



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

MIELOMA MÚLTIPLE: ANÁLISIS DE PACIENTES ECUATORIANOS POR
CITOGENÉTICA CONVENCIONAL Y MOLECULAR

Autora

Marjorie Paola Lima Sandoval

Año
2017



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

MIELOMA MÚLTIPLE: ANÁLISIS DE PACIENTES ECUATORIANOS POR
CITOGENÉTICA CONVENCIONAL Y MOLECULAR

Trabajo de titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos
para optar por el título de Ingeniera en Biotecnología.

Profesor Guía

Msc. Andrea Paola Cordero Arroyo

Autora

Marjorie Paola Lima Sandoval

Año

2017

DECLARACION DEL DOCENTE GUIA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

Andrea Paola Cordero Arroyo
Máster en Células Madre y Medicina Regenerativa
CC: 1714669825

DECLARACION DEL DIRECTOR CIENTIFICO

“Declaro haber dirigido científicamente al estudiante para la realización de su trabajo experimental de titulación en base al método científico, conduciéndole con coherencia en el conjunto de experimentos realizados, y orientando sus conocimientos para lograr los objetivos propuestos”.

Paola Elizabeth Leone Campo

Doctora en Ciencias Biológicas

CC: 1710265834

DECLARACION DEL DOCENTE CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

María Gabriela Granja Bastidas

Máster en Bioquímica, Biología Molecular y Biomedicina: Especialización en Patología Molecular

CC: 1712995145

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

Marjorie Paola Lima Sandoval

CC: 1725699993

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia agradezco a Dios por permitirme culminar otra etapa de mi vida.

Agradezco a Ligia quien ha compartido sus conocimientos y me ha permitido aprender de ella. A Paola que ha sabido guiarme en este proceso de formación.

A mis padres que con su cariño y trabajo me han apoyado en cada momento.

DEDICATORIA

Especialmente a mis padres, por levantarme en cada tropiezo y estar siempre que los necesito.

A Andrés quien ha estado a mi lado apoyándome y me ha demostrado que todas las metas son alcanzables.

A Diana quien ha sido una gran guía de vida.

Resumen

El mieloma múltiple es una neoplasia de las células plasmáticas caracterizada por la presencia de una banda monoclonal. Con la hibridación *in situ* es posible conocer que aproximadamente el 60% del mieloma múltiple que se produce es debido a las alteraciones cromosómicas. La importancia de analizar los resultados citogenéticos de pacientes con mieloma múltiple, para la consiguiente correlación y clasificación de datos citogenéticos y clínicos, permitirán tener una visión más clara de la influencia de los casos hiperdiploides y no-hiperdiploides sobre el tratamiento y sobrevida de los pacientes. Se analizó una muestra de 26 casos con mieloma múltiple. Las muestras de médula ósea se sometieron a cultivo 24h para posteriormente ser tratadas por las técnicas de citogenética convencional y técnicas de citogenética molecular (FISH). De dichos resultados se obtuvo que, 50% de los pacientes analizados se encuentren entre las edades de 50-65 años, datos que concuerdan con el Registro Nacional en Tumores-2014. Por otro lado, el análisis por citogenética mostró que el 58% de los casos se encuentran afectados por alteraciones no-hiperdiploides, de las cuales el 80% corresponden a la translocación en 14q32 (IgH), en el que estudios anteriores señalan que la mayoría de tumores de MM poseen el switch de isotipo de la cadena pesada IgH. En otra instancia, la aplicación de tratamientos específicos para cada tipo de citogenética permite que la sobrevida de los pacientes sea mayor. El tiempo de sobrevida media de pacientes hiperdiploides es de 69,75 meses, debido a que en dicha alteración citogenética no existe pérdida de información genética. En cuanto al análisis citogenético-clínico se obtuvo que los resultados clínicos son iguales para pacientes con cariotipo hiperdiploide y no-hiperdiploide, datos que pueden encontrarse alterados dado que la muestra es pequeña. En conclusión, los valores clínicos son iguales para todo tipo de mieloma múltiple, la aplicación de tratamientos específicos puede aumentar el tiempo de sobrevida de los pacientes.

Palabras clave: Mieloma múltiple, citogenética, hiperdiploides, no-hiperdiploides, hibridación *in situ*.

Abstract

Multiple myeloma is a neoplasm of plasma cells characterized by the presence of a monoclonal band. With in situ hybridization it is possible to know that approximately 60% of the multiple myeloma that is produced is due to the chromosomal alterations. The importance of analyzing the cytogenetic results of patients with multiple myeloma, for the consequent correlation and classification of cytogenetic and clinical data, will allow a clearer view of the influence of hyperdiploid and non-hyperdiploid cases on the treatment and Survival of patients. A sample of 26 cases with multiple myeloma was analyzed. Bone marrow samples were cultured 24 hours later to be treated by conventional cytogenetic techniques and molecular cytogenetic techniques (FISH). From these results it was obtained that, 50% of the analyzed patients are between the ages of 50-65 years, data that agree with the National Registry in Tumors-2014. On the other hand, cytogenetic analysis showed that 58% of the cases are affected by non-hyperdiploid alterations, of which 80% correspond to the translocation in 14q32 (IgH), in which previous studies indicate that most Of MM tumors possess the isotype switch of the IgH heavy chain. In another instance, the application of specific treatments for each type of cytogenetics allows the survival of patients to be greater. The mean survival time of hyperdiploid patients is 69.75 months, due to the absence of genetic information in this cytogenetic alteration. Regarding the cytogenetic-clinical analysis, it was obtained that the clinical results are the same for patients with hyperdiploid and non-hyperdiploid karyotype, data that may be altered since the sample is small. In conclusion, clinical values are the same for all types of multiple myeloma, the application of specific treatments can increase the survival time of patients.

Keywords: Multiple myeloma, Cytogenetic, hyperdiploid, non-hyperdiploid, in situ hybridization.

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
1.1. Antecedentes.....	1
1.2. Planteamiento del problema	3
1.3. Objetivo general.....	5
1.3.1 objetivos específicos.....	5
1.4. Justificación	6
2. Marco teórico.....	7
2.1. Ontogenia del linfocito b	7
2.2. Gammapatía monoclonal.....	9
2.3. Mieloma múltiple.....	11
2.3.1. Plasmocitoma	13
2.4. Citogenética del mieloma múltiple.....	14
2.4.1. Clasificación citogenética	15
2.4.1.1. Mieloma múltiple: hiperdiploides	15
2.4.1.2. Mieloma múltiple: no-hiperdiploides	16
2.5. Síntomas	18
2.6. Tratamiento.....	18
2.6.1. Tratamiento de primera línea para trasplante autólogo	19
2.6.2. Tratamiento de primera línea para pacientes descartados de trasplante autólogo	20
2.6.3. Tratamiento de rescate.....	20
3. Diseño del plan experimental.....	23
4. Procedimientos.....	24
4.1. Población y muestra	24
4.2. Materiales y métodos.....	24
4.2.1. Extracción de médula ósea	24
4.2.2. Cultivo.....	24
4.2.3. Técnica de citogenética convencional	25

4.2.4. Técnica de citogenética molecular - fish (hibridación <i>in situ</i> con fluorescencia)	25
4.2.5. Análisis de historiales clínicos	26
4.3. Evaluación estadística de los resultados	26
4.3.1. Género.....	26
4.3.2. Edad	26
4.3.3. Citogenética.....	26
4.3.4. Análisis citogenético-clínico.....	27
4.3.5. Análisis de la respuesta a tratamientos	27
4.3.6. Análisis de sobrevida.....	28
4.3.7. Análisis estadístico citogenética-clínico.....	28
5. Resultados y discusión.....	29
5.1. Análisis general de pacientes con mieloma múltiple	29
5.1.1. Género.....	29
5.1.2. Edad	30
5.1.3. Citogenética.....	30
5.2. Análisis citogenético-clínico.....	32
5.2.1. Hiperdiploides	32
5.2.2. No-hiperdiploides	34
5.3. Análisis de la respuesta a tratamientos	37
5.3.1. Casos hiperdiploides.....	37
5.3.2. Casos no-hiperdiploides	40
5.4. Análisis de sobrevida	43
5.4.1 alteraciones citogenéticas.....	43
5.5. Análisis estadístico citogenética-clínico.....	45
6. Conclusiones y recomendaciones.....	48
6.1. Conclusiones.....	48
6.2. Recomendaciones	48
REFERENCIAS	49
ANEXOS	54

1. Introducción

1.1. Antecedentes

Las mutaciones en las células plasmáticas incluyen una amplia variabilidad evolutiva que inicia en una fase premaligna conocida como: gammapatía monoclonal de significado incierto, misma que puede evolucionar al mieloma múltiple, fase maligna. El mieloma múltiple, por lo tanto, es una neoplasia de las células plasmáticas caracterizada por la presencia de una banda monoclonal, daño del órgano blanco e infiltración de las células clonales a la médula ósea. (Curutchet, et al, 2010)

El mieloma múltiple se caracteriza por las alteraciones genómicas implicando principalmente la ganancia y pérdida de cromosomas. Es así, que por las alteraciones cromosómicas el mieloma múltiple se clasifica en casos hiperdiploides y casos no-hiperdiploides. Los casos hiperdiploides presentan ganancias cromosómicas, principalmente de la mayoría de cromosomas impares (Menoni y Da Silva, 2010, p. 15-22).

Dentro del grupo de no-hiperdiploides se dan pérdidas cromosómicas, principalmente en el cromosoma 13. La delección en la región *13q14*, tiene implicaciones significativas en la sobrevivencia de los pacientes, que puede ser de tres a cuatro veces menor que aquellos que no la presentan. Dicha anomalía puede desencadenar la inactivación o delección del gen que codifica para la proteína del retinoblastoma (*RB*), presente en esta región causando una acción recesiva en la célula y otorgando al plasmocito la capacidad para la proliferación de manera exacerbada, donde se puede producir una selección clonal por las células (Da Silva, Menoni y Cueva, 2010, p. 9-14).

Las células neoplásicas presentan mutaciones en las regiones variables tanto de las cadenas pesadas (IgH) como de las cadenas livianas (IgL) de las

inmunoglobulinas. Una de las principales características de las alteraciones genéticas es la presencia de translocaciones que involucra el locus *14q32* de la IgH o uno de los loci de la IgL. La consecuencia de estas translocaciones es la desregulación o aumento en la expresión de oncogenes que se encuentran cerca de segmentos reguladores de los genes para las inmunoglobulinas (Menoni y Da Silva, 2010, p. 15-22).

El gen *p53* se encuentra ubicado en el brazo corto del cromosoma 17 y es el gen más frecuentemente mutado en los cánceres, principalmente en estadios finales, con una frecuencia del 70%. En casos recién diagnosticados, apenas el 5% presentan alteraciones en este gen y la incidencia de alteraciones es menor en los mielomas intramedulares, mientras que en los extramedulares las mutaciones o deleciones se observan en un 30-40% de los casos. Las deleciones en éste gen por lo general son monoalélicas pudiendo presentarse de manera simultánea como mutaciones en un 16% de los casos, siendo la vida media de los pacientes de 1,5 años (Da Silva, Menoni y Cueva, 2010, p. 9-14).

En Latinoamérica los estudios genéticos sobre mieloma múltiple son escasos, sin embargo, países como Argentina, México, Brasil y Chile presentan información genética y/o clínica sobre la enfermedad, y en Ecuador los estudios han iniciado recientemente (Leone, et al., 2013, p.7-16; Montesdeoca, 2014; Paz-y-Miño, et al., 2013; Zavala, et al., 2016).

En el 2007, la Sociedad Argentina de Hematología realizó un estudio donde se presenta la clasificación por características citogenéticas, convencional y molecular, para la diferenciación entre pacientes con alteraciones cromosómicas de buen pronóstico y alteraciones consideradas como mal pronóstico. El 20% de los pacientes presentaron alto riesgo mediante el análisis de citogenética molecular, y con la citogenética convencional presentaron monosomía del cromosoma 13q en 13 de las metafases además de un cariotipo complejo. El 15% de los pacientes presentaron riesgo intermedio

mediante el análisis de las pruebas moleculares; mientras que un 65% presentaron un riesgo bajo. Se demostró con la citogenética convencional la presencia de metafases hiperdiploidías. Estos resultados son importantes para el tratamiento adecuado de los pacientes dependiendo del pronóstico obtenido, las características clínico-evolutivas, condiciones generales, factores pronóstico, la calidad y expectativa de vida (Curutchet, et al, 2010; Leone, et al, 2013, p.7-16).

1.2. Planteamiento del problema

El cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo, 8,8 millones de defunciones se registraron en el 2015, del cual, alrededor del 70% de los casos de mortalidad pertenecen a países de ingresos bajos a medios, menos del 30% de países con ingresos bajos ofrecen tratamiento a los enfermos oncológicos; por otro lado, 1/3 de las muertes por ésta enfermedad se debe a factores dietéticos y conductuales. Se prevé que aumente el número de casos a un 70% en los siguientes 20 años (Organización Mundial de la Salud, 2017).

En el Ecuador, se presentan alrededor de 10.200 nuevos casos de cáncer por año y pasó a ser la segunda causa de muerte después de las enfermedades cardiovasculares. En Quito la tasa de incidencia de cáncer ha llegado a ser de 363,8 pacientes, 181,2 en hombres y 182,6 en mujeres, ubicándose como la segunda ciudad con mayor incidencia de cáncer en el país (Cueva y Yépez, 2014; Oña, et al., 2013, p. 19-29).

El mieloma múltiple (MM) es un tumor maligno de las células plasmáticas (linfocitos B) de la médula ósea, y corresponde al 1% de todas las neoplasias malignas y del 10-15% de las neoplasias hematológicas. El MM es el segundo tipo de cáncer homólogo más frecuente después del linfoma no Hodgkin representando el 2% de las muertes por cáncer (Montesdeoca, 2015).

Los estudios realizados hasta la actualidad han demostrado que se presenta más comúnmente en hombres que en mujeres y en poblaciones mayores a los 40 años. También se han presentado informes que muestran diferencias en la incidencia según el grupo étnico, detectado mayormente en la población negra (Leone, et al, 2013, p.7-16).

En el 2013 la Sociedad de Leucemia y Linfoma de Estados Unidos presentó una tasa de 5,9 por 100.000 de pacientes con mieloma múltiple; tasa que ha ido incrementando considerablemente, y en el 2016, los cálculos de la Sociedad Americana Contra El Cáncer diagnosticaron 30.330 nuevos casos, de los cuales 17.900 eran en hombres y 12.430 en mujeres (American Cancer Society, 2016).

En el 2014 el Registro Nacional de Tumores presentó 155 casos de pacientes con mieloma múltiple por 100.000 habitantes entre los años 2006-2010, de los cuales 91 eran hombres y 64 mujeres, siendo los 75 años donde mayormente la enfermedad aparece. En Quito se ha registrado una tasa de mortalidad de 1,4 % para hombres y 1% para mujeres, colocándose así en el puesto 16 de las enfermedades tumorales malignas con mayor incidencia (Cueva y Yépez, 2014).

El riesgo de padecer mieloma múltiple aumenta a medida que las personas envejecen. La incidencia reportada internacionalmente varía de 0,2 a 5,1 casos por 100.000 habitantes por año, correspondiendo del 1% al 2% de todas las neoplasias y un 10% de las neoplasias hematológicas (Conté, et al., 2007, p. 1111-1117).

A pesar que las pruebas clínicas permiten conocer la presencia de mieloma múltiple, a través de la detección de albumina, beta-2-microglobulina, proteína C reactiva, no permiten conocer el porcentaje de afección celular que se encuentra presente en los pacientes ni el tipo de mieloma al que se debe tratar (hiperdiploides o no hiperdiploides).

La citogenética convencional detecta fácilmente los casos hiperdiploides, y la pérdida de cromosomas especialmente 13, 14, 16 y 18 en algunos casos de no- hiperdiploidía. Sin embargo, no es efectiva en los casos no-hiperdiploides en los que se producen translocaciones que involucran principalmente al gen IgH, deleciones en el caso del cromosoma 13 específicamente en el gen RB, y otras deleciones de mal pronóstico en el gen p53. Debido a que son muy pequeños los fragmentos genéticos involucrados podrían ser detectadas únicamente con citogenética molecular, específicamente con las técnicas de FISH (Fluorescent *in situ* hybridization).

En el Ecuador se aplica habitualmente la técnica de citogenética convencional y en casos específicos la técnica de citogenética molecular, causando de ésta manera segregación en los casos de mieloma múltiple, y al no estar respaldada de pruebas moleculares (FISH) puede causar el diagnóstico errado en pacientes que posean mieloma múltiple.

1.3. Objetivo general

Analizar los resultados citogenéticos de pacientes con mieloma múltiple, de SOLCA - Núcleo Quito, para la consiguiente correlación y clasificación de datos citogenéticos y clínicos.

1.3.1 Objetivos específicos

- Identificar la asociación de los resultados de citogenética convencional y molecular con los historiales clínicos.
- Evaluar la evolución de la respuesta a los tratamientos en los pacientes con mieloma múltiple.
- Asociar la clasificación cromosómica con las curvas de supervivencia en pacientes con mieloma múltiple.

1.4. Justificación

Dada la problemática antes descrita, el presente estudio pretende analizar a pacientes con mieloma múltiple por la técnica molecular FISH para confirmar la presencia de alteraciones puntuales en los cromosomas, y obtener diagnósticos certeros con respecto a la enfermedad.

Como ya se dio a conocer en la problemática la citogenética convencional se limita a un diagnóstico de anomalías cromosomales. Con la hibridación *in situ* es posible conocer que aproximadamente el 60% del mieloma múltiple que se produce es debido a las alteraciones cromosómicas, al contrario de lo que se creía inicialmente en donde solo el 30 % de los casos reportados por citogenética convencional presentaban alteraciones cromosómicas (García, Mateos y San Miguel, 2007, p.104-15).

Una vez identificado el tipo de citogenética de los pacientes se pretende correlacionarlos posteriormente con el análisis clínico, lo que permitirá evaluar la presencia de afecciones en órganos y huesos, y la relación que existe con las mutaciones cromosómicas, como la pérdida total o parcial de un gen afecta a la respuesta bioquímica del organismo.

Además se analizará la efectividad de los tratamientos prescritos para cada grupo obteniendo así una segregación de sobrevida dependiendo del tipo de citogenética que posean; de ésta manera se podrá realizar un correcto seguimiento de cada grupo e implementar correctos tratamientos terapéuticos.

El correcto diagnóstico de los pacientes con MM hiperdiploide y MM no-hiperdiploide permitirá una correcta administración del tratamiento y efectividad de los tratamientos terapéuticos en cada tipo de mieloma, permitiendo que los pacientes posean un mejor estilo de vida.

Finalmente, se obtendrá la curva de supervivencia de los casos hiperdiploides y no hiperdiploides, el cual permitirá confirmar estudios anteriores en el que los casos hiperdiploides tienen mayor tiempo de supervivencia sobre los no hiperdiploides, y de ésta manera incentivar a la aplicación nuevas combinaciones de tratamientos para los casos no-hiperdiploides.

2. Marco teórico

El mieloma múltiple es una neoplasia específicamente de los linfocitos B de origen post-centro germinal, que se caracteriza por la proliferación clonal de las células plasmáticas en la médula ósea y la presencia de una paraproteína, en la orina o suero, de una inmunoglobulina monoclonal (Ig), IgG e IgA (en el caso de MM quiescente) y raramente IgD e IgE, o un fragmento de la misma (ratio κ/λ anormal) (Kuffe, et al; 2010).

2.1. Ontogenia del linfocito B

Los linfocitos son leucocitos sanguíneos que se desarrollan en la médula ósea y en los órganos linfáticos primarios y secundarios. Es posible que estímulos hormonales específicos permitan la maduración de las células madre poliploides (PSC) y produzcan una célula troncal para la CFU-L (célula linfoide). El timo y la médula ósea son sitios donde se estimula la maduración y diferenciación a la respuesta antigénica, y por la intervención de las diferentes linfocinas y proteínas, como la G, se regula la diferenciación entre los linfocitos T y B (Ross y Pawlina, 2007).

Los linfocitos B son células que se desarrollan en la médula ósea y cumplen con diversas funciones. La maduración final del linfocito B es el plasmocito y una vez que actúan los estímulos ambientales sobre el organismo los linfocitos se trasladan a los órganos linfáticos secundarios, bazo y amígdalas, los

mismos que actúan como repositorios de los linfocitos diferenciados, ver *Figura 1* (Rodak, 2002).

La vida media de los linfocitos B es variable pero participan en la síntesis y secreción de anticuerpos circulantes, conocidos como inmunoglobulinas (Ig), que son los mediadores de la inmunidad humoral. En su estructura tienen inmunoglobulinas en la superficie de la membrana llamadas receptores de células B o BCR y durante la diferenciación está cambia a IgM en los BCR inmaduros y a IgD en los BCR maduros (Rodak, 2002).

Otros tipos de inmunoglobulinas que cumplen diferentes funciones en la respuesta inmunitaria son la IgG que se encarga de la activación del complemento, estimular la quimiotaxis y conferir inmunidad pasiva al neonato, IgA que se encarga de proteger contra la proliferación de microorganismos, y por último la IgE responsable de las reacciones de hipersensibilidad anafiláctica (Ross y Pawlina, 2007).

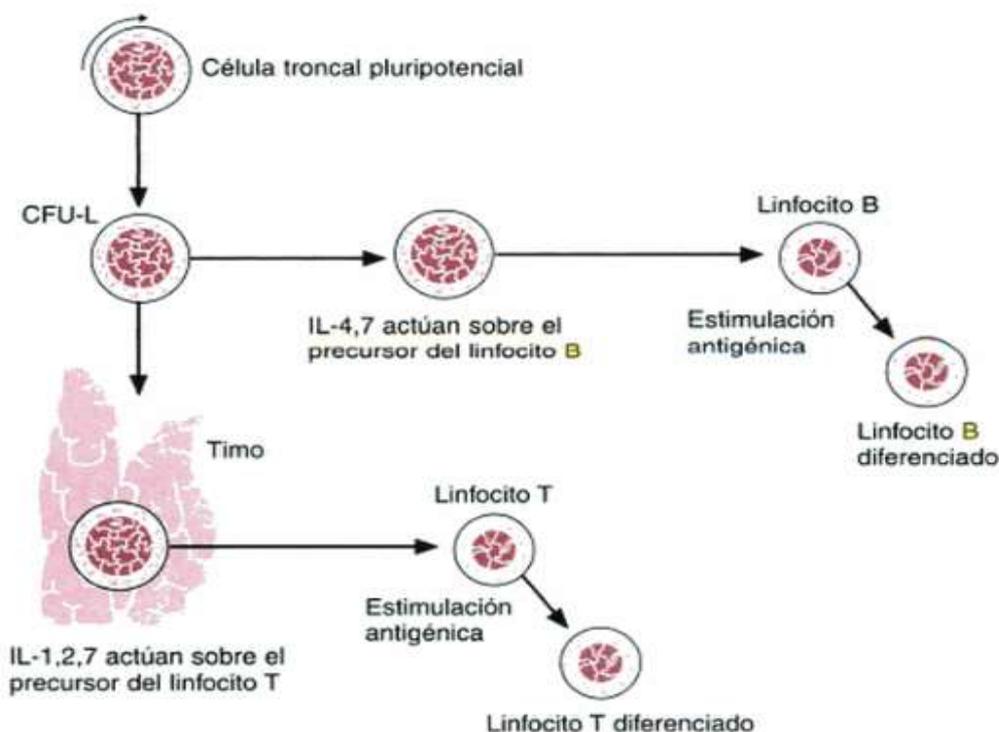


Figura 1. Ontogenia de linfocito T y B.

Tomado de Rodak, 2002.

2.2. Gammapatía monoclonal

Es un grupo heterogéneo de trastornos caracterizados por la proliferación descontrolada de células plasmáticas, las cuales producen inmunoglobulinas monoclonales o fragmentos de éstas conocidas como componente M (CM) (Bravo, et al; 2016; Morales, Rojas & Salcedo; 2016).

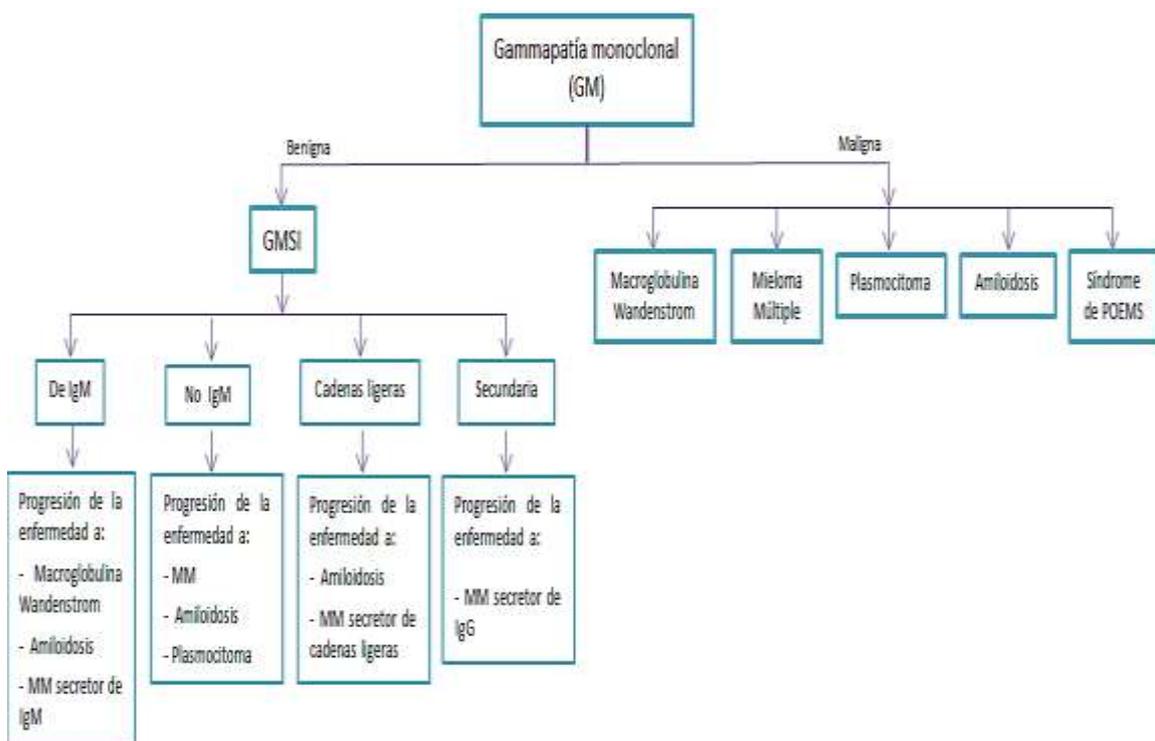
Las gammapatías monoclonales se clasifican en malignas y no malignas. Entre las gammapatías no malignas se encuentra la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI), que constituye el 60% de la gammapatías monoclonales y se encuentra presente un 3,2 % de la población entre los 50 a 75 años. Se caracteriza principalmente por ser "benigna" (baja proliferación de células plasmáticas); además de ausencia de anemia, falla renal, daño óseo e hipercalcemia la cual es diagnosticada por las discrasias de células plasmáticas. También es asintomática, con riesgo alto (0,5% a 1%) de progresar a mieloma múltiple. Esta gammapatía es la más común y se define por la presencia de los componentes monoclonales IgG, IgM o IgA en suero y orina (Bravo, et al; 2016).

Alrededor del 10% de los pacientes que presentan gammapatías monoclonales presentan neuropatía periférica, la misma que puede estar relacionada con un anticuerpo con reactividad a la glicoproteína asociada al mieloma (Morales, Rojas & Salcedo; 2016).

Existen cuatro tipos de gammapatía monoclonal de significado incierto, ver *Figura 2*. La GMSI IgM, en la cual, del 1 al 5% de los casos pueden evolucionar hacia una microglobulinemia de Waldenström o amiloidosis, sin embargo es más frecuente su evolución hacia mieloma múltiple secretor de IgM. En el GMSI no IgM, el 1% de los casos evolucionan a mieloma múltiple pero no se descarta una evolución para plasmocitoma y amiloidosis. Por otro lado, el GMSI de cadena ligera es definido por el aumento de los niveles de la cadena ligera libre involucrada y en el 3% de los casos se puede transformar en

mieloma múltiple. En la GMSI secundaria existe desarrollo de una proteína monoclonal en el curso de un mieloma múltiple que posee un isotipo en cadena pesada o ligera diferente del clon original, a diferencia de otros GMSI se encuentra asociado a pacientes con mayor supervivencia (Molina, et al., 2006).

Entre las gammopatías monoclonales malignas se encuentran: el mieloma múltiple, plasmocitoma, macroglobulinemia de Waldenström, síndromes linfoproliferativos, síndrome POEMS, enfermedades por depósito de Ig, leucemia de células plasmáticas (Baldovinos, et al., 2015; Bravo, et al; 2016).



GM. Gammapatía monoclonal

GMSI. Gammapatía monoclonal de significado incierto

MM. Mieloma múltiple

Figura 2. Diagrama descriptivo de la progresión de la gammapatía monoclonal. Adaptado de Bravo, et al., 2016.

2.3. Mieloma múltiple

El cáncer se origina cuando una célula de una parte del cuerpo comienza a crecer sin control viven más que las células normales y continúan formando nuevas células anormales. Las células normales crecen, se dividen y mueren de forma ordenada, se dividen únicamente para reemplazar células desgastadas o que están muriendo (American Cancer Society, 2014).

Las células cancerosas se desarrollan debido a un daño en el ADN que no se puede reparar este daño puede ser heredado o adquirido por la exposición a agentes cancerígenos. Las células del cáncer muchas veces se reparten a diferentes partes del cuerpo donde comienzan a crecer y dividirse, reemplazando así tejidos normales, dicho proceso se conoce como metástasis. Cuando las células plasmáticas se tornan cancerosas y crecen sin control pueden producir un tumor llamado plasmocitoma, el mismo que generalmente se originan en el hueso, sin embargo en raras ocasiones se puede encontrar en otros tejidos. En el caso de existir un solo tumor de células plasmáticas se llama plasmocitoma aislado o solitario, pero cuando se encuentran muchos tumores de células plasmáticas en los huesos se llama mieloma múltiple (American Cancer Society, 2016).

Según la Organización Mundial de la Salud, el mieloma múltiple (MM) se define como una neoplasia de células plasmáticas multifocal que afecta a la médula ósea y se asocia a la producción de una proteína monoclonal urinaria y sérica. Es una enfermedad que se caracteriza por la proliferación clonal de las células plasmáticas que en la mayoría de los casos produce una proteína monoclonal y por la presencia de paraproteína en orina, suero o en ambas. La proliferación del mieloma múltiple en la médula ósea con frecuencia invade al hueso adyacente, lo cual produce destrucción del esqueleto provocando dolores óseos y fracturas. La proliferación desmedida de las células plasmáticas en la médula ósea puede desplazar a las células productoras de células sanguíneas

normales (American Cancer Society, 2016; Carnot y Castro, 2011; CENETEC, s.f.).

El mieloma múltiple representa alrededor del 1% de las neoplasias y 13% de las neoplasias hematológicas, en el cual la plasmocitosis aparece en un 10%. Sin embargo, no es necesario la presencia de la proteína monoclonal en los estudios clínicos para un diagnóstico ya que en el mieloma no secretor no se detecta el componente monoclonal en suero ni orina (Bravo, et al; 2015).

El MM se caracteriza por las alteraciones cromosómicas que implican principalmente ganancia y pérdida de cromosomas. Es así, que se clasifica en casos hiperdiploides y no-hiperdiploides. Los casos hiperdiploides presentan ganancias cromosómicas, principalmente en los cromosomas impares. Los casos no-hiperdiploides presentan pérdidas y alteraciones estructurales como translocaciones (Menoni y Da Silva, 2010, p. 15-22).

El mieloma múltiple pertenece a las gammapatías monoclonales malignas en donde se encuentran:

- a) Mieloma múltiple quiescente (SMM): se trata de un estadio intermedio entre el GMSI y mieloma múltiple. El riesgo de progresión hacia mieloma múltiple es del 10%. Se define por presentar un componente monoclonal en el suero, IgA o IgG en un volumen de 30g/l, proteína monoclonal en orina y entre el 10-60% de células plasmáticas en la médula ósea (Baldovinos, et al., 2015; Bravo, et al; 2015).
- b) Mieloma múltiple no secretor: se presenta en un 3% del total de los mielomas múltiples, se trata de un mieloma asintomático en el que el componente monoclonal es indetectable en suero y orina. Sin embargo se puede detectar el porcentaje de las células plasmáticas las cuales deben ser mayor al 10% en médula ósea o la existencia de plasmocitoma. Es necesario una confirmación por biopsia (Baldovinos, et al., 2015; Bravo, et al; 2015).

- c) Mieloma múltiple oligosecretor: se encuentra en un 5 a 10% de los casos. Se define por la presencia de la proteína monoclonal en suero mayor al 0.1g/l o en la orina mayor a 200mg/24h (Bravo, et al; 2015; Menoni y Da Silva, 2010, pp. 15-22).
- d) Mieloma múltiple de cadenas ligeras: las células plasmáticas monoclonales secretan cadenas ligeras de las Ig (Bravo, et al; 2015).

2.3.1. Plasmocitoma

El plasmocitoma es una gammapatía monoclonal maligna que al ser una proliferación de una sola clona maligna se presenta como lesión única, plasmocitoma solitario, pero al expresarse como múltiples lesiones se presenta como mieloma múltiple (Pamo, Cumpa & Chian, 2015).

El plasmocitoma óseo solitario es una neoplasia de las células plasmáticas que se encuentran en el hueso presentándose como lesiones óseas en el 50-70% de los casos. También se presenta en tejidos blandos como plasmocitoma extra- medular. Constituye un 5 al 8% de las discrasias de las células plasmáticas. A pesar que presenta dolor óseo, en muchas de las ocasiones puede no hacerlo por lo que el descubrimiento en los pacientes puede ser incidental en radiografías. El plasmocitoma se encuentra presente mayormente en varones entre los 55 y 65 años (Moreno, Villaseñor & Vázquez, 2015; Pamo, Cumpa & Chian, 2015).

El progreso de las lesiones óseas es consecuencia del aumento en la absorción de las células de mieloma proceso que está mediado por osteoclastos y supresión de la mineralización de los osteoblastos. Dichas lesiones se producen cerca a la neoplasia lo que indica que las células tumorales originan factores que estimulan a los osteoclastos e inhiben a los osteoblastos presentes en la periferia del tumor incrementando el crecimiento de células tumorales e incitando a la expansión tumoral y la destrucción del material óseo (Morales, et al., 2010; Moreno, Villaseñor & Vázquez, 2015).

Por otro lado el plasmocitoma solitario esternal es poco frecuente representando el 1% de las neoplasias óseas. Es raro el hallazgo de plasmocitomas en la pared torácica y la localización esternal es excepcional (Moreno, Villaseñor & Vázquez, 2015).

Los huesos más comprometidos a las lesiones son los que tienen una hematopoyesis activa, tales como vértebras torácicas, cervicales, lumbosacras, costillas, pelvis, cara, cráneo, extremidades superiores y fémur. La mayoría se encuentran presentes en la cabeza y cuello (Pamo, Cumpa & Chian, 2015).

El tiempo en que la enfermedad evoluciona es de 2 a 3 años con una sobrevida promedio de 10 años. En ausencia del correcto tratamiento el pronóstico de sobrevida es menor de 2 años y los pacientes comúnmente fallecen por fallo renal, infecciones, anemia, problemas neurológicos. El tratamiento base para el plasmocitoma es la radioterapia (Alvarado, et al., 2015; Moreno, Villaseñor & Vázquez, 2015).

2.4. Citogenética del mieloma múltiple

La citogenética es una de las principales técnicas para la detección de MM que permite evaluar los cromosomas en células normales de la médula ósea y células de mieloma. Algunas células de mieloma pueden tener demasiados o muy pocos cromosomas u otras anomalías cromosómicas. Las células se observan con un microscopio para ver si los cromosomas tienen algún cambio, como translocaciones (parte de un cromosoma se ha desprendido y está unida a otro cromosoma), o deleciones (parte o todo un cromosoma está ausente) Encontrar cambios en los cromosomas ayuda a predecir el pronóstico de una persona (American Cancer Society, 2015; Leone, et al., 2013, p.7-16).

La técnica citogenética permite evaluar los cromosomas en células normales de la médula ósea y células de mieloma, en donde se puede observar que algunas células poseen demasiados cromosomas o muy pocos, u otras

anomalías cromosómicas. Las células son observadas por un microscopio para ver si los cromosomas tienen algún cambio, como translocaciones (parte de un cromosoma se ha desprendido y se encuentra en otro cromosoma haciendo que éste se vea más grande de lo normal), o deleciones (parte del cromosoma se encuentra ausente), muchas veces encontrar este tipo de alteraciones cromosómicas permiten predecir el pronóstico de una persona. Las pruebas citogenéticas pueden tardar de dos a tres semanas, debido a que las células deben crecer durante 72 horas para estar en metafase y poder realizar la extracción de los cromosomas completos (American Cancer Society, 2015; Leone, et al., 2013, p.7-16).

Con la aplicación correcta de las técnicas de citogenética convencional y de citogenética molecular se podrá identificar con precisión los casos hiperdiploides y los no-hiperdiploides lo que tienen claramente diferencias en el pronóstico (Leone, et al., 2013, p.7-16).

2.4.1. Clasificación Citogenética

Los pacientes que poseen mieloma múltiple pueden ser analizados a nivel cromosómico ya que las hiperdiploidías y translocaciones son alteraciones genéticas de mucha relevancia en cuanto al diagnóstico.

2.4.1.1. Mieloma múltiple: hiperdiploides

Las células de mieloma hiperdiploide presentan ganancia de cromosomas, lo cual ocurre en alrededor del 45% de los pacientes con la enfermedad y son asociados a un buen pronóstico siendo consideradas como un evento favorable. En la actualidad los estudios realizados indican que estos pacientes tienen mayor sobrevida y están libres de la progresión de la enfermedad. Esta condición es fácilmente detectada mediante el ADN ya sea por citometría de flujo o por cariotipo (Conté, et al., 2007, p. 1111-1117).

Las alteraciones hiperdiploides se caracterizan principalmente por la presencia de trisomías en el cariotipo, específicamente en los cromosomas impares 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 y 21 (Braggio y Albarracín, 2013).

2.4.1.2. Mieloma múltiple: no-hiperdiploides

Los cariotipos no-hiperdiploides son asociados a un peor pronóstico clínico, muestran un número cromosómico variable y se pueden encontrar hipidiploides, pseudodiploide, pseudotri y tetraploides (Conté, et al., 2007, p. 1111-1117).

A) Translocación 14q32 (t(14q32))

Es una alteración cromosómica del locus 14q32 gen IGH 2, propia de la cadena pesada de las inmunoglobulinas, y en los loci 2p12 también conocido por Igλ y 22q11 o Igκ de la IgL (Conté, et al., 2007, p. 1111-1117).

Las translocaciones asociadas a 14q32 de IgH son identificadas en algunos tipos de mieloma múltiple: en alrededor del 40-50% de los pacientes con gammapatía monoclonal de significado incierto, MGUS, 55-70% en tumores de mieloma múltiple intramedulares, 70-80% para mieloma múltiple extramedular, y desde el 80% para las líneas celulares de mieloma múltiple (Curutchet, et al, 2010).

B) Deleción del gen p53

El cromosoma 17 es un uno de los cromosomas más afectados con el mieloma múltiple. Las alteraciones que sufre éste cromosoma van desde cambios numéricos, trisomías y monosomías, hasta deleciones, que pueden ser tan pequeñas que es difícil identificarlas por citogenética convencional o no son lo suficientemente visibles para ser detectadas por las técnicas moleculares (FISH). El aumento de éste cromosoma se encuentra relacionado con el buen

pronóstico, más no es así cuando hay monosomía del cromosoma o deleción del mismo en el brazo corto (Da Silva, Menoni y Cueva, 2010, p. 9-14).

El gen p53 se encuentra presente en el brazo corto del cromosoma 17 y es el que posee mayor frecuencia de mutación en el cáncer (70%), principalmente en los últimos estadios de la enfermedad. La incidencia de alteración es de 65% en los extramedulares, mientras que en los intramedulares es menor. Estas alteraciones se dan en los nucleótidos de los codones 110 y 307 correspondiente a los exones 5-9 (Da Silva, Menoni y Cueva, 2010, p. 9-14).

C) Deleción de RB

Las alteraciones en el cromosoma 13 se presentan en el 21-50% de los casos de Gammapatía Monoclonal de Significado Incierto (MGUS), por lo que es de gran importancia en pacientes con mieloma múltiple debido a que se podría contrarrestar la enfermedad desde los inicios aunque ésta también se presenta en estadios más avanzados (Conté, et al., 2007, p. 1111-1117; Da Silva, Menoni y Cueva, 2010, p. 9-14).

El análisis de estas alteraciones es imprescindible porque le permiten al plasmocito tener la capacidad para la fácil proliferación clonal. La deleción del 13q14 tiene gran significancia en la sobrevida de los pacientes ya que está asociada a un mal pronóstico, en donde, la sobrevida es de 3-4 veces menor que los pacientes que no la poseen. La deleción del 13q14 desencadena la inactivación de la proteína retinoblastoma (RB), sin embargo es importante conocer que la malignidad que presenta esta alteración es de baja frecuencia y se presenta en estadios muy avanzados (Conté, et al., 2007, p. 1111-1117; Da Silva, Menoni y Cueva, 2010, p. 9-14).

2.5. Síntomas

Esta enfermedad se caracteriza principalmente por la presencia de anemia, hipercalcemia, insuficiencia renal y lesiones óseas. El pronóstico realizado a pacientes con MM indica que la media de supervivencia es de 2,5 a 3 años. Las células del mieloma también afectan a células que ayudan en el control de huesos fuertes. Existen dos clases principales de células óseas, las mismas que funcionan juntas para mantener los huesos saludables, las que generan hueso nuevo llamadas osteoblastos, y las células que se encargan de disolver el hueso viejo llamadas osteoclastos. Las células del mieloma producen una sustancia que indica a los osteoclastos la aceleración de la disolución del hueso, dado que los osteoblastos no reciben la señal de regeneración los huesos viejos se desintegran debilitan y fracturan (García, Mateos y San Miguel, 2007, p.104-15).

A pesar de la aparición de importantes avances terapéuticos, la enfermedad continúa siendo incurable y hay una importante proporción de pacientes fallecidos precozmente después de la aplicación del tratamiento (American Cancer Society, 2015; Conté, et al., 2007, p. 1111-1117; Leone, et al., 2013, p. 7-16).

2.6. Tratamiento

Dado que el mieloma múltiple es una enfermedad en la que los pacientes pueden presentar cuadros de buen y mal diagnóstico, es de suma importancia la determinación correcta de los síntomas y realizar un examen clínico previo a la prescripción de un tratamiento. Los pacientes que presentan GMSI, MM asintomático y MM sin respuesta no progresista, pueden mantenerse estables durante años sin requerir tratamiento, además se debe considerar que algunos tratamientos pueden afectar órganos en buen estado. Una vez analizados estos pacientes se debe decidir el tratamiento propicio para eliminar el clon tumoral y el tratamiento de soporte. Hay que tomar en cuenta las siguientes

consideraciones al momento de seleccionar los tratamientos: pacientes que pueden recibir quimioterapia en altas concentraciones con rescate de células progenitoras, pacientes que por edad o enfermedades asociadas al mieloma múltiple no son aptos para la primera estrategia, y por último los tratamientos para pacientes con resistencia a las terapias (García, Mateos y San Miguel, 2007, p.104-15; GEPAC, 2010).

2.6.1. Tratamiento de primera línea para trasplante autólogo

Este tratamiento es apto para pacientes jóvenes, dichos aquellos con edad inferior a 65 años y sin presencia de enfermedades asociadas a mieloma múltiple.

A. Inducción a remisión. El correcto tratamiento es aquel que permite tener una alta tasa de remisión sin toxicidad para las células progenitoras, limitando el uso de alquilantes, y buscando sustancias alternativas que consigan una tasa de remisión entre el 70 y 80%. Este proceso facilita el trasplante de las células progenitoras (García, Mateos y San Miguel, 2007, p.104-15; GEPAC, 2010).

B. Trasplante (consolidación). Pueden ser dos:

1) El primero es el trasplante con progenitores hematopoyéticos autólogos lo que está indicado para pacientes sin contraindicaciones. Este trasplante mejora la respuesta a la quimioterapia inicial dobla el porcentaje de respuesta y aumenta los años de supervivencia hasta 5. La fuente de origen más adecuado es la sangre periférica, estimulados con colonias de granulocitos (G-CSF), es un quimioterapéutico que no tiene gran eficacia antitumoral, sin embargo ayuda a la colecta de células (García, Matéos y San Miguel, 2007, p.104-15; GEPAC, 2010).

2) En el trasplante alogénico se utiliza una fuente de células progenitoras con la capacidad de contra mieloma, este tratamiento es mejor si proviene de un trasplante autólogo previo. El uso de sangre periférica disminuye la mortalidad del procedimiento pero es difícil encontrar un donante y dado a la edad en la que se presenta la enfermedad esta opción es restringida a un 5 o 10% de los pacientes (García, Mateos y San Miguel, 2007, p.104-15; GEPAC, 2010).

C. Mantenimiento. Una vez obtenido el diagnóstico donde el componente monoclonal se mantiene estable o desaparece, es importante mantener el tratamiento con estrategias inmunomoduladoras o interferones que permitan prolongar la duración de respuesta y mejorar la supervivencia (García, Mateos y San Miguel, 2007, p.104-15).

2.6.2. Tratamiento de primera línea para pacientes descartados de trasplante autólogo

Este tratamiento es específico para los pacientes a quienes no se les puede realizar el trasplante, mayores a 65 años o con diagnóstico de otras enfermedades (García, Matéos y San Miguel, 2007, p.104-15).

- Inducción a la remisión. Se busca un tratamiento factible que reduzca la toxicidad e induzca la tasa de remisión. Los tratamientos con melfafán y prednisona comienzan a disminuir los efectos en el mieloma, y la poliquimioterapia no ha demostrado ser un mejor tratamiento. Por otro lado, el bortezomib es el segundo fármaco administrado en pacientes mayores de 65 años, siendo eficaz con dosis de quimioterapia (García, Matéos y San Miguel, 2007, p.104-15).

2.6.3. Tratamiento de rescate

A pesar de ser una estrategia nueva ha superado en 30% la eficacia de las estrategias antiguas. El uso de talidomida, lenalidomida o bortezomib

combinándolos con alquilantes y dexametasona han permitido lograr tasas de 60-70% de respuesta con un grado de toxicidad aceptable. Estos tratamientos son eficaces incluso después de un fracaso por los métodos anteriormente mencionados (García, Mateos y San Miguel, 2007, p.104-15) (GEPAC, 2010).

a) Talidomida

Este medicamento se emplean en diferentes fases del tratamiento, y ha permitido que los pacientes puedan tener mayor tiempo de vida en buenas condiciones. La talidomida ha prolongado el tiempo de sobrevida hasta el primer avance de enfermedad, etapa donde la supervivencia de los pacientes se encuentra libre de progresión de la enfermedad. Su mecanismo de acción es inhibir la formación de vasos sanguíneos, ver *Figura 3*. Además induce a la apoptosis en determinadas células cancerígenas, impide inflamaciones y liberación de las sustancias que estimulan que el tumor crezca. (GEPAC, 2010)

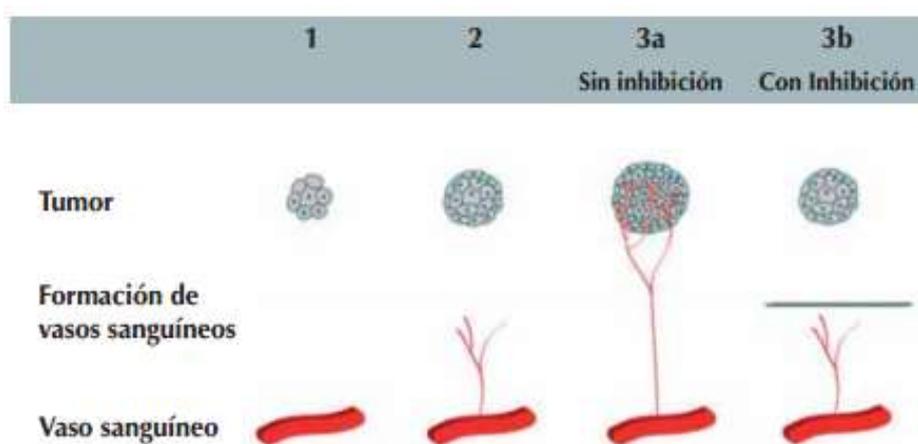


Figura 3. Producción de vasos sanguíneos y mecanismo de acción de la talidomida.

Tomado de GEPAC, 2010

b) Bortezomib

Es un fármaco que inhibe el proteosoma tanto de células enfermas de mieloma múltiple como de células sanas. Sin embargo, las células del mieloma múltiple dependen mayormente del funcionamiento del proteosoma 26S, complejo

proteico que se encarga de mantener la homeostasia en el interior de las células, que las células sanas, ocasionando destrucción de las células de mieloma mientras que la afección en las células sanas es menor. (Carretero, 2005, p. 132-134; GEPAC, 2010)

c) Lenalidomida

La lenalidomida inhibe la formación de nuevos vasos sanguíneos causando que se dificulte el abastecimiento de sustancias nutritivas para las células de tumor. También inhibe la producción de sustancias que permiten la inflamación del tumor y el crecimiento, aumenta sustancias que ayudan al sistema inmune a combatir las células neoplasmáticas, detecta el crecimiento e iniciación de apoptosis, inhibe la fijación hacia las células de sostén presentes en la médula ósea, activa células NK y linfocitos T que ayudan a debilitar las células tumorales, ver *Figura 4*. (GEPAC, 2010)

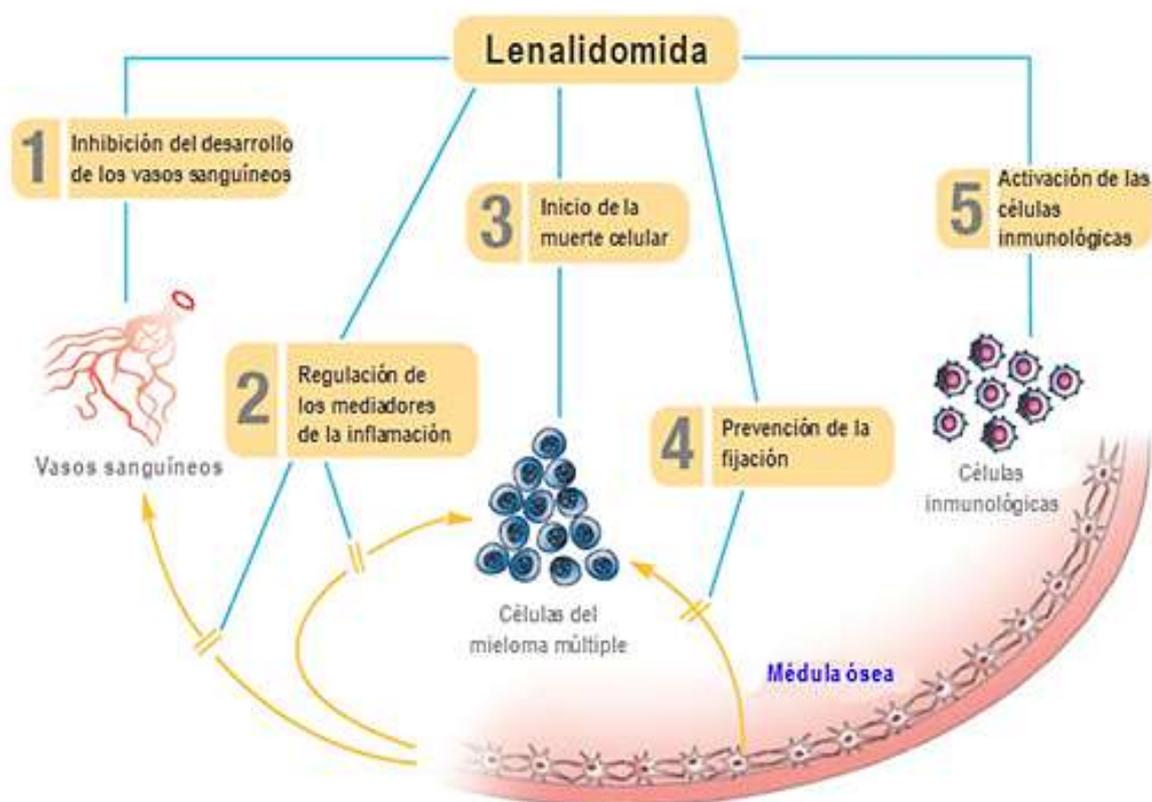


Figura 4. Mecanismo de acción de la lenalidomida.

Tomado de GEPAC, 2010

3. Diseño del plan experimental

El diseño de plan experimental se encuentra representado por la *Figura 5*, en el que se muestran los procesos utilizados para la obtención de resultados del presente trabajo.

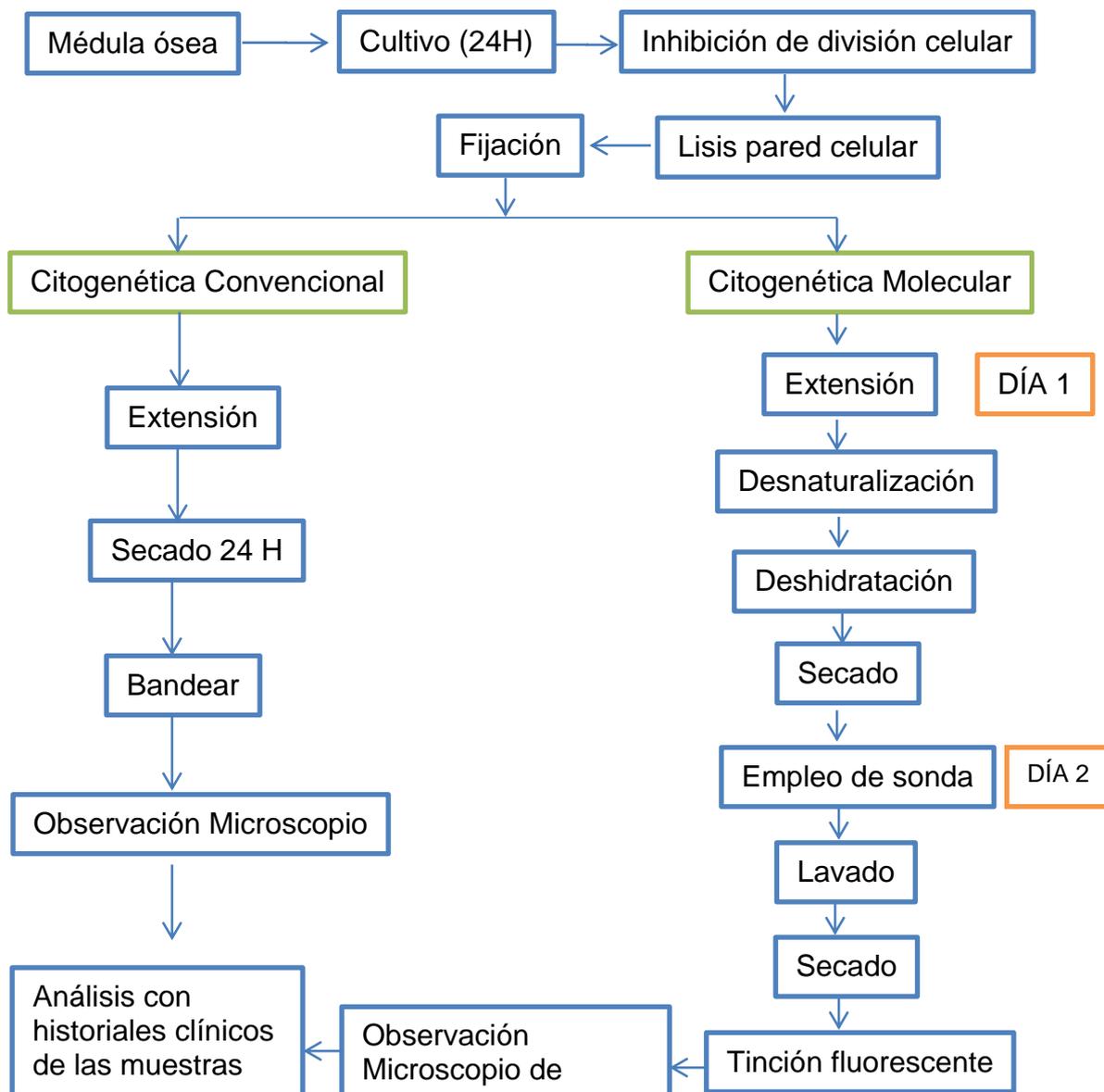


Figura 5. Diseño del plan experimental para procesamiento y recolección de datos clínicos.

4. Procedimientos

4.1. Población y Muestra

La población estudiada comprende a pacientes con cáncer tipo mieloma múltiple en el Ecuador, de los cuales se analizaron 26 pacientes diagnosticados con mieloma múltiple entre los años 2014-2016, tiempo en el que empleó la técnica molecular FISH para pacientes con mieloma múltiple no hiperdiploide, en el Hospital Oncológico Solca - Núcleo Quito. Los pacientes poseían con un historial patológico, un estudio previo citogenético convencional y pruebas moleculares (FISH). Estos datos se utilizaron para dar seguimiento al avance del tratamiento administrado.

Este proyecto se realizó bajo la supervisión de Ligia Ocampo M.Sc., Directora del Laboratorio de Genética-SOLCA, en el área experimental, y de Paola Leone Ph.D., Investigadora-Docente del Centro de Investigación Genética y Genómica – UTE, en análisis de datos e interpretación de resultados.

4.2. Materiales y Métodos

4.2.1. Extracción de médula ósea

Las muestras de médula ósea se obtuvieron de pacientes diagnosticados con mieloma múltiple. La extracción se realizó por el método de succión de la cresta iliaca con una aguja de punción estéril. Se extrajeron 3 mL de médula ósea en un tubo rojo vacutainer, de los cuales 1 mL se pasó a un tubo de tapa roja con medio de cultivo preparado y 2 mL a un tubo vacutainer, para el posterior cultivo celular de 24 horas y técnica directa, respectivamente.

4.2.2. Cultivo

Las muestras de médula ósea se sometieron a un período de cultivo de 24 horas, donde, se sembró 1 mL de médula en 5 mL de medio de cultivo y se incubó a 37°C por 24 horas.

4.2.3. Técnica de citogenética convencional

Las muestras que se procesaron por técnica directa se las analizó el mismo día, por otro lado, las muestras de 24 horas se procesan al día siguiente. Se añadieron 0,3 mL de colchicina transcurridos 15 minutos en baño maría a 37 °C, se centrifugó por 10 minutos a 1250 rpm. Se utilizó 1ml de suspensión para realizar un choque hipotónico con 10 mL de KCl por 20 min a 37°C a baño maría. Posteriormente, se centrifugó por 10 minutos a 1250 rpm y eliminó el sobrenadante. Después, se fijó la muestra por 20 minutos, se centrifugó por 10 minutos a 1250 rpm y lavó de 3 a 4 veces con fijador hasta que el material estuvo transparente. La muestra tratada se extendió en portaobjetos y se dejó secar al ambiente por 24 horas. Posteriormente se realizó el proceso de bandas para cromosomas y coloración para observar en el microscopio.

4.2.4. Técnica de citogenética molecular - FISH (Hibridación *in situ* con Fluorescencia)

La técnica de FISH se realizó a través del protocolo establecido por la casa comercial Leica, con las sondas: IgH (translocación del gen de inmunoglobulina H), Rb (pérdida del gen de retinoblastoma), p53 (alteraciones numéricas del gen TP53). La muestra pre-tratada obtenida por la técnica de citogenética convencional se utilizó para el análisis FISH. Se colocó en un portaobjetos 1 gota del material y se dejó en refrigeración a 4°C.

Primer día: Se sumergieron los portaobjetos en solución desnaturalizante por 5 minutos a 74°C. Se deshidrataron las placas con la muestra sumergiéndolas en etanol al 70%, 80% y 100% consecutivamente por 1 minuto en cada solución. Se secaron las placas a temperatura ambiente para la evaporación de etanol. Después, se añadieron 10 uL de la sonda en la zona de interés y se colocó el cubreobjetos. Se selló el cubreobjetos y el portaobjetos con Rubber Cement y seguido a esto se colocaron las placas en el Termobrite por 24 horas a 40°C.

Segundo día: Se retiraron los cubreobjetos de las placas y se les sometió a un lavado post-hibridación (0,4X SSC/0,3% NP40) a 73°C por 2 minutos. Se realizó un segundo lavado (2XSSC/0,1 NP40) a temperatura ambiente durante 1 minuto y se dejó secar los portaobjetos con el material genético a temperatura ambiente. Seguidamente se añadieron 2 uL de DAPI II (-20°C), se colocó un cubreobjetos y se observó en el microscopio de fluorescencia.

4.2.5. Análisis de historiales clínicos

Se recolectaron los historiales clínicos de los 26 pacientes del Hospital Oncológico SOLCA Núcleo Quito analizados por citogenética entre los años 2014-2016, para el análisis de la evolución de la respuesta a la enfermedad y el tratamiento.

4.3. Evaluación estadística de los resultados

4.3.1. Género

Se estratificó a los pacientes por género femenino y masculino, y se realizó un análisis de distribución de la enfermedad a los mismos, para corroborar que la enfermedad afecta mayormente al género masculino sobre el femenino.

4.3.2. Edad

Dado que en el documento publicado por el Registro Nacional de Tumores en el 2014 no se presenta información actualizada sobre pacientes con mieloma múltiple, se estratificó a los pacientes en tres grupos considerando que la edad media en que se presenta la enfermedad es de 65 años, y 15% de los casos reportados se da en edades inferiores a los 50 años. Posteriormente se distribuyó los datos por rangos de edad y género. (Asociación Española Contra el Cáncer, 2015)

4.3.3. Citogenética

Se estudió a pacientes con cariotipo hiperdiploide y no-hiperdiploide, para lo cual se analizaron casos de mieloma múltiple por distribución citogenética con

el fin de conocer el número y porcentaje en el que éstos se encontraban afectados. Se estratificó a los pacientes por el cariotipo que presentaban, Anexo 1, la primera distribución dependió de los casos citogenéticos, hiperdiploides y no-hiperdiploides, y la segunda distribución de las alteraciones estructurales en los casos no-hiperdiploides.

4.3.4. Análisis Citogenético-Clínico

Para el análisis citogenético se consideró la clasificación del mieloma múltiple en casos hiperdiploides y casos no hiperdiploides para lo cual se analizó los historiales clínicos de los pacientes. Se consideraran los niveles de hemoglobina, plaquetas, linfocitos, urea, creatinina, calcio, albumina, lactato deshidrogenasa (LDH), Beta 2 microglobulina (β 2M), y las proteínas totales para conocer la relación entre los análisis clínicos y la clasificación citogenética. Con estos datos se realizó el cálculo de la media y mediana de los valores que presentó cada caso en el test clínico realizado, mismo que fue comparado con el rango normal y se determinaran los niveles de afección que presentan los pacientes.

Se tomaron los datos del test inmunológico que se realiza para conocer si el mieloma múltiple detectado es secretor o no secretor, para lo cual se evalúa la presencia de las inmunoglobulinas monoclonales G, A, M, E y D. De igual manera se realizará el cálculo de la media y mediana de los valores que presentó cada caso en el test inmunológico realizado, mismo que fue comparado con el rango normal y se determinó la presencia del tipo células clonales que presentan los pacientes.

4.3.5. Análisis de la respuesta a tratamientos

Se consideró la respuesta a tratamientos implementados a los pacientes y se analizó cada caso independientemente. Para el análisis del tratamiento se tomó en consideración el nivel de ISS (International Staging System for Multiple Myeloma) en el que se encontraban los pacientes. Se tomó como referencia a

los estudios publicados por la Sociedad América del Cáncer que especifican la importancia del análisis clínico de pacientes con mieloma múltiple.

Se realizó una estratificación por casos hiperdiploides y no hiperdiploides, mismos que constan con análisis ISS, y se comparó el tratamiento recibido con el tiempo de sobrevida en meses, para así conocer los tratamientos que más efectos tienen tanto para casos hiperdiploides y no-hiperdiploides.

4.3.6. Análisis de sobrevida

A partir del programa IBM SPSS Statistics 22 se realizó el análisis de sobrevida que presentan los pacientes con cariotipo hiperdiploide y no-hiperdiploide. En el que se identificó a cada paciente según el tipo de cariotipo que presentaba, hiperdiploide y no-hiperdiploide, y se complementaron los datos con los meses de sobrevida que cada paciente presentaba, permitiéndonos así conocer la tendencia de sobrevida de pacientes hiperdiploides y no-hiperdiploides.

Adicional al resultado se realizó una prueba T de student para dos muestras en la que se pretendió conocer la diferencia significativa ($p > 0.05$) que existe entre los casos hiperdiploides y no-hiperdiploides.

4.3.7. Análisis estadístico Citogenética-Clínico

Se analizaron los datos citogenéticos vs. clínicos mediante la prueba de hipótesis de Shapiro-Wilk para comprobar si los datos poseen una distribución de normalidad, Anexo 3, debido a que dicha prueba permite el análisis de una muestra menor a 50. Se realizó el planteamiento de H_0 en la que se establece que: Los resultados clínicos son iguales para pacientes con cariotipo hiperdiploide y no-hiperdiploide, y de igual manera se planteó H_1 : Los resultados clínicos no son iguales para pacientes con cariotipo hiperdiploide y no-hiperdiploide. Comprobada la normalidad de los datos se prosiguió al análisis de los mismos, en el que, se realizó la prueba T de student de variables independientes, con la cual si el valor de significancia es mayor a 0.05 se aceptó H_0 , pero si el valor de significancia resulta menor o igual a 0.05

se rechazó H_0 y se aceptó H_1 . Todas las pruebas estadísticas fueron realizadas a través del programa IBM SPSS Statistics 22.

5. Resultados y discusión

5.1. Análisis general de pacientes con mieloma múltiple

5.1.1. Género

Entre los casos clínicos analizados en esta investigación se presentaron en 58% de los casos (15 pacientes) pertenece al género femenino, mientras que el 42% (11 pacientes) son del género masculino, como se presenta en la *Figura 6* y en el Anexo 1. Estos valores no concuerdan con investigaciones previas, Leone y colaboradores (2013), en el cual indica que el 54% de casos afectados por mieloma múltiple corresponde al género masculino sobre el femenino; de igual manera los valores reportados por el Registro Nacional de Tumores, 2014, indican que 58% de los casos analizados pertenecían al género masculino sobre el femenino. Estos datos pudieron verse alterados debido al tamaño de muestra analizada, 26 casos, y tomando en cuenta que solo se analizó a aquellos pacientes que tenían el análisis citogenético, tanto por la técnica convencional como por la técnica molecular (FISH).

Distribución de MM por género

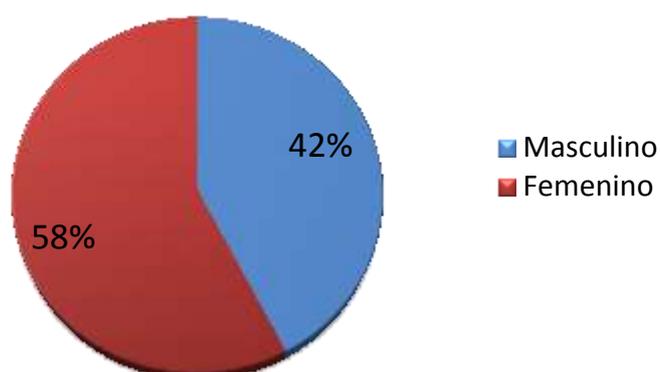


Figura 6. Clasificación de casos por género.

5.1.2. Edad

A partir de la estratificación se obtuvo que el 50% de los pacientes con mieloma múltiple se encuentran entre las edades de 50-65 años, de la cuales el 38,46% son de sexo masculino y el 61,54% pertenece al sexo femenino, representando así que los pacientes presentan la enfermedad en un intervalo medio de 50-65 años; el 23,07% de los pacientes son menores a 50 años, en el que 66.67% pertenece al género masculino y el 33.33% al género femenino presentándose mayormente en hombre que en mujeres; mientras que el 26.93% de los casos se encuentran en edades mayores a 65 años. El último registro presentado en el Ecuador sobre mieloma múltiple, Registro nacional en Tumores-2014, presenta que existe concentración de casos desde los 55 a los 69 años y reincidencia en el aumento de casos a los 79 años en el caso del género masculino, y de igual manera se reporta en el caso del género femenino, datos que concuerdan con lo obtenido en este estudio (*Figura 7*).

Clasificación de casos por edades

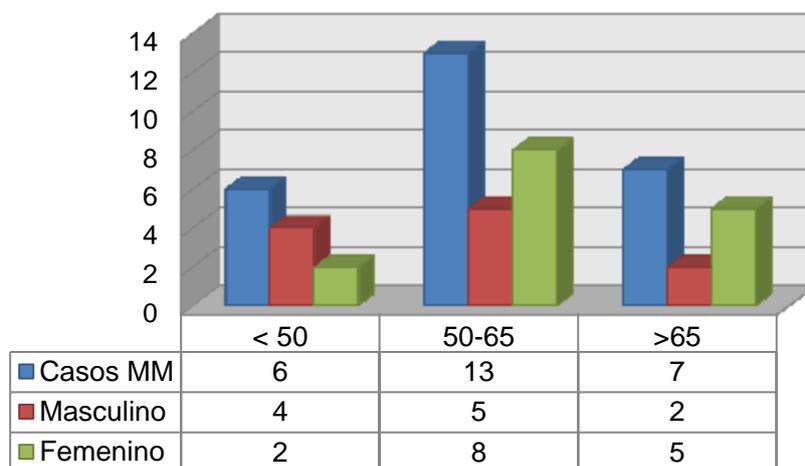


Figura 7. Estratificación de los casos por edades.

5.1.3. Citogenética

El análisis realizado encontró que el **58%** de los casos se encontraban afectados por alteraciones no-hiperdiploides, este porcentaje es mayor que

los casos con cariotipo normal que presenta el **19%** de los pacientes, sin embargo, los casos no-hiperdiploides se presentan en más pacientes que en los pacientes hiperdiploides, que representa el **23%** de los pacientes analizados. Dado que la prueba FISH no a sido aplicada a todos los casos analizados se presenta incertidumbre en los datos obtenidos por cariotipos normales. En el estudio global de pacientes con mieloma múltiple en el Ecuador, Leone y sus colaboradores en el 2013, encontró que alrededor del **46%** de los pacientes tienen cariotipo normal, del **11%** al **14%** de los casos tienen alteración hiperdiploide y del **23-30%** de los casos tienen alteraciones estructurales, no-hiperdiploides, sin embargo hay que considerar que alrededor del **16%** de los pacientes no presentan diagnóstico certero dado que no se observó las metafases ni los cariotipos que permitiesen la clasificación citogenética. Los datos obtenidos en este estudio no coinciden con los datos presentados en publicaciones anteriores, datos alterados por la falta en el análisis molecular para cada caso.

Entre los casos no hiperdiploides estudiados se encuentra el **80%** de los pacientes con alteraciones tipo IgH, translocación de 14q32 en las regiones variables de las cadenas pesadas. En los casos analizados el diagnóstico de RB se encuentra debajo del **7%**, indicando así que la sobrevivida de la población podría ser mayor; en éste análisis *p53* se encuentra en un **13%** de la población con mieloma múltiple, sin embargo no se tiene evidencia clínica que corrobore la presencia de dicha delección pero a través de las técnicas moleculares se pudo evidenciar las alteraciones (Ver *Figura 8*). Dado que la implementación de técnicas moleculares en el análisis citogenético es de apenas 2 años, 2014-2016, no se cuenta con evidencia suficiente que corrobore la distribución poblacional por alteraciones estructurales. No obstante, el estudio realizado por Conté y su grupo de trabajo que presentó en su investigación del 2009, en el que indica que la mayoría de los tumores de mieloma múltiple presentan el switch de isotipo de la cadena pesada IgH. La segunda anomalía más frecuente es la adición del brazo largo del cromosoma 1, que se presenta hasta en el **50%** de los casos y se encuentra asociado a la delección del cromosoma 13, la cual aparece en la población con una frecuencia de aproximadamente

30% de los casos cuando se realiza la técnica FISH para RB. La presencia de dicha delección indica un mal pronóstico para los pacientes que la presentan. Por último, otra anomalía no muy frecuente, según Menoni y Da Silva en su publicación de 2010, es la presencia de alteraciones en el gen *p53*. Datos que se confirman en el presente estudio, en el que IgH se presenta en mayor porcentaje que alteraciones en RB y *p53*.

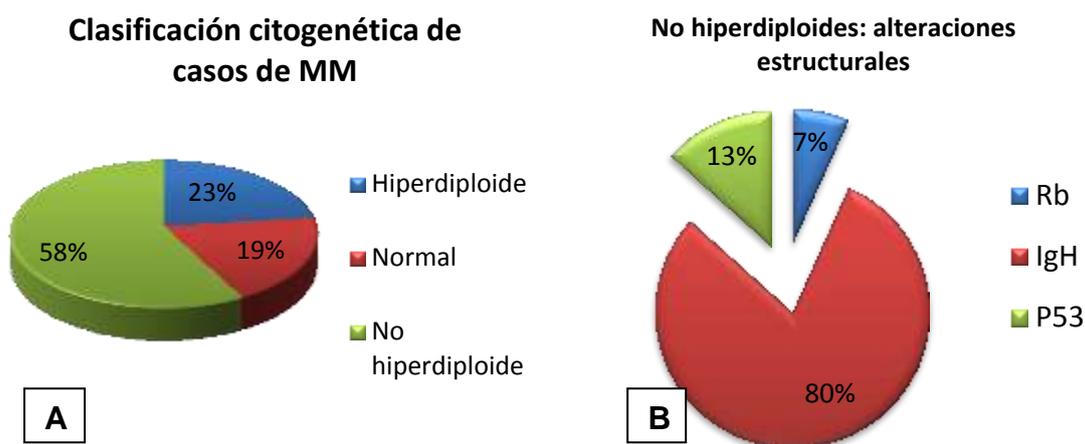


Figura 8. Se presenta la clasificación de los casos por análisis citogenético. A) Clasificación citogenética general. B) Clasificación de los casos No-hiperdiploides estudiados por las alteraciones IgH, RB, P53.

1.2. Análisis Citogenético-Clínico

5.2.1. Hiperdiploides

Como se presenta en la Tabla 1, se observa una significativa disminución de la albumina, $\bar{X}=3,17$ g/dL, por debajo del rango normal, 3,5-5,5 g/dL, no obstante como se aprecia en la Tabla 5 la mayoría de ellos se encuentran en Etapa I de la enfermedad teniendo así mejor sobrevida que los pacientes no-hiperdiploides (*Figura 9*). Esto puede deberse a que los casos hiperdiploides no cuentan con suficiente evidencia en número de pacientes, 5 casos se reportan como hiperdiploides, y al contar con una muestra pequeña no se puede ampliar este espectro de información. En el trabajo realizado por García y su equipo en su publicación del 2007, indican que la albúmina que es una proteína producida

por el hígado y se encuentra en grandes cantidades en la sangre, pero en pacientes con mieloma las citoquinas (interleuquina 6) suprimen la producción de la albumina, por lo que los bajos niveles de albumina pueden llegar a ser un indicativo de mieloma múltiple más avanzado. En cuanto a la información proporcionada por American Society Cancer, 2015, indica que los pacientes con mieloma múltiple que presentan un estadio ISS II presentan niveles de albúmina menores a 3.5 g/dL; valores que pueden verse reflejados con los obtenidos en éste estudio.

En cuanto a la hemoglobina, el valor obtenido es de $\bar{X}=12,6\text{g/dL}$, por debajo del rango normal **14-18g/dL**. Como se observa en la Tabla 5 se aprecia que el 66,37% de los casos corresponden al estadio I mientras que el 33.33% pertenecen al estadio II, valores que afectan a la media calculada de hemoglobina. Así lo confirma en la publicación de American Society Cancer, 2015, en el que indican que la presencia de un valor bajo en el rango de normalidad pero mayor a **10g/dL** de la hemoglobina, representa la presencia del mieloma múltiple en estadio I, estadio que se corrobora. Permitiendo de ésta manera confirmar que la mayor parte de los casos se encuentran en el estadio I de la enfermedad. Por otra parte las pruebas para plaquetas, linfocitos, urea, creatinina, calcio, LDH, B2M y proteínas totales en su media (\bar{X}) se encuentran en un rango normal sin daños en órganos adyacentes.

Tabla1.

Análisis estadístico de datos clínicos de casos hiperdiploides.

	Rango Normal		Media	Mediana	Rango	Mínimo	Máximo
	Mínimo	Máximo					
→ Hemoglobina	14	18	12,615	12,3	7,7	9,7	17,4
Plaquetas	130.000	400.000	210.505,343	230198,2	198.905,9	72000,0	270905,9
Linfocitos	13	40	20,138	22,0	17,3	8,2	25,5
Urea	10	50	37,843	36,8	46,3	21,8	68,0
Creatinina	0,5	1,4	0,857	,8	,5	,6	1,1
Calcio	4	6	4,622	4,6	,4	4,4	4,9
→ Albumina	3,5	5,5	3,177	3,1	2,6	1,7	4,4
LDH	240	480	298,562	345,9	191,7	182,5	374,2
B2M	604	2.286	1.448,264	1319,2	3042,7	3,3	3046,0
Proteínas_totales	6,6	8,7	6,812	6,7	3,0	5,4	8,4

Los pacientes analizados con hiperdiploidía presentaron un leve aumento de $\bar{X}=501,2\text{g/dL}$ en la presencia de la inmunoglobulina A (Tabla 2), encontrándose fuera del rango normal de **82-453g/dL**, alteración que es muy frecuente cuando se trata de un mieloma múltiple secretor. Como lo menciona American Society Cancer, 2015, la presencia de IgA es un indicativo de producción de tumores o evolución del mismo el cual se expresa en la sangre u orina, y en el mieloma múltiple las inmunoglobulinas G e A expresadas en mayor cantidad en pacientes con mieloma múltiple y en muy pocas ocasiones M y E. Por otro lado, Bravo y colaboradores en el 2015, indican que la presencia de IgA e IgG en un volumen mayor a **300g/dL** se trata de un mieloma múltiple quiescente (SMM). Lo cual indica que los casos evaluados presentan persistencia de la enfermedad, y como se analizó en los datos de albumina los pacientes se muestran un proceso avanzado de mieloma múltiple.

Tabla 2.

Análisis estadístico de datos inmunológicos de casos hiperdiploides

	Rango Normal		Media	Mediana	Rango	Mínimo	Máximo
	Mínimo	Máximo					
IgG	751	1560	1163,9433	1000,3300	764,50	863,50	1628,00
→ IgA	82	453	501,2100	268,9200	1289,00	89,00	1378,00
IgM	46	304	119,9367	110,0000	133,81	58,00	191,81
IgE	20,4	87	7,4100	,7300	21,30	,10	21,40

5.2.2. No-hiperdiploides

Los casos no-hiperdiploides presentan una $\beta 2\text{M}$ en un rango superior al rango normal, $\bar{X}=2.464,9\text{mg/L}$, pero en un nivel de riesgo bajo (Tabla 3). Debido a que el 63.64% de los casos pertenecen a estadio ISS I la $\beta 2\text{M}$ se ve reflejada con un valor fuera del rango normal pero menor a **3.5mg/L**. Como expone García, Mateos y San Miguel, 2007, el aumento de $\beta 2\text{M}$ es indicativo de una alta carga tumoral o de IR (insuficiencia renal), lo que implica que la salud del paciente se encuentra seriamente comprometida, y constituye uno de los principales factores para el pronóstico de la enfermedad. Si los niveles de la $\beta 2\text{M}$ son menores a **3.500mg/L** el paciente se encuentra en un nivel de riesgo

bajo, pero si la $\beta 2M$ es mayor a **5.500mg/L** el paciente puede encontrarse en un nivel de alto riesgo. Por lo que, dado que el mieloma múltiple es una alteración cromosómica que en avance de la enfermedad presenta carga tumoral los valores de \bar{X} son elevados con respecto a los valores de rangos normales, mas aún presenta niveles bajos de enfermedad, dado que dicho valor se encuentra bajo 3.5mg/L y esto representa correlación de los resultados obtenidos con el análisis de estadio ISS I de mieloma múltiple de American Society Cancer, 2015.

En cuanto a la hemoglobina se puede observar que mantiene una tendencia igual a los casos hiperdiploides en el que el valor de hemoglobina es: **$\bar{X}=12,356$ g/dl**, por debajo del rango normal **14-18g/dL**. Al igual que los pacientes hiperdiploides el 63.64% de los casos pertenecen al estadio I. Tal como lo presenta American Society Cancer, 2015, la presencia de un valor bajo en el rango de normalidad pero mayor a **10g/dL** de la hemoglobina, representa la presencia del mieloma múltiple en estadio I. Confirmando así que los datos se encuentran correlacionados y dichos pacientes no presentan riesgo alto con respecto al avance de la enfermedad

Para los casos que se encuentran en estadio II, los valores de albumina se encuentran en un rango bajo, desde **9-13,75g/dl**, la creatinina se encuentra en un rango menor de **0,42mg/dl** o mayor de **1,75mg/dl** pero nunca en el rango normal, la albumina **2,71mg/dl** a **3,07mg/dl** pero no dentro del rango normal. Para los casos de estadio III la variable que presentó alteración fue la hemoglobina la misma que va desde **10.96g/dl** a **11.69g/dl**, menor que el rango normal, sin embargo el caso M26 presenta un incremento en la creatinina de **1.75mg/dl** (aunque se encuentra cerca al límite) y un notable incremento de $\beta 2M$ de **13,56767mg/dl** el cual es un valor muy elevado, dato que puede ser muy significativo en la media para $\beta 2M$.

Tabla 3.

Análisis estadístico de datos clínicos de casos No-hiperdiploides.

	Rango Normal		Media	Mediana	Rango	Mínimo	Máximo
	Mínimo	Máximo					
→ Hemoglobina	14	18	12,356	13,133	7,1	8,8	15,9
Plaquetas	130.000	400.000	257997,0	243777,8	215291,7	145041,7	360.333,3
Linfocitos	13	40	26,797	23,711	30,4	17,4	47,8
Urea	10	50	32,288	31,522	40,8	18,3	59,1
Creatinina	0,5	1,4	,875	,792	1,3	,4	1,8
Calcio	4	6	5,095	4,684	11,2	3,9	15,1
Albumina	3,5	5,5	3,593	3,811	2,1	2,6	4,7
LDH	240	480	1998,674	295,774	36069,8	189,8	36259,6
→ B2M	604	2.286	2.464,92	1669,506	13567,7	,0	13567,7
Proteínas_totales	6,6	8,7	7,213	7,006	11,0	3,7	14,7

En la Tabla 6 más del 60% de los casos no-hiperdiploides se encuentran en un nivel de estadio I, con valores de Hemoglobina= **12,3g/dl** (menor al rango normal pero mayor a 10g/dl), β 2M=**2,46mg/dl** (menor a 3,5mg/dl) y Albumina=**3,59mg/dl** (igual o mayor a 3,5mg/dl), los valores se presentan fuera del rango normal pero siempre al límite de los mismos por lo que no hay mucha variedad al rango normal. La Sociedad Americana del Cáncer en sus estudios publicados especifican la importancia del análisis clínico de pacientes con mieloma múltiple e indican que la identificación del estado de la enfermedad puede ser calculada por los niveles de hemoglobina: para estadio tipo I la hemoglobina se debe encontrar por debajo del rango de normalidad (14-18g/dl) pero mayor a **10g/dl**, β 2M menor de **3.5mg/dl** y por último la albumina debe encontrarse en **3.5g/dl** o mayor al valor.

En la Figura 5. B se presenta que el 80% de los casos no-hiperdiploides corresponden a la translocación de IgH (14q32), gen que expresa con frecuencia las inmunoglobulinas G y A. Estos datos se pueden corroborar con los obtenidos en éste estudio, tal como se presenta en la Tabla 4, en donde el análisis de la media indica que tanto IgG e IgA se encuentran fuera del rango normal IgG **1.744,7g/l** e IgA **816,31g/l**, lo que se ve refleja en el porcentaje de casos que presentan alteración en IgH. Como presentó Conté y su equipo en el

2007, la mayoría de los tumores presentan IgH, la cual expresa en mayor frecuencia las inmunoglobulinas G y A.

Tabla 4.

Análisis estadístico de datos inmunológicos de casos No-hiperdiploides.

	Rango Normal		Media	Mediana	Rango	Mínimo	Máximo
	Mínimo	Máximo					
→ IgG	751	1560	1744,7	1297,0	8164,60	5,40	8170,00
→ IgA	82	453	816,319	147,0000	5589,79	3,21	5593,00
IgM	46	304	96,6796	69,0000	297,75	,25	298,00
IgE	20,4	87	17,0267	21,4000	39,20	,10	39,30

5.3. Análisis de la respuesta a tratamientos

5.3.1. Casos hiperdiploides

Como se aprecia en la *Figura 5. A*, el 23% de los pacientes pertenecen al grupo de hiperdiploides, dichos pacientes fueron sometidos a diversos tratamientos en el que se pudo obtener que, primero: a los pacientes que se les aplica mayor variedad de medicamentos tienen un tiempo de supervivencia mayor que aquellos a quienes se les ha aplicado menor cantidad de medicamentos (Tabla 5). Como se puede observar en el caso M8 que tiene un tiempo de supervivencia de 83 meses en comparación con el caso M2 en el que el tiempo de supervivencia fue de 30 meses. Por otro lado, la aplicación de la combinación Talidomida + Dexametasona, que fue la más usada es una alternativa positiva para pacientes que presenten hiperdiploidía cromosómica.

Como se presenta en la Tabla 5 los casos con ISS I presentan una supervivencia de 30 a 83 meses, con la aplicación de la combinación de Talidomida+ Dexametasona. Los casos con ISS II presentan una supervivencia de 14 a 28 meses con la aplicación de diversos tratamientos y no específicos como es el caso de M1 a quien se le administró una combinación de radioterapia,

Bortezomib y Talidomida + Bortezomib, y en el caso de M3 que solo se le aplicó Talidomida + Prednisona. Dado que la mayoría de los pacientes pertenecen al estadio ISS I que representa niveles bajos de enfermedad los tratamientos tienen mayor efecto que en pacientes con estadio ISS II e ISS III. Moreno y sus colaboradores en el 2015 describen que enfermedad evoluciona de 2 a 3 años en ausencia del correcto tratamiento el pronóstico de sobrevida es menor de 2 años y los pacientes comúnmente fallecen por fallo renal, infecciones, anemia, problemas neurológicos, por lo que la correcta administración de medicamento en pacientes con mieloma múltiple permite que éstos puedan tener un tiempo de vida promedio de 10 años. Como se presenta en los resultados obtenidos, la correcta administración de tratamiento para cada paciente y el seguimiento de éstos, ha permitido que los mismos tengan una respuesta positiva, con respecto al tiempo de sobrevida, ante la enfermedad y así impidiendo el avance de la misma.

Tabla 5.
Análisis individual de la respuesta a tratamientos en casos hiperdiploides.

	Radioterapia	Bortezomib	Talidomida + Bortezomib	Talidomida + Devametasona	Bortezomib + Devametasona	Talidomida + prednisona	Clatromicina	Ciclofosfamida + Devametasona	VAD	Lenalidomida + Zomet + Devametasona	Talidomida + Omeprazol	Bendamustina	Ac. Zoledrónico	Muerte	Sobrevivida (Meses)	Estadio MM (ISS)
M1	nov-15 1m	ene-16 10m	nov-16 1m												14	II
M2		may-14 4m		nov-13 6m	sep-14 18m									Mar de 2016	30	I
M3						11 de 27m 2011									28	II
M8	Abr de 11-12/16 2m	Abr de 11 1año		Jun de 2007 30m		feb de 2010 7m	feb de 2004 6m	jul-04 21m	6 de 200 6 años	ene-13 32m	oct-15 7m	may-16 4m		Trasplante 9/14	83	I
M13				jun-15 6m	ene-16 12										46	I
M14				oct de 2010 2año									10-dic 4año		30	I

5.3.2. Casos no-hiperdiploides

El ácido zolendrónico es un componente muy utilizado para quimioterapia a nivel óseo. En la Tabla 6 se puede apreciar que ha sido el más empleado para tratar a los pacientes con citogenética no hiperdiploide, permitiendo así que el tiempo de sobrevida sea mayor como sucede con los casos M12, M16, M19. Sin embargo, el caso M23 no presenta esta respuesta debido a que se encuentra en un estadio de MM de II nivel y el tratamiento no ha sido aplicado por un tiempo prolongado. Otro punto importante a analizar es la aplicación de radioterapia entre los tratamientos, ya que en los casos en los cuales sí se aplicó tienen más tiempo de sobrevida que aquellos que no se aplicó. En comparación con los casos hiperdiploides la aplicación de la combinación Talidomida + Dexametasona no presenta resultados significativos en los pacientes por lo que se puede estimar que la mejor respuesta para los casos no-hiperdiploides sería la aplicación de ZOMETA y radioterapia. Estos resultados sugieren que la aplicación del ácido zolendrónico en estos pacientes se debe a que hay un mayor número de casos de mieloma múltiple que afecta directamente al sistema óseo.

Los casos que presentan ISS nivel I demuestran que el tiempo de sobrevida es mayor, de **4 meses** a **83 meses**, dado que la enfermedad es menos agresiva, y es suficiente un tratamiento con la combinación de Talidomida + Dexametasona conjuntamente con el Ácido Zolendrónico. Los casos con ISS nivel II presentan un tiempo de sobrevida bajo, de **1 mes** a **16 meses**, y a la mayoría de pacientes se les aplicó la combinación Talidomida + Dexametasona, probablemente desfavorable para nivel II de la enfermedad dado que no ha actuado sobre la enfermedad como lo que se esperaría. Los casos con ISS nivel III se mantuvieron con tratamiento de radioterapia y la combinación de Talidomida + Dexametasona produciendo que el tiempo de sobrevida sea alta (alrededor de 20-46 meses). A pesar que son pacientes con presencia de afección ósea se ve claramente los efectos positivos del control realizado con ambos tratamientos. García, Mateos y San Miguel, 2007, el tratamiento de rescate supera en 30% la eficiencia de estrategias antiguas, en

donde, el uso de talidomida o bortezomib combinados con alquilantes y dexametasona permiten lograr tasas de 60-70% de respuesta a supervivencia. En donde, se puede evidenciar que los casos que presentan estadio ISS I actúan según lo esperado con el tratamiento de rescate, obteniendo así 64,28% de los casos con sobrevida frente al 35,71% de los casos de mortalidad registrados en este estudio.

Tabla 6.
Análisis individual de la respuesta a tratamientos en casos no-hiperdiploides.

	Radioterapia	Bortezomib	Talidomida + Bortezomib	Talidomida + Dexametasona	Bortezomib + Dexametasona	Talidomida + prednisona	Claritromicina	Ciclofosfamida + Dexametasona	VAD	Lenalidomida + Zometa + Dexametasona	Talidomida + Omeprazol	Bendamustina	Ac. Zoledrónico	Muerte	Sobrevida (Meses)	Estadio MM (ISS)
M2		may-14 4m		nov-13 6m	sep-14 18m									Mar de 2016	30	I
M4															1	II
M5	jul-14 1m			ago-14 2m									ago-14 3m		5	I
M6				ago-14 28m									ago-14 m		30	I
M7		ene-16 3m	mar-16 3m	may-15 7m									jun-16 5m		20	I
M8	11-12/16	2m	11 añ	Jun de 2007 30m		feb de 2010 7m	feb de 2004 6m	Jul-04 21m	6 de 2006 añ	ene-13 32m	oct-15 7m	may-16 4m			83	I
M9															13	I
M10	Jul de 2012	2m													41	I
M11	May de 2015	3m				Jul de 2015 1m				sep-15 16m					19	I
M12				Jun de 2015 18m									Jul-15 17m		50	II
M13				Jun-15 6m	ene-16 12m										46	III
M15				Nov-15 15m										ago-16	10	II
M16				Oct-14 18m									Mar-15 17m	Oct-16	26	I
M17				ene-15 1m										Feb-15	12	II
M18				Feb-16 9m											25	I
M19	Jul de 2012	6m		ene-13 17m									Jul-13 11m	Jun de 2014	24	I
M20						Jun-14 3m							Jun-14 3m	Sep de 2014	13	II
M21				Mar-13 41m											18	I
M22															16	I
M23				Nov-14 1m									Nov-14 1m	Nov-14	8	II
M24														Mar-14	4	I
M25															16	II
M26	Oct-16 1m	Nov-15 7m		Nov-15 3m		Jul-15 3m							Nov-15 3		20	III

5.4. Análisis de sobrevida

5.4.1 Alteraciones Citogenéticas

En éste estudio la tasa de supervivencia para pacientes con mieloma múltiple ha demostrado ser de **55 meses**. Los casos hiperdiploides demuestran tener una mayor tasa de supervivencia de **69.75 meses**, comparado con los casos no-hiperdiploides que demuestran una tasa de **49,94 meses**, ver Tabla 7. Este diagnóstico se debe a la ganancia de cromosomas en los casos hiperdiploides. Tal como presenta Leone y su equipo en el año 2013, los pacientes hiperdiploides cuentan con un número elevado de cromosomas en donde no se encuentran alteraciones genéticas, y, al parecer el exceso de información en los genes no afecta al funcionamiento normal del organismo; por otro lado la alteración de genes o pérdida de los mismos, como en el caso de los no-hiperdiploides, presentan alto riesgo en los pacientes que lo poseen, dándoles así buen pronóstico. En el caso de los hiperdiploides, no afecta en gran medida la pérdida de cromosomas, translocaciones, y deleciones procesos donde se pierde información genética que puede llegar a ser de gran importancia para los procesos celulares, confirmando así que los pacientes con hiperdiploidía constan de mejor pronóstico que aquellos pacientes no-hiperdiploides (mal pronóstico).

Con la prueba t de Student para dos muestras suponiendo varianzas desiguales se confirmó que no existe diferencia entre la sobrevida de los casos hiperdiploides y los casos no-hiperdiploides ($p= 0,1984$ (Anexo 2)). Resultados que se obtuvo puesto que, la muestra utilizada para los casos hiperdiploides es pequeña con respecto a la muestra utilizada para los casos no-hiperdiploides, y los porcentajes que varían en la estimación de sobrevida no es muy alejada. American Cancer Society, 2016, en su página web (www.cancer.org) presenta que el tiempo de sobrevida en pacientes con Etapa I es de 62 meses, mientras que, para Etapa II la estimación de vida es de 44 meses y para Etapa III es de 29 meses; sin embargo Moreno y sus colaboradores en el 2015 indican que el

tiempo de supervivencia de los pacientes puede llegar a ser de hasta 10 años, con el tratamiento adecuado. Dado que, en los casos hiperdiploides como no-hiperdiploides, el porcentaje de pacientes en estadio ISS I es alto con respecto al estadio ISS II y III, se obtiene no existe diferencia significativa entre ambos diagnósticos.

Tabla 7.

Medias y medianas para el tiempo de supervivencia

		Alteración Citogenética			
		Hiperdiploides	No-Hiperdiploides	Global	
Media ^a	Estimación	69,750	49,943	55,061	
	Error estándar	11,475	8,764	7,290	
	Intervalo de confianza de 95 %	Límite inferior	47,259	32,766	40,772
		Límite superior	92,241	67,120	69,350

a. La estimación está limitada al tiempo de supervivencia más largo, si está censurado.

La tendencia de supervivencia (*Figura 9*) indica que los pacientes hiperdiploides (línea azul) presentan una mayor tasa de supervivencia que los pacientes no-hiperdiploides (línea verde).

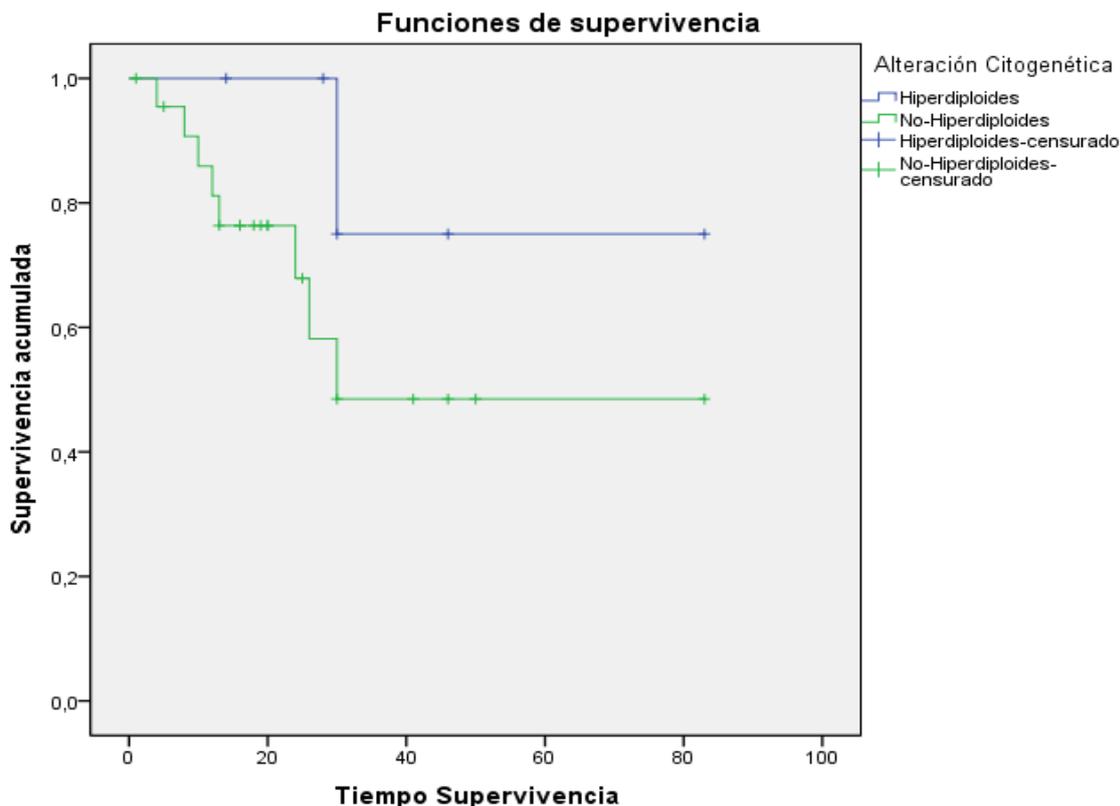


Figura 9. Análisis de sobrevivencia de casos hiperdiploides y no-hiperdiploides. Analizado en el programa estadístico SPSS.

5.5. Análisis estadístico Citogenética-Clinico

Se efectuó la prueba estadística Shapiro-Wilk en el programa estadístico IBM SPSS Statistics 22 en el que se confirmó que la prueba citogenética siguen una tendencia normal para cada prueba clínica realizada, presentándose en cada caso un valor p mayor que 0.05 (Anexo 3).

Se realizó la prueba t de Student para muestras independientes, de la cual se obtuvo los siguientes valores p : hemoglobina: $p=0.806$, plaquetas: $p=0.105$, linfocitos: $p=0.08$, urea: $p=0.283$, creatinina: $p=0.918$, calcio: $p=0.609$, albumina: $p=0.191$, LDH: $p=0.638$, $\beta 2M$: $p=0.472$ y proteínas totales: $p=0.662$, Tabla 8, en cual dan un valor mayor a 0.05 demostrando que se acepta la hipótesis H_0 : Los resultados clínicos son iguales para pacientes con cariotipo

hiperdiploide y no-hiperdiploide, y se rechaza H_1 : Los resultados clínicos no son iguales para pacientes con cariotipo hiperdiploide y no-hiperdiploide. Demostrando así que no hay variabilidad de resultados clínicos entre los casos hiperdiploides y no-hiperdiploides.

A pesar que las alteraciones cromosómicas son diferentes entre los casos de mieloma múltiple, no se encuentra diferencia significativa en la que se pueda concluir que por pruebas clínicas se trata de casos hiperdiploides y no-hiperdiploides; éste resultado puede verse alterado por el tamaño de muestra que se ha analizado, 26 casos que constan con análisis citogenético, del cual se tiene pérdida de información con los pacientes que no poseen el test citogenético; por otro lado se tiene un bajo número de casos hiperdiploides, cinco casos, comparado con el número de casos no-hiperdiploides, 23 casos, muestra que es relativamente pequeña para ser analizada.

El análisis realizado no incluye datos de muestras control, valores que podrían permitir una mejor segregación de resultados y análisis de significancia en la que a pesar que no se presenta variabilidad significativa entre los casos de mieloma múltiple si se podría presentar esta variabilidad entre pacientes sanos y pacientes con la enfermedad. Zabala y colaboradores, 2016, presentan el estudio de polimorfismos de mieloma múltiple con la presencia de muestras control, las cuales permiten obtener una correcta segregación de valores clínicos y citogenéticos. Los casos analizados no muestran diferencia significativa entre sí pero es importante corroboración de ésta con pacientes sin enfermedad.

Por otra parte, tanto en casos hiperdiploides como en no-hiperdiploides se encuentran presentes pacientes con mismo rango de ISS, en el que en ambos grupos destaca la presencia de pacientes con ISS Estadio I frente al Estadio II y Estadio III, demostrando así que los valores clínicos no presentarán mucha diferencia significativa entre sus valores.

Tabla 8.

Prueba t de Student para muestras independientes

	Prueba de Levene de igualdad de varianzas	prueba t para la igualdad de medias								
		F	Sig.	t	gl	Sig. bilateral	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
Hemoglobina	Se asumen varianzas iguales	,901	,351	,249	27	,806	,25933	1,04303	-1,88080	2,39946
	No se asumen varianzas iguales			,207	6,479	,843	,25933	1,25470	-2,75661	3,27527
Plaquetas	Se asumen varianzas iguales	,004	,951	-1,675	27	,105	-47491,7	28346,10	-105653,09859	10669,715
	No se asumen varianzas iguales			-1,517	7,003	,173	-47491,7	31297,46	-121492,64667	26509,263
Linfocitos	Se asumen varianzas iguales	1,516	,229	-1,821	27	,080	-6,65709	3,65585	-14,15828	,84410
	No se asumen varianzas iguales			-2,176	10,35	,054	-6,65709	3,05981	-13,44327	,12908
Urea	Se asumen varianzas iguales	,521	,477	1,095	27	,283	5,55487	5,07228	-4,85259	15,96234
	No se asumen varianzas iguales			,805	5,935	,452	5,55487	6,89665	-11,36567	22,47541
Creatinina	Se asumen varianzas iguales	2,316	,140	-,104	27	,918	-,01697	,16387	-,35319	,31925
	No se asumen varianzas iguales			-,160	19,72	,875	-,01697	,10625	-,23880	,20486
Calcio	Se asumen varianzas iguales	,813	,375	-,518	27	,609	-,47255	,91287	-2,34561	1,40051
	No se asumen varianzas iguales			-,1016	22,97	,320	-,47255	,46494	-1,43442	,48932
Albumina	Se asumen varianzas iguales	2,945	,098	-1,342	26	,191	-,41567	,30966	-1,05218	,22084
	No se asumen varianzas iguales			-,1013	6,053	,350	-,41567	,41017	-1,41718	,58584
LDH	Se asumen varianzas iguales	,976	,333	-,477	24	,638	-1700,11	3566,194	-9060,37568	5660,1510
	No se asumen varianzas iguales			-,992	20,02	,333	-1700,11	1713,581	-5274,33589	1874,1112
B2M	Se asumen varianzas iguales	,732	,402	-,733	21	,472	-1016,65	1386,494	-3900,02902	1866,7168
	No se asumen varianzas iguales			-,1183	18,87	,252	-1016,65	859,5391	-2816,51623	783,20408
Proteínas	Se asumen varianzas iguales	,553	,464	-,443	26	,662	-,40157	,90707	-2,26609	1,46295
	No se asumen varianzas iguales			-,630	16,34	,538	-,40157	,63764	-1,75100	,94786

6. Conclusiones y recomendaciones

6.1. Conclusiones

La edad promedio en la que se presenta la enfermedad es entre los 50 a 65 años, y ésta puede presentar una mejor respuesta a los tratamientos si el paciente se encuentra en un rango menor, debido que a partir de los 65 años la enfermedad es más agresiva.

En el Ecuador existe mayor cantidad de pacientes con citogenética no-hiperdiploides principalmente con la presencia de la translocación del gen 14q32 (IgH) lo cual se comprueba con la presencia aumentada, en el suero, de las inmunoglobulinas G e A.

La inducción de tratamientos específicos para los casos hiperdiploides y no-hiperdiploides puede cambiar el tiempo de supervivencia. La utilización de talidomida + dexametasona tiene mejor respuesta y resultados en los pacientes hiperdiploides que en los casos no-hiperdiploides donde se evidencia que tienen mejor reacción para el ácido zolendrónico. Por otro lado, el tratamiento con radioterapia presenta buenos resultados ya que aumenta la supervivencia.

6.2. Recomendaciones

Se recomienda aplicar el estudio citogenético y de FISH a partir de muestra de médula ósea separada y no de muestra de médula total.

Se recomienda realizar un nuevo estudio citogenético-clínico con un grupo más grande que tengan información genética y clínica, y así obtener una mejor información para posibles tratamientos para cada uno de los grupos citogenéticos.

REFERENCIAS

- Alvarado, M. Álvarez, J. Anaya, I. De la Peña, A. García, L. Hernández, E. Herrera, W. Leyto, F. Loera, S. Martínez, A. Medina, J. Mojica, L. Morales, J. Palafox, M. Pérez, J. Ramírez, E. Ramos, E. Reyes, G. Rodríguez, J. Romero, E. Romero, H. Saavedra, A. Silva, K. Tapia, A. (2015). Primer conceso nacional de mieloma múltiple por hematólogos del ISSSTE. *Revista de Hematología*. 16 (4), 306-332. Recuperado el 27 de octubre de 2016 de <http://www.medigraphic.com/pdfs/hematologia/re-2015/re154i.pdf>
- American Cancer Society. (2014). *Datos y estadísticas sobre el cáncer entre los hispanos/latinos*. Atlanta, Estados Unidos: American Cancer Society. Recuperado el 5 de octubre de 2016 de <https://www.cancer.org/es/cancer/mieloma-multiple.html>
- American Cancer Society. (2015). *Mieloma Múltiple*. Atlanta, Estados Unidos: American Cancer Society. Recuperado el 5 de octubre de 2016 de <https://www.cancer.org/es/cancer/mieloma-multiple.html>
- American Cancer Society. (2016) *Cáncer de origen primario desconocido*. Atlanta, Estados Unidos: American Cancer Society. Recuperado el 5 de octubre de 2016 de <https://www.cancer.org/es/cancer/mieloma-multiple.html>
- Asociación Española Contra el Cáncer. (2015) Mieloma Múltiple. Recuperado el 18 de mayo de 2017 de <https://www.aecc.es/SobreElCancer/CancerPorLocalizacion/mielomamultiple/Paginas/mielomamultiple.aspx>
- Baldovinos, L. Rivera, A. Hernández, S. Velázquez, G. Villaseñor, M. Gómez, M. (2015). Mieloma múltiple en una paciente joven. *Revista de Hematología*. 16 (1), 97-101. Recuperado el 18 de diciembre de 2016 de <http://www.medigraphic.com/pdfs/hematologia/re-2015/re151i.pdf>

- Bravo, M. Padilla, B. Nozal, P. Espiño, M. Juárez, C. Villar, L. López, M. (2015) Guía de laboratorio para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con gammopatías monoclonales. Elsevier. 216(3), 128-134.
- Carnot. J. y Castro, R. (2011). *Mieloma múltiple: diagnóstico, estudio y tratamiento*. Habana, Cuba: Hospital Hermanos Ameijeiras.
- Carretero, M. (2005). Mieloma múltiple: Tratamiento con inhibidores del proteasoma. Elsevier. 24(4), 132-134.
- CENETEC. (2015). *Diagnóstico y tratamiento de mieloma múltiple*. México, México: CENETEC. Recuperado el 5 de octubre de 2016 de http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/409_IMSS_10_Mieloma_multiple/EyR_IMSS_409_10.pdf
- Conté, G., Braggio, E., Figueroa, G., Fonseca, R. (2009) La genética como factor pronóstico y terapéutico en el mieloma múltiple. Rev. Médica de Chile. 137(4), 552-558. doi: 10.4067/S0034-98872009000400015
- Conté, G., Figueroa G., Lois, V., Cabrera, M., León, A., García, H. y Rojas, H. *Mieloma múltiple en Chile. Características clínicas y sobrevida*. Revista Médica de Chile. 135(9), 1111-1117. doi: 10.4067/S0034-98872007000900003
- Cueva, P. y Yépez, J. (2014). Epidemiología del Cáncer en Quito. Quito, Ecuador: Solca-Núcleo Quito.
- Curutchet, M., Kusminsky, G., Labanca, V., Orlando, S., Quiroga, L., Sánchez, J. y Slavutsky, I. (2010). *Mieloma múltiple*. Buenos Aires, Argentina: Sociedad Argentina de Hematología. Recuperado el 9 de noviembre de 2016 de http://sah.org.ar/docs/289-316.6.SAH_GUIA2012_MielomaMultiple.pdf
- Da Silva, J., Menoni, J. y Cueva, D. (2010) Mieloma Múltiple: Alteraciones génicas y cromosómicas no translocacionales y sus implicaciones. Acta científica estudiantil, 8(1), 9-14.

- García, R. Mateos, M. San Miguel, J. (2007). Mieloma múltiple. Elsevier. 129 (3), 104-15. doi: 10.1157/13107365
- GEPAC. (2010). Información útil para los pacientes y sus familias. Madrid, España: Grupo Español de Pacientes con Cáncer. Recuperado el 14 de enero de 2016 de http://www.ils.org/sites/default/files/file_assets/sp_myelomaguide.pdf
- Kusminsky, G., Labanca, V., Orlando, S., Quiroga, L., Sánchez, J. y Slavutsky, I. (2010). *Mieloma múltiple*. Buenos Aires, Argentina: Sociedad Argentina de Hematología.
- Leone, P., Montesdeoca, B., Chiluíza, D., Morales, I., Sánchez, M., Buenaño, M., Cevallos, F., Espín, V., Ocampo, L. y Paz-y-Miño, C. (2013). *Datos de Ecuador en la Red Iberoamericana para la investigación de mieloma múltiple*. *Oncología* 23(1), 7-16.
- Leone, P., Montesdeoca, B., Sánchez, M.E., Araujo, S., Paz-y-Miño, C. (2013). *Importancia de la citogenética convencional y molecular en el diagnóstico de pacientes con mieloma múltiple*. Primer Concurso de Investigación Clínica en Oncología - Officially licensed: Best of ASCO – Annual Meeting 13, 7-19.
- Menoni, J. y Da Silva, J. (2010) *Mieloma Múltiple: Translocaciones más importantes y sus implicaciones en el pronóstico de la enfermedad*. *Acta científica estudiantil* 8(1), 15-22. Recuperado el 18 de enero de 2016 de <http://www.medigraphic.com/pdfs/estudiantil/ace-2010/ace101e.pdf>
- Molina, M. Guillén, C. Guirado, M. Martínez, C. Carrato, S. (2006). Diagnóstico diferencial de las gammapatías monoclonales. *SciELO*. 23(11): pp. 546-551. Recuperado el 18 de enero de 2016 de <http://scielo.isciii.es/pdf/ami/v23n11/revision.pdf>

- Montesdeoca, M.B. (2015). *Estado del mieloma múltiple, diagnóstico clínico, medicina de laboratorio e identificación de alteraciones genéticas asociadas con la patogénesis en el Hospital Carlos Andrade Marín en un periodo de tiempo comprendido entre 1986 a 2012*. Quito, Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Recuperado el 15 de julio de 2016 de <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/9177/Estado%20del%20mieloma%20m%C3%BAltiple%2C%20diagn%C3%B3stico%20cl%C3%ADnico%2C%20medicina%20de%20laboratorio%20e%20identificaci%C3%B3n%20de%20alteraciones%20gen%C3%A9ticas%20asoc~1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Moreno, H. Villaseñor, J. Vázquez, A. (2015) Progresión de plasmocitoma óseo a mieloma múltiple y reporte de un caso. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 34(3), 289-297 Recuperado el 20 de enero de 2016 de <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v34n3/ibi09315.pdf>
- Oña, F., López, A., Echeverría, C., Ortiz, M., Rosales, F., Naranjo, M. y Paz-y-Miño, C. (2013) *Polimorfismo genético PHe311Le (1712T>A) del gen STK15 y su relación con el desarrollo y progresión del cáncer de mama en población mestiza ecuatoriana*. *Oncología* 23(2), 19-29.
- Pamo, O. Cumpa, R. Chian, C. (2015). Compresión del plexo lumbosacro por plasmocitoma/ mieloma múltiple de cadenas ligeras tipo lambda. *Revista Médica*. 26, 98-102. Recuperado el 10 de diciembre de 2016 de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v26n2/a06v26n2.pdf>
- Paz-y-Miño, C., Sánchez, M.E., Araujo, S., Ocampo, L., Espín, V.H., Leone, P.E. (2013). *Cytogenetic and Molecular Characterization of Hematological Neoplasm in an Ecuadorian population*. *Open Journal of Blood Diseases*, 3(4), 108-115. doi: 10.4236/ojbd.2013.34022.

- Rodak, B. (2004). Hematología: fundamentos y aplicaciones clínicas. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana. Recuperado el 28 de febrero de 2016 de <https://books.google.com.ec/books?id=rFqhpbnKnWX8C&printsec=frontcover&dq=Hematolog%C3%ADa:+fundamentos+y+aplicaciones+cl%C3%ADnicas.&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjJzvJOIM3VAhVM1CYKHWEJCEUQ6AEIJDA#v=onepage&q=Hematolog%C3%ADa%3A%20fundamentos%20y%20aplicaciones%20cl%C3%ADnicas.&f=false>
- Ross, M. Pawlina, W. (2008). Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana. 5ta ed. Recuperado el 15 de noviembre de 2016 de https://books.google.com.ec/books?id=NxYmIRZQi2oC&pg=PA435&dq=linfocito+B+lg&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwis_6bo__HTAhUHMyYKHfdAD4Q6AEIIDAA#v=onepage&q=linfocito%20B%20lg&f=false
- Zavala, G., Montesdeoca, B., Carrera, C., Paz-y-Miño, C., Leone, P.E. (2016). *Evaluación de polimorfismos del gen AKT1 en la población ecuatoriana con mieloma múltiple*. Revista Ecuatoriana de Medicina Eugenio Espejo, 16-27.

ANEXOS

Anexo 1. Análisis individual de cariotipo de los casos.

No.	Fecha	Edad	Sexo		Cariotipo	FISH			ISS
			M	F		Rb	IgH	P53	
M1	27/10/2015	53		1	46,XX[17]/2n+[5]		1		II
	23/05/2016					1			
	29/09/2016				1	1			
M2	08/10/2013	64	1		46,XY[12]/42-45,XY,-8,-11,-14,-18,+mar,Cx[8]				I
	10/04/2014				46,XY[20]	0	1	1	
	13/11/2014				46,XY[20]				
	03/06/2015				46,XY[12]/52,XY,2n+/3n+/4n+ ,+mar,[15]				
M3	14/01/2014	68		1	46,XX[25]/3n+[5]				II
M4		31	1		46,XY[20]				II
M5	19/6/2014	39	1		46,XY[20]				I
	20/06/2014				5,8% reordenamiento para IgH	0	1	0	
M6	27/11/2014	40	1		46,XY[20]	0	1	0	I
	09/06/2015				46,XY[20]	0	0	0	
	11/04/2016				Valor cercano al límite para IgH	0	0	0	
	12/05/2016				Valor cercano al límite para IgH	0	0	0	
M7	10/04/2015	44		1	46,XX[20]: 4,6% IgH	0	0	0	I
	24/11/2015				46,XX[20]	0	0	0	
	17/05/2016				46,XX[20]	0	0	0	
	23/08/2016				46,XX[20]	0	0	0	
M8	30/08/2011	38	1		46, XY [20]				I
	09/04/2013				46, XY [20]				
	19/08/2013				2N.CX[20]/3N+,4N+ ,+MAR,CX[10]				
	19/12/2013				46, XY [20]				
	16/04/2014				46, XY [20]				
	28/05/2014					0	0	1	
	20/04/2016				46, XY [20]				
	15/09/2016				46, XY [20]	0	0	0	
M9	02/12/2015	53		1	46,XX[20]				I
M10	13/02/2013	51		1	46,XX[20]				I
	07/01/2014				46,XX[20]				
M11	16/11/2015	45		1	46,XX[20]	0	1	0	I
	08/03/2016					0	1	0	
M12	20/05/2015	57		1	46,XX[20]				II
	04/05/2015					0	1	0	
	08/10/2015				46,XX[20]	0	0	0	
	11/04/2016					0	1	0	
	17/11/2016					0	1	0	
M13	22/05/2015	57		1	46,XX[20]	0	1	0	III
	19/05/2015					0	1	0	
	26/11/2015				46,XX,pvz[20]/4n-,pvz[5]				
	31/03/2016					0	0	0	
	14/02/2016				Valor cercano al límite IgH	0	0	0	

M14	26/03/2013	51	1		46,XY[16]/2n+[4]	0	0	0	I
	09/06/2016				46,XY[20]				
M15	07/10/2015	61		1	46,XX[15]/45,X,-X[5]	0	0	0	II
	04/11/2015				46,XX[20]				
	03/02/2016				46,XX[20]				
	02/05/2016				46,XX[20]				
M16	16/11/2015	61		1	46,XX[20]	0	1	0	I
	08/03/2016				46,XX[20]				
M17	31/12/2014	63	1		46,XY[10]	0	1	0	II
M18	10/02/2016	66		1	46,XY[20]	0	0	0	I
M19	08/10/2013	63	1		46,XY[12]/42-45,XY,-8,-11,-14,-18,+mar,Cx[8]	0	0	1	I
	10/04/2014				46,XY[20]				
	14/05/2014				46,XY[20]				
M20	22/05/2014	65	1		46,XY[20]				II
M21	27/02/2013	60		1	46,XX[20]	0	1	0	I
	07/11/2013				46,XX[20]: una metafase 46,XX, add(2)(q25)(1)				
	28/05/2014				46,XX[20]				
	05/11/2014				46,XX[20]				
M22	25/04/2016	66	1		46,XY[20]	0	0	1	I
M23	11/11/2014	68		1	46,XX[20]	0	1	0	II
M24	20/02/2014	74		1	46,XX[15]/41-44,XX,-9,-19,-21[5]				I
M25	22/04/2015	75		1	46,XY[20]	0	0	0	II
	29/04/2015				46,XY,16qh+[20]				
	23/02/2016				46,XY[20]				
M26	15/09/2015	76	1		46,XY[20]	0	1	0	III
	17/05/2016				46,XY[20]				

a) Casilleros blancos= no se realizó análisis citogenético

b) 0=Negativo para prueba citogenética realizada

c) 1=Positivo para prueba citogenética realizada

Anexo 2. Prueba t para dos muestras suponiendo varian

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	38,5	23,0434783
Varianza	578,3	333,407115
Observaciones	6	23
Diferencia hipotética de las medias	0,5	
Grados de libertad	7	
Estadístico t	1,42038272	
P(T<=t) una cola	0,09923424	
Valor crítico de t (una cola)	1,89457861	
P(T<=t) dos colas	0,19846849	
Valor crítico de t (dos colas)	2,36462425	

Anexo 3. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk

	Citogenética	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Hemoglobina	Hiperdiploides	,935	4	,623
	No-Hiperdiploides	,959	18	,583
Plaquetas	Hiperdiploides	,883	4	,350
	No-Hiperdiploides	,923	18	,145
Linfocitos	Hiperdiploides	,961	4	,787
	No-Hiperdiploides	,847	18	,008
Urea	Hiperdiploides	,857	4	,251
	No-Hiperdiploides	,857	18	,011
Creatinina	Hiperdiploides	,971	4	,849
	No-Hiperdiploides	,752	18	,000
Calcio	Hiperdiploides	,993	4	,970
	No-Hiperdiploides	,359	18	,000
Albumina	Hiperdiploides	,972	4	,853
	No-Hiperdiploides	,958	18	,560
LDH	Hiperdiploides	,772	4	,061
	No-Hiperdiploides	,895	18	,047
B2M	Hiperdiploides	,858	4	,252
	No-Hiperdiploides	,612	18	,000
Proteínas	Hiperdiploides	,968	4	,827
	No-Hiperdiploides	,972	18	,830

