



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

CONCORDANCIA DEL ESTUDIO CITOGENÉTICO Y MOLECULAR POR PCR
CUALITATIVO EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA TIPO B DEL
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS. PERIODO 2010-2014

Línea de investigación:

Genética, bioquímica y biotecnología

Tesis para optar el título profesional de Licenciada en Biología

Autor:

Huarcaya Tirado, Esther Lourdes

Asesor:

Salas Asencios, Ramsés
(ORCID: 0000-0002-4075-1736)

Jurado:

Lizarraga Travaglini, Alfonso Diulio
Rodrigo Rojas, María Elena
Iannacone Oliver, José Alberto

Lima - Perú

2021

Referencia:

Huarcaya, E. (2021). *Concordancia del estudio citogenético y molecular por PCR cualitativo en pacientes con leucemia linfoblástica aguda tipo B del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Periodo 2010-2014* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/5577>



Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada (CC BY-NC-ND)

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede generar obras derivadas ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

CONCORDANCIA DEL ESTUDIO CITOGENÉTICO Y
MOLECULAR POR PCR CUALITATIVO EN PACIENTES
CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA TIPO B DEL
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES
NEOPLÁSICAS. PERIODO 2010-2014

Línea de investigación:
Genética, bioquímica y biotecnología

Tesis para optar el título profesional de Licenciada en Biología

Autor(a)

Huarcaya Tirado, Esther Lourdes

Asesor(a)

Salas Asencios, Ramsés
(ORCID: 0000-0002-4075-1736)

Jurado

Lizarraga Travaglini, Alfonso Diulio
Rodrigo Rojas, María Elena
Iannacone Oliver, José Alberto

Lima – Perú

2021

Dedicatoria

A mis padres, Esther e Ismael por todo el amor y apoyo incondicional.

En la memoria de mis abuelos: Gil, Gricelda y Damián, que son las estrellas que iluminan mi camino.

Agradecimientos

A mi maestro Mg. Ramsés Salas, por su asesoramiento y apoyo constante en todo este camino.

Al Blgo. José Ronceros del Rio, por su apoyo desmedido y crítica constructiva que me ayudaron a finalizar este trabajo.

A quienes me formaron en el área de citogenética, Biólogos de INEN: Yesica Llimpe, Gina Rosas, Rosarela Monteza, Pavel Rubio y Manuel Allcaco.

A todo el personal del departamento de archivos del INEN, que me facilitaron las historias clínicas.

A las Dras. Gioconda Manassero y Kelly Franco, así como a mis compañeros de trabajo del Servicio de Genética del Instituto Nacional de Salud del Niño de San Borja, que siempre me dieron su apoyo en este trayecto.

INDICE

INDICE	4
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
I. INTRODUCCIÓN	11
1.1. Descripción y formulación del problema	12
1.2. Antecedentes	13
1.3. Objetivos	15
1.3.1. Objetivo General	15
1.3.2. Objetivos específicos	15
1.4. Justificación	15
1.5. Hipótesis	16
II. MARCO TEÓRICO	17
2.1. Descripción de las leucemias	17
2.2. Tipos de leucemia	18
2.2.1. Leucemia Mieloide Aguda	18
2.2.2. Leucemia Linfoblástica Aguda	18
2.3. Pruebas genéticas de ayuda al diagnóstico de la LLA	27
2.3.1. Citogenética Convencional	27
2.3.2. Citogenética Molecular	29
2.3.3. Biología Molecular	30
2.3.4. Secuenciamiento de Nueva Generación (NGS)	32
III. MÉTODO	34
3.1. Tipo de Investigación	34
3.2. Ámbito temporal y espacial	34
3.3. Variables	34
3.4. Población y muestra	35
3.5. Instrumentos	35
3.6. Procedimientos	36
3.6.1. Datos del resultado del estudio citogenético: cariotipo en médula ósea.	36
3.6.2. Datos del resultado de biología molecular: panel molecular para LLA.	37
3.7. Análisis de datos	39
IV. RESULTADOS	42
4.1. Frecuencia de edades y sexo en los pacientes estudiados	42
4.2. Translocaciones cromosómicas y genes de fusión recurrentes en LLA-B.	44
4.3. Alteraciones cromosómicas acompañantes a las translocaciones estudiadas.	45

4.4	Otras alteraciones cromosómicas encontradas.	47
4.5	Evaluación de la concordancia mediante el Índice Kappa entre el estudio citogenético y el panel molecular.	48
V.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	51
5.1	Proporción de edad y sexo en pacientes con LLA.....	51
5.2	Translocaciones cromosómicas y genes de fusión recurrentes en LLA-B.	52
5.3	Alteraciones cromosómicas acompañantes a las translocaciones estudiadas.	54
5.4	Otras alteraciones cromosómicas encontradas.	56
5.5	Evaluación de la concordancia mediante el Índice kappa (k) entre el estudio citogenético y el panel molecular.	57
5.5.1	<i>t(9;22) / BCR-ABL</i>	57
5.5.2	<i>t(4;11) / MLL-AF4</i>	58
5.5.3	<i>t(1;19) / E2A-PBX1</i>	59
VI.	CONCLUSIONES	61
VII.	RECOMENDACIONES	63
VIII.	REFERENCIAS.....	64
IX.	ANEXOS.....	80

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1	
Anormalidades citogenéticas recurrentes comunes en LLA-B pediátrica y adulta	19
Tabla 2	
Clasificación de la LLA-B según la OMS 2016	21
Tabla 3	
Formato de los datos para este estudio	40
Tabla 4	
Valoración del coeficiente Kappa	40
Tabla 5	
Alteraciones citogenéticas acompañantes a las translocaciones	46
Tabla 6	
Pacientes con otras alteraciones cromosómicas	47
Tabla 7	
Resultados del estudio citogenético con respecto al estudio del panel molecular para <i>t(9;22)/BCR-ABL</i>	48
Tabla 8	
Resultados del estudio citogenético con respecto al estudio del panel molecular para <i>t(4;11)/MLL-AF4</i>	48
Tabla 9	
Resultados del estudio citogenético con respecto al estudio del panel molecular para <i>t(1;19)/E2A-PBX1</i>	49

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1	
Frecuencia de las anomalías genéticas en citogenética y molecular en población pediátrica (a) y adultos (b)	20
Figura 2	
Mejora de la supervivencia general en la LLA infantil	25
Figura 3	
Procedimiento del Protocolo de Cariotipo en médula ósea	28
Figura 4	
Proceso de la PCR: (1) Desnaturalización, (2) Hibridación, (3) Elongación	31
Figura 5	
Distribución porcentual de pacientes estudiados según sexo	42
Figura 6	
Distribución de pacientes estudiados según edad y sexo	43
Figura 7	
Incidencia por edades en los pacientes con LLA	43
Figura 8	
Translocaciones cromosómicas y genes de fusión recurrentes	45
Figura 9	
Concordancia encontrada entre el análisis citogenético y el panel molecular de toda la población estudiada	49
Figura 10	
Valores de concordancia entre el análisis citogenético y el panel molecular de toda la población estudiada	50
Figura 11	
Cariograma de paciente femenino con t(9;22)	82
Figura 12	
Cariograma de paciente femenino con t(1;19)	82
Figura 13	
Cariograma de paciente femenino con t(4;11) y deleción del brazo largo del cromosoma X	83

Figura 14

Cariograma de paciente masculino

84

Figura 15

Cariograma de paciente femenino

84

Figura 16

Foto documentación del gel de agarosa

85

RESUMEN

La Leucemia linfoblástica aguda es una neoplasia caracterizada por la acumulación de progenitores linfoides inmaduros, comúnmente del linaje de células B. Los rearrreglos citogenéticos y moleculares más resaltantes para la LLA, por su importancia en el pronóstico y frecuencia son los genes de fusión: *BCR/ABL1*, *MLL/AF4*, *E2A/PBX1* y *TEL/AML1*, que corresponden a las siguientes translocaciones: t(9;22)(q34;q11), t(4;11)(q21;q23), t(1;19)(q23;p13) y t(12;21)(p13;q22). El objetivo de esta investigación fue determinar la concordancia de los resultados entre el estudio citogenético y de biología molecular, de pacientes con diagnóstico de LLA-B. Se seleccionaron 91 historias clínicas, de pacientes con el diagnóstico de LLA-B, desde enero del 2010 a diciembre del 2014, datos que fueron procesados mediante el Índice Kappa para poder encontrar el grado de concordancia entre estas técnicas. Se encontró que población pediátrica con LLA es levemente mayor comparado con adultos, y tiene un pico de incidencia de 2 a 3 años. La concordancia de los resultados de citogenética y biología molecular por PCR cualitativo fue más significativo para la t(1;19) y el gen de fusión *E2A/PBX1*, obteniendo una concordancia de Muy bueno ($k=0.85$), el grado de concordancia más alto comparado con las otras translocaciones estudiadas. Esta investigación sugiere que el análisis citogenético es una técnica muy usada en pacientes con leucemia y siempre será un estudio de primera mano. Además, las técnicas de biología molecular acompañada de la citogenética, son técnicas complementarias que nos ayudan a determinar el pronóstico y el tipo de riesgo en los pacientes, para poder dirigir una terapia adecuada.

Palabras clave: leucemia linfoblástica aguda, citogenética, biología molecular, índice kappa.

ABSTRACT

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is a neoplasm characterized by the accumulation of immature lymphoid progenitors, commonly of the B cell lineage. The most prominent cytogenetic and molecular rearrangements for ALL, due to their importance in the prognosis and frequency are the fusion genes: *BCR/ABL1*, *MLL/AF4*, *E2A/PBX1* and *TEL/AML1*, which correspond respectively to the following translocations: t(9;22)(q34;q11), t(4;11)(q21;q23), t(1;19)(q23;p13) and t(12;21)(p13;q22). The objective of this research was to determine the concordance of the results between the cytogenetic and molecular biology studies of patients diagnosed with B-ALL. 91 medical records of patients with the diagnosis of B-ALL were selected, from January 2010 to December 2014, data that were processed using the Kappa Index in order to find the degree of concordance between these techniques. It was found that the pediatric population with ALL is slightly higher compared to adults, and has a peak incidence of 2 to 3 years. The concordance of the results of cytogenetics and molecular biology by qualitative PCR was more significant for the t(1;19) and the *E2A/PBX1* fusion gene, obtaining a concordance of Very good ($k=0.85$), the highest degree of concordance high compared to the other translocations studied. This research suggests that cytogenetic analysis is a widely used technique in patients with leukemia and will always be a first-hand study. In addition, molecular biology techniques accompanied by cytogenetics are complementary techniques that help us determine the prognosis and the type of risk in patients, in order to direct an adequate therapy.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, cytogenetics, molecular biology, Kappa index.

I. INTRODUCCIÓN

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es una neoplasia caracterizada por la acumulación de progenitores linfoides inmaduros, comúnmente del linaje de células B. El crecimiento descontrolado de las células blancas en la médula ósea, bloquea el desarrollo normal de las células rojas y las plaquetas (Mullighan, 2012).

Las leucemias agudas se caracterizan por ser un grupo de enfermedades malignas comúnmente en el niño: representan alrededor de un 33% de las afecciones en los primeros 15 años de vida. Aproximadamente un 75% de las leucemias en el niño es aguda y linfoblástica (Michel, 2008).

La incidencia de LLA en niños es de 3-4 por 100000 por año, mientras que para los adultos es menor a 1. Hay un pico en la incidencia entre los niños de 2-5 años, que es aproximadamente cuatro veces mayor que los bebés y casi tres veces más alta en niños de tez blanca que los niños de tez oscura (Harrinson & Johansson, 2009).

Los rearrreglos moleculares más resaltantes para LLA por su importancia en el pronóstico y frecuencia son los correspondientes a los genes de fusión *BCR/ABL1*, *MLL/AF4*, *E2A/PBX1* y *TEL/AML1*, que corresponden respectivamente a las siguientes translocaciones citogenéticas: t(9;22)(q34;q11), t(4;11)(q21;q23), t(1;19)(q23;p13) y t(12;21)(p13;q22). La técnica de biología molecular tiene una mayor sensibilidad que permite detectar más casos que por citogenética convencional, mejorando así la estratificación en grupos de riesgo y en consecuencia un tratamiento mejor adaptado (Alonso et al., 2005).

El Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) recibió durante el periodo del 2010-2012 unos 1604 nuevos casos diagnosticados con leucemia entre los residentes de

Lima Metropolitana, con una incidencia de 6 casos por 100000 habitantes, representando el 2.6% de todas las neoplasias (Payet et al., 2016).

El objetivo de este trabajo fue determinar la concordancia entre los resultados por el estudio citogenético y molecular por PCR cualitativo, al diagnóstico de los pacientes con LLA B del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas durante el período 2009 al 2013.

1.1. Descripción y formulación del problema

La LLA representa el 75-80% de las leucemias agudas en edad pediátrica y el 20% de la edad adulta, caracterizándose por la proliferación clonal y la acumulación de células blásticas malignas en la médula ósea y sangre periférica. Hasta un 80% de niños y 70% de adultos presentan alteraciones genéticas determinadas mediante estudios citogenéticos y/o moleculares. Estos estudios han permitido evidenciar una serie de alteraciones cromosómicas recurrentes, dando un gran avance significativo en el conocimiento de esta enfermedad. Las alteraciones más importantes en LLA por su frecuencia son las translocaciones: t(1;19)(q23;p13); t(4;11)(q21;q23); t(9;22)(q34;q11); y t(12;21)(p12;q22) que forman los genes de fusión: *E2A/PBX1*, *MLL/AF4*, *BCR/ABL1* y *TEL/AML1*, respectivamente.

El equipo funcional de Genética y Biología Molecular del INEN es el encargado de realizar el estudio citogenético convencional de muestras de médula ósea y sangre periférica utilizando las bandas G (GTG) y el estudio genético molecular a través de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR); esta última se viene realizando a partir del año 2010, la cual implica la búsqueda de cinco genes de fusión, que son los más frecuentes en LLA: *BCR/ABL1* p210, *BCR/ABL1* p190, *MLL/AF4*, *E2A/PBX1* y *TEL/AML1*, en una prueba denominada panel de LLA.

Hasta la actualidad, no se han hecho estudios sobre la concordancia existente entre los resultados obtenidos a través de las técnicas de citogenética convencional y la técnica de PCR en pacientes diagnosticados con LLA tipo B. Por tanto, con la finalidad de encontrar el acuerdo existente entre estas dos técnicas permitiendo establecer una mejor estratificación de riesgo y nuevas estrategias terapéuticas, el presente proyecto plantea la siguiente pregunta:

¿Existe concordancia entre el estudio citogenético y el molecular por PCR cualitativo en pacientes con leucemia linfoblástica aguda tipo B del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas durante el período 2010-2014?

1.2 Antecedentes

Los avances en las técnicas y el desarrollo de los conocimientos de la biología molecular de los últimos años han permitido reconocer casi en su totalidad a las anomalías citogenéticas de las células leucémicas. Causando daño en el número de cromosomas o en su estructura (Atienza, 2016).

Los análisis citogenéticos (cariotipo y FISH en ciertos casos) son obligatorios en el momento del diagnóstico en la LLA, ya que sus resultados se toman en consideración para los protocolos terapéuticos debido a sus valores en el diagnóstico y pronóstico. En algunos casos, el cariotipo puede complementarse con otras técnicas (RT-PCR, RQ-PCR, matriz SNP, MLPA, entre otros) que pueden ser igual o más informativas (Baranger et al., 2016).

A través del tiempo se han desarrollado diversas técnicas que han permitido evaluar alteraciones a nivel cromosómico y génico, como apoyo al diagnóstico y pronóstico en las LLA; sin embargo, hay pocos estudios que hacen referencia a la concordancia de estas técnicas, siendo uno de ellos el trabajo de Coccé et al. (2015), que compararon resultados citogenéticos y por RT-PCR para *BCR-ABL*, *KMT2A-AFF1* y *TCF3-PBX1* en 497 niños evaluados por

ambos métodos. Donde obtuvieron resultados altamente concordantes ($p < 0.7$), confirmando la importancia de realizar estas técnicas en simultáneo.

Tang et al. (2015) realizaron un estudio para evaluar la concordancia de la expresión de CD66c y *BCR/ABL1* en pacientes con LLA-B durante el monitoreo de la enfermedad mínima residual, aplicando técnicas citogenéticas, FISH y RT-PCR para 43 pacientes, se observó una correlación significativa entre la presencia del cromosoma Ph (17/43) y la expresión del gen de fusión *BCR-ABL1* (26/43).

Nordkamp et al. (2009), demostraron en un trabajo realizado en Emma Children Hospital (Amsterdam), en pacientes menores de 18 años diagnosticados con Leucemia linfoblástica, vieron que la citogenética, FISH y RQ-PCR tienen un alto grado de concordancia recíproca.

De la misma forma Alonso et al. (2006) confirmaron por estudio molecular la caracterización del estudio citogenético en 11 casos y la ampliaron en otros 22: 1 *BCR-ABL*, 5 *MLL-AF4*, 1 *E2A-PBX1* y 15 *TEL-AML1*, concluyendo que RT-PCR tiene como ventaja presentar resultados objetivos, reproducibles y con una alta sensibilidad, convirtiéndose en el complemento ideal para los métodos clásicos de diagnóstico de leucemias agudas.

Otros estudios han sido reportados pero en Leucemia Mieloide Aguda (LMA), haciendo referencia a la técnica de citogenética y molecular, como el de Mrózek et al. (2001) en su estudio sobre la comparación de la detección citogenética y genética molecular de t(8;21) e inv(16) en adultos con LMA *de novo*, concluyeron que la RT-PCR no debe reemplazar a la citogenética y no debe utilizarse como la única prueba diagnóstica para la detección de la LMA por *CBF* debido a la posibilidad de obtener resultados falsos positivos o falsos negativos.

Así mismo, Mitterbauer et al. (2000) quienes compararon la sensibilidad de la citogenética y técnicas de PCR para la detección de inv(16) y *CBFbeta/MYH11* en un gran

número de casos no seleccionados de LMA, donde se menciona que la RT-PCR sigue siendo el mejor método para monitorizar la enfermedad mínima residual; sin embargo, se debe realizar un examen citogenético concurrente para identificar anomalías cromosómicas adicionales que puedan tener significación pronóstica.

Por lo tanto, es importante saber la concordancia que existe entre estas dos pruebas de vital importancia para el pronóstico y diagnóstico del paciente con LLA.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Determinar la concordancia entre el estudio citogenético y el molecular por PCR cualitativo en pacientes con leucemia linfoblástica aguda tipo B del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas durante el período 2010-2014.

1.3.2 Objetivos específicos

- Describir los hallazgos de los resultados de citogenética convencional y por PCR convencional para los genes de fusión del panel de LLA-B.
- Determinar la concordancia entre los resultados por el estudio citogenético convencional y molecular por PCR cualitativo de los pacientes con LLA tipo B.

1.4 Justificación

El estudio mediante técnicas de citogenética convencional por bandas GTG y por técnicas moleculares a través de PCR, juegan un papel importante en el diagnóstico de LLA; sin embargo, estas difieren en algunas características. Si bien la citogenética convencional proporciona un panorama amplio de todos los cromosomas, y tiene la

capacidad de detectar alteraciones tanto numéricas como estructurales, su resolución es limitada. En contraparte, el estudio molecular por PCR tiene una alta sensibilidad y resolución, pero solo se limita a identificar alteraciones en genes específicos comprometidos en las translocaciones cromosómicas. Por ello, en el presente estudio se pretende evaluar la concordancia de los resultados entre estas dos técnicas aplicadas en muestras procedentes de pacientes con diagnóstico de LLA-B.

1.5 Hipótesis

Existe concordancia entre el estudio citogenético y el molecular por PCR cualitativo en pacientes con leucemia linfoblástica aguda tipo B del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas durante el período 2010-2014.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Descripción de las leucemias

La leucemia fue descubierta por dos médicos que llevaron a cabo sus estudios, tanto en pacientes enfermos como en autopsias; la primera descripción de esta enfermedad fue realizada por Velpeau en 1827, en donde realizó un seguimiento a un paciente de 63 años con diferentes síntomas: fiebre, debilidad y un crecimiento descomunal del abdomen. Determinando en la autopsia un hígado y un bazo de grandes proporciones, y la "sangre era como una papilla de avena que recordaba la consistencia y el color de las levaduras del vino tinto" (Velpeau, 1827 citado por Bonilla, 2004).

Por otra parte, Barth en 1856 estudió en 1839 un paciente cuya muestra de sangre fue analizada por Donné en 1844, el cual observó en una autopsia al microscopio, unos "*glóbulos mucosos muy parecidos a las células del pus*". Gracias a este hallazgo, Donné habría sido el primero en determinar microscópicamente las células leucémicas (Bonilla, 2004).

Las leucemias son neoplasias malignas del sistema hematopoyético, que involucran comúnmente la transformación de células progenitoras en la mayoría de los casos linfoides y una minoría de las líneas celulares mieloides, de monocitos, eritroides y megacariocíticas. Los procesos regulatorios se ven afectados por la transformación leucémica de las células madres hematopoyéticas, provocando que se acelere la capacidad de autorrenovación, conduciendo a una inestabilidad en la proliferación normal, bloqueo en la diferenciación y resistencia a la muerte celular (Guevara et al., 2016).

2.2 Tipos de leucemia

2.2.1 *Leucemia Mieloide Aguda*

La leucemia mieloide aguda (LMA) se caracteriza por un bloqueo en la diferenciación mieloide y una proliferación desregulada de los progenitores mieloides anormales, que se acumulan en la médula ósea y posteriormente en la sangre. La mortalidad de esta enfermedad es mucho más elevada que la reportada para la leucemia linfoblástica aguda, que es el tipo de leucemia más común (Mejía-Aranguré et al., 2016).

Dentro de la LMA, del 15 al 20% de las leucemias agudas se manifiesta en niños y el 80% en adultos. Esta leucemia predomina durante la etapa neonatal y adulto, con una pequeña representación de casos durante la infancia y la adolescencia (Lagunas-Rangel, 2016).

2.2.2 *Leucemia Linfoblástica Aguda*

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es una neoplasia que se caracteriza por la acumulación de progenitores linfoides inmaduros, comúnmente del linaje de células B. El crecimiento descontrolado de las células blancas en la médula ósea, bloquea el desarrollo normal de las células rojas y las plaquetas (Mullighan, 2012).

La LLA ocurre tanto en niños como en adultos, pero su incidencia alcanza entre los 2 y 5 años de edad (Inaba et al., 2013). “Las leucemias agudas son la neoplasia maligna más frecuentes en el niño con un 33% de las afecciones en los primeros 15 años de vida. Aproximadamente un 75% de las leucemias en la edad pediátrica es aguda y linfoblástica” (Michel, 2008, p.1).

LLA es una enfermedad esencialmente genética porque la mayoría de los pacientes alberga alteraciones genéticas adquiridos (mutaciones somáticas) que contribuyen a un aumento de la proliferación, supervivencia prolongada, y/o alteración de la diferenciación de los progenitores hematopoyéticos linfoides (Mrózek et al., 2009).

2.2.1.1 Clasificación de las LLA de acuerdo al linaje

▪ *LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA TIPO B*

LLA de células B precursoras (LLA-CBP) es una malignidad de los linfoblastos comúnmente del linaje de células B. La morfología según la clasificación Franco Americano Británico (FAB), son del tipo L1 o L2. Un pequeño porcentaje de los pacientes tienen el inmunofenotipo B maduro. LLA-CBP es principalmente una enfermedad de la infancia en que el 75% de los pacientes son menores de 6 años (Pui et al., 2004).

Aproximadamente el 75% de los casos con LLA-B tienen rearrreglos cromosómicos frecuentes, detectables por el análisis citogenético convencional, muchos de los cuales son considerados para una mejor clasificación en el pronóstico y se utilizan para la estratificación de riesgos para el tratamiento (Tabla 1) (Mullighan, 2012 y Moorman et al., 2010). Se encuentran similares alteraciones en población pediátrica y adulta, pero con distribución de frecuencia diferente (Fig. 1) (Pui et al., 2007).

Tabla 1.

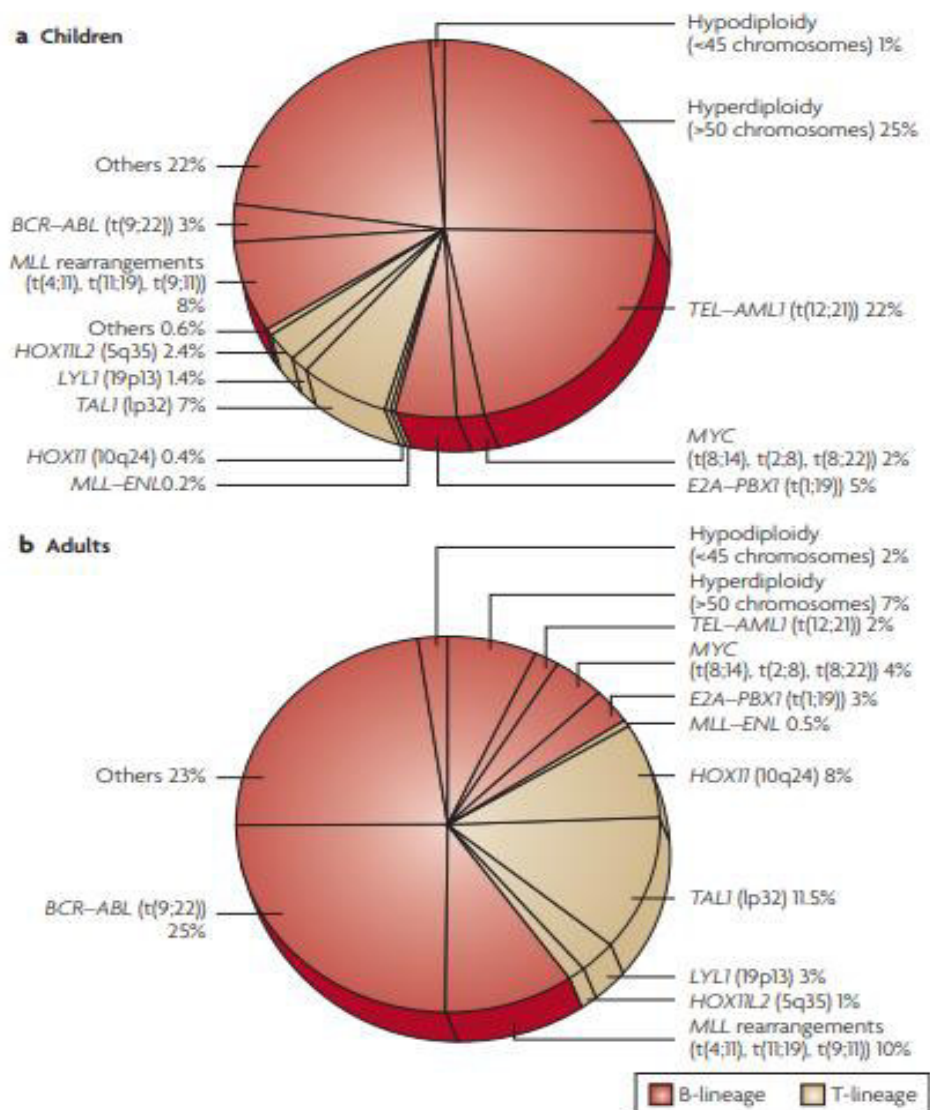
Anormalidades citogenéticas recurrentes comunes en LLA-B pediátrica y adulta.

GRUPOS DE RIESGO	ANORMALIDADES CITOGÉNÉTICAS	SIGNIFICANCIA CLÍNICA	FRECUENCIA
RIESGO BAJO	Hiperdiploidía (>50 cromosomas)	Pronóstico favorable	25-30% en niños, 7-8% en adultos
	t(12;21)/ <i>ETV-RUNX1</i>	Pronóstico favorable en niños, indeterminado en adultos	25% en niños, 0-4% en adultos
RIESGO INTERMEDIO	t(1;19)/ <i>E2A-PBX1</i>	Pronóstico intermedio a favorable	1-6% en niños, 1-3% en adultos
	t(5;14)/ <i>IL3-IGH</i>	Intermedio	Raro
	t(9;22)/ <i>BCR-ABL1</i>	Pronóstico pobre	1-3% en niños, 25-30% en adultos
RIESGO ALTO	t(v;11q23)/ <i>KMT2A</i> (rearrreglos del gen <i>MLL</i>)	Pronóstico pobre	2/3 en infantes, 1-2% en niños mayores, 4-9% en adultos
	Hipodiploidías (<44 cromosomas)	Pronóstico pobre	6% en niños, 7-8% en adultos

Tomado de “B lymphoblastic leukemia/lymphoma: new insights into genetics, molecular aberrations, subclassification and targeted therapy”, por Zhang, 2017, *Oncotarget*. 8 (89).

Figura 1.

Frecuencia de las anomalías genéticas en citogenética y molecular en población pediátrica (a) y adultos (b).



Tomado de “New therapeutic strategies for the treatment of acute lymphoblastic leukaemia”, por Pui, 2007, *Nature reviews Drug discovery*, 6 (2).

▪ **LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA TIPO T**

La leucemia linfoblástica aguda tipo T es una neoplasia de precursores o linfoblastos de células T inmaduras. La LLA-T es menos común que la LLA-B, y corresponde a un 15% en niños y a un 25% en el adulto. La clasificación de la enfermedad es heterogénea de acuerdo a la expresión específica del citoplasma o marcadores superficiales (Onciu, 2009; You et al., 2015).

Las anomalías cromosómicas recurrentes en la LLA-T comúnmente incluyen translocaciones recíprocas que alteran los genes del factor de transcripción importantes para el desarrollo, como resultado de reordenamientos en los loci para los genes del receptor de células T (TCR), más comúnmente TCR α (14q11.2) y TCR β (7q35) (Onciu, 2009).

2.2.1.2 Clasificación según la Organización Mundial de la Salud. Revisión 2016
de Leucemia Linfoblástica Aguda.

Tabla 2.

Clasificación de la LLA-B según la OMS 2016.

LEUCEMIA /LINFOMA LINFOBLÁSTICO B
Leucemia/linfoma linfoblástico B, no especificado de otra manera
Leucemia/linfoma linfoblástico B con alteraciones genéticas recurrentes
Leucemia/linfoma linfoblástico B con t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>
Leucemia/linfoma linfoblástico B con t(v;11q23.3); reordenamiento <i>KMT2A</i>
Leucemia/linfoma linfoblástico B con t(12;21)(p13.2;q22.1); <i>ETV6-RUNX1</i>
Leucemia/linfoma linfoblástico B con hiperdiploidía
Leucemia/linfoma linfoblástico B con hipodiploidía
Leucemia/linfoma linfoblástico B con t(5;14)(q31.1;q32.3); <i>IL3-IGH</i>
Leucemia/linfoma linfoblástico B con t(1;19)(q23;13.3); <i>TCF3-PBX1</i>
<i>Entidad provisional:</i> leucemia/linfoma linfoblástico B, <i>BCR-ABL1-like</i>
<i>Entidad provisional:</i> leucemia/linfoma linfoblástico B con <i>iAMP21</i>

Adaptado de “The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia”, por Arber, 2016. *Blood*. 127(20).

2.2.1.3 Clasificación de las LLA de acuerdo al tipo de riesgo

ESTRATIFICACIÓN DE RIESGO EN NIÑOS (Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas [INEN], 2019a)

- Criterios de bajo riesgo
 - Edad: 1-5 años o
 - Glóbulos blancos <20000 al diagnóstico y:
 - Ausencia de compromiso Sistema Nervioso Central o testicular
 - Ausencia de marcadores genéticos desfavorables
 - Presencia de marcadores genéticos favorables
 - M1, M2 en día 7 de inducción, pero M1 en día 14 y EMR (-) al final de la misma.
- Criterios de riesgo intermedio
 - Edad: 6-9 años o
 - Glóbulos blancos 20000-49999 al diagnóstico y:
 - Ausencia de compromiso Sistema Nervioso Central o testicular
 - Ausencia de marcadores genéticos desfavorables
 - Presencia o no de marcadores genéticos favorables
 - M1, M2 en día 7 de inducción, pero M1 en día 14 y EMR (-) al final de la misma, sin los demás criterios de bajo riesgo.
- Criterios de riesgo alto
 - Edad: ≥ 10 años o
 - Glóbulos blancos ≥ 50000 al diagnóstico o
 - Compromiso Sistema Nervioso Central o testicular al diagnóstico

- M1, M2 en día 7 de inducción y EMR (+) al final de la misma o M2 en día 14 de inducción y EMR (+) o (-) al final de la misma o M3 en día 7 de inducción, sin importar la MO en día 14 o la EMR al final de la misma.
- Criterios de muy alto riesgo
 - MO M2 o EMR (+) post fase inducción IA ampliada
 - EMR (+) post fase inducción IB aumentada
 - Hipodiploidias
 - *MLL* (+)
 - *BCR/ABL* (+)
 - M3 al final de la fase inducción IA

ESTRATIFICACIÓN DE RIESGO EN ADOLESCENTES Y ADULTOS JÓVENES (INEN, 2019b)

- Bajo riesgo (27%)
 - Pacientes con hiperploidías
 - Positivo para la t(12;21) o *ETV6-RUNX1*,
 - Trisomías simultáneas en los cromosomas 4, 10, 17.
- Riesgo estándar (32%)
 - Pacientes de 1 a 10 años
 - Menos de 50×10^3 leucocitos en sangre periférica al debut.
- Alto riesgo (27%)
 - Menores de 1 año
 - Enfermedad extramedular
 - Más de 50×10^3 leucocitos en sangre periférica al debut

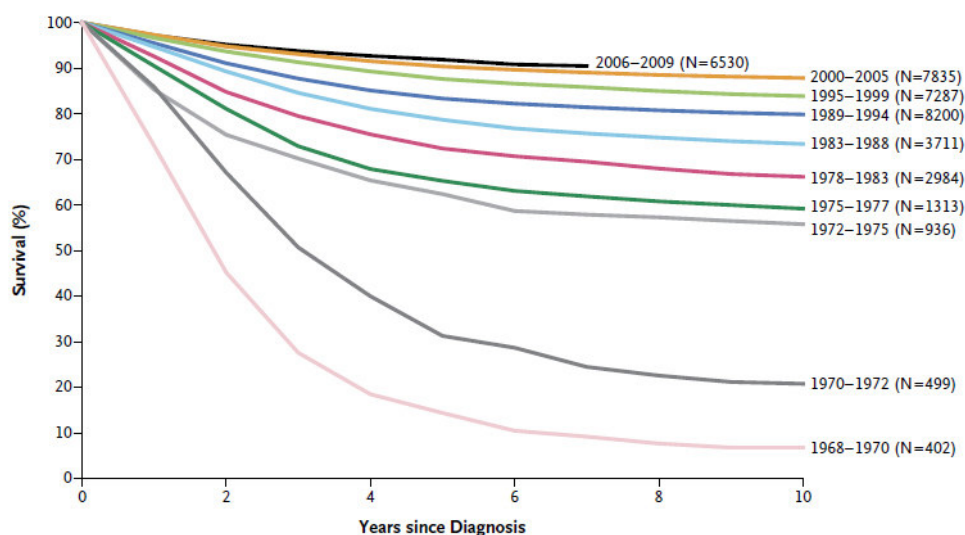
- Leucemias de células T.
- Muy alto riesgo (4%)
 - Portadores de t(9;22)
 - Presencia de la proteína de fusión *BCR/ABL1*
 - Hipodiploides (<44 cromosomas)
 - *BCR/ABL* like
 - Rearreglos *KMT2A*
 - Falla en la inducción

ESTRATIFICACION DE RIESGO EN ADULTOS (INEN, 2019b)

- Riesgo estándar
 - Portadores de menos de 30×10^3 leucocitos en sangre periférica al debut.
- Alto Riesgo
 - Pacientes mayores de 35 años
 - Mayor de 30×10^3 leucocitos en sangre periférica al debut en células B.
 - Mayor de 100×10^3 leucocitos en sangre en caso de células T
- Muy Alto Riesgo
 - Portadores de t(9;22)
 - Presencia del gen de fusión *BCR/ABL1*
 - Hipodiploides (<44 cromosomas)
 - *BCR/ABL* like
 - Rearreglos *KMT2A*
 - Falla en la inducción

2.2.1.4 Tratamiento. La LLA tiene una supervivencia global de aproximadamente el 80%, con ciertos subconjuntos experimentando una tasa de éxito superior al 98%. A menudo la LLA pediátrica sirve como modelo para mejorar la supervivencia, por lo que la estratificación de la intensidad del tratamiento se basa en el riesgo de fracaso del tratamiento (Fig. 2) (Cooper y Brown, 2015).

Figura 2.
Mejora de la supervivencia general en la LLA infantil.



Tomado de “Acute lymphoblastic leukemia in children”, por Hunger & Mullighan, 2015, *New England Journal of Medicine*, 373 (16).

Existen 3 etapas principales del tratamiento de la LLA, la duración es típicamente de 2 a 3 años, siendo más intenso durante los primeros meses. La intensidad de la administración y dosis de los fármacos dependerá de la clasificación de los pacientes según su grupo de riesgo (Cooper y Brown, 2015).

- **Inducción.** Es el primer bloque de quimioterapia, que dura de 4 a 6 semanas. El objetivo de este bloque es inducir una remisión completa al culminar, logrando la eliminación de los blastos leucémicos que se encuentran en sangre y médula ósea. Cuando se produce un

fracaso de la inducción, se busca un trasplante alogénico de médula ósea, aunque no existe un protocolo de atención estándar con respecto a la quimioterapia utilizada para lograr la remisión antes del trasplante (Cooper y Brown, 2015).

Los agentes utilizados en la inducción son: vincristina, corticosteroides y asparaginasa, y la mayoría de los regímenes agregan una antraciclina (generalmente doxorubicina o daunorrubicina) (Escherich et al., 2013).

Para aquellos pacientes con cromosoma Philadelphia positivo se puede agregar un medicamento de terapia dirigida, como el imatinib (Gleevec) (Fielding et al., 2014).

Quimioterapia intratecal: también se administra quimioterapia en el líquido cefalorraquídeo a fin de destruir todas las células leucémicas que pudieron propagarse al cerebro y a la medula espinal. Se administra la triple droga intratecal (metotrexato, hidrocortisona y citarabina) a través de una punción lumbar (Ramos et al., 2011).

- **Consolidación.** Etapa indispensable para prevenir recaídas, con una duración de 6 a 9 meses, varía en longitud e intensidad dependiendo del paciente y el tipo de riesgo. Tiene como objetivo erradicar la enfermedad residual submicroscópica que permanece después de obtener una remisión completa (Seibel et al., 2008).

En esta etapa de la quimioterapia se utilizan combinaciones de diferentes agentes quimioterapéuticos y en dosis elevadas, como metotrexato, con o sin 6-mercaptopurina, L-asparaginasa y citarabina, o bien combinación de dexametasona, vincristina, L-asparaginasa, doxorubicina y tioguanina, con o sin ciclofosfamida (Ortega et al., 2007).

- **Mantenimiento.** Es la etapa final y más larga de tratamiento en la LLA. Un régimen mucho menos intensivo que la quimioterapia previa, se ha demostrado que la fase de mantenimiento prolongado reduce el riesgo de recaída una vez que se ha establecido la

remisión. Por lo general, dura al menos 2 años (a 3 años para los pacientes de alto riesgo) (Cooper & Brown, 2015).

La base de la terapia de mantenimiento es la terapia antimetabolita con metotrexato y mercaptopurina, ambos disponibles en formulaciones orales, lo que hace crucial la estricta adherencia (Cooper y Brown, 2015).

2.3 Pruebas genéticas de ayuda al diagnóstico de la LLA

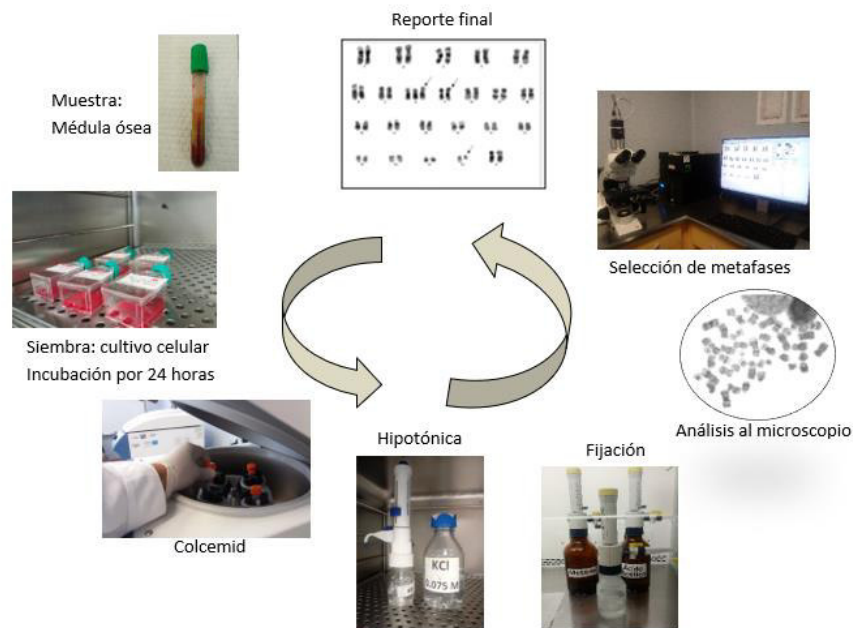
2.3.1 Citogenética Convencional

El análisis convencional de bandas G es el método más utilizado para detectar anomalías citogenéticas. Sin embargo, la detección de anomalías cromosómicas clonales por bandas G a menudo no tiene éxito; las reorganizaciones G no pueden detectar reordenamientos agudos o submicroscópicos (crípticos) que afectan a regiones más pequeñas que una banda cromosómica. FISH puede usarse para complementar las observaciones analizadas por bandas G, pero FISH está limitado a las regiones cromosómicas definidas por sondas específicas (Kim et al., 2014).

El análisis cromosómico requiere de cinco pasos: (1) cultivo celular de muestras de sangre periférica o médula ósea, (2) obtención de cromosomas en metafase, (3) fijación de cromosomas en un portaobjetos microscópico, (4) bandeo y tinción usando un protocolo apropiado de banda cromosómica y (5) análisis de cromosomas mediante microscopía óptica o análisis computarizado asistido por Cariotipador (Fig. 3) (Wan, 2014).

Figura 3.

Procedimiento del Protocolo de Cariotipo en médula ósea.



El pretratamiento con colchicina (o colcemid) que resultó en la destrucción del aparato del huso mitótico permite la acumulación de células en división que se encuentran en metafase. El tratamiento de las células mitóticas con soluciones hipotónicas dreña la membrana celular, dispersa los cromosomas y mejora la calidad de las metafases al observarlas al microscópico. El análisis cromosómico proporciona una visión general de las aberraciones cromosómicas que puedan ocurrir en una célula tumoral y la relación entre la evolución clonal y la progresión de la enfermedad se puede definir fácilmente (Wan, 2017).

2.3.2 Citogenética Molecular

2.3.2.1 Hibridación in situ fluorescente (FISH). La hibridación in situ con fluorescencia (FISH) se basa en la complementariedad de las cadenas dobles de ADN o ADN/ARN, utilizando fragmentos de ADN incorporados con nucleótidos acoplados a fluoróforo como sondas para analizar la presencia o ausencia de secuencias complementarias en células o tejidos mediante un microscopio de fluorescencia. Esta herramienta es efectiva en el mapeo de genes y loci polimórficos en cromosomas de metafase para construir un mapa físico del genoma humano (Lichter et al., 1993).

La tecnología FISH ofrece tres ventajas principales, incluida la alta sensibilidad y especificidad, la aplicación directa en cromosomas metafásicos como a los núcleos en interfase y la visualización de señales de hibridación a nivel de células individuales. Estas ventajas aumentaron la resolución analítica de las bandas de Giemsa al nivel del gen y permitieron la detección rápida de anomalías cromosómicas numéricas y estructurales (Klinger et al., 1992; Ried et al., 1992). La aplicación clínica de la tecnología FISH fue un avance clave de la citogenética clásica a la citogenética molecular. Con la mejora en la eficiencia de la señalización de la sonda y la introducción de un sistema de imágenes de mayor resolución, FISH ha sido renovado para el análisis en investigación (Cui et al., 2016).

2.3.2.2 Hibridización Genómica Comparativa (CGH). Es una técnica citogenética basada en el ADN que permite escanear el genoma completo en busca de desequilibrios cromosómicas sin requerir que el material de la muestra se encuentre en metafase. CGH revela cualquier cambio en el número de copias de la secuencia de ADN (es decir, ganancias, amplificaciones o pérdidas) en una muestra particular y mapea estos cambios en los cromosomas normales. Sin embargo, no reconoce translocaciones equilibradas, inversiones y otras aberraciones que no cambian el número de copias (Kallioniemi et al., 1994).

Se consideraba que el uso principal para CGH sería en el campo de la citogenética de tumores sólidos, ya que muchos tumores sólidos son de difícil análisis en cromosomas en metafase o de pobre crecimiento celular. Además, se consideró que esto no contribuiría al estudio de las leucemias y los linfomas, ya que los reordenamientos asociados suelen ser equilibrados y, además, muchos de ellos ya estaban reportados. Sin embargo, CGH también ha contribuido al análisis de neoplasias hematológicas como en Leucemia linfática crónica (LLC) y Linfoma no Hodgkin (LNH), y en segundo lugar como una ayuda para los esquemas de clasificación de los linfomas (Buckle y Kearney, 2001).

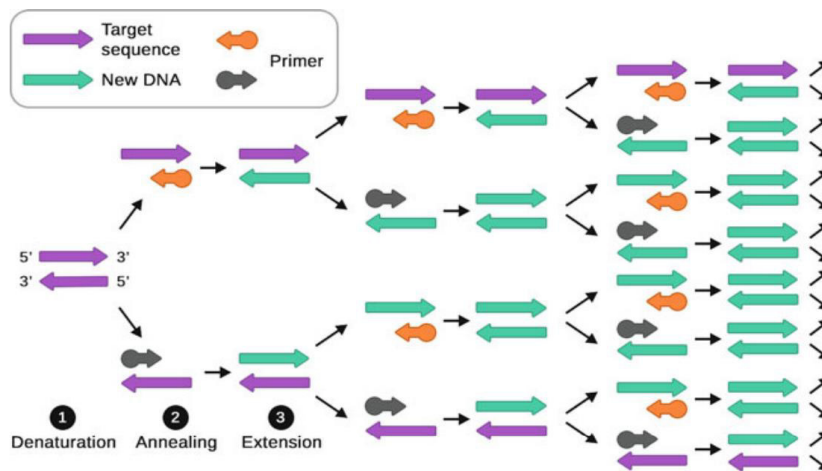
2.3.3 *Biología Molecular*

2.3.3.1 Reacción en cadena de polimerasa (PCR). La PCR descrita por primera vez en 1983 sigue siendo la técnica *in vitro* más popular para aprovechar toda la información que el ADN puede ofrecer para el diagnóstico o el tratamiento. Esta técnica está basada en la capacidad del ADN polimerasa para sintetizar una nueva cadena de ADN, complementaria a la cadena molde. Las ventajas de la PCR incluyen alta especificidad y fidelidad, mientras que sus limitaciones incluyen el gasto de reactivos, la escala de tiempo de los programas en ejecución y resultados falsos positivos debido a contaminantes (Koutsis y Vervesou, 2018).

Todos los ciclos se realizan en un termociclador, que se puede programar para cambiar la temperatura automáticamente después de cada paso. Al final de un ciclo, partes de las cadenas de ADN iniciales se habrán duplicado en número (Fig. 4). Por lo tanto, después de 30 ciclos, se habrá originado al menos mil millones de copias de la secuencia estudiada (Stauffer et al., 2018).

Figura. 4.

Proceso de la PCR: 1. Desnaturalización, 2. Hibridación, y 3. Elongación.



Tomado de “Polymerase Chain Reaction”, por Stauffer et al., 2018, *Labster Virtual Lab Experiments: Basic Genetics*.

2.3.3.2 Tipos de PCR.

- **PCR en tiempo real.** Técnica conocida como PCR cuantitativa (qPCR) o PCR en tiempo real, mide la velocidad de amplificación del ADN. Esta medición inicia desde momentos moderadamente tempranos, observándose la fase en la que la reacción es aún exponencial, por tanto, mantiene la proporcionalidad respecto a la cantidad prefijada de ADN producto. Cuanto mayor sea la abundancia en la muestra, antes se alcanzará la cantidad prefijada (Herráez, 2012).

- **RT-PCR (PCR con transcriptasa inversa).** La tecnología de RT-PCR puede detectar una sola célula mutante en una población de 100000 células normales. La identificación de los puntos de corte poco comunes utilizando la técnica de RT-PCR requiere el diseño de PCR de tal forma que también pueda detectar estos puntos de corte raros (Kumar et al. 2015).

La técnica consta de dos partes. La primera parte implica la síntesis de ADNc (ADN complementario) a partir de ARN por transcripción inversa. La segunda parte implica la amplificación de un ADNc específico por PCR (Reena et al., 2006).

- ***MRT-PCR (PCR Multiplex)***. La PCR múltiple son reacciones que amplifican en simultáneo y en un único tubo diferentes secuencias diana, pudiendo detectar e identificar simultáneamente distintos genes de interés (Méndez y Pérez, 2004).

En esta PCR hay presentes múltiples pares de primers lo que da una serie de productos, que se pueden observar como múltiples bandas en un gel de agarosa. Ayuda a detectar la presencia de genes de relevancia clínica (Méndez y Pérez, 2004).

En un estudio realizado por Limsuwanachot et al. (2016), propusieron que la PCR multiplex generada para uso rutinario es un método específico, altamente sensible y rápido para la detección y monitoreo de translocaciones cromosómicas recurrentes en pacientes con LMC y LLA.

2.3.4 *Secuenciamiento de Nueva Generación (NGS)*

Las técnicas de secuenciación masiva o de siguiente generación (NGS, de sus siglas en inglés Next Generation Sequencing) son capaces de secuenciar miles de nucleótidos simultáneamente en una sola reacción, cubriendo ya sea todo el genoma, el exoma, el transcriptoma (genes que se expresan) o un panel de genes seleccionados (Rizzo & Buck, 2012).

Hay varios tipos diferentes de secuenciación que se pueden utilizar, dependiendo de la información requerida, estos incluyen secuenciación de genoma completo (WGS), secuenciación de exoma completa (WES) y secuenciación de ARN mensajero (secuencia de ARNm). Cada tipo de secuencia tiene sus propias características (Dixon.McIver, 2015).

El WGS es costoso y puede ser ineficiente en las regiones ricas en GC (principalmente regiones promotoras), pero a diferencia de otras técnicas, identifica alteraciones genéticas

estructurales como grandes rearrreglos y deleciones o inserciones. En cambio, WES es de menor costo y es útil para encontrar mutaciones en regiones codificantes. Además, con esta herramienta se puede obtener una amplia cobertura (200X en promedio por genoma haploide), permitiendo detectar mutaciones en clonas poco representadas, muy importante para detectar la enfermedad Mínima residual e identificar a pacientes con alto riesgo de recaída (Jiménez-Morales et al., 2017).

Los datos obtenidos de NGS pueden proporcionar una evaluación integral del paisaje genómico correlacionado con la génesis y la evolución de diferentes neoplasias malignas. Ensayos de diagnóstico moleculares para neoplasias hematológicas se han enfocado típicamente en el descubrimiento de mutaciones de genes previamente identificados (Koutsis y Vervesou, 2018).

III. MÉTODO

3.1 Tipo de Investigación

Se realizó un estudio analítico y observacional descriptivo tipo serie de casos a partir del registro de estudios citogenéticos y moleculares en la Unidad de Genética y Biología Molecular UGBM-INEN durante el período 2010-2014.

3.2 Ámbito temporal y espacial

El presente estudio se realizó en la UGBM-INEN, que desarrolla estudios a nivel genético y molecular, que consta del análisis citogenético convencional y molecular por PCR cualitativo de pacientes de todo el Perú, que tengan diagnóstico de Leucemia Linfocítica aguda (LLA), ubicado en el distrito de Surquillo, en la Av. Angamos Este 2520, Lima - Perú.

El estudio duró aproximadamente dos años desde la colecta de datos de los pacientes en fichas clínicas, hasta la redacción del mismo.

3.3 Variables

Las variables que se utilizarán para este trabajo están determinadas tanto para los resultados citogenéticos como los moleculares.

3.3.1 Variables dependientes

- t(1;19)(q23;p13.3), correspondiente al gen de fusión *E2A/PBX1*
- t(4;11)(q21;q23), correspondiente al gen de fusión *MLL/AF4*
- t(9;22)(q34;q11), correspondiente al gen de fusión *BCR/ABL*

3.3.2 Variables independientes

- Alteraciones citogenéticas adicionales.

3.4 Población y muestra

Se utilizaron datos pertenecientes a 91 pacientes de ambos sexos y tanto pediátricos como adultos, que fueron admitidos en el INEN entre los años 2010 y 2014, con diagnóstico de LLA tipo B que presentaban estudio citogenético y molecular al diagnóstico, con resultado óptimo.

Se incluyeron los pacientes con estudio molecular del Panel molecular para LLA-B por solicitud del INEN, se excluyeron pacientes con resultado citogenético con no crecimiento y pacientes que acudían por monitorización molecular de la enfermedad con resultados previos. El presente estudio no cuenta con una muestra ya que se trabajó con la totalidad de pacientes que cumplieron los criterios mencionados durante el periodo 2010-2014.

3.5 Instrumentos

- Ficha recolección de datos (Anexo A)
- Estación de citogenética: Cariotipador
- Historias clínicas

3.6 Procedimientos

Se elaboraron fichas para ordenar los datos que se recolectaron de las Historias Clínicas de todos los pacientes (Anexo A). La información obtenida de dichas fichas estaba conformada de datos generales (nombres y apellidos, número de historia clínica, edad, sexo, fecha de admisión) y datos específicos para nuestro estudio como el diagnóstico inicial, tipo de muestra y resultados de los estudios citogenéticos y moleculares.

3.6.1 Datos del resultado del estudio citogenético: cariotipo en médula ósea.

Se consideró el cariotipo inicial el cual es utilizado para la confirmación del diagnóstico (LLA tipo B), y no se consideró los siguientes estudios porque eran monitoreos en respuesta al régimen de tratamiento.

El cariotipo seleccionado en las historias clínicas de los pacientes fue obtenido utilizando la técnica estandarizada en el Laboratorio de Citogenética del INEN:

La muestra de médula ósea se pudo obtener mediante punción-aspiración de la misma, en un tubo de tapa verde con heparina sódica. El primer paso del procedimiento es la siembra, se agregan gotas de la muestra, según conteo leucocitario, en un frasco para cultivo celular T25 estéril que contiene 5 ml de medio MarrowMAX (Gibco) BoneMarrow, dejando incubar a 37° a 5% de CO₂ por 24 horas. En siguiente paso es la cosecha: ya pasado el tiempo del cultivo, se añade Colcemid (Gibco) (50µL) por 15 minutos, se emplean poco tiempo de exposición, debido a la sensibilidad que presentan las células leucémicas al colcemid, con el fin de evitar la condensación cromosómica, lo que dificultaría su posterior análisis. Se incuba durante este tiempo en una estufa a 37°C, pequeños cambios en la temperatura empobrecen el cultivo. Luego se añadió una solución hipotónica (KCl 0,56%) para finalmente realizar lavados con solución Carnoy (metanol-ácido acético, 3:1).

El análisis se llevó a cabo a través de un microscopio compuesto (Leica DMLS), a un aumento total de 1000X. Se utilizaron láminas que contienen la muestra procesada, lanzada mediante goteo, bandeados y coloreados respectivamente mediante la técnica denominada Bandas GTG (Turnpenny y Ellard, 2009).

Se analizan 20 metafases por caso teniendo como referencia los criterios establecidos por El Sistema Internacional para la Nomenclatura de Citogenética Humana (ICSN 2009-2013). Al analizar las metafases hay que tener en consideración la morfología de las células, la mayoría de las células anormales son las que tienen una mala morfología y las de mejor calidad son las células normales. Por ello es fundamental no hacer una selección de las metafases que se estudian atendiendo a su calidad.

Los cariotipos finalmente son digitalizados mediante un Cariotipador, y son informados mediante las normas y estándares establecidos en el ISCN-2013 (Shaffer et al., 2013).

3.6.2 Datos del resultado de biología molecular: panel molecular para LLA.

Al igual que los resultados de citogenética, se consideró el primer resultado del Panel Molecular para LLA-B, por ser una prueba al diagnóstico, sin efecto de tratamiento. Estos datos fueron registrados en las fichas de recolección.

Los datos obtenidos de las historias clínicas, fueron extraídos del Laboratorio de Biología Molecular del INEN, donde estandarizaron el siguiente procedimiento:

Para la técnica de Retrotranscripción por reacción en cadena de la polimerasa (metodología BIOMED) se utilizaron muestras de médula ósea, que fueron obtenidas en un tubo vacutainer con EDTA. A partir dicha muestra, se extrae el ARN que será molde para la obtención de un ADN complementario donde se amplificará mediante las secuencias

específicas de los genes de fusión: *BCR/ABL1p190*, *BCR/ABL1p210*, *E2APBX1* y *MLL-AF4* para cada uno de los casos utilizó como control positivo al gen ABL y como control negativo se realizó: el protocolo de reacción en cadena de la polimerasa, pero en vez de usar la muestra del paciente se utilizó agua destilada.

Para amplificar los transcritos se utilizaron las secuencias (5'-3') que a continuación se detallan (Van Dongen et al., 1999):

- Gen *BCR/ABL1* p190:
 - PRIMER FORWARD: GACTGCAGCTCCAATGAGAAC
 - PRIMER REVERSE: GTTTGGGCTTCACACCATTCC

- Gen *BCR/ABL1* p210:
 - PRIMER FORWARD: GAAGTGTTTCAGAAGCTTCTCC
 - PRIMER REVERSE: GTTTGGGCTTCACACCATTCC

- Gen *E2A-PBX1*:
 - PRIMER FORWARD: CACCAGCCTCATGCACAAC
 - PRIMER REVERSE: TCGCAGGAGATTCATCACG

- Gen *MLL- AF4*:
 - PRIMER FORWARD: CCGCCTCAGCCACCTAC
 - PRIMER REVERSE: TGTCACTGAGCTGAAGGTCCG

- Gen *ABL1*:
 - PRIMER FORWARD: TGTGTATATAGCCTAAGACCCGGAG
 - PRIMER REVERSE: ATCTGCCTGAAGCTGGTGGGCT

Las condiciones de PCR se llevaron a cabo de la siguiente manera: un primer ciclo de calentamiento a 95°C durante 2 minutos, luego continuaron 35 ciclos compuestos por 3 etapas: primero la desnaturalización a 94°C por 30 segundos, la hibridización a 65°C por 1 minuto y la extensión a 72°C durante 1 minuto.

Luego se realizó el análisis electroforético en geles de agarosa al 2% teñido con sybersafe y la lectura de las bandas se realiza mediante un transiluminador UV. Los pesos moleculares que se pueden observar permiten demostrar la presencia del gen *BCR/ABL1p190* o *BCR/ABL1p210* o *E2APBX1* o *MLL-AF4*. A su vez el control interno con el gen *ABL1* muestra un peso molecular de 290 pb y en el control negativo no se encontrará bandas a la visualización en el transiluminador.

3.7 Análisis de datos

El análisis de la concordancia entre los resultados de citogenética convencional y el panel de biología molecular se realizó mediante el cálculo del Índice Kappa de Cohen (k), el cual indica el grado de concordancia entre una variable y otra, dando un valor de 1 al grado más alto de la concordancia y de 0 cuando la concordancia es igual a la esperada por el azar (López y Pita, 1999).

En la tabla 3 podemos observar un modelo como se insertarán los datos de este estudio. La tabla 4 corresponde a la escala utilizada para expresar cualitativamente la fuerza de la concordancia, según Landis y Koch (1977).

Tabla 3.*Formato de los datos para este estudio*

		MOLECULAR		TOTAL
		Positivo	Negativo	
CITOGÉNÉTICA	Positivo	a	b	r
	Negativo	c	d	s
	TOTAL	t	u	N

El índice de concordancia Kappa se calculó de la siguiente manera:

$$k = \frac{Po - Pe}{1 - Pe}$$

Donde:

N = Total de casos estudiados

Po = Proporción observada

$$Po = \frac{a + d}{N}$$

Pe = Proporción esperada

$$Pe = \frac{rt + su}{N^2}$$

Tabla 4.*Valoración del coeficiente Kappa*

Coeficiente Kappa	Fuerza de la concordancia
0,00	Sin acuerdo
0,01-0,20	Insignificante
0,21-0,40	Bajo
0,41-0,60	Moderado
0,61-0,80	Bueno
0,81-1	Muy Bueno

Tomado de “The measurement of observer agreement for categorical data”, por Landis & Koch, 1977, *Biometrics*, 159-174.

La obtención de una valoración de k no nos proporciona ninguna indicación precisa de dicha estimación. Como lo menciona López y Pita (1999), “desde el punto de vista de la Estadística Inferencial es esencial conocer la variabilidad de los estimadores y emplear ese conocimiento en la formulación de contrastes de hipótesis y en la construcción de intervalos de confianza” (p. 4).

El Intervalo de Confianza (IC) incluye a todos los posibles valores de la escala a cierto nivel de confianza, y si este incluye al cero indica que no es estadísticamente significativo (Domínguez, 2016). Para realizar el cálculo al 95% se usa la siguiente fórmula:

$$IC = k \pm 1.96(\sigma_k)$$

Donde σ_k es el error típico para k que consiste en:

$$\sigma_k = \sqrt{\frac{Po(1 - Po)}{N(1 - Pe)^2}}$$

IV. RESULTADOS

Para este estudio se seleccionaron 178 pacientes de enero del 2010 hasta diciembre del 2014, con el diagnóstico de Leucemia Linfoblástica Aguda. Solo se trabajó con 91 pacientes, excluyéndose al resto por no contar con los criterios especificados (mala morfología, bajo índice mitótico o no crecimiento celular). También se excluyeron 7 casos que dieron positivo para *TEL-AML1*, cuyos resultados no tomaremos en cuenta en este estudio.

4.1 Frecuencia de edades y sexo en los pacientes estudiados

Del total de pacientes estudiados: 45(49%) fueron hombres y 46(51%) fueron mujeres (Figura 5). Con respecto a la edad, el rango estuvo comprendido entre 1 a 64 años, con una mediana de edad promedio de 16 años. La mayor incidencia de casos fue en la edad pediátrica de 1 a 17años, con un pico de edad de 2 a 3 años (Figura 6 y 7).

Figura 5.

Distribución porcentual de pacientes estudiados según sexo.



Figura 6.

Distribución de pacientes estudiados según edad y sexo.

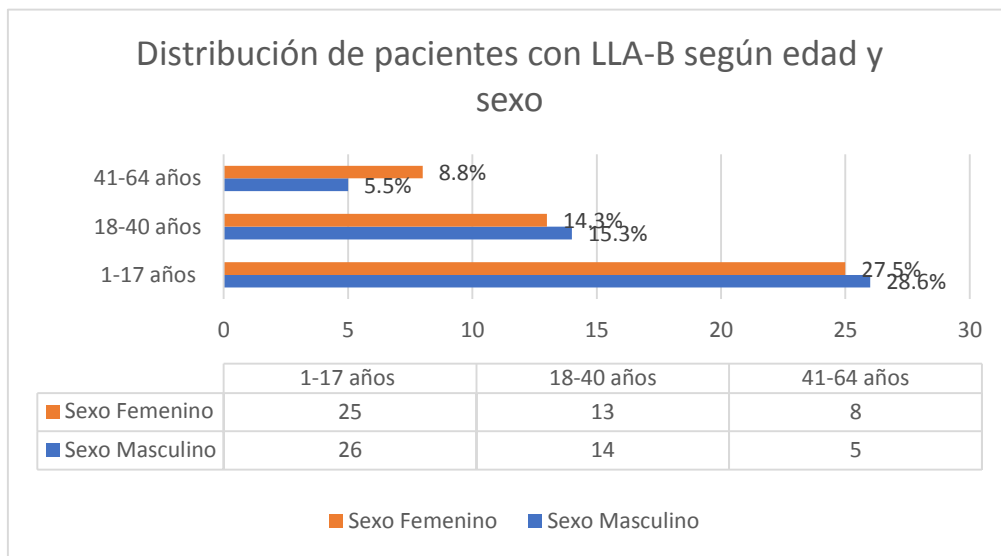
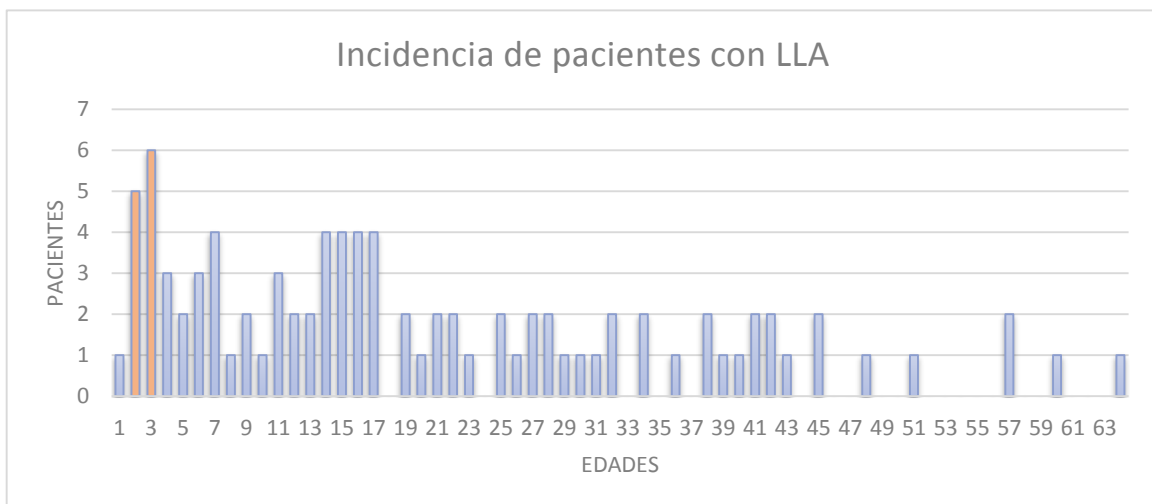


Figura 7.

Incidencia por edades en los pacientes con LLA.



4.2 Translocaciones cromosómicas y genes de fusión recurrentes en LLA-B.

Del total de casos analizados, el 26% (24) presentaron resultados positivos tanto para el estudio de citogenética y el panel molecular para las siguientes translocaciones y genes de fusión (Figura 8). Solo el 17% del total fueron positivos para las translocaciones recurrentes: t(9;22): 12%, t(4;11): 2% y t(1;19): 3%. Y solo el 21% del total presentaron resultado positivo para los genes de fusión: *BCR-ABL*: 16%, *MLL-AF4*: 1% y *E2A-PBX1*: 4%.

a) t(9;22)/*BCR-ABL*

La t(9;22)/*BCR-ABL* se presentó en 20%(18) pacientes, de los cuales el 11 fueron observados por estudio citogenético (t(9;22)), 15 por estudio del panel molecular dando positivo a la presencia del gen de fusión *BCR-ABL* y 8 pacientes tuvieron positivos para ambas técnicas.

b) t(4;11)/*MLL-AF4*

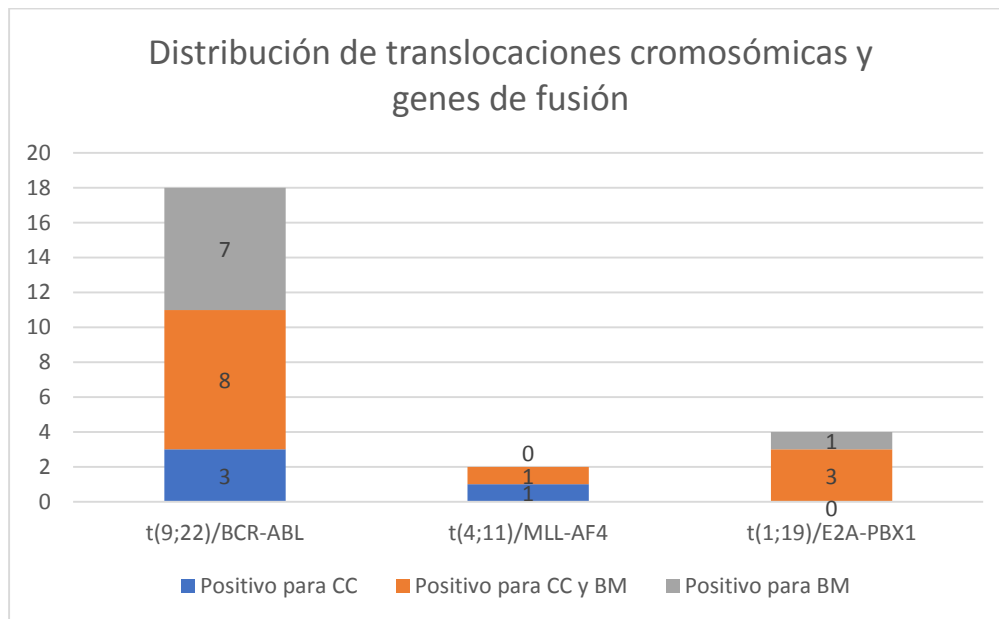
De 2%(2) de t(4;11)/*MLL-AF4*, se evidenció 2 casos para la t(4;11)(q21;q23), se obtuvo 1 paciente positivo para ambos estudios. No encontrándose resultados positivos solamente para el panel molecular (*MLL-AF4*).

c) t(1;19)/*E2A-PBX1*

En 4% (4) pacientes se encontró la t(1;19)/*E2A-PBX1*, presentando para el análisis citogenético en 3 casos, donde se observó como derivado de la translocación t(1;19).y los todos (4) pacientes dieron positivo para el gen de fusión *E2A-PBX1*.

Figura 8.

Translocaciones cromosómicas y genes de fusión recurrentes.



4.3 Alteraciones cromosómicas acompañantes a las translocaciones estudiadas.

a) *t(9;22)(q34;q11)*

El cromosoma Philadelphia (Ph) fue la alteración más frecuente, presentándose sola en 6 pacientes y en 5 pacientes se observó con alteraciones cromosómicas acompañantes como: add(19p), i(17), add(6q), del(13q), del(6q), add(9p) y der(5)t(1;5).

b) *t(4;11)(q21;q23)*

En 2 pacientes, se evidenció la t(4;11), seguida de alteraciones adicionales como: i(7), i(1), una ganancia de la dup(1)(q11q21) y del(8).

c) *t(1;19)(q23.3;13.3)*

Se evidenció la *t(1;19)* para 3 pacientes en el estudio citogenético. En estos casos se encontró la presencia de la *t(1;19)* como derivado del cromosoma 19 producto de la translocación entre los cromosomas 1 y 19: *der(19)t(1;19)*, seguido de alteraciones adicionales numéricas como: -9, -11, -14 y -15. También se evidenciaron cromosomas marcadores de origen desconocido (Tabla 5).

Tabla 5.

Alteraciones citogenéticas acompañantes a las translocaciones.

ESTUDIO CITOGÉNÉTICO	PANEL MOLECULAR
<i>t(9;22)(q34;q11)</i>	<i>BCR-ABL</i>
46,XY/46,XY, <i>t(9;22)(q34;q11)</i> , <i>add(19)x2/46,XY,t(9;22)(q34;q11)</i> , <i>i(17)(q10)</i>	Negativo
46,XY, <i>add(6)(q25)</i> , <i>t(9;22)(q34;q11)</i> , <i>del(13)(q21)[05]/42-45,XY,<i>add(6)(q25)</i>,<i>t(9;22)(q34;q11)</i>,<i>del(13)(q21)[15]</i></i>	Positivo p190
46,XX, <i>t(9;22)(q34;q11.2)</i> , <i>del(6)(q?)</i> , <i>add(9)(p24?)</i> [10]/46,XX[08]	Positivo p190
46,XY, <i>t(9;22)(q34.1;q11)</i> , <i>add(19)(p13)</i> [04]/46,XY[16]	Positivo p190
46,XX[06]/46,XX, <i>t(9;22)(q34;q11)[10]/46,XX,der(5),t(1;5)(q21;q31),t(9;22)(q34;q11)[06]</i>	Positivo p190
<i>t(1;19)(q23.3;13.3)</i>	<i>E2A-PBX1</i>
46,XY, <i>der(19)t(1;19)(q23.3;13.3)</i> [25]	Positivo
46,XY,-9,-11,-14,-15, <i>der(19)t(1;19)(q23.3;p13.3)</i> ,+mar1,+mar2,+mar3,+mar4,cp[25]	Positivo
46,XY, <i>der(19)t(1;19)(q23.3;13.3)</i> , inc[10]/46,XY[10]	Positivo
<i>t(4;11)(q21;q23)</i>	<i>MLL-AF4</i>
46,XX, <i>t(4;11)(q21;q23)</i> , <i>i(7)(q10)</i> [20]	Positivo
47,XY,+dup(1)(q11q21),iso(1)(q10), <i>t(4;11)(q12;q23)</i> , <i>del(8)(q24)</i> [06]/47,XY,+dup(1)(q11q21),iso(1)(q10), <i>del(8)(q24)</i> [14]	Negativo

4.4 Otras alteraciones cromosómicas encontradas.

Dentro del 74% (67) de casos que dieron negativo para las siguientes translocaciones: t(9;22)(q34;q11), t(1;19)(q23;p13) y t(4;11)(q21;q23); y para los siguientes genes de fusión: *BCR-ABL1*, *E2A-PBX1* y *MLL-AF4*; el 54%(49) casos tuvieron un cariotipo normal. Los 20%(18) casos restantes, presentaron otras alteraciones numéricas o estructurales como translocaciones, deleciones, duplicaciones, hipodiploidías, aneuploidías o presencia de cromosomas marcadores, entre otras, detalladas en la tabla 6.

Tabla 6.

Pacientes con otras alteraciones cromosómicas.

ESTUDIO CITOGENÉTICO

46,XX,del(11)(q23)[05]/46,XX[15]
46,XY,del(12)(p13)[07]/46,XY[13]
46,XX,add(5)(q35),del(9)(p22),del(21)(q22.1),inc[20]
46,XY,del(9)(p21->pter),-13,+mar[20]
46,XY,t(12;17)(p13;q12)[24]
47,XY,+1,del(6)(q23)[16]/46,XY[04]
46,XX,add(21)(q22)[20]
55,XX,dup(1)(q31q42),+4,+5,+9,dic(9;12)(p11;p11),+10,+11,+12,+21,+mar1,+mar2[04]/46,XX[02]
53,XY,+X,dup(1)(q21q42)?,+4,+9,+11,-13,+14,del(17q),-18,del(20q),+21,+21,+mar1,+mar2,+mar3[14]/46,XY[06]
45,XX,t(16;19)(p?13.1:p13),-19,-21,+r[04]/46,XX[28]
46,XX[10]/46,XX,del(8)(q?)[06]
55-56,XX,+4,+21,+7,-8,+mar[14]/46,XX[06]
48,XX,-22,+mar1,+mar2,+mar3[20]
46,XY,t(8;11)(q22;p15)[11]
46,XY,del(16)(q22)[03]/Hipotriploidias(58-60cromosomas)[02]/46,XY[16]
46,XX,del(17)(p13)[03]/46,XX[17]
53-55,XX,+del(6)(q?)+14,+17,+21,+mar,inc[23]/46,XX[04]
44,X,-X,del(1)(q?32),del(3)(q21),del(5)(q13),-7,add(12)(p13),-13,-16,add(18)(q23),+mar1,+mar2[08]

4.5 Evaluación de la concordancia mediante el Índice Kappa entre el estudio citogenético y el panel molecular.

a) *t(9;22)/BCR-ABL*

Moderado (0.548) para la *t(9;22)/BCR-ABL* con 8 coincidencias para resultado positivo entre las dos pruebas evaluadoras y con 67 acuerdos entre las pruebas para resultado negativo (Tabla 7)(Figura 9).

Tabla 7.

*Resultados del estudio citogenético con respecto al estudio del panel molecular para *t(9;22)/BCR-ABL*.*

		MOLECULAR		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
CITOGENÉTICA	POSITIVO	8	3	11
	NEGATIVO	7	67	74
	TOTAL	15	70	85

b) *t(4;11)/MLL-AF4*

Se obtuvo un grado de acuerdo Bueno (0.660) para la translocación *t(4;11)/MLL-AF4*, cuyo acuerdo fue en 1 para resultado positivo y 67 resultados negativos, de los 69 casos evaluados (Tabla 8)(Figura 9).

Tabla 8.

*Resultados del estudio citogenético con respecto al estudio del panel molecular para *t(4;11)/MLL-AF4*.*

		MOLECULAR		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
CITOGENÉTICA	POSITIVO	1	1	2
	NEGATIVO	0	67	67
	TOTAL	1	68	69

c) *t(1;19)/E2A-PBX1*

Muy bueno (0.850) para la *t(1;19)/E2A-PBX1*, con 3 coincidencias para resultado positivo en la evaluación, y 67 de ellos con resultado negativo para ambos estudios (Tabla 9) (Figura 9).

Tabla 9.

*Resultados del estudio citogenético con respecto al estudio del panel molecular para *t(1;19)/E2A-PBX1*.*

		MOLECULAR		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
CITOGENÉTICA	POSITIVO	3	0	3
	NEGATIVO	1	67	68
	TOTAL	4	67	71

Figura 9.

Concordancia encontrada entre el análisis citogenético y el panel molecular de toda la población estudiada.

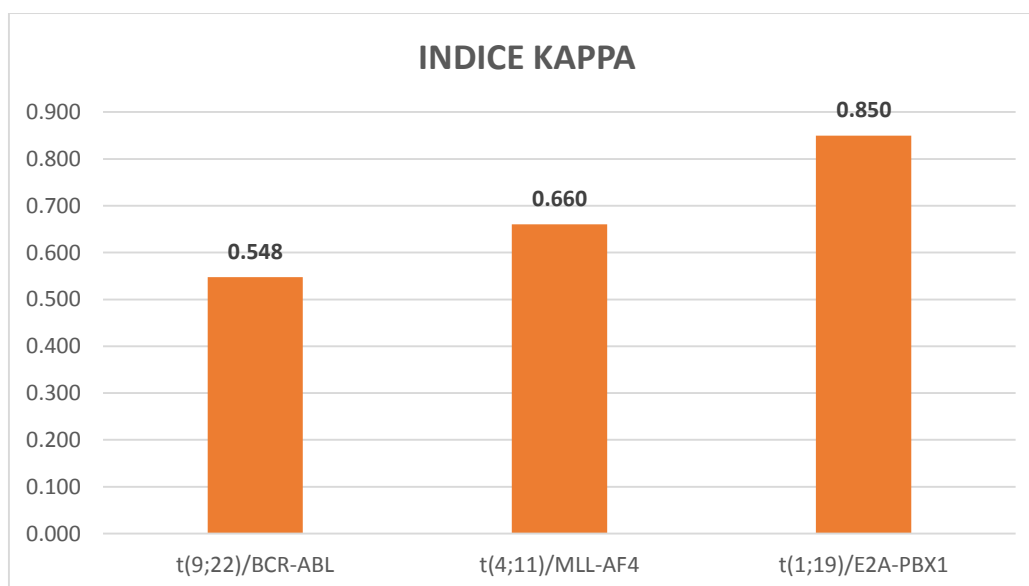
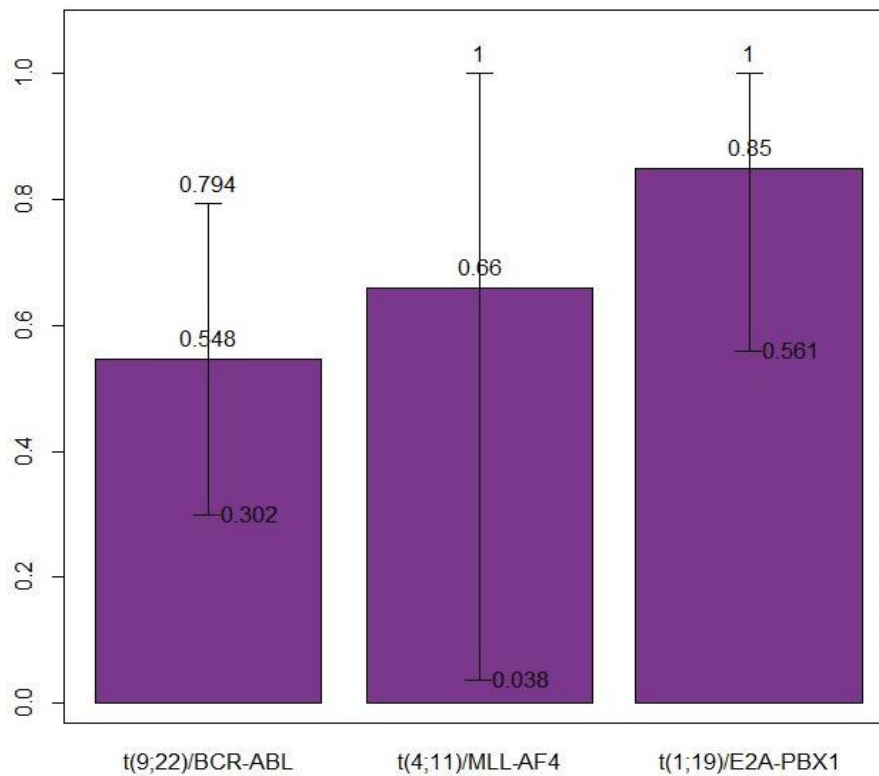


Figura 10.

Valores de concordancia entre el análisis citogenético y el panel molecular de toda la población estudiada.



En la figura 10, podemos observar los intervalos de confianza (IC) encontrados para cada translocación/gen de fusión estudiado:

- Para el estudio de t(9;22)/ *BCR-ABL* el IC al 95% va de 0.302 a 0.794
- Para el estudio de t(4;11)/ *MLL-AF4* el IC al 95% va de 0.038 a 1
- Para el estudio de t(1;19)/ *E2A-PBX1* el IC al 95% va de 0.561 a 1

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 Proporción de edad y sexo en pacientes con LLA.

La proporción de los pacientes estudiados con LLA entre hombre y mujeres fue 1:1, semejante a lo reportado por Quero et al., 2013; Alva, 2014; sin embargo, hay grupos que reportan una prevalencia aproximada de hombres sobre mujeres de 1.3:1 (Bassan & Hoelzer, 2011; Siegel et al., 2012; Amaru et al., 2008); y otros como Villalba et al. (2016) refieren una incidencia mayor en mujeres que en hombres, sugiriendo que no hay una frecuencia establecida.

En cuanto a la edad, se encontró la mediana de 16 años, siendo menor a lo observado en la literatura por González et al. (2012); quien reportó una mediana de 26 años en leucemia aguda, semejante a lo reportado por Secker & Walker, (1997) que reportaron una mediana de 28 años.

También encontramos que la mayor incidencia de casos con LLA, fue reportada en la edad pediátrica de 1 a 17 años, correspondiendo al 56% del total, semejante a lo reportado por Amaru et al. (2008), reportando que el 64% de las LLA ocurría en edad pediátrica. Mientras que para Diaz et al. (2015); Mejía (2010); Pui et al. (2008); las LLA representan cerca del 77% de todas las leucemias en edad pediátrica y un 15% en adultos.

En este estudio encontramos que la incidencia pico alcanza entre los 2 y 3 años, semejante a lo reportado por otros autores (Velázquez et al., 2016; Villalba et al., 2016; Diaz et al., 2015; Alva, 2014; Qureshi et al., 2013; Inaba et al., 2013; Pui et al., 2008), los cuales reportaron que la mayor incidencia de LLA alcanzaba un pico entre los 2 y 5 años. No se observó el segundo pico de incidencia en pacientes mayores de 50 años como reportan otros estudios (Brito et al., 2017; Harrison, 2001; Amaru et al., 2008). Posiblemente debido a la poca cantidad de casos presentados en edad adulta.

5.2 Translocaciones cromosómicas y genes de fusión recurrentes en LLA-B.

Las frecuencias de las anomalías cromosómicas han diferido entre laboratorios de citogenética, presentándose en las LLA un promedio entre 51 y 90% (Rubin & Le Beau, 1991). Según lo reportado por h & Rivera (2004), ellos encontraron una distribución entre los cariotipos normales y aquellos con anomalías del 29% y 71% respectivamente. Otham et al. (2015) realizó un estudio en el cual el 34% de sus casos, presentaron aberraciones cromosómicas.

Aproximadamente el 75% de los casos de LLA de células B precursoras albergan una alteración cromosómica recurrente detectable mediante técnicas de citogenética convencional (Mullighan, 2012; Al-Bahar et al., 2010). Se encuentran alteraciones similares en adultos y niños, aunque con una distribución de frecuencia diferente (Ghazavi et al., 2015).

En este estudio se encontró que el 46% presentó alguna anomalía cromosómica (estructurales y numéricas); mientras que el 54% presentó cariotipo normal, y estudio de panel molecular negativo.

Las translocaciones cromosómicas: t(9;22), t(4;11) y t(1;19) se presentaron en un 12%, 2% y 3% respectivamente.

En el presente estudio se encontró una incidencia de la t(9;22) del 12%, esta incidencia difiere de otros autores como Bhandari et al. (2015) y Arteaga-Ortiz et al. (2008) que encontró en un 15.8% y 16.7% la presencia de esta translocación; mientras que otros autores (Venegas & Rivera, 2004; Al-Bahar et al., 2010) reportaron una incidencia menor a lo reportado en nuestro estudio (3% y 2%, respectivamente). Sin embargo, Moorman et al. (2012), encuentran una incidencia marcada por el incremento en la edad, encontrando un 2% en niños, 20% en adultos y un 40% en adultos mayores.

La t(4;11) se encuentra en 40-50% en lactantes con LLA, 2-3% en niños y adolescentes y en alrededor del 10% en adultos mayores de 20 años (Moorman et al., 2012; Marks et al., 2013). En nuestro grupo de estudio se encontró una frecuencia de 2%, similar a lo reportado por Bhandari et al. (2015); mientras que otros estudios difieren con un 3% y 4% según Venegas & Rivera (2004); Secker-Walker et al. (1997) y Al-Bahar et al. (2010), respectivamente.

La t(1;19) representa en este estudio un 3%; semejante a lo mencionado por Secker-Walker et al. (1997). Ha sido reportado para esta translocación una frecuencia del 2-6% sin variación aparentemente con la edad (Al-Bahar et al., 2010; Moorman et al., 2012; Heim y Mitelman, 2015; Tirado et al., 2015). Según Heim & Mitelman (2015), puede presentarse de forma balanceada o desbalanceada, en la cual el cromosoma derivado 19 solo está presente, lo cual coincide por lo encontrado en este estudio. La forma desbalanceada es la más común, y representa el 75% de los casos (Shearer et al. 2005; Heim & Mitelman, 2015; Nuñez-Enríquez et al., 2015), en este estudio se evidenció la forma desbalanceada en todos los casos reportados.

Los genes de fusión: *BCR-ABL*, *MLL-AF4* y *E2A-PBX* se evidenciaron en un 16%, 1% y 4% respectivamente.

En el presente estudio, se evidenció que el 16% fue positivo para el gen de fusión *BCR-ABL*. Esto se asemeja al porcentaje encontrado por Mora et al. (2011) en el cual encontraron un porcentaje de 17.4%. Mientras que otros autores difieren con este resultado: 13% (Singh et al., 2018), 7% (Carranza et al., 2013), 14% (Ruiz-Delgado et al., 2011).

Pui et al. (2011) encontraron que la fusión *MLL-AF4* esta descrita en menos del 5% de todos los casos de LLA-B; pero en pacientes menores de 1 año la proporción aumenta hasta 85%. En nuestro estudio se observó para *MLL-AF4* en 1%, el cual corresponde a un solo caso. Otros autores (Mora et al., 2011; Singh et al., 2018) reportaron también un solo caso positivo para *MLL-AF4* que representaría a un 4.3% y 1.4%.

El gen de fusión *E2A-PBX1* se detecta en aproximadamente el 5% de los pacientes con ALL y se asocia con el fenotipo de las células B (Sera, 2016; Aspland, 2001). En este estudio se evidenció en un 4%, dentro de los valores que van desde 2-5% según lo reportado por los siguientes autores; Moorman et al. (2010) y Carranza et al. (2013). Sin embargo, en un estudio anterior de esta misma institución de estudio se observó una incidencia del 8.7% solo en la población pediátrica (Mora et al., 2011).

5.3 Alteraciones cromosómicas acompañantes a las translocaciones estudiadas.

Las alteraciones cromosómicas acompañantes más frecuentes para t(9;22) encontradas en este estudio fueron: add(19p), i(17), add(6q), del(13q), del(6q), add(9p) y der(5)t(1;5). El significado clínico del material cromosómico adicional en la región telomérica se desconoce, el mecanismo molecular más probable es que dichas regiones deben estar presentes los oncogenes, que al estar sobreexpresados favorecerían la evolución clonal (Heim & Mitelman, 2015). Las deleciones han sido reportadas en las bases de datos internacionales como Mitelman Database of Chromosome Aberrations and Gene Fusions in Cancer, como una anomalía cromosómica adquirida en la leucomogénesis.

El isocromosoma 17q, en su formación lleva a la pérdida total del brazo corto y la ganancia de todo el brazo largo, en el brazo corto se ubica el gen supresor de tumores p53, por tanto, la pérdida de la región que incluye al gen p53 favorecería la evolución clonal e impide la respuesta a Imatinib *in vivo* e *in vitro* (Wendel et al., 2006; Fioretos et al., 1999). Actualmente se plantea que la presencia del isocromosoma 17q, debería ser considerado como un subgrupo de la Leucemia Mieloide Crónica con características clínicas patológicas propias y con alto riesgo de progresión de enfermedad (El Gendi et al., 2016).

Tal como se describe en el Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology, las translocaciones desbalanceadas entre 1q y 5q son anomalías cromosómicas detectables en un amplio espectro de neoplasias hematológicas que incluyen neoplasmas linfoides y mieloides. Por lo general el der(5)t(1;5) se presenta con anomalías primarias como t(9;22), por lo tanto, aparentemente es un evento secundario que precede o acompaña a la evolución de la enfermedad. En dos estudios se encuentra la asociación de la t(9;22) con esta anomalía estructural (Saikevych et al., 1991; Rieder et al., 1996).

Anormalidades cromosómicas adicionales que acompañaron a la t(4;11), estuvieron presentes en 41% de los pacientes en quienes el análisis citogenético fue exitoso (Marks et al., 2013). Las anomalías citogenéticas adicionales más comunes fueron ganancia del cromosoma X, i(7)(q10) y anomalías de 1p (Marks et al., 2013). En nuestro estudio se evidenciaron alteraciones cromosómicas acompañantes a la t(4;11) tales como: i(7), i(1), una ganancia de la dup(1)(q11q21) y del(8)(q24); lo que coincide con lo reportado en la bibliografía (Heim & Mitelman, 2015; Johansson et al., 1998).

En este estudio se evidenció la t(1;19) de su forma desbalanceada: der(19)t(1;19) en todos sus casos. Solo se observaron en este estudio pérdidas cromosómicas tales como: -9, -11, -14 y -15; acompañando a la translocación no balanceada, lo cual Heim & Mitelman (2015), lo mencionan como alteraciones producto de la reducción general en el número de cromosomas que puede ser atribuible a la pérdida de cromosomas completos o a translocaciones desequilibradas que dan como resultado cromosomas dicéntricos. Las pérdidas cromosómicas completas más frecuentes son de los cromosomas X, Y, 7, 9 y 13 (Harrison & Johansson, 2015).

También se evidenciaron marcadores cromosómicos (cromosoma anormal cuyo origen no puede ser identificado mediante técnicas de citogenética convencional y su símbolo es mar).

Los marcadores cromosómicos han sido descritos por otros autores como anormalidades cromosómicas adquiridas en LLA (Moosavi et al., 2009; Rigvardhan et al., 2015).

5.4 Otras alteraciones cromosómicas encontradas.

En este estudio encontramos que el 54% tuvieron cariotipo normal y el 20% presentaron alteraciones numéricas y estructurales diferentes a las translocaciones estudiadas; similar a lo reportado por Venegas & Rivera (2004) (21%) y Bhandari et al. (2015) (28%).

La presencia de alteraciones cromosómicas numéricas (pérdidas o ganancias), deleciones, adiciones y marcadores cromosómicos han sido descritas como anormalidades cromosómicas adquiridas en LLA B (Rigvardhan et al., 2015; Harrison & Johansson, 2015).

Las translocaciones reportados fueron: $t(12;17)(p13;q12)$, $t(8;11)(q22;p15)$ y $t(16;19)(p?13.1;p13)$.

La $t(12;17)(p13;q12)$, conduce a un gen de fusión *TAF15-ZNF384* que se caracteriza en un subgrupo específico de LLA (Nyquist et al., 2011), se encuentra reportada en seis estudios en la base de datos del Mitelman Database of Chromosome Aberrations and Gene Fusions in Cancer.. Se ha informado en leucemia linfóide y mieloide y se cree que participa en la diferenciación temprano de progenitores comunes (Kim et al., 2016; Yao et al., 2017).

Las otras translocaciones reportadas en este estudio, $t(8;11)$ y $t(16;19)$ en los puntos de cortes descritos no han sido descritas en Mitelman Database of Chromosome Aberrations and Gene Fusions in Cancer, Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology y otras publicaciones, como anormalidades cromosómicas adquiridas en LLA.

También se reportaron dos casos con duplicaciones del 1q: $dup(1)(q31q42)$ y $dup(1)(q21q42)$. Harrison y Johansson (2015), nos describe esta anomalía cromosómica como

una duplicación frecuente en LLA y raramente se encuentra como la única anomalía, por lo que se considera como una aberración secundaria.

5.5 Evaluación de la concordancia mediante el Índice kappa (k) entre el estudio citogenético y el panel molecular.

5.5.1 *t(9;22) / BCR-ABL*

En el presente estudio se ha observado una concordancia moderada (0.548) para la *t(9;22)/BCR-ABL* con 8 coincidencias para resultado positivo entre las dos pruebas evaluadoras, difiriendo de otro autor que refleja una concordancia de bueno ($k=1$), donde encontraron una concordancia perfecta en cuatro resultados positivos que fueron observados en el estudio citogenético y en el estudio molecular (Nordkamp et al., 2009).

Osumi et al. (2002) realizaron un estudio donde se examinaron 38 muestras para evaluar la concordancia del estudio citogenético y el estudio de PCR en tiempo real. En 12 de 38 muestras, los resultados de PCR estuvieron de acuerdo con los datos citogenéticos, en las que se habían detectado las translocaciones cromosómicas (*BCR/ABL*, *AML1/MTG8*, *PML/RAR α* , *CBF β /MYH11*, *TEL/AML1*, *E2A/PBX1*, *MLL/AF4* y *MLL/AF9*). Sin embargo, las translocaciones se detectaron sólo por PCR en tiempo real en 4 de los restantes 26, debido a la cantidad insuficiente de metafases obtenidas y translocaciones submicroscópicas.

Tang et al. (2015) realizaron un estudio para evaluar la concordancia de la expresión de CD66c y *BCR/ABL1* en pacientes con LLA-B durante el monitoreo de la enfermedad mínima residual, aplicando técnicas citogenéticas, FISH y RT-PCR para 43 pacientes, se observó una correlación significativa entre la presencia del cromosoma Ph (17/43) y la expresión del gen de fusión *BCR-ABL1* (26/43).

Cox et al. (1998) en su estudio sobre el análisis comparativo de FISH, RT-PCR y citogenética para diagnóstico de leucemias *BCR/ABL* positivas, encontraron del total de 75 pacientes analizados: 34 fueron positivos para Ph por citogenética, 37 fueron positivos para *BCR/ABL* por RT-PCR y 38 fueron positivos para *BCR/ABL* por FISH. El análisis FISH demostró ser simple, confiable y sensible.

Latif et al. (2006) evaluaron el papel del FISH en la detección del gen *BCR/ABL* en pacientes con LMC. También compararon la sensibilidad, la especificidad y la tasa de detección del gen *BCR/ABL* utilizando los métodos de FISH, PCR y citogenética convencional. La sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivos de FISH fueron del 100%, mientras que la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivos para la citogenética convencional fueron del 85%, 100% y 100%, respectivamente. Demostrando que FISH es un método altamente sensible y que la citogenética convencional sigue siendo importante en el estudio de pacientes ya que detecta aberraciones cromosómicas además de la translocación Ph.

5.5.2 *t(4;11) / MLL-AF4*

Se obtuvo un grado de acuerdo Bueno (0.660) para la translocación *t(4;11)/MLL-AF4*, semejante a lo reportado por Nordkamp et al. (2009), cuyo acuerdo fue bueno ($k=0.85$).

Un estudio realizado por Alonso et al. (2006), encontraron 11 casos con *t(4;11)/MLL-AF4*, en 6 casos el diagnóstico fue confirmado por ambas técnicas, pero biología molecular amplió la detección en 5 casos: en 3 de ellos no se había obtenido metafases evaluables para el análisis y en 2 la *t(4;11)* no había sido detectada. El rearrreglo *MLL-AF4* puede presentarse en forma de translocaciones crípticas, que sólo son detectables por técnicas moleculares como RT-PCR y FISH (Poppe et al., 2005; Alonso et al., 2006).

A von Bergh et al. (2001), presentaron un reporte de caso con la demostración de una translocación críptica (4;11) debido a la inserción de secuencias *MLL* en 5' en el cromosoma 4 y, en consecuencia, codifica una transcripción de fusión *MLL-AF4*. Esto se basó principalmente en la detección por RT-PCR de las transcripciones de *MLL-AF4* y se interpretó como una falla en el análisis de las metafases leucémicas o por la presencia de una supuesta reordenación cromosómica críptica.

Afrin et al. (2018), realizó un estudio basado en la nueva técnica de Secuenciamiento de Nueva Generación (NGS) comparado con PCR multiplex en 39 pacientes con leucemia pediátrica. Encontrando en la metodología de NGS una sensibilidad mejorada en comparación con los métodos de diagnóstico actuales para la leucemia con *MLL*.

5.5.3 *t(1;19) / E2A-PBX1*

En nuestro estudio, se ha encontrado una concordancia con acuerdo de Muy bueno (0.850) para la *t(1;19)/E2A-PBX1*. Este rearrreglo se encontró en 4 pacientes, presentándose para el análisis citogenético solo en 3 casos, donde se observó como derivado del cromosoma 19 producto de la translocación *t(1;19)*; en cambio en el resultado del estudio molecular todos los pacientes (4) dieron positivo para el gen de fusión *E2A-PBX1*.

Alonso et al. (2006), realizaron una investigación donde compararon la detección de la *t(1;19)* por citogenética convencional y su respectivo gen de fusión *E2A/PBX1* mediante RT-PCR; en 4 casos coincidieron los resultados para ambas técnicas, sin embargo en dos casos adicionales no hubo coincidencia: siendo detectado uno de ellos solo por RT-PCR, donde la muestra para citogenética no fue evaluable y el otro caso se detectó la *t(1;19)* por citogenética y no hubo presencia del transcripto *E2A/PBX1* por biología molecular.

Tirado et al. (2015) en su reporte de caso encontraron que la *t(1;19)* se observa en hiperdiploidías asociadas a un resultado deficiente. Donde recalca la importancia de confirmar

el gen de fusión mediante FISH para la clasificación molecular adecuada y la estratificación de riesgo del paciente.

De modo general, según lo reportado por Tang et al. (2015) el análisis de cariotipo siempre tiene una menor sensibilidad de detección, debido a muchos factores incontrolables, pero en su estudio demostró una alta especificidad.

Así mismo en otras publicaciones (Kumar et al., 2015; Pandita et al., 2015) encontraron en sus trabajos coincidencias del estudio citogenético y el estudio molecular por RT-PCR en los siguientes genes de fusión reportados: *BCR-ABL*, *MLL-AF4*, *E2A-PBX1* y *TEL-AML1*. Donde el diagnóstico molecular aumentó la detección de anomalías debido a su alta sensibilidad; sin embargo, el estudio citogenético nos permite observar más alteraciones que acompañan a las translocaciones estudiadas y que tienen importancia pronóstica.

Otras publicaciones reflejan un alto grado de concordancia recíproca entre el estudio citogenético, FISH y RT-PCR en pacientes con leucemia (Nordkamp et al., 2009; Van Dongen et al., 1999).

Cada una de las concordancias encontradas presentaron un margen de variabilidad muy amplio con un intervalo de confianza al 95% (fig 10), siendo afectado posiblemente por el tamaño de muestra, así como la escasez de casos positivos, pero a pesar de ello nuestros valores obtenidos estaban en relación a lo que se observa día a día en el laboratorio al comparar estas dos pruebas, sin embargo es de importancia generar un intervalo de confianza de márgenes reducido para darle una precisión estadística tal como lo indica Domínguez-Lara (2016), mencionando que este cálculo adicional (IC) es información relevante y complementaria a los hallazgos encontrados.

VI. CONCLUSIONES

En este estudio la t(9;22) y su respectivo gen de fusión *BCR-ABL* es la más frecuente en pacientes con LLA, encontrándose en el 12% de los casos para la translocación citogenética y en 16% para el gen de fusión *BCR-ABL*. Determinándose con mayores casos mediante el PCR, debido a que la t(9;22), tiende a manifestar de manera críptica y no es observable por citogenética convencional.

Todos los pacientes que presentaron la t(1;19) se evidenciaron pero de la manera derivada, como derivado del cromosoma 19, producto de la translocación entre los cromosomas 1 y 19. Esto fue determinado en el 100% de nuestros casos con la t(1;19).

Las translocaciones t(8;11)(q22;p15) y t(16;19)(p13.1;p13), fueron reportadas cada una en un paciente distinto. Estas dos translocaciones no han sido reportadas en la literatura en pacientes con LLA hasta la fecha.

Existe una alta concordancia en los resultados obtenidos de las siguientes translocaciones: La concordancia más cercana a 1, con un grado de concordancia de Muy bueno ($k=0.85$), fue para la t(1;19) y el gen de fusión *E2A-PBX1*.

En el análisis de citogenética convencional se pueden identificar alteraciones estructurales como las más frecuentes en LLA (t(9;22), t(1;19), etc) pero el estudio de biología molecular puede determinar estos genes de fusión productos de las translocaciones con mayor sensibilidad. Inclusive puede determinar aquellas translocaciones estructurales crípticas que por citogenética no pudieron observarse.

El análisis citogenético es una técnica muy usada en pacientes con leucemia y siempre será considerado como una de las primeras pruebas para determinar pronóstico, debido a que

además de ofrecernos alteraciones conocidas nos permite observar alteraciones acompañantes que nos van a permitir determinar el tipo de riesgo en los pacientes.

Mediante la técnica de PCR cualitativo: Panel de LLA, se pudieron observar mayores casos positivos para los genes de fusión estudiados.

El incrementar la población de estudio, aumentará el número de casos positivos generando valores de índice kappa con variabilidad más estrecha y a la vez mayor precisión.

VII. RECOMENDACIONES

Realizar un seguimiento de los casos que fueron discordantes en sus resultados del estudio citogenético y molecular para poder determinar con exactitud si son casos crípticos o fallas en el proceso.

Siempre tomar en cuenta la complementariedad de estas técnicas: citogenética y biología molecular, no pueden ser reemplazadas ni sustituidas, se deben trabajar siempre en conjunto.

Implementar las nuevas técnicas de diagnóstico como FISH y CGH-array (Oncoarray), que permiten tener una mayor sensibilidad con los resultados, para evitar falsos negativos o falsos positivos.

La implementación de técnicas mucho más rápidas y completas como el NGS, servirían para una rápida y mejor estratificación de riesgo y pronóstico del paciente. Inclusive, mediante la implementación de paneles en NGS en leucemia, permitiría una terapia personalizada (farmacogenética).

Se debe considerar un número significativo de positivos y negativos para evaluar la concordancia mediante la índice kappa, independiente del número muestra total.

VIII. REFERENCIAS

- Al-Bahar, S., Zámečníkova, A. & Pandita, R. (2010). Frequency and type of chromosomal abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia patients in Kuwait: a six-year retrospective study. *Medical Principles and Practice, 19*(3), 176-181.
- Alonso, C. N., Gallego, M. S., Alfaro, E. M., Rossi, J. G. & Felice, M. S. (2006). Caracterización molecular en leucemia linfoblástica aguda pediátrica en una institución hospitalaria. *Pediatric lymphoblastic leukemia molecular characterization in a single institution. Hematologica, 10*, 8-12.
- Alva, C. A. (2014). *Características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con diagnóstico de leucemia aguda debut en el Servicio de Hematología del Hospital Regional de Cajamarca de enero de 2010 a diciembre de 2013*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Cajamarca]. Repositorio Institucional UNC. <http://repositorio.unc.edu.pe/handle/UNC/196>
- Amaru, R., Torres, G., Limachi, M., Peñaloza, R., Miguez, H., Luz Vargas, M., Villarroel, M., Macias, J. & Cuevas, H. (2008). Epidemiología de las leucemias en Bolivia: Evaluación de 933 casos. *Cuadernos Hospital de Clínicas, 53*(2), 9-15.
- Arber, D. A., Orazi, A., Hasserjian, R., Thiele, J., Borowitz, M. J., Le Beau, M. M., Bloomfield, C. D., Cazzola, M. & Vardiman, J. W. (2016). The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood, 127*(20), 2391-2405.
- Arteaga-Ortiz, L., Buitrón-Santiago, N., Rosas-López, A., Rosas-Arzate, G., Armengolt-Jiménez, A., Aguayo, Á., López-Karpovitch, X. & Crespo-Solís, E. (2008). Acute lymphoblastic leukemia: experience in adults patients treated with hyperCVAD and 0195

- Protocol, at the Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Cohort 2003-2007. *Revista de Investigación Clínica*, 60(6), 459-469.
- Aspland, S. E., Bendall, H. H. & Murre, C. (2001). The role of *E2A-PBX1* in leukemogenesis. *Oncogene*, 20(40), 5708-5717.
- Atienza, A. L. (2016). Leucemias. Leucemia linfoblástica aguda. *Pediatría Integral*, 20(6), 380-389.
- Baranger, L., Cuccuini, W., Lefebvre, C., Luquet, I., Perot, C., Radford, I. & Lafage-Pochitaloff, M. (2016, September). Cytogenetics in the management of children and adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). In *Annales de biologie clinique* (Vol. 74, No. 5, pp. 547-560).
- Bassan, R. & Hoelzer, D. (2011). Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia. *Journal of clinical oncology*, 29(5), 532-543.
- Bhandari, P., Ahmad, F., Dalvi, R., Koppaka, N., Kokate, P., Das, B. R. & Mandava, S. (2015). Cytogenetic profile of de novo B lineage acute lymphoblastic leukemia: determination of frequency, distribution pattern and identification of rare and novel chromosomal aberrations in Indian patients. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(16), 7219-7229.
- Braoudaki, M. & Tzortzatou-Stathopoulou, F. (2012). Clinical cytogenetics in pediatric acute leukemia: an update. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, 12(4), 230-237.
- Brito, R., Rojas, A., Prieto, C., Gonzalez, S., Urdaneta, K., Atencio, R., Zadis, J. & Quintero, M. (2017). Metilación de genes supresores de tumores en pacientes venezolanos con leucemia linfocítica aguda. *Investigación Clínica*, 58(2), 128-139.

- Buckle, V. J. & Kearney, L. (2001). Cytogenetics in haematology. *Baillière's best practice & research. Clinical haematology*, 14(3).
- Carranza, C., Granados, L., Morales, O., Jo, W., Villagran, S., Tinti, D., Villegas, M., Antillón, F., Torselli, S. & Silva, G. (2013). Frequency of the *ETV6-RUNX1*, *BCR-ABL1*, *TCF3-PBX1*, and *MLL-AFF1* fusion genes in Guatemalan pediatric acute lymphoblastic leukemia patients and their ethnic associations. *Cancer genetics*, 206(6), 227-232.
- Cocché, M. C., Alonso, C. N., Rossi, J. G., Bernasconi, A. R., Rampazzi, M. A., Felice, M. S., Rubio, P. L., Eandi, S., Medina, A. & Gallego, M. S. (2015). Cytogenetic and molecular findings in children with acute lymphoblastic leukemia: experience of a single institution in Argentina. *Molecular syndromology*, 6(4), 193-203.
- Cooper, S. L. & Brown, P. A. (2015). Treatment of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric Clinics*, 62(1), 61-73.
- Cui, C., Shu, W. & Li, P. (2016). Fluorescence in situ hybridization: cell-based genetic diagnostic and research applications. *Frontiers in cell and developmental biology*, 4, 89.
- Díaz-Ruiz, R., Aguilar-López, L., Vega-Ruiz, A., Garcés-Ruiz, O., Nava-Zavala, A. & Rubio-Jurado, B. (2015). Análisis de características clinicobiológicas de leucemia aguda linfoblástica (LAL) del adulto. *Gaceta Médica de México*, 151(1), 150-156.
- Dixon-McIver, A. (2015). Emerging technologies in paediatric leukaemia. *Translational pediatrics*, 4(2), 116.
- Domínguez-Lara, S. A. (2016). Intervalos de confianza para el coeficiente kappa en Sánchez-Sánchez et al. *Enfermería intensiva*, 27(3), 132.

- El Gendi, H. M., Fouad, D. A., Mohamed, A. A., Eissa, D. G. & Mostafa, N. N. (2016). Clinicopathologic features and prognostic impact of isochromosome 17q in chronic myeloid leukemia patients. *The Egyptian Journal of Haematology*, 41(1), 9.
- Escherich, G., Zimmermann, M., Janka-Schaub, G. & CoALL study group. (2013). Doxorubicin or daunorubicin given upfront in a therapeutic window are equally effective in children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia. A randomized comparison in trial CoALL 07-03. *Pediatric blood & cancer*, 60(2), 254-257.
- Fielding, A. K., Rowe, J. M., Buck, G., Foroni, L., Gerrard, G., Litzow, M. R., Lazarus, H., Luger, S. M., Marks, D. I., McMillan, A. K., Moorman, A. V., Patel, B., Paietta, E., Tallman, M. S. & Goldstone, A. H. (2014). UKALLXII/ECOG2993: addition of imatinib to a standard treatment regimen enhances long-term outcomes in Philadelphia positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 123(6), 843-850.
- Fioretos, T., Strömbeck, B., Sandberg, T., Johansson, B., Billström, R., Borg, Å., Nilsson, P., Van Den Berghe, H., Hagemeijer, A., Mitelman, F. & Höglund, M. (1999). Isochromosome 17q in blast crisis of chronic myeloid leukemia and in other hematologic malignancies is the result of clustered breakpoints in 17p11 and is not associated with coding TP53 mutations. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 94(1), 225-232. https://doi.org/10.1182/blood.V94.1.225.413k24_225_232
- Ghazavi, F., Lammens, T., Van Roy, N., Poppe, B., Speleman, F., Benoit, Y., Van Vlierberghe, P. & De Moerloose, B. (2015). Molecular basis and clinical significance of genetic aberrations in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Experimental hematology*, 43(8), 640-653.

- González-Salas, W. M., Olarte-Carrillo, I., Gutiérrez-Romero, M., Montaña-Figueroa, E. H., Martínez-Murillo, C. & Ramos-Peñañiel, C. O. (2012). Frecuencia de leucemias agudas en un hospital de referencia. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 50(2), 167-171.
- Guevara, L. C., Ramírez, C. E. Z., Escobar, E. A. R. & Paredes, M. M. V. (2016). Leucemias en menores de 15 años. *Revista Colombiana Salud Libre*, 10(2), 97.
- Harrison, C. J. (2001). Acute lymphoblastic leukaemia. *Best practice & research Clinical haematology*, 14(3), 593-607.
- Harrison, C. J. & Johansson, B. (2009). Acute lymphoblastic leukemia. En Heim, S. & Mitelman, F. (Eds.), *Cancer cytogenetics* (pp. 233-296). John Wiley & Sons.
- Herráez, A. (2012). *Biología molecular e ingeniería genética: Conceptos, técnicas y aplicaciones en ciencias de la salud* (2a ed.) (pp. 199-208). Elsevier health sciences.
- Hunger, S. P. & Mullighan, C. G. (2015). Acute lymphoblastic leukemia in children. *New England Journal of Medicine*, 373(16), 1541-1552.
- Huret, J. L., Ahmad, M., Arsaban, M., Bernheim, A., Cigna, J., Desangles, F., Guignard, J.C., Jacquemot-Perbal, M.C., Labarussias, M., Leberre, V., Malo, A., Morel-Pair, C., Mossafa, H., Potier, J.C., Texier, G., Viguié, F., Wan Senon, S., Zasadzinski, A. & Dessen, P. (2013). Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology in 2013. *Nucleic acids research*, 41(D1), D920-D924. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1082>
- Inaba, H., Greaves, M. & Mullighan, C. G. (2013). Acute lymphoblastic leukaemia. *The Lancet*, 381(9881), 1943-1955.

- INEN (2019a). Documento técnico: Tratamiento médico oncológico de Leucemia Linfoblástica Aguda en niños. Departamento de Oncología pediátrica pp. 7-8. Recuperado de <https://portal.inen.sld.pe/wp-content/uploads/2019/10/RJ-364-2019.pdf>
- INEN (2019b). Documento técnico: Tratamiento médico oncológico de Leucemia Linfoblástica Aguda en adolescentes y adultos. Departamento de Oncología pediátrica p. 7. Recuperado de <https://portal.inen.sld.pe/wp-content/uploads/2019/10/RJ-364-2019.pdf>
- Jiménez Bonilla, R. (2004). Historia e investigación de la leucemia en Costa Rica. *Revista de biología tropical*, 52(3), 559-569.
- Jiménez-Morales, S., Hidalgo-Miranda, A. & Ramírez-Bello, J. (2017). Leucemia linfoblástica aguda infantil: una aproximación genómica. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 74(1), 13-26.
- Johansson, B., Moorman, A. V., Haas, O. A., Watmore, A. E., Cheung, K. L., Swanton, S. & Secker-Walker, L. M. (1998). Hematologic malignancies with t(4;11)(q21;q23)—a cytogenetic, morphologic, immunophenotypic and clinical study of 183 cases. *Leukemia*, 12(5), 779-787.
- Kallioniemi, O. P., Kallioniemi, A., Piper, J., Isola, J., Waldman, F. M., Gray, J. W. & Pinkel, D. (1994). Optimizing comparative genomic hybridization for analysis of DNA sequence copy number changes in solid tumors. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 10(4), 231-243.
- Kim, B. R., Choi, J. L., Kim, J. E., Woo, K. S., Kim, K. H., Kim, J. M., Kim, S. H. & Han, J. Y. (2014). Diagnostic utility of multiprobe fluorescence in situ hybridization assay for detecting cytogenetic aberrations in acute leukemia. *Annals of laboratory medicine*, 34(3), 198-202.

- Kim, J., Kim, H. S., Shin, S., Lee, S. T. & Choi, J. R. (2016). t(12;17)(p13;q12)/TAF15-ZNF384 rearrangement in acute lymphoblastic leukemia. *Annals of laboratory medicine*, 36(4), 396-398.
- Klinger, K., Landes, G., Shook, D., Harvey, R., Lopez, L., Locke, P., Lerner, T., Osathanondh, R., Leverone, B., Houseal, T., Pavelka, K. & Dackowski, W. (1992). Rapid detection of chromosome aneuploidies in uncultured amniocytes by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *American journal of human genetics*, 51(1), 55.
- Koutsis, A. & Vervesou, E. C. (2018). Diagnostic molecular techniques in haematology: recent advances. *Annals of translational medicine*, 6(12).
- Kumar, D., Panigrahi, M. K., Saikia, K. K., Kapoor, G. & Mehta, A. (2015). Molecular analysis of childhood B-acute lymphoblastic leukemia: Identification and prognosis of rare breakpoints. *Molecular Biology*, 49(6), 843-847.
- Lagunas-Rangel, F. A. (2016). Leucemia mieloide aguda. Una perspectiva de los mecanismos moleculares del cáncer. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 15(3), 150-157.
- Landis, J. R. & Koch, G. G. (1977). The measurement of observer agreement for categorical data. *biometrics*, 159-174.
- Lichter, J. B., Difilippantonio, M. J., Pakstis, A. J., Goodfellow, P. J., Ward, D. C. & Kidd, K. K. (1993). Physical and genetic maps for chromosome 10. *Genomics*, 16(2), 320-324.
- Limsuwanachot, N., Siriboonpiputtana, T., Karntisawiwat, K., Chareonsirisuthigul, T., Chuncharunee, S. & Rerkamnuaychoke, B. (2016). Multiplex RT-PCR assay for detection of common fusion transcripts in acute lymphoblastic leukemia and chronic myeloid leukemia cases. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(2), 677-684.

- López G. & Pita S. (1999). Medidas de concordancia: el índice Kappa. *Cad Aten Primaria*, 6, 169-71.
- Marks, D. I., Moorman, A. V., Chilton, L., Paietta, E., Enshaie, A., DeWald, G., Harrison, C. J., Fielding, A. K., Foroni, L., Goldstone, A. H., Litzow, M. R., Luger, S. M., McMillan, A. K., Racevskis, J., Rowe, J. M., Tallman, M. S., Wiernik, P. & Lazarus, H. M. (2013). The clinical characteristics, therapy and outcome of 85 adults with acute lymphoblastic leukemia and $t(4;11)(q21;q23)/MLL-AFF1$ prospectively treated in the UKALLXII/ECOG2993 trial. *Haematologica*, 98(6), 945-952.
- Marks, D. I., Wang, T., Pérez, W. S., Antin, J. H., Copelan, E., Gale, R. P., George, B., Gupta, V., Halter, J., Khoury, H. J., Klumpp, T. R., Lazarus, H. M., Lewis, V. A., McCarthy, P., Rizzieri, D. A., Sabloff, M., Szer, J., Tallman, M. S. & Weisdorf, D. J. (2010). The outcome of full-intensity and reduced-intensity conditioning matched sibling or unrelated donor transplantation in adults with Philadelphia chromosome–negative acute lymphoblastic leukemia in first and second complete remission. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 116(3), 366-374.
- Mejía-Aranguré, J. M. (2010). Epidemiología de la leucemia linfoblástica aguda infantil. *Rev Hematol Mex*, 11, 35-36.
- Mejía-Aranguré, J. M., Núñez-Enríquez, J. C., Fajardo-Gutiérrez, A., Rodríguez-Zepeda, M. D. C., Martín-Trejo, J. A., Duarte-Rodríguez, D. A., Medina-Sansón, A., Flores-Lujano, J., Jiménez-Hernández, E., Nuñez-Villegas, NN., Pérez-Saldívar, M. L., Paredes-Aguilera, R., Cárdenas-Cardós, R., Flores-Chapa, JD., Reyes-Zepeda, NC., Flores-Villegas, LV., Amador-Sánchez, R., Torres-Nava, JR., Bolea-Murga, V., ... & Rangel-López, A. (2016). Descriptive epidemiology of children with acute myeloid leukemia residing in

- Mexico City: a report from the Mexican Inter-Institutional Group for Identifying Childhood Leukemia Causes. *Gaceta médica de México*, 152(S2), 66-77.
- Méndez-Álvarez, S. & Pérez-Rotha, E. (2004). La PCR múltiple en microbiología clínica. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 22(3), 183-192.
- Michel, G. (2008). Leucemia linfoblástica aguda del niño y del adolescente: clínica y tratamiento. *EMC-Pediatría*, 43(4), 1-11.
- Mitelman, F., Johansson, B. & Mertens, F. (2018). Mitelman database of chromosome aberrations and gene fusions in cancer. <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>.
- Mitterbauer, M., Laczika, K., Novak, M., Mitterbauer, G., Hilgarth, B., Pirc-Danoewinata, H., Schawarzing, I., Haas, O. A., Fonatsch, C., Lechner, K. & Jaeger, U. (2000). High concordance of karyotype analysis and RT-PCR for *CBF beta/MYH11* in unselected patients with acute myeloid leukemia: a single center study. *American journal of clinical pathology*, 113(3), 406-410.
- Moorman, A. V. (2012). The clinical relevance of chromosomal and genomic abnormalities in B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Blood reviews*, 26(3), 123-135.
- Moorman, A. V., Ensor, H. M., Richards, S. M., Chilton, L., Schwab, C., Kinsey, S. E., Vora, A., Mitchel, C. & Harrison, C. J. (2010). Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial. *The lancet oncology*, 11(5), 429-438.

- Moosavi, S. A., Sanchez, J. & Adeyinka, A. (2009). Marker chromosomes are a significant mechanism of high-level *RUNX1* gene amplification in hematologic malignancies. *Cancer genetics and cytogenetics*, 189(1), 24-28.
- Mora Alferez, P., Dongo Pflucker, K., Cruz Díaz, M., Mejía Farro, R., Arias Velásquez, A. & Sullcahuamán Allende, Y. (2011). Genes de fusión en leucemia linfática aguda. *Acta cancerológica*, 39(2)46-47.
- Mrózek, K., Harper, D. P. & Aplan, P. D. (2009). Cytogenetics and molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. *Hematology/Oncology Clinics*, 23(5), 991-1010.
- Mrózek, K., Prior, T. W., Edwards, C., Marcucci, G., Carroll, A. J., Snyder, P., Koduru, P., Theil, K. S., Pettenati, M. J., Archer, K. J., Caligiuri, M. A., Vardiman, J. W., Kolitz, J. E., Larson, R. A. & Bloomfield, C. D. (2001). Comparison of cytogenetic and molecular genetic detection of t(8;21) and inv(16) in a prospective series of adults with de novo acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B Study. *Journal of Clinical Oncology*, 19(9), 2482-2492.
- Mullighan, C. G. (2012). Molecular genetics of B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *The Journal of clinical investigation*, 122(10), 3407-3415.
- Nordkamp, L. O., Mellink, C., van der Schoot, E. & Van den Berg, H. (2009). Karyotyping, FISH, and PCR in acute lymphoblastic leukemia: competing or complementary diagnostics?. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 31(12), 930-935.
- Núñez-Enríquez, J. C. & Aranguré, J. M. M. (2015). Biología molecular y leucemia: *E2A-PBX1* y recaída al sistema nervioso central. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 53(3), S236-S239.

- Nyquist, K. B., Thorsen, J., Zeller, B., Haaland, A., Trøen, G., Heim, S. & Micci, F. (2011). Identification of the *TAF15–ZNF384* fusion gene in two new cases of acute lymphoblastic leukemia with a t(12;17)(p13;q12). *Cancer genetics*, 204(3), 147-152.
- Onciu, M. (2009). Acute lymphoblastic leukemia. *Hematology/oncology clinics of North America*, 23(4), 655-674.
- Ortega, M. A., Osnaya, M. L. & Rosas, J. V. (2007). Leucemia linfoblástica aguda. *Medicina interna de Mexico*, 23(1), 26-33.
- Othman, M. A., Melo, J. B., Carreira, I. M., Rincic, M., Glaser, A., Grygalewicz, B., Gruhn, B., Wilhelm, K., Rittscher, K., Meyer, B., Macedo Silva, M. L. M., Marques Salles, T. & Liehr, T. (2015). High rates of submicroscopic aberrations in karyotypically normal acute lymphoblastic leukemia. *Molecular cytogenetics*, 8(1), 45.
- Payet, E., Pérez, P., Poquioma, E. & Diaz, E. Registro de Cáncer de Lima Metropolitana- Incidencia y Mortalidad 2010-2012 [acceso 10 de febrero de 2020][Internet]. Vol. 5, Minsa-Inen. 2016.
- Pui, C. H., Carroll, W. L., Meshinchi, S. & Arceci, R. J. (2011). Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: an update. *Journal of clinical oncology*, 29(5), 551.
- Pui, C. H. & Jeha, S. (2007). New therapeutic strategies for the treatment of acute lymphoblastic leukaemia. *Nature reviews Drug discovery*, 6(2), 149-165.
- Pui, C. H., Mullighan, C. G., Evans, W. E. & Relling, M. V. (2012). Pediatric acute lymphoblastic leukemia: where are we going and how do we get there?. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 120(6), 1165-1174.
- Pui, C. H., Relling, M. V. & Downing, J. R. (2004). Acute lymphoblastic leukemia. *New England Journal of Medicine*, 350(15), 1535-1548.

- Pui, C. H., Robison, L. L. & Look, A. T. (2008). Acute lymphoblastic leukaemia. *The Lancet*, 371(9617), 1030-1043.
- Quero Hernández, A., Sumano, A. B. R., Solís, R. M. Á. & Vallejo, M. V. (2013). Neoplasias malignas en los niños del Hospital General de Oaxaca, entre 1999 y 2011. *Revista Mexicana de Pediatría*, 80(4), 136-141.
- Qureshi, A. & Hall, G. (2013). Leukaemias: a review. *Paediatrics and Child Health*, 23(11), 461-466.
- Ramos-Peñafiel, C. O., Castellanos-Sinco, H., Martínez-Tovar, A., Montaña-Figueroa, E., Martínez-Murillo, C., Olarte-Carrillo, I., Collazo-Jaloma, J. & Rozen-Fuller, E. (2011). Eficacia de la quimioterapia intratecal con triple droga en pacientes con Leucemia linfocítica aguda. *Revista de Hematología*, 12(2), 57-61.
- Reena, R. M. Z., Julia Munchar, M. J., Salwati, S., Zubaidah, Z., Hamidah, N. H. & Sharifah, N. A. (2006). Detection of BCR/ABL Gene in Chronic Myeloid Leukaemia: Comparison of Fluorescence In Situ Hybridisation (FISH), Conventional Cytogenetics and Polymerase Chain Reaction (PCR) Techniques. *Med Health*, 1(1):5-13.
- Ried, T., Landes, G., Dackowski, W., Klinger, K. & Ward, D. C. (1992). Multicolor fluorescence in situ hybridization for the simultaneous detection of probe sets for chromosomes 13, 18, 21, X and Y in uncultured amniotic fluid cells. *Human molecular genetics*, 1(5), 307-313.
- Rieder, H., Ludwig, W. D., Gassmann, W., Maurer, J., Janssen, J. W., Gökbuget, N., Schwartz, S., Thiel, E., Löffler, H., Bartram, C. R., Hoelzer, D & Fonatsch, C. (1996). Prognostic significance of additional chromosome abnormalities in adult patients with Philadelphia

- chromosome positive acute lymphoblastic leukaemia. *British journal of haematology*, 95(4), 678-691.
- Rigvardhan, J. K., Ganguli, P., Ahmed, R., Sharma, A. & Singh, J. (2015). Mixed phenotype acute leukemia of t/myeloid type with rare multiple cytogenetic abnormality of chromosome 8, 9, 11, 12, 16 and marker chromosome and dual blast population: a rare case. *Medico Research Chronicles*, 2(3), 394-398.
- Rizzo, J. M. & Buck, M. J. (2012). Key principles and clinical applications of “next-generation” DNA sequencing. *Cancer prevention research*, 5(7), 887-900.
- Rubin, C. M. & Le, M. B. (1991). Cytogenetic abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia. *The American journal of pediatric hematology/oncology*, 13(2), 202-216.
- Ruiz-Delgado, G. J., Macías-Gallardo, J., Lutz-Presno, J. A., Montes-Montiel, M. & Ruiz-Argüelles, G. J. (2011). Outcome of adults with acute lymphoblastic leukemia treated with a pediatric-inspired therapy: a single institution experience. *Leukemia & lymphoma*, 52(2), 314-316.
- Saivevych, I. A., Kerrigan, D. P., McConnell, T. S., Head, D. R., Appelbaum, F. R. & Willman, C. L. (1991). Multiparameter analysis of acute mixed lineage leukemia: correlation of a B/myeloid immunophenotype and immunoglobulin and T-cell receptor gene rearrangements with the presence of the Philadelphia chromosome translocation in acute leukemias with myeloid morphology. *Leukemia*, 5(5), 373-382.
- Secker-Walker, L. M., Prentice, H. G., Durrant, J. O., Richards, S., Hall, E. & Harrison, G. (1997). Cytogenetics adds independent prognostic information in adults with acute lymphoblastic leukaemia on MRC trial UKALL XA. *British journal of haematology*, 96(3), 601-610.

- Seibel, N. L., Steinherz, P. G., Sather, H. N., Nachman, J. B., DeLaat, C., Ettinger, L. J., Freyer, D. R., Mattano, Jr, L. A., Hastings, C. A., Rubin, C. M., Bertolone, K., Franklin, J. L., Heerema, N. A., Mitchell, T. L., Pyesmany, A. F., La, M. K., Edens, C. & Gaynon, P. S. (2008). Early postinduction intensification therapy improves survival for children and adolescents with high-risk acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, *111*(5), 2548-2555. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-02-070342>
- Sera, Y., Yamasaki, N., Oda, H., Nagamachi, A., Wolff, L., Inukai, T., Inaba, T. & Honda, H. (2016). Identification of cooperative genes for *E2A-PBX1* to develop acute lymphoblastic leukemia. *Cancer science*, *107*(7), 890-898.
- Shaffer, L. G., McGowan-Jordan, J. & Schmid, M. (Eds.). (2013). *ISCN 2013: an international system for human cytogenetic nomenclature (2013)*. Karger Medical and Scientific Publishers.
- Shearer, B. M., Flynn, H. C., Knudson, R. A. & Ketterling, R. P. (2005). Interphase FISH to detect *PBX1/E2A* fusion resulting from the *der(19)t(1;19)(q23;p13.3)* or *t(1;19)(q23;p13.3)* in paediatric patients with acute lymphoblastic leukaemia. *British journal of haematology*, *129*(1), 45-52.
- Siegel, R., Naishadham, D. & Jemal, A. (2012). Cancer statistics for hispanics/latinos, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians*, *62*(5), 283-298.
- Singh, M., Bhatia, P., Trehan, A., Varma, N., Sachdeva, M. S., Bansal, D., Jain, R. & Naseem, S. (2018). High frequency of intermediate and poor risk copy number abnormalities in pediatric cohort of B-ALL correlate with high MRD post induction. *Leukemia research*, *66*, 79-84.

- Stauffer, S., Gardner, A., Duprez, W., Ungu, D. A. K. & Wismer, P. (2018). Polymerase Chain Reaction. In *Labster Virtual Lab Experiments: Basic Genetics* (pp. 13-28). Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg.
- Tang, G. S., Wu, J., Liu, M., Chen, H., Gong, S. G., Yang, J. M., Hu, XX. & Wang, J. M. (2015). *BCR-ABL1* and CD66c exhibit high concordance in minimal residual disease detection of adult B-acute lymphoblastic leukemia. *American journal of translational research*, 7(3), 632.
- Tirado, C. A., Shabsovich, D., Yeh, L., Pullarkat, S. T., Yang, L., Kallen, M., & Rao, N. (2015). A (1;19) translocation involving *TCF3-PBX1* fusion within the context of a hyperdiploid karyotype in adult B-ALL: a case report and review of the literature. *Biomarker research*, 3(1), 4.
- Turnpenny, P. D. & Ellard, S. (2009). *Emery elementos de genética médica*. España: Elsevier.
- Van Dongen, J. J. M., Macintyre, E. A., Gabert, J. A., Delabesse, E., Rossi, V., Saglio, G., Gottardi, E., Rambaldi, A., Dotti, G., Griesinger, F., Parreira, A., Gameiro, P., González Díaz, M., Malec, M., Langeral, AW., San Miguel, JF. & Biondi, A. (1999). Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. *Leukemia*, 13(12), 1901-1928.
- Velázquez-González, C., Grajales-Pineda, F., García-Chong, N., Candelaria-González, L., Trujillo-Olivera, L. & Coutiño-Flores, M. (2016). Comparación de la mortalidad por leucemia linfoblástica aguda en México. 2010 y 2014. *Evidencia Médica e Investigación en Salud*, 9:120-127.
- Venegas, P. & Rivera, J. (2004). Estudios citogeneticos en niños con leucemia linfocitica aguda-B en Costa Rica. *Revista de biología tropical*, 52(3), 551-558.

- Villalba, C., Martínez, P. & Acero, H. (2016). Caracterización clínico-epidemiológica de los pacientes pediátricos con leucemias agudas en la Clínica Universitaria Colombia. Serie de casos 2011-2014. *Pediatrics*, 49(1), 17-22.
- Wan, T. S. (2014). Cancer cytogenetics: methodology revisited. *Annals of laboratory medicine*, 34(6), 413-425.
- Wan, T. S. (2017). Cancer cytogenetics: an introduction. In *Cancer Cytogenetics* (pp. 1-10). Humana Press, New York, NY.
- Wendel, H. G., de Stanchina, E., Cepero, E., Ray, S., Emig, M., Fridman, J. S., Veach, D. R., Bornmann, W. G., Clarkson, B. W., McCombie, R., Kogan, S. C., Hochhaus, A. & Lowe, S. W. (2006). Loss of p53 impedes the antileukemic response to BCR-ABL inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(19), 7444-7449.
- Yao, L., Cen, J., Pan, J., Liu, D., Wang, Y., Chen, Z., Ruan, C. & Chen, S. (2017). *TAF15–ZNF384* fusion gene in childhood mixed phenotype acute leukemia. *Cancer genetics*, 211, 1-4.
- You, M. J., Medeiros, L. J. & Hsi, E. D. (2015). T-lymphoblastic leukemia/lymphoma. *American journal of clinical pathology*, 144(3), 411-422.
- Zhang, X., Rastogi, P., Shah, B. & Zhang, L. (2017). B lymphoblastic leukemia/lymphoma: new insights into genetics, molecular aberrations, subclassification and targeted therapy. *Oncotarget*, 8(39), 66728-66741.

IX. ANEXOS

Anexo A. Ficha de Recolección de datos

DIAGNOSTICO INICIAL

CODIGO INTERNO	
FECHA DE DATOS	

DATOS PERSONALES

FECHA DE ADMISION	
DEPARTAMENTO	

APELLIDOS					
NOMBRES					
EDAD		SEXO	M	F	N° HISTORIA CLINICA

BIOLOGIA MOLECULAR**RESULTADO**

CODIGO MOLECULAR	FECHA DE INGRESO	TIPO DE MUESTRA

PANEL MOLECULAR PARA LLA	FECHA RESULTADO:
TEL/AML1	
E2A/PBX1	
MLL/AF4	
BRC/ABL P190	
BRC/ABLP210	

CITOGENETICA

CODIGO CITOGENETICO	FECHA DE INGRESO	TIPO DE MUESTRA	CARIOTIPO

• **TRATAMIENTO**

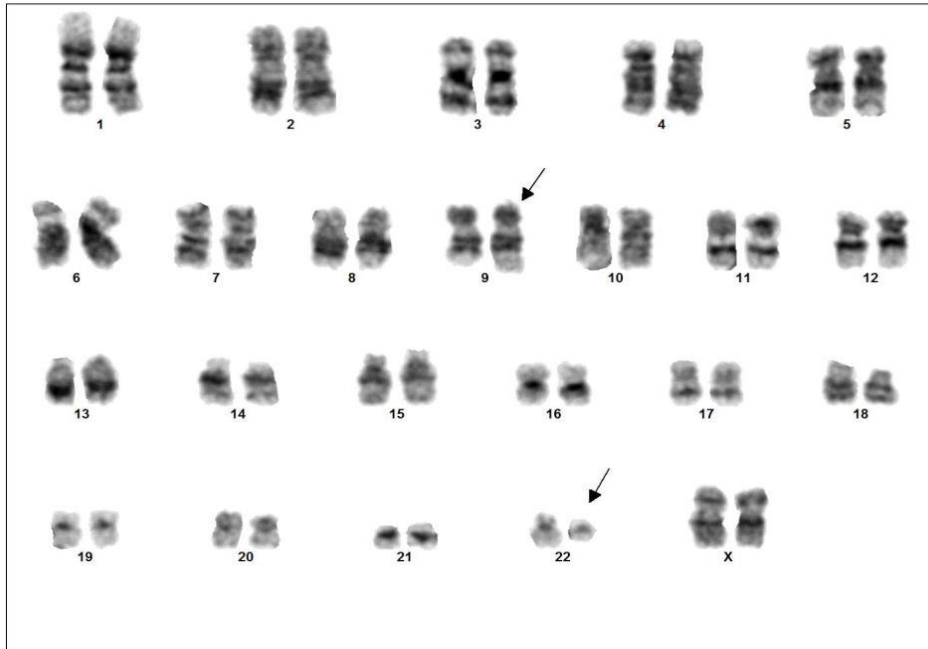
QUIMIOTERAPIA		INICIO DEL TRATAMIENTO	
----------------------	--	-----------------------------------	--

Anexo B. Glosario

- ? : Región no determinable de un cromosoma. Alteración cuestionable o no determinable de un cromosoma.
- Adición (add): Adición de material de origen desconocido.
- Cromosoma derivado (der): Se determina a un cromosoma anormal originado por un primer evento, sea: deleción, traslocación entre 2 o más cromosomas, inserción u otro reordenamiento cromosómico.
- Cromosoma marcador (mar): Cromosoma anormal cuyo origen no puede ser determinado mediante técnicas de citogenética convencional.
- Cromosoma Philadelphia: producto de la translocación t(9;22).
- Deleción (del): Pérdida terminal o intersticial de un fragmento de un cromosoma.
- Hiperdiploidía: Metafase con un rango de 47 a 57 cromosomas
- Hipodiploidía: Metáfase con un rango menor de 46 cromosomas
- Inc: (Cariotipo incompleto) El cariotipo presenta alteraciones estructurales o numéricas además de las listadas en la nomenclatura.
- Isocromosoma (i): Son cromosomas metacéntricos, anormales que están compuestos por la duplicación del brazo largo o del brazo corto de un cromosoma.
- M1: Respuesta en aspirado de médula ósea <5% blastos
- M2: Respuesta en aspirado de médula ósea 5 – 24% blastos
- M3: Respuesta en aspirado de médula ósea $\geq 25\%$ blastos
- Panel molecular para LLA-B: Estudio de la LLA de células B para cinco genes de fusión: *E2A/PBX1*, *MLL/AF4*, *BCR/ABLp190*, *BCR/ABLp210* y *TEL/AML1*.
- Translocación no balanceada: Intercambio de material cromosómico donde un cromosoma derivado reemplaza a los 2 cromosomas normales involucrados en la translocación.

Anexo C. Imágenes obtenidas del cariotipador de las translocaciones estudiadas**Figura 11.**

Cariograma de paciente femenino con t(9;22). Cariotipo: 46,XX,t(9;22)(q34;q11)

**Figura 12.**

Cariograma de paciente femenino con t(1;19). Cariotipo: 46,XX,der(19)t(1;19)(q23;p13)

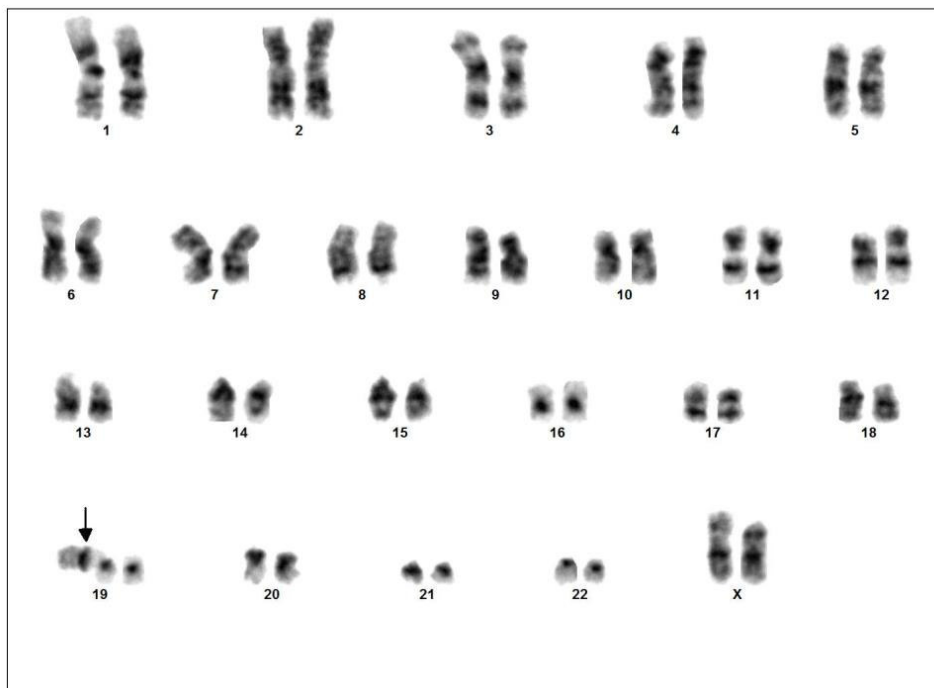
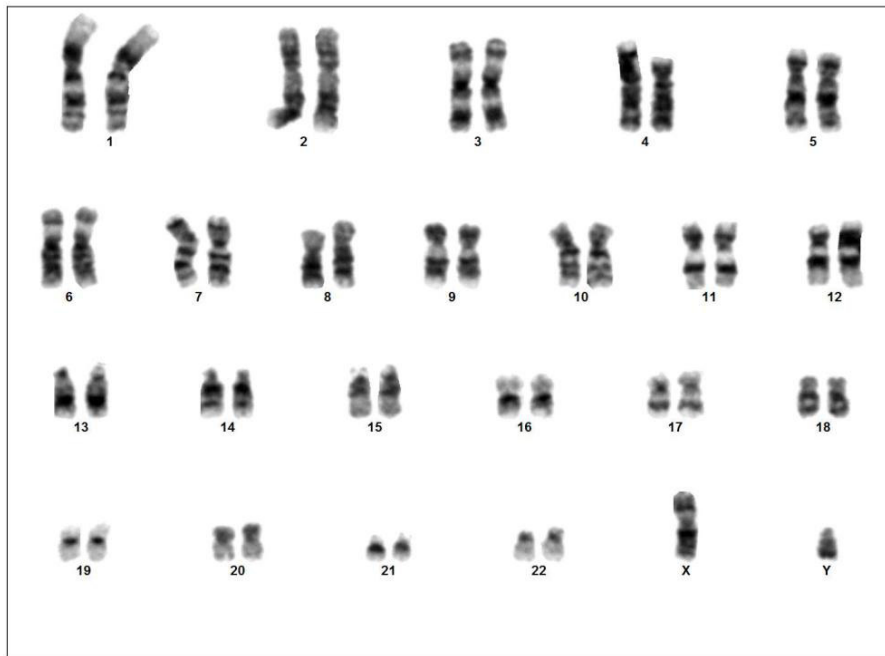
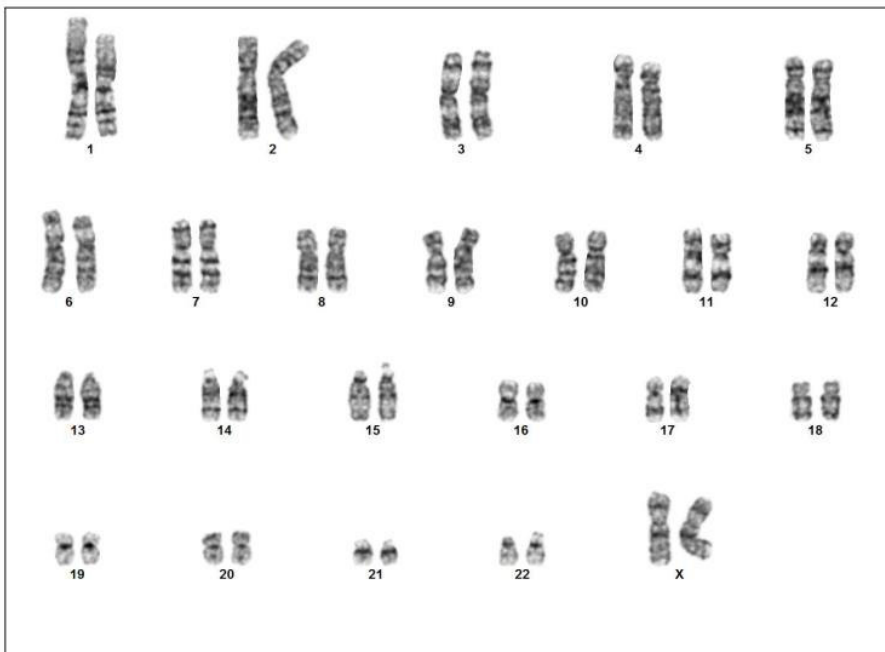


Figura 13.

*Cariograma de paciente femenino con t(4;11) y deleción del brazo largo del cromosoma X.
Cariotipo: 46,X,del(X)(q22),t(4;11)(q21;q23)*



Anexo D. Imágenes obtenidas del cariotipador de pacientes con cariotipo normal**Figura 14.***Cariograma de paciente masculino. Cariotipo: 46,XY***Figura 15.***Cariograma de paciente femenino. Cariotipo: 46,XX*

Anexo E. Foto documentación del resultado del Panel Molecular**Figura 16.**

Foto documentación del gel de agarosa con los genes de fusión del panel molecular.

