



**Universidad
Norbert Wiener**

Facultad de Ciencias de la Salud

**“Descriptores celulares en plasmocitos
de frotis de médula ósea de pacientes con neoplasia hematologica en el INEN –
2021”**

Trabajo académico para optar el Título de
Especialista en Hematología

Presentado por:

AUTORA: De La Cruz Solier, Ivonne Mercedes


CODIGO ORCID: 0000-0002-4244-2953

ASESOR: Dr. Avelino Callupe, Paul Fortunato

CODIGO ORCID: 0000-0003-3133-1390

Lima – Perú

2022

 Universidad Norbert Wiener	DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN	
	CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033	VERSIÓN: 01 REVISIÓN: 01

1.

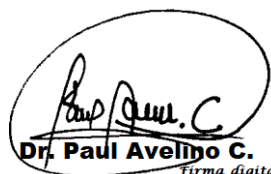
Yo, Ivonne Mercedes De La Cruz Solier egresado de la Facultad de Ciencias de la Salud y Escuela Académica Profesional de Tecnología Médica Escuela de Posgrado de la Universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo académico “DESCRPTORES CELULARES EN PLASMOCITOS DE FROTIS DE MÉDULA ÓSEA DE PACIENTES CON NEOPLASIA HEMATOLOGICA EN EL INEN – 2021” Asesorado por el docente: PAUL FORTUNATO AVELINO CALLUPE con DNI 41043323 ORCID 0000-0003-3133-1390 tiene un índice de similitud de (5) (CINCO) % con código OID:14912: 257900298 verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.



Firma de autor
 IVONNE MERCEDES DE LA CRUZ SOLIER
 DNI: 47587058



Dr. Paul Avelino C.

Firma
 PAUL FORTUNATO AVELINO CALLUPE
 DNI: 41043323

Lima, 05 de Mayo del 2023

Contenido

I. EL PROBLEMA	4
1.1. Planteamiento del problema	4
1.2. Formulación del problema:	6
1.2.1. Problema general:.....	6
1.2.2. Problema específico:	6
1.3. Objetivos de la investigación	6
1.3.1. Objetivo general:.....	6
1.3.2. Objetivo específico:.....	6
1.4. Justificación de la investigación:.....	7
1.5. Delimitación de la investigación:	9
II. MARCO TEORICO	10
2.1. Antecedentes de la investigación	10
2.2. Bases Teóricas.....	16
2.2.1. Descriptores celulares	16
2.2.2. Procesamiento de imágenes:	22
2.2.3. Células plasmáticas:	26
2.2.4. Aspirado de médula ósea:	39
2.3. Definición de términos básicos	40
III. METODOLOGÍA	41
3.1. Método de la investigación:	41
3.2. Enfoque de la investigación:	41
3.3. Tipo de la investigación:	42
3.4. Diseño de la investigación.....	42
3.5. Población, muestra y muestreo.....	42
3.5.1. Población:.....	42
3.5.2. Muestra:.....	44
3.5.2.1. Criterios de inclusión:	45
3.5.2.2. Criterios de exclusión:.....	45
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	51
3.7.1. Técnica:	51
3.7.2. Recolección de datos:.....	51
3.7.3. Validación:	52

3.7.4. Confiabilidad:.....	53
3.8. Aspectos éticos:.....	54
IV. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS:.....	55
4.1. Cronograma de actividades	55
4.2. Presupuestos	56
V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....	57

TABLA DE ILUSTRACIONES:

Ilustración 1: Características geométricas	¡Error! Marcador no definido.
Ilustración 2: Representación de los diferentes espacios de color.....	¡Error! Marcador no definido.
Ilustración 3: Diferencia de linfocitos y plasmocitos.	¡Error! Marcador no definido.
Ilustración 4. Maduración de plasmocito	¡Error! Marcador no definido.
Ilustración 5: Plasmocito anómalo	29
Ilustración 6: Inclusiones citoplasmáticas en plasmocitos	¡Error! Marcador no definido.

TABLA DE CUADROS

Tabla 1: Marcadores celulares para plasmocitos normales y patológicos	33
Tabla 2: Clasificación de neoplasia de células plasmáticas	34

I. EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

La utilidad sobre descriptores celulares puede cambiar la visión de un laboratorio hematológico. En primer lugar, nos daría un gran avance tecnológico (1) con facilidad de reconocimiento celular y un mayor crecimiento de la base de datos morfológicos. En segundo lugar, facilitar la lectura (2) transformando datos cualitativos en cuantitativos para evitar la subjetividad entre operadores; de esta manera se puede mejorar calidad, tiempo y costos, que es un desafío actual, con nuevos avances y un mejor panorama a la lectura con altas competencias educación y capacitación. (3,4)

Según la Organización Mundial de la Salud las neoplasias hematológicas, es un tipo de cáncer que se origina en el tejido sanguíneo. En primer lugar, las neoplasias hematológicas se clasifican de acuerdo con su linaje celular y como se va diseminando fisiológicamente ya sea como leucemias o linfomas. En segundo lugar, para realizar el diagnóstico de esta enfermedad se necesita un estudio en el frotis de médula ósea, nicho hematopoyético desde donde se origina la proliferación de células malignas (5), en EEUU se necesita un aproximado de 700000 estudios de medula ósea (6) como protocolos de estadiaje, tratamiento y seguimiento neoplásico.

En estudios anteriores los descriptores celulares se han enfocado en células normales y algunas patológicas en muestras de sangre periférica restringiendo su aplicabilidad a la clasificación de leucocitos procedentes de médula ósea (4,7), probablemente se deba a la complejidad de la muestra, por ser obtenida de un procedimiento invasivo, por el extendido,

distribución del frotis, complejidad y variedad celular (7, 8), a pesar de la necesidad clínica que existe.

Por ello este estudio se realizará en frotis de médula ósea, enfocada en una neoplasia hematológica en particular, llamada neoplasia de células plasmáticas, donde se busca la proliferación de plasmocitos, esta célula migra a sangre periférica en una etapa avanzada de la enfermedad, es por ello la importancia de diagnosticarla adecuadamente en aspirado de médula ósea para tomar acciones inmediatas, desde el inicio de la proliferación y tratar oportunamente. (5)

En el Perú hay pocas instituciones públicas que realizan lectura de frotis de médula ósea, uno de ellos el Instituto nacional de enfermedades neoplásicas que procesa mensualmente un aproximado de 500 muestras de frotis de médula ósea (9), siendo este un lugar de referencia para instituciones públicas y privadas del país con un porcentaje de muestreo mayoritario y único a nivel nacional, por ser la institución más reconocida en el Perú con su alta singularidad y transcendencia en pacientes oncológicos, es importante mencionar que actualmente para el frotis de médula ósea se realiza la microscopia manual.

La situación problemática del presente proyecto de investigación es la limitada información sobre descriptores celulares en aspirado de médula ósea, con la falta de implementación tecnológica de estos descriptores en frotis de médula ósea es muy probable que no avancemos como países desarrollados sin igualdad de condición tecnológica, falta de estandarización y calidad en cada muestra, que significa la posibilidad de dar un mejor diagnóstico, adecuado y oportuno por el bien del paciente.

1.2. Formulación del problema:

1.2.1. Problema general:

¿Cuáles son las características de los descriptores celulares en plasmocitos de frotis de médula ósea en pacientes con neoplasia hematológica en el INEN en el año 2021?

1.2.2. Problema específico:

- ¿Cuánto es el valor cuantitativo de los descriptores geométricos en plasmocitos de frotis de médula ósea en pacientes con neoplasia hematológica en el INEN en el año 2021?
- ¿Cuánto es el valor cuantitativo de los descriptores colorimétricos en plasmocitos de frotis de médula ósea en pacientes con neoplasia hematológica en el INEN en el año 2021?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general:

- Analizar los descriptores celulares en plasmocitos de frotis de médula ósea en pacientes con neoplasia hematológica en el INEN en el año 2021.

1.3.2. Objetivo específico:

- Cuantificar los descriptores geométricos en plasmocitos de frotis de médula ósea en pacientes con neoplasia hematológica en el INEN en el año 2021
- Cuantificar los descriptores colorimétricos en plasmocitos de frotis de médula ósea en pacientes con neoplasia hematológica en el INEN en el año 2021

1.4. Justificación de la investigación:

1.4.1. Justificación teórica:

La morfología celular se usa ampliamente para el diagnóstico hematológico del paciente, con una correcta lectura del frotis de aspirado de medula ósea se pueden precisar las alteraciones y cambios celulares, por consiguiente dar un adecuado tratamiento y seguimiento del paciente, sin embargo la diferenciación morfológica visual entre subtipos requiere mucha experiencia y habilidades visuales enfocado en centros especializados (6), la cantidad de exámenes citológicos de alta calidad está limitada ya que las características citológicas son subjetivas e influenciadas por la interpretación del revisor y es difícil encontrar expertos en la materia (4) Un gran desafío transformar características morfológicas cualitativas a características cuantitativas mediante análisis de imágenes, para proporcionar información valiosa (3) Respecto a ello, la microscopía digital y el análisis de imágenes computarizadas pueden proporcionar una evaluación morfológica más precisa y objetiva, (10).

1.4.2. Justificación metodológica:

Es de tipo descriptiva con diseño de campo bibliográfico-documental, porque detalla la situación acerca del estado actual del problema en el Perú, describe la escasez de estudios (7), sus limitaciones y sus puntos críticos, analizando y evaluando las particularidades del procesamiento de imágenes por el cual se hallarán los datos logarítmicos de células plasmáticas normales y patológicas.

La investigación es de tipo propositiva por cuanto se fundamenta en una necesidad o vacío dentro de la institución, una vez que se tome la información descrita, se realizará una propuesta mediante este estudio con los datos logarítmicos hallados en las células plasmáticas y así poder implementarlo más adelante en un sistema virtual de reconocimiento celular aplicado en equipos automatizados para lectura de aspirado de médula ósea, incentivando de esta manera superar la falta de tecnología automatizada en esta área. (11, 12)

1.4.3. Justificación práctica:

Mediante el proyecto se dará a conocer los distintos descriptores celulares; geométricos y colorimétricos de las células plasmáticas normales y patológicas para caracterizar adecuadamente la célula facilitando y agilizando la cualificación y cuantificación, Se evitará así el desconocimiento por parte de la población científica en nuestro país sobre los descriptores morfológicos en muestras de médula ósea, permaneciendo en la vanguardia de la tecnología digital y automatización en el laboratorio clínico en el área de hematología,(6) ayudando a entregar resultados oportunos al paciente definiendo casos patológicos de inmediato y contribuir con los exámenes de detección temprano de la enfermedad, evitando así la subjetividad de cada operador y la clasificación errónea de células plasmáticas con otra morfología celular como los eritroblastos en casos de neoplasias de células plasmáticas (6), si bien el presente estudio se centra en una célula específica cómo es la célula plasmática, éste será un inicio para promover e impulsar a seguir con estudios, en el ámbito de tecnología médica y la automatización en muestras de médula ósea

Las características geométricas de los descriptores podrían incorporarse a los nuevos analizadores hematológicos, que actualmente se encuentran en desarrollo en base a la morfología automática.

1.5. Delimitación de la investigación:

1.5.1. Temporal:

El presente proyecto se llevará a cabo de manera retrospectiva durante el año 2021

1.5.2. Espacial:

El proyecto de investigación se realizará en el Instituto de Enfermedades Neoplásicas donde se utilizará la base de datos de dicha institución.

1.5.3. Recursos:

El estudio se desarrollará utilizando recursos como el software que nos facilitará el procesamiento de imágenes por el cual se hallaran los datos logarítmicos y recursos del propio investigador como útiles de escritorio.

II. MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes de la investigación

En su estudio **Rohollah Moosavi, et al. (2022)** su objetivo fue “usar un histograma para el reconocimiento de células de medula ósea” Las imágenes se escanearon con un Aperio Scanscope AT Turbo o un Huron TissueScope a 40X y se adquirieron en formato de archivo SVS y tif. para detectar y clasificar 16 objetos celulares y no celulares en aspirado medular de 1247 pacientes. El proceso de adquisición de imágenes se realiza por la de detección de Región de interés (ROI) usando dos categorías para el aumento de los ajustes por píxeles: la distorsión fotométrica, que comprende el tono, el contraste, brillo, ajuste de la saturación, adición de ruido y distorsión geométrica, que comprende voltear, rotar, recortar y escalar. creando una cuadrícula en una imagen de diapositiva completa (WSI). Posteriormente, se ejecuta una detección y clasificación de objetos basada en You-Only-Look-Once (YOLO) para localizar y clasificar celdas en los mosaicos seleccionados y generar el histograma integrado de tipos de celdas (IHCT).

Este estudio logra una detección de ROI con una alta precisión 0.90 y validación cruzada de 0,97 y una clasificación con una precisión 0.83, recuperación 0.75%, valor F 0.78 y tasa de error media logarítmica de 0,31, donde se logró la clasificación más alta para eosinófilos y eritroblastos con AP 0,97 y 0,92, respectivamente, mientras que el núcleo de

megacariocitos y los histiocitos muestran la mayoría de los errores de clasificación con AP 0,60 y 0,54, respectivamente. (6)

Jesús Galindo, et al. (2019) en su estudio descriptivo, transversal, retrospectivo, busca las diferencias citomorfológicas entre células plasmáticas y linfocitos normales, mediante descriptores geométricos y valores numéricos, con el equipo visión hema, usando 20 láminas de sangre periférica con 451 células procesadas para plasmocitos y 500 para linfocitos normales, los resultados fueron: para descriptores asociados al área; área celular la media para linfocitos normales 93.23 y para células plasmáticas 138.50, área del núcleo la media para linfocitos normales es de 61.80 y la media para células plasmáticas es de 93.01, área del citoplasma la media para linfocitos normales es de 34.47 y para células plasmáticas es de 49.28. Para los descriptores celulares asociados al perímetro está el Perímetro celular la media para linfocitos normales es de 41.46 y para células plasmáticas es de 34.03. Descriptores celulares asociados a la proporción; Relación núcleo/Celular la media para linfocitos normales 0.679 y la media para células plasmáticas es de 0.668. Relación núcleo/Citoplasma la media para linfocitos normales 2.46 y para células plasmáticas 2.75. Descriptores celulares asociados a excentricidad, excentricidad celular la media para linfocitos normales 0.56 y la media para células plasmáticas 0.56. Excentricidad núcleo la media para linfocitos normales 0.54 y para células plasmáticas 0.56. Descriptores celulares asociados al diámetro promedio; diámetro promedio celular media para linfocitos 9.73 y para células plasmáticas 11.62, diámetro promedio del núcleo la media para linfocitos normales 8.78 y para plasmocitos 10.21. Descriptores celulares asociados al factor forma, Factor forma de la célula la media para linfocitos normales es de 2.22 y para células plasmáticas es de 2.19. Factor forma del núcleo la media para linfocitos normales 1.09 y

para células plasmáticas 1.22. Descriptores celulares asociados al brillo; Brillo del núcleo la media para linfocitos normales 76.28 y para células plasmáticas 85.25, Brillo del citoplasma la media para linfocitos normales 108.02 y para células plasmáticas 171.16. Descriptores celulares asociado a la densidad óptica, Densidad óptica del núcleo la media para linfocitos normales 0.53 y para células plasmáticas 0.47. Densidad óptica del citoplasma la media para linfocitos normales 0.17 y para células plasmáticas 0.15 (13)

Laura Puigví Anna Merino, et al. (2019) En su estudio “Quantitative Cytologic Descriptors to Differentiate CLL, Sézary, Granular, and Villous Lymphocytes Through Image Analysis” tiene como objetivo la identificación y el análisis de cuatro descriptores novedosos que permiten cuantificar características que son específicas para núcleo y citoplasma, se estudió 16 células diferentes; entre los linfomas estudiados destacados; leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma de Sézary (SS), leucemia de linfocitos grandes, granulares, (LGLL) leucemia de células peludas (HCL), Linfoma esplénico de la zona marginal (SMZL). Las imágenes de las celdas fueron obtenidas en el DM96, y el aumento fue de $\times 1,000$ (CellaVision AB) con una resolución de 360×363 píxeles. El estudio se realizó en dos partes la primera en 768 imágenes de células sanguíneas periféricas de 144 pacientes y una segunda parte para realizar una validación de los descriptores se selecciono 627 imágenes de 79 pacientes. Se utilizo 2678 características (29 geométricos y 2.649 color/textura). Los cuatro descriptores fueron; el descriptor de textura de la relación del cian con el núcleo; con cromatina agrupada fue específico para LLC, la desviación estándar del descriptor de la curva granulométrica del núcleo con cromatina cerebriforme, fue específico para el linfoma de sezary; el descriptor de la asimetría del histograma del citoplasma con granulación citoplasmática, fue específico para LGL y los descriptores geométricos con

proyecciones citoplasmáticas fue específico para HCL y SMZL los resultados de las características de las células plasmáticas son 73.5 (5.2), 29.8 (4.3), 0.29 (0.31) 1.6 (2.0) respectivamente.

Hong Liu, et al (2019) En su estudio el objetivo es un “nuevo método para la detección de células de médula ósea, localización, segmentación, extracción de características y clasificación”, para ello utilizó una cámara a color DFK23G274 (volumen 29*29*57m3, tamaño de píxel 4.4*4.4um²) en el microscopio Olympus BX41 (apertura numérica de 1,30). Se evaluó imágenes de dos lugares, el primero el Hospital Zhongnan de la Universidad de Wuhan, un total de 37.421 imágenes y el segundo lugar las muestras provienen de Wuhan Landing Medical High-Tech Co.Ltd., 276 muestras y 10.616 imágenes de muestras de médula ósea , donde evaluaron 5 principales células: neutrófilos rotos, neutrófilos conservados, metamielocito, linfocitos maduros y otros, se usó 39 características para la clasificación que incluyen tamaño, color, textura, morfología y características morfológicas personalizadas integrando con el método de umbralización, transformación de color, crecimiento de regiones, agrupamiento de K-Means, algoritmo de curvas granulométricas y el aprendizaje automático. El resultado para linfocitos fue la sensibilidad de 82.52%, la precisión de 99.89%, verdaderos negativos 99.98%, falso positivo 0.02, y en general un promedio de todas las células se obtuvo una precisión de 91,76 % y una desviación estándar de 0,14 %, la sensibilidad en promedio comparado con otros métodos fue de 87.49% y de falsos positivos 3.24 (8)

Merino, et al. (2018). En su estudio tuvieron como objetivo “revisar cómo el análisis de imágenes ayuda a definir características cuantitativas capaces de caracterizar las variables citológicas, entre linfocitos anormales, linfocitos reactivos y blastos” , se

utilizaron 418 frotices de sangre periférica teñidos con May Grünwald - Giemsa de 199 pacientes con diagnóstico de infección viral, leucemia aguda y neoplasia linfóide B o T. las imágenes fueron adquiridas con el clasificador automático DM96, se clasificó 140 características (geométrica, color y textura) entre los parámetros geométricos están: de relación núcleo/citoplasma, área celular, perímetro del núcleo, perfil citoplasmático, proximidad de glóbulos rojos y otros; en parámetros de color, las diferentes gamas de colores que se evidencian en los píxeles contando el color negro como 1 y el blanco 255 y en textura está relacionada con la uniformidad (fijación y tinción), densidad, el tono de los píxeles y sus relaciones espaciales; matriz de coocurrencia de nivel gris (GLCM) y la granulometría. Finalmente se seleccionó entre 10 a 90 imágenes por grupo. Utilizando 20 parámetros más relevantes de los cuales 10 han sido parámetros granulométricos y pseudo-granulométricos. Los resultados son 41 láminas de linfocitos reactivos (100% de precisión), 233 láminas de blastos; 190 orígenes mieloides y 43 linfoides (97% correctamente identificados). Finalmente, el 96% de las láminas que contenían células linfoides anormales fueron reconocidos en la clase correcta. La precisión final fue del 97,7% confirmando que el conjunto de características cuantitativas seleccionadas es útil para el reconocimiento automático entre células reactivas y neoplásicas en sangre periférica (15)

Raris Miralles, Sara (2017), el objetivo de su estudio es “analizar las imágenes de células leucémicas de sangre periférica adquiridas por microscopía óptica comparado con un sistema automatizado CellaVision DM96”. Las principales discrepancias entre ambos métodos de adquisición son la resolución, la profundidad de bits, el formato y la compresión; CellaVision DM96 tiene una resolución de 360 x 363 píxeles, con un total de 130680 píxeles, la imagen obtenida por microscopía óptica y cámara digital tiene una

resolución de 1800x2400, con un total de 4320000 píxeles. La profundidad de bits para las imágenes de CellaVision DM96 es de 8 bits y de 12 bits para las imágenes capturadas en el proyecto, también el formato de almacenamiento de las imágenes, el sistema CellaVision DM96 utiliza el formato JPG, comprimido y las imágenes del estudio se hallan en formato TIFF, sin compresión, posterior se realizó la segmentación de imágenes del microscopio BX43 y la cámara Olympus DP73 en 9205 imágenes de 11 células diferentes obtenidas en el Laboratorio Core del Hospital Clínica de Barcelona. 996 células normales (CN), 946 Células Linfoides Reactivas (CLR), 942 Linfoma Folicular (LR), 1022 blastos, 586 Leucemia de linfocitos granulares T (LLGG_T), 891 Linfoma de Zona Marginal Esplénico (LZME), 870 Leucemia Linfocítica Crónica Típica (LLC TIPICA), 552 Células Plasmáticas (CP), 989 Leucemia Células de Manto (LCM), 822 Sézary y 589 prolinfocitos, consiguiendo una segmentación de eficiencia para estas 11 células al 97.60% (CLR 99.30%, LF 92.71, BLASTOS 98.53%, LLGG_T 95.73%, LZME 99.33%, LLC TIPICA 99.20%, CP 87.50%, SEZARY 99.39%, PROLINFOCITOS 98.13%). Los resultados para las células plasmáticas fueron: la exactitud de 99% precisión 91%, sensibilidad 82% y especificidad 99%. En promedio Todo el estudio concluye en un buen reconocimiento celular por la adquisición de imágenes con una exactitud fue de 94%; la precisión de 74%; la sensibilidad 75% y especificidad 96% (16)

Hamid Jahanmehr, et al. (2007) en su estudio “Quantitation of cytological parameters of malignant lymphocytes using computerized image analysis” utilizó un programa de análisis de imágenes para cuantificar los parámetros citológicos de los linfocitos en trastornos linfoproliferativos de células B. La leucemia linfocítica crónica (LLC), el linfoma de células del manto (MCL) y la leucemia prolinfocítica de células B (B-

PLL) Se recogió un mínimo de 100 células de cada uno de los tres trastornos y se seleccionaron para representar linfocitos típicamente de tamaño pequeño, mediano y grande, respectivamente para determinar los parámetros morfológicos. Las imágenes de las células se procesaron con un Leica DM 4500 B Microscopio y las imágenes digitales de células individuales fueron capturadas por un Cámara Olympus DP 70 (Olympus, Tokio, Japón) El análisis de imágenes computarizado se realizó utilizando un software de análisis de imágenes (Visiopharm Integrator System, VIS, Copenhagen, Dinamarca). El sistema permite la adquisición, almacenamiento, procesamiento de imágenes y datos manejo de imágenes digitales microscópicas. Se generó un conjunto de mediciones para cuantificar el área celular total, el diámetro celular, el área del citoplasma, el área nuclear, la relación núcleo/célula y la densidad nuclear. Los resultados de los parámetros para CLL; total de área 78.9, área de citoplasma 16.7, perímetro celular 78.3, área nuclear 61.8, radio de núcleo /citoplasma 3.4, radio de núcleo/célula 0.77; para MCL total de área 136.2, área de citoplasma 38.9, perímetro celular 104.1, área nuclear 95.2, radio de núcleo /citoplasma 2.4, radio de núcleo/célula 0.72 y para B – PLL total de área 172.6, área de citoplasma 61.5, perímetro celular 110.5, área nuclear 106.2, radio de núcleo /citoplasma 1.6, radio de núcleo/célula 0.63. Las diferencias morfológicas fueron que LLC contiene cromatina típicamente agrupada, mientras que las células MCL tienen cromatina moderadamente dispersa y nucleolos discretos, y las células B-PLL presentan cromatina suelta y uniforme con nucleolos prominentes (17)

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Descriptores celulares

Según Dan López (18) los descriptores celulares nos sirven para formar algoritmos; estos tratan de buscar las agrupaciones naturales que aseguren similitud en los datos para crear un modelo predictivo. Se busca emplear algoritmos que analicen un conjunto de atributos desconocidos y que consigan dividir en un número determinado de grupos naturales presentes y similares a los que definen las clases de las imágenes analizadas a través de una medida de similitud.

Según Raris (16) los **descriptores geométricos** miden en valores numéricos características morfológicas relacionadas con el tamaño y la forma celular. Desde un punto de vista geométrico existen dos principales medidas; la célula y el núcleo.

- **Área celular:** es una medida calculada a partir de la suma de números de píxeles de una determinada región de interés ya sea el núcleo de la célula o del citoplasma (16,13)

$$\text{Área} = \pi \times R^2$$

- **Perímetro:** define la longitud del contorno externo de la región de interés, calcula la suma de las distancias entre píxeles adyacentes del contorno de la región de interés. (16,13)

$$\text{Perímetro} = (\pi + 2) \times R$$

- **Diámetro promedio de la célula:** es aquella línea recta que pasa por el centro y une dos puntos opuestos, ya sea en una circunferencia, en una curva cerrada o en una superficie esférica. (16, 13)

$$\text{Diámetro} = 2\sqrt{4\text{área} / \pi}$$

- **Relación Núcleo/ citoplasma:** es calculado como la relación entre el área del núcleo y el área del citoplasma de la célula, ambos calculados en la forma de números de

píxeles. Las células cuyo núcleo ocupe la mayor parte del citoplasma presentaran valores altos para estos descriptores geométricos, mientras que otros tipos celulares con núcleos de menor tamaño y más extensión de citoplasma mostraran valores bajos. (16,13)

$$\text{Relación NC} = \frac{\text{área}_{\text{núcleo}}}{\text{área}_{\text{célula}} - \text{área}_{\text{núcleo}}}$$

- **Relación área del Núcleo/ área celular:** es calculado como el cociente entre el área del núcleo y el área de la célula en píxeles. (16,13)

$$\text{Relación A(N)/A(C)} = \frac{\text{Área}_{\text{núcleo}}}{\text{Área}_{\text{celular}}}$$

- **Circularidad:** es una condición de una superficie de un objeto, que se utiliza para controlar la redondez de las partes o características circulantes. Estas características circulares pueden ser definidas por cilindros, esferas y conos. La circularidad se obtiene de la relación entre el perímetro al cuadrado y el área de la región de interés a estudiar (16)

$$\text{Circularidad} = (\text{perímetro ROI})^2 / \text{área ROI}$$

- **Elongación:** Se puede determinar mediante los ejes principales de la elipse con igual matriz de covarianza que la forma del ROI. (16)
- **Excentricidad de la célula** La relación de la longitud del eje mayor y menor se conoce como excentricidad. (16, 13)

$$\text{Excentricidad} = \text{Longitud del Eje Mayor} / \text{Longitud del Eje Menor}$$

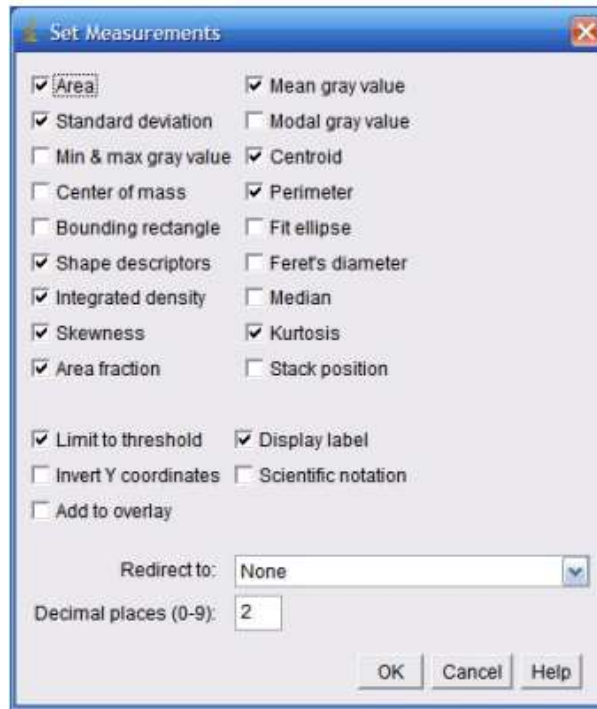
- **Excentricidad cónica:** Se calcula como la excentricidad cónica de la elipse equivalente que describe al ROI. (16,13)
- **Excentricidad del núcleo** Este parámetro se calcula como la excentricidad de la elipse equivalente que describe la RDI (16,13)

$$\text{Excentricidad del Núcleo} = 4\pi \text{Área} / \text{perímetro}^2$$

- **Varianza circular:** Se calcula como la relación entre la desviación típica y la media de cada uno de los píxeles que conforman al borde de la célula al centroide de está utilizando la expresión: (16)
- **Varianza elipsoidal:** Es la relación entre la media y la desviación estándar de la distancia entre los puntos del contorno y el centro de una elipse con igual matriz de covarianza que la forma del ROI (elipse que más se ajusta a la forma). (16)
- **Compacidad:** Es un escalar que especifica la proporción de píxeles que están tanto en la ROI como en el convex hull. (16)
- **Redondez CH:** Es una medida de circularidad que excluye irregularidades de la ROI. Se calcula mediante la relación entre el área de la ROI y el área de un círculo con el mismo perímetro que el convex hull. (16)
- **Convexidad:** Es la relación entre el perímetro convexo y el perímetro original. (16)

En el software Image Fiji se pueden encontrar en la herramienta set measurements donde se tiene activar los descriptores geométricos que se desea adquirir en la imagen.

Ilustración 1: *Características geométricas. ImageJ para microscopia. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Investigaciones Biomédicas. (8)*



Los descriptores granulométricos en este parámetro abarcan la textura y las curvas granulométricas, se definen por la uniformidad, la densidad, el tono de los píxeles y sus relaciones espaciales. (13) Las curvas granulométricas asociadas a una forma plana son funciones reales, basado en la medición (a través del área/número de píxeles) o los conjuntos resultó de aplicar algunos operadores morfológicos a la forma a ser caracterizada. La variable de valor real que indexa la curva granulométrica está vinculada al tamaño del elemento estructurante utilizado por la operación morfológica. Las curvas granulométricas miden el comportamiento del conjunto binario bajo sucesivas reducciones por erosión, es decir, las curvas miden como el conjunto pierde sus puntos. Para medir la simetría efecto de sumar puntos al conjunto hasta su “saturación”.

Los descriptores colorimétricos se evidencian en cada pixel que compone una imagen con una ubicación y un valor de colores particulares, se puede representar en varios

componentes espectrales o espacios de color incluyen principalmente histograma de color, histograma de cromaticidad y constancia de color (13)

Según Merino y Zhi Liu (3,7) los descriptores colorimétricos están definidos en el espacio RGB, Cada píxel en una ubicación espacial específica y se descompone en 3 bandas correspondientes a los colores básicos: rojo (R), verde (G), y azul (B).

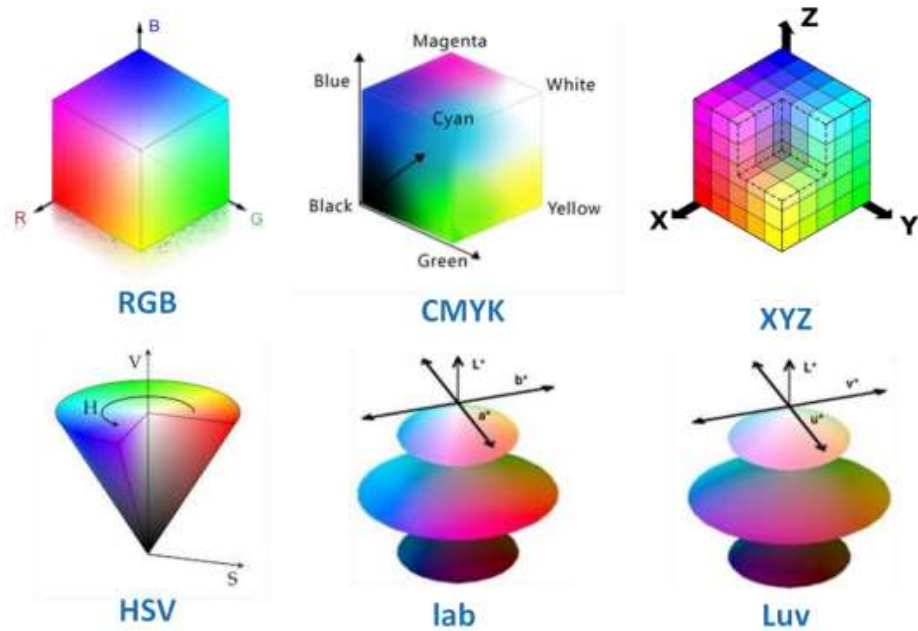
CMYK es un método que ayuda a distinguir similitudes entre el citoplasma y el fondo, un espacio en el que las bandas son cian (C), magenta (M), amarillo (Y) y negro (B). (14)

El espacio HSV el modelo que se define por el tono (H), la saturación (S) y el brillo (V), el cual se usa en numerosos modelos de color y este modelo es más apropiado que el método RGB para la segmentación de glóbulos blancos. (16)

Los espacios de laboratorio usan ligereza (L) y cromaticidad (a, b, u, v) quien se caracteriza por su aproximación a la percepción humana. Las características del color están involucradas en la cuantificación de la basófila citoplasmática y la granulación citoplasmática (14)

Ilustración 2:

Representación de los diferentes espacios de color. Laura Puigví, et al. Quantitative Cytologic Descriptors to Differentiate CLL, Sézary, Granular, and Villous Lymphocytes Through Image Analysis. (14)



2.2.2. Procesamiento de imágenes:

Como refiere Querejeta (20) El procesamiento digital de imágenes está presente en aplicaciones industriales, ciencias médicas, biometría e identificación, agricultura, ganadería, satélites de observación terrestre, como en tantos otros aportes para la sociedad.

Según Diego Gonzales (21) los principales pasos para el análisis de imágenes son los siguientes: (I) adquisición (II) preprocesamiento de imágenes, (III) segmentación y (IV) extracción de características (3) de esta manera se mejora la apariencia visual de las imágenes para un observador

- I. Adquisición o captura que se ocupa de los diferentes caminos para la obtención de imágenes; por ejemplo, utilizando cámaras digitales o digitalizando imágenes analógicas (fotografías).
- II. Preprocesamiento de imágenes y de realce son las técnicas que se usan para mejorar la apariencia visual de las imágenes o para recuperar y restaurar las imágenes degradadas.
- III. Segmentación que se ocupa de la división de las imágenes en regiones o áreas significativas.
- IV. Extracción de características que se ocupa de la detección y localización de entidades geométricas simples y complejas. Desde entidades simples como líneas y puntos hasta geometrías complejas como curvas y cuadráticas.,
- V. El paso de procesamiento de imagen exactamente la segmentación tiene como objetivo obtener las celdas separadas de los otros objetos en la imagen y divididas en regiones de interés (ROI). Este paso es crítico para tener éxito en el procedimiento de extracción de características.

Existe un software llamado imageJ (19) independiente de cualquier plataforma, ofrece una gran cantidad de herramientas para manipular, visualizar y delimitar cualquier célula manualmente (región de interés - ROI), y brindar diversos parámetros geométricos con fines aplicativos a cualquier plataforma como son que se encuentran actualmente en el mercado; EasyCell, Hemacam, Cellavisión DM96, VisionHema.

Entre los equipos automatizados existe el asistente EasyCell es un sistema de hematología de última generación que utiliza tecnologías de procesamiento de imágenes y reconocimiento de patrones, empleando un sofisticado software de reconocimiento de patrones ópticos para ubicar y pre clasificar automáticamente glóbulos blancos normales,

hematíes nucleados y linfocitos variantes. Este puede leer hasta 30 láminas a la vez, recuento de 200 células tal como lo manda la CLSI, se puede reclasificar las células, incorporar imágenes en el informe, y lo más importante del producto es el tiempo de lectura se reduce de 5 a 8 minutos con microscopio a 2 minutos automatizado. (20)

EasyCell realiza una clasificación previa y una ubicación uniforme de los glóbulos blancos y es especialmente útil para personal menos experimentados además permite la revisión de imágenes o la transmisión de imágenes a otros laboratorios para su consulta es posible porque las imágenes digitales de cada celda se almacenan permanentemente. (20)

HemaCAM nos permite el análisis automatizado de muestras de sangre, hasta 8 láminas al mismo tiempo y apoya la clasificación de células, reduce tiempo, aumenta la calidad diagnóstica y apoya la generación rápida y objetiva de un leucocito. Entre otras ventajas es el recuento rápido y fiable de frotis de sangre, permite visualizar en vivo de las células, anotar y marcar celdas, almacenamiento digital de todos los datos relevantes y cuenta con un sistema modular preparado para el futuro (21)

CellaVision DM96 otro de los equipos automatizados que aproximadamente lee 30 láminas por hora siendo calificado un 10 % y un 25 % más rápido que un diferencial manual, pero la velocidad exacta depende si el paciente tiene alguna patología o el recuento de leucocitos bajo, además de lectura de frotis sanguíneo también permite el recuento de líquidos corporales (20)

Hemavisión permite análisis a células patológicas como linfocitos atípicos y reconocimiento de células inmaduras desde blastos hasta precursores diferentes alteraciones e inclusiones de la serie eritroide, y de plaquetas, sus equipos cuentan con inteligencia artificial que permite acumular algoritmos y resolver casos posteriores de acuerdo con los

datos ingresados, su analizador más actual permite leer hasta 200 laminas a la vez, no solo se especializan en lectura de sangre periférica sino también tienen estudios de lecturas en médula ósea, histopatológicas y microbiológicas. (22)

Para el reconocimiento de las células la médula ósea se usan métodos de agrupamiento; método de agrupamiento K-Means, algoritmos de cuenca hidrográfica, redes neuronales artificiales. La técnica de cuenca hidrográfica se aplica con la región del extremo local como la cuenca de captación y el límite de la cuenca como la línea de la cresta para realizar la segmentación en imágenes en escala de grises Y eliminar el ruido. Por otro lado, también se puede combinar el espacio de color CIE con el algoritmo de agrupamiento K-means para la división celular. El K-means es un algoritmo basado en valores de píxeles de color, con la distancia euclidiana como medida de similitud. El algoritmo se basa excesivamente en los datos de inicialización y otros parámetros. El resultado de la agrupación está estrechamente relacionado con el número y la forma de los datos de destino. Cuando el color del citoplasma difiere notablemente del del núcleo, esta estrategia no puede obtener con precisión todos los glóbulos blancos en varias condiciones de imagen (7)

De acuerdo con lo descrito el procesamiento de imagen se presenta en nuestro entorno como un método de generación de la ingeniería que se encarga de la extracción de mediciones, datos o información contenida en una imagen. Incluye técnicas cuyo objetivo principal es facilitar la búsqueda e interpretación de la información contenida en ellas. Un sistema de análisis de imágenes se distingue debido a que tiene como parámetro de entrada una imagen, y cuyo resultado es comúnmente una salida numérica, en lugar de otra imagen que sirve para la identificación y clasificación de células sanguíneas en imágenes digitales, estos algoritmos celulares pueden estar ubicados en equipos de última generación para la

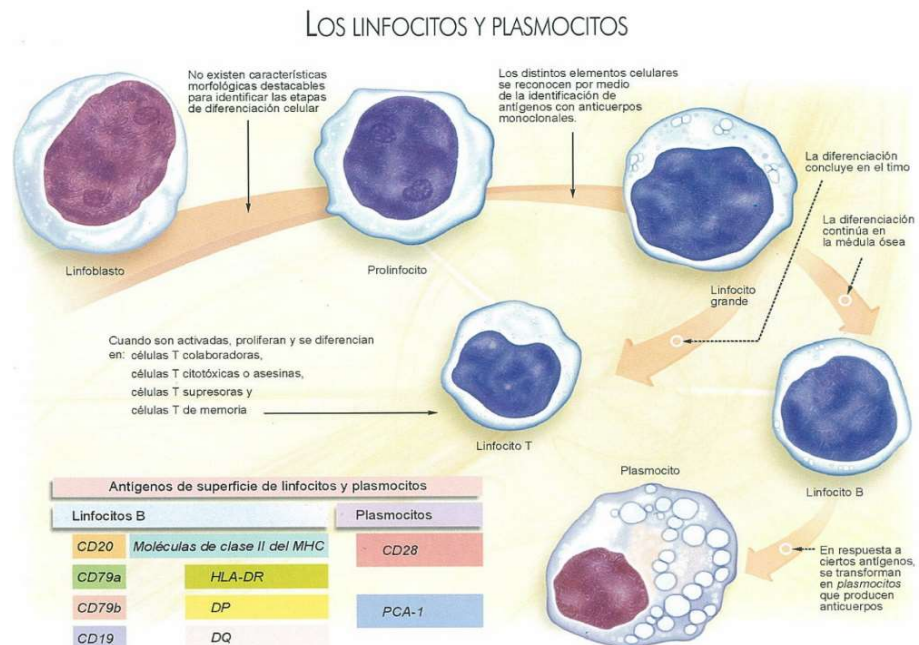
lectura de un frotis, por consiguiente estos estudios han venido avanzando en los últimos años en sangre periférica y minoritariamente en medula ósea, ya que la extracción de la misma es un procedimiento invasivo para el paciente y seleccionar las células en aspirado de médula ósea aún resulta difícil.

2.2.3. Células plasmáticas:

Los linfocitos B activados gracias a un antígeno y a un linfocito T helper (CD4+) se transforman en células plasmáticas o plasmocitos; de esta forma son capaces de sintetizar y liberar inmunoglobulinas siendo parte del sistema inmunitario. Este proceso se da gracias a divisiones mitóticas durante la diferenciación celular, desde el linfocito en reposo hasta el plasmocito. (23)

Ilustración 3:

Diferencia de linfocitos y plasmocitos. American Cancer Society. Diagnóstico de neoplasia de células plasmáticas. 2019 (24)



Según Abbott las características morfológicas de un plasmocito son típicamente basófilo y su núcleo es excéntrico, adyacente a una amplia zona paranuclear correspondiente al aparato de Golgi. El diámetro celular es de aproximadamente 9 a 20 micras, la cromatina se asemeja a una “rueda de carro”. (25)

Los estadios de maduración de un plasmocito (26):

I. Plasmablasto:

- Tamaño de 15 μm a 25 μm .
- Núcleo redondo a oval, excéntrico, con cromatina reticulada, dos a cuatro nucléolos, citoplasma abundante, moderado a intensamente basófilo sin gránulos.

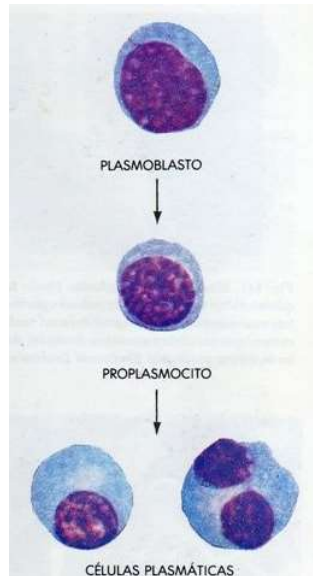
II. Proplasmocito:

- Tamaño de 15 μm a 25 μm .
- Núcleo ovalado a redondo, excéntrico y con cromatina moderadamente gruesa.
- Uno a dos nucléolos y citoplasma azul con zona perinuclear más clara.
- En este estadio se podría confundir con un normoblasto basófilo, pero generalmente este tiene una tonalidad azul más oscura

III. Plasmocito:

- Tamaño de 10 μm a 20 μm .
- Núcleo redondo u oval, excéntrico, con cromatina gruesa y en acúmulo, pero dispersa, sin nucléolo evidente.
- Citoplasma azul con una zona perinuclear más clara.

Ilustración 4: Maduración del plasmocito. Miale JB. Hematología: medicina de laboratorio. Editorial Reverte. 1985 (26)



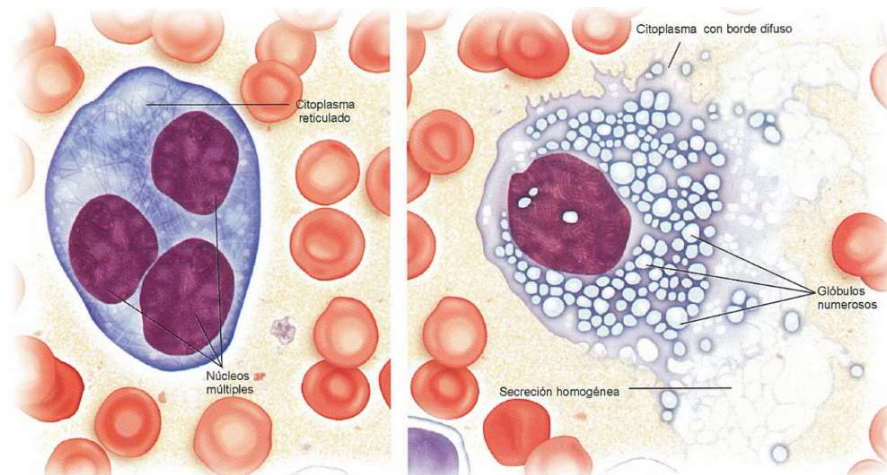
Existen Alteraciones morfológicas de las células plasmáticas tanto en trastornos reactivos como neoplásicos relacionadas con cambios en el citoplasma como coloración acidófila, presencia de vacuolas e inclusiones y también alteraciones relacionadas al núcleo, que corresponde a una condensación anormal de la cromatina, un núcleo prominente y un contorno nuclear irregular (25)

Ribourtout nos habla de anomalías relacionadas con el citoplasma, incluido el color (células en llamas), las inclusiones redondas (células de Mott, cuerpos de Russell), las inclusiones cristalinas o en forma de barra de Auer, que se relacionan con la síntesis, tráfico o excreción anormales de la inmunoglobulina generalmente Ig A que se almacena en exceso en el citoplasma (27)

Según Ribourtout (27) las células plasmáticas muestran uno o varios cambios morfológicos. Uno está relacionado con la baja cantidad de citoplasma, definiendo mieloma

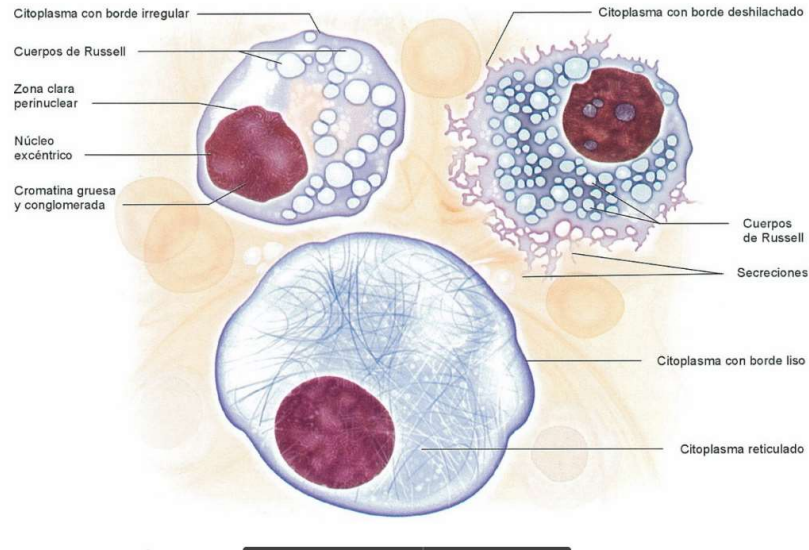
linfoplasmacitoide (10-15% de los pacientes). En otros casos (40-50% de los pacientes), denominados casos de mieloma inmaduro, se observa asincronía entre el núcleo y el citoplasma, presencia de un nucléolo, cromatina finamente dispersa y/o contorno nuclear irregular que contrasta con un citoplasma todavía grande y azul (maduro). En el 10-15% de los casos se observa un cambio morfológico peculiar, correspondiente a la presencia de células plasmáticas muy inmaduros denominados plasmablastos.

Ilustración 5: Plasmocito anómalo. Abbott diagnóstico. Atlas de hematología. laboratorio de México S.A. 2002. (23)



En enfermedades como coqueluche, mononucleosis infecciosa, citomegalovirus, toxoplasmosis u otras infecciones virales puede darse una plasmocitosis reactiva, por ello es importante diferenciar no solo el conteo numérico de plasmocitos sino la morfología anómala de esta. (23)

Ilustración 6: Inclusiones citoplasmáticas en plasmocitos. Abbott diagnóstico. Atlas de hematología. laboratorio de México S.A. 2002. (24)



Los trastornos de células plasmáticas forman un espectro que va desde la presencia asintomática de pequeñas poblaciones monoclonales de células plasmáticas hasta afecciones como Neoplasias de células plasmáticas como el mieloma múltiple o leucemia de células plasmáticas (28)

2.2.3.1 Pruebas en el diagnóstico de neoplasias de células plasmáticas (24)

2.2.3.1.1. Recuentos sanguíneos: El hemograma completo es una prueba que mide los niveles de glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas en la sangre. Si existen demasiadas células de mieloma en la médula ósea, el hallazgo más común es un recuento bajo de glóbulos rojos (anemia).

2.2.3.1.2. Pruebas bioquímicas de la sangre: Se tendrán en cuenta los niveles de creatinina (niveles altos indican mal funcionamiento de los riñones) albúmina (proteína de la sangre que puede presentar niveles bajos en

neoplasia de células plasmáticas, calcio (se puede presentar niveles altos que con lleva a cansancio, debilidad y confusión) y otros electrolitos.

- 2.2.3.1.3. Niveles de deshidrogenasa láctica LDH. Esto puede ser un indicador útil del pronóstico del paciente. Los altos niveles indican que la enfermedad es más avanzada y que pueden tener un peor pronóstico.
- 2.2.3.1.4. Inmunoglobulinas cuantitativas: Esta prueba mide los niveles sanguíneos de los diferentes anticuerpos (también conocidas como inmunoglobulinas). Existen varios tipos distintos de anticuerpos en la sangre: IgA, IgD, IgE, IgG, e IgM. Se miden los niveles de estas inmunoglobulinas para determinar si están alterados.
- 2.2.3.1.5. Pruebas de orina: electroforesis de proteínas en orina e inmunofijación. Se obtiene una muestra de orina de rutina para identificar proteína del mieloma que se haya filtrado a través del riñón. Probablemente, también se le pedirá una muestra de orina obtenida durante un período de 24 horas para que se pueda medir cuánta proteína del mieloma está presente.
- 2.2.3.1.6. Electroforesis: proteínas en suero, inmunofijación o la inmunolectroforesis, mide la cantidad de anticuerpos en la sangre y puede detectar un anticuerpo monoclonal. Los anticuerpos se componen de cadenas de proteína: dos cadenas largas (pesadas) y dos cadenas más cortas (ligeras). A veces los fragmentos de la proteína anormal del mieloma se filtran a través del riñón en la orina. Esta proteína en la orina, conocida como proteína Bence-Jones, es la parte del anticuerpo llamada cadena ligera.

- 2.2.3.1.7. Cadenas ligeras libres en suero: Esta prueba de sangre puede medir los niveles de cadenas ligeras en la sangre, y se realiza para detectar mieloma o amiloidosis de cadenas ligeras. Ésta es más útil en los casos poco comunes de mieloma en los que no se encuentra proteína M mediante la electroforesis de proteínas en suero. Esta prueba también calcula el índice de cadenas ligeras libres, el cual se utiliza para saber si hay un tipo de cadena ligera más que el otro. Existen dos clases de cadenas ligeras: kappa y lambda. Normalmente, están presentes en cantidades iguales en la sangre, dando un índice de 1 a 1. Si hay más de un tipo de cadena ligera que de otro, el índice será diferente, lo que puede ser un signo de mieloma.
- 2.2.3.1.8. Microglobulina beta-2: es otra proteína producida por las células del mieloma. Aunque esta proteína por sí sola no causa problemas, puede ser un indicador útil del pronóstico del paciente.
- 2.2.3.1.9. Aspirado y Biopsia de la médula ósea: Las personas con mieloma múltiple tienen demasiadas células plasmáticas en sus médulas óseas. El tejido de la médula ósea se examina en el laboratorio para observar la apariencia, el tamaño y la forma de las células, así como la forma en que las células están agrupadas y determinar si existen células del mieloma en la médula ósea, y, si existen, en qué cantidad. Al aspirado también se le pueden hacer otras pruebas, incluyendo inmunohistoquímica, citometría de flujo y análisis cromosómico, incluyendo cariotipo e hibridación in situ con fluorescencia (FISH).
- 2.2.3.1.10. Biopsia por aspiración con aguja fina se usa para extraer una pequeña cantidad de tejido de un tumor o ganglio linfático. El médico puede dirigir

la aguja mientras palpa un ganglio linfático agrandado cerca de la superficie del cuerpo. Si el área del tumor está localizada en un sitio profundo del cuerpo, se puede guiar la aguja mientras se observa en una tomografía computarizada.

2.2.3.1.11. Biopsia por punción con aguja gruesa se usa una aguja más grande y se extra una muestra de tejido mayor. Si un área se ve anormal en una radiografía, se puede necesitar una biopsia para confirmar que se trata de un plasmocitoma.

Otra prueba importante es la citometría de flujo, en la revisión de Kumar, S (29) nos habla sobre la importancia de los antígenos de superficie como ayuda a distinguir las células plasmáticas normales de las malignas y permite el reconocimiento de las células plasmáticas de diferentes etapas de la evolución de la enfermedad, así como de los diferentes tipos de trastornos de las células plasmáticas.

Tabla 1: Marcadores Celulares Para Plasmocitos Normales Y patológicos

	CELULA PLASMATICA NORMAL	CELULA PLASMATICA ANORMAL	COMENTARIO
CD19	POSITIVO >70%	NEGATIVO (95%)	Presente en todas las células B y en la mayoría de las células plasmáticas normales. En Plasmocitos clonales las células tienen expresión tenue o nula.
CD20	NEGATIVO	POSITIVO 30%	Típicamente en el proceso de maduración de células B y ausente en células plasmáticas. Se observa en un subconjunto clonal de células plasmáticas

CD27	POSITIVO 100%	NEGATIVO DEBIL (15-45%)	Esta molécula está implicada en la diferenciación de células B maduras. Débilmente o no se expresa en mieloma.
CD28	NEGATIVO <15%	POSITIVO 45%	Está involucrado en la activación de células T. La expresión de células plasmáticas en mieloma se correlaciona con enfermedad agresiva.
CD33	NEGATIVO	POSITIVO en pequeño grupo de pacientes	Es un antígeno relacionado al linaje mielóide puede estar presente de manera aberrante en un pequeño subconjunto de pacientes con mieloma
CD56	NEGATIVO <15%	POSITIVO 75%	La molécula de adhesión de células neuronales, típicamente presente en Células NK, casi invariablemente presente en las células plasmáticas neoplásicas pero la expresión puede ser baja o perderse en las células de circunvalación y en la enfermedad extramedular.
CD81	POSITIVO 100%	NEGATIVO DEBIL	Miembros de señal compleja de traducción, CD19/CD21/Leu 13, función pobremente diferenciada
CD117	NEGATIVO	POSITIVO	Típicamente visto en linaje mielóide y megacariocítico

Kumar S, Et al. Immunophenotyping in multiple myeloma and related plasma cell disorders. Best Pract Res Clin Haematol. 2010 (29)

Como lo menciona la OMS (5) los tumores de células plasmáticas son neoplasias linfoides de células B y son propias de la edad adulta con una edad media de 65 a 74 años, y su prevalencia mayor en hombre que en mujeres con una relación de 1.4:1 estos pueden aparecer como tumores diseminados de la médula ósea o en algunos casos como tumores solitarios óseos o extramedulares Juan, et al, (30).

Tabla 2: Clasificación de neoplasia de células plasmáticas según la OMS (5) 5ta edición 2022

Clasificación Organización Mundial de la Salud 5ta edición
Linfoma de Hodgkin
Linfoma de Hodgkin clásico
Linfoma nodular predominante linfoma Hodgkin
Neoplasia de células plasmáticas y otras enfermedades con paraproteínas
Gammanopatías monoclonales
Enfermedad de aglutininas frías
Gammanopatía monoclonal IgM de significado incierto
Gammanopatía monoclonal no IgM de significado incierto
Gammanopatía monoclonal con daño renal
Enfermedad con deposiciones de inmunoglobulinas monoclonales
Inmunoglobulinas relacionado a Amyloidosis (AL)
Enfermedad de cadenas pesadas
Enfermedad de cadenas pesadas M
Enfermedad de cadenas pesadas gamma
Enfermedad de cadenas pesadas alfa
Neoplasia de células plasmáticas
Plasmocitoma
Mieloma de células plasmáticas
Neoplasia de células plasmáticas asociada a síndromes paraneoplásicos <ul style="list-style-type: none"> - Síndrome POEMS - Síndrome TEMPI - Síndrome AESOP

La guía española del mieloma múltiple y el Criterio actualizado del Grupo internacional de trabajo sobre mieloma – IMWG (31) y la OMS (5) nos habla de las enfermedades que tienen la presencia de las células plasmáticas como:

I. Ganmapatía Monoclonal de significado incierto (MGUS)

- <10% de células plasmáticas clonales en Médula Ósea.
- Ausencia de daño orgánico atribuible a proliferación de células plasmáticas.
- Proteína Monoclonal sérica <3g/dL

II. Mieloma Smoldering

- Proteína Monoclonal sérica ≥ 3 g/dL
- y/o de 10-60% de células plasmáticas de médula ósea.
- Ausencia de daño orgánico atribuible a proliferación de células plasmáticas.

III. Mieloma Múltiple

- >10% de células plasmáticas en Médula Ósea o plasmocitoma óseo (PO) o plasmocitoma extramedular (PE) comprobado por biopsia.
- Evidencia de daño orgánico atribuible a la proliferación de células plasmáticas (CRAB; hipercalcemia, insuficiencia renal, anemia y lesiones óseas)
- Hipercalcemia: Calcio (Ca) sérico $> 0,25$ mmol/L (> 1 mg/dL) por encima del límite superior de la normalidad o $> 2,75$ mmol/L (> 11 mg/dL).
- IR: aclaramiento de creatinina < 40 mL/min o creatinina sérica > 177 μ mol/L (> 2 mg/dL).
- Anemia: descenso de hemoglobina (Hb) > 20 g/L por debajo del límite inferior de la normalidad o Hb < 100 g/L.

- Lesiones óseas: ≥ 1 lesiones osteolíticas por radiología convencional, TC (tomografía computarizada) o PET-TC (tomografía por emisión de positrones-tomografía computarizada).
- Relación cadenas ligeras involucradas/no involucradas >100
- RMN con más de una lesión focal

El IMWG Para evidenciar el alto riesgo de progresión del mieloma múltiple nos refiere que se necesita uno o más de los siguientes factores:

- Células plasmáticas clonales en MO $\geq 60\%$.
- Ratio de cadena ligera libre (CLL) alterada/no alterada ≥ 100 (además la CLL de la cadena alterada debe ser ≥ 100 mg/L).
- Resonancia magnética (RM) con > 1 lesión focal (≥ 5 mm).

El mieloma múltiple representa el 1% de todas las neoplasias y entre el 10 y el 12% de las neoplasias hematológicas, la segunda más frecuente después del linfoma no hodgkin (27)

Una de las afecciones más comunes por células plasmáticas es el mieloma múltiple y según Amado (28) nos dice que el diagnóstico de mieloma se basa en la triada de observar más del 10% de células plasmáticas en el aspirado de médula ósea, lesiones líticas en los rayos X, y presencia de un pico monoclonal en sangre u orina demostrado en electroforesis.

En mieloma múltiple se puede evidenciar diferencias morfológicas pequeñas, plasmablastos o incluso pleomórfica, que tienen cromatina nuclear menos densa y con nucleolo bien definido. (23)

Las manifestaciones clínicas primarias en mieloma múltiple son anemia, dolor óseo, hipercreatininemia, fatiga/debilidad, hipercalcemia, pérdida de peso, parestesia, hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenopatías, fiebre y a medida que progresa la enfermedad se puede presentar: insuficiencia renal, fracturas patológicas, Infecciones a repetición, complicaciones neurológicas; cefalea, vértigo, estupor, Amiloidosis primaria, Síndrome de hiperviscosidad, hemorragia en mucosas. (32)

En un estudio se mostró que la cantidad de células plasmáticas en mieloma múltiple se correlacionó significativamente con la supervivencia, e informó sobre cuatro etapas de infiltración de médula ósea, ya sea mínimo <5% de células plasmáticas en MO; (14% casos), bajo de 5 - 19% de células plasmáticas en MO (28% casos), intermedia 20-50% de células plasmáticas en MO (40% casos), o alta >50% de células plasmáticas en MO (18% casos), correspondientes a supervivencias medias de 86, 46, 25, y 15 meses, respectivamente (27)

La presencia de plasmocitos en aspirado de médula ósea es normal con valores de 0 a 3% según la OMS (5), cuando existe un incremento de estas células, de acuerdo con la cantidad se tienen que hacer estudios complementarios como lo nombra la American Cancer Society ACS (24). Estas enfermedades pueden variar de asintomáticos con cuadros estables en los que sólo está presente la proteína alterada a nivel sérico hasta neoplasias progresivas como mieloma múltiple; además de problemas como Osteoporosis, hipercalcemia, anemia, pancitopenia: las células clonales pueden infiltrar la médula ósea, es por ello la importancia de la búsqueda de estas células en un aspirado de médula ósea como examen de diagnóstico; las diversas morfologías se podrían sustentar con una herramienta cuantitativa como son los

descriptores geométricos para determinar el grado de malignidad de las células en un corto tiempo, por lo cual se ha pensado en los patrones morfológicos mediante el procesamiento de imágenes.

2.2.4. Aspirado de médula ósea:

De acuerdo con K Kaushansky, et al (33) en su libro Williams hematología, nos refiere que el estudio de médula ósea ofrece un estudio semicuantitativo y cualitativo del estado de la hematopoyesis y de la normalidad en la jerarquía de los precursores hematopoyéticos de las distintas estirpes

Según Rodak (34), La médula ósea normal está constituida por la médula roja; llamada médula ósea hematopoyética constituida por un 40% de células de grasa, un 40% de agua y un 20% de células hematopoyéticas y médula amarilla llamada médula hematopoyética inactiva constituida por 80% de células de grasa, 15% de agua y 5% de células hematopoyéticas. Después de la infancia, la médula ósea roja es sustituida por médula amarilla por ello su composición varía en condiciones fisiológicas individuales y en función de la edad, anatómicamente ocupa espacios entre las trabéculas óseas del conducto medular, es blanda y semilíquida lugar donde se toma la muestra

Según la organización mundial de la salud OMS (5) la médula ósea es un tejido en el centro de los huesos grandes. Es el lugar donde se producen nuevas células sanguíneas y este contiene dos tipos de células madre: hematopoyéticas (que pueden producir células sanguíneas) y estromales (que pueden producir grasa, cartílago y hueso).

Si la médula ósea sufre alguna distorsión se podría desencadenar: Leucemias, anemias, enfermedades mieloproliferativas, linfomas, neoplasias, entre ellas el mieloma múltiple de células plasmáticas que tienen diferentes patrones de infiltración como intersticial, microagregados, nodular y difuso.

Según Rohollah (6) el estudio de medula ósea se realiza mediante un aspirado de medula ósea dicho procedimiento consiste en colocar en un portaobjetos de vidrio partículas de tejido de médula ósea para buscar características celulares sutiles y complejas que representan la semántica morfológica del tejido, conocida como citología. Según los estándares internacionales, la citología de aspirado incluye un recuento de células nucleadas, donde 300-500 se identifican manualmente, contando y clasificado por operador experimentado, como un hematopatólogo.

Después de lo citado y basado en los criterios de IMWG (31) (international Myeloma Working Group) es importante recalcar que el examen de médula ósea es un requisito definitivo para el diagnóstico de mieloma múltiple ya que muestra la presencia clonal de células plasmáticas o evidencia histopatológica.

2.3. Definición de términos básicos

- **Plasmocitos:** Tipo de célula inmunitaria que elabora una gran cantidad de un anticuerpo específico. Los plasmocitos evolucionan de células B que se activaron. (24)
- **Médula ósea** Tejido suave y esponjoso que se encuentra en el centro de la mayoría de los huesos. Produce los glóbulos blancos, los glóbulos rojos y las plaquetas. (35)

- **Descriptores geométricos:** estos tipos de descriptores miden las características morfológicas, basadas en el tamaño y la forma de las células (16)
- **Área** Es el número de píxeles contenidos dentro de su frontera (13)
- **Excentricidad** Número escalar que da la excentricidad la elipse que atraviesa a la región de interés (13)
- **Perímetro** Es la longitud de su frontera (13).
- **Distancia** Es la distancia de una línea recta entre dos píxeles (13)
- **Descriptores colorimétricos:** evidencian en cada pixel que compone una imagen con una ubicación y un valor de color particulares, se puede representar en varios componentes espectrales o espacios de color (13)
- **Descriptores granulométricos:** son descriptores de textura que en una imagen digital se definen por la uniformidad, la densidad y sus relaciones espaciales. (16)

III. METODOLOGÍA

3.1. Método de la investigación:

La investigación es hipotética – deductiva la cual consiste en tomar aseveraciones desde las hipótesis existentes e ir comprobando, deduciendo de ellas, junto con conocimientos que ya disponemos y buscar conclusiones que confrontamos con los hechos para comprobar o refutar la hipótesis (35)

Las imágenes tomadas de los frotices de médula ósea nos permitirá estudiar, reconocer, comparar, diferenciar y afirmar la variedad de características morfológicas de las células plasmáticas. (12)

3.2. Enfoque de la investigación:

El enfoque cuantitativo utiliza la recolección y el análisis de datos para contestar preguntas de investigación, este confía en la medición numérica, el conteo y el frecuente uso de la estadística para establecer con exactitud patrones en nuestro caso de las células plasmáticas. (11)

3.3. Tipo de la investigación:

La investigación es de tipo aplicada, se caracteriza por los procesos que buscan convertir el conocimiento, es decir un conocimiento teórico en uno práctico, útil para la comunidad científica. (12)

3.4. Diseño de la investigación

El diseño de la investigación es descriptiva propositiva, observacional, que nos permite describir las características de lo observado de la población escogida. Según el tiempo de ocurrencia de los hechos investigados es de tipo retrospectiva; aquellos hechos ocurridos en el pasado y según el período y secuencia de la investigación es de tipo transversal, ya que la recolección de datos se dará en un solo momento, un tiempo único con el propósito de describir variables y analizar su comportamiento. (11)

3.5. Población, muestra y muestreo

3.5.1. Población:

La población es el conjunto de objetos como un universo al que está referido un estudio estadístico. (12)

En la investigación la población está conformada por todos los frotices que ingresan al servicio de hematología especial en el año 2021.

MES	NUMERO DE CITOMORFOLOGIA DE MEDULA OSEA	NUMERO DE FROTICES CON NEOPLASIAS	NUMERO DE PLASMOCITOS
ENERO	347	16	620
FEBRERO	263	10	266
MARZO	324	24	502
ABRIL	327	17	228
MAYO	353	14	405
JUNIO	370	11	285
JULIO	338	11	102
AGOSTO	407	30	639
SEPTIEMBRE	459	24	570
OCTUBRE	373	10	192
NOVIEMBRE	414	20	395
DICIEMBRE	411	17	236

TOTAL	4386	204	4440
-------	------	-----	------

3.5.2. Muestra:

Es la selección de una parte de la población que se va a ser sujeto de estudio.

(12)

Luego de haber definido la población en estudio, se recolecto los frotices con presencia de plasmocitos en el año 2021 ingresados al servicio de hematología especial.

El tamaño muestral se calculará por medio de la formula probabilística de población finita con un error estimado del 5% y un acierto del 95% (11)

$$n = \frac{Nz^2pq}{(N - 1)e^2 + z^2pq}$$

n = Tamaño de muestra

z = desviación de la curva normal

p = probabilidad de éxito (0.5)

q = 1 p=0.5

N = Población

e = 0.05 máximo error permitido

Remplazando:

$$n = \frac{(1.96)^2(4440)(0.5)(0.5)}{(0.05)^2(4439) + (1.96)^2(0.5)(0.5)}$$

$$n = 354$$

3.5.2.1. Criterios de inclusión:

- Frotices validados por un experto que tengan la presencia de plasmocitos en el recuento de aspirado de médula ósea en el año 2021.
- Frotices con hallazgos clínicos y diagnóstico de neoplásica de mieloma múltiple o leucemia de plasmocitos.

3.5.2.2. Criterios de exclusión:

- Frotices que tengan terapia previa al aspirado de médula ósea.
- Frotices asociados a una enfermedad infecciosa; viral o bacteriana.
- Frotices de células que el grupo de experto no concuerde con unanimidad la morfología.

3.5.3. Muestreo

El tipo de muestreo será probabilístico aleatorio, según Hernandez Sampieri, este tipo de muestreo permite que cada elemento de muestra tenga la misma posibilidad de ser elegida (11)

3.6. Variables y operacionalización

VARIABLE	DEFINICIÓN	DIMENSIÓN	DEFINICIÓN DE LA DIMENSIÓN	TIPO	ESCALA DE MEDICIÓN	INDICADOR
Descriptores Celulares	Miden y proporcionan características morfológicas de las células que permiten identificar manual o automáticamente las mismas	Descriptores celulares geométricos	Área	Cuantitativa continua	micras	Es una medida calculada a partir de la suma de números de píxeles
			Perímetro	Cuantitativa continua	micras	Define la longitud del contorno externo de la región de interés
			Diámetro	Cuantitativa continua	micras	Es aquella línea recta que pasa por el centro y une dos puntos opuestos
			Circularidad	Cuantitativa continua	micras	Es una condición de una superficie de un objeto, que

						se utiliza para controlar la redondez
			Elongación	Cuantitativa continua	micras	Mediante los ejes principales de la elipse con igual matriz de covarianza
			Varianza circular	Cuantitativa continua	micras	La desviación típica y la media de cada uno de los píxeles que conforman al borde de la célula al centroide
			Excentricidad del núcleo respecto al citoplasma:	Cuantitativa continua	micras	Distancia entre el centro de la célula y el centro del núcleo.
		Descriptores celulares colorimétricos	espacio RGB	Cuantitativa continua	micras	Cada píxel en una ubicación espacial específica y se descompone en 3 bandas

						correspondientes a los colores básicos: rojo (R), verde (G), y azul (B).
			Espacio CMYK	Cuantitativa continua	Micras	Método que ayuda a distinguir similitudes entre el citoplasma y el fondo, un espacio en el que las bandas son cian (C), magenta (M), amarillo (Y) y negro (B).
			Brillo	Cuantitativa continua	Micras	aumenta la luminosidad total de la imagen
			Saturación	Cuantitativa continua	Micras	Es la intensidad de cada color de una foto, según el grado de blanco, negro o gris de su composición.

		<p>Descriptores celulares granulométrico s</p>	<p>Textura</p>	<p>Cuantitativa continua</p>	<p>micras</p>	<p>Son las curvas granulométricas, que calculan la distribución del tamaño de los pixeles oscuros y brillantes en las imágenes</p>
--	--	--	----------------	----------------------------------	---------------	--

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.7.1. Técnica:

Identificación y recolección de frotices con presencia de plasmocitos, verificado por los expertos (ANEXO 2) junto a la ficha de recolección de datos (ANEXO 3) en el periodo de enero 2021 a diciembre 2021 obtenidos del servicio de hematología especial del Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas.

Seguidamente se tomarán 10 imágenes de células plasmáticas por caso usando una cámara LEICA MICROsystems DFC 295 con una resolución estándar de 2.048 x 1.536 píxeles (3 megapíxeles), montada en un microscopio Leica trinocular DM1000LED serie 302082 con un software de Leica Application Suite (LAS) que permite la documentación, medición y anotación de cada célula y cada caso.

Como último paso se trabajará con el programa ImageJ - FIJI para el procesamiento de las imágenes seleccionando el ROI (Región de interés) y finalmente obtener los datos cuantitativos de los descriptores geométricos y colorimétricos.

3.7.2. Recolección de datos:

Posteriormente los datos serán almacenados en una base de datos del programa Microsoft Excel de acuerdo con su nivel de complejidad y se ingresarán al programa estadístico SPSS.

Se presentarán los resultados mediante estadística descriptiva de forma individual, para las variables cuantitativas se expresarán como medidas de tendencia central y dispersión (Media, Coeficiente de variación, Desviación Estándar) y para las variables cualitativas mediante frecuencias relativas y

absolutas, así mismo los datos obtenidos serán presentados y organizadas en tablas y gráficos.

3.7.3. Validación:

Según Tejada (36) la validación expresa como el grado de precisión con que el instrumento utilizado mide realmente lo que está destinado a medir, representando la solidez de un estudio y las circunstancias suficientes para su valor y su autenticidad.

La validación de instrumentos por parte de un juicio de expertos según Escobar y Cuervo (37) se define como una opinión informada de personas con trayectoria en el tema con conocimiento y experiencia que son reconocidas por otros, quienes dan información, evidencia, juicio y valoraciones.

Para la validación de variables y sus dimensiones se utilizará la fórmula de V- AIKEN, por medio de esta medición se permitirá valorar los ítems evaluados por los expertos mediante pertinencia, relevancia y claridad.

Fórmula de Aiken:

$$V_{AIKEN} = \frac{S}{(N(c-1))}$$

Valoración de Aiken:

0.0 – 0.81 rechaza

0.81 – 0.90 se acepta el instrumento

0.91 – 1.00 Validez aceptable

El juicio de expertos se realizó con personal especializado en el tema; quienes trabajan en el área de morfología oncológica.

RESULTADOS DE VALIDACIÓN EXPERTOS					
ITEM	JUEZ 1	JUEZ 2	JUEZ 3	SUMATORIA	V de Aiken
1°	1	1	1	3	1.00
2°	1	1	1	3	1.00
3°	1	1	1	3	1.00
4°	1	1	1	3	1.00
5°	1	1	1	3	1.00
6°	1	1	1	3	1.00
7°	1	1	1	3	1.00
8°	1	1	1	3	1.00
9°	1	1	1	3	1.00
10°	1	1	1	3	1.00
11°	1	1	1	3	1.00

Codificación respuesta de jueces

Apreciación positiva = 1

Apreciación negativa = 0

El resultado de validación por juicio de expertos tuvo un valor de 0.94 concluyendo un instrumento de validez aceptable.

3.7.4. Confiabilidad:

Según Hernández, Fernández y Baptista (38) la confiabilidad es el grado en que un instrumento produce resultados consistentes y coherentes, mientras que para Silva (39) refiere que la confiabilidad es el grado en que su aplicación repetida al

mismo sujeto u objeto produce iguales resultados. De acuerdo con estos conceptos podemos decir que el nivel de exactitud que un instrumento pueda dar como resultado fiable, donde se aplique para los mismos eventos, mantendrá los mismos resultados; por otro lado, también se determina que la confiabilidad promueve efectos de congruencia en lo que se mide.

3.8. Aspectos éticos:

La información recolectada será anónima, no registrándose información que permita identificar a los pacientes. Así mismo, esta solo se usará para el estudio, no presentándose datos individuales. Por razones éticas, ésta se almacenará por un periodo de 3 años posterior a los cuales se eliminará.

Los datos registrados serán almacenados y analizados en una computadora personal con acceso solo por los investigadores. Tanto la base de datos como la computadora misma contarán con claves de acceso solo conocidas por el investigador principal.

IV. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS:

4.1. Cronograma de actividades

	2022												20	23
ACTIVIDAD	ENERO	FEBERO	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO
Búsqueda bibliográfica y asesoría														
Redacción del protocolo														
Gestión de permiso en INEN														
Captura y procesamiento de imágenes de casos														
Realización estadística de los resultados obtenidos														
Redacción y revisión del proyecto														
Presentación final del proyecto														
Sustentación del proyecto														
Publicación del proyecto														

4.2. Presupuestos

	Número	Unidad	Costo Unitario (S/.)	Costo Total (S/.)
Recursos Humanos				
Investigador	120	Horas	10	1200
Asesor	60	Horas	100	6000
Recursos Materiales				
Computadora	0	Computadora Portátil	0	0
Lapiceros	1	Lapicero azul	10	10
Procedimientos				
Aspirado de médula ósea	750	Aspirado de médula ósea	59	44,250
Citomorfolología de médula ósea	750	Aspirado de médula ósea	86	64,500
Procesamiento de imágenes				
Cámara digital	12.370	Cámara	1	12,370
Software	850	FIJI	1	850
Servicios				
Fotocopias	150	Servicio de fotocopiado	0.10	15
TOTAL				S/. 129,195

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Alexander Kratz, Szu-hee Lee, Gina Zini. Digital morphology analyzers in hematology: ICSH review and recommendations. *Int J Lab Hematol.* 2019; 41:437–447
2. María Lorena Bergamini, Jorge Kamlofsky. Estudio de descriptores geométricos para el diseño y optimización de algoritmos de reconocimiento de objetos. [Internet]. Ciudad de Buenos Aires. CAETI – Facultad de Tecnología Informática. [citado 27 de agosto 2022] disponible en <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC120916.pdf>
3. A. Merino, L. Puigví, L. Boldú, S. Alférez, J. Rodellar. Optimizing morphology through blood cell image analysis. *Int J Lab Hem.* 2018;40(1):54–61
4. Satvik Tripathi, Alisha Isabelle Augustin, Rithvik Sukumaran, et al. HematoNet: Expert level classification of bone marrow cytology morphology in hematological malignancy with deep learning. *Artificial intelligence in the sciences.* 2022
5. Swerdlow, S.H., Campo, E., Harris, N.L., Jaffe, E.S., Pileri, S.A., Stein, H, et al WHO Classification of Tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. *IARC:2017 Volume 2:586*
6. Rohollah Moosavi Tayebi, Youqing Mu, Taher Dehkharghanian, et al. Automated bone marrow cytology using deep learning to generate a histogram of cell types. 2022; vol2(45)
7. Zhi Liu, Jing Liu, Xiaoyan Xiao, Segmentation of White Blood Cells through Nucleus Mark Watershed Operations and Mean Shift Clustering. *NIH.* 2015; 15(9): 22561–22586
8. Hong Liu, Haichao Cao, Enmin Song. Bone Marrow Cells Detection: A Technique for the Microscopic Image Analysis. *Journal of Medical Systems.* January 2019

9. INEN. Indicadores de Gestión hospitalaria. Departamento de epidemiología y estadística del Cáncer. Octubre 2021. [Internet]. [citado 23 de Julio 2022] disponible en: https://portal.inen.sld.pe/wpcontent/uploads/2022/01/OCTUBRE_2021.pdf
10. Nipon Theera- Umpom, Sompong Dhompongsa. Morphological granulometric features of nucleus in automatic bone marrow white blood cell classification. IIEE transactions on information technology in biomedicine. 2017; vol (11)
11. Roberto Hernandez Sampieri, Carlos Fernandez Collado. Metodología de la investigación. Capítulo 5. Formulación de hipótesis. 2da edición. [citado 25 de agosto 2022] disponible en: <https://sites.google.com/site/metodololgdelainvestig/modulo-5>
12. Müggenburg Rodríguez V., María Cristina; Pérez Cabrera, et al. Tipos de estudio en el enfoque de investigación cuantitativa. UNAM. 2007; vol. (4), núm. 1: 35-38
13. Galindo Pérez, Ramiro Jesús. Descriptores geométricos en células plasmáticas usando un sistema en morfología digital hematológico en un hospital de Lima Perú. 2019
14. Laura Puigví, Anna Merino, Santiago Alférez, PhD,² Laura Boldú,¹ Andrea Acevedo,² and José Rodellar². Quantitative Cytologic Descriptors to Differentiate CLL, Sézary, Granular, and Villous Lymphocytes Through Image Analysis. *Am J Clin Pathol* 2019.
15. A. Merino L. Puigví L. Boldú¹, S. Alférez², J. Rodellar. Optimizing morphology through blood cell image analysis. *Int J Lab Hem.* (2018) John Wiley & Sons Ltd 2018;40(1):54–61.
16. Sara Rarís Miralles. Análisis de imágenes digitales de células linfoides de sangre periférica a partir de microscopía óptica. Enero 2017

17. S.A. Hamid Jahanmehr, M. Rogers, et al. Quantitation of cytological parameters of malignant lymphocytes using computerized imagen analysis. International Journal of Laboratory Hematology. Int Jnl. Lab Hem. 2008; 30: 278-285.
18. Dan Lopez Puigdollers. caracterización y clasificación de glóbulos blancos mediante descriptores locales de imágenes. Master en Sistemas Inteligentes. [Internet]. Curso 2016 – 2017. [citado 07 de abril 2022] disponible en http://repositori.uji.es/xmlui/bitstream/handle/10234/172748/TFM_DanLopezPuigdollers.pdf?sequence=1&isAllowed=y
19. Tapia R. Miguel. ImageJ para microscopia. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Investigaciones Biomédicas. Mayo, 2013. Disponible en: <https://www.biomedicas.unam.mx/wp-content/pdf/unidad-de-microscopia/guia-de-imagej-para-microscopia.pdf?x21431>
20. Querejeta Simbeni, Pedro. Procesamiento digital de imágenes U Argentina. Junio 2015.
21. Diego González Aguilera. Procesamiento de imágenes. Universidad de salamanca master de geotecnologías cartográficas en ingeniería y arquitectura. Departamento de Ingeniería Cartográfica y del Terreno Escuela Politécnica Superior de Ávila [citado 27 de abril 2022] disponible en: <http://ocw.usal.es/eduCommons/enseanzas-tecnicas/procesamiento-avanzado-de-imagenes-digitales/contenidos/Tema2.pdf>
22. West medic. Hematología, modulo de aplicación clínica visión hema. Austria [citado 16 de mayo 2022] disponible en: <https://www.wm-vision.com/en/product/hema>
23. Abbott diagnóstico. Atlas de hematología. laboratorio de México S.A Edición 1. agosto 2002.

24. American Cancer Society. Diagnóstico de neoplasia de células plasmáticas. Cancer Society. 2019 [Internet]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/mieloma-multiple/deteccion-diagnostico-clasificacion-por-etapas/pruebas.html>
25. Rincon Vasquez Nataly, Jaramillo Arbelaez Patricia, Llanos Albornoz Carlos. Morfología e inmunofenotipo de las células plasmáticas en Mieloma Múltiple Medicina y laboratorio. 2017; Volumen 23, 443 -458.
26. Miale JB. Hematología: medicina de laboratorio. Editorial Reverte. 1985: 1256 p
27. B. Ribourtout, M. Zandecki. Plasma cell morphology in multiple myeloma and related disorders. Elsevier masson. 2015
28. Amado J. Karduss. Desordenes neoplásicos de las células plasmáticas. En Hernán Velez A. William Rojas M. Jaime Borrero R, et al, editores. Fundamentos de la medicina. 6ta ed. Medellín, Colombia CIB. 2004: p. 167 - 174
29. Kumar S, Kimlinger T, Morice W. Immunophenotyping in multiple myeloma and related plasma cell disorders. Best Pract Res Clin Haematol. 2010 Sep;23(3):433-51.
30. Juan Seoane, José Manuel Aguirre Urizar, Germán Esparza Gómez, Mercedes Suárez Cunqueiro, Julián Campos Trapero, Manuel Pomareda. Espectro de las neoplasias de células plasmáticas en el ámbito de la patología maxilofacial. Med Oral 2003; 8:269-80
31. Beatriz Aguado, Adrián Alegre, María José Cejalvo, et al. Guía de Mieloma Múltiple. Grupo Español de Mieloma multiple.2021.
32. Christian Ramos-Peñañiel, Cristina Madera-Maldonado, Adrián Santoyo-Sánchez, et al. Mieloma múltiple: consideraciones especiales sobre el diagnóstico. Rev. colomb. cancerol. June 2021. vol.25 no.2

- "DESCRIPTORES CELULARES DE PLASMOCITOS

33. K Kaushansky, M. A. Lichtman, J. T. Prchat, et al. Williams Hematología. 9ta ed. The McGraw – Hill companies, Inc. 1221. USA. 2015
34. F. Bennadette. Rodak Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas. Buenos aires: Medica Panamericana, 2014; vol. (2)
35. Bases y aplicación del método hipotético-deductivo en el diagnóstico. Ms. C. José Díaz Novás,I Ms. C. Bárbara Rosa Gallego Machado,I Ms. C. Adela Calles CalviñoII. Rev Cubana Med Gen Integr vol.27 no.3 Ciudad de La Habana jul.-set. 2011
36. Tejada, J. Instrumentos de Evaluación. España: Universidad de Barcelona. 1995
37. Escobar Perez, J. C. Validez de contenido y juicios de expertos: una aproximación a su utilización. vol. 6(núm. 1), pp. 27-36. 2008
38. Hernández, R. F. Metodología de la Investigación. México: Editorial McGraw-Hill. 2011.
39. Silva F. R. Validez y confiabilidad de los instrumentos de recolección de datos. [Internet]. Citado 22 de diciembre del 2021 disponible en: <https://es.slideshare.net/rosilfer/validez-confiabilidad>).

ANEXO N° 1 Matriz de consistencia: Descriptores celulares de plasmocitos en frotis de médula ósea de pacientes con neoplasia hematológica en el Inen – 2021”

TITULO	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVO	VARIABLE	METODOLOGIA	POBLACION Y MUESTRA
<p>“DESCRIPTORES CELULARES DE PLASMOCITOS EN FROTIS DE MÉDULA ÓSEA DE PACIENTES CON NEOPLASIA HEMATOLOGICA EN EL INEN – 2021”</p>	<p>PROBLEMA GENERAL</p> <p>¿Cuáles son los descriptores celulares de plasmocitos en frotis de médula ósea en pacientes con neoplasia hematológica en el INEN en el año 2021?</p> <p>PROBLEMAS ESPECIFICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> - ¿Cómo son los descriptores geométricos de plasmocitos en frotis de médula ósea en pacientes con neoplasia hematológica en el INEN en el año 2021? - ¿Cómo son los descriptores colorimétricos de plasmocitos en frotis de médula ósea en pacientes con neoplasia hematológica en el INEN en el año 2021? 	<p>OBJETIVO GENERAL</p> <p>Describir los descriptores celulares de plasmocitos en frotis de médula ósea en pacientes con neoplasia hematológica en el INEN en el año 2021.</p> <p>OBJETIVOS ESPECIFICOS</p> <ul style="list-style-type: none"> - Describir los descriptores geométricos de plasmocitos en frotis de médula ósea en pacientes con neoplasia hematológica en el INEN en el año 2021 - Describir los descriptores colorimétricos de plasmocitos en frotis de médula ósea en pacientes con neoplasia hematológica en el INEN en el año 2021 	<p>Descriptores geométricos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Área - Perímetro - Diámetro - Ratio N/Cit - Ratio N/Cel - Circularidad - Hairiness <p>Descriptores colorimétricos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Espacio RGB - Espacio CMYK - Brillo - Intensidad - Saturación <p>Descriptores granulométricos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Textura 	<p>METODO:</p> <p>Hipotético - deductivo</p> <p>ENFOQUE:</p> <p>Cuantitativa</p> <p>TIPO:</p> <p>Aplicada</p> <p>DISEÑO:</p> <p>Según el análisis y alcance de sus resultados; Descriptivo simple</p> <p>Según el tiempo de ocurrencia de los hechos investigados; retrospectiva</p> <p>Según el período y secuencia de la investigación; ttransversal</p>	<p>POBLACION</p> <p>conformada por todos los frotices que ingresan al servicio de hematología especial en el año 2021.</p> <p>MUESTRA</p> <p>todos los frotices con presencia de plasmocitos en el año 2021 ingresados al servicio de hematología especial.</p>

**DOCUMENTOS PARA VALIDAR LOS INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN A TRAVÉS DE
JUCIO DE EXPERTOS**

Anexo N°2: VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS A TRAVÉS DE JUICIO DE EXPERTO

CARTA DE PRESENTACIÓN

Mgtr/Dr: _____

Presente:

Asunto: VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS A TRAVÉS DE JUICIO DE EXPERTO

Es muy grato comunicarme con usted para expresarle mi saludo y así mismo, hacer de su conocimiento que siendo estudiante del programa de SEGUNDA ESPECIALIDAD DE HEMATOLOGÍA requiero validar los instrumentos con la cual optaré el grado de especialista.

El título nombre de mi proyecto de investigación es: **“Descriptorios celulares en plasmocitos de frotis de médula ósea de pacientes con neoplasia hematológica en el INEN – LIMA 2021”** y siendo imprescindible contar con la aprobación de docentes especializados para aplicar los instrumentos en mención, he considerado conveniente recurrir a Usted, ante su connotada experiencia en temas del laboratorio de hematología y neoplasias hematológicas. El expediente de validación que le hago llegar contiene:

- Carta de presentación.
- Definiciones conceptuales de las variables y dimensiones.
- Matriz de operacionalización de las variables.
- Certificado de validez de contenido de los instrumentos.

Expresándole los sentimientos de respeto y consideración, me despido de Usted, no sin antes agradecer por la atención que dispense a la presente.

Atentamente,

Ivonne Mercedes De La Cruz Solier

DNI: 47587058

“Descriptores celulares en plasmocitos de frotis de médula ósea de pacientes con neoplasia hematológica en el INEN – LIMA 2021”

Definiciones conceptuales de variables y dimensiones

VARIABLE

Descriptores celulares: Los descriptores celulares nos proporcionan datos cuantitativos y nos sirve para formar algoritmos; con ello se trata de buscar agrupaciones naturales que aseguren similitud entre sus características para crear un modelo predictivo de la célula y se pueda identificar manual o automáticamente. Mediante el programa ImageJ - FIJI se realizará el procesamiento de las imágenes seleccionando el ROI (Región de interés) y finalmente obtener los datos cuantitativos de los descriptores geométricos y colorimétricos en las células plasmáticas y serán anotados en una ficha de recolección de datos

DIMENSIONES

DIMENSIÓN 1: Descriptores geométricos: miden en valores numéricos características morfológicas relacionadas con el tamaño y la forma celular. Se usará el programa Fiji para cuantificar parámetros como área celular, área citoplasmática, área del núcleo, área de nucléolo, perímetro celular, diámetro celular, relación núcleo/ citoplasma y excentricidad del núcleo respecto al citoplasma de la región de interés de los plasmocitos.

DIMENSIÓN 2: Descriptores colorimétricos: evidencian en cada pixel que compone una imagen con una ubicación y un valor de color particular, se puede representar en varios componentes espectrales. Se usará el programa Fiji para cuantificar parámetros como brillo del núcleo, matiz y saturación de la región de interés de los plasmocitos.

“Descriptorios celulares en plasmocitos de frotis de médula ósea de pacientes con neoplasia hematológica en el INEN – LIMA 2021”

N°	DIMENSIONES	PERTINENCIA ¹		RELEVANCIA ²		CLARIDAD ³		SUGERENCIAS
Variable: Descriptorios celulares								
D1	DIMENSIÓN 1: Descriptorios geométricos	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
1.	Área celular							
2.	Área citoplasmática							
3.	Área del núcleo							
4.	Área de nucleolo							
5.	Perímetro celular							
6.	Diámetro celular							
7.	Relación núcleo/citoplasma							
8.	Excentricidad del núcleo respecto al citoplasma							
D2	DIMENSIÓN 2: Descriptorios colorimétricos							
1.	Brillo del núcleo							
2.	Matiz							
3.	Saturación							

Observaciones (precisar si hay suficiencia):

Opinión de aplicabilidad: Aplicable () Aplicable después de corregir () No aplicable ()

Apellidos y Nombres del juez validador

Lic.: **DNI:**

Especialidad del validador:

¹ **PERTINENCIA:** El ítem corresponde al concepto teórico formulado.

² **RELEVANCIA:** El ítem es apropiado para representar el componente o dimensión específica del constructo

³ **CLARIDAD:** Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo.

NOTA: suficiencia; se dice cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión.

Lima, ... dedel 2023

Firma del experto

“Descriptorios celulares en plasmocitos de frotis de médula ósea de pacientes con neoplasia hematológica en el INEN – LIMA 2021”

N°	DIMENSIONES	PERTINENCIA ¹		RELEVANCIA ²		CLARIDAD ³		SUGERENCIAS
Variable: Descriptorios celulares								
D1	DIMENSIÓN 1: Descriptorios geométricos	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
1.	Área celular	✓		✓		✓		
2.	Área citoplasmática	✓		✓		✓		
3.	Área del núcleo	✓		✓		✓		
4.	Área de nucleolo	✓		✓		✓		
5.	Perímetro celular	✓		✓		✓		
6.	Diámetro celular	✓		✓		✓		
7.	Relación núcleo/citoplasma	✓		✓		✓		
8.	Excentricidad del núcleo respecto al citoplasma	✓		✓		✓		
D2	DIMENSIÓN 2: Descriptorios colorimétricos							
1.	Brillo del núcleo	✓		✓		✓		
2.	Matiz	✓		✓		✓		
3.	Saturación	✓		✓		✓		

Observaciones (precisar si hay suficiencia): *Existe suficiencia en el proyecto*

Opinión de aplicabilidad: Aplicable (X) Aplicable después de corregir () No aplicable ()

Apellidos y Nombres del juez validador

Lic.: *Vasquez Huete Abigail Eunice* DNI: *416 80847*

Especialidad del validador: *Especialista en Hematología*

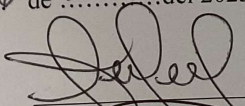
¹ **PERTINENCIA:** El ítem corresponde al concepto teórico formulado.

² **RELEVANCIA:** El ítem es apropiado para representar el componente o dimensión específica del constructo

³ **CLARIDAD:** Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo.

NOTA: suficiencia; se dice cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión.

Lima, *26* de *enero* del 2023


Firma del experto

“Descriptores celulares en plasmocitos de frotis de médula ósea de pacientes con neoplasia hematológica en el INEN – LIMA 2021”

N°	DIMENSIONES	PERTINENCIA ¹		RELEVANCIA ²		CLARIDAD ³		SUGERENCIAS
		SI	NO	SI	NO	SI	NO	
Variable: Descriptores celulares								
D1	DIMENSIÓN 1: Descriptores geométricos							
1.	Área celular	✓		✓		✓		
2.	Área citoplasmática	✓		✓		✓		
3.	Área del núcleo	✓		✓		✓		
4.	Área de nucleolo	✓		✓		✓		
5.	Perímetro celular	✓		✓		✓		
6.	Diámetro celular	✓		✓		✓		
7.	Relación núcleo/citoplasma	✓		✓		✓		
8.	Excentricidad del núcleo respecto al citoplasma	✓		✓		✓		
D2	DIMENSIÓN 2: Descriptores colorimétricos							
1.	Brillo del núcleo	✓		✓		✓		
2.	Matiz	✓		✓		✓		
3.	Saturación	✓		✓		✓		

Observaciones (precisar si hay suficiencia): Proyecto presenta suficiencia

Opinión de aplicabilidad: Aplicable () Aplicable después de corregir () No aplicable ()

Apellidos y Nombres del juez validador

Lic.: DR. PAUL AVELINO COLLUPÉ DNI: 41043323

Especialidad del validador: ESPECIALISTA Hematología

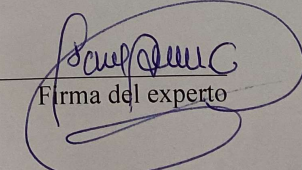
¹ **PERTINENCIA:** El ítem corresponde al concepto teórico formulado.

² **RELEVANCIA:** El ítem es apropiado para representar el componente o dimensión específica del constructo

³ **CLARIDAD:** Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo.

NOTA: suficiencia; se dice cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión.

Lima, 25 de ENERO del 2023


Firma del experto

“Descriptores celulares en plasmocitos de frotis de médula ósea de pacientes con neoplasia hematológica en el INEN – LIMA 2021”

N°	DIMENSIONES	PERTINENCIA ¹		RELEVANCIA ²		CLARIDAD ³		SUGERENCIAS
		SI	NO	SI	NO	SI	NO	
Variable: Descriptores celulares								
D1	DIMENSIÓN 1: Descriptores geométricos							
1.	Área celular	✓		✓		✓		
2.	Área citoplasmática	✓		✓		✓		
3.	Área del núcleo	✓		✓		✓		
4.	Área de nucleolo	✓		✓		✓		
5.	Perímetro celular	✓		✓		✓		
6.	Diámetro celular	✓		✓		✓		
7.	Relación núcleo/citoplasma	✓		✓		✓		
8.	Excentricidad del núcleo respecto al citoplasma	✓		✓		✓		
D2	DIMENSIÓN 2: Descriptores colorimétricos							
1.	Brillo del núcleo	✓		✓		✓		
2.	Matiz	✓		✓		✓		
3.	Saturación	✓		✓		✓		

Observaciones (precisar si hay suficiencia): PROYECTO PRESENTA SUFICIENCIA

Opinión de aplicabilidad: Aplicable (✓) Aplicable después de corregir () No aplicable ()

Apellidos y Nombres del juez validador

Lic.: DIKELINDA RODRIGUEZ GUADALUPE

DNI: 21257301

Especialidad del validador: TECNÓLOGA DE LABORATORIO CLÍNICO
(T3) EN EDUCACIÓN Y GESTIÓN UNIVERSITARIA

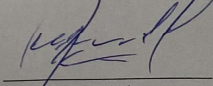
¹ **PERTINENCIA:** El ítem corresponde al concepto teórico formulado.

² **RELEVANCIA:** El ítem es apropiado para representar el componente o dimensión específica del constructo

³ **CLARIDAD:** Se entiende sin dificultad alguna el enunciado del ítem, es conciso, exacto y directo.

NOTA: suficiencia; se dice cuando los ítems planteados son suficientes para medir la dimensión.

Lima, 26 de ENERO del 2023


Firma del experto

Anexo 3: Ficha de recolección de datos

			Descriptores Geométricos								Descriptores Colorimétricos		
	N° frotis de AMO	Tipo de neoplasia	Área celular	Área citoplasmática	Área nuclear	Área nucleolo	Diámetro	Perímetro	Relación Núcleo/Citoplasma	excentricidad	Brillo	Matiz	Saturación
Plasmocito 1													
Plasmocito 2													
Plasmocito 3													
Plasmocito 4													
Plasmocito 5													
Plasmocito 6													
Plasmocito 7													
.....													

