



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA
CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA**

**PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN PARA AUTORIZACIÓN DE TESIS
DE ESPECIALIDAD EN HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA**

**INMUNOFENOTIPO DE LEUCEMIAS AGUDAS
PEDIÁTRICAS DIAGNOSTICADAS DEL 12 DE ENERO 2019
A 31 DE DICIEMBRE 2022 EN EL SERVICIO DE
HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA DEL HOSPITAL GENERAL
“DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA”, UMAE CMN LA
RAZA**

REGISTRO

R-2023-3502-063

AUTORES:

**INVESTIGADOR RESPONSABLE
DR. EMMANUEL ROLANDO RODRÍGUEZ CEDEÑO**

**INVESTIGADOR ASOCIADO.
DRA. DULCE SARAHY MORALES GONZÁLEZ**

CIUDAD DE MÉXICO, JUNIO 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AUTORES:

EMMANUEL ROLANDO RODRIGUEZ CEDEÑO

Matrícula: 99285171

Cargo: N53 JEF DEPTO CLIN UMAE80

Adscripción: servicio de hematología Pediátrica. Division de pediatria UMAE Hospital general DR. GGG CMN la Raza

Teléfono trabajo: 5557245900 ext. 23511

Correo electrónico: emmanuel.rodriguez@imss.gob.mx y eriol_db@hotmail.com

INVESTIGADOR ASOCIADO.

DULCE SARAHY MORALES GONZALEZ.

Matrícula: 98355915

Cargo: Residente de segundo año de Hematología Pediátrica.

Adscripción: Hospital General "Dr. Gaudencio González Garza", UMAE CMN La Raza, servicio de Hematología Pediátrica.

Teléfono: 834 1471031

Correo electrónico: dulce.moralesglz@gmail.com

RESUMEN

INMUNOFENOTIPO DE LEUCEMIAS AGUDAS PEDIÁTRICAS DIAGNOSTICADAS DEL 12 DE ENERO 2019 A 31 DE DICIEMBRE 2022 EN EL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA DEL HOSPITAL GENERAL “DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA”, UMAE CMN LA RAZA

ANTECEDENTES: La inmunofenotipificación desempeña un papel integral en la enumeración de poblaciones leucémicas, asignación de linaje, identificación de subgrupos pronósticos y seguimiento postterapéutico. La LLA-B pediátrica es la de mayor frecuencia a nivel mundial y muestra mayor expresión de CD10 y CD58 con disminución de CD38 y CD45. En México existen pocos estudios destinados a determinar la incidencia marcadores inmunofenotípicos en las leucemias agudas pediátricas. Por esta razón, empleando como herramienta diagnóstica confirmatoria y clasificatoria, a la citometría de flujo, se considera que el estudio a realizar permitirá en primer lugar, señalar las incidencias de leucemias agudas en la población pediátrica del Instituto Mexicano del Seguro Social, UMAE La Raza, y en segundo lugar, obtener información sobre patrones de inmunofenotipo para comparar con lo observado a nivel mundial.

OBJETIVO GENERAL: Identificar los clústers de diferenciación más frecuentes, tanto en leucemias agudas linfoblásticas como en mieloblásticas en población pediátrica del Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza”, UMAE CMN LA RAZA.

MATERIAL Y MÉTODO: Se trata de una estudio de cohorte histórica, retrospectivo, descriptivo, para el cual se realizará la revisión de la libreta de resultados de citometrías de flujo perteneciente al servicio de Hematología Especial, realizadas durante el periodo del 12 de enero 2019 al 31 de diciembre 2022, seleccionando aquellas correspondientes a diagnósticos de *novo* de leucemias agudas, la información de cada inmunofenotipo será registrada en un archivo de Excel, incluyendo, edad, sexo, fecha de solicitud del estudio de inmunofenotipo, el porcentaje de blastos inicial y los clústers de diferenciación para los que es positivo cada paciente, así como la estirpe leucémica compatible. El análisis de la información se llevará a cabo con medidas de tendencia central (moda, media, mediana), la presentación de los datos se realizará con gráficos de barra y pastel.

RECURSOS E INFRAESTRUCTURA: Como recursos físicos se contempla la libreta de registros de citometría de flujo, expedientes clínicos. Los recursos informáticos únicamente incluyen un equipo de computo que cuente con programa de hoja de datos, como Excel. Para el análisis estadístico se requiere programa de análisis, como SPSS.

EXPERIENCIA DEL GRUPO: El investigador principal se desempeña como Jefe de Servicio de Hematología Pediátrica en el Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza”, UMAE CMN La Raza, amplia experiencia en el manejo de las leucemias desde hace 4 años. Encargado de la clínica de Leucemia Granulocítica Crónica. La investigadora colaboradora, se encuentra cursando el segundo año de residencia en Hematología Pediátrica. Ambos forman parte de un equipo de trabajo que de forma anual diagnostica más de 100 leucemias agudas.

TIEMPO DE DESARROLLO: Al momento de autorización del protocolo, se recabarán los datos de forma retrospectiva en expedientes clínicos, en un periodo de 2 meses y posterior a ello el plan de análisis estadístico y redacción de escrito con fines de titulación con una duración total del proyecto de 4 meses.

INMUNOFENOTIPO DE LEUCEMIAS AGUDAS PEDIÁTRICAS DIAGNOSTICADAS DEL 12 DE ENERO 2019 A 31 DE DICIEMBRE 2022 EN EL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA DEL HOSPITAL GENERAL “DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA”, UMAE CMN LA RAZA

Marco teórico

Principios de la Citometría de flujo

El principio básico de la citometría de flujo es medir células individuales en una corriente de líquido que fluye. Un haz de luz se dirige a la corriente de células, haciendo posible la identificación de características celulares, como tamaño, granularidad, relación de ADN/ARN, o bien, presencia o ausencia de receptores de superficie e intracelulares (1).

Los detectores se dirigen hacia el flujo de células: uno se alinea con el haz de luz (dispersión frontal o FSC), otro es perpendicular a las células (dispersión lateral (SSC), mientras que otros miden la fluorescencia.

Aspectos históricos de la citometría de flujo

Algunos de los investigadores y hallazgos asociados al principio de la citometría de flujo incluyen a:

- Paul Erlich (1880), describió las propiedades de tinción de la fluoresceína.
- Moldavan (1934), identificó la fotodetección de células.
- Coons (1942) realizó la detección de *Streptococcus pneumonia* por un anticuerpo conjugado con fluorocromo excitable por UV.
- Coulter (1950), se le adjudica el dimensionamiento de partículas microscópicas.

El diseño del precursor de los citómetros de flujo modernos se le atribuye a Fulwyler (1965). Los primeros citómetros de flujo estuvieron disponibles comercialmente hace más de 40 años, estos podían medir 1 o 2 parámetros celulares, y actualmente permiten medir de forma rutinaria hasta más de 20 parámetros fluorescentes simultáneamente (2).

Los investigadores Bonner, Sweet, Hulett y Herzenberg, de la Universidad de Stanford, diseñaron y patentaron en 1972, el primer instrumento clasificador de células activadas por fluorescencia (FACS). De forma sincrónica, Wolfgang Göhde en Alemania desarrolló un dispositivo de citometría de flujo basado en fluorescencia (ICP-11), desarrollado por Partec en 1968/69, le siguieron el Cytofluorograph, desarrollado por Bio/ Physics Systems (Ortho Diagnostics). En 1971 y en 1973, nuevamente Partec desarrolló el citómetro de flujo PAS-8000 (2). En 1974, utilizando la patente de Stanford y la experiencia de Herzenberg y colaboradores, Becton Dickinson produjo el primer instrumento clasificador de células activado por fluorescencia (FACS-II) comercial.

En la Conferencia de la Fundación Americana de Ingeniería realizada en 1978, se modificó el nombre de citofotometría a “citometría de flujo” de forma oficial.

En la década de 1980, la Ingeniería Biomédica comenzó a producir anticuerpos monoclonales dirigidos contra los leucocitos y a etiquetarlos con tintes fluorescentes. A medida que aumentaba el número de anticuerpos y colorantes fluorescentes, aumentaba el número de láseres en los citómetros de flujo (2). Por esta razón, en la década de los 90's, los dispositivos eran capaces de medir 7 fluorescencias simultáneamente.

En el año 2000, BD introdujo el LSRII™, con capacidad para 14 colores. En la actualidad, existen citómetros de flujo que pueden caracterizar hasta 32 parámetros simultáneamente, lo que permite identificar la población celular exacta de interés (2).

Aplicaciones de la citometría de flujo

Algunas de las principales aplicaciones utilizadas en el ámbito de los entornos clínicos modernos, tanto terapéuticos como orientados a la investigación, incluyen (3):

- Expresión de proteínas: en toda la célula, incluso en el núcleo
- Modificaciones postraduccionales de proteínas: incluye proteínas escindidas y fosforiladas
- ARN, incluidos los transcritos de miARN y ARNm
- Estado de salud celular: detección de células apoptóticas o muerte celular
- Estado del ciclo celular: proporciona una poderosa herramienta para evaluar las células en la fase G0/G1 frente a la fase S, G2 o poliploidía, incluido el análisis de la proliferación y activación celular
- Identificación y caracterización de distintos subconjuntos de células dentro de una muestra heterogénea, ***este punto de particular importancia en el diagnóstico y clasificación de las leucemias agudas y en la medición de enfermedad mínima residual.***

Grupos de diferenciación (*Clusters of differentiation*)

Los leucocitos expresan distintas moléculas en sus superficies, muchas reflejan diferentes etapas de la diferenciación específica de linaje o diferentes estados de activación. Los grupos de antígenos en la superficie de los leucocitos se pueden designar por sus reacciones con anticuerpos monoclonales. Esta designación de los antígenos se denomina grupos de diferenciación (CD) (4).

Fisiológicamente, los CD pueden actuar como receptores o ligandos importantes para la célula. Algunas proteínas CD no desempeñan un papel en la señalización celular, pero tienen otras funciones, como la adhesión celular (4).

Durante los últimos 30 años, los datos generados por los 10 Talleres de Antígenos de Diferenciación de Leucocitos Humanos han llevado a la caracterización y designación formal de más de 400 moléculas (4).

Patrón inmunofenotípico de leucemia aguda linfocítica

La leucemia aguda es el grupo más común de neoplasias malignas diagnosticadas en la edad pediátrica, de estas, la leucemia linfoblástica aguda de linaje B es la preponderante. La inmunofenotipificación actualmente desempeña un papel integral en la enumeración de poblaciones leucémicas, asignación de linaje, identificación de subgrupos pronósticos y seguimiento postterapéutico.

La maduración normal de células B en la médula ósea se caracteriza por tres etapas, que muestran expresión variable de CD19, CD22, CD24, CD38 y CD58:

- Primera etapa. Muestra expresión de antígenos tempranos CD34 en la superficie celular y TdT en el núcleo, junto con CD10 brillante, CD45 bajo y ausencia de CD20 en la superficie.
- Segunda etapa. Pierden la expresión de CD34 y TdT con una disminución de CD10 y aumentos en CD45 y CD20.
- Tercera etapa. Exhibe un alto nivel de expresión de CD20 con disminución de CD10 y un nivel casi maduro de CD45.

Cuando las células adquieren características neoplásicas, expresan múltiples mutaciones genéticas que interrumpen la regulación genética normal, dando como resultado la síntesis de proteínas anómalas que se pueden utilizar como marcadores de neoplasia.

LLA-B pediátrica invariablemente se desvía del esquema de maduración previamente comentado, mostrando comúnmente, mayor expresión de CD10 y CD58 con disminución de CD38 y CD45. Los casos poco frecuentes muestran pérdida de CD10, a menudo junto con una pérdida de CD24 y adquisición de CD15 (5).

Respecto a la maduración de los linfocitos T, existen tres momentos en la diferenciación:

- Maduración temprana. Expresión brillante de CD7, CD5 tenue, adquisición de CD3 citoplasmático, CD34 tenue variable, TdT nuclear, CD45 bajo y poco o nada CD4, sin CD8 o CD1a.
- Maduración intermedia. Pérdida de CD34, un aumento de CD4 seguido de CD8 y coexpresión de CD1a, aumento de CD5, CD3 de superficie y CD45 (inmunofenotipo típico de linfocitos).
- Maduración final. Expresión de CD4 o CD8, pérdida de CD1a. Expresión de CD3, CD5 y CD45.

La leucemia aguda linfocítica de estirpe T pediátrica se desvía de este esquema de maduración al mostrar un inmunofenotipo homogéneo con pérdida de coordinación en la expresión de los antígenos recién descritos. El inmunofenotipo de LLA-T más frecuente se asemeja al timocito común con expresión de CD1a y coexpresión variable de CD4 y CD8. Sin embargo, pueden existir inmunofenotipos

más inmaduros que carecen de expresión de CD8 y CD1a, tienen CD5 tenue o ausente, y expresan CD34 y/o HLA-DR o marcadores mieloides CD13, CD33, CD117, su frecuencia es de 10 a 15 % de los casos y se denominan precursores tímicos tempranos (ETP por sus siglas en inglés) (5).

La leucemia linfoblástica aguda de precursores de células T tempranas (ETP-ALL, por sus siglas en inglés) es un subtipo extremadamente letal de leucemia linfoblástica aguda de células T (LLA-T), caracterizada por perfiles transcripcionales e inmunofenotípicos similares a los de células T tempranas y expresiones positivas de antígenos mieloides (6). Las características clínicas, los tratamientos y los pronósticos de la LLA-ETP son significativamente heterogéneos (6).

Patrón inmunofenotípico de leucemias aguda mieloides

La célula madre hematopoyética se caracteriza por la expresión brillante de CD34 y bajo o ausente de CD38, bajo CD13, CD33, CD117, CD33 y HLA-DR, sin antígenos definidores de linaje (5).

- Diferenciación neutrofílica temprana: adquisición de MPO en el citoplasma y CD15 en la superficie celular, aumento de CD13, CD33 y CD117 y pérdida temprana de HLA-DR.
- Diferenciación monocítica: adquisición de CD15 pero con una disminución de CD13, pérdida temprana de CD117 y retención de HLA-DR.
- Diferenciación eritroide temprana: aumento de CD71 a un nivel alto, pérdida temprana de CD13 y retención de CD117 con posterior expresión de CD36 y luego de CD235a.
- Diferenciación megacariocítica: expresión temprana de CD41 y CD61.

Pandian y colaboradores, realizaron un estudio en 2018, del que se concluye que la LLA fue la leucemia aguda más frecuente en niños (90,3%). El 85,7% de los casos correspondió a linaje de células B y el 14,3% a células T. De los B-ALL, el 87,5 % eran pre-B, el 8,3 % pro-B y el 4,2 % B maduros. La coexpresión del antígeno mieloides fue visto en el 35,7% (7).

Leucemias agudas de fenotipo mixto

Las leucemias agudas fenotípicas mixtas (MPAL por sus siglas en inglés) son neoplasias malignas hematológicas raras en niños, representa menos del 5% de los casos de diagnósticos de novo. Existen dos formas de presentación: pueden exhibir linaje cruzado mieloides, linfocito B o linfocito T en una sola población de blastos (bifenotípicos) o tener un linaje distinto en varias poblaciones de blastos (bilineales) (8).

Actualmente, las MPAL se clasifican en función de marcadores inmunofenotípicos específicos del linaje, determinados por citometría de flujo, inmunohistoquímica o citoquímica y alteraciones moleculares primarias. La mayoría de las MPAL se presentan como linfocitoide B/mieloide (en aproximadamente 2/3 casos), siendo el inmunofenotipo T-linfocitoide/mieloide la segunda presentación más frecuente. En raras ocasiones, puede presentarse como subtipos linfocitoide B/linfocitoide T o linfocitoide B/linfocitoide T/mieloide (8).

Debido a la diversidad fenotípica y genética, la falta de criterios de diagnóstico bien definidos, la resistencia al tratamiento y el cambio de linaje, las MPAL a menudo representan un dilema diagnóstico, y resultan difíciles de tratar, por lo que la mayoría de los grupos cooperativos las consideran de alto riesgo (8).

Jamal et al en 2021, publicó resultados de un estudio sobre la caracterización inmunofenotípica de 1379 casos de leucemia aguda pediátrica. La edad media de los pacientes fue de $7,4 \pm 4,3$ años, mientras que la relación hombre:mujer fue de 1.75:1. La leucemia linfoblástica representó el 77,2% y la leucemia mieloide el 21,2%. Entre el linaje linfoblástico, B-ALL fue 80,4% mientras que T-ALL fue 19,6%. En la expresión fenotípica de B-ALL, CD79a (99,8%) tuvo la mayor positividad, mientras que CD13 (29,8%) fue el marcador mieloide aberrante más común (9). Respecto a los casos de T-ALL, el marcador aberrante más frecuente fue el CD79a, con 11.1% de frecuencia. Las leucemias mieloides no promielocíticas, expresaron de forma aberrante CD79a y CD19 en 6.6 y 5.5% de los casos (9).

Chang y colaboradores, en su estudio publicado en 2021, describió 8 casos de MPAL. Los transcritos de fusión b3a2 (p210) y e1a2 (p190) BCR/ABL se detectaron en 1 paciente con MPAL B/mieloide. Cuatro de ocho pacientes con MPAL se asociaron con monosomía o trisomía parcial del cromosoma 21 (10).

Ohki y colaboradores, en 2020 describieron la inmunofenotipificación que se realizó en 1044 pacientes con leucemia linfoblástica aguda infantil inscritos en el Grupo de estudio del cáncer infantil de Tokio, Ensayo L04-16. Demarcan los siguientes puntos (11):

- El subtipo CD10+ de KMT2A-MLLT3 positivo, frecuentemente exhibió inmunofenotipo LAL Pre B μ citoplásmico(+) (11).
- Aunque ETV6-RUNX1 fue significativamente correlacionado con expresión de antígenos mieloides, más de la mitad de los pacientes no expresaron ni CD33 ni CD13, mientras que CD27(+)/CD44(-) se mantuvieron constantes (11).
- La expresión de CD117 y CD56 en LAL B se limitó a ciertos subtipos, incluidos ETV6-RUNX1 y KMT2A MLLT3 (11).
- Además de BCR-ABL1, CRLF2, hiperdiploidía e hipodiploidía, CD66c también fue expresado en LLA positiva para fusión de quinasa similar a Ph,

fusión PAX5 y fusión DUX4, pero no en LLA positiva para fusión de MEF2D, lo que indica una selectividad constante de la expresión de CD66c (11).

Planteamiento del problema

Las leucemias agudas forman parte de un grupo heterogéneo de enfermedades originadas a nivel de los progenitores hematopoyéticos. Su diagnóstico, clasificación, pronóstico y tratamiento dependerá de las características morfológicas, inmunofenotípicas, citogenéticas y de mutaciones específicas.

Es sabido que en los últimos años, los casos de leucemia aguda han aumentado tanto en México como en otros países de Latinoamérica, en población pediátrica, con resultados tórpidos a pesar del diagnóstico oportuno y elección terapéutica adecuada. De acuerdo al indicador de años de vida ajustados por discapacidad, 90% de los niños con cáncer vive en países en vías de desarrollo, como México. En países desarrollados, la tasa de supervivencia general es de alrededor del 80%, sin embargo, los grupos hispanos tienen tasas más altas de leucemia de mal pronóstico.

Desde la perspectiva mundial, en los últimos años, se han desarrollado avances abismales en las técnicas moleculares para afinar el diagnóstico de las leucemias agudas (PCR, FISH, NGS), y por ende permitir la reclasificación de riesgo, que influye en las decisiones terapéuticas. Sin embargo, en países como México, no se cuenta con disponibilidad de los recursos de forma libre. En muchos centros de atención hemato-oncológica, tanto de pacientes pediátricos como adultos, las herramientas disponibles incluyen morfología, posiblemente citometría de flujo y en algunos casos, cariotipo en médula ósea.

En el servicio de Hematología Pediátrica del Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza”, además de la revisión morfológica, se cuenta con citometría de flujo como herramienta constante, para el diagnóstico y clasificación de las leucemias agudas, así como para la evaluación de enfermedad mínima residual. La evaluación citogenética al ser operador dependiente, no siempre otorga resultados útiles para interpretación, y las pruebas moleculares específicas, recientemente comenzaron a aplicarse, por lo que aún no se cuenta con una base de datos suficiente para evaluación.

Alrededor del mundo, se han realizado estudios de patrones inmunofenotípicos en pacientes con leucemia aguda, por ejemplo, en un estudio realizado en Indonesia, tras el uso de citometría de flujo de tres colores, permiten denotar que su número de leucemias agudas mieloides es mayor al reportado en países occidentales (12).

Un estudio mexicano, publicado en 2017, también hace referencia a una incidencia del 51% de leucemias agudas linfoblásticas y 49% de leucemias agudas mieloblásticas, basadas en la expresión inmunofenotípica, diferente a lo reportado en literatura anglosajona, lo que permite suponer cambios en la expresión de marcadores de superficie dependiendo de la ubicación geográfica (13).

Pregunta de investigación

Al ser la citometría de flujo, la herramienta disponible y de mayor utilidad, en el diagnóstico y clasificación de leucemias agudas, ¿existirá similitud en los clústers de diferenciación de las leucemias agudas pediátricas atendidas en el servicio de Hematología Pediátrica del Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” durante el periodo del 12 de enero 2019 a 04 de mayo 2021, respecto a los reportados a nivel mundial?

Justificación

En pacientes menores de 15 años, la incidencia de LLA en todo el mundo varía entre 20-35 casos por millón, mientras que la incidencia de LLA pediátrica en Ciudad de México es mayor de 40 casos por millón. Las incidencias registradas en nuestro país son las siguientes: LLA, entre 43.2 y 44.9 por millón; leucemias mieloides agudas (LMA), entre 9.8 y 10.6 por millón. La proporción de LLA de linaje T se ha informado en 23,6%, frecuencia relativamente mayor que la reportada para la población blanca de los Estados Unidos y poblaciones asiáticas.

Datos recientes han demostrado la alta sensibilidad y especificidad de la citometría de flujo en sangre periférica (PBFC por sus siglas en inglés) para el diagnóstico de leucemia pediátrica. Chen y colaboradores, en un estudio publicado en 2018, realizaron la comparación de resultados entre citometría de flujo en sangre periférica y médula ósea, encontrando que existe una sensibilidad del 98% en el estudio realizado en sangre periférica, sugieren que las entidades como Leucemia aguda linfoblástica T, fenotipo T temprano, las leucemias agudas de fenotipo mixto y las leucemias aguda megacariocíticas, de preferencia se evalúen de forma simultánea tanto en sangre periférica como en médula ósea, ya que son los casos que causaron discrepancia diagnóstica (14).

Juárez-Avenida y sus colaboradores, publicaron un estudio en 2020, enfocado en niños y adolescentes con leucemia aguda en Oaxaca de Juárez, México. Describieron los perfiles de aberraciones moleculares e inmunofenotípicas en niños y niñas. Incluyeron 218 pacientes. Se diagnosticó leucemia linfoblástica aguda de células B en el 70,64 % de todos los casos, leucemia mieloides aguda en el 22,48 %, leucemia aguda de células T en el 6,42%, leucemia aguda de fenotipo mixto en el 0,46% de los casos (15). Las translocaciones más prevalentes en LLA-B fueron t(9;22) en el 20,7%, seguido de t(4;11) en el 17,2 % y t(6;11) en el 13,8 %, mientras que los pacientes con LAM mostraron t(15;17) en 40,6% y t(8;21) en 21,9%. Identificaron expresión homogénea de t(3;21) y t(6;11) en los casos de leucemia linfoblástica aguda de células T y leucemia aguda de linaje mixto, respectivamente (15). Con estos datos, el equipo de trabajo aporta la idea de que esta población debuta con alteraciones citogenéticas de alto riesgo y mal pronóstico, además de notar un aumento en la frecuencia de LAM en edad pediátrica (15).

A pesar de los datos señalados en el párrafo anterior, existen pocos estudios en México, destinados a determinar la incidencia de leucemias agudas en niños. Por

esta razón, empleando como herramienta diagnóstica confirmatoria y clasificatoria, a la citometría de flujo, se considera que el estudio a realizar permitirá en primer lugar, señalar las incidencias de leucemias agudas en la población pediátrica del Instituto Mexicano del Seguro Social, UMAE La Raza, y en segundo lugar, obtener información sobre patrones de inmunofenotipo para comparar con lo observado a nivel mundial.

La información obtenida puede ser utilizada a futuro, en una línea secundaria de investigación, para determinar relación entre el patrón inmunofenotípico y factores de riesgo modificadores de respuesta al tratamiento.

Objetivo general

- Identificar los clusters de diferenciación más frecuentes, tanto en leucemias agudas linfoblásticas como en mieloblásticas.

Objetivos específicos

- Determinar las medidas de tendencia central de marcadores inmunofenotípicos por sexo, para ambos tipos de leucemias.
- Establecer las medidas de tendencia central de marcadores inmunofenotípicos por edad, tanto para leucemias linfoblásticas como mieloblásticas.
- Precisar frecuencia de clusters de diferenciación modificadores de pronóstico.
- Evaluar marcadores que justifiquen diagnóstico de leucemia de linaje mixto o leucemia bifenotípicas y su frecuencia.

Material y método

- **Diseño del estudio:** estudio retrospectivo, descriptivo.
- **Periodo de estudio:** Del 12 de enero 2019 al 31 de diciembre 2022.
- **Tamaño de la muestra.** No aplica cálculo, ya que se integran todos los casos de nuevo diagnóstico de leucemia aguda, linfoblástica o mieloblástica, captados durante el periodo establecido.
- **Tipo de muestreo.** No probabilística, de casos consecutivos
- **Universo de trabajo.** Todos los resultados registrados por parte del servicio de Hematología especial, compatibles con el diagnóstico de leucemia aguda (linfoblásticas o mieloblástica) durante el periodo del 12 de enero 2019 al 31 de diciembre 2022.

Criterios de selección

Criterios de inclusión.

- Expedientes clínicos de pacientes menores de 18 años de edad.
- Cualquier género
- Diagnóstico de novo de leucemia aguda, linfoblástica o mieloblástica, que cuenten con reporte escrito de citometría de flujo del 12 de enero 2019 al 04 de mayo 2021.

Criterios de exclusión.

- Resultados de citometría de flujo de enfermedad mínima residual.

- Resultados de citometría de flujo en líquido cefalorraquídeo.
- Pacientes en recaída de leucemia aguda, linfoide o mieloide.

Criterios de eliminación.

- Reporte de citometría de flujo con inconsistencia de datos generales del paciente.

VARIABLES DE ESTUDIO

VARIABLE	Definición conceptual	Definición operativa	TIPO DE VARIABLE	ESCALA
Sexo	Condición orgánica que distingue a los machos de las hembras	Características biológicas y fisiológicas que definen a hombres y mujeres	Categórica Dicotómica	<ul style="list-style-type: none"> • Mujer • Hombre
Edad	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento	Lapso de tiempo que transcurre desde el nacimiento hasta el momento de referencia	Numérica Discreta	<ul style="list-style-type: none"> • Días, meses, años.
Fecha de estudio	Indicación del tiempo en que se hace u ocurre una cosa	Momento en que ocurre un evento, señalando el día, el mes y el año	Numérica continua	<ul style="list-style-type: none"> • Día/Mes/Año
Tipo de Solicitud	Documento en el que se solicita formalmente algo	Documento en el que se especifica el propósito de estudio de citometría de flujo	Categórica Politómica	<ul style="list-style-type: none"> • Diagnóstico • EMR • Recaída • LCR
Linaje	Clase o condición de una cosa.	Línea celular de los precursores hematopoyéticos	Categórica Politómica	<ul style="list-style-type: none"> • Linfoide B • Linfoide T • Mieloide
Porcentaje de blastos	Porcentaje de células hematopoyéticas inmaduras	Porcentaje de células hematopoyéticas inmaduras identificadas en muestras biológicas, como SP, MO, LCR	Numérica Continua	Porcentaje (%)
CD de linaje linfoide B	Grupos de antígenos en la superficie de los leucocitos	Grupos de antígenos en la superficie o citoplasma de los leucocitos, que determinan su pertenencia a la línea linfoide B	Categórica Politómica	CD10, CD19, CD20, CD79A, TdT, IgMs, IgMc, kappa, lambda
CD de linaje	Grupos de antígenos en la superficie de los leucocitos	Grupos de antígenos en la superficie o	Categórica Politómica	CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8,

linfoide T		citoplasma de los leucocitos, que determinan su pertenencia a la línea linfoide T		
CD de linaje mieloide	Grupos de antígenos en la superficie de los leucocitos	Grupos de antígenos en la superficie o citoplasma de los leucocitos, que determinan su pertenencia a la línea mieloide	Categórica Politómica	MPO, CD117, HLA-DR, CD13, CD33

Análisis Estadístico.

Los datos de recolectarán en hoja de cálculo Excel y se procesarán en programa estadístico SPSS V.20. Se realizará análisis descriptivo, con empleo de medidas de tendencia central (moda, media, mediana), con elaboración de gráficos correspondientes (barras, pastel).

Recursos humanos.

- Hematólogo Pediatra: Dr. Emmanuel Rolando Rodríguez Cedeño, tutor.
- Residente de Hematología Pediátrica: Dulce Sarahy Morales González

Recursos materiales.

- Libretas de registro de inmunofenotipos del área de Citometría de flujo.
- Expedientes clínicos
- Equipo de cómputo con Windows 7 que cuente con Excel, así como el programa SPSS versión 20.

Descripción general del estudio

Se realizará revisión de la libreta de resultados de citometrías de flujo realizadas durante el periodo del 12 de enero 2019 al 31 de diciembre 2022, seleccionando aquellas correspondientes a diagnósticos de *novo* de leucemias agudas, la información de cada inmunofenotipo será registrada en un archivo de Excel, las variables clínicas serán obtenidas de expedientes clínicos, incluyendo, edad, sexo, fecha de solicitud del estudio de inmunofenotipo, el porcentaje de blastos inicial y los clústers de diferenciación para los que es positivo cada paciente, así como la estirpe leucémica.

Con la información obtenida se realizará estadística descriptiva para poder determinar medidas de tendencia central (moda, media, mediana), posteriormente la información se graficará para su presentación visual.

Cronograma de actividades

Año	Mes	Actividad
2022	Abril a Diciembre	— Búsqueda que información para antecedentes
		— Estructuración del protocolo de investigación — Estructuración de base de datos — Inicio de recolección de datos
		— Envío de protocolo a plataforma SIRELCIS para revisión
		— Modificaciones del protocolo de acuerdo a observaciones
2023	Febrero a Junio	— Envío de modificaciones a plataforma SIRELCIS — Autorización de protocolo de Investigación
	Julio a Agosto (2 meses)	— Recolección de datos — Análisis de datos.
	Septiembre y Octubre (2 meses)	— Conclusiones y Elaboración de Escrito. — Presentación de escrito en tesis

Aspectos éticos.

El estudio se someterá a aprobación por el Comité Local de Investigación en Salud del IMSS. Se respetarán los Principios Éticos pertinentes para el desarrollo y conducción del estudio acorde a los estándares internacionales contenidos para investigación en seres humanos:

- Principios éticos que tuvieron su origen en la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, titulado: “El médico que combina la investigación médica con la atención médica debe involucrar a sus pacientes en la investigación sólo en la medida en que esto acredite un justificado valor potencial preventivo, diagnóstico o terapéutico y si el médico tiene buenas razones para creer que la participación en el estudio no afectará de manera adversa la salud de los pacientes que toman parte en la investigación”. **Al tratarse de un estudio retrospectivo, observacional, no se realizará como tal, una intervención en variables de los pacientes.**
- De acuerdo al artículo 17 de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en salud: “Se considera como riesgo de la investigación a la probabilidad de que el sujeto de investigación sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio”. **El actual estudio se clasifica como Investigación SIN RIESGO:** Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquéllos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran: cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, en los que no se le identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta.
- El presente estudio no incluye de forma presencial a población vulnerable como menores de edad, embarazadas o grupos subordinados, ya que únicamente se recabaran datos de los casos previamente diagnosticados.
- Al tratarse de un protocolo de investigación catalogada como **SIN RIESGO**, de carácter retrospectivo, observacional, este grupo de investigadores propone no solicitar carta de consentimiento informado, por lo que se anexa
- **El presente protocolo se apega a la “Ley federal de protección de datos personales en posesión de los particulares” publicada el 5 de julio del año 2010 en el Diario Oficial de la Federación: Capítulo I, Artículo 3 y sección VIII en sus disposiciones generales la protección de datos. La confidencialidad de los datos del paciente será garantizada mediante la asignación de números o claves que solo los investigadores identifiquen, para brindar la seguridad de que no se**

identificará al sujeto y que se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad.

- **El Investigador Responsable el Dr. Emmanuel Rolando Rodríguez Cedeño y Asociado Dra. Dulce Sarahy Morales González, no presentan conflicto de intereses al realizar el presente Protocolo de Estudio.**

Fecha: 21 de septiembre 2022

SOLICITUD DE EXCEPCION DE LA CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Para dar cumplimiento a las disposiciones legales nacionales en materia de investigación en salud, solicito al Comité de Ética en Investigación del Hospital General "Dr. Gaudencio González Garza" Centro Médico Nacional La Raza que apruebe la excepción de la carta de consentimiento informado debido a que el protocolo de investigación "Inmunofenotipo de leucemias agudas pediátricas diagnosticadas del 12 de enero 2019 al 04 de mayo de 2021 en el servicio de Hematología Pediátrica del Hospital General Dr. Gaudencio González Garza, UMAE CMN La Raza", es una propuesta de investigación sin riesgo que implica la recolección de los siguientes datos ya contenidos en los expedientes clínicos:

- 1) Edad, Sexo, Tipo de Solicitud, Linaje, Fecha de Estudio, Porcentaje de Blastos, CD de linaje linfoide B, CD de linaje linfoide T, CD de linaje Mieloide.

MANIFIESTO DE CONFIDENCIALIDAD Y PROTECCION DE DATOS

En apego a las disposiciones legales de protección de datos personales, me comprometo a recopilar solo la información que sea necesaria para la investigación y esté contenida en el expediente clínico y/o base de datos disponible, así como codificarla para imposibilitar la identificación del paciente, resguardarla, mantener la confidencialidad de esta y no hacer mal uso o compartirla con personas ajenas a este protocolo.

La información recabada será utilizada exclusivamente para la realización del protocolo "Inmunofenotipo de leucemias agudas pediátricas diagnosticadas del 12 de enero 2019 al 04 de mayo de 2021 en el servicio de Hematología Pediátrica del Hospital General Dr. Gaudencio González Garza, UMAE CMN La Raza", cuyo propósito es producto comprometido (tesis).

Estando en conocimiento de que en caso de no dar cumplimiento se procederá acorde a las sanciones que procedan de conformidad con lo dispuesto en las disposiciones legales en materia de investigación en salud vigentes y aplicables.

Atentamente

Jefe de Hematología Pediátrica
Dr. Emmanuel Rolando Rodríguez Cedeño
Hospital General CMN La Raza
Muz. 99285171
C.FE. 11511051

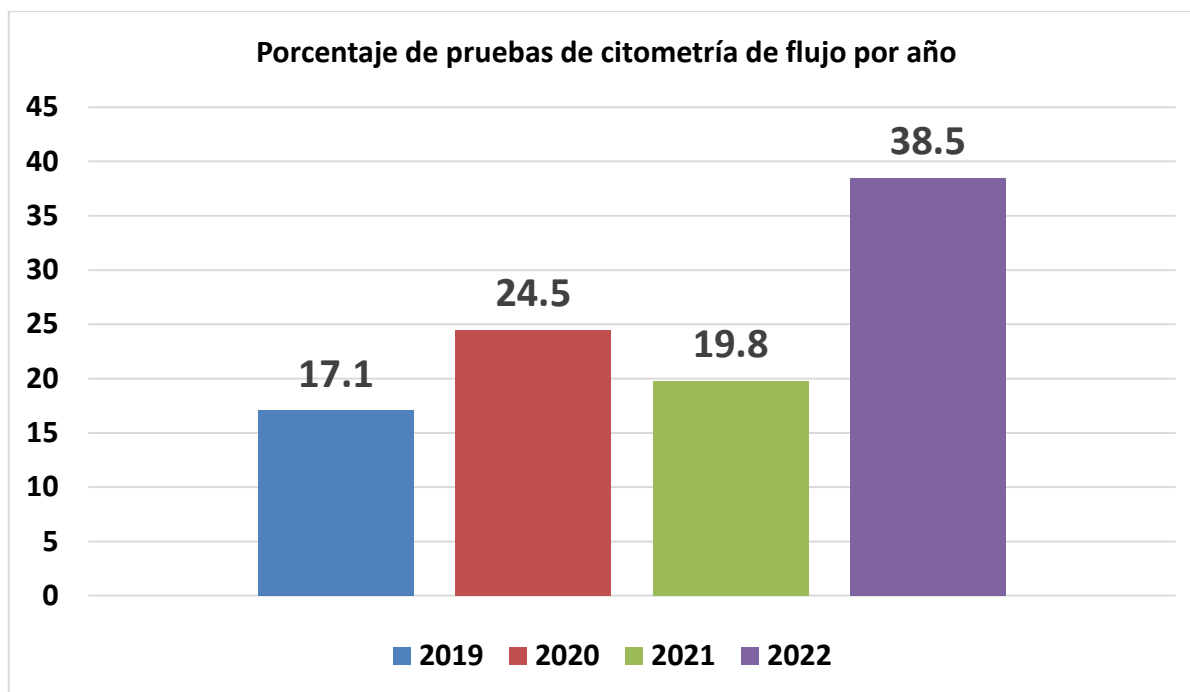
Nombre: Dr. Emmanuel Rolando Rodríguez Cedeño
Categoría contractual: N53 Jefe De Depto. Clínico de Hematología Pediátrica
Investigador(a) Responsable: Dr. Emmanuel Rolando Rodríguez Cedeño

- **Se mantendrá de forma ética el manejo de los datos personales** y de identificación de los pacientes en el manejo de su información en los expedientes clínicos.
- **Contribuciones y beneficios.** La información obtenida del protocolo de investigación permitirá conocer si la población pediátrica atendida en la UMAE CMN La Raza cuenta con un patrón inmunofenotípico asociado a mal pronóstico. Conocer esta información, permite a los médicos a cargo, tomar decisiones terapéuticas a corto, mediano y largo plazo.
- **Balance riesgo/beneficio.** Al no existir intervención sobre pacientes, no existe riesgo, y sí beneficios, como se describió en párrafo previo.
- **Selección de los potenciales participantes.** Debido al tipo de estudio, no se requiere un método especial para la selección de pacientes, ya que se incluirán todos los diagnósticos de novo en el periodo establecido.

Resultados

Durante el periodo comprendido entre 2019 y 2022, se realizaron en total 1407 pruebas de citometría de flujo por parte del servicio de Hematología Especial. El año 2022 fue el más productivo, con un total de 542 pruebas, equivalente al 38.5% del total registrado. El resto de las cifras por año, se muestran en la Tabla 1.

Año	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
2019	241	17.1	17.1
2020	345	24.5	41.6
2021	279	19.8	61.5
2022	542	38.5	100.0
Total	1407	100.0	

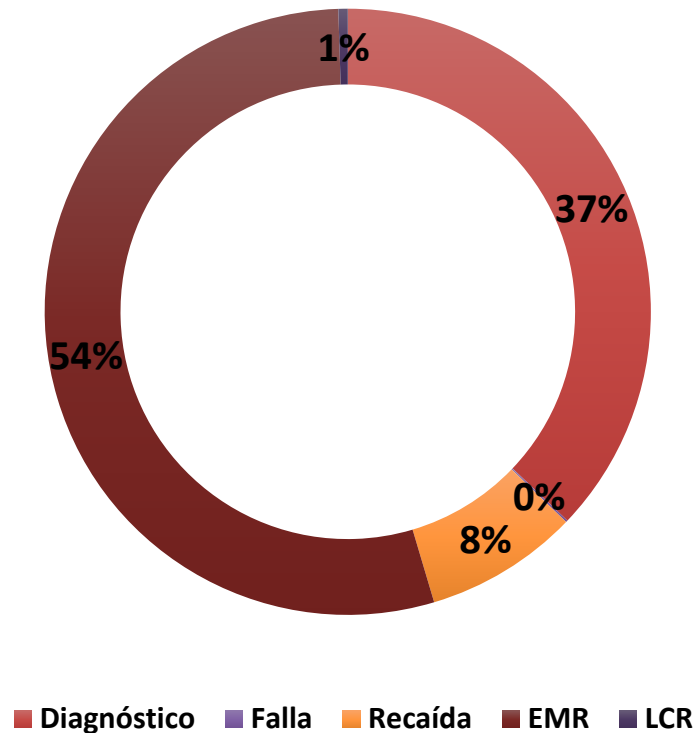


Las pruebas se realizaron a 777 pacientes del sexo masculino (55.2%) y a 630 pacientes mujeres (44.8%). El promedio de edad de la población de interés es de 8.7 años.

Respecto al tipo de solicitud para citometría de flujo, la medición de Enfermedad Mínima Residual tuvo mayor relevancia en el periodo establecido, con un total de 761 eventos, equivalente a 54.10% del total. **La solicitud diagnóstica de la citometría de flujo se solicitó en 522 ocasiones, representando el 37.10% de los eventos.** El resto de estos se divide entre identificación de falla terapéutica, recaídas o evaluación de LCR. Ver tabla 2.

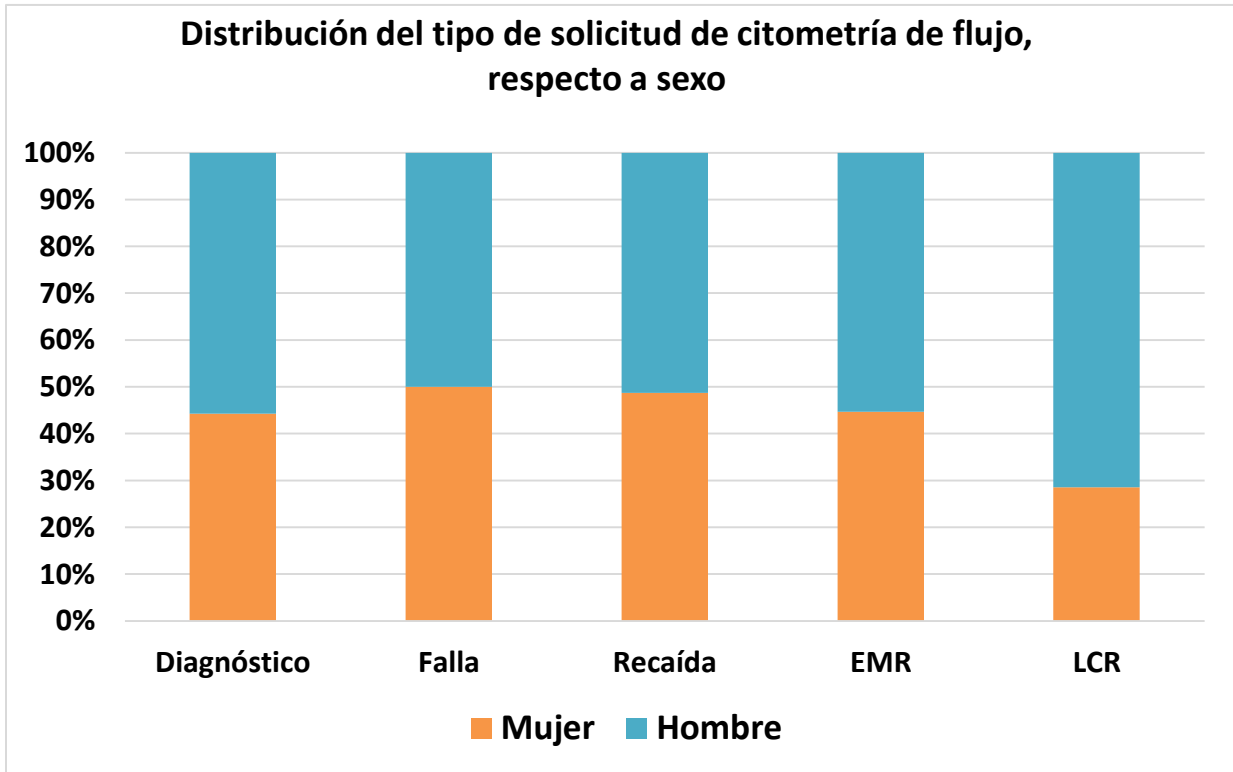
Tabla 2. Tipo de solicitud para citometría de flujo		
	N	%
Diagnóstico	522	37.1
Falla	2	0.1
Recaída	115	8.17
EMR	761	54.1
LCR	7	0.5
Total	1407	100

Distribución de solicitudes de citometría de flujo



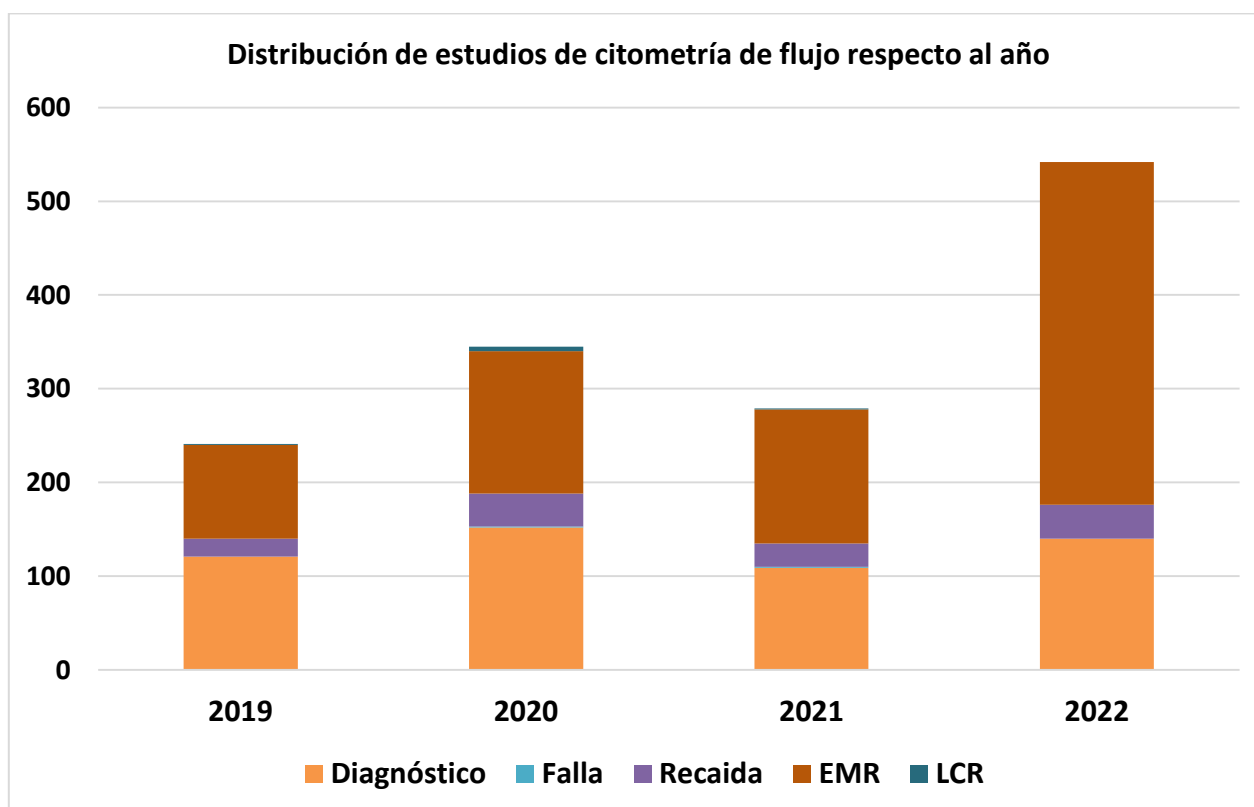
En la tabla 3 se encuentra la distribución de eventos de citometría de flujo, respecto al sexo de los pacientes, se observa que en el área diagnóstica, son similares las cifras entre hombre y mujer, con 291 y 231 casos respectivamente. En el área de EMR, sí se observa una tendencia a favor del sexo masculino con 421 contra 320 casos en mujeres.

Tabla 4. Distribución del tipo de solicitud de citometría de flujo, respecto a sexo							
		Diagnóstico	Falla	Recaída	EMR	LCR	Total
Sexo	Mujer	231	1	56	340	2	630
	Hombre	291	1	59	421	5	777
Total		522	2	115	761	7	1407



De forma complementaria a la información anterior, la solicitud de citometría de flujo para diagnóstico ha variado en el periodo de tiempo de interés para este estudio, observándose el mayor número de eventos realizados en el año 2020, con 152, el menor en 2021 con 109, seguido del 2019, con 121. Este comportamiento difiere en el rubro de citometría de flujo para medición de Enfermedad Mínima Residual, en la que se ve un franco aumento de las solicitudes por año, logrando en 2022 un aumento del 300% respecto a 2019, como puede observarse en la Tabla 5.

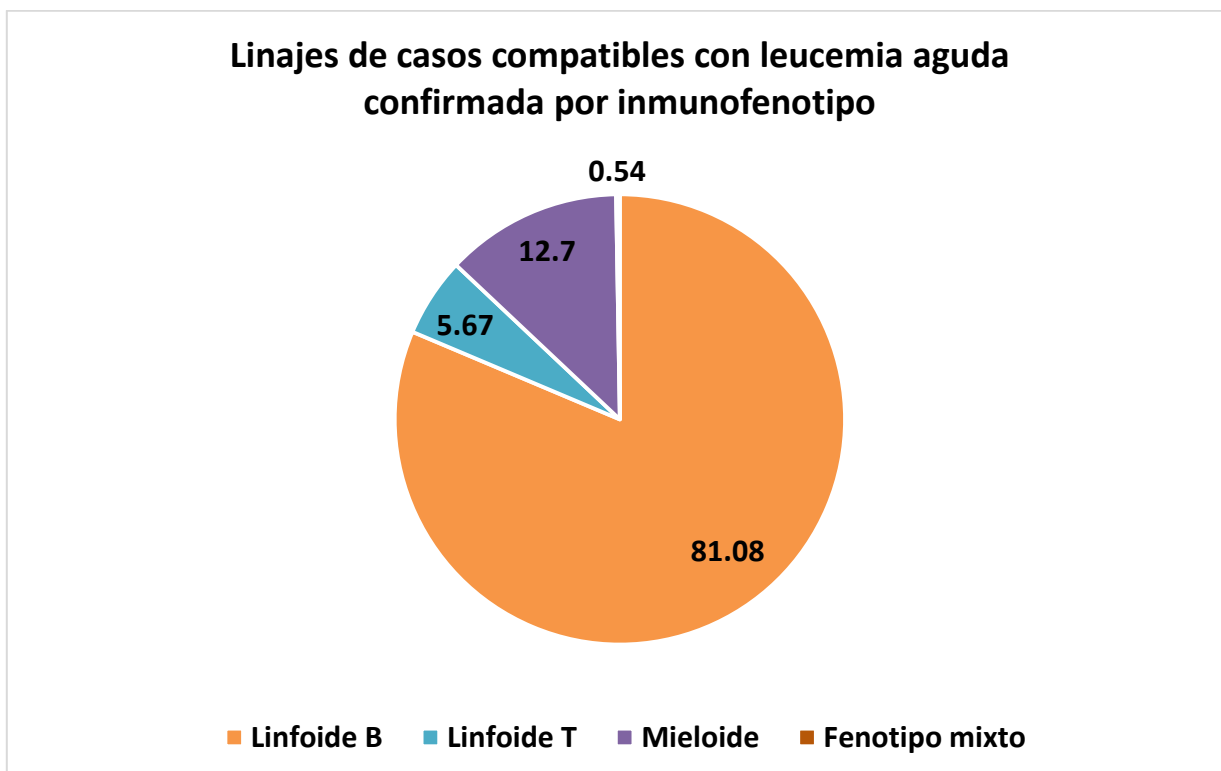
Año	Diagnóstico	Falla	Recaída	EMR	LCR	Total
2019	121	0	19	100	1	241
2020	152	1	35	152	5	345
2021	109	1	25	143	1	279
2022	140	0	36	366	0	542
Total	522	2	115	761	7	1407



De los 1407 estudios de citometría de flujo solicitados, 522 correspondieron a la etiqueta de diagnóstico como parte del protocolo de estudio de pacientes pediátricos con citopenias, sin embargo, **sólo 370 resultados de inmunofenotipo fueron compatibles con leucemia aguda.**

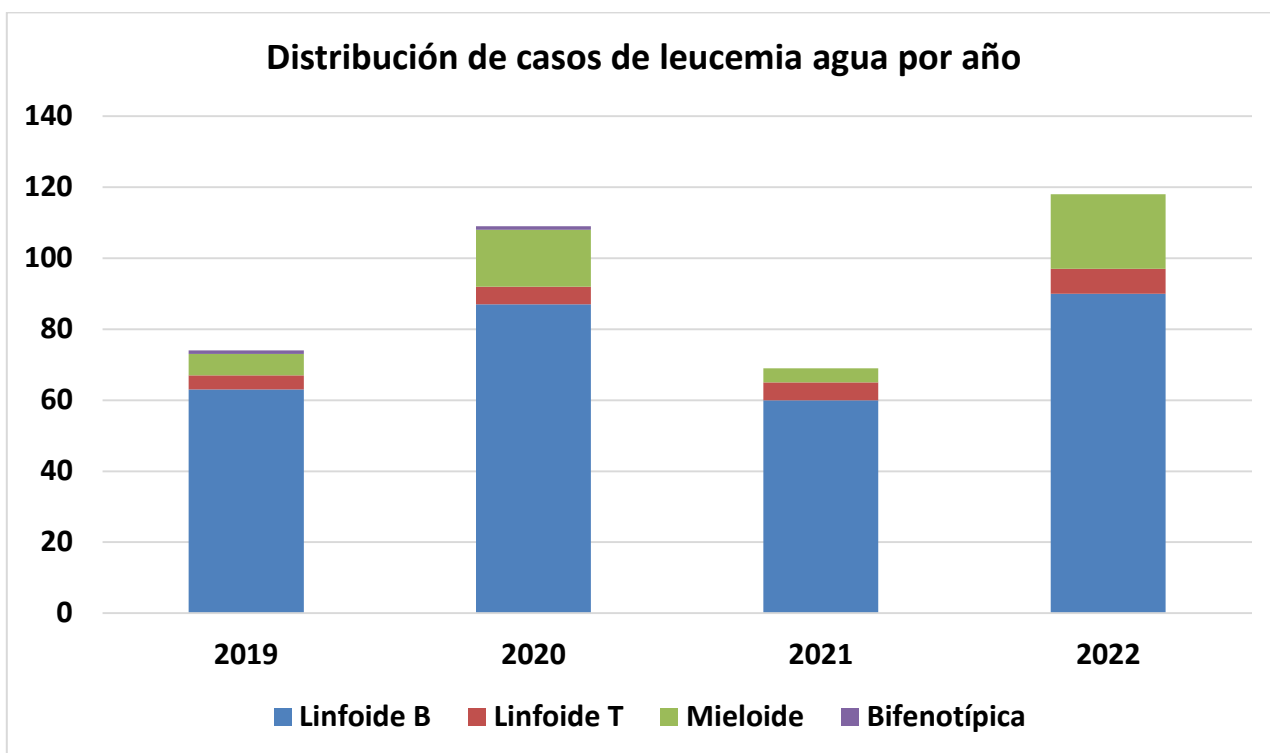
De acuerdo a la tabla 6, la leucemia más frecuente fue la de linaje linfóide B, con 301 casos, seguida por leucemia aguda mieloide con 47 casos, posteriormente leucemia linfóide T con 21 casos, 2 casos de leucemia bifenotípica, de acuerdo a criterios de EGIL, esta tiene expresión positiva de CD10, CD19, CD20, CD79, CD33, CD13, CD15. Esto equivale a 5 puntos para linaje linfóide B y 2.5 para linaje mieloide.

Tabla 3. Distribución del linaje de los casos compatibles con leucemia aguda confirmada por inmunofenotipo		
Linaje	Frecuencia	Porcentaje
Linfoide B	300	81.08
Linfoide T	21	5.67
Mieloide	47	12.7
Fenotipo mixto	2	0.54
Total	370	100



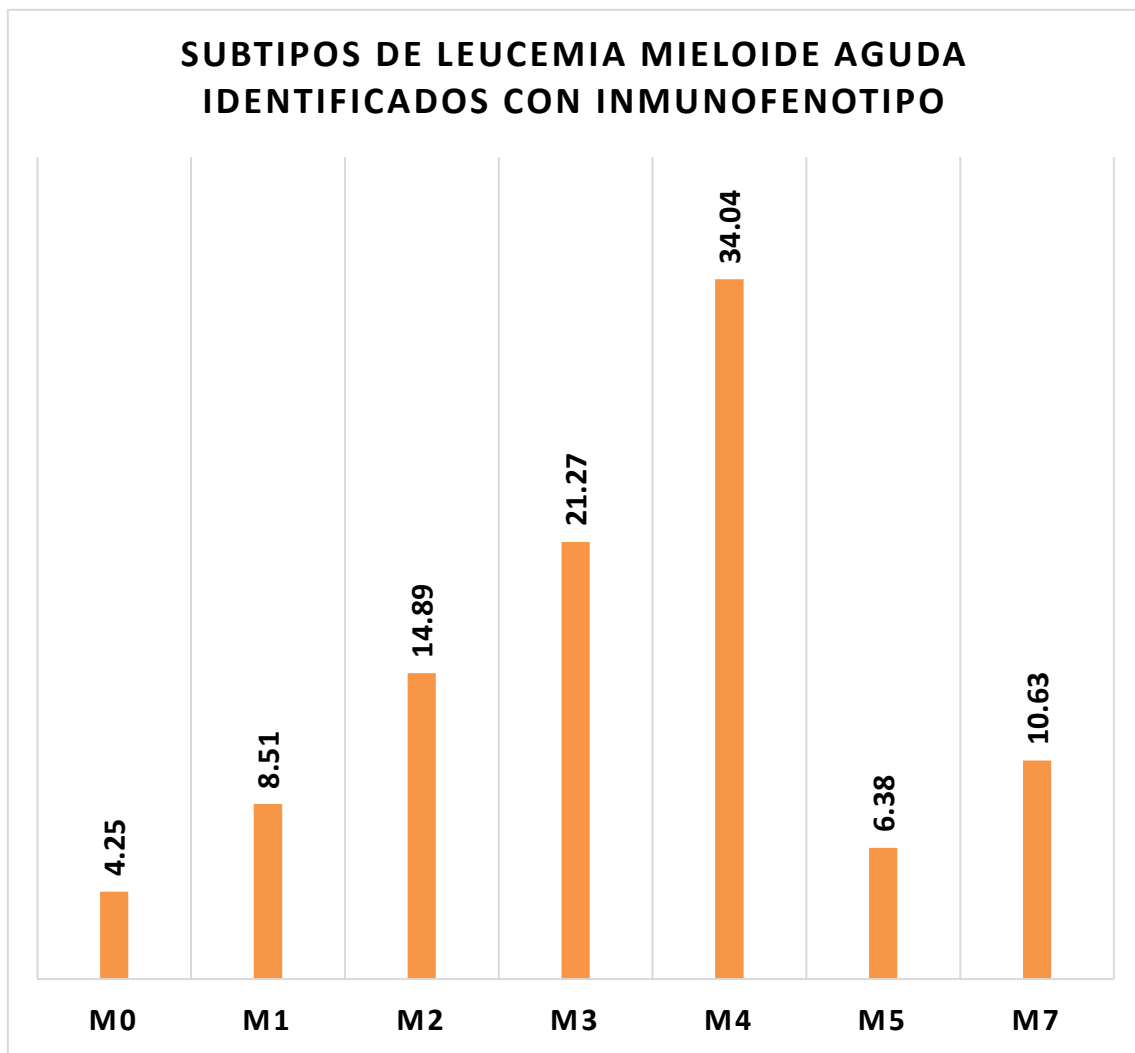
En la tabla 4 se describe la distribución anual de los casos compatibles con leucemia aguda de acuerdo con resultado de inmunofenotipo. Se observa que el año 2022 tuvo el mayor número de casos diagnósticos (118), con predominio de leucemia aguda linfoide B, seguida por leucemia mieloide. El segundo año de mayor importancia fue el 2020, con un total de 109 eventos diagnosticados, igualmente con predominio de leucemia aguda linfoide B. El año 2021 es el de menor número de casos diagnosticados, posiblemente asociados a la condición originada por la pandemia de COVID 19.

Tabla 4. Distribución de casos de leucemia por año					
	Linfoide B	Linfoide T	Mieloide	Bifenotípica	Total
2019	63	4	6	1	74
2020	87	5	16	1	109
2021	60	5	4	0	69
2022	90	7	21	0	118
Total	300	21	47	2	370



En la tabla 5, se aprecia la distribución de casos de leucemia mieloide, total 47, realizando especificación de los subtipos contemplados por la FAB. El subtipo M4 es el de mayor frecuencia, con 16 casos en total, equivalentes a 34.04%, seguida por la variante M3 (leucemia promielocítica), con 10 casos, que representan 21.27%. El subtipo menos frecuente fue la leucemia aguda M0, con 2 casos en 4 años (4.25%).

Tabla 5. Distribución de subtipos de LAM identificados por inmunofenotipo		
Subtipo FAB	Frecuencia	%
M0	2	4.25
M1	4	8.51
M2	7	14.89
M3	10	21.27
M4	16	34.04
M5	3	6.38
M7	5	10.63
Total	47	100.00

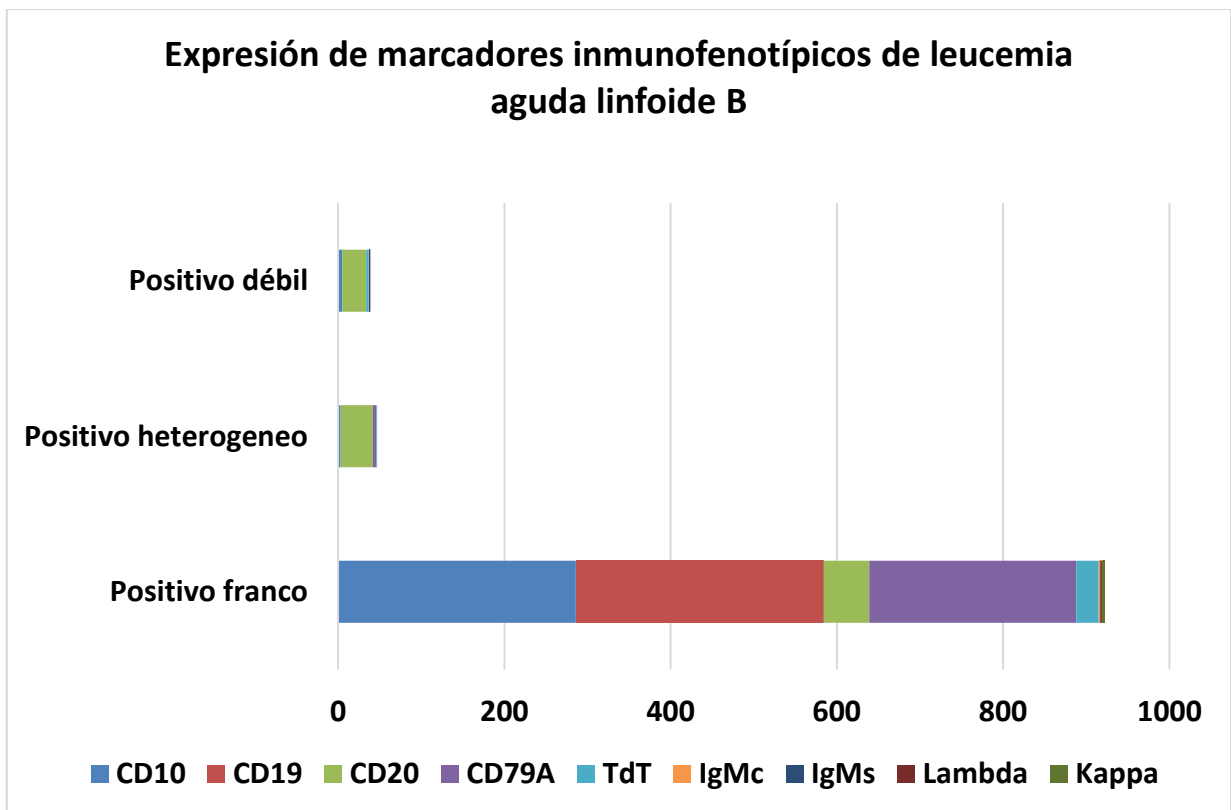
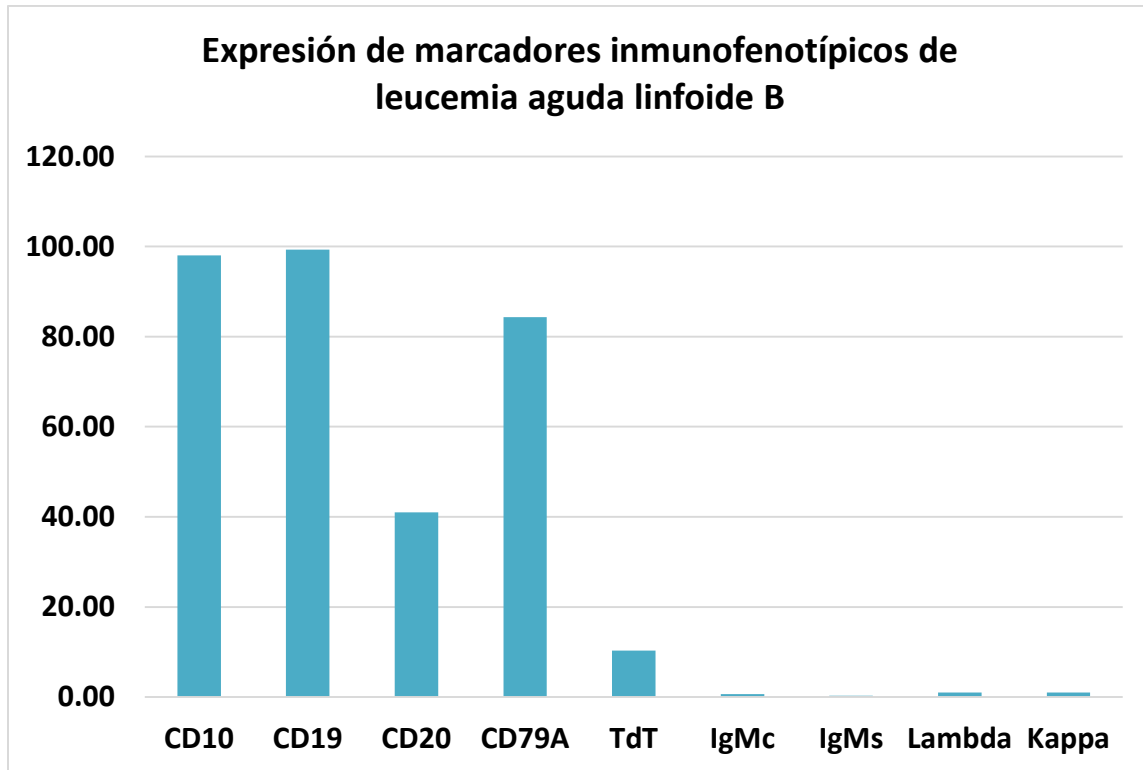


En la tabla 6 se describe la frecuencia en la expresión de marcadores linfoides B en los casos de leucemia identificados. Se observa que el CD19 es el cluster más frecuente con 298 casos donde se expresa forma positiva franca. Le sigue la expresión de CD10, con un total de 294 eventos, de los cuales 286 tienen expresión positiva franca, 3 heterogénea y 5, positiva débil. En tercer lugar, se encuentra la expresión de CD79a con un total de 253 eventos positivos.

Es importante remarcar la expresión del marcador CD20, ante la posibilidad de empleo de anticuerpos monoclonales antiCD20 como parte del tratamiento. Se observa expresión de este marcador en 123 eventos, de los cuales 55 son positivos francos.

Se identifica un caso de leucemia aguda linfóide de linaje B, con marcadores compatibles de linfocito maduro (negativo a CD34, expresión positiva de IgMs, cadenas lambda).

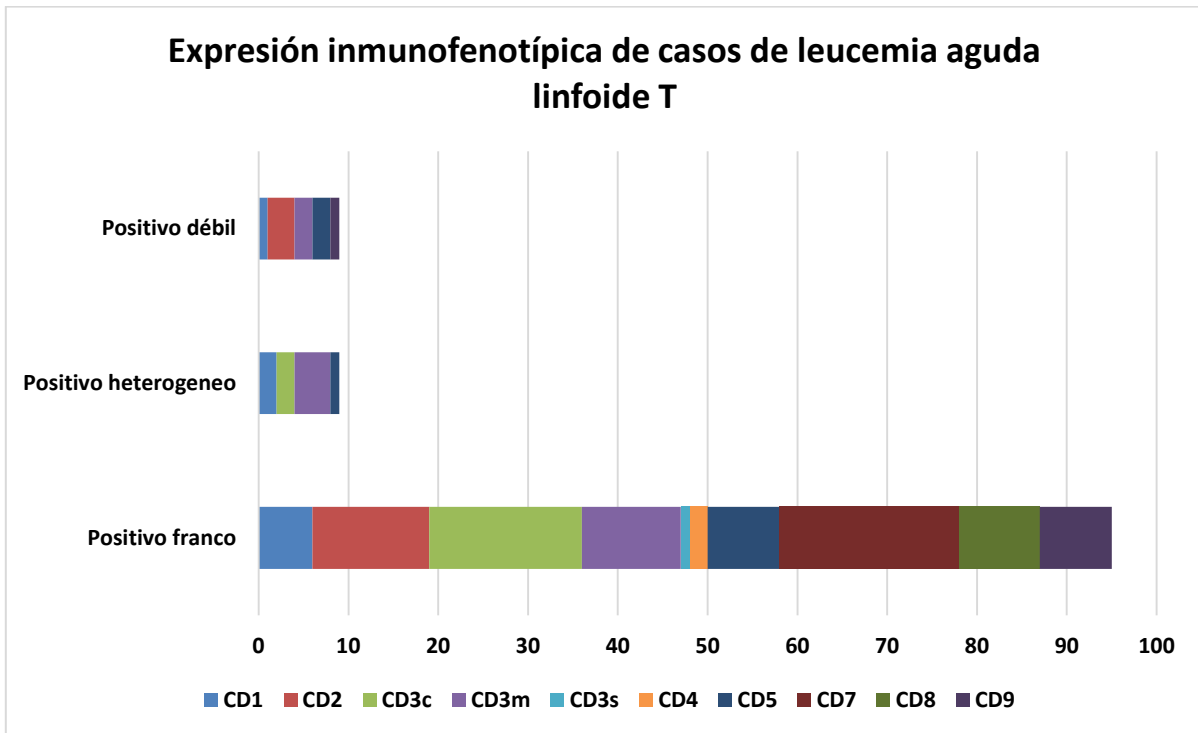
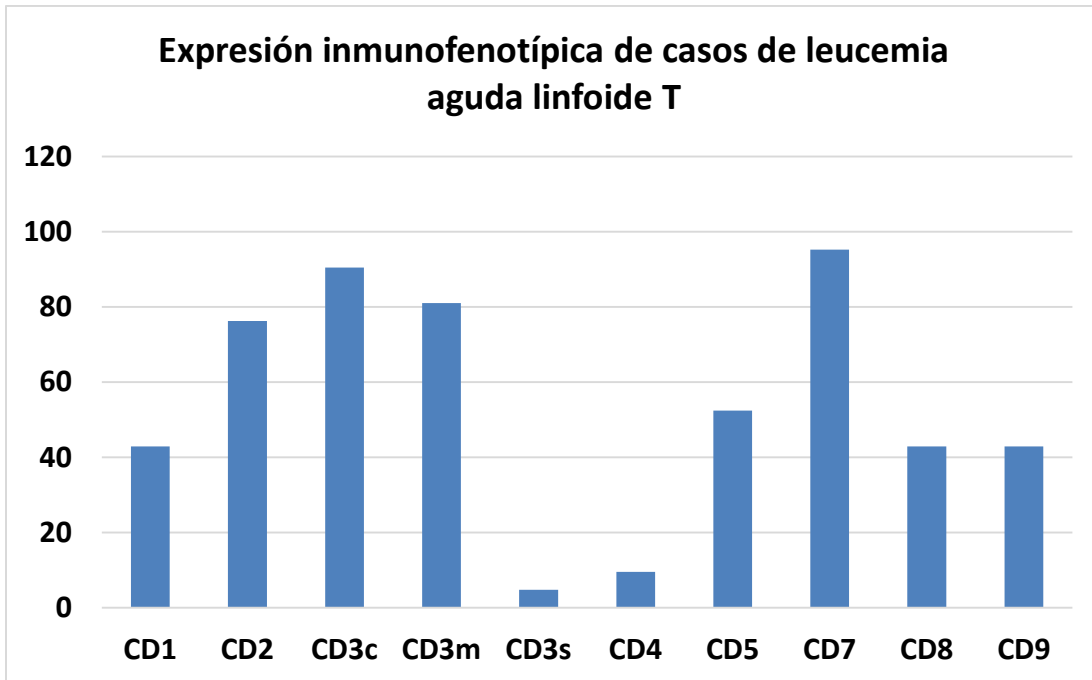
	Positivo franco	Positivo heterogéneo	Positivo débil	Total	Porcentaje
CD10	286	3	5	294	98.00
CD19	298	0	0	298	99.33
CD20	55	39	29	123	41.00
CD79A	249	4	0	253	84.33
TdT	27	1	3	31	10.33
IgMc	2	0	0	2	0.67
IgMs	0	0	1	1	0.33
Lambda	2	0	1	3	1.00
Kappa	3	0	0	3	1.00



A continuación, se muestra la tabla 7, en la que se describe la expresión de marcadores compatibles con leucemia linfocítica aguda de estirpe T. El CD7 es el clúster más frecuente, con 37 casos, de los cuales 30 son positivos francos y 7 heterogéneos. Le sigue la expresión de CD3c, con 19 casos, en tercer lugar, se encuentra el CD3m con 17 casos.

Tabla 7. Expresión de marcadores de citometría de flujo en los casos de leucemia linfocítica T					
	Positivo franco	Positivo heterogéneo	Positivo débil	Total	Porcentaje
CD1	6	2	1	9	42.86
CD2	13	0	3	16	76.19
CD3c	17	2	0	19	90.48
CD3m	11	4	2	17	80.95
CD3s	1	0	0	1	4.76
CD4	2	0	0	2	9.52
CD5	8	1	2	11	52.38
CD7	20	0	0	20	95.24
CD8	9	0	0	9	42.86
CD9	8	0	1	9	42.86

Se identificaron 2 casos de leucemia linfocítica T Pro-T, con expresión positiva de CD3c, CD7, negativa para CD2, CD5, CD1a. **En la lista de casos, se encuentran 2 casos de LAL T Pre-T, con positividad para CD3c, CD7, CD2, CD5, negativo a CD1a.** Hay 3 casos de LAL T cortical, con expresión positiva de CD3c, CD7, CD2, CD5, CD1A. No se identificaron casos de inmunofenotipo compatible con LAL T de precursores tempranos.

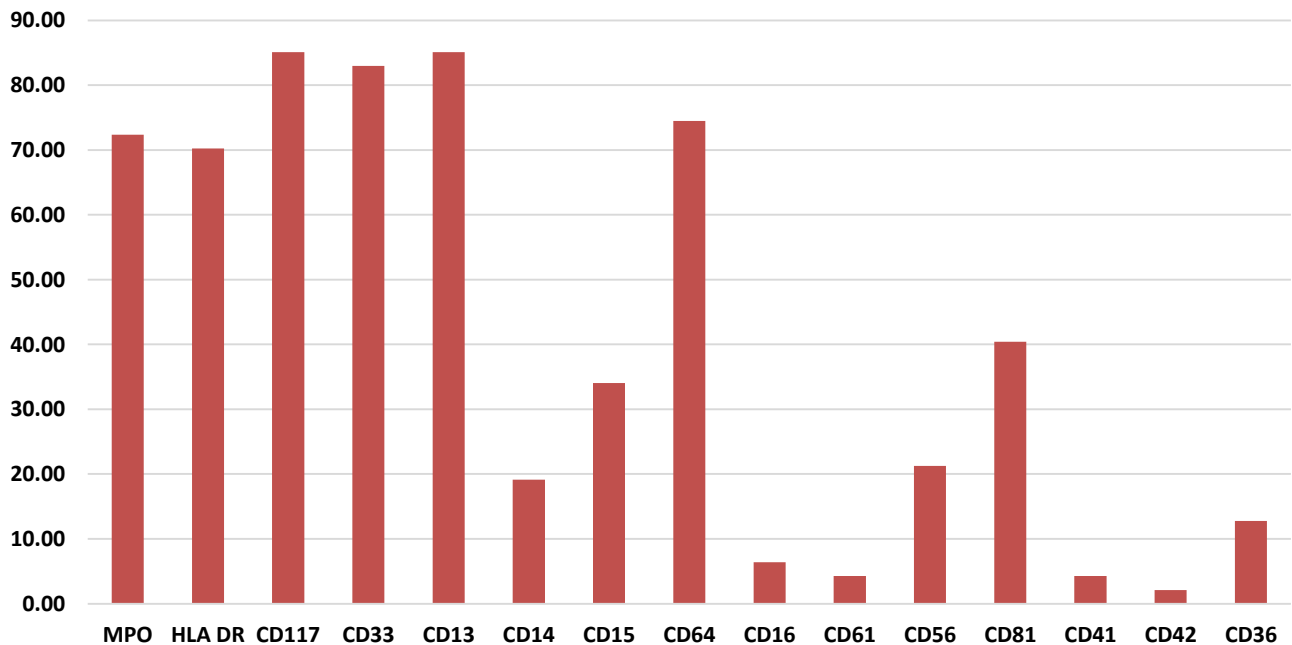


En la tabla 8 se describe la expresión de marcadores inmunofenotípicos de los 47 casos de leucemia aguda mieloide. En primer lugar, se encuentra el CD 117 y el CD13 con un total de 40 casos donde expresan positividad (85.11%, respectivamente). En segundo lugar, se encuentra el CD33 con expresión en 39 casos (82.9%), en tercer lugar, el CD64 (74.47%) con 35 casos (25 positivos francos, 7 heterogéneos y 3 débiles).

Tabla 8. Expresión de marcadores inmunofenotípicos de casos de leucemia aguda mieloide

	Positivo franco	Positivo heterogéneo	Positivo débil	Total	Porcentaje
MPO	22	8	4	34	72.34
HLA DR	31	1	1	33	70.21
CD117	34	4	2	40	85.11
CD33	38	0	1	39	82.98
CD13	33	4	3	40	85.11
CD14	5	3	1	9	19.15
CD15	6	8	2	16	34.04
CD64	25	7	3	35	74.47
CD16	1	1	1	3	6.38
CD61	2	0	0	2	4.26
CD56	8	1	1	10	21.28
CD81	19	0	0	19	40.43
CD41	2	0	0	2	4.26
CD42	1	0	0	1	2.13
CD36	6	0	0	6	12.77

Expresión de marcadores de citometría de flujo en los casos de leucemia aguda mieloide



Discusión

Juárez-Avendaño y sus colaboradores, publicaron un estudio en 2020, enfocado en niños y adolescentes con leucemia aguda en Oaxaca de Juárez, México. Describieron los perfiles de aberraciones moleculares e inmunofenotípicas en niños. Incluyeron 218 pacientes. Se diagnosticó leucemia linfoblástica aguda de células B en el 70,64 % de todos los casos, leucemia mieloide aguda en el 22,48 %, leucemia aguda de células T en el 6,42%, leucemia aguda de fenotipo mixto en el 0,46% de los casos (15).

Los resultados de este estudio muestran un porcentaje mayor en el caso de leucemias linfoides (81.08%). La proporción de leucemia mieloide aguda es menor a la reportada (12.7%). Respecto a la frecuencia de leucemia de estirpe linfóide T, la frecuencia de nuestros casos es similar a lo reportado por Juárez-Avendaño (5.67%), lo mismo ocurre con las leucemias de fenotipo mixto (0.54%).

Un estudio mexicano, publicado en 2017, guiado por López-Almaguer y colaboradores, hace referencia a una incidencia del 51% de leucemias agudas linfoblásticas y 49% de leucemias agudas mieloblásticas, basadas en la expresión inmunofenotípica (13). Bajo esta comparación, los resultados de este estudio difieren, significativamente, con lo reportado, con mayor porcentaje de leucemia linfoides y menor de leucemia mieloide.

Jamal et al en 2021, publicó resultados de un estudio sobre la caracterización inmunofenotípica de 1379 casos de leucemia aguda pediátrica. La edad media de los pacientes fue de $7,4 \pm 4,3$ años, mientras que la relación hombre: mujer fue de 1.75:1. La leucemia linfoblástica representó el 77,2% y la leucemia mieloide el 21,2%. Entre el linaje linfoblástico, B-ALL fue 80,4% mientras que T-ALL fue 19,6% (9).

En comparación con los resultados de este último grupo de trabajo, la edad promedio de la población del la UMAE La Raza, fue de 8.7 años. La relación H:M es de 0.79. Su porcentaje de leucemias linfoides es discretamente menor a lo observado, tanto para estirpe B, como para T (80.4% vs 81.08%, y 19.6% vs 5.67%, respectivamente).

En nuestro universo, el marcador linfóide de mayor expresión fue el CD19 con el 99.93% de los casos, seguido por el CD10 con 98% de expresión y en tercer lugar el CD79A con 84.33%, observándose diferencia con los resultados reportados por Jamal y colaboradores.

Este último grupo de trabajo reporta la frecuencia de leucemia de fenotipo mixto en 0.9%, con un total de 13 casos, las opciones fueron B/Mieloide (n=6), T/Mieloide (n=4) y T/B (n=3) (9). Comparativamente, sólo se identificaron dos casos que cumplían los criterios de la EGIL para diagnóstico de leucemia bifenotípica, con patrón B (5 puntos)/Mieloide (2.5 puntos).

El grupo de investigadores dirigido por Jamal reporta expresión de CD20 del 59.4% (9). En este estudio, la población pediátrica con leucemia aguda linfocítica B, tiene expresión del 41%, con 55 casos donde la positividad es franca, 39 de expresión heterogénea y 29 de expresión débil.

Pandian y colaboradores, realizaron un estudio en 2018, del que se concluye que la LLA fue la leucemia aguda más frecuente en niños (90,3%). El 85,7% de los casos correspondió a linaje de células B y el 14,3% a células T. De los B-ALL, el 87,5 % eran pre-B, el 8,3 % pro-B y el 4,2 % B maduros. La coexpresión del antígeno mielocítico fue visto en el 35,7% (7).

El estudio actual muestra similitud en las cifras referentes a leucemia linfocítica B, pero es mayor su reporte a lo observado en la UMAE La Raza sobre las leucemias linfocíticas de estirpe T. De igual forma, sólo se identificó un caso compatible con leucemia linfocítica B madura, con expresión de inmunoglobulina M de superficie además de cadenas ligeras lambda, representando 0.33%.

Respecto a la expresión de antígenos aberrantes, el CD33 fue el más frecuente con 36%, seguido por el CD13 33%. La expresión conjunta de estos marcadores se presentó en el 22.66% de los casos de leucemia linfocítica B. Es importante remarcar que, a pesar de la expresión aberrante, no se cumplen los criterios de EGIL para leucemia bifenotípica, más que en dos ocasiones, como se describió en sección de resultados.

Referentes a la expresión de antígenos aberrantes en las leucemias mielocíticas, se identificó al CD19 en 7 casos, representa el 14.89%, el CD7 en 14 eventos, 29.78% y al CD4 en 1 ocasión, 2.12%.

Conclusiones

Se observa que la población pediátrica atendida en la UMAE La Raza, servicio de Hematopediatría, presenta discretas variaciones respecto a la frecuencia de leucemias agudas y a sus subtipos. Predomina la leucemia linfoide de estirpe B, seguida por la estirpe mieloide, de esta última el subtipo más frecuente es el M4, seguida por el M3 o leucemia promielocítica.

Existen pocos estudios enfocados en describir las características inmunofenotípicas de las leucemias, principalmente en la población pediátrica y en los casos de leucemia aguda mieloide. En su mayoría, los estudios están enfocados en las leucemias de estirpe linfoide.

Una diferencia poblacional importante es la expresión de CD19. Los pacientes pediátricos de la UMAE La Raza tienen alta expresión de CD19 al momento del diagnóstico. Esta situación es importante ante el reciente uso de anticuerpos monoclonales antiCD19 (Blinatumomab) en el escenario de recaída o refractariedad, donde el porcentaje de expresión puede disminuir como parte de los mecanismos de supervivencia de la célula leucémica.

La expresión de CD20 es menor a la observada en publicaciones internacionales. Esta información es importante para la adición de anticuerpos monoclonales anti CD20, como el Rituximab en el escenario de recaída o refractariedad.

El inmunofenotipo continúa siendo una herramienta pilar para el diagnóstico de leucemias agudas y su tipificación. Aunque en otros escenarios médicos, existen herramientas diagnósticas de base molecular, como la PCR, FISH o NGS, en nuestro medio la citometría de flujo permite orientar al clínico sobre factores modificadores de pronóstico para los pacientes, por ejemplo, la expresión de CD20, coexpresión de marcadores aberrantes, disminución de expresión de CD19, etcétera.

Bibliografía

1. Dawn M, Betters RN. Use of Flow Cytometry in Clinical Practice. *J Adv Pract Oncol* 2015;6:435–440.
2. A Brief History of Flow Cytometry [Internet]. Flow Contract Site Laboratory. 2022 [citado 9 diciembre 2022]. Disponible en: <https://fcslaboratory.com/a-brief-history-of-flow-cytometry/>
3. How Does Flow Cytometry Work? [Internet]. NanoCollect Biomedical Inc. 2020 [citado 9 diciembre 2022]. Disponible en: <https://nanocollect.com/blog/how-does-flow-cytometry-work/>
4. Cluster of Differentiation [Internet]. Creative Biomart. 2018 [citado 9 diciembre 2022]. Disponible en: <https://www.creativebiomart.net/Cluster-of-Differentiation.htm>
5. Wood BK. Flow cytometry in the diagnosis and monitoring of acute leukemia in children. *J Hematopathol* (2015) 8:191–199.
6. Mao J, Xue L, Wang H, Zhu Y, Wang J, Zhao L. A New Treatment Strategy for Early T-Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia: A Case Report and Literature Review. *Onco Targets Ther.* 2021;14:3795-3802.
7. Pandian G, Sankarasubramanian ML. A study on clinical, immunophenotypic pattern in pediatric acute leukemias in a teaching hospital. *Int J Contemp Pediatr.* 2018;5(4):1183-1189.
8. Batra S, Ross AJ. Pediatric Mixed-Phenotype Acute Leukemia: What's New? *Cancers.* 2021;13(18):4658.
9. Jamal S, Meraj F, Mansoor N, Parveen S, Shaikh A, Jabbar N. Distribution of subtypes and immunophenotypic characterization of 1379 cases of paediatric acute leukaemia. *Pak J Med Sci.* 2021;37(3):805-811.
10. Chang TY, Chen SH, Jaing TH et al. Cytogenetic aberration in mixed-phenotype acute leukemia in children: A single-center retrospective review. *Pediatrics and Neonatology* (2021) 62, 21-25.
11. Ohki, K, Takahashi, H, Fukushima, T, et al. Impact of immunophenotypic characteristics on genetic subgrouping in childhood acute lymphoblastic leukemia: Tokyo Children's Cancer Study Group (TCCSG) study L04-16. *Genes Chromosomes Cancer.* 2020; 59: 551– 561. Pardo, LM, Voigt, AP, Alonzo, TA, Wilson, ER, Gerbing, RB, Paine, DJ, Dai, F, Menssen, AJ, Raimondi, SC, Hirsch, BA, Gamis, AS, Meshinchi, S, Wells, DA, Brodersen, LE, and Loken, MR. Deciphering the Significance of CD56 Expression in

- Pediatric Acute Myeloid Leukemia: A Report from the Children's Oncology Group. *Cytometry Part B* 2020; 98B: 52– 56.
12. Tampubolon PC, Lubis B, Aman AK, Nasution MR. Immunophenotyping Pattern in Childhood Acute Leukemia in the Adam Malik Hospital Medan. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 2020 Nov, 27 (1): 1 – 6.
 13. Gómez-Almaguer D, Marcos-Ramírez ER, Montaña-Figueroa EH, Ruiz-Argüelles GJ, Best-Aguilera CR, López-Sánchez MD, Barrera-Chairez E, López-Arrollo JL, Ramos-Peñafiel CO, León-Peña A, González-López EE, Rivas-García PE, Tellez-Hinojosa CA, Gómez-De León A, Jaime-Pérez JC. Acute Leukemia Characteristics are Different Around the World: the Mexican Perspective. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2017;17(1):46-51.
 14. Cheng J, Klairmont MM, Choi JK. Peripheral blood flow cytometry for the diagnosis of pediatric acute leukemia: Highly reliable with rare exceptions. *Pediatr Blood Cancer*. 2019;66(1):e27453.
 15. Juárez-Avendaño G, Luna-Silva NC, Chargoy-Vivaldo E, et al. Poor Prognosis Biomolecular Factors Are Highly Frequent in Childhood Acute Leukemias From Oaxaca, Mexico. *Technol Cancer Res Treat*. 2020;19:1-10.