua de la progresión o remisión de la enfermedad. El uso de la prueba favorece un seguimiento cerrado y preciso de los pacientes, y permite el ajuste terapéutico según el estadio de la enfermedad.

Por ejemplo, cuando la leucemia mieloide aguda es diagnosticada, se estima que el recuento celular maligno es de 10^{12} células, aproximadamente.⁴⁹ Una vez se da inicio al tratamiento, se considera que la enfermedad entra en remisión completa cuando ésta caracterización cuantitativa de las células malignas en médula ósea, disminuye hasta menos del 5%,⁵⁰ denominándose entonces “enfermedad mínima residual”.⁵¹

Ésta, es definida como la población celular maligna que permanece en médula ósea y que es identificable por métodos moleculares, inmunofenotípicos y citogenéticos, pero indetectable por procesos morfológicos, como los estudios de microscopía.⁵² A pesar de la remisión completa en personas con enfermedad mínima residual, existe solo un 30%-40% de posibilidad que sobrevivan a los 5 años después del diagnóstico,⁵³ ya que el riesgo de recaída es alto⁵⁴ en éste tipo de pacientes.

El uso de la citometría de flujo como método de inmunofenotipificación de estas células malignas de la enfermedad mínima residual, permite la detección, caracterización y cuantificación de las células⁵⁵ de forma más efectiva que otros métodos diagnósticos, permitiendo detectar grupos de riesgo y disminuyendo la posibilidad de recaída. Adicionalmente, facilita y optimiza el manejo clínico y terapéutico de los pacientes en remisión de la enfermedad, y con esto, abre la posibilidad de tomar decisiones terapéuticas basadas en indicaciones biológicas específicas.⁵⁰

Otra técnica utilizada es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual alcanza una sensibilidad de 10^{-4} hasta 10^{-6} . Ambas pruebas son métodos específicos y aplicables en un gran número de casos, pero algunos consideran que deberían realizarse estas pruebas simultáneamente para complementarse.¹⁶

Es de carácter crucial determinar enfermedad mínima residual de leucemia aguda dependiendo a los resultados de la citometría, los cuales permitirán predecir una recaída en los pacientes, y así poder establecer de manera más precisa, una verdadera remisión completa.¹⁶

La citometría de flujo puede permitir un nivel máximo de sensibilidad de 1 célula leucémica en 10^6 células normales después de una limpieza precisa y prolongada del sistema de líquidos. Una cifra más realista para las aplicaciones prácticas es 1 célula diana en 10^4 células normales. Sin embargo, hay que señalar que el nivel de sensibilidad varía (10^{-3} a 10^{-5}) en función del tipo de fenotipos que se analiza, la combinación de reactivos MoAb utilizados para su detección, y la muestra en estudio.⁵⁰

La limitación a menudo no es el nivel absoluto de detección, sino el hecho de que las propias partículas presentan diferentes niveles de autofluorescencia. El

desarrollo de resolución basada en las características espectral (longitud de onda) o espectroscópico (tiempo de vida de fluorescencia) mejora aún más la sensibilidad y contribuye a la visión de una sola molécula por píxel. La detección de molécula en citometría de flujo se ha logrado bajo condiciones en las que, en muestras pequeñas de volúmenes con baja autofluorescencia, se discrimina una única molécula contenida en el volumen iluminado.⁵⁶

Los factores que reducen la sensibilidad de la inmunofenotipificación incluyen los siguientes: (1) la falta de especificidad de antígeno para células malignas debido a que estas células representan las contrapartidas de las células normales que, en muchos casos, tienen perfiles de antígeno idénticos o similares; (2) la existencia de varias subpoblaciones, algunos de ellos clones como menores, que son difíciles de identificar; (3) la incapacidad para identificar interruptor fenotípica; y (4) la necesidad de contar un gran número de células y de conocimientos técnicos.⁵⁰

En un estudio descriptivo⁸ donde se estudiaron 247 pacientes en la ciudad de Barranquilla, a través de las bases de datos de los Laboratorios Rey-Fals, cuyo objetivo fue evaluar las características operativas de la citometría de flujo en el diagnóstico de leucemia aguda, mostro una sensibilidad del 92.1% y una especificidad del 91.3%, con un valor predictivo positivo de 94.5% y un valor predictivo negativo 87.5%.

A pesar de la búsqueda bibliográfica extensa en bases de datos como Clinical Key, PubMed, Ebsco, Scielo, Embase, Journal Ovid y Google Académico, mediante el uso de palabras claves como “leucemia, características operativas, sensibilidad, especificidad, valor predictivo negativo, valor predictivo positivo, citometría de flujo, leukemia, sensivity, specificity, flow cytometry, minimal residual disease”, entre otras, no se logró encontrar información precisa acerca de otras características operativas de la citometría de flujo.

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA

2.1 TIPO DE ESTUDIO

Descriptivo. Se buscó evaluar y describir los aspectos metodológicos de validez diagnóstica de la citometría de flujo, donde se incluyen: sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo, en pacientes con leucemia de la ciudad de Barranquilla.

2.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO

- Población diana: Pacientes con diagnóstico de Leucemia y/o estudio de citometría de flujo y biopsia de médula ósea en la ciudad de Barranquilla.
- Accesible: pacientes con citometría de flujo, llevada a cabo en laboratorios Rey Fals, durante el período 2010-2015, registrados en la base de datos del Registro Poblacional de Cáncer de Barranquilla.
- Elegible: Sujetos que cumplan los criterios de selección:
 1. Residentes en la ciudad de Barranquilla.
 2. Con Prueba diagnóstica (negativa o positiva)
 3. Con seguimiento citométrico.

Se estimó un total de 1286 sujetos que cumplieron los criterios de selección, los cuales fueron estudiados en su totalidad.

2.3 FUENTE DE INFORMACIÓN

Secundaria.

2.4 VARIABLES

MACROVARIABLES	VARIABLE	DEFINICIÓN	NATURALEZA	NIVEL DE MEDICIÓN	INDICADORES
Sociodemográficas	Sexo	Conjunto de características físicas, biológicas, anatómicas y fisiológicas de los seres humanos, que los definen como hombre o mujer.	Cualitativa	Nominal	Femenino Masculino
	Edad	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento.	Cuantitativa	Razón	..21, 22,23...
	Régimen de salud	Rama del SGSS a la que pertenece el paciente	Cualitativa	Nominal	Subsidiado Contributivo Especial
Pruebas diagnósticas	Citometría de flujo	Técnica análisis celular que mide las características de un grupo celular a partir de la penetración de las mismas por un haz de luz.	Cualitativa	Nominal	...CD3, CD19, LTNK, CD2, CD7, CD34, enfermedad mínima residual...
			Cuantitativa	Razón	...1000, 1001...
	Histopatología	Resultado del examen microscópico de los tejidos orgánicos.	Cualitativa	Nominal	Leucemia mieloide aguda Leucemia linfoide aguda Leucemia mieloide crónica Leucemia linfoide crónica Leucemia de fenotipo cruzado

2.5 PLAN DE RECOLECCIÓN

La información se tomó de dos bases de datos: una de Laboratorios Rey Fals, en donde aparecían los datos de identificación del sujeto y los resultados de las diferentes pruebas citométricas, y otra del Registro poblacional de Cáncer de Barranquilla, en donde se encontró información para casos residentes en la ciudad de Barranquilla, con diagnóstico de leucemia aguda. Para ello, se formalizaron los

permisos pertinentes, pero en ambos centros ya se había llevado a cabo un proceso de sensibilización y un trabajo previo.

2.6 PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

La información fue obtenida en archivos planos .txt, y posteriormente fueron cruzados, teniendo en cuenta documento de identificación y concordancia con el nombre, a través de Microsoft Excel 2013, en donde se aplicaron filtros activos y tablas dinámicas para llevar a cabo la depuración de la información. Posteriormente, los datos fueron migrados, en una sola base, a Epiinfo 7., en donde se llevó a cabo el análisis de la información.

2.7 ASPECTOS ÉTICOS

En todo momento hubo acogimiento a las Normas de Buenas Prácticas Clínicas en Investigación, y hubo respeto por la confidencialidad de los datos personales de los sujetos, correspondiendo a un estudio sin riesgo según la resolución 8430 de 1993.

Ese trabajo fue presentado al Comité de Ética de la Universidad del Norte el día de Junio de 2015 y aprobado por el mismo el día de Junio de 2015.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS

Tabla 1. Distribución de sujetos con citometría de flujo y biopsia de médula ósea, procedentes de Laboratorios Rey Fals y complementados en el RPCB, durante 2010-2015, según variables sociodemográficas

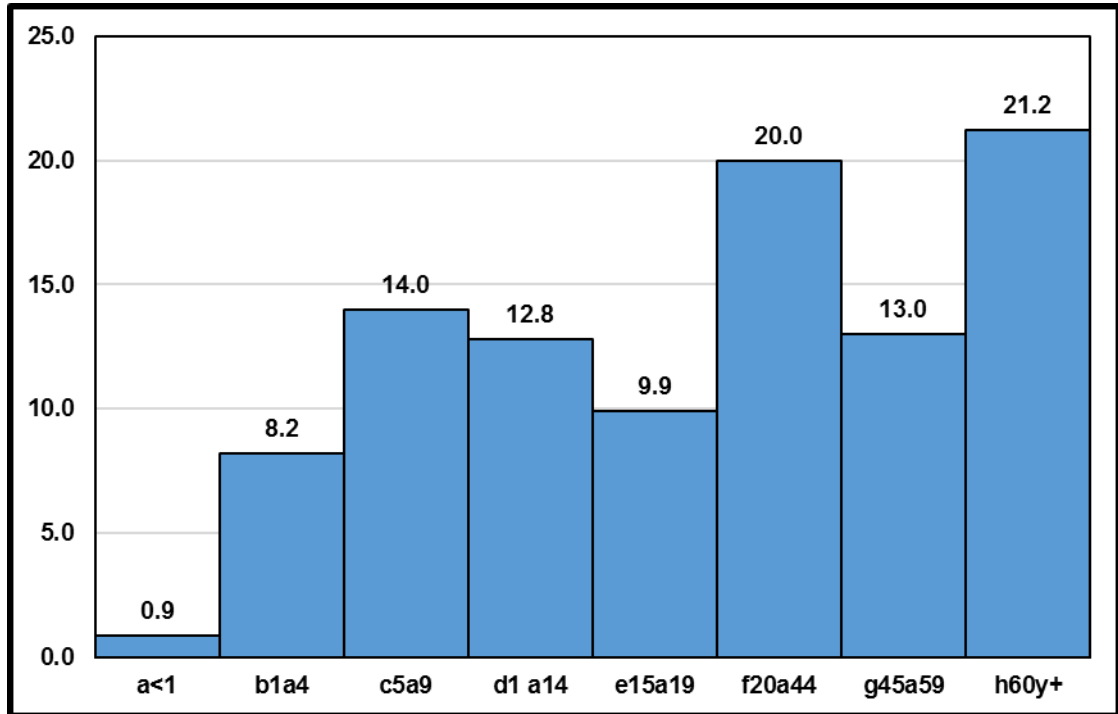
Variable	Porcentaje % (n=1826)	
Edad	<1	0,9
	1 a 4	8,2
	5 a 9	14,0
	10 a 14	12,8
	15 a 19	9,9
	20 a 44	20,0
	45 a 59	13,0
	60 y +	21,2
Sexo	Masculino	54,3
	Femenino	45,6
Régimen de salud	Subsidiado	41,4
	Contributivo	58,4
	Especial	0,2

Fuente: Rey Fals-RPCB

La distribución según las variables sociodemográficas de edad, sexo y régimen de salud, muestran un comportamiento amplio para el uso de la citometría de flujo y la biopsia de medula ósea como métodos diagnósticos de leucemia aguda.

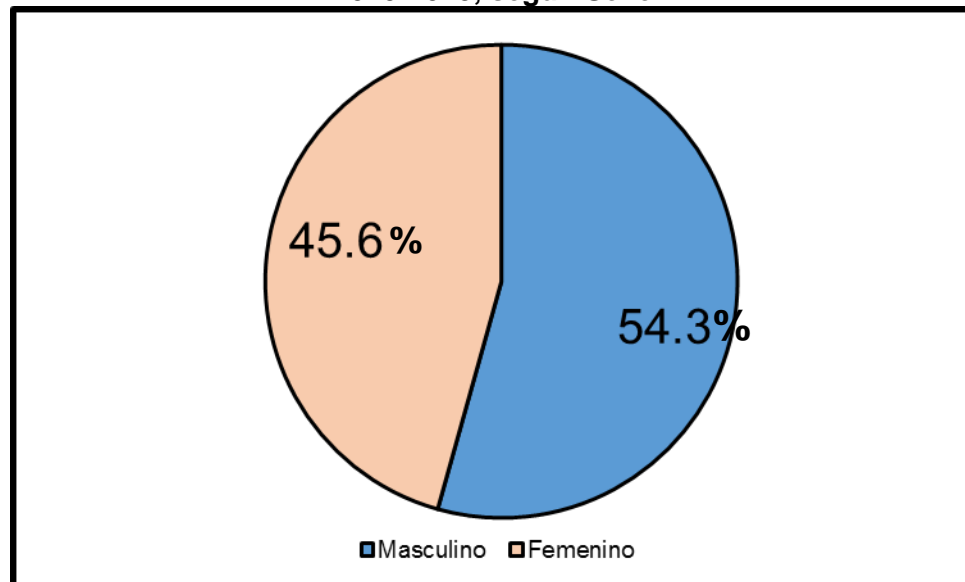
Se encontró una mayor proporción de hombres; por régimen de salud la gran mayoría pertenece al régimen contributivo. Además, se observaron tres valores elevados por edad: el primero, en edades pediátricas, entre los 5 y los 14 años, el segundo entre los 20 y los 44 años de edad y por último en la población con edad mayor o igual a 60 años (Tabla 1).

Gráfico 1. Distribución de sujetos con citometría de flujo y biopsia de médula ósea, procedentes de Laboratorios Rey Fals y complementados en el RPCB, durante 2010-2015, según Edad



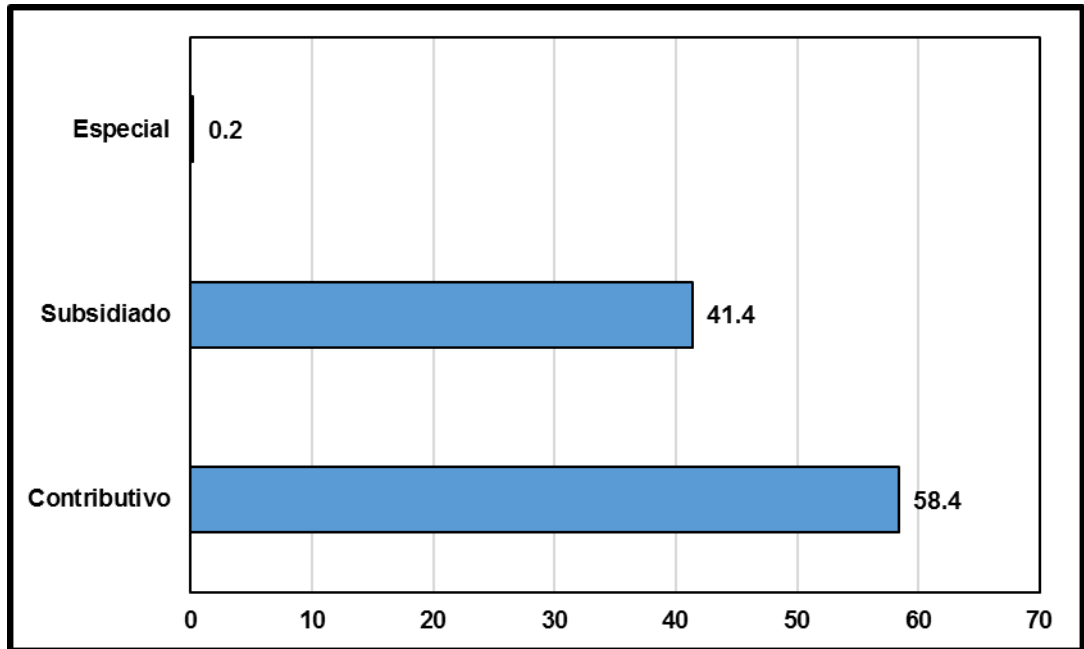
Fuente: Tabla 1

Gráfico 2. Distribución de sujetos con citometría de flujo y biopsia de médula ósea, procedentes de Laboratorios Rey Fals y complementados en el RPCB, durante 2010-2015, según Sexo



Fuente: Tabla 1

Gráfico 3. Distribución de sujetos con citometría de flujo y biopsia de médula ósea, procedentes de Laboratorios Rey Fals y complementados en el RPCB, durante 2010-2015, según Régimen de salud



Fuente: Tabla 1

Tabla 2: Distribución de sujetos con citometría de flujo y biopsia de médula ósea procedentes de Laboratorios Rey Fals y complementados en el RPCB, durante 2010-2015, según pruebas de laboratorio.

	Variable	Porcentaje % (n=1826)
Citometría	Otro Dx	29
	Enfermedad mínima residual	48,7
	Negativo	22,3
Histopatología	Leucemia mieloide aguda	27
	Leucemia linfoide aguda	55
	Leucemia mieloide crónica	12
	Leucemia linfoide crónica	1
	Leucemia de fenotipo cruzado	0,9
	Negativo	0,08

Fuente: Rey Fals-RPCB

Para el diagnóstico e inmunotipificación de la leucemia, se utilizaron tanto la biopsia de médula ósea como la citometría de flujo.

En la primera, el subtipo de la enfermedad más frecuente en la población, fue la leucemia linfocítica aguda con un 55%, seguida de la leucemia mieloide aguda. Solo el 0,08% de las biopsias fueron negativas para leucemia.

Por su parte, la citometría de flujo detectó enfermedad mínima residual en un 48,7% de la muestra, y arrojó resultados negativos en el 22,3% del total de la población estudiada (Tabla 2).

Tabla 3: Relación entre citometría de flujo y biopsia en pacientes de laboratorio Rey Fals de la ciudad de Barranquilla, 2010-2015

		Biopsia		Total
		+	-	
Citometría de flujo	+	1321	90	1411
	-	351	64	415
Total		1672	154	1826

Fuente: Rey Fals-RPCB

Sensibilidad 79%
Especificidad 41%
VPP 93%
VPN 15%

Comparando la citometría de flujo con la biopsia de medula ósea, puede calcularse la validez de la primera prueba mencionada, entendiéndose en términos de sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo. La posibilidad de realizar un diagnóstico acertado con citometría de flujo en pacientes realmente enfermos es de 79%. La especificidad de la prueba se constituye en un 41%, mientras que su valor predictivo positivo es del 93% y el negativo de un 15% (Tabla 3).

CAPITULO 4. DISCUSIÓN

Al cruzar la base de datos del registro poblacional de cáncer con las pruebas citométricas de muestras de pacientes del laboratorio Rey Fals, que nos otorga pacientes tanto positivos como negativos en la ciudad de Barranquilla, algunos de seguimiento particular, y realizando la comparación de estos hallazgos con el único estudio de referencia encontrado en la ciudad, realizado por el Residente de Medicina Interna Dr. Juan Rodríguez, de la Universidad Metropolitana, se ejecutó un análisis de los diferentes resultados de la citometría de flujo. Se describe que hasta el año 2004 la presentación de leucemia según el sexo posee un valor cercano entre sí, pero prevaleciendo más entre los hombres (56,7%) al igual que los hallazgos realizados en nuestra investigación. La edad de presentación de la leucemia mieloide aguda ha variado, siendo entre el años 2001-2005 la población de 5-14 años quienes más desarrollaban la enfermedad, y entre los años 2011-2015 los mayores de 60 años.

En el estudio realizado en la Universidad Metropolitana, se halló una sensibilidad del 92,1% y una especificidad de 91,3%, encontrándose una gran diferencia entre los valores de esta investigación, con una sensibilidad de 79% y especificidad de 41%. Los valores predictivos también difieren en su número, teniendo anteriormente un valor predictivo positivo de 94,5% y un valor predictivo negativo de 87,5% y calculando con los datos actuales un 93% y 15% en los valores predictivos positivo y negativo respectivamente, resultados ampliamente diferentes, atribuyendo esta discrepancia a que los datos tomados entre los años 2000-2005, fueron únicamente de pacientes positivos a la citometría.

La obtención de los datos fue de tipo fuente secundaria, uno de los sesgos que se podría encontrar es el sesgo de información, y podría afectar nuestros resultados, debido a que no se estuvo presente en el diligenciamiento del formulario y este no fue diseñado para hallar el objetivo de la investigación. Además, se encontró una incidencia de la enfermedad en la población muy alta debido a que la mayoría de los pacientes que dieron positivo para citometría ya habían sido diagnosticados por medio de la biopsia medular.

A pesar de no encontrar otros proyectos que posean el mismo objetivo de esta investigación, sí se encuentran estudios donde se hace reconocimiento a su técnica gracias a su precisión de análisis y evaluación de los diferentes tipos celulares, permitiendo consigo una evaluación más profunda de la condición de salud de los pacientes en las diferentes áreas como hematología e inmunología.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES

En los resultados se demuestra que la leucemia es una patología que afecta con más frecuencia a los hombres que a las mujeres, especialmente en mayores de 60 años.

Para la diagnóstico e inmunotipificación de la leucemia por citometría de flujo se demuestra que es más útil en la detección de la enfermedad mínima residual que para la identificación de otros marcadores para leucemia.

Para los valores de sensibilidad, especificidad y valor predictivo negativo encontrados durante el desarrollo de este estudio, queda claro que el la biopsia de medula ósea no debe ser reemplazada ni postergada por la citometría de flujo, en el contexto de un paciente con alto índice de sospecha de leucemia.

Sin embargo, por el significativamente alto valor predictivo positivo, la citometría podría ser establecida como prueba para el seguimiento de los pacientes señalados con anterioridad con el fin de evaluar la eficacia del tratamiento, evaluar la progresión de la enfermedad y estimar la esperanza de vida antes, durante y después del manejo de la patología, ya que con la citometría de flujo es posible hacer un recuento diferencial más objetivo y establecer un diagnóstico inmunocitológico de las leucemias.

CAPÍTULO 6. RECOMENDACIONES

Se recomienda que el diagnóstico de leucemias sea realizado con la biopsia de medula ósea y complementado con la citometría de flujo. De igual manera, se considera que ésta última prueba sea utilizada para el seguimiento y pronóstico de la enfermedad una vez instaurado el tratamiento y al finalizarlo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Orfao A, González M, Ciudad J, López-Berges MC, López A, San Miguel JF. Aplicaciones de la citometría de flujo en el diagnóstico hematológico. Biol Clin Hematol [Internet]. 1992 [Fecha de Ingreso: Enero 19 de 2015]. Volumen 13; p 456-523.
- ² Ortuño F, Orfao A. Aplicación de la citometría de flujo al diagnóstico y seguimiento inmunofenotípico de las leucemias agudas. Med Clin [Internet]. 2002 [Fecha de Ingreso: Enero 20 de 2015]. Volumen (118:11); p 423-436. **DOI:**[10.1016/S0025-7753\(02\)72408-1](https://doi.org/10.1016/S0025-7753(02)72408-1).
- ³ O'Donnell M. Acute Leukemias: Cancer Management. Oncology Journal [Internet]. 2014 [Fecha de Ingreso: Enero 20 de 2015]. Disponible en <http://www.cancernetwork.com/cancer-management/acute-leukemias>
- ⁴ Deschler B, Lübbert M. Acute Myeloid Leukemia: Epidemiology and Etiology. Cancer [Internet]. Noviembre de 2006 [Fecha de Ingreso: Febrero 22 de 2015]. Volumen (107:9); p 2099-2107. **PMID:** 17019734. **DOI:** 10.1002/cncr.22233
- ⁵ GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence Worldwide 2012 from WHO. [Fecha de Ingreso: Febrero 20 de 2015]. Disponible en http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx
- ⁶ Howard S, Pedrosa M, Kins M, Pedrosa A, Pui C, Ribeiro R. Establishment of a pediatric oncology program and outcomes of childhood acute lymphoblastic leukemia in a resource-poor area. JAMA [Internet]. 2004 [Fecha de Ingreso: 10 de Abril de 2015]; Volumen 291(20): p 2471-2475. 2004. **DOI:**[10.1001/jama.291.20.2471](https://doi.org/10.1001/jama.291.20.2471).
- ⁷ Cotes J, Wiesner C, Sierra J. La mortalidad por leucemias pediátricas en Colombia [Internet]. Instituto Nacional de Cancerología-ESE Colombia. Ministerio de Salud y Protección Social. ISSN: 2011-883X. Volumen (5):(2). Bogotá D.C. Julio de 2013. [Fecha de ingreso: Mayo 5 de 2015]. Disponible en: http://www.asivamosensalud.org/media/santafe/lecturas_sugeridas/a3c82063d18d47b67d876eff4a929fd9.pdf.

⁸ Leukemia and Lymphoma Society. Someday is today: Facts 2014-2015 [Internet]. [Fecha de Ingreso: Febrero 22 de 2015]. Disponible en: http://www.lls.org/sites/default/files/file_assets/facts.pdf

⁹ American Cancer Society. ¿Qué indican las estadísticas clave sobre la leucemia mieloide aguda. Guía detallada [Internet]. [Fecha de Ingreso: Abril 10 de 2015]. Octubre de 2014. Disponible en: <http://www.cancer.org/espanol/cancer/leucemiamieloidenaaguda/guiadetallada/leucemia-mieloide-mielogena-aguda-what-is-key-statistics> Fecha de Ingreso: Marzo 4 de 2015.

¹⁰ Bravo LE, Collazos T, García LE, Gutiérrez A, Carrascal E. Cáncer infantil en Cali, Colombia, 1994-2003. Registro Poblacional de Cáncer en Cali. Cali: Camilo Torres Serna y Cia S.C.S; 2009.

¹¹ Ministerio de Salud y Protección Social, Gobierno de Colombia. Protocolo de Vigilancia de Salud Pública para leucemia, PRO-R02.020 [Internet]. Instituto Nacional de Salud. Colombia. [Fecha de Ingreso: Febrero 4 de 2015]. 2014. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Leucemias.pdf>

¹² Vera AM, Pardo C, Duarte M, Suárez A. Análisis de la mortalidad por leucemia aguda pediátrica en el Instituto Nacional de Cancerología. Biomédica [Internet]. 2012 [Fecha de Ingreso: Abril 15 de 2015]; Volumen (32): p 355-64. **DOI:** <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v32i3.691>

¹³ Craig F, Foon K. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. Blood Journal [Internet]. Abril de 2008 [Fecha de Ingreso: Marzo 23 de 2015]. Volumen (111:8); p 3941 – 3967. **DOI:** <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2007-11-120535>

¹⁴ Vizcaíno M, Guzmán C, De los Reyes I, Quiano S, Campos A. Diagnóstico de leucemias bifenotípicas por citometría de flujo. Biomédica [Internet]. 2010 [Fecha de Ingreso: Marzo 23 de 2015]. Volumen (30); p 22-26. **DOI:** <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v30i0.819>

¹⁵ Rodríguez J, Villanueva J, Pérez N. Caracterización operativa de la citometría de flujo en el diagnóstico de leucemia aguda: Laboratorio Rey Fals Barranquilla 2000-2005. Tesis de postgrado en Medicina Interna. Universidad Metropolitana, Barranquilla. 2006.

¹⁶ Lara J. Detección de enfermedad mínima residual en leucemias agudas por citometría de flujo, años 2009-2010. Tesis de postgrado en Medicina Interna. Universidad Metropolitana, Barranquilla. 2009.

¹⁷ El Heraldo Barranquilla. Enrique Fals, un barranquillero de larga trayectoria química [Internet]. Mayo de 2014 [Fecha de Ingreso: Marzo 2 de 2015]. Disponible en <http://revistas.elheraldo.co/gente-caribe/perfil/enrique-fals-un-barranquillero-de-larga-trayectoria-quimica-130846>

¹⁸ Shapiro, H. Practical Flow Cytometry [Internet]. Volumen 1. Cuarta Edición. Hoboken, New Jersey. Wiley and Sons, 2003. Chapter 1.2: Beginnings: Microscopy and Cytometry; [Fecha de Ingreso: Abr 2 de 2015]; p: 2-14 . **DOI:** 10.1002/0471722731

¹⁹ Rahman, M. Introduction to flow cytometry [Internet]. Guía Abd Serotec, a division of MorphoSys. Chapter 1: Principles of the flow cytometer; [Fecha de Ingreso: Abr 2 de 2015]; p 3-8. Disponible en: <http://www.igb.illinois.edu/sites/igb.illinois.edu.biotech/files/upload/Introduction%20to%20FlowCytometry.pdf>.

²⁰ Brown, M. Witter, C. Flow Cytometry: Principles and Clinical Applications in Hematology. Clinical Chemistry [Internet].2000 [citado 14 de Abr del 2015]; 46(8): 1221–1229. Disponible en <http://www.clinchem.org/content/46/8/1221.full.pdf+html> **PMID:** 10926916

²¹ Leach, M. Drummond, M. Doig, A. Practical Flow Cytometry in Haematology Diagnosis [Internet]. UK: Wiley-Blackwell; 2013. Chapter2, Principles of Flow Cytometry; [Citado el 1 Mar. 2015]; 3–19. Disponible en: <http://www.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-0470671203.html>

²² Macey, M.: Flow Cytometry Principles and Applications. [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press Inc. 2007. Chapter 1, Principles of Flow Cytometry. [Citado el 19 de Mar. 2015]; 1-5. Disponible en: <http://www.springer.com/us/book/9781588296917>

²³ Craig F, Foon K. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. Blood Journal [Internet] 2008, Abr. [citado el 16 de Mar. del 2015]; 111(8): 3941-3967. Disponible desde: <http://www.bloodjournal.org/content/111/8/3941>

²⁴ El Hentati, F. Gruy, F. Iobagiu, C. Lambert, C. Variability of CD3 Membrane Expression and T Cells Activation Capacity. Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 2010; 78(2):105–114. **DOI:** 10.1002/cyto.b.20496.

- ²⁵ Emile, J. Boulland, M. Haioun, C. Kanavaros, P. Petrella, T. Delfau-Larue, M. y cols. CDS- CD56+ T-cell Receptor Silent Peripheral T-cell Lymphomas Are Natural Killer Cell Lymphomas. *Blood Journal*. [Internet]. 2015, Feb. [Fecha de último ingreso: Abril 30 del 2015]; 87,(4): 1466-1473. Disponible en: <http://www.bloodjournal.org/content/bloodjournal/87/4/1466.full.pdf?ssoc-checked=true>
- ²⁶ Tangye, S. Phillip, J. Lanier, L. The CD2-subset of the Ig superfamily of cell surface molecules: receptor–ligand pairs expressed by NK cells and other immune cells. *Academy Press*. 2000; 12(1): 149–157. DOI: 10.1006/rsmim.2000.0217
- ²⁷ Macey, M.: *Flow Cytometry Principles and Applications*. [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press Inc. 2007. Chapter 3, Data Analysis [Citado el 19 de Mar. 2015]; 16-23. Disponible en: <http://www.springer.com/us/book/9781588296917>
- ²⁸ Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood Journal* [Internet]. 2009, Jul. [citado 20 de Feb del 2015]; 114(5):937–951.
- ²⁹ Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukemia. *Lancet*. 2013; 381 (9881):1943-55. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)62187-4.
- ³⁰ Martinbianco C, Brandalise S, Brustolone I. Estudio epidemiológico dos casos de leucemia linfocítica aguda nas crianças e adolescentes tratados no centro de tratamento onco hematológico infantil– cetohi, do hospital regional de Mato Grosso Do Sul. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Diciembre 2013.
- ³¹ Alvarado, J. Leucemia: Fisiopatología y generalidades. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. [Internet]. 2010. División Académica de Ciencias de la Salud. [Citado el 10 de Abr. 2015]. P 1-36. Disponible en: <http://es.slideshare.net/PsicoLogiaEducativa1/leucemias-fisiologia-y-generalidades>
- ³² National Cancer Institute. Adult Acute Myeloid Leukemia Treatment [Internet]. 2015, Abr. [Citado el 19 Feb. 2015]. Disponible en <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/adultAML/healthprofessional>
- ³³ Crespo-Solís E. Epidemiología de las leucemias agudas. *Rev Hematología* 2010;11(Supl 1):37-9.
- ³⁴ Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, van't Veer MB. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia*. 1995;9 (10):1783-6. PMID: 7564526.

- ³⁵ Tirado L, Mohar A. Epidemiología de las Neoplasias Hemato-Oncológicas. *Cancerología 2* [Internet]. 2007 [Citado el 20 Mar. 2015]; pp. 109 – 120. Disponible en: <http://www.incan.org.mx/revistaincan/elementos/documentosPortada/1193426695.pdf>
- ³⁶ Löwenberg B, Downing J, Burnett A. Acute myeloid leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 1999; 341(14): 1051-1062. **DOI:** 10.1056/NEJM199909303411407
- ³⁷ Ruiz G, Ruiz G, Garcés J. ¿Es necesario el trasplante de médula ósea en el tratamiento de la leucemia mieloide aguda?. *Revista de Hematología* [Internet] 2013. [Citado el 26 de mar del 2015]; 14(Supl.1):S1-S4. Disponible en: <http://www.amehac.org/wp-content/uploads/2013/05/Rev-Hematol-Mex-201314-Suppl-1.pdf>
- ³⁸ Béné M. Biphenotypic, bilineal, ambiguous or mixed lineage: strange leukemias. *Haematologica* [Internet]. 2009, Jul. [Citado el 13 de May del 2015]; 94(7): 891-893. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2704297/>
- ³⁹ Legrand O, Perrot J, Simonin G, Baudard M, Cadiou M, Blanc C, y cols. Adult biphenotypic acute leukemia: an entity with poor prognosis which is related to unfavourable cytogenetics and P-glycoprotein over-expression. *BJH*. 1998; (100):147-155. **DOI:** 10.1046/j.1365-2141.1998.00523.x
- ⁴⁰ Matutes E, Pickl W, Van't Veer M, Morilla R, Swansbury J, Strobl H, y cols. Mixed-phenotype acute leukemia: clinical and laboratory features and outcome in 100 patients defined according to the WHO 2008 classification. *BLOOD*. 2011; 117(11):3163-3171. **DOI:** 10.1182/blood-2010-10-314682
- ⁴¹ Borowitz M, Bene MC, Harris NL, Porwit A, Matutes E. Acute leukemia of ambiguous lineage. *World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, France: IARC Press; 2008:150-155.
- ⁴² Abdul-Hamid G. Acute Leukemia - The Scientist's Perspective and Challenge. Edited by Mariastefania Antica, ISBN 978-953-307-553-2, 440 pages, InTech,. Chapter 1: Classifications of acute leukemia. 2011. **DOI:** 10.5772/841
- ⁴³ European Group for the Immunological Classification of Leukemias. The Value of c-kit in the Diagnosis of Bi-phenotypic Acute Leukemia. *Leukemia*, 1998; (12)2038. **DOI:**10.1038/sj.leu.2401214

- ⁴⁴ Sarma A, Sharma J, Bhuyan C, Hazarika M, Chandra A. A Biphenotypic (Mixed Phenotypic) Acute Leukemia: Report of Two Cases with Immunophenotypic Study. *Open Journal of Blood Diseases*. 2013, Jun; 3: 65-68. Disponible en: <file:///C:/Users/Biblioteca8/Biblioteca8-HP/Downloads/2013062515304492.pdf>
- ⁴⁵ Zhao X, Gojo I, York T, Ning Y, Baer M. Diagnosis of biphenotypic acute leukemia: a paradigmatic approach. *Int J Clin Exp Pathol* 2010; 3(1):75-86. Disponible en: www.ijcep.com/IJCEP907009.
- ⁴⁶ León, J. Utilidad del estudio molecular en el pronóstico de los pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda diagnosticados en el hospital de Solca del 1º de enero del 2004 al 31 de diciembre del 2006 [Internet]. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. 2013. Disponible en: <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/123456789/961>
- ⁴⁷ Andrade, R. Linares, A. Saavedra, C. Determinación de perfiles inmunofenotípicos por citometría de flujo de Leucemia Linfoblástica aguda en niños y su valor en la detección de Enfermedad Mínima Residual. Universidad Nacional de Colombia [Internet]. Bogotá. 2010.
- ⁴⁸ Peters JM, Ansari MQ. Multiparameter Flow Cytometry in the Diagnosis and Management of Acute Leukemia. *Arch Pathol Lab Med* [Internet]. 2011 [citado 2 de Feb del 2015]; 135(1):44-54.
- ⁴⁹ Gobierno Federal. Diagnóstico temprano y oportuno de leucemia aguda en la infancia y la adolescencia en el primer nivel de atención. Guía de práctica clínica. Consejo de salubridad general. SSA-061-08. Gobierno Federal. México.
- ⁵⁰ Al-Mawali A, Gillis D, Lewis I. The Role of Multiparameter Flow Cytometry for Detection of Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. *American Journal of Clinical Pathology* [Internet]. 2009. [citado 5 de Mar del 2015]; 131:16-26. Disponible en: <http://ajcp.ascpjournals.org/content/131/1/16.full.pdf+html>
- ⁵¹ Golub T, Weistein H, Grier H. Acute myeloid leukemia. In: Pizzo P, Poplack D, eds. *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. 3rd ed. Philadelphia, PA: Lippincott- Raven; 1997; 463-482.
- ⁵² González M, García-Sanz R, Chillón M, Marín L, Corral R, Alonso-Sarasquete M. y cols. Utilidad en la práctica clínica de la detección de la enfermedad mínima residual. Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico Universitario de Salamanca. *Haematologica/Edición española* [Internet]. 2011. 96 (Extra 1). Disponible en: http://www.sehh.es/images/stories/recursos/2013/comunicaciones_cientificas/2011/Utilidad-practica-clinica-deteccion-enfermedad-minima-residual.pdf

- ⁵³ Löwenberg B, Griffin JD, Tallman MS. Acute myeloid leukemia and acute promyelocytic leukemia. American Society of Hematology [Internet]. 2003. [citado 31 de May del 2015]; 1: 82-101. Disponible en: <http://asheducationbook.hematologylibrary.org/content/2003/1/82.full.pdf+html>
- ⁵⁴ López,R. Raya, JM, Martínez, B. Cabrera, R. Rodríguez, J. Estudio de la enfermedad mínima residual en el cáncer infantil. Oncología [Internet]. 2004. [citado el 18 de Abr del 2015]; 27 (10):569-578. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0378-48352004001000001&script=sci_arttext
- ⁵⁵ Scolnik, M. Detección de enfermedad mínima residual en leucemias agudas por citometría de flujo. Academia Nacional de Medicina [Internet]. 2000, Agos. [citado el 23 de Mar del 2015]; 60 (Supl. II): 83-86. Disponible en: http://www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol60-00/supl2/v60_s_2_83_86.pdf
- ⁵⁶ Oxford University Press. Flow Cytometry for Biotechnology. Primera Edición. Editado por Sklar, L. New York, New York. 2005. Disponible en: <http://ukcatalogue.oup.com/product/9780195152340.do>

ANEXOS

ANEXO 1. ÁRBOL DEL PROBLEMA

