



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
SECCIÓN DE POSGRADO

ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL COMO PREDICTOR DE
RECAÍDA EN LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS
2014-2016

PRESENTADA POR
DANIEL VERA ARTEAGA

ASESOR

DRA. GEZEL RAQUEL VÁSQUEZ JIMÉNEZ

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
PARA OPTAR EL TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD EN MEDICINA
ONCOLÓGICA

LIMA – PERÚ
2019



Reconocimiento - No comercial

CC BY-NC

El autor permite entremezclar, ajustar y construir a partir de esta obra con fines no comerciales, y aunque en las nuevas creaciones deban reconocerse la autoría y no puedan ser utilizadas de manera comercial, no tienen que estar bajo una licencia con los mismos términos.

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



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
SECCIÓN DE POSGRADO**

**ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL COMO PREDICTOR DE
RECAÍDA EN LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS
2014-2016**

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

PARA OPTAR

EL TÍTULO DE SEGUNDA ESPECIALIDAD EN MEDICINA ONCOLÓGICA

**PRESENTADO POR
DANIEL VERA ARTEAGA**

**ASESOR
DRA. GEZEL RAQUEL VÁSQUEZ JIMÉNEZ**

**LIMA, PERÚ
2019**

ÍNDICE

	Págs.
Portada	i
Índice	ii
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
1.1 Descripción del problema	1
1.2 Formulación del problema	3
1.3 Objetivos	3
1.4 Justificación	4
1.5 Viabilidad y factibilidad	5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	
2.1 Antecedentes	6
2.2 Bases teóricas	9
2.3 Definiciones de términos básicos	13
CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES	
3.1 Formulación de la hipótesis	14
3.2 Variables y su operacionalización	14
CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA	
4.1 Tipos y diseño	15
4.2 Diseño muestral	15
4.3 Técnicas y procedimiento de recolección de datos	16
4.4 Procesamiento y análisis de datos	17
4.5 Aspectos éticos	17
CRONOGRAMA	18
PRESUPUESTO	19
FUENTES DE INFORMACIÓN	20
ANEXOS	
1. Matriz de consistencia	
2. Instrumento de recolección de datos	

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción del problema

Para determinar la enfermedad mínima residual (EMR) es por medio del método de citometría de flujo que sirve para discriminar las células fisiológicas normales, inmunofenotipo o reordenamiento, inmunoglobulinas de leucemia, y genes de Células T, además de otro método como transcripciones de genes de fusión por reacción de cadena polimerasa cuantitativa en tiempo real (PCR), el PCR puede detectar hasta un 95% de EMR en los pacientes con leucemia linfoblástica aguda (LLA). Siendo alrededor del 30% al 40% de los pacientes con LLA precursoras de células B, y del 10% al 20% de los pacientes con LLA de células T, tienen aberraciones cromosómicas específicas que se pueden usar para detección de enfermedad mínima residual.

En los últimos 10 años la aplicación de la EMR, en la LLA se ha expandido en un número limitado de estudios en Europa y los Estados Unidos a la aplicación mundial. La EMR se usa para describir la enfermedad que no es detectable por citomorfología convencional, esta se detecta mediante métodos de citometría molecular y de flujo para monitorizar con mayor precisión la cinética de la enfermedad durante y después del tratamiento (1).

Varios estudios tanto en LLA infantil y en adultos han demostrado que la EMR es como resultado el factor pronóstico altamente relevante, además para la estratificación del tratamiento. En el grupo multicéntrico Alemán para LLA en adultos (GMALL), Europeo (PETHEMA), y 23 estudios posteriores confirmaron el impacto pronóstico independiente de EMR después de la inducción y consolidación precoz, con diferentes esquemas de tratamiento de quimioterapia. El resultado negativo de la EMR en paciente con Leucemia linfoblástica aguda demuestra un aumento en la supervivencia; un pequeño subgrupo con EMR positivo en el día 14 del tratamiento, siendo el 10% de pacientes son de mal pronóstico y la SLP y SG de 9 y 21 meses respectivamente; sin embargo, la EMR en ese momento perdió impacto pronóstico (2).

En pacientes con LLA el diagnóstico con EMR, ya no, es una herramienta de investigación clínica, para los ensayos clínicos solamente, si no que se han convertido en parte de la atención diagnóstica y tratamiento del paciente.

La EMR debe estar disponible en las instituciones para la evaluación de la respuesta y pronóstico del tratamiento en cada paciente con LLA individual, se priorizará los grupos de riesgo y el tratamiento adecuado. Durante las fases iniciales de la quimioterapia proporciona una base confiable de sensibilización con el fármaco con los Linfoblastos Leucemicos (2, 3).

Actualmente, todos los pacientes pediátrico y adultos con LLA en los países occidentales están siendo monitorizados con técnicas de EMR para evaluar la efectividad del tratamiento y asignar a los pacientes en grupos de riesgo basados en EMR negativo (< 0.01 o $< 10^{-4}$); obteniendo muy pocas probabilidades de recaída de aproximadamente el 3-5% (3).

La tasa de mortalidad y de recaída en la población de pacientes con LLA, en el estudio cohorte retrospectivo que recibieron Inducción en los Hospitales de Lima – Perú (2018), se obtuvo una tasa de mortalidad de 32.5% y una tasa de recaída 66.1%, respectivamente en pacientes con alto y muy alto riesgo, este es un estudio base en nuestra población para determinar los factores predictores de recaída y tener un tratamiento oportuno y eficaz para disminuir las altas tasas de mortalidad y de recaída. Uno de los factores pronóstico se evidencia la EMR como predictor en el día 15 y al finalizar la inducción, pero solo en hospitales como EsSalud y el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas se cuenta con estudios moleculares y de citometría de flujo, otros hospitales de MINSA, no cuentan con estos estudios. Se deben realizar más estudios en Perú con la finalidad de mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Por otro lado, es recomendable la estandarización de los estudios moleculares en más hospitales del MINSA, y a su vez tener un registro a nivel nacional con estos resultados para mejorar el tratamiento de inducción y tener mejor criterio para el tratamiento complementario en pacientes que no requieren, en la actualidad, no se cuenta con estudios a nivel nacional sobre el beneficio de EMR como predictor de recaída y sobrevida en pacientes con leucemia linfoblástica aguda.

1.2 Formulación del problema

¿De qué manera la enfermedad mínima residual es predictor de recaída después de la inducción en adolescentes con leucemia linfoblástica aguda células B en INEN entre el 2014 al 2016?

1.3 Objetivos

Objetivo general

Determinar si la enfermedad mínima residual es predictor de recaída después de la Inducción en adolescentes con Leucemia Linfoblástica aguda Células B en INEN de 2014 al 2016.

Objetivos específicos

Determinar si la enfermedad mínima residual es predictor de recaída después de la Inducción según la Edad en Adolescentes con Leucemia Linfoblástica Aguda en INEN entre el 2014 al 2016.

Determinar si la enfermedad mínima residual es predictor de recaída después de la Inducción según el sexo en Adolescentes con Leucemia Linfoblástica Aguda en INEN entre el 2014 al 2016.

Determinar si la enfermedad mínima residual es predictor de recaída después de la Inducción en Adolescentes con Leucemia Linfoblástica Aguda según el tipo en INEN entre el 2014 al 2016.

Determinar si la enfermedad mínima residual es predictor de recaída después de la Inducción en Adolescentes con Leucemia Linfoblástica Aguda según el Riesgo en INEN entre el 2014 al 2016.

Determinar si la enfermedad mínima residual es predictor de recaída después de la Inducción según el Método de estudio en Adolescentes con Leucemia Linfoblástica Aguda en INEN entre el 2014 al 2016.

1.4 Justificación

El estudio y búsqueda de EMR sirve como factor pronóstico en determinar el riesgo de recaída, y dependiendo el resultado que se tenga posterior a la inducción, la EMR tendrá relación en una buena o pobre supervivencia libre de progresión y supervivencia global. El riesgo de recaída es directamente proporcional al nivel de EMR determinada en diferentes puntos del tratamiento, por medio de los métodos de citometría de flujo y PCR.

Hasta el momento no se ha evidenciado que con el resultado negativo de la EMR en pacientes con leucemia linfoblástica aguda la intensidad del tratamiento se debe disminuir, se ha evidenciado que con el tratamiento de quimioterapia estándar en este grupo de pacientes hay un mejor resultado en las supervivencias.

Los valores referenciales estándares a nivel internacional de la EMR es de 0.001 ó 10⁻⁴, estudios para identificar la EMR posterior a la quimioinducción en pacientes adolescentes con leucemia linfoblástica aguda e identificarlo como principal factor pronóstico para así determinar un tratamiento de quimioterapia intenso vs estándar con el fin de no tener toxicidad limitante y riesgo de morbimortalidad

Como resultado de los estudios sobre la EMR con resultado positivo al final de la inducción tiene mayor riesgo de recaída de un 14% y con ello, menor supervivencia libre de progresión y global, algunos estudios demuestran que la determinación de EMR con resultado positivo en el día 15 demuestra un mayor riesgo de recaída de un 50% a corto plazo y por ello requiere, un tratamiento posterior intenso y/o trasplante de células progenitoras.

Actualmente, se ha intensificado los estudios para determinar la EMR posterior a la inducción en Leucemia linfoblástica aguda en ambos grupos etarios por ser un factor de riesgo importante, demostrando una mejor supervivencia libre de progresión hasta un 80% con resultado negativo y un 30% con EMR positivo en cinco años de seguimiento. Por tal motivo, es la importancia de determinar la EMR que nos indica la relación con la recaída y la supervivencia.

1.5 Viabilidad y factibilidad

El presente estudio a investigar, es viable tiene conocimiento la institución donde se realizara la muestra. El instrumento para obtención de la información son las historias clínicas además de los datos proporcionados por área de citometría de flujo (No contamos con PCR para EMR).

Este proyecto es factible, ya que, se cuenta con los recursos económicos, humanos e informáticos que se utilizarán para el desarrollo de la investigación sin dificultades.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Cárdenas-Araujo D et al., en 2018, publicaron el estudio retrospectivo e identifico la EMR como herramienta con mas valor pronóstico, para predecir los resultados en niños, adolescentes, adulto joven con LLA, en conclusión la EMR positiva informa que paciente debe recibir un tratamiento más intenso para mejor pronóstico y menor riesgo de recaída(sistémica, medular) (4).

Jiménez-Morales S et al., en 2017, publicaron que la secuenciación del genoma en pacientes con LLA, sigue siendo una entidad compleja y heterogénea, para determinar el riesgo de recaída, o toxicidad a tratamientos antes de que existan manifestaciones clínicas de la enfermedad. Actualmente, los estudios de NGS nos proporcionan mejor información para determinar las mutaciones accionables, para los que existe tratamiento en fase preclínica, los genes alterados pueden ser utilizados como biomarcadores de la EMR (5).

Donald A et al., en 2017, publicaron un estudio retrospectivo que demostró que la detección de EMR posterior a la inducción en LLA en niños y adultos, disminuye riesgo de recaída y mortalidad, mejorando la eficacia de ensayos clínicos, y acelerar el desarrollo de los fármacos adecuados, por tal motivo, la falta de productividad de EMR es sustancial en pacientes con LLA (6).

Jabbour E et al., en 2017, publicaron un estudio prospectivo sobre la evaluación de la EMR como predictor pronóstico y supervivencia en pacientes con LLA posterior a la inducción, pacientes que recibieron tratamiento con quimioterapia e inmunoterapia como resultado final de la inducción se obtuvo EMR negativo hasta un 57% por citometria de flujo, obteniendo mayor SLP a largo plazo (7).

Shabaan R et al., en 2016, publicaron que la determinación de EMR se ha convertido en una practica clínica de primera línea en el tratamiento de pacientes con LLA en la infancia, siendo el factor de riesgo más fuerte, que permite la asignación de grupos de riesgo a diferentes grupos de tratamiento, por medio del estudio de PCR se determino EMR positiva hasta un 81%, permitiendo así la detección temprana de recaídas, con la determinación y adaptación del tratamiento inmediato (8).

Michael J et al., en 2015, publicaron la importancia de la EMR en pacientes con LLA de células B Alto riesgo en población infantil, se investigó con un diseño aleatorizado factorial donde un grupo recibió metotrexate alta dosis (mantenimiento interino) y otro prednisona o dexametasona durante la inducción, la EMR se midió con citometría de Flujo de 6 colores, se evidenció en pacientes que recibieron Metotrexate en altas dosis, durante mantenimiento interino que obtuvieron EMR negativo tiene una SLP de 82.8% frente pacientes que tuvieron EMR positivas de SLP 68.4%, la terapia intensificada en pacientes con EMR positiva no mejoró la SLP ni SG, por tal motivo, la determinación de EMR negativo después de la inducción y consolidación tiene mejor pronóstico y SLP en cinco años (9).

González M et al., en 2014, publicaron un estudio retrospectivo sobre la metodología para determinar la EMR, por tal motivo, se estudió métodos para valorar EMR como pronóstico de recaída en LLA, proteína cadena de polimerasa con una sensibilidad alta de $> 1 \times 10^{-4-6}$, y citometría de flujo con una sensibilidad alta de $> 1 \times 10^{-4-5}$, con el fin de tener EMR negativo y por ende, menor riesgo de recaída y menos sobretratamientos postinducción en pacientes con leucemia linfoblástica aguda (10).

Soria M et al., en 2014, publicaron que la EMR se considera un factor de riesgo independiente, asociado a una alta SLP en pacientes con LLA grupo pediátricos, que alcanzaron remisión completa con EMR negativo posterior a inducción. Pacientes que obtuvieron EMR positiva en el día 15 y al final de la inducción tuvieron alto riesgo de recaída, y baja SLP y SG (11).

David W et al., en 2014, publicaron que la comparación de los métodos de estudio pareado como la citometría de flujo y PCR para la detección de EMR, posterior a la inducción en pacientes con LLA, se determinó que en todos los casos los métodos de citometría de flujo y PCR son positivo sin resultados de falsos negativos, dicho resultados brindan mejor respaldo en estas pruebas de secuenciamento para determinar mejor el pronóstico clínico (12).

Manal Salah-Eldin et al., en 2014, publicaron la importancia de EMR en pacientes con LLA células B PHY negativos con riesgo estándar en adultos jóvenes, se evaluó el estudio de EMR por método de PCR, obteniendo una tasa de respuesta citológica completa hasta el 93%, SLP 73.8% y SG 82.4% en pacientes con LLA PHY negativos riesgo estándar adultos jóvenes posterior a la inducción (13).

Michael J et al., en 2013, publicaron un estudio retrospectivo sobre la importancia clínica de la EMR en pacientes con LLA Infantil, el impacto pronóstico de la EMR medida por citometría de flujo en la sangre periférica en el día 8 y al final de la inducción en médula ósea en el día 29, en 2143 niños con leucemia linfoblástica aguda de células B, se evidencio que la SLP, es pobre en pacientes con EMR Positivas(citometría flujo células de 0.01%) del 59.9%, a diferencia de los que se abstuvieron EMR negativo (citometría flujo de células menor de 0.001%) resultados de 88.1% a los cinco años, las alteraciones cromosómicas también proporcionan información pronóstica adicional, con un estudio multivariado la EMR es el mejor método pronóstico más importante (14).

Cornelia E et al., en 2013, publicaron un estudio prospectivo que determinó la EMR por el método de PCR como predictor de recaída en pacientes con LLA en niños y adolescentes posterior a la inducción independientemente del riesgo, se obtuvo un resultado de EMR como parámetro pronóstico independiente más fuerte con un riesgo de 6.6 veces mayor con los EMR positivos (15).

2.2 Bases teóricas

Enfermedad mínima residual

Actualmente, la búsqueda de factores pronósticos para determinar la optimización de un tratamiento intenso en leucemia linfoblástica aguda y así optimizar la respuesta, se determinará por medio de la EMR como factor pronóstico de mayor importancia.

La presencia de células de fenotipo patológico por medio de los estudios de citometría de flujo y PCR, al final de la inducción se denomina enfermedad mínima residual (EMR) (16, 17). Con estos resultados posterior a la inducción se determina

si los pacientes con leucemia linfoblástica aguda, requiere un tratamiento de consolidación intenso y/o trasplante de células progenitoras hematopoyéticas con el fin de obtener una EMR negativa y mejorar las sobrevividas. Por tal motivo, se requiere mejores métodos de estudios para determinar el fenotipo blástico de las células linfoides, por ende, este es uno de los factores pronósticos de mayor importancia para evitar el sobretratamiento o una mejor terapia de consolidación en pacientes con leucemia linfoblástica aguda.

Los dos estudios principales para determinar la EMR son la citometria de flujo y proteína de cadena polimerasa (PCR), dos técnicas cuantitativas para determinar el fenotipo patológico posterior a la inducción en pacientes con leucemia linfoblástica aguda. Los valores referenciales negativo son de una sensibilidad de 0.001%(10⁻⁴), significa que no se detectan células patológicas en una reconstitución hematopoyética normal, EMR positiva detección de dos células patológicas sensibilidad de 0.002% en una reconstitución hematopoyética normal (17).

Utilidad

Los estudios sirve para tener una mejor sensibilidad en la detección de EMR que son por medio de dos estudios, de los cuales tenemos PCR cuantitativa de los cuales tenemos de dos tipos, el estudio de la codificación clonal de las inmunoglobulinas que se acoplan al receptor de las células T y la cuantificación de las células neoplásicas en las diferentes regiones de los genes (18).

Estos tipos de estudios que se determina por medio del ADN, dará mejor resultados de la detección de células de fenotipo patológico, a diferencia de utilizar el ARN para determinar estos tipos de células, por ser inestable, con la salvedad de su determinación de no poder utilizar el ADN. Como resultado del estudio por medio del ARN se determina una serie de aberraciones genéticas híbridas como BCR/ABL, PML/RAR alfa, etc.; esta alteración, se determinar por medio del logaritmo de la transcriptasa inversa de la PCR (18, 19).

El método que busca determinar el ADN de las células de fenotipo patológico, es más sensible y tiene menos falsos positivos, similar a cada paciente con leucemia linfoblástica aguda. Actualmente, el estudio de PCR en tiempo real es precisa para

determinar en forma cuantitativa la celularidad de fenotipo patológico de las células de pacientes con leucemia linfoblástica aguda, siendo el estandar en algunos países (19). Este estudio es de muy alta complejidad, por ende, su limitación en la realización de este método para determinar la EMR en algunos hospitales, además del tiempo de la demora del resultado en los pacientes con leucemia linfoblástica aguda se requiere una alta exigencia del personal capacitado y actualizado.

El segundo método cuantitativo para determinar la EMR es la citometria de flujo, hay de dos tipo de 6 y 8 colores (lo más usado son de 6 colores), su rapidez de este método en tener un resultado inmediato (en horas), y su accesibilidad lo hace el estudio con mayor demanda en la mayoría de las instituciones a diferencia del estudio con PCR; así se determina las células de fenotipo neoplásico en pacientes con leucemia linfoblástica aguda, una de sus limitaciones para este estudio son la poca especificidad que tiene para determinar las aletraciones fenotípicas de las células neoplásicas posterior a la quimioinducción.

En la actualidad, los nuevos avances tecnológicos en estos métodos para determinar la EMR en pacientes con leucemia linfoblástica aguda, tienen una mayor precisión y sensibilidad, para determinación de los fenotipos neoplásicos, mejorando las limitaciones y disminuyendo sus especificidad (19).

Aplicaciones clínicas de la enfermedad mínima residual

La enfermedad mínima residual en pacientes con leucemia linfoblástica aguda, estudiada y determinada por medio de la citometria de flujo y PCR, inicio en pacientes de edad pediátrica, al evidenciarse como factor pronóstico de recaída posterior a la quimioinducción, se continuó estos métodos de estudio en adultos donde se evidencia similares resultados en el grupo pediátrico, a la vez se evidencia que el estudio de EMR en el día 15 y al final de la quimioinducción tiene un rol importante como factor pronóstico en determinar la recaída, teniendo como mejor resultado y sensibilidad el método de PCR, a diferencia de la citometría de flujo (6 u 8 colores).

La evidencia de los resultados de EMR con las nuevas técnicas de citometrías de flujo, tiene igual sensibilidad y pocos falsos positivo, al igual que con el método de PCR, indistintamente el resultado de EMR con estos métodos tiene importancia para el factor pronóstico en pacientes con leucemia linfoblástica aguda niños, adolescentes y adulto joven. Pacientes con leucemia linfoblástica aguda con criterios de alto o muy alto riesgo deben tener un estudio de EMR en el día 15 y al finalizar la quimioinducción por ser un grupo de alto riesgo de recaída y así optimizar su tratamiento y/o trasplante precursores hematopoyéticos (20). Actualmente, se encuentra en controversia si en los pacientes de bajo o riesgo estandar con resultados de EMR negativos requieran un tratamiento de consolidación intenso, o diferente al estándar, con el fin de no exponer a terapias intensas; por tal motivo es fundamental intensificar en todas las instituciones el estudios de la EMR independiente del método (citometría flujo y PCR) (20, 21).

Hasta la fecha se evidencia con mayor auge y demanda el estudio de EMR en diferentes intituciones por evidenciarse el principal factor pronóstico de recaída en pacientes con leucemia linfoblástica aguda, con esto tendra mayor demanda para así individualizar el tratamiento de consolidacion según el riesgo y tener mejor resultados en las sobrevidas si la EMR se obtiene negativo (21).

Aunque la importancia pronóstica de la ERM en la LLA está bien establecida y se utiliza como criterio para la estratificación del riesgo en muchos estudios actuales, en particular, la LLA infantil, el valor pronóstico de la ERM debe compararse con otras variables pronósticas bien establecidas, como la edad, el recuento de leucocitos, las características citogenéticas de los blastos y la evaluación convencional de la respuesta al tratamiento.

La enfermedad mínima residual como factor pronóstico en relación entre otros factores pronósticos ha sido explorada de manera incompleta. No está claro si la ERM por sí sola es todo lo que se necesita para predecir el resultado, si otros factores de riesgo agregan información adicional a la obtenida por la ERM, o si existen interacciones complejas entre la ERM y otros factores.

Los valores establecidos de enfermedad mínima residual es de 0.001 o menor 10^{-4} , si el resultado de positivo tiene mayor riesgo de tener menor sobrevida libre de progresión 59% y un mayor riesgo de tener recaída, a diferencia de tener una EMR negativo la sobrevida libre de progresión es del 88%, con menor riesgo de recaída y a la valorar opciones terapéuticas adecuadas, en pacientes con EMR positivas, de acuerdo con los resultados se valorará un conducta terapéutica con quimioterapia intensa para obtención de EMR negativo y tener una consolidación con una posibilidad de Trasplante de precursores hematopoyéticos (21).

2.3 Definición de términos

Enfermedad mínima residual: Es el estudio del citofenotipo que valora los resultados de la célula normal o leucémico por medio de la citometría flujo (6 y 8 colores) y PCR, sus valores referenciales son de 0.001 o menor 10^{-4} , por debajo de este resultado es negativo y por encima es positivo (1).

Leucemia linfoblástica aguda: Aumento anormal de los linfoblastos (células inmaduras) con un valor mayor del 20%, su número desorbitado desplaza a las células normales de la médula ósea ocasionando disminución de los glóbulos rojos, blancos y plaquetas normales lo que se traduce en anemia, infecciones y posibles sangrados, se realiza el diagnóstico por medio del aspirado de médula ósea (pelvis, esternon), citometría de flujo, citogenética y PCR (2).

Citometría de flujo: Es un estudio biofísico que cataloga a la célula según su biomarcador en su superficie y así determina su citofenotipo, su uso es para seguimiento de enfermedades neoplásicas como leucemia y enfermedades infecciosas que requieran citometría para lectura de CD4 y CD8 por este método (3).

Reacción de cadena de polimerasa en tiempo real: Es el estudio cuantitativo de reacción a nivel de ADN de la célula normal o neoplásica, por medio de la acción del ADN polimerasa que se encuentra involucrada en la determinación de la expresión genética de la célula (4).

Recaída sistémica y/o medular en LLA: Es el resultado cuantitativo no satisfactorio obtenido después de una quimioinducción, con presencia de células inmaduras llamadas “blastos” en sangre periférica o a nivel de médula ósea, conllevando a deterioro clínico, laboratorial y medular del paciente con LLA (5).

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1 Formulación de hipótesis

Por ser descriptivo, no requiere hipótesis.

3.2 Variables y su operacionalización

Variable	Definición	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categorías y sus valores	Medio de verificación
Enfermedad minina residual	Detección de blastos en pacientes con Leucemia.	Cuantitativa	Citomorfoloía del porcentaje de blastos en el día 14 y al final de la inducción.	Ordinal	Negativo menor de 0.001 Blastos. Positivo mayor de 0.001.	Citometría de flujo de Patología clínica.
Edad	Tiempo de vida de un ser vivo.	Cuantitativa	Tiempo de vida contado desde el nacimiento.	Intervalo	14 – 17 años 17 – 21 años	Historia clínica
Sexo	Características de los individuos de una especie.	Cualitativo	Condición orgánica que diferencia a hombre y mujer	Nominal	Masculino. Femenino	Historia clínica
Tipo de riesgo	Característica del tipo de riesgo de la leucemia linfoblastica aguda	Cualitativo	Riesgo en relación con leucocitos, EMR, edad, alteración cromosómica.	Ordinal	Estandar Alto Muy alto	Historia clínica
Tipo de leucemia linfoblastica	Características de la estirpe leucémico	Cualitativo	Estirpe leucémico tipo B y T	Nominal	Tipo B: Común Pre B B Maduro Tipo T: Inmaduro Intermedio Maduro	Historia clínica
Citometria de flujo	Método que determina la citomorfoloía patológico de blastos	Cuantitativa	Recuento inmune fenotipo patológico y normal	Ordinal	6 Colores 8 Colores	Citometria flujo de Patología clínica.

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA

4.1 Tipos y diseño

Según la intervención del investigador: Observacional, porque no se controlará las variables del estudio.

Según el alcance: Descriptivo, analítico correlacional porque demuestra hipótesis de relación causal.

Según el número de mediciones de la o las variables de estudio: Transversal, porque tendrá una sola medición y no tendrá seguimiento.

Según el momento de la recolección de datos: Retrospectivo, porque se recolectará toda la información antes del estudio según la fecha planteada.

4.2 Diseño muestral

Población universo

Todos los pacientes adolescentes portadores de leucemia linfoblástica aguda del Instituto nacional de enfermedades neoplásicas que ingresaron del 1 de enero de 2014 al 31 de diciembre de 2016.

Población de estudio

Todos los pacientes adolescentes de 14 a 21 años de edad, de ambos sexos, portadores de Leucemia Linfoblástica aguda posterior a la inducción en el Instituto nacional de enfermedades neoplásicas que ingresaron del 1 de enero de 2014 al 31 de diciembre de 2016.

Tamaño de la muestra

Para la toma de muestra del presente estudio se consideró el número total de pacientes de Medicina Oncológica del Servicio de Adolescentes del INEN que serán 80, entre las edades 14 a 21 años, comprendiendo desde el 2014 al 2016.

Muestreo o selección de la muestra

Para describir la forma del muestreo se utilizará el de tipo probabilístico estratificado para tener para así obtener mayor semejanza con la población y sus variables en el presente estudio.

Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Pacientes diagnosticadas de Leucemia Linfoblástica aguda, cualquier riesgo, con estudio de EMR por citometría de flujo y PCR en médula ósea.
- Pacientes entre las edades de 14 a 21 años de edad y ambos sexos
- Pacientes hospitalizados en el servicio de adolescentes del INEN.
- Pacientes hospitalizados desde el 2014 al 2016 en el servicio de adolescentes.
- Paciente hospitalizados que recibieron cualquier esquema de inducción.

Criterios de exclusión

- Pacientes toma de muestra periférica de citometría de flujo o PCR.

4.3 Técnicas y procedimiento de recolección de datos

Para el presente trabajo de investigación seleccionaron 80 pacientes de Medicina oncológica del Servicio de Adolescentes portadores de leucemia linfoblástica aguda y que presentaban los criterios de inclusión y exclusión diseñados para el caso.

Posteriormente, los datos recolectados por medio de la historia clínica serán plasmados en gráficos que fueron analizados y discutidos, a partir de los cuales surgirá conclusiones y recomendaciones.

Instrumentos de recolección y medición de variables

La conforma el instrumento de recolección de datos por medio de las historias clínicas (contienen los estudios de citometría de flujo y/o PCR en médula ósea) de 2014, 2015 y 2016.

4.4 Procesamiento y análisis de datos

El procesamiento y análisis de datos se realizará por medio del software estadístico de SPSS versión 12.0.1, que se realizará en la tabla de codificación en el Anexo de los datos recolectados en las historias clínicas.

La prueba estadística que se realizara en el proyecto es por medio de análisis multivariado para ver la relación entre variables y los resultados que se mostraran en tablas y gráficos.

4.5 Aspectos éticos

En este estudio no es necesario el consentimiento informado de los participantes en la investigación, dado que el proyecto recolectará toda la información de las historias clínicas de los pacientes del Servicio de Adolescentes, contando con el permiso de la Jefatura de Medicina Oncológica, además del respaldo para realizar el proyecto sin tener ningun conflicto de interés de por medio.

CRONOGRAMA

PASOS	2019									
	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE	DICIEMBRE
Redacción final del proyecto de investigación										
Aprobación del proyecto de investigación	X									
Recolección de datos	X	X								
Procesamiento y análisis de datos		X								
Elaboración del informe			X	X						
Correcciones del trabajo de investigación					X	X				
Aprobación del trabajo de investigación									X	
Publicación del artículo científico										X

PRESUPUESTO

Los recursos a utilizar para el desarrollo del presente trabajo de investigación son los siguientes:

Concepto	Monto estimado (soles)
Materiales de escritorio	400.00
Equipo de Software	900.00
Internet	300.00
Impresiones	400.00
Logística	300.00
Traslados	1000.00
TOTAL	3300.00

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Ciudad J, et al. Prognóstico value of immunophenotypic detección of mínimal residual disease in acute lymphoblástico leukemia. J Clin Oncol. (Internet) 1998; 16:3774-3781. Disponible en:

https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjMqtn3nYTjAhW1JaYKHQ3rAAwQFjAAegQIBRAB&url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F9850021&usg=AOvVaw0mN9uNIsi5x_3SKiYFI-dM.

2. Coustan-Smith E, et al. Clinical importance of mínimal residual disease in childhood acute lymphoblástico leukemia. Blood. 2000 (Internet) 96:2691-2696. Disponible en:

<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=2ahUKEwjRm63Jm4TjAhVVL6YKHWe8AswQFjABegQIABAB&url=http%3A%2F%2Fwww.bloodjournal.org%2Fcontent%2F96%2F8%2F2691&usg=AOvVaw0o3suEEPmVvk8cxR7FYR15i>

3. Beutler E, et al. Williams Hematology. 6th ed. New York: McGraw-Hill, 2001(Internet) ;pp:1141-61. Disponible en:

<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjumZ7Q1uHiAhVHbrwKHaYCDJMQFjABegQIBBAC&url=http%3A%2F%2Frevistapediatria.org%2Frp%2Farticle%2Fdownload%2F28%2F20&usg=AOvVaw1iJlWuZrH03iKprvWafNhH>

4. Cárdenas-Araujo D et al., en 2018, disponible en:

<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjgwrjanufjAhWBm1kKHbcZAz0QFjAAegQIARAB&url=http%3A%2F%2Fwww.medigraphic.com%2Fpdfs%2Fhematologia%2Fre-2018%2Fre181e.pdf&usg=AOvVaw1kttosIH52c05ndyLQi0OK>.

5. Jiménez-Morales S et al., en 2017, disponible en:

<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKEwjKqbz7nfjAhUyrVkkHYoABw4QFjAAegQIAhAC&url=http%3A%2F%2Fwww.scielo.org.mx%2Fpdf%2Fbmim%2Fv74n1%2F1665-1146-bmim-74-01-00013.pdf&usg=AOvVaw21drKeVcTdnCFilRXe2Dqw>.

6. Donald A et al., en 2017, disponible en:

<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=8&ved=2ahUKEwjL1vHHoOfjAhWGrFkKHT7rAO8QFjAHegQIBhAB&url=https%3A%2F%2Fwww.healio.com%2Fhematology-oncology%2Fleukemia%2Fnews%2Fin-the-journals%2F%257Baf270bfd-bc94-48f5-a161-2ec51300205e%257D%2Fminimal-residual-disease-negativity-associated-with-longer-survival-in-all&usg=AOvVaw26x5sufBMfF0dt8CAeoewi>

7. Jabbour E et al., en 2017, disponible en:

https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwj4uMbgoefjAhXuuFkKHb1dAaAQFjACegQIAxAB&url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpmc%2Farticles%2FPMC5729622%2F&usg=AOvVaw3Ff740tfuWNDvLo_F-xCC6

8. Shabaan R et al., en 2016, disponible en:

<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=5&ved=2ahUKEwjliK-WpfjAhUmuVkkHdFzBksQFjAEegQIBxAC&url=https%3A%2F%2Fpdfs.semanticscholar.org%2Fb172%2Fdc118a2cf6874d651baa28e1c2ce82e2f269.pdf&usg=AOvVaw0KxBhHjzr9YuxZCIJeLEc2>

9. Michael J et al., en 2015, disponible en:

<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjtol64rOfjAhWkrFkKHcsHA2cQFjAAegQIABAB&url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpmc%2Farticles%2FPMC4543229%2F&usg=AOvVaw14AN4t9JIZ2e7apfGbYA46>

10. González M et al., en 2014, disponible en:
https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ahUKEwigfaKrefjAhUGpFkKH7oDs4QFjAAegQIARAB&url=http%3A%2F%2Fwww.revhematologia.sld.cu%2Findex.php%2Fhah%2Farticle%2Fview%2F881%2F766&usg=AOvVaw3jpTzwO_lvIA2LgG_vLVGo

11. Soria M et al., en 2014, disponible en:
<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=5&ved=2ahUKEwj25N7QrefjAhUvqlkKHWFRcnYQFjAEegQIBhAB&url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpmc%2Farticles%2FPMC6398166%2F&usg=AOvVaw0sNkcHxPM23rGRECw6KbUa>

12. David W et al., en 2014, disponible:
https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjNg42irufjAhUCtlkKHVhdBRMQFjAAegQIAhAB&url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpmc%2Farticles%2FPMC5142743%2F&usg=AOvVaw2TRWcEaEVtBBJf_ZTzjK-1

13. Manal Salah-Eldin et al., en 2014, disponible en:
<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiaie7frufjAhXKpFkKHW4zCRAQFjABegQIABAB&url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpmc%2Farticles%2FPMC5824235%2F&usg=AOvVaw1iJxz5aZoIYV22UHuJMb7C>

14. Michael J et al., en 2013, disponible en:
<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjjoOOTrfjAhWnwFkKHSXNAt0QFjABegQIARAB&url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpmc%2Farticles%2FPMC4808717%2F&usg=AOvVaw3AST4sJfEGgEZ2DeXG-TUE>

15. Cornelia E et al., en 2013, disponible en:
<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=7&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiE2tO0rfjAhVQuVkkHfloCo4QFjAGegQICBAC&url=http%3A%2F%2Fwww.sah.org.ar%2Frevista%2Fnumeros%2Fvol16.n1.42-46.pdf&usg=AOvVaw1Gr1KrkzyCLzAkKI3Mb47b>

16. Van der Velden VH, et al. European Study Group on MRD detection in ALL (ESG-MRD ALL). Analysis of minimal residual disease by Ig/TCR gene rearrangements: guide lines for interpretation of real time quantitative PCR data. Leukemia. 2007 (Internet); 21:604-11. Disponible en:
<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjnsP2R1-HiAhWGS7wKHb1cACoQFjAAegQIAhAB&url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F17287850&usg=AOvVaw1Ry7q0vlxAJxLjAY4ox-kA>
17. Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. Blood. 2008 (Internet); 111:3941-3967. Disponible en:
<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjFtZvS2OHIAhXwGKYKHTpNCFYQFjAAegQIBBAC&url=http%3A%2F%2Fwww.bloodjournal.org%2Fcontent%2F111%2F8%2F3941&usg=AOvVaw3GV-CZTIdcjXbxfgYnZ1I3>
18. Weerkamp F, et al. On behalf of the euro flow consortium (EU-FP6, LSHB-CT-2006-018708). Flow cytometric immune bead assay for the detection of BCR/ABL fusion proteins in leukemia patients. Leukemia, 2009 (Internet), 23:1106–1117. Disponible en:
<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiMoIX72eDjAhXFp1kKHUuDB1AQFjAAegQIAhAB&url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F19387467&usg=AOvVaw2u4I6La4hS5rZ0qKdsRD6h>
19. Van Dongen JJ, et al. Standardized RT PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Report of the BIOMED1 Concerted Action: investigation of minimal residual disease in acute leukemia. Leukemia. 1999(Internet) ;13:1901-28. Disponible en:
<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwirxLD02uHiAhUHvJQKHwimDUAQFjABegQIBRAC&url=http%3A%2F%2Fwww.rticc.org%2F20062012%2Fdocs%2Fprogramas%2Fgenes-de-fusi3n-biomed.pdf&usg=AOvVaw2dGxlxCdJibNtwm9yNUHk8>

20. Van Dongen JJM, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations. Report of the BIOMED2 concerted action BMH4 CT98-3936. *Leukemia* 2003 (Internet); 17:2257-2317. Disponible en:

<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjrobnNnoTjAhVqyosBHSdhCkwQFjAAegQIAhAB&url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F14671650&usg=AOvVaw1Davpnb5N6APrzTf6frBha>.

21. Gabert J, Beillard E, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse Transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia a Europe Against Cancer program. *Leukemia*. 2003(Internet) ;17:2318 . Disponible en:

<https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjhNef3OHiAhWHHqYKHVZeBIQQFjAAegQIAxAB&url=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fpubmed%2F14562125&usg=AOvVaw17tF1nslGJgwMi2xh-s9-D>

ANEXOS

1. Matriz de consistencia

Título	Pregunta de la investigación	Objetivos	Tipo – diseño estudio	Población de estudio – procesamiento datos	Instrumento para recolección de datos
<p>Enfermedad mínima residual como predictor de recaída en leucemia linfoblástica aguda instituto nacional de enfermedades neoplásicas 2014-2016</p>	<p>¿De qué manera la enfermedad mínima residual es predictor de recaída despues de la inducción en adolescentes con leucemia linfoblástica aguda células B en INEN del 2014 al 2016?</p>	<p>Objetivo general</p> <p>Determinar si la enfermedad mínima residual es predictor de recaída despues de la Inducción en adolescentes con Leucemia Linfoblástica aguda células B en INEN del 2014 al 2016.</p> <hr/> <p>Objetivos específicos</p> <p>Determinar si la enfermedad mínima residula es predictor de recaída despues de la Inducción según la Edad en Adolecesntes con Leucemia Linfoblástica Aguda en INEN entre el 2014 al 2016.</p> <p>Determinar si la enfermedad mínima residula es predictor de recaída despues de la Inducción según el sexo en Adolecesntes con Leucemia Linfoblástica Aguda en INEN entre el 2014 al 2016.</p> <p>Determinar si la enfermedad mínima residual es predictor de recaída despues de la Inducción en Adolecesntes con Leucemia Linfoblástica Aguda según el tipo en INEN entre el 2014 al 2016.</p> <p>Determinar si la enfermedad mínima residual es predictor de recaída despues de la Inducción en Adolecesntes con Leucemia Linfoblástica Aguda según el Riesgo en INEN entre el 2014 al 2016.</p>	<p>Observacional Descriptivo Transversal. Retrospectivo.</p>	<p>Para el presente trabajo de investigación se seleccionarán 80 pacientes Medicina oncológica del Servicio de Adolescentes con leucemia linfoblástica aguda y que presentaban los criterios de inclusión y exclusión diseñados para el caso.</p>	<p>Historia clínica</p>

		Determinar si la enfermedad mínima residual es predictor de recaída despues de la Inducción según el Método de estudio en Adolecesntes con Leucemia Linfboblástica Aguda en INEN entre el 2014 al 2016.			
--	--	---	--	--	--

