

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
ESCUELA DE BIOANÁLISIS

DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICO CLÍNICO

“PREVALENCIA DE LEUCEMIA AGUDA Y SUS TIPOS POR
CITOMETRÍA DE FLUJO EN PACIENTES DE 4 A 12 AÑOS EN EL
LABORATORIO CLÍNICO-ONCOLÓGICO “ONCOLAB”,
EN LA CIUDAD DE QUITO, 2014”.

MARÍA JOSÉ RUIZ VÁSCONEZ

DIRECTORA: MTR. MARCELA MARDONES

QUITO, 2015
DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, MARÍA JOSÉ RUIZ VÁSQUEZ, con C.I 1803977618, autor del trabajo de graduación titulado “PREVALENCIA DE LEUCEMIA AGUDA Y SUS TIPOS POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN PACIENTES DE 4 A 12 AÑOS EN EL LABORATORIO CLÍNICO-ONCOLÓGICO “ONCOLAB”, EN LA CIUDAD DE QUITO, 2014” previa a la obtención de grado académico de BIOQUÍMICO CLÍNICO en la Escuela de Bioanálisis.

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior de entregar a la SENESCYT en forma digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2. Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la universidad.

Quito,

María José Ruiz Vásquez

C.I. 1803977618

DEDICATORIA

“Con todo mi cariño y mi amor para esas personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se derrumbaba y se terminaba, a ustedes por hacer de mí la persona que soy ahora”...

Papá y mamá

“A ti por ser mi compañero, mi maestro, mi orgullo y sobre todo mi ejemplo de persona a seguir en cada paso que doy”...

Mi hermano

“A tu paciencia y comprensión, preferiste sacrificar tu tiempo para que yo pudiera cumplir con el mío. Por tu bondad y sacrificio me inspiraste a ser mejor para tí, gracias por ser mi compañero, mi amigo, mi cómplice y estar siempre a mi lado”..

Andrés

“ A mi profesora, quien se ha tomado el arduo trabajo de transmitirme sus diversos conocimientos para que yo pueda cumplir con mis metas”...

Marcela

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Carlos Bueno E. por sus conocimientos, orientaciones y motivaciones, por inculcar en mí un sentido de responsabilidad, nobleza y bondad, las cuales han sido fundamentales para mi formación no solo profesional sino también personal.

A su manera, ha sido capaz de ganarse mi lealtad y admiración así como sentirme en deuda con él por su paciencia y tiempo al ser mi mentor..

...GRACIAS

RESUMEN

“PREVALENCIA DE LEUCEMIA AGUDA Y SUS TIPOS POR CITOMETRÍA DE FLUJO EN PACIENTES DE 4 A 12 AÑOS EN EL LABORATORIO CLÍNICO-ONCOLÓGICO “ONCOLAB”, EN LA CIUDAD DE QUITO, 2014”.

Introducción: Las leucemias agudas (LA) son el resultado de una alteración genética en una célula madre hematopoyética, que desencadena una proliferación clonal de células leucémicas inmaduras llamadas blastos. La célula madre en la que se produce la mutación leucémica es un precursor que pierde la capacidad de seguir su proceso normal de maduración. Este precursor, puede ser de origen mieloide (Leucemia Mieloblástica Aguda o LMA) o linfoide (Leucemia Linfoblástica Aguda o LLA) y cuya acumulación progresiva, en muchos casos, se acompaña de una disminución en la producción de las células sanguíneas normales, incluyendo una variación en el conteo de leucocitos. Representan el 30-35% de las neoplasias pediátricas, siendo su mayor incidencia entre los 2 y los 5 años. **Materiales y métodos:** El presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio clínico oncológico “Oncolab” situado en la ciudad de Quito, lugar donde se realiza atención a pacientes con diagnóstico presuntivo de leucemia aguda. Previa autorización del laboratorio se procedió a la recolección de la información y tabulación de datos para el desarrollo de la investigación. **Resultados:** Al laboratorio acudieron un total de 137 individuos con diagnóstico presuntivo de leucemia aguda en el período comprendido entre enero a diciembre del 2014, de los cuales, 102 pacientes fueron diagnosticados con leucemia aguda pediátrica equivalente a un 74,45% de la población enferma y a un 25,54% de la población sana. De acuerdo al tipo de leucemia aguda se encontró que la que prevalece corresponde a la leucemia linfoblástica aguda (LLA), presente en el 97,05% de los casos, a diferencia de la leucemia mieloblástica aguda (LMA) representada con un 2,94% para la población antes mencionada. **Conclusiones y recomendaciones:** En total fueron analizados 137 pacientes con diagnóstico presuntivo de leucemia aguda, de estos resultados, 102 presentaron la enfermedad; 99 pacientes con leucemia linfoblástica aguda y 3 con leucemia mieloblástica aguda. El género masculino predominó dentro de todos los subtipos de LLA con un total de 60 pacientes frente a 42 del género femenino; siendo el rango de edad de 4 a 6 años, el más prevalente para ambos sexos. Se recomienda realizar

programas con formatos estadísticos actualizados sobre la prevalencia de este tipo de cáncer que no se limite sólo en la infancia, para así tener a la mano mayor información y promover futuras investigaciones teniendo una basa de datos completa que facilite al investigador.

Palabras claves: Leucemia aguda, linfocito, niños, cáncer.

ABSTRACT

"PREVALENCE OF ACUTE LEUKEMIA AND ITS TYPES BY FLOW CYTOMETRY FOR PATIENTS OF 4 TO 12 YEARS IN CANCER CLINICAL LABORATORY "Oncolab" IN THE CITY OF QUITO, 2014".

Introduction: Acute leukemias (LA) are the result of a genetic alteration in a hematopoietic stem cell , which triggers a clonal proliferation of immature leukemic cells called blasts . The stem cell in which the mutation occurs leukemia is a precursor to lose the ability to follow their normal process of maturing . This precursor may be of myeloid origin (acute myelogenous leukemia or AML) or lymphocytic (acute lymphoblastic leukemia or ALL) and buildup which in many cases is accompanied by a decrease in the production of normal blood cells , including a variation the leukocyte count. Representing 30-35% of pediatric malignancies, with the highest incidence between 2 and 5 of age. **Materials and Methods:** This study was conducted in cancer clinical laboratory "Oncolab" located in Quito, where patient care is performed with a presumptive diagnosis of acute leukemia, with the authorization of the laboratory he proceeded to the collection tabulation of information and data for the development of research. **Results:** A total of 137 individuals with presumptive diagnosis of acute leukemia in the period from January to December 2014, of which 102 patients were diagnosed with acute leukemia pediatric equivalent to 74.45% of the population was found sick and one 25.54% of the healthy population. According to the type of acute leukemia it found that corresponds to the most prevalent acute lymphoblastic leukemia (ALL), 97.05% in the present case, unlike acute myeloblastic leukemia (AML) represented with a 2.94 % for the above population. **Conclusions and Recommendations:** In total 137 patients were analyzed with a presumptive diagnosis of acute leukemia, these results, 102 developed the disease; 99 patients with acute lymphoblastic leukemia and acute myelogenous leukemia 3. Men predominated in all subtypes of a total of 60 patients versus 42 of the female gender; it is the age range of 4-6 years the most prevalent for both sexes. It is recommended that statistical formats updated programs on the prevalence of this cancer that is not limited only in childhood in order to have more information at hand and promote future research having a comprehensive data base to provide the researcher.

Keywords: Acute leukemia, lymphocyte, children, cancer.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	7
CAPÍTULO I	9
1. JUSTIFICACIÓN.....	9
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	12
3. OBJETIVOS.....	15
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	15
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO.....	15
CAPÍTULO II.....	16
MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	16
4. ANTECEDENTES.....	16
5. LEUCEMIA AGUDA.....	17
5.2.1 Leucemia linfoide aguda.....	19
5.2.2 Leucemia mieloide aguda.....	21
5.3 Características clínicas.....	22
5.4 Diagnóstico por el laboratorio clínico.....	22
6. CITOMETRÍA DE FLUJO.....	23
6.2. Aplicación en la clasificación de leucemias agudas.....	24
6.3. Interpretación de resultados por el laboratorio clínico.....	27
7. MARCO CONCEPTUAL.....	28
CAPÍTULO III	30
MARCO METODOLÓGICO.....	30
8. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
8.1 Tipo de estudio.....	30
8.2 Población.....	30
8.3 Tamaño muestral y método de muestreo.....	30
8.4 Criterios de inclusión.....	31
8.5 Criterios de exclusión.....	31
8.6 Operacionalización de variables.....	32
8.7 Procedimiento en el laboratorio clínico y control de calidad.....	33
8.8 Recolección de la información.....	34
8.9 Documento de confidencialidad.....	34
CAPÍTULO IV.....	35
9. RESULTADOS.....	35
10. DISCUSIÓN.....	42

11.	CONCLUSIONES	44
12.	RECOMENDACIONES.....	45
13.	BIBLIOGRAFÍA	45

LISTA DE TABLAS

- Tabla N°1.** Clasificación LLA según FAB.
- Tabla N°2.** Clasificación LA según su origen B y T.
- Tabla N°3.** Clasificación LMA según FAB.
- Tabla N°4.** Perfil inmunofenotípico para leucemia mieloide aguda.
- Tabla N°5.** Perfil inmunofenotípico para leucemia linfoide aguda tipo B.
- Tabla N°6.** Perfil inmunofenotípico para leucemia linfoide aguda tipo T.
- Tabla N°7.** Operacionalización de variables.
- Tabla N°8.** Frecuencia de leucemia aguda disgregada por género.
- Tabla N°9.** Distribución de tipos y subtipos de LA en la población estudiada entre enero y diciembre del 2014 en Oncolab.
- Tabla N°10.** Distribución de los subtipos de LLA según edad y sexo en la población que acudió a Oncolab entre enero a diciembre del 2014.

LISTA DE GRÁFICAS

- GRÁFICA 1.** Subtipos de LMA por edad en la población que acudió a Oncolab en enero a diciembre del 2014.
- GRÁFICA 2.** Subtipos de LMA por género en la población que acudió a Oncolab en enero a diciembre del 2014.
- GRÁFICA 3.** Pacientes con LA según lugar de procedencia de la población que acudió a Oncolab en enero a diciembre del 2014.
- GRÁFICA 4.** Pacientes con LA del género masculino según subtipo, edad y lugar de procedencia que acudieron a Oncolab entre los meses de enero a diciembre del 2014.
- GRÁFICA 5.** Pacientes con LA del género femenino según subtipo, edad y lugar de procedencia que acudieron a Oncolab entre los meses de enero a diciembre del 2014.

ANEXOS

- Anexo 1:** Control de calidad y especificaciones equipo FACS calibur
- Anexo 2:** Control de calidad y especificaciones equipo KX21N
- Anexo 3:** Documento de confidencialidad

LISTA DE ABREVIATURAS

- CD:** Grupos de diferenciación (Cluster of differentiation).
- CF:** Citometría de flujo.
- FSC:** Forward Scatter.
- Hb:** Hemoglobina.
- Hct:** Hematocrito.
- L.A:** Leucemia Aguda.
- LLA:** Leucemia linfoide aguda.
- LMA:** Leucemia mieloide aguda.
- SSC:** Side Scatter.
- TdT:** Terminal deoxynucleotidyl transferase.

INTRODUCCIÓN

Las leucemias agudas (LA) son el resultado de una alteración genética en una célula madre hematopoyética, que desencadena una proliferación clonal de células leucémicas inmaduras llamadas blastos. La célula madre en la que se produce la mutación leucémica es un precursor que pierde la capacidad de seguir su proceso normal de maduración. Este precursor, puede ser de origen mieloide (Leucemia Mieloblástica Aguda o LMA) o linfoide (Leucemia Linfoblástica Aguda o LLA) y cuya acumulación progresiva, en muchos casos, se acompaña de una disminución en la producción de las células sanguíneas normales, incluyendo una variación en el conteo de leucocitos. Representan el 30-35% de las neoplasias pediátricas, siendo su mayor incidencia entre los 2 y los 5 años. (Cabrera, 2011)

La edad para considerar a los pacientes con cáncer pediátrico continúa debatiéndose, la mayoría de las estadísticas e informes epidemiológicos consideran aquel que ocurre hasta 14 años; sin embargo, en instituciones especializadas cubre hasta los 18 o 21 años. Las neoplasias malignas más frecuentes en los niños corresponden a las leucemias y linfomas. A diferencia de la de los adultos, tienen periodos de latencia cortos, crecen rápidamente, son biológicamente agresivas y responden mejor a la quimioterapia. (Cabrera, 2011)

Las diferencias en el acceso y tipo de tratamiento administrado conjuntamente con las condiciones socioeconómicas se ven reflejadas en la razón incidencia/mortalidad, indicando una letalidad moderada de las leucemias agudas. A pesar de que las diferencias raciales y socioeconómicas en la supervivencia de los niños con leucemia se han estudiado ampliamente, varios de estos estudios han encontrado que tanto los niños afroamericanos, como americanos caucásicos, tienen la misma supervivencia si se someten al tratamiento con las mismas características. (Gonzales, 2014)

El diagnóstico precoz (detección de una enfermedad pre-sintomática) en leucemias agudas pediátricas es inexistente debido a que la enfermedad siempre se detecta diseminada y cuando es sospechada se encuentra generalmente en la etapa sintomática donde generalmente ya es posible establecer el diagnóstico clínico realizando estudios en médula ósea o sangre periférica con la ayuda de exámenes de laboratorio como un

hemograma completo, microscopía óptica y citometría de flujo. (Miño, 2010)

La caracterización de los subtipos de leucemia aguda por citometría de flujo se basa en la identificación de diferentes perfiles inmunológicos que se expresan diferencialmente en las células leucémicas respecto a las células normales. (Juarez, 2012)

El diagnóstico preciso de los diferentes tipos de leucemia aguda por citometría de flujo, en relación con otras metodologías, ha sido de mucha ayuda en el resultado clínico del paciente afectado debido a la gran sensibilidad, objetividad, rapidez y versatilidad analítica de la técnica en el estudio de la célula, lo que permite su aplicación en diversas áreas, principalmente en la detección y cuantificación de antígenos para el estudio de pacientes leucémicos; siendo la mencionada técnica relativamente nueva en nuestro país, pocos laboratorios oncológicos realizan este tipo de estudios para la diferenciación de leucemias por medio de ensayos inmunofenotípicos. Aún así, en la actualidad se han logrado importantes avances en el diagnóstico clínico, destacando la aportación de la citometría de flujo al estudio en el diagnóstico y clasificación de las leucemias. (Orfao, 2012)

Por todo ello, la citometría de flujo ha proporcionado información objetiva que complementa la obtenida con otras técnicas diagnósticas en áreas tan diferentes de la medicina como la inmunología, la genética, la bioquímica clínica, la oncología, y la microbiología.

CAPÍTULO I

1.1 JUSTIFICACIÓN

La leucemia es el cáncer más frecuente en la infancia, representa entre un 30-40% de todas las neoplasias malignas en niños menores de 15 años y se definen como un grupo de enfermedades malignas donde alteraciones genéticas de una determinada célula hematopoyética dan lugar a una proliferación clonal de células anómalas impidiendo un correcto funcionamiento. La progenie de estas células muestra una ventaja de crecimiento sobre los elementos celulares normales por su mayor velocidad de proliferación, por la menor incidencia de apoptosis espontánea ó por ambos mecanismos. (Cáncer, 2011)

La mayoría de leucemias pediátricas ocurren a temprana edad, siendo muchas de esas el resultado de una predisposición genética. La exposición a radiación también contribuye a ciertos tipos de leucemias en la infancia. Otros factores que se han relacionado con los cánceres en esta etapa de la vida incluyen enfermedades infecciosas, afecciones previas al nacimiento, contaminantes ambientales, campos electromagnéticos y uso inadecuado de medicamentos. (Casalta, 2010)

La leucemia al ser una enfermedad compleja y presentar varios tipos y subtipos puede tener diferentes pronósticos y respuestas al tratamiento, siendo el mismo una decisión importante para el enfermo, por lo que, las opciones de tratamiento en cada paciente se basan fundamentalmente en el tipo de leucemia y en ciertas características del pronóstico. (Cáncer, 2011)

Teniendo como principio diagnóstico que la mayoría de leucemias en los niños son curables, el pronóstico está estrechamente relacionado con el tipo de leucemia, la extensión de la enfermedad en el momento del diagnóstico y la eficacia del tratamiento. Para los pacientes diagnosticados con leucemia, la técnica de citometría de flujo es indispensable al momento de clasificarla en sus diferentes subtipos y con ello recibir el tratamiento de quimioterapia apropiado y en ciertas ocasiones saber si el paciente requiere trasplante de médula ósea. (Costales, 2010)

El propósito de este estudio es conocer la frecuencia de leucemia aguda en niños de 4 a 12 años, en un periodo de tiempo determinado, a través de citometría de flujo. El uso de la técnica para estudiar los tipos de leucemia aguda es una necesidad de gran importancia para hacer diagnósticos precisos, con mayor rapidez y mejorar el tratamiento de los pacientes. Un estudio publicado en la universidad de Santiago de Guayaquil-Ecuador en el año 2013 por la Dra. León corrobora la importancia de realizar estudios inmunofenotípicos conociendo que el pronóstico está estrechamente relacionado con el tipo de leucemia, la extensión de la enfermedad en el momento del diagnóstico y la eficacia del tratamiento. En el hospital de SOLCA-Guayaquil para los pacientes diagnosticados con leucemia aguda, la técnica de citometría de flujo es determinante al momento de clasificar el tipo de leucemia para que puedan recibir el tratamiento de quimioterapia apropiado; de igual manera, los protocolos para la determinación de leucemia citados por los médicos tratantes de SOLCA-Quito atribuye como primera parte a la historia clínica completa junto con el examen físico, seguido de exámenes como biometría hemática, frotis sanguíneo, química sanguínea y por último aspirado de médula ósea para su posterior estudio por citometría de flujo. (Leon, 2013) y (Cueva 2014)

La utilidad teórica del trabajo de investigación radica en que el análisis de la prevalencia y las frecuencias de los tipos y subtipos, por edad y sexo permitirá tener a mano datos que serán una fuente de consulta para el desarrollo de otros estudios en la misma línea de investigación, como el realizado en Loja-Ecuador en el 2010, dónde explica la importancia de realizar estos estudios debido a que las leucemias agudas han sido durante años, una de las enfermedades más temidas por todos los estratos sociales, no sólo por su alta mortalidad, sino por todo lo que conlleva a nivel emocional, familiar y económico. Debido a su etiología se ha constituido en un reto para los científicos, quienes con el transcurso de los años, han logrado numerosos avances en cuanto al diagnóstico y tratamiento. (Delgado, 2010)

El proyecto tiene utilidad práctica, pues los resultados serán una referencia para mantener actualizado los datos reales de pacientes con leucemia aguda diagnosticados en los diferentes laboratorios dónde, al igual que SOLCA también se aplica de manera similar los métodos de análisis ya presentados, así los datos obtenidos guiarán aplicaciones posteriores.

Es de suma importancia que los exámenes de laboratorio sean realizados por personal capacitado y con alto nivel de experiencia en el área para así establecer el subtipo de leucemia y su correcta caracterización. En algunos tipos de leucemias infantiles el diagnóstico y diferenciación en las etapas más tempranas posibles, es un factor imprescindible para definir el tratamiento a emplear, el pronóstico y la probabilidad de sobrevida del paciente, por ello se debe contar con profesionales que presenten compromiso con el trabajo realizado. (Santoyo-Sánchez, 2013)

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel mundial las leucemias son el cáncer más común en niños de hasta 10 y 12 años de edad, llegando a representar en un 30% de todas las enfermedades malignas de la infancia. Las leucemias linfoblásticas representan el 75% de todas las leucemias agudas, con una incidencia anual aproximada de entre tres a cuatro casos por 100.000 habitantes menores de 14 años. (Cáncer 2011)

En la mayoría de los casos, el cáncer infantil se desarrolla a raíz de mutaciones no heredadas en los genes de sus células en proceso de crecimiento. Puesto que estos errores ocurren al azar o de forma impredecible, actualmente no hay manera de prevenirlos. En el mundo 250.000 niños son diagnosticados de cáncer cada año. (Casalta, 2010)

El cáncer en el Ecuador desde mucho tiempo atrás, es un problema importante de salud pública. Según el Registro Nacional de Tumores de SOLCA-Quito, se diagnostican alrededor de 370 casos cada año, siendo los más frecuentes en niños las leucemias agudas. (Cueva 2014)

La leucemia, al ser una enfermedad que afecta en su gran mayoría a niños, presenta tasas más altas de incidencia en niños de 0 a 4 años y afecta aproximadamente a 6 de cada 100.000 niños varones, y a 5.6 de cada 100.000 mujeres aproximadamente a nivel latinoamericano. (Gonzales, 2014)

Según la Sociedad Americana del Cáncer, la clasificación de las leucemias desempeña un papel fundamental en la determinación de las opciones de tratamiento y en el pronóstico de vida. La supervivencia de los infantes con leucemia se ha incrementado notablemente en los últimos tiempos gracias a la rapidez en el diagnóstico y diferenciación de los subtipos de leucemias, pasando de una supervivencia de menos del 10% en los años 90 a una superior al 80%, diferencia que se marca por los tratamientos actuales. (Cáncer, 2011)

Debido a que las leucemias son proliferaciones neoplásicas que se dividen en varios subgrupos y esta clasificación cambia el tratamiento y pronóstico de los pacientes, se considera hoy en día indispensable los análisis de citometría de flujo, para el

diagnóstico exacto de cada uno de los subtipos de leucemia aguda, esto permite elegir el tratamiento apropiado según sea el caso. (Costales, 2010)

Un estudio realizado en SOLCA-Cuenca en el 2013 mostró cifras de 291 casos diagnosticados de cáncer infantil, donde se ha visto que en las últimas décadas las tasa de incidencia y de mortalidad se han venido incrementando por lo que representa un importante problema de salud pública y ha generado un gran impacto social y económico para el país. La autoridades pertenecientes al Ministerio de Salud Pública (MSP) en una publicación citada en el año 2013 comunica que se inaugurará el Centro de Apoyo Integral para niños y jóvenes con cáncer, el cual beneficiará, fundamentalmente, a los niños, niñas y adolescentes diagnosticados con esta enfermedad en la provincia y a nivel nacional, garantizando la continuidad de sus tratamientos, ya que proporciona un lugar de estancia y atención integral a aquellos pacientes cuyos lugares de residencia se encuentran alejados de los centros de atención de salud y que por situación económica, no les es posible acceder de manera regular a un albergue mientras reciben las terapias. (MSP, 2013) y (Cabrera, 2013)

Lamentablemente la falta de análisis clínicos a profundidad en el momento de diferenciar los subtipos de leucemias, no permite que el tratamiento sea el adecuado para el paciente siendo una causa frecuente de mortalidad a temprana edad.

A pesar de existir avances en cuanto al estudio y diferenciación de leucemias en niños, todavía un pequeño grupo de pacientes (10-20%) fracasan en el tratamiento. Los científicos han logrado comprender mejor cómo ciertos cambios en la estructura del ADN en el interior de las células normales de la médula ósea, pueden convertir a las mismas en células malignas. (Cáncer, 2011)

Para esto, son necesarias nuevas estrategias que permitan conocer y seleccionar aquellos pacientes con mayor riesgo de recaída, dependiendo del tipo de leucemia. Uno de los aspectos que más preocupan hoy en día, es la toxicidad de los tratamientos a largo plazo en los supervivientes de leucemias agudas. (Amaru, 2012)

Cabe recalcar que en la actualidad no se conoce una manera de prevenir la mayoría de los cánceres infantiles. Muchos de los niños con leucemia no tienen factores de riesgo

bien establecidos, por lo que no hay manera segura de evitar que desarrollen leucemia.

Es importante tomar en cuenta que el diagnóstico de leucemia en un niño afecta a todos los miembros del hogar y a casi todos sus aspectos de la vida en familia. Por eso es imprescindible que los pacientes con leucemia sean atendidos de manera inmediata, realizándose todos los exámenes necesarios, para un mejor diagnóstico y diferenciación de los tipos de leucemias y así evitar que la tasa de mortalidad infantil aumente por un mal tratamiento.

Siendo el Hospital de SOLCA-Quito un referente en el diagnóstico para los pacientes con cáncer, es importante a su vez conocer la prevalencia de leucemia aguda en niños atendidos en otros laboratorios que también prestan los mismos servicios, probablemente basándose en diferentes protocolos para el diagnóstico y con diferentes lugares de procedencia del paciente. Por el momento, no se conoce un protocolo establecido por el Ministerio de Salud Pública (MSP) para el diagnóstico, tratamiento y pronóstico del infante con cáncer, como ocurre en otros países como por ejemplo Colombia, donde sí existen protocolos sobre la vigilancia y análisis del riesgo del cáncer infantil por medio del Ministerio de Salud Pública del mencionado país. Habiendo una falta de protocolos generalizados por MSP en el manejo de niños con leucemia por parte de los distintos laboratorios que prestan dichos servicios, es importante tener a la mano datos estadísticos que sustenten estos estudios de pacientes con cáncer como en este caso las leucemias agudas en niños. (Gonzales, 2014)

Es por esa razón que se plantea la siguiente pregunta:

¿Cuál es la frecuencia de los tipos de leucemia aguda establecidos por citometría de flujo en pacientes de 4 a 12 años por edad, sexo y lugar de procedencia?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

- Establecer la prevalencia de leucemia aguda y sus tipos por citometría de Flujo en pacientes de 4 a 12 años atendidos en el laboratorio clínico-oncológico “Oncolab”, ciudad de Quito, enero a diciembre del 2014.

1.3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Determinar la frecuencia de leucemia linfoide aguda y leucemia mieloide aguda en pacientes de 4 a 12 años atendidos en el laboratorio clínico-oncológico “Oncolab”, ciudad de Quito, enero a diciembre del 2014.
- Determinar la frecuencia de los subtipos de leucemia linfoide aguda en pacientes de 4 a 12 años atendidos en el laboratorio clínico-oncológico “Oncolab”, ciudad de Quito, enero a diciembre del 2014.
- Establecer la frecuencia de los subtipos de leucemia mieloide aguda en pacientes de 4 a 12 años atendidos en el laboratorio clínico-oncológico “Oncolab”, ciudad de Quito, enero a diciembre del 2014.
- Correlacionar todos los resultados obtenidos con la edad, sexo y lugar de procedencia analizados en pacientes de 4 a 12 años atendidos en el laboratorio clínico-oncológico “Oncolab”, ciudad de Quito, enero a diciembre del 2014.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

El presente estudio tiene como limitante el no tener datos completos en la historia clínica del paciente para poder realizar el análisis de prevalencia de los pacientes que presentan leucemia aguda y acudieron al laboratorio entre los meses de enero a diciembre del 2014.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1 ANTECEDENTES

La leucemia es la segunda causa más frecuente de mortalidad infantil comprendido en edades entre 1 a 14 años aproximadamente a nivel mundial, este rango de edad es el considerado por el Instituto Nacional de Cáncer de España para definir cáncer infantil. (Cabrera, 2011)

El 80% de pacientes infantiles viven en países en vías de desarrollo, en niños menores de 15 años se reportan 8.700 casos anuales y en adolescentes anual de 13,4 y 14,9 por 100.000 personas, respectivamente. Según la Unión Internacional Contra el Cáncer (UICC), en los países desarrollados, tres de cada cuatro niños con cáncer sobreviven al menos cinco años después de ser diagnosticados, gracias a los progresos en el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad. (Cabrera, 2011)

Aproximadamente la mitad de las muertes por cáncer infantil en Colombia fueron provocadas por leucemias, en contraste con los informes sobre Estados Unidos, Europa y México, donde estas neoplasias están entre 32% y 35% de las muertes por cáncer en menores de 15 años. Datos descritos por Globocan-Colombia en el 2012, destaca que a nivel mundial las leucemias infantiles corresponden al 30% de las neoplasias malignas que se presentan en dicho grupo y de éstas más del 75% son linfoides agudas. (Gonzales, 2014)

Lamentablemente en países con menor desarrollo, las muertes vinculadas a las leucemias linfoides agudas y su tratamiento se encuentran entre 10% y 15%, y al de las leucemias mieloides agudas en el 30%, tasas que en los países desarrollados son de 3% y 7% respectivamente. En México, los estudios demostraron que los niños mal nutridos tuvieron menores posibilidades de permanecer en remisión completa en comparación de aquellos con una mejor nutrición. (Gonzales, 2014)

Colombia muestra tasas de incidencia en leucemia infantil con 6 casos nuevos por 100.000 menores de 15 años (tasas ajustadas por edad) en niños, y 5,6 casos nuevos por

100.000 menores de 15 años en niñas. (Gonzales, 2014). En Ecuador, el cáncer es la tercera causa de muerte y enfermedad en la población, con incidencias de 6.6 a 8.4 por 100.000 habitantes para género masculino y 4.5 a 7.5 por 100.000 habitantes para género femenino, de aquí la importancia que se realicen más investigaciones sobre cáncer en el medio. (Cueva, 2014)

En Manabí-Ecuador en el año 2011 se publicaron estadísticas relacionadas con el cáncer infantil, siendo la leucemia aguda la más relevante dentro de todas las neoplasias hematopoyéticas, con una incidencia estimada de 3,2 casos por cada 100.000 habitantes al año. (Roa, 2011)

Oncolab es un laboratorio clínico privado especializado en la realización de pruebas oncológicas de laboratorio en sangre, médula ósea y líquidos biológicos, para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con cáncer.

Inició hace aproximadamente 15 años en la ciudad de Quito, tiempo en el cual ha venido trabajando con pacientes con diagnóstico presuntivo de cáncer incluyendo a los niños con patologías como leucemias; utilizando técnicas como la inmunotipificación por medio de citometría de flujo para el diagnóstico y seguimiento de las leucemias agudas. Oncolab, al igual que otros laboratorios, presenta tecnología que se aplica en el estudio de los pacientes oncológicos, teniendo anualmente un alto número de pacientes con cáncer.

Las leucemias presentes en niños por lo general son de mejor pronóstico, pues del 80% a 90% se curan con quimioterapia convencional. Del 10% al 20% restante corresponde al paciente que presenta algún dato de alto riesgo al momento del diagnóstico, por ejemplo: edad menor a un año o superior a los 10, cifras de glóbulos blancos elevados (más de 30.000), trombocitopenia y anemia prolongada. (Miño, 2010)

2.2 LEUCEMIA AGUDA.

La leucemia aguda infantil es un cáncer del sistema hematopoyético donde se genera una transformación maligna en las células progenitoras; su inicio se genera en la médula ósea la cual puede invadir la sangre y extenderse a otras partes del cuerpo. (Julio, 2014)

Existen diversos factores que influyen en la aparición y pronóstico de la leucemia aguda y sus correspondientes tipos. Las alteraciones involucradas en la transformación leucémica de las células madres alteran los procesos regulatorios, aumentando de forma ilimitada la capacidad de autorrenovación, lo que genera una falta en el control de la proliferación normal y una pérdida en el bloqueo, diferenciación y resistencia a la muerte celular programada. (Polo, 2014)

La acumulación progresiva de las proliferaciones neoplásicas de las células hematopoyéticas inmaduras, viene acompañada de una disminución en la producción de las células sanguíneas normales; definiéndola como aguda debido a la rapidez de instauración de la leucemia así como el grado de inmadurez de las células proliferantes, dichas características son las que marcan una diferencia frente a las leucemias crónicas, donde la instauración es más lenta y las células proliferantes son mucho más maduras. (Santoyo, 2013)

La leucemia aguda es considerada una enfermedad universal de etiología multifactorial, de muy alto impacto social y cultural, ocupando el segundo lugar en frecuencia con 4 casos por cada cien mil menores de 14 años (4x100.000). Afecta a cualquier sexo y edad por igual, siendo más habitual que las leucemias linfoblásticas se diagnostiquen con mayor frecuencia en los niños y las mieloblásticas más entre adultos y ancianos. (MSP, 2013)

Se ha demostrado que determinados factores como las radiaciones (rayos X, rayos gamma, etc.) y determinadas sustancias con poder carcinógeno, como el benzol, pueden ocasionar cambios en los genes de las células normales de la médula ósea, las cuales crecen y funcionan basándose principalmente en la información contenida en el ADN intracelular, ésta alteración tiene como consecuencia la producción excesiva de células inmaduras llamadas blastos. (Mayela, 2014)

2.3 CLASIFICACIÓN

En la clasificación de las leucemias existen dos tipos, que relacionada a su manifestación clínica, son agudas y crónicas. De acuerdo al estudio morfológico de médula ósea, la leucemia aguda se clasifica según la FAB en linfoides y mieloides, las

cuales presentan a su vez otra clasificación más específica para cada tipo de leucemia aguda. (Labardini, 2013)

Las leucemias agudas en general pueden ser catalogadas por una variedad de características incluyendo la morfología, la citoquímica y los marcadores de superficie. Su importancia en la distinción entre mieloide y linfoide radica en que difieren tanto en aspectos clínicos, datos de laboratorio, pronóstico y respuesta al tratamiento.

Su diferenciación se realiza por una serie de exámenes que incluye un hemograma completo, estudio microscópico y un análisis citoquímico y fenotípico de las células hematopoyéticas, donde determinadas características de las células leucémicas las hacen clasificables en uno u otro tipo. (Julio, 2014)

El conocer a profundidad el tipo y subtipo de leucemia aguda es de gran interés para el médico tratante debido a la estrecha relación que existe al momento de seleccionar el tratamiento adecuado para cada paciente, mejorando así, el pronóstico de vida de los pacientes con leucemia.

2.3.1 LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

La Leucemia linfoide aguda (LLA) es un subtipo de leucemia aguda que se caracteriza por la presencia excesiva de linfoblastos en la médula ósea y sangre periférica pudiendo diseminarse a los ganglios linfáticos, el bazo, el hígado, el sistema nervioso central y otros órganos. Representa el cáncer infantil más frecuente, constituye aproximadamente el 40% de los casos nuevos, con una incidencia anual de 4 casos por cada 100,000 habitantes. (Cueva, 2014)

Este tipo de leucemia se genera a partir de la transformación maligna de las células progenitoras B o T. La enfermedad se caracteriza por la acumulación de linfoblastos en la médula ósea, con frecuencia acompañada de supresión de la hematopoyesis normal. Numerosos estudios realizados en países cercanos como Colombia, Chile y Cuba muestran una alta prevalencia de pacientes con LLA de estirpe B que presentan el fenotipo común, lo que confirma la conocida preponderancia de este subtipo inmunológico en la infancia, seguido de un buen número de pacientes con leucemia de

tipo Pro-B y en menor cantidad con subtipo de estirpe T, lo que concuerda con la frecuencia de distribución reportada por varios grupos de trabajo internacionales donde de las diversas características inmunofenotípicas predominó el B común. (Quero, 2012), (Marsán-Suárez, 2012) y (Santoyo, 2013)

Para la identificación del linaje B o T se realizan estudios inmunofenotípicos, usando los siguientes grupos de diferenciación (CDs):

Tabla N° 1

Clasificación LLA según FAB

TABLA 1. Clasificación FAB de LLA			
Característica	L1	L2	L3
Tamaño celular	Pequeño	Moderado	Moderado
Cromatina nuclear	Homogénea	Heterogéneo	Homogéneo
Contorno nuclear	Regular	Heterogénea	Homogénea
Nucléolos	No visible	Irregular, indentaciones	Regular redondo-oval
Citoplasma	Escaso	Visible	Evidente
Basofilia citoplasmática	Ligera a moderada	Variable	Moderado
Vacuolas citoplasmáticas	Variable	Abundante	Abundante
		Variable	Intensa
			Prominente

Fuente: López, 2012, p.88

Tabla N° 2

Clasificación leucemias agudas según su origen B y T

Tipo de LAL	Anticuerpos monoclonales positivos
LAL-B pro B	CD79a y/o CD22 y/o CD19
LAL-B común	CD79a y/o CD22 y/o CD19, CD10 (CALLA)
LAL-B pre B	CD79a y/o CD22 y/o CD19, cadena μ citoplasmática
LAL-B madura	CD79a y/o CD22 y/o CD19, Inmunoglobulina de superficie
LAL-T pro-T	CD7 y CD3 citoplasmático
LAL pre-T	CD7 y CD3 citoplasmático y CD2 y/o CD5 y/o CD8
LAL-T tímico-cortical	CD1a
LAL-T madura	CD3 de superficie en ausencia de CD1a

Fuente: Otoño, 2014, p 428

2.3.2 LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA

La leucemia mieloide aguda (LMA) es el resultado de la alteración de un precursor hematopoyético precoz, caracterizado por una rápida expansión de blastos, provocando que den lugar a una progenie que no es capaz de diferenciarse pero continua proliferando de forma incontrolada, lo que trae como consecuencia la rápida acumulación de células mieloblastos en la médula ósea y sangre periférica. (Cáncer, 2011)

Algunas veces se propaga a otras partes del cuerpo, incluyendo los ganglios linfáticos, el hígado, el bazo y el sistema nervioso central (cerebro y médula espinal). A pesar de ser una enfermedad relativamente rara a nivel global, es responsable de aproximadamente el 1,2 % de las muertes por cáncer y se espera un aumento de su incidencia a medida que la población envejezca. (Daily, 2014)

A su vez, es importante conocer la clasificación de la leucemia mieloide aguda, explicada en la siguiente tabla:

Tabla N° 3
Clasificación FAB de leucemias mieloides agudas

CLASIFICACIÓN FAB-LMA	
TIPO	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS
M0	Leucemia Indiferenciada
M1	Leucemia mieloide con poca maduración
M2	Leucemia mieloide con maduración
M3	Leucemia promielocítica
M4	Leucemia mielomonocítica
M5	Leucemia monocítica
M6	Eritroleucemia
M7	Leucemia megacarioblástica

Fuente: López, 2012

2.4 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

La leucemia aguda es un trastorno heterogéneo por su variada presentación clínica, características morfológicas, inmunofenotípicas y citogenéticas. A medida que las células leucémicas se acumulan en la médula ósea y comienzan a desplazar a las productoras de las células hematopoyéticas normales, se establece un cuadro de insuficiencia medular caracterizado por la disminución en la producción de eritrocitos (anemia), leucocitos (leucopenia) y plaquetas (trombocitopenia). (Quero, 2012)

Estas características clínicas en el paciente con LA presenta signos y síntomas propios de la anemia, como el cansancio y una menor tolerancia al esfuerzo físico, palidez y la mayoría del tiempo somnolencia. La anemia, si no es controlada con rapidez, puede presentar palpitaciones (sensación desagradable del latido cardíaco), mareos, dolor en las pierna por insuficiente riego sanguíneo e insuficiencia respiratoria. (Quero, 2012)

A su vez, la escasez de leucocitos lleva a un debilitamiento del sistema inmunológico, haciendo más vulnerable al paciente frente a una gran mayoría de microorganismos patógenos y pueden por ello sufrir infecciones de todo tipo. (Polo, 2014)

Por otro lado, la disminución de plaquetas conduce a la aparición de hematomas en las extremidades tanto inferiores como superiores ocasionando en ciertos casos hemorragias en distintos puntos del organismo como las encías o la nariz. A veces, el déficit de plaquetas es tan grave que las hemorragias pueden surgir en órganos más vitales como son la retina, órganos digestivos, pulmones, cerebro, etc. En algunos tipos de leucemia aguda existen también trastornos de la coagulación que combinados con la trombopenia pueden incrementar notablemente el riesgo de estas hemorragias. (Polo, 2014)

2.5 DIAGNÓSTICO POR EL LABORATORIO CLÍNICO.

Como se ha mencionado, ciertos signos y síntomas pueden sugerir que una persona presente un cuadro leucémico; para ello, es necesario realizar una serie de exámenes orientativos para el médico, el cual realizará un historial clínico exhaustivo, incluyendo exámenes físicos y de laboratorio clínico.

Bajo ningún concepto, la morfología ha dejado de ser el estudio inicial fundamental

para el diagnóstico de leucemias agudas. El conteo del porcentaje de blastos y el estudio morfológico de las células constituyen uno de los pasos orientativos más importantes. La alteración en el conteo y en la morfología de las células facilitan, con mayor precisión, el diagnóstico de leucemia aguda en el paciente, como la investigación realizada por *Ricardo Amaru* en Bolivia donde estudió más de mil casos de niños con leucemia aguda durante un periodo de tiempo determinado, en el cual su metodología fue el análisis morfológico de médula ósea conjuntamente con el inmunofenotipo por citometría de flujo, así mismo el estudio realizado por la *Dra. Daily Pino* en el 2014 en Cuba ratifica la utilidad del análisis morfológico en muestra de médula ósea para la correcta interpretación y diagnóstico de leucemias agudas. (Amaru, 2012), (Pino, 2014)

Adicionalmente, se solicita un hemograma completo donde se cuantifica la cantidad de glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas que conjuntamente con el diferencial, indica el número de los diferentes tipos de glóbulos blancos. (Cáncer, 2011)

Para un diagnóstico completo de leucemia aguda, se requiere un estudio inmunofenotípico por citometría de flujo en donde se clasifica a las células por sus características fenotípicas, permitiendo así, identificar diferentes subpoblaciones celulares, incluso cuando están escasamente representadas. Este tipo de prueba es muy útil para determinar el tipo exacto de leucemia aguda en el paciente, el diagnóstico se lo realiza con mayor frecuencia en muestras de médula ósea, pero también se puede hacer con sangre periférica. (Juarez, 2012)

En la actualidad, la clasificación de las leucemias agudas involucra criterios de citoquímica, inmunología, citogenética y biología molecular. En particular, el inmunofenotipo representa una herramienta útil al permitir la detección de los distintos antígenos que identifican las diferentes líneas y etapas de maduración de las células hematopoyéticas. (Daily, 2014)

2.6 CITOMETRÍA DE FLUJO.

La citometría de flujo (CF) es una técnica de análisis celular que cuantifica las características inmunofenotípicas que poseen las células al pasar a través de un rayo de luz. Permite realizar un estudio celular multiparamétrico de forma rápida, sensible,

específica y es capaz de proporcionar información cuantitativa sobre cada célula en particular. Su utilidad clínica ha permitido a la CF encontrar un amplio campo de trabajo en áreas como la oncología, hematología, inmunología y la biología molecular. (Rendon, 2014)

Su metodología se basa en la recolección de señales que se producen como consecuencia del impacto de un rayo láser sobre las partículas que están suspendidas en un medio líquido, obteniendo así dos tipos de información, una originada por la dispersión de la luz y la segunda que se genera por la emisión de luz de los fluorocromos utilizados para marcar la célula. (Juarez, 2012)

Las características de las células que se generan por la difracción del rayo láser, nos muestran dos propiedades importantes de las partículas en estudio, como es el tamaño y la granularidad interna que son puestas en evidencia mediante detectores que analizan las señales de luz dispersada por las células en las distintas direcciones del espacio. A esto se le suma el reconocimiento de los antígenos propios de cada célula a partir de anticuerpos monoclonales específicos. Las señales luminosas detectadas se transforman en impulsos eléctricos que se amplifican y se convierten en señales digitales que son procesadas por una computadora. (Płoszyńska, 2012)

2.7 APLICACIÓN EN LA CLASIFICACIÓN DE LEUCEMIAS AGUDAS

Durante mucho tiempo, los criterios morfológicos y citoquímicos fueron la base para establecer el diagnóstico de LA, hoy en día, la citometría de flujo es el método de elección para la identificación y caracterización inmunofenotípica de las células leucémicas. (Mayela, 2014)

La CF fundamentalmente se basa en el análisis del patrón de expresión antigénica intracelular y de la superficie celular mediante el empleo de anticuerpos monoclonales que reconocen moléculas de membrana asociada al linaje y permiten la subtipificación de leucemias que derivan de precursores B, T y mieloides. Una gran ventaja es la posibilidad de medir tantos parámetros como anticuerpos hayan marcados con diferentes fluorocromos. Así, es posible caracterizar una célula por su morfología o por los antígenos de superficie que presenta. (Juarez, 2012) y (Daily, 2014)

A través del mencionado método inmunofenotípico, se pueden reconocer los antígenos presentes en la membrana celular, siendo estos específicos para diferentes poblaciones celulares. Los anticuerpos monoclonales, llamados CD, reconocen el mismo antígeno celular, por lo cual, se requiere un panel de anticuerpos para establecer el diagnóstico y diferenciar entre los distintos subtipos de leucemia aguda. (Ortuño, 2015)

La identificación de la población neoplásica es fundamental en el estudio del fenotipo leucémico. Para explicar mejor la aplicación de los CD en la clasificación y discriminación de las diferentes poblaciones celulares presentes en muestras leucémicas, se adjuntan las siguientes tablas:

Tabla N°4

Perfil inmunofenotípico para leucemia mieloide aguda

LMA	Inmunofenotipo	Inmunohistoquímica
M0	CD13+/-, CD33+/-, CD34, CD71+/-, HLDAR	MPO+/-SSB-
M1	CD13, CD15+/-, CD33, CD34, HLDAR	MPO+, SBB+
M2	CD13, CD33, CD34+/-, CD15 HLDAR	MPO+, SBB+
M3	CD13, CD33, HLDAR	MPO+, SBB+
M4	CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, HLDAR	MPO+, SBB+
M5	CD14+/-, CD13, CD33+/-, HLDAR	MPO+/-SSB+
M6	CD13, CD33, CD34+/-, CD15, CD71, CD42, CD41, CD61	MPO+, SBB+
M7	CD13+/-, CD34+/-, CD33, CD41, CD61, CD117, CD42	MPO-, SBB+
Abreviaturas: MPO: Mieloperoxidasa, SBB: Sudán negro		

Fuente: Ortuño 2014, p. 424

Las LLA de tipo B se caracterizan por la expresión de al menos tres de los marcadores más tempranos de línea B como son el CD19, CD22 y CD79a. En función a la

expresión de diversos marcadores del linaje B, se puede establecer 4 categorías explicadas en la siguiente tabla:

Tabla N°5

Perfil inmunofenotípico para leucemia linfocítica aguda tipo B

	citCD22	CD19	CD79a	CD34	CD10	TdT	sCD22	CD20	CD38	CD45
Pro-B (E-I)	+	±	+	+	-	+	±	-	++	±
Común (E-II)	+	+	+	±	++	+	+	±	+	±
Pre-B (E-III)	+	+	+	-	+	+	+	+	±	+
B maduras (E-IV)	+	±	+	-	±	±	±	+	±	+

Fuente: Ortuño 2014, p. 428

Para el estudio de las LLA de tipo T se las definen por la expresión, sea citoplasmática o de membrana, de los anticuerpos CD3 y CD7, siendo este último expresado en la totalidad de las LLA-T. Es importante destacar la baja frecuencia de positividad para CD34 y HLA-DR, particularmente en niños.

En función del grado de diferenciación tímica se definen 4 subgrupos:

Tabla N°6

Perfil inmunofenotípico para leucemia linfocítica aguda tipo T

	citCD3	sCD3	CD7	CD1a	TdT*	CD2	CD5	CD4/CD8
Pro-T (E-I)	+	-	+	-	+0 ±	-	-	-/+
Pre-T (E-II)	+	±	+	-	+0 ±	+	+	-/0 +/+
T cortical (E-III)	+	+	+	+	±	+	+	±/±
T maduras (E-IV)	+	+	+	-	±0-	+	+	+/- 0 -/+

Fuente: Ortuño 2014, p. 428

La disponibilidad de reactivos y la conjugación de marcadores fluorescentes con anticuerpos monoclonales, han permitido estudiar la densidad y características en la superficie y en el citoplasma celular e identificar subpoblaciones celulares favoreciendo la aplicación de este método en el diagnóstico, clasificación y valoración en pacientes con diversos tipos de leucemia aguda. (Ortuño, 2015)

Es fundamental la caracterización de los blastos para definir y clasificar el tipo de leucemia. La citometría de flujo al identificar el fenotipo de las células blásticas y en asociación con la morfología, la citoquímica y la biología molecular, se ha convertido en procedimientos indispensables para poder clasificar adecuadamente la leucemia aguda, procedimientos de los cuales, depende el tratamiento que instaurará el hematólogo y uno de los factores pronósticos de la enfermedad.

2.8 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS POR EL LABORATORIO CLÍNICO

En el laboratorio clínico, es de suma importancia la interpretación que se realiza al obtener un resultado generado por el equipo, adicionalmente, el tener un amplio conocimiento de los patrones fenotípicos de la hematopoyesis normal, ha dado los elementos necesarios para poder reconocer aquellos patrones que se encuentran alterados, característica que se presenta principalmente en las leucemias agudas. (Ortuño, 2015)

La citometría de flujo mide diferentes parámetros en una célula (nucleares, citoplasmáticos, de superficie y extracelulares), la combinación de anticuerpos conjugados a distintos fluorocromos ha posibilitado la determinación de características particulares de las diferentes líneas celulares, especialmente a partir de evaluar la presencia, ausencia o variaciones en la intensidad de la expresión de determinados antígenos. También ha contribuido en el diagnóstico, clasificación, pronóstico y seguimiento de las patologías oncohematológicas. (Płoszyńska, 2012)

La técnica presenta un sistema óptico que utiliza la luz del láser para medir las características celulares suspendidas en una solución isotónica. El equipo es capaz de medir el tamaño, granularidad, complejidad interna y la expresión de proteínas de superficie que identifica en cada una de las partículas.

Estas mediciones se efectúan por detectores específicos colocados en diferentes lugares del equipo que son capaces de medir la desviación de la luz del láser, la misma que está en función del tamaño y la granularidad de las células. El análisis de la presencia de

proteínas de superficie es determinado por la colocación de anticuerpos contra cada una de dichas proteínas marcadas con fluorocromos diferentes y si están presentes, producen emisión de fluorescencia que es detectada por detectores específicos. (Orfao, 2012)

De esta manera, los resultados son presentados a través de histogramas, los mismos que grafican la posición de las células en el FSC (Forward Scatter, mide el tamaño celular) versus el SSC (Side Scatter, mide la granularidad celular), de esta forma las células con o sin granularidad y en función a los diferentes tamaños van siendo ubicadas en diferentes posiciones del histograma. (Orfao, 2012)

Por otro lado, la fluorescencia es medida en histogramas separados que por lo general se confrontan dos o tres proteínas de superficie diferentes y de igual manera, de acuerdo a la presencia o ausencia de fluorescencia, las células van ubicándose en posiciones donde, no se detecta fluorescencia, se detecta fluorescencia para uno o se detecta fluorescencia para dos de los anticuerpos que se están investigando. (Orfao, 2012)

Asimismo, se expresa la granularidad, el tamaño y la presencia o no de antígenos de superficie de las diferentes células estudiadas en histogramas que posteriormente son analizados estadísticamente mediante varios softwares específicos que nos dan una gran información acerca de sus características intrínsecas o extrínsecas de las células (Blanco, 2014)

2.9 MARCO CONCEPTUAL

Biometría hemática: Ciencia de los métodos estadísticos aplicada a la medición de la cantidad de todos los diferentes tipos de células específicamente sanguíneas. (Ortiz, 2014)

Blasto: Célula inmadura de la médula ósea que provienen de las *stem cells*, poseen un gran núcleo que puede contener uno o mas nucléolos. Tienen la capacidad de dividirse y forman según los marcadores de superficie que vaya expresando, la línea mieloide o linfoide. Normalmente no se observan en sangre periférica. (Blanco, 2014)

Cáncer: Conjunto de enfermedades donde las células anormales se multiplican sin control y pueden invadir los tejidos cercanos. Las células de cáncer también se pueden

diseminar hasta otras partes del cuerpo a través del torrente sanguíneo y el sistema linfático. (Rivadeneira, 2014)

CD: Antígeno marcador en la superficie celular que reacciona con los anticuerpos para la identificación de un tipo de célula, estadio de diferenciación celular y actividad de la misma. (Rivadeneira, 2014)

Citometría de flujo: Técnica de análisis celular que implica medir las características de dispersión de luz y fluorescencia que poseen las células conforme se las hace pasar a través de un rayo de luz. (Juárez, 2012)

Inmunofenotipificación: Método capaz de identificar aberraciones específicas en células tanto maduras como inmaduras de los diferentes linajes. (Rivadeneira, 2014)

Leucemia: Proliferación de las células hematopoyéticas anormales cuya acumulación progresiva se acompaña de una disminución en la producción de las células sanguíneas normales. (Cáncer, 2011)

Leucemia aguda: Alteración maligna de células hematopoyéticas anormales que se caracteriza por la rápida expansión de un estirpe celular determinado, cuya acumulación excesiva de blastos en la médula ósea genera una disminución en la producción de las líneas celulares normales (glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas). (Rivadeneira, 2014)

Leucemia linfoblástica aguda: Tipo de leucemia, de evolución rápida donde se encuentran demasiados linfoblastos en la sangre y la médula ósea. También se llama leucemia linfocítica aguda y LLA. (Hernandez, 2012)

Leucemia mieloide aguda: Tipo de leucemia de progresión rápida donde se produce una expansión clonal de células de estirpe mieloide denominada blastos, cuyo origen radica en la transformación maligna de precursores hematopoyéticos. (Esteve, 2011)

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Tipo de estudio

El presente trabajo es un estudio descriptivo y retrospectivo de tipo transversal, ya que se efectúa en un período de tiempo específico, para determinar la prevalencia de los tipos de leucemia aguda en niños de 4 a 12 años, por medio de exámenes hematológicos e inmunofenotípicos. Las variables se miden una sola vez y se utilizarán los datos de pacientes que acudieron al laboratorio clínico-oncológico en los meses de enero a diciembre del año 2014 con diagnóstico presuntivo de leucemia aguda.

3.2 Tipo de muestra

La población de estudio son pacientes que acudieron al laboratorio por diagnóstico de posible leucemia aguda, en edades entre 4 a 12 años, en los meses de enero a diciembre del año 2014, para análisis en el área de Hematología de un laboratorio clínico-oncológico “Oncolab” del Distrito Metropolitano de Quito.

3.3 Tamaño de la muestra

El objetivo del presente estudio es determinar la frecuencia de leucemia aguda y sus tipos en los pacientes que acudieron al laboratorio “Oncolab” entre enero a diciembre del año 2014; en los registros de laboratorio para ese año se calcula con 137 pacientes que presentan las características de interés.

Conforme a lo anteriormente indicado, se decidió trabajar con la totalidad de los casos encontrados en el 2014 y con un muestreo no probabilístico, por conveniencia.

3.4 Criterios de inclusión

- Pacientes en edades comprendidas entre 4 y 12 años.
- Pacientes de sexo masculino y femenino
- Pacientes con posible diagnóstico de leucemia aguda que acudieron en los meses de enero a diciembre del 2014 al laboratorio clínico-oncológico “ONCOLAB”.

3.5 Criterios de exclusión

- Pacientes mayores de 12 años.
- Pacientes menores de 4 años.
- Pacientes con leucemia crónica.
- Datos incompletos en historia clínica del paciente

3.6 Operacionalización de variables

Variable principal: Leucemia aguda

Variables secundarias: Sexo, edad y lugar de procedencia

OPERACIONALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.

TABLA N°7: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

	Variable	Tipo de variable	Definición operacional	Dimensión /categorías	Unidad de medida	Indicador	Instrumento de medida
VARIABLE PRIMARIA	Edad	Cuantitativa	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo.	-	Años Cumplidos	Frecuencia absoluta	Registro de laboratorio
	Sexo	Cualitativa	Característica fenotípica del paciente	Masculino Femenino	Conteo	$\% \text{ mujeres} = \frac{\text{No. pacientes mujeres con LA}}{\text{Total de pacientes con LA}} \times 100$ $\% \text{ varones} = \frac{\text{No. pacientes varones LA}}{\text{Total de pacientes con LA}} \times 100$	Registro de laboratorio
	Lugar de procedencia	Cualitativa	Dato indicado por el paciente según la historia clínica	24 provincias del Ecuador	Conteo	$\frac{\text{No. pacientes con LA de cada provincia}}{\text{Total de pacientes con LA}} \times 100$	Registro de laboratorio
VARIABLES SECUNDARIAS	Leucemia aguda	Cualitativa	De acuerdo al diagnóstico por el laboratorio indicado en su historia clínica (tanto para tipo y subtipo) establecido por el examen en M.O (citometría de flujo, biometría hemática y microscopía)	LMA: M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7 LLA: LLA-T: T1, T2, T3, T4 LLA-B: B1, B2, B3, B4	Conteo	$\frac{\text{No. pacientes con un subtipo de LLA}}{\text{Total de pacientes con LLA}} \times 100$ $\frac{\text{No. pacientes con un subtipo de LMA}}{\text{Total de pacientes con LMA}} \times 100$ $\frac{\text{No. pacientes con LLA}}{\text{Total de pacientes con LA}} \times 100$ $\frac{\text{No. pacientes con LMA}}{\text{Total de pacientes con LA}} \times 100$	Registro de laboratorio

3.7 Procedimiento en el laboratorio clínico y control de calidad

Para el diagnóstico de leucemia aguda en niños menores de 12 años el laboratorio recibió la historia clínica del paciente detallada por el médico tratante, donde las manifestaciones clínicas como fiebre, anemia y hemorragias son factores claves para el análisis de la enfermedad y conjuntamente se receptó muestras biológicas para su posterior análisis microscópico, hematológico e inmunofenotípico.

La observación microscópica del frotis de médula ósea estuvo acompañado de los resultados de un hemograma completo que se realizó al paciente; para la realización de las biometrías hemáticas se utilizó el equipo Sysmex KX-21N, usando como control de calidad los niveles bajo, normal y alto representado en las gráficas (L-J) Levy-Jennings donde el dato de control de calidad es el resultado de un solo análisis (Anexo 2). En muchas ocasiones estos resultados pueden sugerir una leucemia pero usualmente la enfermedad no se diagnostica hasta que se analiza una muestra de médula ósea por citometría de flujo.

Para el examen inmunofenotípico la muestra de médula ósea fue preparada según los protocolos y procedimientos adecuados para la citometría de flujo del laboratorio e incorporando los paneles de CDs para el estudio de leucemias agudas. Se utilizó el equipo FACS calibur, usando como control de calidad los BD calibrite (ref: 349502), procedimiento que se realiza cada 25 pruebas finalizadas (Anexo 1). La calibración tiene como finalidad maximizar la resolución y establecer el ruido de fondo para descartarlo de los ensayos realizados, establecer un nivel base para la detección de fluorescencia, permitiendo la apropiada discriminación de poblaciones positivas y negativas con la menor interferencia. (Biosciences, 2014)

En cuanto al mantenimiento del equipo, las partes del citómetro que estuvieron en contacto con material biológico, fueron descontaminadas por cada tecnólogo con los agentes desinfectantes apropiados, lavando 5 minutos con Facslean (cloro) y 5 minutos con agua desionizada, midiendo así la respuesta del detector en FSC que debe estar en voltaje E00.

3.8 Recolección de la información

Los datos de interés para este estudio se recolectaron de las historias clínicas archivadas en los registros de laboratorio, en los que conste además del resultado por el laboratorio, los datos sociodemográficos de los pacientes. Para el análisis de la información los datos se recopilaron en una hoja electrónica (Microsoft Excel versión 14).

3.9 Documento de confidencialidad

Para la realización de ésta investigación los datos fueron tomados sin información que afecte al paciente ni revelando información o identificación personal la cual es detallada en el Anexo 3.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS

4.1 Descripción de la población en estudio

Un total de 137 pacientes acudieron al laboratorio con diagnóstico de posible leucemia aguda en edades comprendidas entre 4 a 12 años en el periodo comprendido entre enero a diciembre del 2014 en el laboratorio clínico Oncolab-Quito.

Se obtuvo un total de 102 pacientes con leucemia aguda y 35 pacientes sin leucemia aguda. (Tabla 8)

TABLA 8. *Frecuencia de leucemia aguda disgregada por género*

	N	%	Pacientes sin leucemia aguda	Pacientes con leucemia aguda
N	137			
Género				
Femenino	54	39%	12	42
Masculino	83	61%	23	60
TOTAL	137		35	102

Fuente: Base de datos
Elaborado por: María José Ruiz.

4.1.2 Distribución de subtipos de Leucemia Aguda en la población estudiada

A los 102 pacientes con diagnóstico de leucemia aguda se los clasificó dependiendo el tipo de leucemia que presentan, obteniendo así 99 (97,05%) pacientes con leucemia linfoblástica aguda y 3 (2,94%) pacientes con leucemia mieloblástica aguda. (Tabla 9)

TABLA 9. *Distribución de tipos y subtipos de LA en la población estudiada entre enero y diciembre del 2014 en Oncolab*

LEUCEMIA AGUDA						
SUBTIPO/TIPO		N	%	SUBTIPO/TIPO		%
LLA-B	PRO B	24	24.24	M0	-	
	B COMUN	71	71.71	M1	-	
	PRE B	-		M2	2	66.66
LLA-T	PRE T	4	4.04	M3	-	
	PRO T	-		M4	1	33.33
	CORTICAL	-		M5	-	
	MADURA	-		M6	-	
				M7	-	
TOTAL		99	100		3	100

Fuente: Base de datos

Elaborado por: María José Ruiz.

Se obtuvieron 99 pacientes con leucemia linfoblástica aguda donde es notable un alto número de pacientes con LLA-B común siendo 71 pacientes pertenecientes a este subtipo (71,71%), como segundo subtipo predominante se encuentra el Pro-B con 24 pacientes (24,24%) y por último el PRE-T con 4 pacientes (4,04%). (Tabla 10)

En la leucemia mieloblástica aguda existe una notable diferencia en cuanto al número de pacientes diagnosticados, siendo su valor de 3 pacientes atendidos en el laboratorio, de los cuales 2 pacientes pertenecen al grupo M2 (66,66%) y solo 1 paciente pertenece al grupo M4 (33,33%). (Tabla 10)

4.1.3 Distribución de los subtipos de LLA según edad y sexo

Las leucemias agudas pediátricas se presentaron en edades entre 4 a 12 años con picos en los 4-6 años con un 16,16% y 39,99% en las linfoblásticas y con 66,6% y 33,3% en la mieloblásticas respectivamente. En relación con la distribución de sexo en la LLA se observó que 59 pacientes (59,6%) eran masculinos y 40 pacientes (40,4%) eran femeninos. Por otra parte, en la LMA, se presentaron 2 mujeres (66,6%) y 1 hombre (33,3%).

TABLA 10. Distribución de los subtipos de LLA según edad y sexo en la población que acudió a Oncolab entre enero a diciembre del 2014

LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA

TIPO	SUBTIPO	N	EDAD			SEXO		N
			4 - 6	7 - 9	10 - 12	M	F	
LLA-B	PRO B	24	16	7	1	15	9	24
	B COMUN	71	39	23	9	41	30	71
LLA-T	PRE T	4	3	1	-	3	1	4
TOTAL			58	31	10	59	40	99

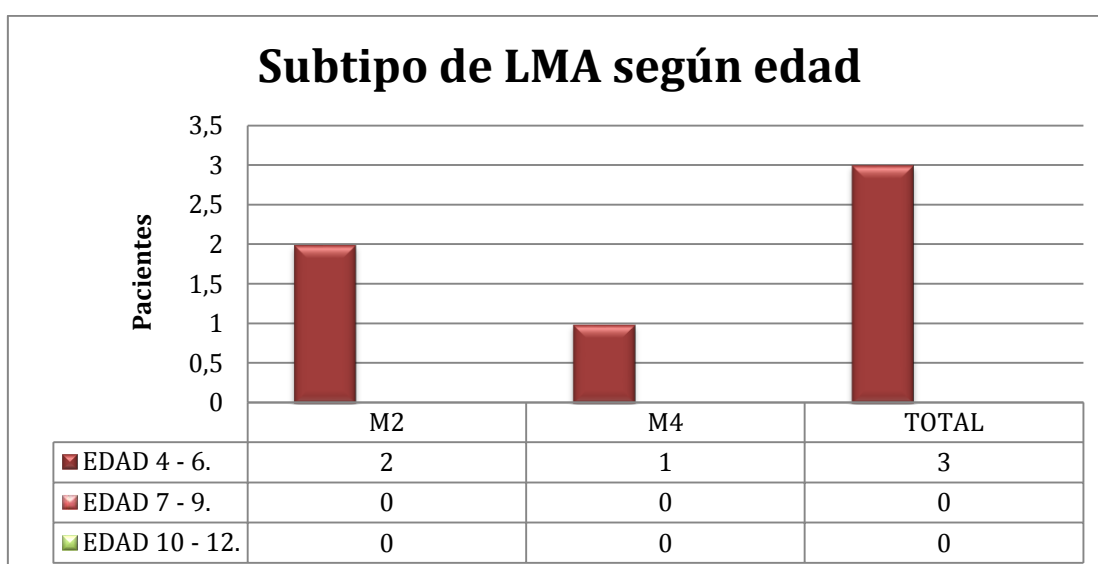
Fuente: Base de datos

Elaborado por: María José Ruiz.

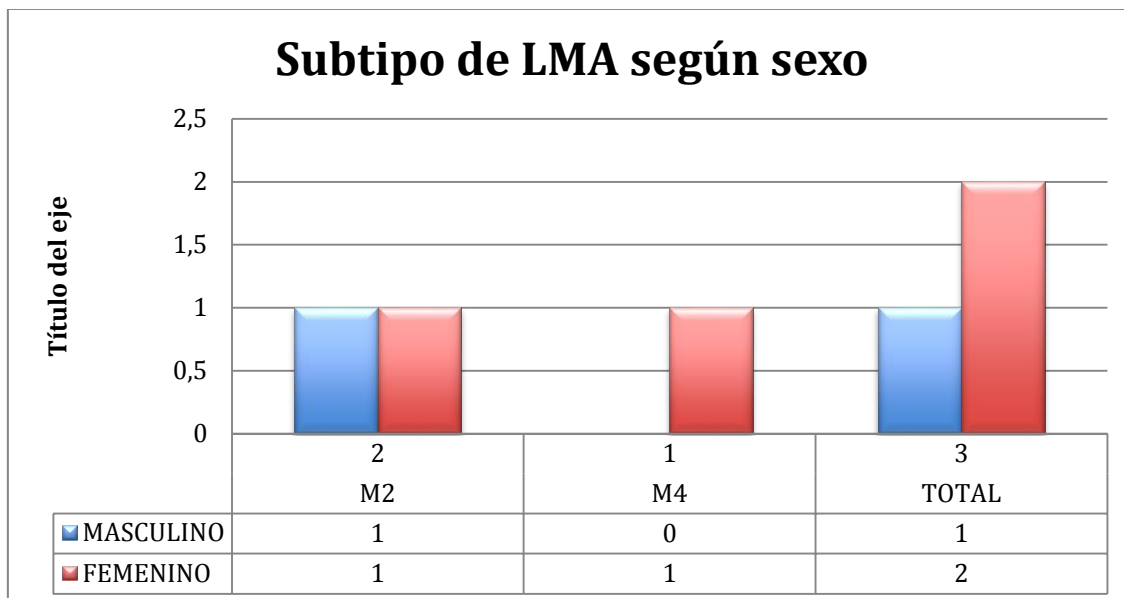
4.1.4 Distribución de los subtipos de LMA según edad y sexo

En la LMA, el mayor número de casos se presentó en las edades comprendidas entre los 4-6 años con un total de 3 pacientes. En el subtipo LMA-M2 se observó 2 casos y el LMA-M4 presentó 1 caso. (Gráfico 1 y 2)

GRÁFICA 1. Subtipos de LMA por edad en la población que acudió a Oncolab en enero a diciembre del 2014



GRÁFICA 2. *Subtipos de LMA por género en la población que acudió a Oncolab en enero a diciembre del 2014*

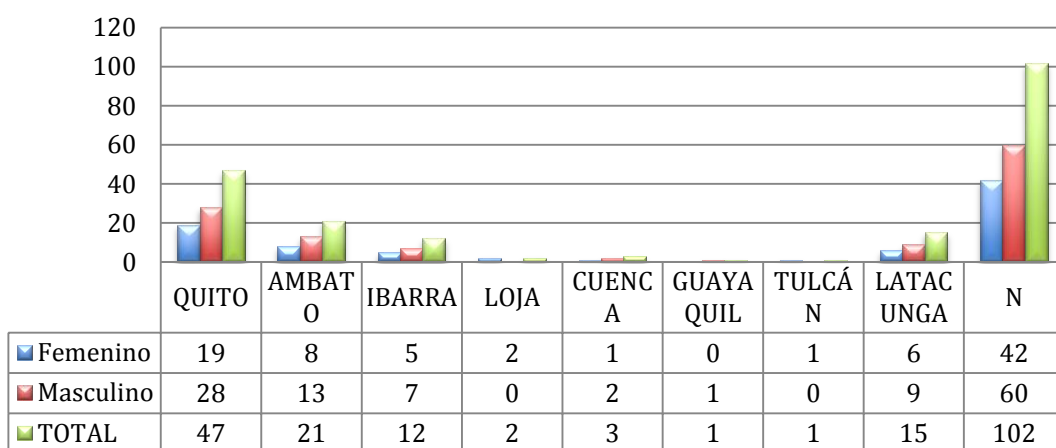


4.1.5 Distribución de los pacientes con LA según lugar de procedencia

De acuerdo al lugar de procedencia, el 46,07% de los pacientes pertenecen a la ciudad de Quito, lo que se explica debido a la localización del laboratorio en esta ciudad, siguen en orden la ciudad de Ambato con 20,58%, Latacunga con 14,70% e Ibarra con 11,76%, considerando que estas provincias son las más cercanas a la capital. (Gráfica 3)

GRÁFICA 3. *Pacientes con LA según lugar de procedencia de la población que acudió a Oncolab en enero a diciembre del 2014*

Pacientes con LA segun lugar de procedencia

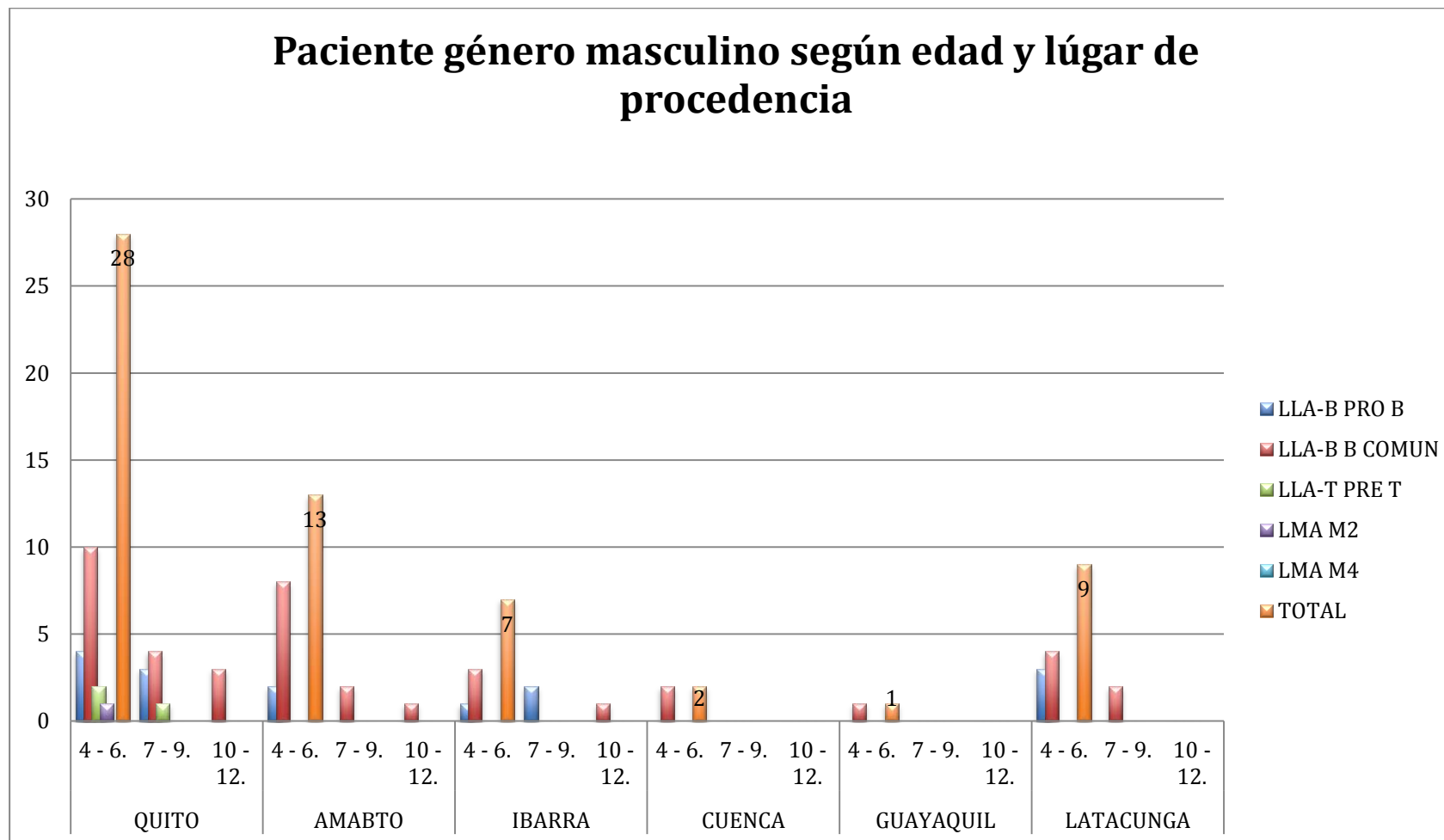


Correlacionando todos los datos obtenidos, es notable la diferencia en el número de pacientes entre LLA y LMA, siendo esa última de muy bajo porcentaje con un 2,94% a diferencia de la linfoblástica con un 97,05%; se puede apreciar claramente que el género masculino predominó en los pacientes con LA con un porcentaje del 58,82% en comparación con el femenino con un 41,17%, siendo a su vez la ciudad de Quito donde se presentó un mayor número de casos con un 46,07% de la población estudiada.

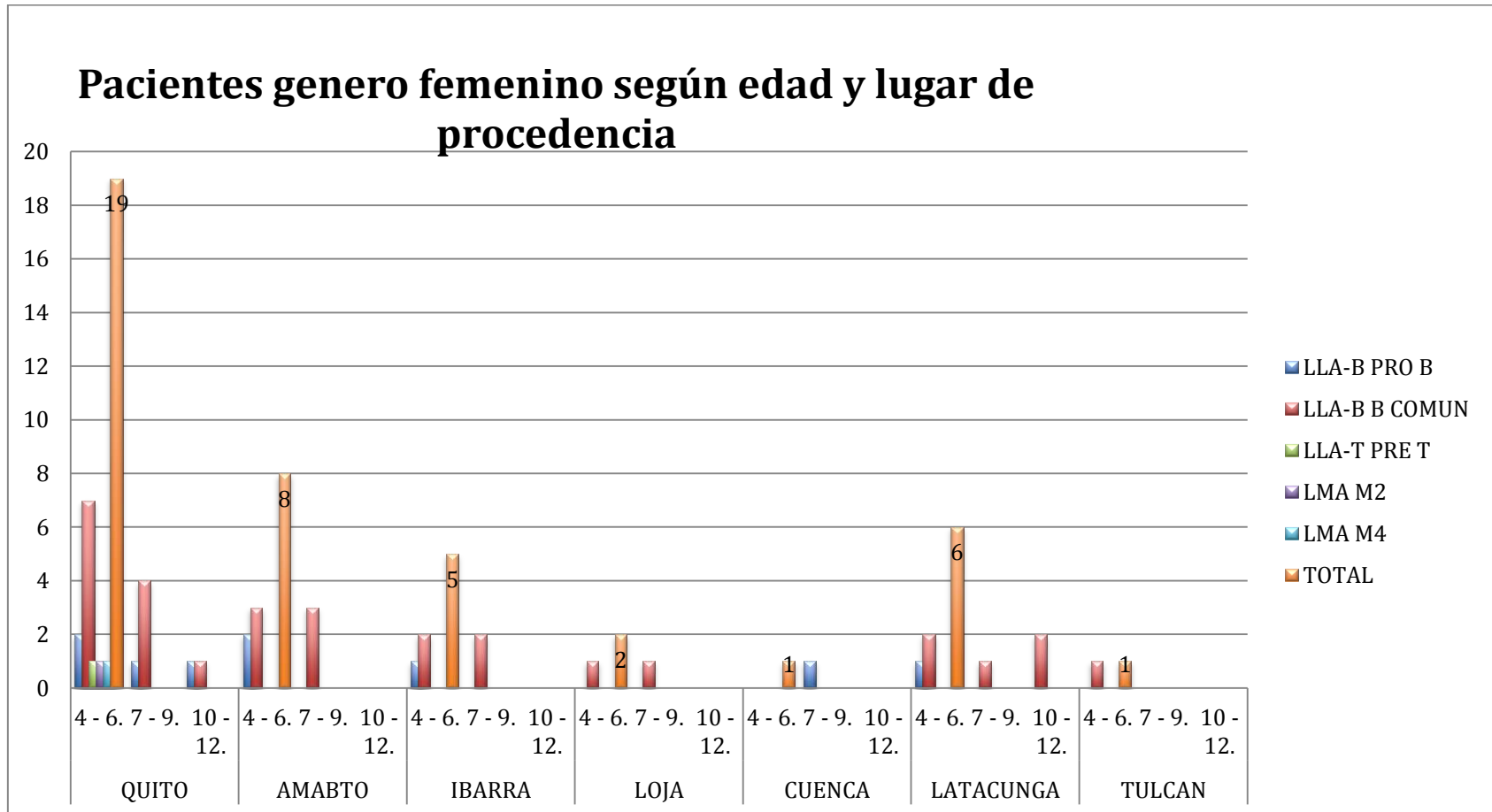
Por otro lado, se obtuvo 99 pacientes con LLA, siendo el subtipo más predominante la LLA-B común en ambos sexos con 71 pacientes equivalente al 69,60% de la totalidad de niños con leucemia aguda, siendo 41,41% hombres y 30,30% mujeres respectivamente. Dentro de la leucemia mieloide aguda predominó el subtipo M2 con 2 pacientes (1,96%) y la M4 con un solo paciente de un total de 3 casos reportados dentro de los 102 pacientes atendidos.

El rango de edad en el cual se presentó el mayor número de casos fue el comprendido entre los 4 y 6 años, con una totalidad de 61 pacientes reportando un porcentaje del 59,80% a diferencia del rango entre 10 y 12 años el cual mostró una baja cifra de 10 pacientes con un porcentaje del 9,80% para ambos sexos.

GRÁFICA 4. *Pacientes con LA del género masculino según subtipo, edad y lugar de procedencia que acudieron a Oncolab entre los meses de enero a diciembre del 2014*



GRÁFICA 5. *Pacientes con LA del género femenino según subtipo, edad y lugar de procedencia que acudieron a Oncolab entre los meses de enero a diciembre del 2014*



4.2 DISCUSIÓN

Las leucemias agudas son un tipo de cáncer de la médula ósea que afectan a menores de 15 años, caracterizadas por tener un curso rápido entre el tiempo de inicio de la enfermedad y el momento del diagnóstico. Este tipo de patología es el más común en la edad pediátrica, lo que representa un tercio de todas las neoplasias malignas. Las tasas de prevalencia aumentan a un máximo alrededor de los 4-6 años; más de 1200 niños son diagnosticados en España y Estados Unidos cada año y cerca de 9600 mueren en el mismo período de tiempo debido a esta enfermedad a nivel mundial. (Peña, 2014)

En el presente estudio se encontró una marcada diferencia en el número de casos entre leucemia linfocítica aguda y leucemia mieloide aguda, detectándose 99 casos de *LLA* (97,05%) y 3 casos de *LMA* (2,94%), similar a los datos obtenidos por el *Dr. Julio Peña* en el 2014 en su estudio realizado en la ciudad de Bogotá-Colombia, el mismo que mostró cifras de 47 casos de *LLA* (90,4%) frente a 5 casos de *LMA* (9,6%); resultados similares se encontraron en la publicación realizada por la *Dra. Anyul Vera* en el 2012, quien encontró porcentajes del 75% para *LLA* y 25% para *LMA* respectivamente. el *Dr. Ricardo Amaru* en el 2012 reveló las cifras de su estudio realizado en La Paz-Bolivia con valores cercanos a los encontrados en la ciudad de Quito, siendo predominante la *LLA* con un 79% frente a la *LMA* con 21% ($n=896$ niños). (Peña, 2014), (Vera, 2012) y (Amaru, 2012).

Dentro de la investigación realizada, en el tipo de leucemia linfoblástica aguda la predominante fue la *LLA-B común* con un porcentaje del 71,71%, seguido de *Pro-B* con 24,24% y 4,04% del subtipo *T* (de un total de 99 pacientes), lo que coincide de manera relevante con el estudio realizado en Cuba por la *Dra. Vianed Marsán* en el 2012, en el que, de igual manera, sobresale dicho subtipo de *LLA* con un 86,7% de los pacientes pediátricos enfermos con *B común* y 3,3% pertenecieron al subtipo *pro-B* y *T* respectivamente; concordando así con la investigación realizada en la ciudad de México cuyos valores se muestran similares a los nuestros, obteniéndose porcentajes del 83% para *LLA-B común*, 1,8% *Pre-B* y 6,4% *LLA-T*. (Marsán-Suárez, 2012) y (Quero, 2012)

Por otro lado, en la leucemia mieloide aguda la más prevalente fue la *M2* con 1,96% seguido de la *M4* con un solo caso (*de un total de 102 individuos*) igualando al estudio presentado por *Santoyo-Sánchez et al.* donde los dos subtipos *M4* y *M2* fueron los más relevantes con un 14,5% y 11,9% respectivamente (*de un total de 833 individuos*). Una investigación publicada en el Journal de Hematología de la Habana-Cuba (2014) marcó una diferencia considerable, en la que se demostró que las variantes *M4* y *M7* predominaron en los niños (30,4% y 28,6% respectivamente). (Santoyo, 2013) y (Daily, 2014)

En cuanto al género de los pacientes pediátricos, el sexo masculino se presenta con mayor prevalencia con respecto al femenino para la población estudiada, dato que coincide con estudios realizados en poblaciones de tipo latinoamericanas (Marsán-Suárez, 2012), (Quero, 2012), (Santoyo, 2013) y (Peña, 2014). En la presente investigación no hubo marcada diferencia, mostrando la distribución del género en la *LLA* con 59 (57,84%) individuos de género masculino y 40 (39,21%) individuos del género femenino. Por otra parte, en la *LMA*, se encontraron únicamente un hombre y dos mujeres. A pesar que la mayoría de estudios concuerdan con la marcada prevalencia del sexo masculino, se desconoce si existe una razón biológica que justifique dicha distribución.

Con respecto al rango de edad con mayor prevalencia en los pacientes con leucemia, datos bibliográficos del registro Hospitalario de Tumores, SOLCA-Quito (2014) presenta valores del 43,84% que corresponden a las edades comprendidas entre 2 y 6 años, rango similar que reporta el presente estudio, cuya edad más frecuente estuvo comprendida en el intervalo entre 4 y 6 años con 61 casos (59.80%) sobretodo en la leucemia linfoblástica aguda, con una diferencia moderada en relación con el rango de edad entre 7-9 años con 31 casos (30,39%), los mismos que coinciden con los descritos en la bibliografía. (Amaru, 2012), (Peña, 2014), (Cueva,2014) y (Quero, 2012)

De acuerdo a los datos recolectados podemos observar que la ciudad con mayor frecuencia de leucemia aguda es Quito con 47 casos que corresponden al 46,07%, seguido de Ambato con 21 casos (20,58%), Latacunga con 15 casos (14,70%) y finalmente Ibarra con 12 casos (11,76%); resultados que engloban a la mayoría de pacientes de las ciudades principales del país, puesto que estudios recientes

realizados, por ejemplo en SOLCA-Cuenca, donde se cuenta con 251 casos que corresponden al 55.41% en la provincia del Azuay, seguido de Machala con 104 casos que representan 22.96% y Azogues con 42 casos que corresponden al 9.27%, no pueden ser del todo relacionados debido a que dichos porcentajes se encuentran asociados a la localización del hospital y/o laboratorio donde se realizó el estudio, y que los valores de los pacientes pediátricos con leucemia aguda demostrados en las distintas ciudades se basan principalmente en la cercanía al lugar principal de la investigación. (Cabrera, 2013)

4.3 CONCLUSIONES

- El número de pacientes con diagnóstico presuntivo de leucemia aguda en el período comprendido entre enero a diciembre del 2014 fue de 137 individuos, de los cuales 102 pacientes fueron diagnosticados con leucemia aguda pediátrica equivalente a un 74,45% de la población con leucemia aguda y a un 25,54% de la población sin leucemia aguda.
- La leucemia aguda que prevalece en la investigación es la leucemia linfoblástica aguda (LLA), presente en el 97,05% de los casos, a diferencia de la leucemia mieloblástica aguda (LMA) representada con un 2,94% para la población antes mencionada.
- El subtipo de LLA-B común se manifestó en el mayor número de casos para ambos géneros con el 69,60% del total de los pacientes con leucemia aguda; por otro lado, en la LMA, el subtipo M2 fue el más prevalente con un porcentaje del 1,96%, lo cual no implica una tendencia, ya que sólo fueron encontrados 3 pacientes con dicha patología.
- En la investigación, el rango de edad encontrado con mayor frecuencia estuvo comprendido entre 4 a 6 años obtenido en 61 pacientes que presentaron leucemia aguda (59,80%).
- Relacionando con el género, en las leucemias agudas se encontró mayor relevancia en los hombres con un 58,82% (60 casos), que en las mujeres con un 41,17% (42 casos).
- De acuerdo al lugar de procedencia para el presente estudio la población más afectada corresponde a la que reside en la ciudad de Quito con el 46,07% (47 casos);

sin embargo, es interesante encontrar que las ciudades cercanas a la capital presentan un alto porcentaje de pacientes diagnosticados con leucemia aguda

4.4 RECOMENDACIONES

- Establecer un protocolo apoyado por el MSP para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con leucemia aguda el cual este constituido por un amplio y completo panel de CDs, para una mejor diferenciación de los tipos y subtipos de LA.
- Realizar programas con formatos estadísticos actualizados sobre la prevalencia de este tipo de cáncer que no se limite sólo en la infancia, para así tener a la mano mayor información y promover futuras investigaciones teniendo una basa de datos completa que facilite al investigador.
- Considero que el presente estudio sea tomado como una guía para la realización de nuevas investigaciones sobre este tipo de cáncer el cual presenta gran prevalencia en nuestros medios y ha cobrado la vida de muchos pacientes.

4 BIBLIOGRAFÍA

- Andrade, R. (2010). *Perfiles inmunofenotipicos por citometria de flujo*. Obtenido de <http://www.bdigital.unal.edu.co/2515/1/597608.2010.pdf>
- Amaru, R. (2012). *Epidemiología de las leucemias en bolivia: 1473 casos enero 1999 a mayo de 2012*. Obtenido de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-89582012000100003
- AS, G. (agosto de 2014). *Expression of CD25 is a specific and relatively sensitive marker for the Philadelphia chromosome (BCR-ABL1) translocation in pediatric B acute lymphoblastic leukemia*. Obtenido de PubMed: <file:///Users/majoruiz/Desktop/Plan%20leucemia/papers%20pubmed/CD25%20y%20relacion%20con%20T9-22%20en%20llab.webarchive>
- Beveridge, R. D. (2013). *Leucemias agudas y síndromes mielodisplásicos secundarios al tratamiento oncológico*. Obtenido de <http://scielo.isciii.es/pdf/ami/v20n5/revision.pdf>

- Biosciences, B. (2014). *A library of medicine*. Obtenido de <http://www.bdbiosciences.com/us/home>
- Blanco, D. D. (2014). *Caracterización inmunofenotípica de pacientes con leucemia mieloide aguda*. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-02892014000100005&script=sci_arttext
- Cabrera, E. (2011). *Incidencia y características del cancer infantil*. Obtenido de http://www.inec.gob.ec/estadisticas_sociales/Cam_Egre_Hos_2011/anuario.pdf
- Cáncer, s. a. (2011). Obtenido de Leucemias en niños: <http://www.cancer.org/espanol/cancer/leucemiaenninos/guiadetallada/leucemia-en-ninos-what-is-key-statistics>
- Casalta, D. F. (2010). *Influencia de los padres en el cumplimiento de la quimioterapia en niños con enfermedades hematológicas en el servicio de pediatría ii del complejo hospitalario universitario ruiz y páez*. Obtenido de <http://ri.bib.udo.edu.ve/bitstream/123456789/2193/1/10%20Tesis.%20WR9%20D278.pdf>
- Costales, D. J. (2010). *Utilidad del estudio molecular en el pronóstico de los pacientes pediátricos con leucemia*. Obtenido de <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/123456789/961/1/T-UCSG-POS-EGM-PE-12.pdf>
- Cueva, P. (2014). *Epidemiología del cáncer SOLCA-QUITO*. (D. Miño, Editor) Obtenido de http://issuu.com/solcaquito/docs/cancer_infantil
- Daily, P. (2014). *Caracterización inmunofenotípica de pacientes con leucemia mieloide aguda*. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/hih/v30n1/hih05114.pdf>
- DeGennaro, L. J. (2014). *Leucemia linfoblástica aguda*. Obtenido de http://www.ils.org/content/nationalcontent/resourcecenter/freededucationmaterials/spanish/pdf/sp_all.pdf
- Esteve, D. J. (2011). *Caracterización biológica de la leucemia mieloide aguda con translocación t(8;16)(p11;p31) y reordenamiento MYST3-CREBBP*. Obtenido de http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2220/01.MCG_INTRODUCCION.pdf

- Ge, F. (2014). *Immuno-phenotypes and prognosis of acute leukemia in elderly patients*. Obtenido de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4238529/pdf/ijcem0007-3714.pdf>
- Gonzales, M. (2014). *Cancer Infantil*. Obtenido de Instituto Nacional de Salud: <http://www.ins.gov.co/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Leucemias.pdf>
- Hernandez, C. (2012). *Leucemia linfoide aguda, diagnostico y tratamiento*. Obtenido de <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/hematologia/llaarreglado.pdf>
- Hurtado, R. (2012). *Leucemia para el médico general*. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2012/un122c.pdf>
- INEC. (2012). *INEC*. Obtenido de http://www.inec.gob.ec/estadisticas_sociales/Cam_Egre_Hos_2011/anuario.pdf
- Juarez, R. (2012). *Citometría de flujo en la evaluación de enfermedad mínima residual en leucemia linfoblástica aguda*. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/actpedmex/apm-2012/apm124g.pdf>
- Julio, P. (2014). *Complicaciones asociadas y análisis de supervivencia de niños con leucemias agudas tratados con el protocolo BFM-95*. Obtenido de Revista Unidad y Salud: <http://www.scielo.org.co/pdf/reus/v16n1/v16n1a02.pdf>
- Kohrt, H. E. (2011). *Leucemia mieloblástica aguda (lma): una guía para pacientes*. Obtenido de European Society for medical oncology: <https://www.esmo.org/content/download/6585/114899/file/ESMO-ACF-Leucemia-Mieloblastica-Aguda-LMA-Guia-para-Pacientes.pdf>
- Labardini, J. (Noviembre de 2013). *Leucemia Linfoblástica aguda*. Obtenido de <http://www.incan.org.mx/revistaincan/elementos/documentosPortada/1327325695.pdf>

- Leon, J. (2013). *Utilidad del estudio molecular en el pronóstico de los pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda diagnosticados en el hospital de solca*. Obtenido de <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream.pdf>
- Lopez, D. L. (2012). Obtenido de Leucemia linfoblástica aguda: http://sah.org.ar/docs/83-116.2A.SAH_GUIA2012_LeucemiaLinfoblásticaAg.pdf
- Marsán-Suárez, D. V. (2012). *Validación del ultramicrométodo inmunocitoquímico (UMICIQ) para el inmunofenotipaje de la leucemia linfocítica aguda pediátrica*. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/hih/v28n3/hih10312.pdf>
- Mayela, A. (2014). *Diagnóstico molecular y tratamiento de leucemias*. Obtenido de <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/609/art09.pdf>
- Mejía, R. (04 de febrero de 2014). *Cromosoma Filadelfia, causa de cáncer en adultos*. Obtenido de <http://www.saludymedicinas.com.mx/centros-de-salud/salud-femenina/articulos/cromosoma-filadelfia-causa-de-cancer-en-adultos.html>
- Merino, A. (2013). *Clasificación de las leucemias agudas mieloides*. Obtenido de <http://www.aefa.es/wp-content/uploads/2014/04/Clasificacion-de-las-leucemias-agudas-mieloides.pdf>
- Miño, C. P. (2010). *Análisis genético, molecular y citogenético de las leucemias*. Obtenido de <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/1002/1/T-SENESCYT-0208.pdf>
- MSP. (2013). *Centro de apoyo integral para niños y jóvenes con cáncer*. Obtenido de <http://www.salud.gob.ec>.
- Orfao, A. (2012). *La citometría de flujo en el diagnóstico clínico*. Obtenido de <http://ruc.udc.es/bitstream/2183/8581/1/CC-06art8ocr.pdf>
- Ortiz, A. d. (enero de 2014). *Manual de laboratorio clínico*. Obtenido de www.manuallaboratorioclinico.pdf
- Ortuño, F. (2015). *Aplicación de la citometría de flujo al diagnóstico y seguimiento inmunofenotípico de las leucemias agudas*. Obtenido de http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pid=13028549

ent_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=2&ty=59&accion=L&origen=zonadelectura&web=www.elsevier.es&lan=es&fichero=2v118n11a13028549pdf001.pdf

- Peña, J. A. (2014). *Complicaciones asociadas y análisis de supervivencia de niños con leucemias agudas tratados con el protocolo BFM-95*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/reus/v16n1/v16n1a02.pdf>
- Pino, D. D. (2014). *Caracterización inmunofenotípica de pacientes con leucemia mieloide aguda*. Obtenido de Revista Cubana de Hematología: <http://scielo.sld.cu/pdf/hih/v30n1/hih05114.pdf>
- Płoszyńska, A. (2012). *Cytometric evaluation of transferrin receptor 1 (CD71) in childhood acute lymphoblastic leukemia*. Obtenido de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22763969>
- Polo, A. M. (2014). *Características clínico-epidemiológico de los pacientes con leucemia aguda*. Obtenido de http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2014_I/Art3_Vol14_N1.pdf
- Quero-Hernández, A. (2012). *Características clínicas e inmunofenotípicas en un grupo de niños con leucemia aguda linfoblástica*. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/conapeme/pm-2012/pm124c.pdf>
- Quijano, S. M. (2013). *Correlación de la t(9;22), t(12;21) e hiperdiploidía de ADN con el inmunofenotipo y la tasa de proliferación de células B neoplásicas en niños con leucemia linfoblástica aguda de precursores B*. Obtenido de <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1441>
- R, D. R. (2015). *Analysis of clinical-biological features of adult acute lymphoblastic leukemia*. Obtenido de PubMed: <file:///Users/majoruiz/Desktop/Plan%20leucemia/papers%20pubmed/LA%20y%20tto.webarchive>
- Rendon, H. (2014). *Determinación cuantitativa de la enfermedad mínima residual por citometría de flujo en pacientes con leucemia aguda linfoblástica*. Obtenido de <http://apps.elsevier.es.pdf>

- Ribera, J.-M. (2007). *Leucemia linfoblástica aguda en adolescentes y adultos jóvenes*. Obtenido de http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet.pdf
- Riquelme, D. V. (2012). *Estudios de imágenes en el diagnóstico precoz de leucemia en pediatría* . Obtenido de <http://www.scielo.cl/pdf/rchradiol/v18n1/art06.pdf>
- Rivadeneira, D. J. (2014). *Instituto nacional de cancer*. Obtenido de <http://www.cancer.gov/diccionario>
- Roa, E. (2011). *Leucemia linfoblastica aguda con neutropenia febril en niños en el area de pediatria del hospital oncologico de SOLCA MANABÍ*. Obtenido de <http://repositorio.utm.edu.ec/pdf>
- Santoyo, A. (mayo de 2013). *Leucemias agudas, características clínicas y patrón estacional*. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2014/im142o.pdf>
- TV, N. (2015). *Bone Marrow Recovery by Morphometry during Induction Chemotherapy for Acute Lymphoblastic Leukemia in Children*. Obtenido de PubMed: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25962143>
- Vera, A. M. (2012). *Análisis de la mortalidad por leucemia aguda pediátrica en el Instituto Nacional de Cancerología*. Obtenido de <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/691/1549>
- Walter, J(2012). *La leucemia*. Obtenido de https://www.ils.org/content/nationalcontent/resourcecenter/freeeducationmaterials/spanish/pdf/sp_leukemia.pdf

ANEXOS

ANEXO 1

Especificaciones del equipo FACS.

DESCRIPCIÓN:

El FACS es un citómetro de flujo que puede medir simultáneamente Forward Scatter, Side Scatter y 4 fluorescencias usando obligatoriamente los dos láseres. (Láser refrigerado por aire, de Argón de 15 mw, operando a 488nm y Láser diodo 635nm). tiene capacidad de compensación entre láseres, podemos compensar una fluorescencia con la inmediatamente anterior y con la inmediatamente posterior.

ESPECIFICACIONES:

- Capaz de analizar hasta 4 colores diferentes y 8 parámetros (FSC, SSC, 4 colores, pulse processing y tiempo).
- Dos láseres, 1 Ar (488nm) y 1 solid state red diode laser (635nm). Velocidad de adquisición de hasta 2,000 eventos/seg.
- Use Cell Quest Pro como programa de adquisición y análisis, computadora Macintosh G4 JGH2 Quick Silver.
- Disco duro: 40GB.
- El FACS permite analizar muestras marcadas con los siguientes fluorocromos:
 - FL1: FICT 488
 - FL2: PE, PI
 - FL3: PE-Cy5, Per-CP, Per-CP 5.5
 - FL4: APC, APC cy7
- Espectros de absorción y emisión de fluorocromos

Product code	Description
349502	CALIBRITE BEADS (25 T) (IVD)
Components:	
91-0238	CALIBRITE UNSTAINED
91-0236	CALIBRITE FITC
91-0237	CALIBRITE PE

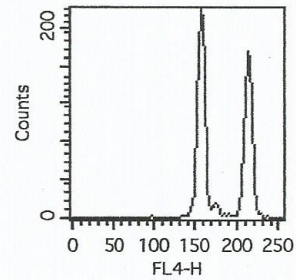
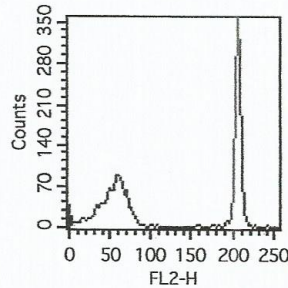
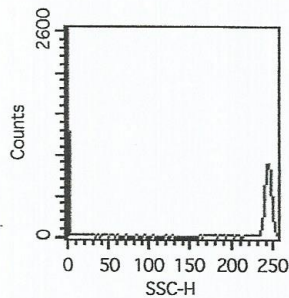
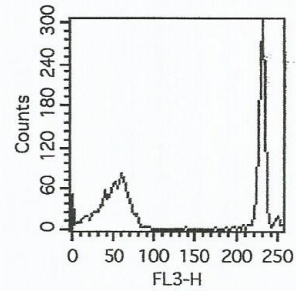
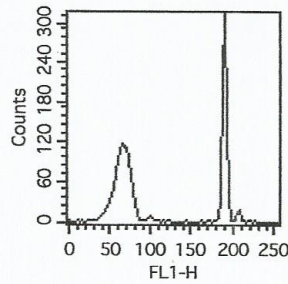
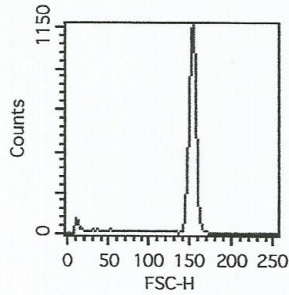
4- Color Lyse/Wash FACSCComp Report

Institution: ONCOLAB
Director:
Operator: LIC. DIANA ARMAS

Date: Thurs, January 2, 2014 8:30 am
Software: FACSCComp 5.2.1
Cytometer: FACSCalibur E0101

Parameter	High	Low	Separation	Minimum	Result	Lot ID
FSC	150	9	141	100	Pass	55122I
SCC	239	0	239	210	Pass	55122I
FL1	185	63	122	100	Pass	58784N
FL2	201	52	149	120	Pass	57373J
FL3	227	48	179	135	Pass	58524L
FL4	210	154	56	54	Pass	43400I

Parameter	Detector	Amplifier	Threshold	Blue Laser Current	7.80 Amps	
FSC	E00	2.00	52	Blue Laser Power	15.00 mWatts	
SCC	431	1.00				
FL1	659	Log				
FL2	802	Log				
FL3	804	Log				
FL4	763	Log				
Compensation	FL1-%FL2	FL2-%FL1	FL2-%FL3	FL3-%FL2	FL3-%FL4	FL4-%FL3
	2.7	19.7	0.0	18.2	2.8	7.0



Comments:

Time Dealy Calibration Passed

4- Color Lyse/Wash FACSComp Report

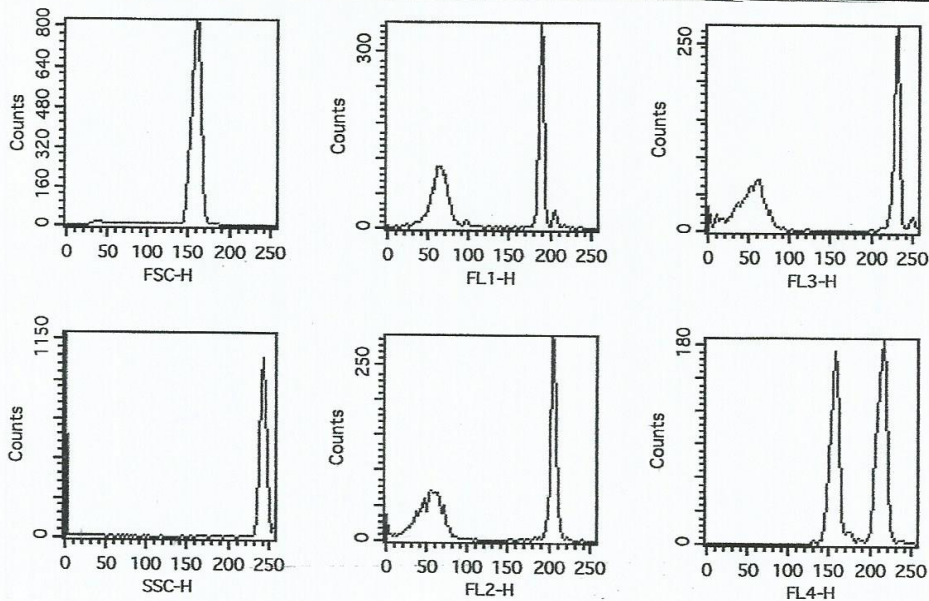
Institution: ONCOLAB
Director:
Operator: LIC. DIANA ARMAS

Date: Wed, March 26, 2014 8:13am
Software: FACSComp 5.2.1
Cytometer: FACSCalibur E0101

Parameter	High	Low	Separation	Minimum	Result	Lot ID
FSC	155	28	127	100	Pass	55122I
SCC	236	0	236	210	Pass	55122I
FL1	183	62	121	100	Pass	58784N
FL2	200	50	150	120	Pass	57373J
FL3	226	48	178	135	Pass	58524L
FL4	209	153	56	54	Pass	43400I

Parameter	Detector	Amplifier	Threshold	Blue Laser Current	8.10 Amps
FSC	E00	2.00	52	Blue Laser Power	15.15 mWatts
SCC	428	1.00			
FL1	662	Log			
FL2	802	Log			
FL3	810	Log			
FL4	759	Log			

Compensation	FL1-%FL2	FL2-%FL1	FL2-%FL3	FL3-%FL2	FL3-%FL4	FL4%FL3
	2.6	20.4	0.0	18.6	2.6	6.4



Comments:

Time Dealy Calibration Passed

4- Color Lyse/Wash FACSCComp Report

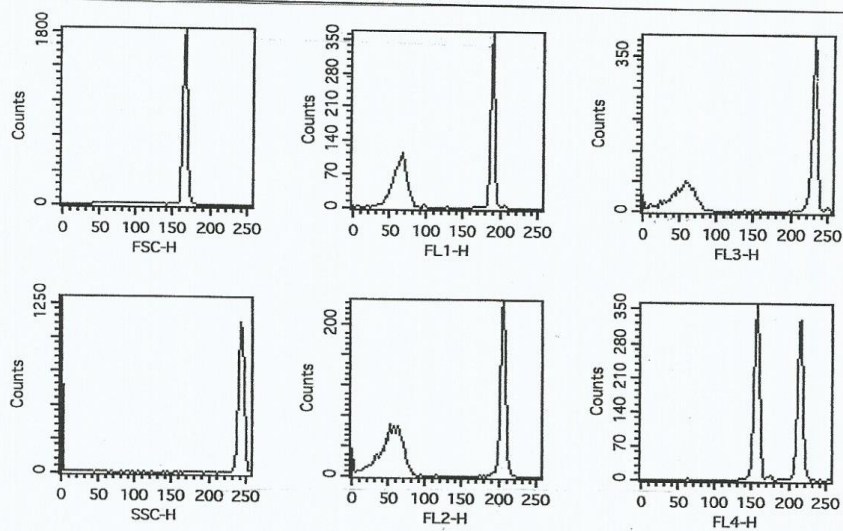
Institution: ONCOLAB
 Director:
 Operator: LIC. DIANA ARMAS

Date: Wed, Jun 11, 2014 8:21 am
 Software: FACSCComp 5.2.1
 Cytometer: FACSCalibur E0101

Parameter	High	Low	Separation	Minimum	Result	Lot ID
FSC	163	41	122	100	Pass	55122I
SCC	237	0	237	210	Pass	55122I
FL1	185	62	123	100	Pass	58784N
FL2	200	50	150	120	Pass	57373J
FL3	227	50	177	135	Pass	58524L
FL4	210	153	57	54	Pass	43400I

Parameter	Detector	Amplifier	Threshold	Blue Laser Current	7.94 Amps
FSC	E00	2.00	52	Blue Laser Power	14.90 mWatts
SCC	421	1.00			
FL1	656	Log			
FL2	803	Log			
FL3	803	Log			
FL4	741	Log			

Compensation	FL1-%FL2	FL2-%FL1	FL2-%FL3	FL3-%FL2	FL3-%FL4	FL4-%FL3
	2.5	19.9	0.0	18.3	2.4	5.1



Comments:

Time Dealy Calibration Passed

4- Color Lyse/Wash FACSCComp Report

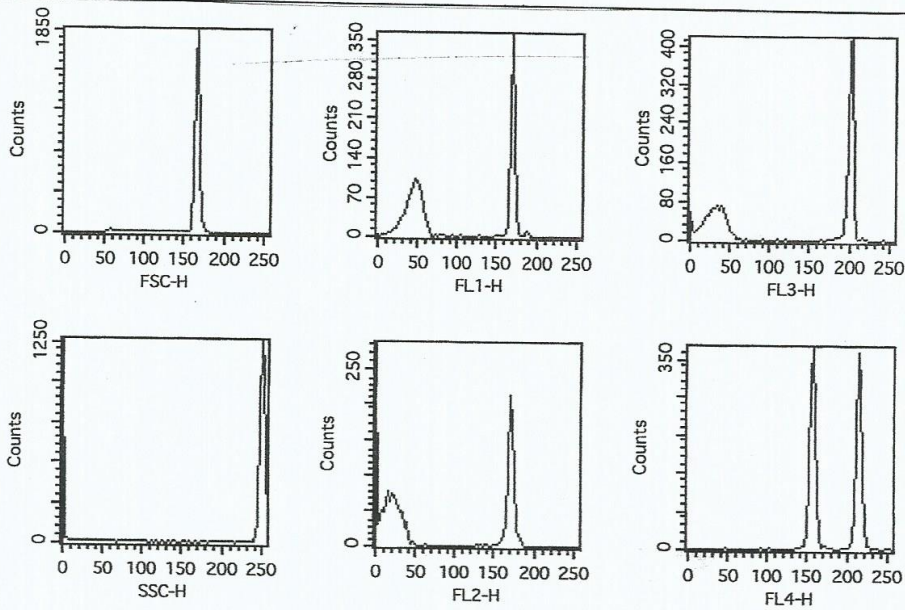
Institution: ONCOLAB
Director:
Operator: LIC. DIANA ARMAS

Date: Mon, Sept 15, 2014 7:47 am
Software: FACSCComp 5.2.1
Cytometer: FACSCalibur E0101

Parameter	High	Low	Separation	Minimum	Result	Lot ID
FSC	163	51	112	100	Pass	55122I
SCC	244	2	242	210	Pass	55122I
FL1	166	43	123	100	Pass	58784N
FL2	167	17	150	120	Pass	57373J
FL3	197	29	168	135	Pass	58524L
FL4	210	153	57	54	Pass	43400I

Parameter	Detector	Amplifier	Threshold	Blue Laser Current	8.08 Amps
FSC	E00	2.00	52	Blue Laser Power	15.00 mWatts
SCC	439	1.00			
FL1	601	Log			
FL2	681	Log			
FL3	691	Log			
FL4	741	Log			

Compensation	FL1-%FL2	FL2-%FL1	FL2-%FL3	FL3-%FL2	FL3-%FL4	FL4%FL3
	3.9	11.2	0.0	12.9	0.9	16.3



Comments:

Time Dealy Calibration Passed

4- Color Lyse/Wash FACSCComp Report

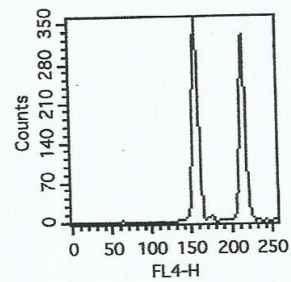
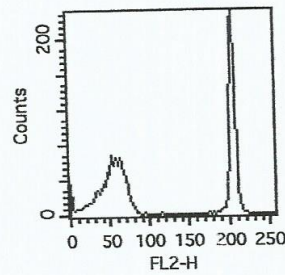
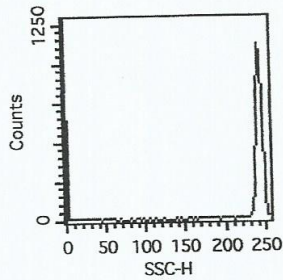
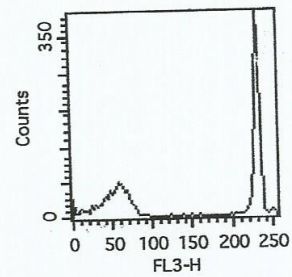
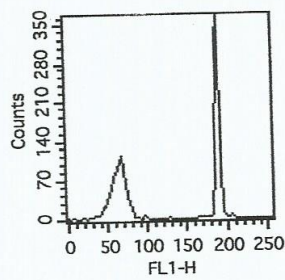
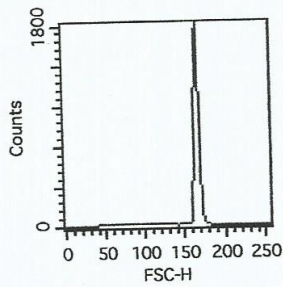
Institution: ONCOLAB
Director:
Operator: LIC. DIANA ARMAS

Date: Mon, Dec 08, 2014 7:47 am
Software: FACSCComp 5.2.1
Cytometer: FACSCalibur E0101

Parameter	High	Low	Separation	Minimum	Result	Lot ID
FSC	158	45	118	100	Pass	55122I
SCC	241	2	245	210	Pass	55122I
FL1	170	47	132	100	Pass	58784N
FL2	167	17	150	120	Pass	57373J
FL3	189	29	168	135	Pass	58524L
FL4	210	153	59	54	Pass	43400I

Parameter	Detector	Amplifier	Threshold	Blue Laser Current	8.00 Amps
FSC	E00	2.00	52	Blue Laser Power	15.10 mWatts
SCC	426	1.00			
FL1	610	Log			
FL2	678	Log			
FL3	688	Log			
FL4	743	Log			

Compensation	FL1-%FL2	FL2-%FL1	FL2-%FL3	FL3-%FL2	FL3-%FL4	FL4%FL3
	3.0	18.5	0.0	14.9	2.5	9.3



Comments:

Time Dealy Calibration Passed

ANEXO 2

EQUIPO KX-21 N

Especificaciones del equipo KX-21N

DESCRIPCIÓN:

El Sysmex KX-21N, es un analizador hematológico automatizado, con la más avanzada tecnología, capaz de dar resultados precisos y exactos.

En el KX-21N todos los componentes operativos están integrados en una sola unidad compacta como la neumática (420 mm de ancho, 355 mm de profundidad). Cumple con requisitos de producción de 18 parámetros más tres histogramas (PLT, glóbulos rojos, glóbulos blancos) en la operación en su conjunto el modo de sangre (8 parámetros en el modo de prediluido) a una velocidad de procesamiento de 60 muestras por hora. Volumen de muestra necesario en el modo de sangre total es de 50 ul, y en prediluido modo de 20ul.

ESPECIFICACIONES:

Parámetros: En modo de sangre total: 18 parámetros con diferencial de 3 partes. En modo prediluido: 8 parámetros que incluyen WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT

Histograma: WBC, RBC, PLT

Rendimiento: 60 muestras/hora (max.)

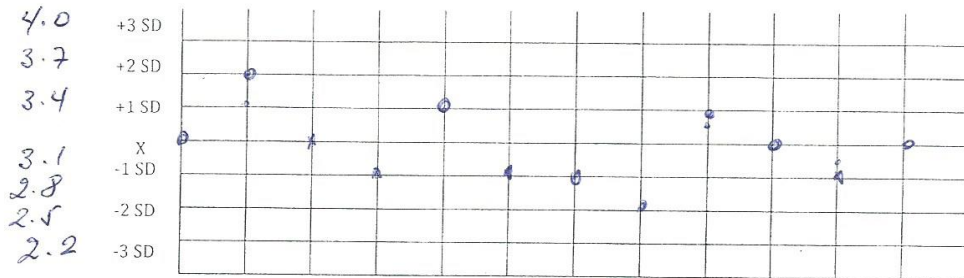
Volúmenes de muestra: En modo de sangre total: 50 ul. En modo prediluido: 20ul

Almacenamiento de datos: 300 resultados de muestras completas con histogramas

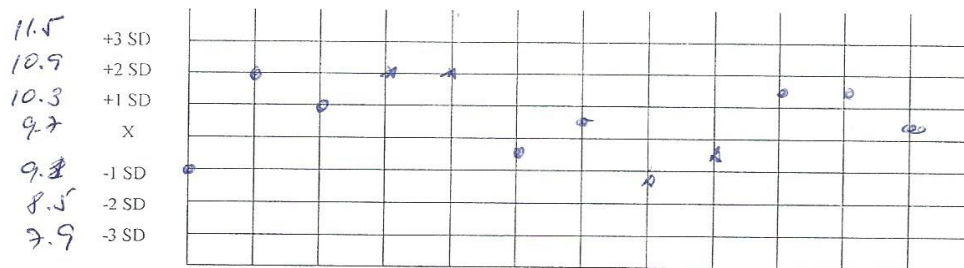
Dimensiones/Peso: 16.5 x 19 x 14/ 62 lbs (ancho x alto x dimensión) [pulgadas]

December / 2014

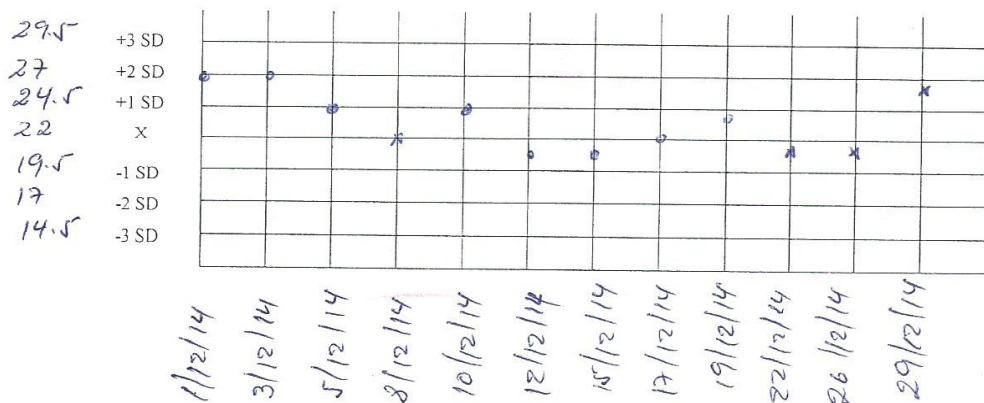
WBC
nivel bajo



nivel normal

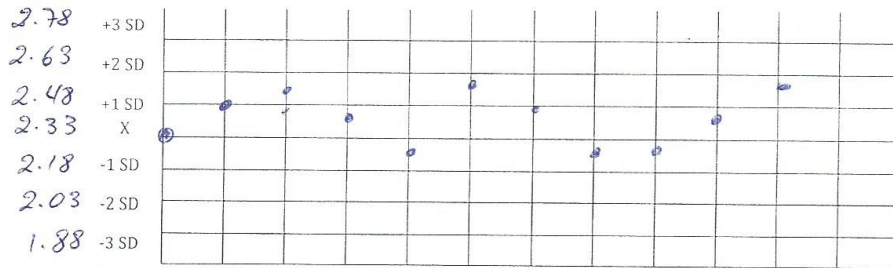


nivel alto

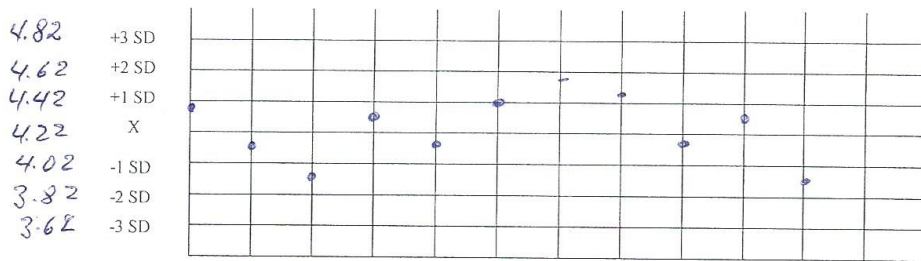


Diciembre/2014

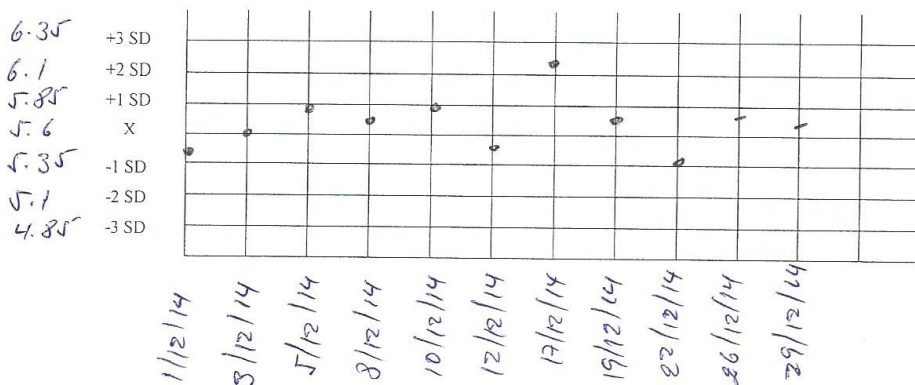
RBC
nivel bajo



nivel normal

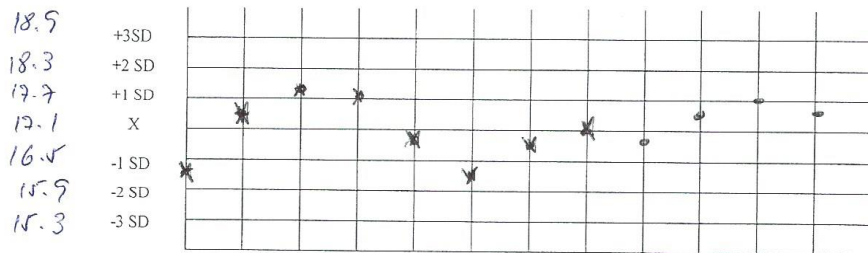
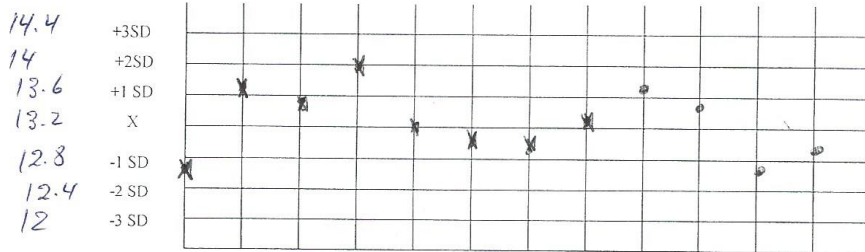
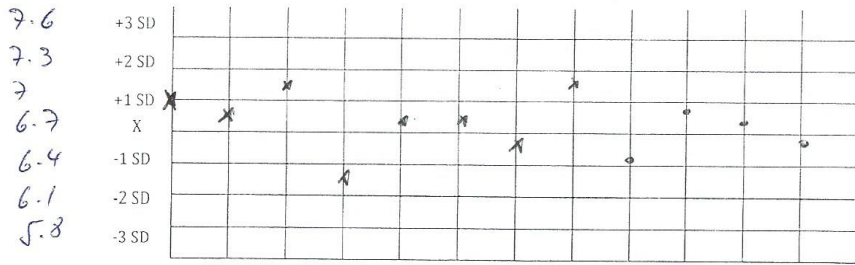


nivel alto



Dicembre/2014

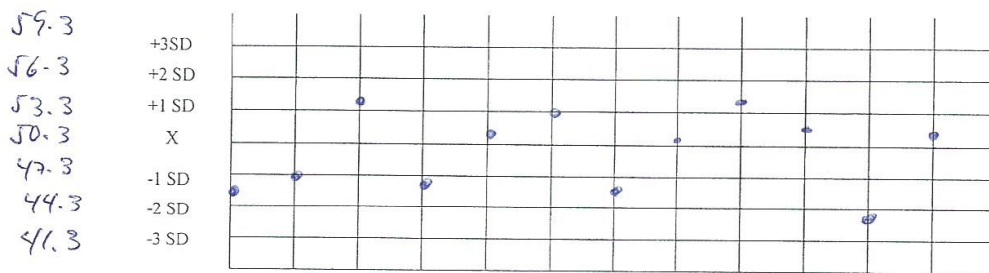
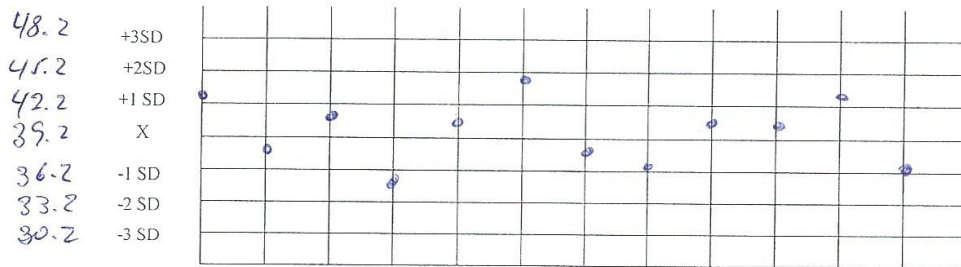
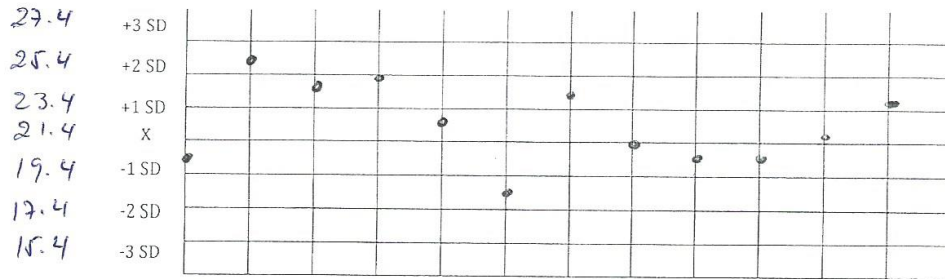
Hgb



1/12/14
3/12/14
5/12/14
8/12/14
10/12/14
12/12/14
15/12/14
17/12/14
19/12/14
22/12/14
26/12/14
29/12/14

Dicembre / 2014

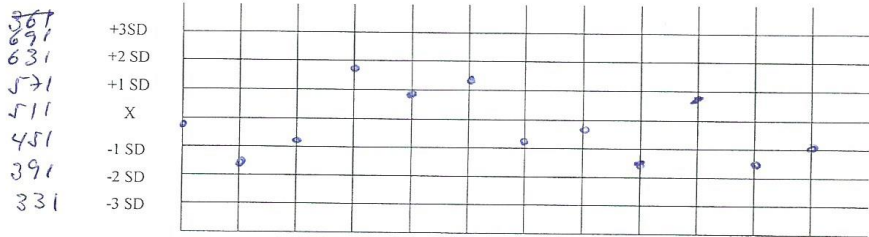
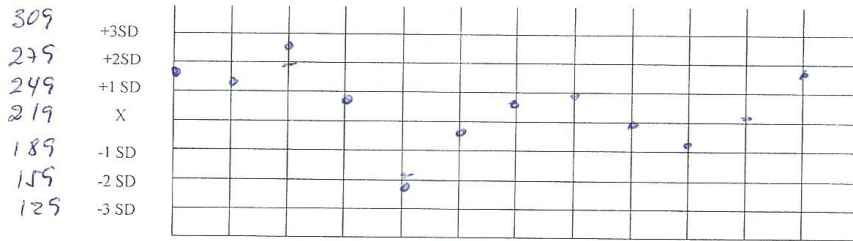
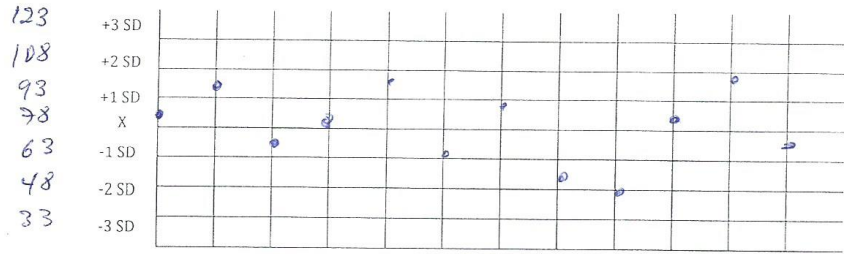
Hct



1/12/14 3/12/14 5/12/14 8/12/14 10/12/14 12/12/14 15/12/14 17/12/14 19/12/14 22/12/14 26/12/14 29/12/14

Decembre / 2014

PLT



1/12/14
3/12/14
5/12/14
8/12/14
10/12/14
12/12/14
15/12/14
17/12/14
19/12/14
22/12/14
26/12/14
29/12/14

ANEXO 3

Documento de Confidencialidad

Entre los suscritos a saber, por una parte **María José Ruiz**, mayor de edad y domiciliada en la ciudad de Quito, Provincia de Pichincha identificada como aparece *al pie de su respectiva firma*; se ha acordado celebrar el presente Acuerdo de Confidencialidad que se regirá por las siguientes cláusulas, previas las siguientes.

CONSIDERACIONES

1. La parte está interesada en recopilar resultados con leucemia aguda de pacientes que acudieron durante el año 2014 a la mencionada Institución.
2. Debido a la naturaleza del trabajo, se hace necesario que ésta maneje información confidencial y/o información sujeta a derechos de propiedad intelectual, antes, durante y en la etapa posterior.

CLÁUSULAS

PRIMERA. OBJETO. El objeto del presente acuerdo es fijar los términos y condiciones bajo los cuales la parte mantendrá la confidencialidad de los datos e información, patentes, técnicas, modelos, procesos, programas ejecutables e investigaciones.

SEGUNDA. CONFIDENCIALIDAD. La parte acuerda que cualquier información intercambiada, facilitada o creada en el transcurso del desarrollo de la disertación será mantenida en estricta confidencialidad. La parte receptora correspondiente sólo podrá revelar información confidencial a quienes la necesiten y estén autorizados previamente por la parte de cuya información confidencial se trata. Se considera también información confidencial: a) Aquella que como conjunto o por la configuración o estructuración exacta de sus componentes, no sea generalmente conocida entre los expertos en los campos correspondientes, b) La que no sea de fácil acceso, y c) Aquella información que no esté sujeta a medidas de protección razonables, de acuerdo con las circunstancias del caso, a fin de mantener su carácter confidencial.

TERCERA. EXCEPCIONES. No habrá deber alguno de confidencialidad en los siguientes casos: a) Cuando la parte receptora tenga evidencia de que conoce previamente la información recibida; b) Cuando la información recibida sea de dominio público y, c) Cuando la información deje de ser confidencial por ser revelada por el propietario.

CUARTA. DURACION. Este acuerdo regirá durante el tiempo que dure la realización de la disertación hasta un término de un año contado a partir de su fecha.

QUINTA. DERECHOS DE PROPIEDAD. Toda información intercambiada es de propiedad exclusiva de la parte de donde proceda. En consecuencia, ninguna de las partes utilizará información de la otra para su propio uso salvo únicamente para la realización de la disertación.

SEXTA. MODIFICACIÓN O TERMINACIÓN. Este acuerdo solo podrá ser modificado o darse por terminado con el consentimiento expreso por escrito de ambas partes.

SÉPTIMA. VALIDEZ Y PERFECCIONAMIENTO. El presente acuerdo requiere para su validez y perfeccionamiento la firma de la parte involucrada.

Para constancia, y en señal de aceptación, se firma el presente acuerdo en la ciudad de Quito a los (xx) días del mes de xx de dos mil quince (2015).

MARÍA JOSÉ RUIZ V.

CC: 1803077618