

© 2006 por la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.  
ISBN 968-5480-68-0

***Hematología: Actualización 2006***, es el libro que recopila la versión escrita del Programa Educativo del XLVII Congreso Anual de esta agrupación.

Cualquiera parte de esta obra podrá reproducirse, otorgando los créditos correspondientes y refiriéndola de acuerdo a los lineamientos del Comité Internacional de Revistas Médicas.

La Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C., no asume ninguna responsabilidad por errores u omisiones potencialmente presentes en la información de los diferentes capítulos, ya que esta responsabilidad recae en los autores de los mismos.

Para cualquier asunto relacionado con esta obra, dirigirse a:

Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.  
San Francisco 1626-406 Colonia del Valle 03100  
México, D.F., México.  
Tel. (55) 55241112, Fax: (55) 55341856  
Correo electrónico: [ameh2003@prodigy.net.mx](mailto:ameh2003@prodigy.net.mx)

## **Mesa Directiva 2005-2007**

Dr. Julio Selva-Pallares  
Presidente

Dr. Raúl Cano-Castellanos  
Vicepresidente

Dra. María A. Vélez-Ruelas  
Secretaria

Dr. Antonio Luis-López  
Tesorero

Dr. David Gómez-Almaguer  
Vocal de Actividades Científicas

Dr. Oscar Hernández-Zamudio  
Vocal de Membresía

# ***HEMATOLOGÍA: ACTUALIZACIÓN 2006***

***Programa Educativo del XLVII Congreso Anual de la  
Agrupación Mexicana para el  
Estudio de la Hematología, A.C.  
Boca del Río, Veracruz, México.  
3-7 de Mayo de 2006***

***Editor:***

***Dr. Renán A. Góngora-Biachi***

***Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.  
Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi”  
Universidad Autónoma de Yucatán  
Mérida, Yucatán, México.***

## COLABOLADORES.

Dr. Álvaro Aguayo-González  
Investigador Titular  
Departamento de Hematología y Oncología  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”  
México, D.F., México.

QFB José Luis Alcaraz-López  
Jefe de Sección del Área de Inmunohematología  
BCS CMN Siglo XXI IMSS.  
México, D.F., México

Dr. Javier Altamirano-Ley.  
Jefe de la Unidad PET-CT.  
Hospital Ángeles. Lomas.  
Huixquilucan, Estado de México, México  
[draltaley@yahoo.com](mailto:draltaley@yahoo.com)

Dra. María de la Soledad Córdova-Caballero  
Ex Presidenta de la AMEH, A.C.  
Académico Titular de la Academia Nacional de Medicina,  
México. D.F., México  
[marias\\_cordova@prodigy.net.mx](mailto:marias_cordova@prodigy.net.mx)

Dr. José E. De Diego Flores-Chapa,  
Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE  
México, D.F. México.

Dr. José Clemente Díaz-Maqueo  
Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.  
México, D.F., México.

Dr. Jaime García-Chávez  
Clínica de Hemostasia y Trombosis,  
Centro Médico Nacional La Raza, IMSS  
México, D.F., México

Dra. Miriam A. García-Ruiz Esparza  
Departamento de Hematología  
Hospital de Especialidades,  
Centro Médico La Raza. IMSS  
México, D.F., México.

Dr. David Gómez-Almaguer  
Facultad de Medicina y Hospital Universitario UANL,  
Monterrey Nuevo, León, México  
[dr\\_gomez@infosel.net.mx](mailto:dr_gomez@infosel.net.mx)

Dr. Renán A. Góngora-Biachi  
Ex Presidente de la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.  
Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi”  
Universidad Autónoma de Yucatán  
Mérida, Yucatán, México.

Dr. Oscar González-Llano  
Hospital Universitario  
Monterrey Nuevo León, México

Dr. Mario Gutiérrez-Romero  
Ex Presidente de la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.  
Departamento de Hematología. Hospital General de México,  
México, D.F., México  
[mgutierrezr\\_2000@yahoo.com.mx](mailto:mgutierrezr_2000@yahoo.com.mx)

Dr. Juan R. Labardini-Méndez  
Ex Presidente de la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.  
Departamento de Hematología  
Instituto Nacional de Cancerología  
México, D.F., México.

Dr. Eucario León-Rodríguez  
Departamento de Hematología y Oncología  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán  
México, D.F., México.

Dr. Rubén Daniel Lobato-Tolama  
Servicio de Hematología  
Hospital de Especialidades, UMAE  
Puebla, Puebla, México.

Dra. Carmen Lome-Maldonado  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán  
México, D.F., México.

Dr. Manuel Antonio López-Hernández  
CMN “20 DE Noviembre” ISSSTE  
México, D.F., México.

Dr. Xavier López-Karpovitch  
Jefe, Departamento de Hematología y Oncología.  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.  
México, D.F., México.

Dra. Norma López-Santiago  
Instituto Nacional de Pediatría  
México, D.F., México.

Dr. Norman Maldonado  
Departamento de Hematología.  
Guaynabo, Puerto Rico.

Dr. Abraham Majluf-Cruz  
Servicio de Hematología  
Hospital Regional No. 1 Gabriel Mancera. IMSS  
México, D.F., México.

Dr. Rafael Antonio Marín y López  
Ex Presidente de la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.  
Dirección General del Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea  
México D.F., México  
[cnts@salud.gob.mx](mailto:cnts@salud.gob.mx), [www.salud.gob.mx/unidades/cnts](http://www.salud.gob.mx/unidades/cnts),

EBC Julio César Martínez-Álvarez.  
Banco Central de Sangre,  
Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS  
México, D.F. México.

Dra. Malva Mejía-Arregui  
Coordinador de Educación e Investigación en Salud  
BCS CMN Siglo XXI IMSS.  
México, D.F., México.

Dra. Angélica C. Monsiváis-Orozco  
Instituto Nacional de Pediatría  
México, D.F., México.

Dr. Carlos Ortiz-Hidalgo  
Departamento de Patología  
Hospital ABC  
México, D.F., México.

Dra. Julia Palma  
Universidad de Chile  
Santiago, Chile

Dr. Rogelio Paredes-Aguilera  
Ex Presidente de la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.  
Servicio de Hematología  
Instituto Nacional de Pediatría  
México, D.F., México.

Dra. Teresa Pompa-Garza  
Hosp. de Especialidades No. 25, IMSS  
Monterrey, Nuevo León, México.

Dra. Sandra Quintana-González  
Banco Central de Sangre  
Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS  
México, D.F., México.

Dr. Guillermo J. Ruiz-Argüelles  
Ex Presidente de la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.  
Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla,  
Laboratorios Clínicos de Puebla  
Puebla, Puebla, México.

Dr. Sergio Arturo Sánchez-Guerrero  
Departamento de Hematología y Oncología  
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán  
México, D.F., México.

Dr. Miguel A. Sanz  
Hospital Universitario La Fe,  
Valencia, España.

Dr. Jorge Vela-Ojeda  
Jefe de Departamento de Hematología  
Hospital de Especialidades,  
Centro Médico La Raza. IMSS  
México, D.F., México.

---

---

## Mensaje del Presidente 47° Congreso Anual.

Todos sabemos que el programa educativo es el principal motivo de nuestro congreso anual y el libro educacional -este año "**Hematología. Actualización 2006**"- ha venido a ser una parte integral del mismo. Éste es y ha sido también una herramienta en la práctica de la Hematología y en la enseñanza de la misma.

Desde hace ya varios años se ha sostenido el esfuerzo para mantener una alta calidad en las presentaciones que integran el programa educativo y la versión escrita sirve también como referencia de los temas que se presentan en él.

Por tal motivo, el libro "**Hematología. Actualización 2006**" continúa el esfuerzo de la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C., manteniendo la publicación como edición propia, teniendo siempre la visión de que este libro educativo llene sus expectativas y muestre los adelantos en cada uno de los campos en los que se ve involucrado día a día la práctica hematológica. Es la versión escrita del programa educativo de nuestro 47° Congreso Anual realizado en la ciudad de Boca del Río-Veracruz del 3 al 7 de mayo del año 2006.

Quiero expresar mi gratitud al editor, participantes, revisores y staff de la AMEH, quienes han hecho importantes contribuciones para la creación de este volumen, con su altruismo, tiempo y esfuerzo. Deseo de que cada año nuestro libro del programa educativo sea mejor, ya que la educación es el valor central de nuestra sociedad y este volumen es uno de nuestros más visibles vehículos para alcanzar este objetivo.

Mayo de 2006.

Dr. Julio Edgar Selva Pallares

Presidente

Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.

# Índice

## Capítulo 1

*LA ENSEÑANZA DE LA HEMATOLOGÍA EN MÉXICO.* 1

## Capítulo 2

*CONTROVERSIAS EN HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA.* 3

INFECCIONES VIRALES Y MANIFESTACIONES HEMATOLÓGICAS. 3

INMUNOSUPRESIÓN EN ANEMIA APLÁSICA. 5

## Capítulo 3

*HEMOPATÍAS MALIGNAS EN PEDIATRÍA.* 9

TÓPICOS ACTUALES Y TENDENCIAS FUTURAS EN EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA EN NIÑOS. 10

BASES MOLECULARES PARA EL TRATAMIENTO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA EN NIÑOS. 12

TRATAMIENTO DE LA LAM M-3 EN NIÑOS. 14

## Capítulo 4

*LA SEGURIDAD TRANSFUSIONAL.* 20

ANÁLISIS DE LOS ENTORNOS. 20

SEGURIDAD SANGUINEA EN MÉXICO. 21

## Capítulo 5

*SÍNDROMES DE FALLA MEDULAR.* 24

SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS (SMD). 24

NOVEDADES TERAPÉUTICAS EN LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS. 26

HEMOGLOBINURIA PAROXÍSTICA NOCTURNA: HEMÓLISIS INTRAVASCULAR CRÓNICA Y DEFICIENCIA DE OXIDO NÍTRICO. UN NUEVO MECANISMO FISIOPATOGÉNICO. 28

## Capítulo 6

*TÓPICOS EN HEMOSTASIA.* 35

ALARGAMIENTO DE LOS TIEMPOS DE COAGULACIÓN. 35

EVALUACIÓN DEL PACIENTE CON INSUFICIENCIA HEPÁTICA. 41

TRATAMIENTO DE LA HEMORRAGIA EN EL PACIENTE CON CÁNCER. 43

ESTADOS DE TROMBOFILIA PRIMARIA EN MÉXICO. 46

## Capítulo 7

*TERAPÉUTICA CON ANTICUERPOS MONOCLONALES EN HEMATOLOGÍA.* 55

ANTICUERPOS MONOCLONALES TERAPÉUTICOS EN HEMATOLOGÍA. 55

ALEMTUZUMAB. 56

RITUXIMAB: ANTI-CD 20. 58

## Capítulo 8

*LEUCEMIAS AGUDAS EN EL ADULTO.* 61

CRITERIOS ACTUALES DE DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO EN LEUCEMIA AGUDA DEL ADULTO. 61

LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA. TRATAMIENTO. 63

PREVALENCIA DE LA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA (LPA) EN LATINOAMÉRICA. 66

MARCADORES MOLECULARES DE LA LEUCEMIA AGUDA PROMIELOCÍTICA EN LATINOAMÉRICA. 66

---

|   |           |
|---|-----------|
| PROTOCOLO AUSPICIADO POR LA AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY PARA EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA EN PAÍSES EN DESARROLLO. | 67        |
| <b>Capítulo 9</b>   |           |
| <b><i>DIAGNÓSTICO PATOLÓGICO Y POR IMAGEN EN HEMATOLOGÍA.</i></b>   | <b>73</b> |
| LINFOMAS NO HODGKIN ACTUALIDADES Y RELEVANCIA CLÍNICA DEL DIAGNÓSTICO HEMATOPATOLÓGICO.   | 73        |
| LA BIOPSIA DE MÉDULA ÓSEA. INFORME HISTOPATOLÓGICO BÁSICO.  | 79        |
| FUNDAMENTOS DE LA TOMOGRAFÍA POR EMISIÓN DE POSITRONES Y TOMOGRAFÍA MULTICORTE EN HEMATO-ONCOLOGÍA.   | 82        |
| <b>Capítulo 10</b>  |           |
| <b><i>MIELOMA MÚLTIPLE.</i></b>   | <b>87</b> |
| HISTORIA DEL MIELOMA MÚLTIPLE.  | 87        |
| LA RESPUESTA INMUNE EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE.  | 89        |
| <b>Capítulo 11</b>  |           |
| <b><i>EL BANCO DE SANGRE EN EL ESTUDIO DEL TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS.</i></b>                                      | <b>93</b> |
| ESTUDIOS INMUNOHEMATOLÓGICOS EN TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS.   | 93        |
| ESTUDIOS DE HLA EN EL PACIENTE DE TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS.   | 95        |
| <b>Capítulo 12</b>  |           |
| <b><i>TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS.</i></b>   | <b>99</b> |
| AUTOTRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS EN CARDIOPATÍA ISQUÉMICA.  | 99        |
| MÉDULA ÓSEA ESTIMULADA CON FACTOR ESTIMULADOR DE GRANULOCITOS COMO FUENTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS EN TRASPLANTE ALOGÉNICO.  | 101       |
| TRASPLANTE DE PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS EN NIÑOS CON SÍNDROMES HISTIOCÍTICOS.   | 103       |
| TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA PEDIÁTRICO EN EL SISTEMA PÚBLICO DE SALUD EN CHILE: OCTUBRE 1999-DICIEMBRE 2005.                                  | 104       |

# LA ENSEÑANZA DE LA HEMATOLOGÍA EN MÉXICO.

## Capítulo 1

**María de la Soledad Córdova-Caballero.**

El Curso de Especialidad de Hematología se inicia en 1952, seguidamente de los cursos de Gastroenterología y Endocrinología, con reconocimiento de la Universidad Nacional Autónoma de México, en el Hospital de Nutrición.

El programa de enseñanza de la hematología de posgrado, desde un principio mostró ser un modelo académico sólido para la formación de hematólogos con aptitudes clínicas y dominio de técnicas y procedimientos; capaces de ser factores multiplicadores de servicios de hematología y maestros de nuevas generaciones. Es así como, a través de los primeros egresados se instalan servicios de hematología en diferentes instituciones de salud y mediante las residencias médicas se insertan en el sistema de educación de posgrado universitario, formando hematólogos con un mismo programa en las diferentes sedes.

Como parte del Programa de Intercambio de Hematólogos Latinoamericanos, organizado por el Maestro Luis Sánchez Medal, se realizó la I Jornada Latinoamericana de Trabajos Cooperativos de Hematología en Cuba, durante 1973; con el propósito de integrar grupos de trabajo, entre ellos el de docencia.

El Grupo de Docencia se formó con los profesores de aquellos países que en 1973, actuaban en la enseñanza de hematología de posgrado: Argentina, Brasil, Costa Rica, Cuba, México, Panamá y Venezuela. Después de evaluar los programas de enseñanza fue seleccionado el de México por su contenido y experiencia docente. Y, se acordó el objetivo del trabajo cooperativo: "Unificar la enseñanza de la especialidad de hematología en Latinoamérica "

De común acuerdo fueron formuladas las condiciones indispensables para el desarrollo del curso de especialidad de hematología: 1. Como requisito de admisión, ser médico titulado con mínimo dos años de medicina interna o pediatría; 2. La duración del curso, dos años tiempo completo y 3. El contenido, actividades clínicas 60% y actividades académicas 40%.

Así mismo, fueron planteadas y aceptadas las características obligadas del hematólogo latinoamericano:

Ser capaz de dar atención integral a los pacientes con padecimientos hematológicos

Saber indicar, interpretar y realizar las pruebas y procedimientos de hematología

Aptitud para organizar, dirigir y administrar bancos de sangre

Conocer la metodología de investigación en relación a la especialidad

Estar preparado para participar en la docencia de la hematología

Al término del trabajo cooperativo, el Grupo de Docencia se comprometió dar seguimiento a los acuerdos sobre el programa aprobado para la enseñanza de la hematología, revisarlo, actualizarlo y, si fuese necesario, modificarlo. Con este propósito se efectuaron tres reuniones de trabajo en México, 1976, 1980 y 1984, cada una de ellas con objetivos específicos y agendas de trabajo, los profesores asistentes participaron activamente y de las conclusiones logradas se derivaron las recomendaciones para optimizar el programa de enseñanza de hematología latinoamericano.

En la última reunión, el Grupo de Docencia

después de evaluar los avances alcanzados manifestó la aspiración de formar hematólogos capaces de:

Enfrentar nuevos retos de servicio

Propiciar cambios con la articulación de conocimientos y destrezas

Ser investigador y docente

En el lapso de 1985 al 2006, se ha reformado el programa de enseñanza de hematología de México acorde al avance de la ciencia y la tecnología, de lo cual es responsable el Comité de hematología. La Dirección de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México, instauró Comités integrados por profesores a cargo de las diferentes especialidades médicas, entre ellos el Comité de hematología, con la intención de comprometerlos del cumplimiento de los programas de enseñanza y su actualización. El Curso de Hematología Pediátrica logró el aval universitario en las cinco sedes adonde se imparte. Disponibles dos diplomados, con un año de duración cada uno, sobre trasplante de médula ósea y medicina transfusional. El programa de hematología vigente, amplió su duración a tres años, refiere temas obligados como la citogenética, los estudios de la trombofilia y de inmunofenotipo, entre otros, que requieren del tiempo suficiente para su comprensión e interpretación. Convendría incluir lo referente a control de calidad, acreditación y certificación.

Diversos países, entre ellos Cuba, iniciaron la Educación por Competencias, aprendizaje basado en resultados, con la finalidad la formar recursos humanos para las exigencias del futuro, un sistema que puede aplicarse a la especialidad de hematología de México. En este momento, debemos los hematólogos del presente ser ejemplo de las nuevas generaciones y comprometernos a garantizar mejores condiciones de atención y asistencia, fomentar la investigación; incrementar las publicaciones; divulgar la especialidad y promover la formación de grupos de trabajo cooperativo multicéntricos.

## **BIBLIOGRAFÍA.**

- 1.- Arends T. y col. Las primeras Jornadas Latinoamericanas de Trabajos Cooperativos en Hematología. *Sangre* 19: 111,1974.
- 2.- Ruíz Reyes G. Apuntes para la historia de la Hematología en Iberoamérica: México. *Enciclopedia Iberoamericana de Hematología*. Ed. Universidad de Salamanca. Vol. V:730,1992.
- 3.- Viniegra Velásquez L. Aprender-Enseñar. Los intereses académicos de la educación médica. *Academia Nacional de Medicina. Vox Médica* Núm.5:2,2000. Núm. 2:2,2001 y Núm.3:3,2.

---

# **CONTROVERSIAS EN HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA.**

## **Capítulo 2**

**José E. De Diego Flores-Chapa, Teresa Pompa-Garza, Angélica C. Monsiváis-Orozco.**

### **INTRODUCCIÓN.**

#### **J.E. De Diego Flores-Chapa.**

Si bien la cantidad de enfermedades hematológicas en la infancia es menor a la observada en la edad adulta y que un número importante de ellas pueden y son tratadas por el Pediatra, existen un grupo de ellas, que causan controversia en su estudio y manejo; entre éstas encontramos principalmente la púrpura trombocitopénica inmune, especialmente la crónica, al persistir o reincidir la trombocitopenia después de 6 meses del diagnóstico y a pesar de tratamiento, ya que en un pequeño número de niños no se consigue su control y si en muchas ocasiones las secuelas del tratamiento no favorecen la vida normal del pequeño. La esplenectomía es un arma terapéutica indicada al fracaso a los mismos. El contar con los nuevos esquemas de vacunación, este procedimiento se pudiese plantear a partir del año de evolución, ya que al parecer el dilatarlo puede disminuir las tasas de respuesta, sin embargo la conducta expectante, no existiendo manifestaciones hemorrágicas, debe ser considerada (1-5).

Las infecciones virales suelen condicionar alteraciones en la sangre periférica, médula ósea y la hemostasia (6), que en ocasiones son confundidas con enfermedades hematológicas y potencialmente mortales, el diagnóstico adecuado disminuye la morbimortalidad.

El papel que juega la inmunosupresión en el manejo de la anemia aplásica es importante, sin embargo su administración en la niñez es controvertido (7).

### **INFECCIONES VIRALES Y MANIFESTACIONES HEMATOLÓGICAS.**

#### **T. Pompa-Garza.**

Hay dos tipos de virus que pueden afectar a los linfocitos: los virus linfotrópicos de las células T humanas conocidos como VIH y dos miembros del grupo herpesvirus: el virus de Epstein-Barr y el citomegalovirus.

Los virus VIH son virus RNA que infectan a los linfocitos T4 maduros y una vez dentro de estos usan una enzima llamada transcriptasa inversa para copiar la información genética del DNA que se integra después al DNA de la célula. El segundo grupo de virus, el virus de Epstein-Barr (EB) y el citomegalovirus son virus DNA.

Como en la mayoría de las infecciones crónicas, la infección por VIH se asocia a supresión de la médula ósea la cual es mayor en enfermedad avanzada, siendo la anemia la más común de las citopenias pero frecuentemente están afectadas otras líneas celulares. La asociación de anemia y trombocitopenia se observa en menos de 50% de los pacientes y la de neutropenia y

trombocitopenia en una tercera parte.

**Mecanismo de la anemia en la infección por VIH:**

**Infección de médula ósea por VIH :**

Disminución de producción de EPO

**Anemia hemolítica:**

Destrucción inmune

Micoangiopatía trombótica

Síndrome hemofagocítico

**Déficit de B12:**

Disminución de la producción de factor intrínseco

Enteropatía por infección VIH

**Déficit de ácido fólico:**

Enteropatía por VIH

Infecciones intestinales

Fármacos como cotrimoxazol y pirimetamina

**Déficit de hierro:**

Disminución en el aporte dietético

Reducción de la absorción intestinal

Hemorragias

**Fármacos antirretrovirales:**

Zidovudina, ddC, d4T, rinvabirina, foscarnet, etc.

**Infecciones de la médula ósea:**

Citomegalovirus, parvovirus B19, Mycobacterium tuberculosis, Pneumocystis carinii, etc.

Otros de los factores que contribuyen a la anemia son la elevación de factor de necrosis tumoral-alfa, interleucina I beta e interferon gama.

El problema nutricional también forma parte de la causa de anemia ya sea por que en fases avanzadas de la enfermedad hay poca ingesta y hay bajos niveles de vitamina B12 sin embargo esta no es útil en el tratamiento ya que hay mala absorción de esta vitamina y hay anomalías en las proteínas de unión de la vitamina B12.

La anemia hemolítica autoinmune es rara en Sida excepto en los pacientes con altos requerimientos transfusionales. A diferencia de lo que ocurre en las anemias hemolíticas autoinmunes en cualquier otra persona, en las personas con Sida no hay respuesta reticulocitaria por la anemia crónica concomitante.

La trombocitopenia que puede presentarse en los individuos infectados con el virus de inmunodeficiencia humana es más común en personas de edad avanzada y con cuentas más bajas de linfocitos CD4.

La incidencia de trombocitopenia en esta patología se considera ocurre en un 20% de los casos sintomáticos y un 9% de los positivos no sintomáticos. La fisiopatología incluye destrucción plaquetaria mediada por mecanismo inmune y un defecto en la producción plaquetaria. También puede deberse a efecto mielosupresor de algunas de las drogas utilizadas en la terapia.

Esta última causa es la principal etiología de la neutropenia encontrada en los pacientes infectados con el VIH. La neutropenia. Los principales medicamentos involucrados incluyen ganciclovir, sulfametoxazol/trimetoprim, zidovudina, siendo este medicamento antirretroviral el fármaco que produce más frecuentemente anemias mediante la inhibición de la síntesis de DNA en las células progenitoras de la médula ósea ya que es un análogo de la timidina e impide la incorporación de las bases pirimídicas en el DNA. Esta anemia es macrocítica. Los inhibidores de las proteasas no tienen toxicidad hematológica.

Los factores estimulantes de colonias de granulocitos pueden usarse para disminuir el riesgo de infecciones oportunistas. La interleucina 3 (IL-3) a dosis de 0.5 a 5 mg/kg/día incrementa la cuenta de neutrófilos.

En cuanto a anomalías de coagulación puede haber trombosis en los pacientes VIH positivos secundario a una deficiencia de proteína S, la cual se observa en un 73% de los pacientes.

Otras infecciones virales asociadas citopenias por afectación de la hematopoyesis destacan las producidas por citomegalovirus, parvovirus B19 y virus de Epstein-Barr.

La infección causada por el parvovirus B19, el cual es el único parvovirus patógeno para el ser humano puede manifestarse de diferentes maneras según el estado inmunológico del individuo.

El parvovirus B19 tiene predilección por las células de crecimiento rápido particularmente los precursores de células rojas en la médula ósea mediante un receptor para el sistema P y por lo tanto causan eritroblastopenia transitoria principalmente en personas que tienen un trastorno hemolítico concomitante.

Asimismo puede producir trombocitopenia, neutropenia y síndrome hemofagocítico lo cual en

pacientes inmunocomprometidos pueden resultar en aplasia prolongada.

También puede haber plaquetopenia por el parvovirus B19 hasta en un 13% de los niños con PTI aguda.

#### **VIRUS DEL EPSTEIN-BARR:**

Se asocia con las siguientes manifestaciones hematológicas:

- Linfocitos atípicos
- Anemia hemolítica autoinmune adquirida
- Agranulocitosis
- Anemia aplásica
- Linfadenopatía y esplenomegalia
- Trombocitopenia inmune
- Síndrome hemofagocítico
- Linfomas

Otros virus como el virus influenza A H5N1, causante de la llamada fiebre aviar, que en forma reciente está infectando a seres humanos, también puede causar alteraciones hematológicas principalmente linfopenia con disminución del índice linfocito/neutrófilo y también puede ocasionar anemia.

### **INMUNOSUPRESIÓN EN ANEMIA APLÁSICA.**

#### **A. C. Monsiváis-Orozco.**

La anemia aplásica (AA) se presenta con una incidencia anual estimada de 2-6 por millón. La evaluación de pacientes pediátricos requiere excluir una insuficiencia medular hereditaria. Una vez diagnosticada se clasifica como grave, muy grave o no grave de acuerdo a los criterios de Camita. Existe una correlación entre la gravedad y el pronóstico.

#### **Tratamiento.**

El tratamiento de elección para pacientes con AA grave (AAG) con un hermano HLA idéntico es el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) con una posibilidad de curación entre 70-90%. El hallazgo de una recuperación hematopoyética autóloga en pacientes con falla de injerto en TCPH llevó a la utilización de tratamiento inmunosupresor (TIS) en pacientes con AAG.

Se ha reportado una supervivencia de 61% en pacientes tratados con globulina antitímocito (GAT), el tratamiento combinado de GAT o globulina antilinfocito (GAL) con ciclosporina (CSP) incrementa la tasa de respuesta a 75%-90% y disminuye el tiempo de respuesta y la frecuencia de recurrencia. La respuesta a CSP como agente único es inferior que GAT o GAL.

Se utiliza GAT o GAL a una dosis de 40 mg/kg día por 4 días y CSP para mantener niveles séricos entre 200-300 ng/ml por al menos 6 meses. Se administran esteroides por 2 semanas para prevenir enfermedad del suero.

Característicamente, la respuesta al TIS es lenta y con frecuencia incompleta, se ha observado en pacientes pediátricos una respuesta completa a los 3, 6 y 12 meses de 13%, 39% y 55% con una respuesta global (completa más parcial) en 61%, 74% y 80% de los pacientes respectivamente, las cuentas celulares pueden disminuir con la suspensión y/o reducción de la dosis de CSP e incrementan al reiniciar o aumentar la dosis de CSP. Se observa recurrencia en hasta 36% de los pacientes tratados con GAT más CSP pudiendo disminuir esta incidencia a 10% si se prolonga el periodo de reducción de CSP. Algunos pacientes son dependientes de cursos prolongados de CSP y vivirán con una enfermedad crónica, en ocasiones con citopenias graves que pongan en peligro la vida. La supervivencia a 5 años es similar que en pacientes trasplantados sin embargo la respuesta frecuentemente es incompleta.

Los reportes del TIS en niños han sido controversiales, algunos autores han reportado mejor respuesta en niños > 5 años que en < 5 años mientras que otros muestran lo contrario. Se ha reportado una respuesta al TIS en < 5 años de 11% recomendándose la búsqueda temprana de un donador no relacionado en este grupo étnico.

Existe controversia en cuanto a la administración de FEC-G, en algunos estudios se reporta mejoría en la supervivencia, mientras que en otros se reporta ausencia de respuesta ó se observa sólo un incremento transitorio en los neutrófilos, sin mejoría en la supervivencia, con asociación a alteraciones clonales.

### **Retratamiento.**

Los pacientes refractarios al tratamiento inicial o que recaen después de una respuesta inicial se pueden beneficiar al recibir un segundo curso de TIS, idéntico o diferente, que se recomienda a los 3-6 meses del curso inicial. Se ha reportado una respuesta en el 63% que es similar en la enfermedad refractaria y en la recaída, sin embargo la supervivencia es diferente siendo de 75% para los pacientes con recaída, 55% para los refractarios iniciales y de 29% para los que no respondieron a un segundo curso de TIS.

En el mercado existe GAT de ratón (GATr) o de caballo (GATc). Algunos estudios demuestran que dar cursos adicionales de GAT no parece mejorar la tasa de respuesta independientemente del tipo de globulina que se utilice, otros autores reportan respuestas de hasta 30% en pacientes que fueron tratados con GATc y que fueron retratados con GATr o viceversa.

### **Supervivencia.**

La mortalidad en pacientes con AA tiene una distribución bimodal, la mayoría de las muertes se presentan dentro de los primeros 6 meses por hemorragia o infección ó puede haber muertes tardías por recaídas, evolución clonal o malignidad. Se consideran factores pronósticos favorables la respuesta al tratamiento inicial, menor edad o citopenias menos graves, la evolución clonal o malignización predicen un mal pronóstico. La supervivencia en adultos con un seguimiento a 7-11 años es de 55-58%. En pacientes pediátricos es de 80% en 3 estudios independientes pero el seguimiento promedio es de 4 años por lo que puede estar subestimada la mortalidad por complicaciones clonales tardías.

### **Complicaciones tardías.**

Las más graves son los trastornos hemato-poyéticos clonales, [Síndrome mielodisplásico (SMD) o Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN)]. No está bien determinado si estos reflejan la historia natural de pacientes con AAG o son secundarios al TIS. Se cree que la célula tallo dañada es genéticamente inestable y adquiere el defecto por una mutación somática, las clonas resultantes pueden ser resistentes a la supervi-

sión inmune o al daño mediado por Fas y expandirse. El SMD o LAM se presenta en 10-20% de los pacientes después del TIS.

Se pueden observar alteraciones citogenéticas al diagnóstico que pueden desaparecer espontáneamente o con el TIS sin que afecten el pronóstico. La aparición de alteraciones citogenéticas de novo después del TIS se ha asociado con un pronóstico adverso. Pacientes con trisomía 8 son frecuentemente dependientes de tratamiento prolongado con CSP pero tienen un pronóstico relativamente bueno. La trisomía 6 se ha considerado como un marcador de refractariedad al TIS. La presencia de monosomía 7 es un presagio de pancitopenia refractaria y alta probabilidad de transformación leucémica. La trisomía 6 es más frecuente al diagnóstico, mientras que la monosomía 7 es más frecuente después del tratamiento.

Existen estudios controversiales que han asociado la utilización de FEC-G al desarrollo de monosomía 7 y SMD en niños, siendo los principales factores de riesgo la falta de respuesta al TIS y el tratamiento con FEC-G, por lo que se recomienda su uso racional, basado en criterios de respuesta y las dosis recomendadas. Su uso rutinario en AA no grave no está recomendado.

### **Otras modalidades terapéuticas.**

Los pacientes que no tienen respuesta a un curso de TIS deben ser considerados para un TCPH de donador no familiar HLA compatible o de un familiar parcialmente compatible, la supervivencia es menor del 50%, la toxicidad relacionada al trasplante puede reducirse y mantenerse el injerto al combinar, ciclofosfamida (CFM), GAT y dosis no mieloablativas (200-600 cGy) de irradiación corporal total

Se han utilizado esteroides androgénicos que tienen un efecto predominante en la eritropoyesis que pueden tener mejoría en la hemoglobina y en los requerimientos transfusionales. A pesar de respuesta en 75% de los pacientes, no hay mejoría en la supervivencia y los efectos adversos son considerables.

Se ha utilizado CFM como un agente inmunosupresor. Brodsky y colaboradores reportaron una respuesta favorable al utilizarla a

dosis elevadas (50mg/kg por 4 días), La posibilidad de tener cuentas celulares normales fue de 65% a 50 meses, sin embargo la respuesta fue muy lenta y se observó respuesta completa en menos del 10% de los pacientes al año y de 25% en 2 años. Otros estudios han tenido una elevada mortalidad temprana por toxicidad excesiva.

Algunas series de casos han reportado la utilización de micofenolato de mofetilo en combinación con otros agentes inmunosupresores, anti IL-2, sirolimus, tacrolimus, rapamicina y esplenectomía.

### Conclusiones.

Se debe buscar un balance entre morbilidad, complicaciones a largo plazo del TIS con la toxicidad a corto plazo del régimen de acondicionamiento. Se debe realizar el TCPH en niños con AAG que tengan un hermano HLA compatible, en caso de no contar con un hermano compatible el tratamiento de elección es GAT o GAL con CSP.

### REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.

#### CONTROVERSIAS EN HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA.

- 1.- Khüne T and Imbach P. Chronic thrombocytopenic purpura in childhood. *Semin Thromb Hemat* 1998; 24(6): 549-552.
- 2.- Bussel J and Cines D. Immune Thrombocytopenic Purpura, Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia, and Posttransfusion Purpura. In Hoffman R. *Haematology Basic Principles and Practice*. 3 rd edition. Churchill Livingstone 2000: Cap, 126; 2095 - 2111.
- 3.- Imbach P, Khüne T and Holländer G. Immunologic aspects in the pathogenesis and treatment of immune thrombocytopenic purpura in children. *Current opinin Pediatr* 1997; 9: 35-40.
- 4.- Díaz A., Díaz de Heredia C., Tusell J., Quintana S. Purpura Trombocitopénica Crónica y Remitente. *An Pediatr* 2003;5,9(1):6-12.
- 5.- Buchanan G. *Pediatrics in Review*. 2005;26;11.

6.- González X., Notario M., Alteraciones de la hemostasia en las enfermedades virales. 1999;15(1):21-4.

7.- Benitez H. Actualidades en el tratamiento de la anemia aplásica. *Gac Méd Méx Vol.138 Suplemento No. 1, 2002:21-22.*

#### INFECCIONES VIRALES Y MANIFESTACIONES HEMATOLÓGICAS.

- 1.- Sicand,E: Hematologic complications of HIV infection. *AIDS Rev* 2005; 7:187-96.
- 2.- Koka PS, Reddy ST. Cytopenian in HIV infection:mechanisms and alleviation of haematopoietic inhibition.*Curr HIV Res* 2004; 2: 275-82.
- 3.- Meira DD,Lorand-Metze I Bone marrow features in children with HIV infection and peripheral blood cytopenias. *J. Trop Pediatr* 2005; 51:114-9.
- 4.- Yetgin S,Cetin M.,Aslan .Parvovirus B19 infection presenting as pre B acute lymphoblastic leukemia: a transiet and progressive curse in two children. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26: 689-92.
- 5.- Aktepe GC,Yetgin,S.Olcay.Human parvovirus B19 associated with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Pediatr Hematol.Oncol* 2004; 21:421-6.
- 6.- Sloand EM, Klein HG, Banks SM. Epidemiology of thrombocytopenia in HIV infectection. *Eur J Haematol* 1992; 8:168-72.
- 7.- Ambinder,RF. Epstein-Barr virus associated lymphoprolifeative disorders. *Rev Clin Exp Hematol* 2003; 7:362-74.
- 8.- Balperio PS, Rhew DC. Prevalence and outcomes of anemia in individuals with human inmunoodeficiency virus: a systematic review of literature. *Am J Med* 2004; 116 (suppl): 7A .
- 9.- Wiwantkit, V. *Inf Dis Clin.Pract* 2006; 14:9-11.
- 10.- Kase S, Nambak K. Epstein-Barr virus infected cells in the aqueous humour originated from nasal NK/ T cell lymphoma. *Br J Ophthalmol* 2006; 90: 244-45.

**INMUNOSUPRESIÓN EN ANEMIA APLÁSICA.**

- 1.- Peter Kurre Leonard Johnson and Joachim Deeg, Review Diagnosis and Treatment of Children with aplastic Anemia. *Pediatr Blood Cancer* 2005;45:770-80.
- 2.- Young NS, Acquired Aplastic Anemia. *Ann Intern Med.* 2002; 136 (7): 534-46.
- 3.- Abkowitz MD. Aplastic Anemia: Wich treatment? *Ann Intern Med.* 2001; 135 (7): 524-26.
- 4.- Brodsky RA, Jones RJ. Aplastic anaemia. *Lancet* 2005; 365 (7): 1647-56.
- 5.- Locasciulli A. Acquired Aplastic Anemia in Children. Incidence, prognosis and treatments options. *Pediatr Drugs* 2002, 4 (11) 761-6.
- 6.- Bacigalupo *et al.* Treatment of Acquires Severe Aplastic Anemia: Bone Marrow Transplantation Compared with immunosuppressive therapy- The European Group for Blood and Marrow Transplantation experience. *Sem Hematol* 2000; 37: 69-80.
- 7.- The modern management of severe aplastic anaemia. *Br J Haematol* 2000; 110: 41-53.
- 8.- Socié R, Frickhofen G, *et al.* Late clonal diseases of treated aplastic anemia. *Semin Hematol* 2000; 37: 91-101.
- 9.- Brodsky Ra, Sensengrenner LL, Smith BD, Dorr D, *et al.* Durable treatment-free remission after high-dose cyclophosphamide therapy for previously untreated severe aplastic anemia. *Ann Intern Med.* 2001; 135: 477-83.
- 10.- Isdale JF, Dunn DE, Geller N, *et al.* High dose cyclophosphamide in severe aplastic anaemia: a randomised trial. *Lancet* 2000; 356: 1554-9.
- 11.- Keohane EM Acquires Aplastic Anemia. *Clin Lab Scien* 2004; 17 (3): 165-71.
- 12.- Johnson FL. What is the most effective treatment of Children with severe aplastic anemia who lack a matched sibling donor? *Bone Marrow Transplant* 1996; 18 (suppl 3): S39-S44.
- 13.- Frickhofen N, Rosenfeld SJ. Immunosuppressive treatment of Aplastic Anemia with antithymocyte globulin and cyclosporine. *Semin Hematol* 2000; 37: 56-68.
- 14.- Margolis DA, Casper JT. Alternative-donor hematopoietic stem cell transplantation for severe aplastic anemia. *Semin Hematol* 2000; 37:43-55.
- 15.- Ohga S, Ohara A, Hibi S, *et al.* Treatment responses of childhood aplastic anaemia with chromosomal aberrations at diagnosis. *Br J Haematol* 2002; 118:313-9.
- 16.- Keung YK, Pettenati MJ, Cruz JM, *et al.* Bone marrow cytogenetic abnormalities of aplastic anemia. *Am J Hematol* 2001; 66: 167-71.

---

# **HEMOPATÍAS MALIGNAS EN PEDIATRÍA.**

## **Capítulo 3**

**Norma López-Santiago, Rogelio Paredes-Aguilera, Rubén D. Lobato-Tolama.**

### **INTRODUCCIÓN.**

#### **N. López-Santiago.**

En los últimos años la epidemiología de la patología infantil ha cambiado en forma sustancial. Hasta hace quince años las principales causas de mortalidad infantil estaban en estrecha relación con procesos infecciosos agudos, con mayor incidencia de gastroenteritis y bronconeumonía; en la actualidad el cáncer infantil representa la segunda causa de mortalidad en menores de 15 años, lo que refleja claramente este cambio, obviamente este cambio epidemiológico no es exclusivo de la infancia, pero representa el 5% de los padecimientos malignos de la población general que se ha calculado en aproximadamente 122 nuevos casos diagnosticados anualmente por millón de habitantes

La leucemia aguda representa el padecimiento hematológico más frecuente a nivel mundial, con una incidencia de 25% de todas las neoplasias malignas, lo que representa una frecuencia de 3-4 por 100,000 menores de 18 años. La leucemia aguda linfoblástica (LAL) se presenta en el 75%, mientras que a la leucemia aguda mieloblástica (LAM) corresponde aproximadamente 25%.

Paralelamente se han desarrollado estrategias diagnósticas que permiten conocer no solamente las características morfológicas de las células leucémicas, sino establecer característi-

cas particulares que estadifican sin duda alguna la estirpe celular y el grado de maduración, datos que son aplicables como factores de valor pronóstico y permiten predecir la respuesta al tratamiento y el desarrollo actual de terapias estirpe específica.

Las alteraciones genéticas que originalmente se observaron como un hallazgo y posteriormente se asociaron al pronóstico, actualmente es bien conocida su relación con genes que controlan los procesos de replicación, maduración y muerte celular, los protooncogenes, cuyo funcionamiento normal está regido por una estricta regulación génica celular. Sin embargo son susceptibles a ser alterados sufriendo diferentes tipos de modificaciones en su estructura: a) mutaciones puntuales, b) translocaciones, c) amplificaciones génicas, que los transforma en oncogenes capaces de producir proteínas quiméricas con propiedades diferentes a las originales, y que actúan potenciando transcripción, inhibiendo apoptosis, aumentando replicación, inhibiendo la supresión de tumor, etc. Las alteraciones no solo se presentan por cambios en la estructura génica, también se observan alteraciones en el número de cromosomas que al igual que las anteriores pueden modificar la evolución de la enfermedad y modificar la respuesta al tratamiento.

Algo similar ha sucedido con el tratamiento, inicialmente con la identificación de drogas que podían suprimir la replicación de las células leucémicas, y retardar el desenlace fatal, hasta

el desarrollo de terapias con citotóxicos múltiples combinados con lo que se ha logrado hasta un 80% de supervivencia a largo plazo. A pesar de estos logros, la ignorancia del mecanismo biológico involucrado en el desarrollo de la enfermedad lleva a que los tratamientos sean inespecíficos, es decir, aunque su meta es eliminar a las células en división rápida o malignas, estas terapias citotóxicas no son capaces de distinguir entre una célula maligna y una célula normal de replicación rápida, como las epiteliales o del sistema hemopoyético, con la consecuente citotoxicidad sistémica asociada y las complicaciones concomitantes.

Las fallas en la respuesta al tratamiento y el mayor conocimiento de la biología molecular de las leucemias han despertado inquietudes para el desarrollo de terapias biológicas, dirigidas a inhibición en la síntesis de proteínas denominadas "blanco", o receptores de inductores de la maduración. Tal es el caso del mesilato de imatinib utilizado inicialmente en la leucemia mieloide crónica, y que actualmente se ha iniciado su uso en leucemia aguda linfoblástica cromosoma Filadelfia positivo, con resultados aún por analizar, pero que han abierto la visión hacia otras drogas "blanco específicas".

Otro ejemplo es el ácido all-trans retinoico (ATRA) que induce la maduración de promielocitos en la LAM-M3 y por lo tanto induce la remisión de la enfermedad, sin embargo hasta el momento no se ha demostrado que sea capaz de curar la enfermedad, y solo la asociación de ATRA con citotóxicos ha logrado en el momento actual la disminución de las complicaciones de la coagulación asociadas, mejoría en la obtención de la remisión y como reflejo lógico mejoría en la supervivencia a largo plazo y eventualmente la curación de la enfermedad.

Los avances en el diagnóstico y la supervivencia llevan de la mano el desarrollo de estrategias encaminadas a mejorar la calidad de vida en el paciente con leucemia. Uno de ellos es la utilización de catéteres a permanencia que disminuye el trauma de canalización venosa, facilitando la administración de citotóxicos y algunas otras medidas terapéuticas necesarias. Esto ha llevado a la aparición de otras

complicaciones aunado a algunas drogas que han modificado la morbilidad en niños con leucemia, favoreciendo el desarrollo de trombosis venosas y sus complicaciones como los eventos tromboembólicos asociados, que previamente aparecían en forma esporádica.

Los avances tecnológicos continúan apareciendo a pasos agigantados de tal manera que lo que ayer pensábamos un sueño difícil de lograr, ahora lo vemos cada vez más cercano y con posibilidades reales de aplicarse a nuestros pacientes. En las siguientes páginas desarrollaremos solo algunas de las opciones actualmente disponibles y el potencial de posibilidades aplicables en un futuro cercano.

## **TÓPICOS ACTUALES Y TENDENCIAS FUTURAS EN EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA EN NIÑOS.**

### **R. Paredes-Aguilera.**

En los últimos 40 años ha habido una mejoría impresionante en el tratamiento de la leucemia aguda linfoblástica (LAL) en niños. Es importante conocer las razones de un resultado terapéutico tan extraordinario, porque muchas de las estrategias que se emplean en otros tipos de cáncer, probablemente provinieron de las bases conceptuales del tratamiento de la LAL en niños, entre los que se incluían conceptos como quimioterapia de combinación, tratamiento profiláctico al sistema nervioso central y medidas de sostén con componentes sanguíneos y hemoderivados (1).

Otros factores que permitieron los progresos en épocas pasadas fueron la clasificación morfológica, inmunológica y citogenética, la estratificación de los pacientes en grupos de riesgo, definido por los rasgos clínicos, hematológicos y biológicos de presentación y la velocidad de respuesta al tratamiento, la selección, combinación y dosis de las drogas, la adaptación del tratamiento de acuerdo a los diversos grupos de riesgo, el tratamiento estirpe específico, la duración del tratamiento, los

---

métodos para prevenir la recaída meníngea y testicular, el control de los procesos infecciosos, el enfoque psicoterapéutico y social y los intentos por reducir la morbi-mortalidad asociada con el tratamiento (2).

El potencial de la quimioterapia sistémica para controlar y curar la leucemia aguda, está constituido por seis etapas o fases de tratamiento fundamentales: inducción a la remisión a base de quimioterapia intensiva con tres o cuatro agentes para reducir rápidamente la carga tumoral inicial, consolidación o intensificación después de la obtención de la remisión completa, algún método de tratamiento profiláctico al SNC, una fase de reinducción-reconsolidación, una fase de mantenimiento de la remisión (citorreducción progresiva) con una duración de 24 a 30 meses y la etapa de cese electivo de la quimioterapia (3). Por otra parte se han explorado métodos alternativos de tratamiento como la inmunoterapia y el trasplante de médula ósea (4-6). Sin duda, el indicador más importante de la efectividad del tratamiento es la tasa de curación. El criterio de curación implica una evolución en remisión completa continua después de la suspensión de la quimioterapia y en donde el riesgo de recaída es mínimo o prácticamente nulo. Para la mayoría de los niños este punto parece estar situado siete años después del diagnóstico y cuatro años después del cese electivo de la quimioterapia (2, 7).

La importancia del tratamiento con fines de curación, está directamente en relación con la disponibilidad y acceso al mismo, de todo niño que lo requiera. Se ha calculado en promedio 210,000 casos de cáncer de diagnóstico reciente cada año en el mundo entero, de los cuales más del 80% ocurren en países en vías de desarrollo, que carecen de los recursos para proporcionar el tratamiento. Se ha estimado también que en cifras absolutas la leucemia aguda y el cáncer se presentan cinco veces más frecuentemente en países en desarrollo que en naciones desarrolladas y de que el número de niños con estos padecimientos está aumentando desproporcionadamente en los países en desarrollo. Muy pocas naciones en desarrollo son capaces de proporcionar atención subsidiada o

gratuita a los niños con esta enfermedad, lo cual hace recaer el costo total del tratamiento en el paciente individual y su familia (8, 9).

En el pasado reciente, algunas organizaciones no gubernamentales han surgido para responder a estas necesidades, las cuales han contribuido de manera significativa al manejo integral de los pacientes, no sólo aportando el financiamiento completo del tratamiento médico y de la transportación terrestre, sino creando también albergues, para hospedaje, alimentación, apoyo psicológico, emocional y social de los pacientes foráneos y del familiar que le acompaña (8, 9).

El año pasado el Gobierno Federal creó el Seguro Popular en nuestro país, para dar cobertura a los pacientes con enfermedades que ocasionan gastos catastróficos, entre las cuales están incluidos padecimientos como las leucemias agudas, sin tomar en cuenta que la mayoría de las Instituciones no contaba con la infraestructura necesaria, encabezada por personal médico de especialistas en hematología con amplia experiencia en el tratamiento de leucemias, personal médico de otras subespecialidades expertos en su campo para manejar las complicaciones del tratamiento, especialistas en enfermería pediátrica y trabajadoras sociales, integrados en verdaderos equipos multidisciplinarios de manejo, laboratorios de hematología, microbiología y genética con tecnología de punta, para la clasificación inmunológica, citogenética y la identificación de germen responsable en los procesos infecciosos, un área de terapia ambulatoria donde aplicar la quimioterapia y llevar a cabo los complejos tratamientos actuales, bancos de sangre autosuficientes para proporcionar terapia de sostén con componentes sanguíneos o hemoderivados y servicios para el apoyo psicológico, emocional y social. Aún si el programa fuera capaz de dotar a las Instituciones de la infraestructura necesaria y proporcionar el financiamiento de las pruebas diagnósticas y el tratamiento médico, tampoco tomó en consideración en sus inicios, la falta de estructuración de los sistemas de salud, la falta de una conexión racional de los tres niveles de atención médica y los problemas geográficos y

de comunicación.

El costo de la transportación terrestre a los centros de tratamiento casi inevitablemente distantes de los sitios de residencia y del hospedaje y alimentación del niño y sus familiares durante su estancia para las distintas fases de tratamiento, generan desembolsos económicos que difícilmente pueden cubrir familias con ingresos apenas suficientes para subsistir, lo que representa un obstáculo importante para el apego al tratamiento y el seguimiento de las indicaciones médicas, aspectos que no fueron considerados en los gastos generados por la enfermedad.

Hay que subrayar, que la pérdida de ingreso económico y desintegración de la familia, los cambios en los roles de los miembros de la misma, sobre todo cuando ambos padres son trabajadores y proveedores del ingreso familiar, son algunos de los aspectos que ineludiblemente deberán analizarse en forma detallada cuando el programa sea evaluado en años venideros. Todos estos aspectos indican que para curar a un niño con LAL se requiere que el médico de cabecera posea pericia, sagacidad y una amplia experiencia, centros hospitalarios que dispongan de todas las instalaciones pediátricas necesarias, para tratar las muchas complicaciones potenciales, utilización de un tratamiento costoso y técnicas y métodos de investigación clínica y de laboratorio.

En países desarrollados el costo para la curación se ha estimado en 100,000 dólares por paciente por año de tratamiento. En el programa Internacional de ayuda a países en desarrollo del Saint Jude Children's Research Hospital, el subsidio para el tratamiento de niños con leucemia aguda en El Salvador es de sólo 15,000 dólares por paciente por año. Esta cifra representa una cantidad similar a los 170,000 pesos para pacientes con LAL de riesgo habitual, aportados por el Seguro Popular por paciente por año en nuestro país (8, 9). La tasa de curación (remisión completa continua 7 años después del diagnóstico) y supervivencia global promedio para niños con LAL varía entre 63 y 83% en países desarrollados y entre 50 y 60% en nuestro país. Con terapia de salvamento para aquellos que han tenido una recaída, 80% o más de los pacientes

pueden curarse en la actualidad.

En años recientes, el hecho de saber que algunas características clínicas, hematológicas, y biológicas de las células leucémicas, evidentes en el momento del diagnóstico, ha permitido asignar a los pacientes en grupos con pronósticos relativamente favorables o desfavorables, lo que ha modificado en forma impresionante, los métodos terapéuticos para combatir la enfermedad. Muchas Instituciones utilizan en la actualidad protocolos terapéuticos diferentes y "adaptan" el tratamiento, específicamente de acuerdo a los diversos grupos de riesgo (1). Otros por el contrario piensan que las variaciones en las características biológicas entre los diversos linajes de LAL, son reflejo de las diferencias en fijación, penetración, metabolismo y disponibilidad de los agentes antileucémicos, por lo que recomiendan seleccionar, combinar, programar y dosificar las drogas, de acuerdo con la estirpe o linaje de las células leucémicas (2,10-13).

Algunos esfuerzos para mejorar la tasa de curación incluyen: refinamiento en la clasificación de riesgo, estudios de farmacogenómica y farmacodinamia para optimizar la terapia, estudios de genética molecular de las células leucémicas y de farmacogenómica de las células normales, para elucidar los mecanismos patogénicos involucrados en la leucemogénesis y resistencia a las drogas y el diseño de terapias más específicas (14).

## **BASES MOLECULARES PARA EL TRATAMIENTO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA EN NIÑOS.**

### **R.D. Lobato-Tolama.**

El diagnóstico de la patología maligna hematológica presenta un gran reto en la medida del conocimiento de la enfermedad misma. Los estados de diferenciación normal hematopoyéticos conllevan a un incremento en el número de distintos cánceres en su comportamiento biológico como clínico. No solo las variantes heredadas en la secuencia del DNA son causa desencadenante, por el contrario causas adquiridas como son

las translocaciones cromosómicas, mutaciones o deleciones juegan un papel de importancia. El diagnóstico de los procesos malignos hematológicos es comúnmente basado en la evaluación morfológica, inmunofenotipo, complementado por el análisis de unos cuantos marcadores moleculares. Sin embargo, en algunas categorías diagnósticas establecidas por este método, la respuesta al tratamiento es muy heterogénea, por lo que se considera que puede haber distintas enfermedades moleculares dentro de la misma categoría morfológica.

En el caso de la leucemia aguda linfoblástica, proceso maligno más frecuente en pediatría, ha marcado avances en su tratamiento basado en la identificación de marcadores pronósticos y el desarrollo de estrategias en el tratamiento adaptado a riesgos y con una sobrevida libre de evento del 63 - 83%. Sin embargo a pesar de ello 25% de los pacientes posteriormente sufren falla al tratamiento y otros cursan con toxicidad farmacológica significativa. Estrategias nuevas para mejorar la respuesta terapéutica a través de estudios de farmacodinamia y farmacogenómica para la optimización de recursos, estudios genéticos moleculares de células leucémicas que determinen los mecanismos desencadenantes de la enfermedad y la resistencia a la droga, han permitido el comportamiento de la célula blástica. La respuesta es evaluada por citomorfología en la etapa intermedia y final de la inducción a la remisión, o de forma molecular por la medición de enfermedad mínima residual.

El estudio de factores de riesgo como son las características clínicas (edad 1 a 9 años y sexo), estudios de laboratorio (cuenta de leucocitos al diagnóstico  $> 50 \times 10^9/L$ , presencia o ausencia de leucemia en líquido cerebral), característica de la célula blástica (inmunofenotipo, co-expresión de antígenos mieloides citogenética, diagnóstico molecular y respuesta al tratamiento) han permitido establecer tratamientos específicos ajustados a estos factores. Por otro lado, más reciente, con el análisis citogenético detallado en base al estudio de subtipos genéticos por el perfil de expresión han resultado en la identificación de seis subtipos genéticamente distintos en pronóstico de la leucemia linfoblástica aguda,

que incluyen; en la rama B: t (9; 22) (BCR-ABL), t (1; 19) (E2A-PBX1), t (12; 21) (TEL-AML1), rearreglo del gen MLL sobre el cromosoma 11 banda q23, cariotipo con hiperdiploidia de más de 50 cromosomas; y T-LLA con cuatro subgrupos genéticos: gen MLL-ENL, HOX11, activación de TAL1 o LYL1, subtipos que influyen en la respuesta a drogas citotóxicas. Adicionalmente la activación de HOX11L2 también aparece estar asociado con un sombrío resultado en LAL-T.

El descubrimiento en genes de puntos de ruptura ha cercado la atención a las vías de regulación crítica en las células hematopoyéticas que pueden causar cáncer cuando ellas son alteradas. En muchas leucemias agudas, las translocaciones unen genes que residen sobre las dos formas cromosómicas, creando un gen quimérico con nuevas propiedades oncogénicas. Las translocaciones cromosómicas han sido usadas a identificar pacientes con leucemia aguda con distintos resultados clínicos. Un tercio de blastos linfoides muestran translocación en la ausencia en el número de cromosomas. En leucemia aguda linfoblástica, por ejemplo la t (12; 21) 25% de las leucemias agudas linfoblásticas de extirpe B se identifica con un curso de buen pronóstico, mientras la t (9; 22) esta asociada con un pobre pronóstico. Sin embargo ante este conocimiento, en el estudio del perfil de expresión genética existen variantes con un comportamiento diferente. Situación que se ha servido para identificar pacientes que pueden ser beneficiados con una intensificación en la dosis de quimioterapia.

A pesar del pronóstico y del éxito del tratamiento, las translocaciones cromosómicas son un parte de la variedad clínica en el comportamiento de leucemias agudas, ya que otras alteraciones genéticas pueden ser funcionalmente equivalente a una translocación, de este modo disminuye el pronóstico de la translocación a una simple variante. Anormalidades oncogénicas adicionales pueden acumularse en una leucemia que altera la respuesta terapéutica y la situación de que algunas leucemias agudas no tienen un definida translocación y un definido comportamiento.

El perfil de expresión genética es aplicado a

mejorar y acelerar el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos, a través de una clasificación del cáncer, el estudio de vías bioquímicas y la identificación de potenciales blancos para nuevas pautas terapéuticas. En las leucemias linfoblásticas, características del perfil de expresión genética han sido identificadas y correlacionada con seis tipos diferentes de alteración cromosómica, y que combinada con algoritmos se puede predecir anomalías cromosómicas en un 90 -100 % de seguridad.

Situación además de que el estudio permite al tiempo del diagnóstico una información que puede predecir que pacientes pueden recaer y quien puede continuar con completa remisión. Sin embargo, no todas las formas de perfil de expresión genética han sido determinadas para predecir recaída en todos los subtipos de leucemia.

Aunque estos predictores de resultados clínicos puedan ser validados en pruebas independientes, los hallazgos sugieren que el tratamiento estratificado basado en el perfil de expresión genética puede ser iniciado al tiempo del diagnóstico inicial de leucemia aguda linfoblástica.

Establecer la situación de redefinir el diagnóstico molecular del cáncer hematológico sobre las bases de nuevos avances en el tratamiento y la eventual extensión del objetivo de establecer terapias específicas para enfermedades moleculares definidas es posible a un plazo corto.

## **TRATAMIENTO DE LA LAM M-3 EN NIÑOS.**

### **R. Paredes-Aguilera.**

La leucemia premitocítica aguda (LPA), el subtipo M-3 de la clasificación morfológica del grupo colaborativo FAB, constituye entre 3-9% de todos los casos de leucemia aguda mieloide (LAM) en niños en población caucásica (1-5), que es mucho menor que lo reportado en algunos estudios recientes en población mestiza de origen latino en los Estados Unidos de América (EUA), en Italia, España, en algunos países de Centro y

Sur América, y México, donde puede llegar a representar entre el 20-25% de los casos (6-13) o incluso llegar a ser tan alta como el 32% en algunas regiones de China.

La enfermedad se caracteriza por la frecuente asociación con diátesis hemorrágica que puede ser mortal y coagulación intravascular diseminada (CID), manifestaciones que generalmente se agravan con el inicio de la quimioterapia dando como resultado una tasa elevada de muerte en inducción.

En la mayoría de los casos de LPA se encuentra una anomalía citogenética específica, la translocación del brazo largo del cromosoma 17 al brazo largo del cromosoma 15, t (15; 17) (q22; q21), que fusiona el gen del receptor  $\alpha$  del ácido retinoico (RAR $\alpha$ ) localizado en el cromosoma 17, al gen de la leucemia premitocítica (PML) en el cromosoma 15 dando origen a la formación de dos genes de fusión, PML/RAR $\alpha$  o RAR $\alpha$ /PML, el primero de los cuales desempeña un papel fundamental en la leucemogénesis. La proteína de fusión PML/RAR $\alpha$  inhibe la diferenciación celular al producir un bloqueo en la maduración en la etapa de premitocito y además es capaz de ligar y reprimir constitutivamente a los promotores de diana del ácido retinoico (RA).

Antes de 1986 la LPA se trataba exclusivamente con quimioterapia citotóxica intensiva. Aunque los reportes iniciales hacían énfasis en el pronóstico desfavorable con los tratamientos entonces en boga, la introducción de análogos de la pirimidina, particularmente la citarabina (Ara-C), representó el primer avance importante en el tratamiento de las LAM (14, 15) y estudios subsecuentes demostraron que su administración a pacientes con LPA, produjo una tasa de remisión completa similar o aún superior a la alcanzada en otros tipos de LAM, fenómeno que también se observó después de la introducción de las antraciclinas. Con dosis altas de antraciclinas en la etapa de inducción de la remisión, la tasa de remisión completa se elevó a 60-68 %, pero lo más importante fue que la supervivencia promedio y la duración de la remisión completa se incrementó a 25 y 13 meses respectivamente a mediados de la década

de 1990 (16,17). El bloqueo en el proceso de diferenciación característico de los procesos leucémicos conduce a una hematopoyesis ineficaz lo que se traduce en anemias de magnitud variable, infecciones y hemorragias, que son las causas más frecuentes del fracaso terapéutico en estos enfermos.

Una de las desventajas de la quimioterapia en la inducción de la remisión, es la mielosupresión profunda que suele agravar las complicaciones anteriormente expuestas, debido a una insuficiencia medular transitoria que es seguida de una reconstitución hematopoyética normal. Con los adelantos en la terapia de sostén a base de componentes sanguíneos y hemoderivados y un mejor diseño de los esquemas terapéuticos, el pronóstico mejoró todavía más.

En las décadas de los años setenta y ochenta, a partir de estudios realizados *in vitro* con derivados de las vitaminas A y D, se demostró la posibilidad de inducir diferenciación terminal *in vitro* trabajando con líneas celulares de leucemia mieloide, principalmente HL60 (18). El RA uno de los agentes de diferenciación más estudiados y potentes, es un derivado natural de la vitamina A y juega un papel fundamental en la diferenciación tisular específica. La concentración plasmática de RA es de  $10^{-6}$  M aproximadamente y el RA puede inhibir la proliferación celular e inducir la diferenciación de células normales y leucémicas *in vitro*. Se requieren concentraciones más altas para inducir diferenciación granulocítica *in vivo* o en líneas celulares de leucemia mieloide, tales como la HL60 ó PLB985. El ácido all-transretinoico (ATRA) y el ácido 13-cis retinoico (13-cis RA), dos isómeros del RA, inhiben la proliferación clonal de células KG1 y ambos agentes inducen diferenciación de las células HL60 y U-937. La concentración plasmática de ATRA de origen natural es de  $10^{-8}$  M y la concentración fisiológica intracelular es de  $10^{-9}$  M aproximadamente. En ausencia del ligando (RA), el receptor á del RA (RARá) se encuentra firmemente asociado con correpresores nucleares haciendo al DNA inaccesible al complejo transcripcional de la RNA polimerasa II en los promotores, lo que conduce a una represión

transcripcional. En condiciones normales, durante el proceso de diferenciación mieloide, concentraciones fisiológicas de ATRA inducen el relajamiento del complejo correpresor y de la histona desacetilasa C (HDAC) del RARá, y el enrolamiento de coactivadores con actividad de acetilación histónica, como la enzima histona acetil transferasa (HAT), aumentando la acetilación, remodelando la cromatina y causando activación transcripcional.

En las últimas décadas, a partir del descubrimiento del mecanismo de acción del RA en la LPA se han establecido las bases moleculares para construir un modelo de terapia de diferenciación. Esta terapia, mediante el desbloqueo del mecanismo de la diferenciación celular, induce la diferenciación terminal de la célula leucémica evitando así la aplasia medular. Este descubrimiento constituyó un hito en la terapia contra el cáncer, pues por primera vez se lograba atacar de forma directa el “blanco” o “diana” responsable de la patogénesis de la enfermedad.

La condensación del DNA en una estructura de cromatina ordenada, permite a la célula resolver problemas topológicos asociados con el almacenamiento de enormes moléculas de DNA cromosómico en el núcleo. El DNA de los cromosomas de una sola célula diploide humana tendría una longitud total de unos 2 m si todo el DNA estuviera estirado como doble hélice, pero la longitud total real de los 46 cromosomas es de tan solo 200  $\mu$ m aproximadamente. Este compacto empaquetamiento del DNA en complejos de proteína-DNA, repetidos y ordenados se denominan nucleosomas y permiten una considerable condensación de las moléculas de DNA. Cada nucleosoma consiste de aproximadamente 146 pares de bases de una doble hélice de DNA, en los que la cadena de DNA se enrolla 1.8 veces alrededor de un núcleo de 8 moléculas de histona. El complejo histonas-DNA está constituido por un tetrámero de histonas, con un par de moléculas cada una denominadas H2A, H2B, H3 y H4, dispuestas en heterodímeros, alrededor de los cuales se enrolla el DNA. Segmentos de DNA de 100 pares de bases separan los nucleosomas adyacentes. Para que

los factores de transcripción tengan acceso al DNA deben producirse cambios conformacionales en los nucleosomas.

Se han propuesto varios mecanismos que contribuyen a la remodelación de la cromatina, desde aquellos que alteran la interacción histonas-DNA, a los que producen desestabilización del tetrámero de histonas o los que producen disociación física del complejo histona-DNA en forma activa dependiente de ATP. Dos de estos mecanismos son particularmente relevantes especialmente por su asociación con las proteínas de fusión descritas en leucemias: la acetilación de histonas y la disociación de histona-DNA. La habilidad para modular la acetilación de histonas de una manera gen específica representa un reto para las células. El estado de acetilación de histonas está determinado por un equilibrio entre actividades enzimáticas competitivas, constituidas por acetiltransferasas-histona acetil transferasa (HAT) y desacetilasas-histona desacetilasa C (HDAC). La acetilación de histonas (HAT) produce cambios conformacionales del nucleosoma, lo que permite que los factores de transcripción tengan acceso al DNA, mientras que la remoción de los grupos acetilo de la cromatina producida por las histonas desacetilasas (HDAC), inducen cambios electrostáticos causados por la pérdida de grupos acetil hidrófobos, lo que produce una estrecha unión entre el DNA y las histonas, lo que propicia mantener una estructura de la cromatina transcripcionalmente reprimida, que se traduce en un bloqueo de la diferenciación celular y silenciamiento génico<sup>19</sup>. El paradigma para la remodelación de la cromatina local a través del reclutamiento gen específico de actividad histona acetil transferasa (HAT), es el receptor del ácido retinoico alfa (RARá).

El RAR es un activador de la transcripción dependiente de ligando. A través de su dominio dedo de Zinc (Zn), se fija como un heterodímero con una proteína relacionada, RXR, a una secuencia consenso de DNA bien definida, que se halla en los promotores de los genes que responden al AR (RARE). Los retinoides ejercen su acción a través de dos clases de receptores nucleares, los receptores del ácido retinoico (RAR) y los receptores de retinoides X (RXR). En

ausencia de ligando (AR), el heterodímero RXR/RAR se fija al DNA y activamente reprime la transcripción.

El ejemplo de la acetilación de histonas anormal mejor estudiado es el asociado con la LPA, en el cual la proteína PML/RARá es capaz de ligar y reprimir constitutivamente a los promotores de genes diana del RA. Esta inhibición se produce como consecuencia de una mayor afinidad por parte de PML/RARá, de un complejo inhibidor que incluye diversas subunidades como N-CoR (Nuclear Receptor Corepressor), SMRT (Silencing Mediator of Retinoid and Thyroid Receptors), Sin3A e histonas desacetilasas (19). También es probable que la elevada expresión de la proteína de fusión PML/RARá pueda secuestrar funcionalmente a cofactores del RARá o fijarse a genes críticos en lugar del RARá. En presencia de dosis farmacológicas de ATRA, la proteína de fusión PML/RARá libera los correpresores y estimula la transcripción de genes diana, que permiten la regulación del desarrollo normal mieloide. Por otra parte, la proteína de fusión es degradada y se incrementa la expresión del RARá silvestre lo que restablece las vías de señalización de los retinoides y pone fin al secuestro de los cofactores del RARá (20, 21).

La introducción de ATRA en 1987 como agente de diferenciación (22) y compuestos de arsénico en 1992 como inductores de diferenciación y apoptosis (23), produjo no sólo tasas de remisión completa más altas debido a una disminución rápida de las hemorragias que ponen en peligro la vida del paciente, sino también una mayor duración de la remisión completa continua cuando se combinaba con quimioterapia. De hecho uno de los primeros signos de respuesta al ATRA en LPA, es la disminución en las manifestaciones hemorrágicas y la corrección de los parámetros de laboratorio durante el monitoreo seriado. La dosis total diaria de ATRA es generalmente 45 mg/m<sup>2</sup> dividido en tres dosis iguales. El tiempo requerido para inducir la remisión completa es de 30-40 días, aunque tasas similares de remisión (80-92 %) se han obtenido con dosis más bajas del medicamento, 20-25 mg/m<sup>2</sup> y no se observó diferencia estadísticamente significativa en los días requeridos para alcanzar

la remisión completa, cuando se comparó el grupo de dosis bajas vs dosis convencional (34.4 +/- 10.6 días vs 37.4 +/- 12.1 días respectivamente) (24, 25). Como han demostrado diversos estudios multicentro, entre los que destacan los del grupo francoeuropeo, español e italiano, los mejores resultados se obtienen con la administración simultánea de ATRA y quimioterapia desde el momento del diagnóstico, con lo que se logran tasas de supervivencia a largo plazo (y probablemente curación) en el 70% de los enfermos aproximadamente (26-30).

En la actualidad se ha llegado a un consenso en cuanto a la conveniencia de combinar ATRA y quimioterapia en forma simultánea durante la inducción de la remisión y nuevamente en ciclos cortos de dos semanas de duración cada tres meses, asociado a quimioterapia continua a dosis bajas con metotrexate y 6-mercaptopurina.

Estudios *in vitro* demostraron que el trióxido de arsénico (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) es efectivo contra la línea celular NB4 de LPA y células frescas de LPA, porque induce no sólo diferenciación sino también apoptosis, como puede constatarse por una disminución en la viabilidad de las células, morfología típica de apoptosis, incremento en la fracción G1 del ciclo celular en el análisis del contenido de DNA por citometría de flujo y el incremento en la expresión de anexina V en la superficie de la membrana. Estudios *in vivo* han demostrado que este agente es capaz de inducir diferenciación parcial y apoptosis en LPA, incluso en pacientes resistentes al ATRA. Algunos de los temas controversiales que se encuentran actualmente en investigación, destacan la intensidad y el tipo de consolidación, el papel del Ara-C y el de nuevos derivados del RA (ATRA liposomal, ácido 9-cis retinoico (9-cis RA) y derivados sintéticos). En algunos estudios recientes, se han utilizado el 9-cis RA y el derivado sintético Am80 para el tratamiento de las recaídas informándose cierta eficacia. La tricostatina A (TSA) y los derivados del ácido butírico actúan inhibiendo las histonas desacetilasas (HDAC), cuya eficacia ha sido probada en el tratamiento de la LPA y posiblemente representan una herramienta farmacológica prometedora en el tratamiento de otras LAM.

En conclusión, la terapia de diferenciación de las leucemias, es uno de los tópicos más atractivos y fascinantes de la investigación clínica y de laboratorio, y los resultados obtenidos en la última década con este tipo de terapia, han tenido un impacto considerable en el pensamiento clínico. Cabe esperar que un mayor conocimiento y comprensión del proceso de remodelación de la cromatina en asociación con diversas proteínas de fusión y la incorporación de nuevos agentes que alteran la interacción histonas-DNA, o que producen desestabilización del tetrámero de histonas o que producen disociación física del complejo histona-DNA, permita una aplicación más amplia de la terapia de diferenciación.

## REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.

### TÓPICOS ACTUALES Y TENDENCIAS FUTURAS EN EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA AGUDA LINFOBLÁSTICA EN NIÑOS.

- 1.- Poplack DG.: Leucemia linfoblástica aguda en niños. Clin Ped de Norte América 1985; 3: 701-729.
- 2.- Pinkel D.: Current issues in the management of children with acute lymphocytic leukemia. Postgraduate Medical Journal 1985; 61: 93-102.
- 3.- Pui CH. Evans WE.: Acute lymphoblastic leukemia. N Engl J Med 1998; 339: 605-615.
4. - Brenner MK.: Immunotherapy of leukemia en: Recent advances in Haematology . Ed, Brenner MK, Hoffbrand AV. Churchill Livingstone 1993, pp 101-118
5. - Mori T, Manabe A, Tsuchida M, *et al.*: Allogeneic bone marrow transplantation in first remission rescues children with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: Tokyo Children's Cancer Study Group (TCCSG) studies L89-12 and L-92-13. Med Pediatr Oncol 2001; 37: 426-431.
- 6.- Arico M, Valsecchi MG, Camitta B, *et al.*: Outcome of treatment in children with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. N Engl J Med 2000; 342: 998-1006
- 7.- George SL, Aur RJA, Mauer AM, Simone JV.: A reappraisal of the results of stopping therapy in childhood

leukemia. *N Engl J Med* 1979; 300: 269.

8.- Wilimas JA, Ribeiro RC.: Pediatric hematology-oncology outreach for developing countries. *Hematology/Oncology Clinics of North America* 2001; 15: 775-787.

9.- Eden T.: Translation of cure for acute lymphoblastic leukemia to all Children. *Br J Haematol* 2002; 118: 945-951.

10.- Reiter A, Schrappe M, Tiemann M, *et al.*: Improved treatment results in childhood B-cell neoplasms with tailored intensification of therapy: a report of the Berlin-Frankfurt-Munster Group trial NHL-BFM 90. *Blood* 1999; 94: 3294-3306.

11.- Patte C, Auperin A, Michon J, *et al.*: The Société Française d'Ōncologie Pédiatrique LMB89 protocol: highly effective multiagent chemotherapy tailored to the tumor burden and initial response in 561 unselected children with B-cell lymphomas and L3 leukemia. *Blood* 2001; 97: 3370-3379.

12.- Amylon MD, Shuster, L, Pullen J, *et al.*: Intensive high dose asparaginase consolidation improves survival for pediatric patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia and advanced stage lymphoblastic Lymphoma: a Pediatric Oncology Group study. *Leukemia* 1999;13:335-342.

13.- Silvermann, LB, Gelber RD, Kiumball DV, *et al.*: Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Dana-Farber Consortium protocol 91-01. *Blood* 2001; 97: 1211-1218.

14.- Pui CH, Campana D, Evans WE.: Childhood acute lymphoblastic leukemia-current status and future perspectives. *Lancet Oncol* 2001; 2:597-607.

#### **BASES MOLECULARES PARA EL TRATAMIENTO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA EN NIÑOS.**

Jeffrey E. Rubnitz J, Ching-Hon P. Recent advances in the treatment and understanding of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Treat Rev* 2003; 29: 31-44.

Eng-Juh Yeoh, Mary E. Ross. Classification, subtype discovery, and prediction of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. *Cancer Cell* 2002;1:133-43.

Tomohito Y, Akira M. Identification of gene expression signature associated with pediatric AML prognosis. *Blood* 2003; 102:473-9.

Jacques JM, Dongen W. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia in childhood. *Lancet* 1998; 352: 1731-7.

Gunner C. Distint gene expression profiles determine molecular treatment response in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2005; 105: 821-6.

William LC, Deepa B, Dong-Joon M. Pediatric acute lymphoblastic leukemia. *American Society of Hematology* 2003: 102-125.

#### **TRATAMIENTO DE LA LAM M-3 EN NIÑOS.**

1.- Lie, SO, Jonmundsson G, Mellander L., *et al.* A population-based study of 272 Children with acute myeloid leukemia treated on two consecutive protocols with different intensity: best outcome in girls, infants and children with Down`s syndrome. *Br J Haematol* 1996; 94: 82-8.

2.- Argyle JC, Benjamin DR, Lampkin B, Hammond D. Acute non-lymphocytic leukemias of childhood: inter-observer variability and problems in the us of the FAB classification. *Cancer* 1989; 63: 295-301.

3.- Carter M, Kalwinsky DK,, Dahl GV, *et al.* Childhood acute promyelocytic Leukemia: a rare variant of non-lymphoid leukemia with distinctive clinical and biological features. *Leukemia* 1989; 3: 298-302.

4.- Phillips M, Richards S, Chessels J. Acute myeloid leukaemia in childhood the cost and benefits of intensive treatment. *Br J Haematol* 1991; 77: 473-7.

5.- Creutzig U, Harbott J, Sperling C, *et al.* Clinical significance of surface antigen expression in children with acut4e myeloid leukemia: results of study AML-BFM-87. *Blood* 1995; 86: 3097-108.

6.- Douer D, Preston-Martin S, Chang E, *et al.* High frequency of acute promyelocytic leukemia among latinos with acute myeloid leukemia. *Blood* 1996; 87: 308-13.

7.- Biondi A, Rovelli A, Cantú-Rajoldi A, *et al.* Acute promyelocytic leukemia in children: experience of the Italian Pediatric Hematology and Oncology Group

(AIEOP). *Leukemia* 1994; 8: 1264-8.

8.- Cantú-Rajnoldi A, Biondi A, Jankovic M, *et al.* Diagnosis and incidence of acute promyelocytic leukemia (FAB m3 and M- variant) in childhood. *Blood* 1993;81:2209-11.

9.- Tomás JF, Fernandez-Rañada JM. About the increased frequency of acute promyelocytic leukemia among latinos: the experience from a center in Spain. *Blood* 1996; 88: 2357.

10.- Malta-Corea A, Pacheco-Espinosa C, Cantú-Rajnoldi A, *et al.* Childhood acute promyelocytic leukemia in Nicaragua. *Ann Oncol* 1993; 4: 892-4.

11.- De Salvo L, Weir-Medina J, Gomez Sánchez O *et al.* Leucemia promielocítica Aguda en el occidente de Venezuela. *Sangre* 1989; 34: 329-31.

12.- Ruiz-Argüelles GM. Promyelocytic leukemia in Mexican mestizos. *Blood* 1997;89:348-9.

13.- Otero JC, Santillana S, Fereyros G. High frequency of acute promyelocytic leukemia among latinos with acute myeloid leukemia. *Blood* 1996; 88: 377.

14.- Gale RP, Foon KA. Therapy of acute myelogenous leukemia. *Semin Hematol* 1987; 24: 40-54.

15.- Mayer RJ. Current therapeutic treatment approaches to the management of previously untreated adults with de novo acute myelogenous leukemia. *Semin Hematol* 1987; 14: 384-96.

16.- Marty M, Ganem G, Fisher J, *et al.* Leucémie aigue promyelocytaire: etude retrospective de 119 malades traités par daunorubicine. *Nouv Rev Fr Hematol* 1984;M 26: 371-8.

17.- Head D, Kopecky KJ, Weick J, *et al.* Effect of aggressive daunorubicin therapy on survival in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1995; 86: 1717-28.

18.- Breitman TR, Selonick SE, Collins SS. Induction of differentiation of Human promyelocytic leukemia cell line (HL-60) by retinoic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 2936-40.

19.- Redner RL, Wang J, Liu J. Chromatin remodeling and leukemia: new therapeutic paradigms. *Blood* 1999; 94: 417-28.

20.- Melnick A, Licht JD. Deconstructing a disease: RAR $\alpha$ . Its fusion partners, and their roles in the pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1999; 93:3167-215.

21.- Grignani F, Fagioli M, Alcalay M, *et al.* Acute promyelocytic leukemia: From genetics to treatment. *Blood* 1994; 83: 10-25.

22.- Huang ME, Ye YC, Wang ZY. Treatment of 4 APL patients with all-trans retinoic acid. *Chin J Intern Med* 1987; 26: 330-2.

23.- Wang ZY, Chen Z. Differentiation and apoptosis induction therapy in acute promyelocytic leukemia. *Lancet Oncol* 2000; 1: 101-6.

24.- Castaigne S, Lefebvre P, Chommiene C, *et al.* Effectiveness and pharmacokinetics of low dose all-trans retinoic acid (25 mg/m<sup>2</sup>), in acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1993; 82: 3560-3.

25.- Chen GQ, Shen ZX, Wu F *et al.* Pharmacokinetics and efficacy of low dose all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Leukemia* 1996; 10: 825-8.

26.- Fenaux P, Chastang C, Degos L. Treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia (APL) by a combination of all-trans retinoic acid (ATRA) and chemotherapy. *Leukemia* 1994; 8: S42-S47.

27.- Biondi A, Rovelli A, Cantú Rajnoldi A, *et al.* Acute promyelocytic leukemia in children: experience of the Italian Pediatric Hematology and Oncology Group (AIEOP). *Leukemia* 1994; 8: S66-S70.

28.- Willemze R, Suci S, Mandelli F, *et al.* Treatment of patients with acute promyelocytic leukemia. The EORTC-LCG experience. *Leukemia* 1994;8: S48-S55.

29.- Head DR, Kopecky KJ, Willman C, Appelbaum FR. Treatment outcome with chemotherapy in acute promyelocytic leukemia: The Southwest Oncology Group (SWOG) experience. *Leukemia* 1994; 8:S38-S41.

30.- Avvisati G, Lo Coco F, Diverio D, *et al.* AIDA (all-trans retinoic acid + idarubicin) in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia: A Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) pilot study. *Blood* 1996;88:1390-8.

**Sergio Arturo Sánchez-Guerrero, Rafael Antonio Marín y López.**

## **ANÁLISIS DE LOS ENTORNOS.**

**S.A. Sánchez-Guerrero.**

### **EL ENTORNO INTERNACIONAL.**

En la actualidad, se estima que más de 75 millones de unidades de sangre son donadas en el mundo, cada año (1). Lamentablemente, en los países en vías de desarrollo solamente, 82 (43%) de los 191 países miembros de la Organización Mundial de la Salud (OMS) informan que realizan de manera rutinaria el escrutinio de todos los donantes de sangre para detectar infecciones por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el virus B de la hepatitis (VHB) y el virus C de la hepatitis (VHC). Esto trae como consecuencia que, aproximadamente, 13 millones de unidades no sean sometidas a las pruebas de detección correspondientes cada año, de tal forma que se calcula que se estén transmitiendo, por la vía transfusional, entre 8 y 16 millones de infecciones por el VHB, entre 2.3 y 4.7 millones de infecciones por el VHC y entre 80,000 y 160,000 infecciones por el VIH, anualmente, en el mundo (1). Más aún, sólo nueve de los diecinueve países de América Latina estudian el 100% de la sangre transfundida para la detección del VIH y los virus de la hepatitis B y C (2)

Por el contrario, en los países industrializados como los Estados Unidos de América a principios de la década de los ochenta la incidencia de la transmisión del VIH, VHC y VHB era extremadamente alta de 1:100 a 1:1,000 unidades transfundidas (3). Sin embargo, en los últimos

20 años se fueron implantando técnicas para la determinación de marcadores infecciosos en las unidades de sangre. La evolución de las pruebas por inmunoensayo enzimático (ELISA) en generaciones cada vez con mayor sensibilidad y especificidad, la prueba de Ag p24, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y hasta la prueba de amplificación de ácidos nucleicos (NAT), han logrado que la incidencia disminuya hasta 1:2'000,000 de unidades.(4) Específicamente podemos hablar de una incidencia actual de 1 en  $1.4 \times 10^6$  a  $2.4 \times 10^6$  para VIH, y 1 en  $0.87 \times 10^6$  a  $1.7 \times 10^6$  para VHC; la hepatitis B tiene una incidencia mayor que la hepatitis C pero ambas con una significativa morbi-mortalidad (5,6). Con la evolución de la tecnología en la determinación de los marcadores, en la década pasada se disminuyó considerablemente la incidencia y, consecuentemente, la seguridad sanguínea aumentó (6-9). Se cree que actualmente, con la implantación de NAT en unidades individuales, se podría tener una incidencia tan baja como 1:5'000,000 unidades (9).

### **EL ENTORNO NACIONAL.**

En lo que respecta a la seguridad transfusional en México, desde 1993 a los bancos de sangre se les exige efectuar el tamizaje para detectar VIH, VHC y VHB en todos los candidatos a donar sangre que acuden a los más de 500 bancos de sangre existentes en el país (10). Asimismo, se emplea la historia clínica como una herramienta para incrementar la seguridad transfusional (11). La normatividad vigente no obliga a los bancos de sangre a realizar las

pruebas de biología molecular para la detección de agentes infecciosos en los donantes (10). Cabe señalar también que, desde el año 2003, es la Comisión Federal para la Protección contra los Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) la encargada de realizar la vigilancia sanitaria de los bancos de sangre (12).

Si bien es justo reconocer los avances que en materia de la seguridad transfusional se han dado en nuestro país durante las últimas dos décadas, tales como la prohibición de la donación remunerada (10), la creación del CNTS y de los CETS (2), así como la publicación de la NOM (10), seguimos teniendo un riesgo transfusional elevado cuando nos comparamos con los países industrializados (13). Por lo tanto, exhortamos al equipo multidisciplinario de la medicina transfusional a elevar dicha seguridad. De tal forma que sugerimos adoptar una serie de medidas encaminadas a lograrlo y acorde con las posibilidades de nuestro país, tales como:

1.- Omitir la realización de las pruebas serológicas a través de la técnica de HAI y suplantarla por la de ELISA, en toda la República Mexicana, para la realización del tamizaje universal en las unidades de sangre pues, definitivamente, la prueba de ELISA es más eficaz que la de HAI como método para detectar la presencia de anticuerpos contra los virus estudiados (VIH, VHB y VHC). (13)

2.- La elaboración de una buena historia clínica por el personal médico ha mostrado ser una herramienta útil para aumentar la seguridad sanguínea (11).

3.- Abatir la sobretransfusión, ya que se ha publicado que entre un 45% y hasta un 96.2% de los productos sanguíneos llegan a ser transfundidos de manera injustificada (14,15).

4.- Fomentar e impulsar la donación altruista de repetición a fin de eliminar la donación de reposición familiar, pues está demostrado que los donantes de primera vez (como es el caso de la gran mayoría de los donantes de reposición familiar), tienen una probabilidad 3 a 4 veces

mayor de presentar un marcador serológico positivo que cuando se les compara con los donantes altruistas de repetición (16,17).

5.- La implantación de un programa de hemovigilancia definido como el conjunto de procedimientos que componen a la totalidad de la cadena transfusional (es decir, desde la donación de la sangre y hasta el seguimiento de los receptores de los productos sanguíneos) con el fin de recabar y analizar la información concerniente con los efectos indeseables e inesperados y, así, poder prevenir la ocurrencia o la recurrencia de tales incidentes (18).

6.- Considerar la implantación de las pruebas de NAT con el fin de reducir el período de ventana en la detección de la infección por VIH, VHB y VHC.

7.- Realizar el escrutinio universal de los donantes para detectar la enfermedad de Chagas (trypanosomiasis americana), pues se ha demostrado su transmisión a través de la transfusión sanguínea, así como una elevada prevalencia en las diferentes poblaciones estudiadas (19).

8.- Estar preparados ante el eventual arribo de las denominadas enfermedades emergentes, susceptibles de transmitirse a través de la transfusión sanguínea (20).

## **SEGURIDAD SANGUÍNEA EN MÉXICO.**

### **R. A. Marín y López.**

La prioridad nacional en sangre, sin duda es la seguridad sanguínea y el acceso equitativo de la sangre. La obtención de la sangre de donantes voluntarios, no remunerados es fundamental para garantizar la seguridad, calidad, disponibilidad y accesibilidad de los productos sanguíneos.

En este contexto, México cuenta con 547 bancos de sangre distribuidos en el país, que operan con una infraestructura deficiente. Por año, se captan en promedio un total de 1'300,000 unidades de sangre, cifra que está por debajo del

2% de la población del país, que de acuerdo con estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) son necesarias para lograr la autosuficiencia en productos sanguíneos. La obtención de la sangre es fundamentalmente por donación de reposición, y la donación voluntaria, se encuentra por debajo del 4% del total captado. El tamizaje se realiza en el 100% de las unidades de sangre captadas para VIH, VBsAg, VHC, Sífilis, y en un 30% para *Tripanosoma cruzi*. Del total captado, se fracciona el 88% en concentrados eritrocitarios y plasma, 32% en concentrados plaquetarios. Y el 8% a crioprecipitados.

Se ha observado que la cantidad de unidades captadas al año influye en la capacidad de controlar la calidad de las unidades de sangre durante su procesamiento, significando que bancos que en promedio procesan más de 10 mil unidades anuales, no emiten resultados falsos negativos, e incrementan los falsos positivos.

También los aspectos de calidad tecnológica representada por la pruebas de biología molecular, favorecen la detección temprana del agente infeccioso disminuyendo los periodos de ventana, incrementando la seguridad sanguínea de 1:900 mil unidades transfundidas.

Respecto del plasma obtenido, el 45% se transfunde, y sólo el 5% fue industrializado, obteniéndose predominantemente albúmina, por tratarse de plasma denominado envejecido, el cual ha perdido gran parte de su contenido proteico. El 50% restante se desecha.

Hoy en día, el 100% de los hemoderivados de uso clínico son importados por el Sector Salud, por lo que industrializar el plasma mexicano, representa un área de oportunidad para su obtención y abastecimiento.

En conclusión, México opera los servicios de sangre a través de un modelo atomizado, lo que implica costos más altos para garantizar un nivel de seguridad y accesibilidad de los productos sanguíneos.

Por ello que con base en la iniciativa de la OMS se pretende instalar en el país una red de servicios de sangre que opere en forma centralizada con bancos de sangre que capten y procesen más de 15,000 unidades de sangre por año, y utilice reactivos que reducen los periodos

de ventana con lo que se logrará efficientar el uso de los recursos, mejorando sustancialmente la cobertura nacional, con una tercera parte de los recursos actualmente utilizados.

## REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.

### ANÁLISIS DE LOS ENTORNOS.

- 1- Goodnough LT, Shander A, Brecher ME. Transfusion medicine: looking to the future. *Lancet* 2003;361:161-9.
- 2.- Programa de Acción: Transfusión Sanguínea. Secretaría de Salud. 1ª. Edición. 2002. México. ISBN 970-721-042-7.
- 3.- Dodd RY, Notari EP, Stramer SL. Current prevalence and incidence of infectious disease markers and estimated window-period risk in American Red Cross blood donor population. *Transfusion*. 2002;42:975-9.
- 4.- Kleinman S, Busch MP, Korelitz JJ, *et al*. The incidence/window period model and its use to assess the risk of transfusion-transmitted human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infection. *Transfus Med* 1997;11:155-72.
- 5.-AuBuchon JP, Birkmeyer JD, Busch MP. Safety of the blood supply in the United States: Opportunities and Controversies. *Ann Intern Med*. 1997;127:904-9
- 6.-Busch MP. Closing the window on viral transmission by blood transfusion. In: Stramer SL, ed. *Blood safety in the new millennium*. 1st ed. Bethesda: American Association of Blood Banks; 2001:33-54.
- 7.-Ruth WK, Weber M, Seifried E. Feasibility and efficacy of routine PCR screening of blood donations for hepatitis C virus, hepatitis B virus and HIV-1 in a blood bank setting. *Lancet* 1999;353:359-63.
- 8.-Goodnough LT, Brecher ME, Kanter MH, AuBuchon JP. *Transfusion Medicine: First of two parts: blood transfusion*. *N Engl J Med* 1999; 340:438-47.
- 9.-American Society of Hematology. Education program book. San Diego, California. December 6-9, 2003:577.
- 10.-Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993 para la recolección y manejo de sangre humana y sus

---

componentes con fines terapéuticos. México, 1993.

11.-Marin RA, Romero S, Infante L, *et al.* Hepatitis C seroprevalence in accepted versus deferred blood-donor candidates evaluated by medical history and self-exclusion form. *Transfusion*. 2004;44:1344-9.

12.- Modificación de la Ley General de Salud. Diario Oficial de la Federación. 30 de junio de 2003.

13.- Vázquez Flores JA, Valiente Banuet L, Marín y López RA *et al.* La seguridad de las reservas sanguíneas en la República Mexicana durante los años 1999 a 2003. *Rev Invest Clín* 2006;58: (en prensa).

14.- Pita L, Cabrera B, Ortega C. Motivos de transfusión de plasma fresco congelado en un hospital general. *Rev Invest Clín* 1999; 51: 89-92.

15.- Juárez Rangel E, Vite Casanova MJ, Marín y López RA, *et al.* Auditoría transfusional retrospectiva en el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea. *Rev Invest Clín* 2004; 56:38-42.

16.- Stramer SL, Glynn SA, Kleinman SH, *et al.* Detection of HIV infections among antibody-negative blood donors by nucleic acid-amplification testing. *N Engl J Med* 2004;351:760-8.

17.- Zaller N, Nelson KE, Ness P, *et al.* Demographic characteristics and risks for transfusion-transmissible infection among blood donors in Xinjiang autonomous region, People's Republic of China. *Transfusion* 2006;46:265-271.

18.- Sibinga CTHS, Murphy MF. Hemovigilance: An approach to risk management in transfusion medicine. In: Mintz PD, ed. *Transfusion therapy: Clinical principles and practice*. 2<sup>nd</sup> ed. Bethesda. AABB Press. 2005:631-44.

19.- Kirchoff LV, Paredes P, Lomelí-Guerrero A, *et al.* Transfusion-associated Chagas disease (American trypanosomiasis) in Mexico: implications for transfusion medicine in United States. *Transfusion* 2006;46:298-304.

20.- Sánchez-Guerrero SA, Romero-Estrella S, Rodríguez A, *et al.* Detection of West Nile Virus in the Mexican blood supply. *Transfusion* 2006;46:111-7.

# SÍNDROMES DE FALLA MEDULAR.

## Capítulo 5

Xavier López-Karpovitch, Alvaro Aguayo-González, Renán A. Góngora-Biachi.

### SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS (SMD).

#### X. López-Karpovitch.

Los SMD son un problema de salud en países desarrollados y emergentes. La incidencia anual de SMD supera en casi el doble a la incidencia de leucemia mieloide aguda (LMA; 4.1 casos vs 2.1 casos por 100,000) y la frecuencia de SMD aumenta en forma exponencial con la edad afectando a 1 de 500 personas >60 años. Los SMD incluyen un grupo heterogéneo de padecimientos clonales que emergen de alteraciones tanto de las células tallo hemopoyéticas como de los progenitores eritroides, granulomonocíticos y megacariocíticos. El cuadro hematológico al diagnóstico se caracteriza por grados variables y combinaciones de anemia, neutropenia y trombocitopenia y cerca del 90 % de los pacientes presentan médula ósea (MO) normocelular o hiper celular. La hemopoyesis ineficaz, es decir las citopenias en sangre y la proliferación celular exagerada en MO, se explica por un incremento de la apoptosis fenómeno que se ha demostrado hasta en el 75 % de los casos de SMD. Existen evidencias que apoyan que la patogenia en los SMD es multifactorial, *v.gr.*: sobreproducción de citocinas inhibitoras del crecimiento celular, defectos en la traducción de señales citocina-receptor, desregulación inmune, producción y/o liberación disminuida de citocinas hemopoyéticas, angiogénesis aumentada e hipermetilación del ADN con la consecuente disminución de la acetila-

ción de histonas y activación de oncogenes.

La historia natural de los SMD va de un curso crónico que puede prolongarse por varios años a una evolución rápida y fatal por progresión a LMA. Sin embargo, la mayoría de las muertes se deben a las citopenias y no a progresión leucémica. Esta imbricación entre SMD y LMA ha hecho que algunos autores consideren a los SMD como hemopatías malignas. En base a los hallazgos citogenéticos, los SMD y las LMA se han clasificado en casos con a) cariotipo normal, b) anormalidades cromosómicas balanceadas que conllevan a la generación de oncogenes de fusión y c) cariotipos complejos (CC; >3 anormalidades cromosómicas). Del 30 % al 50 % de los enfermos con SMD *de novo* presentan anormalidades cromosómicas y en SMD secundario la frecuencia es del 80 %. En SMD *de novo* la frecuencia de CC es del 30 % y se asocia con mayor propensión al desarrollo de LMA. Las anormalidades cromosómicas predominantes en SMD corresponden a deleciones (-5, 5q-, -7, 7q-, 11q-, 20q-, -Y) lo que sugiere un mecanismo patogénico basado en pérdida de genes supresores de tumores o haploinsuficiencia de genes indispensables en la hemopoyesis. Otra anormalidad cromosómica frecuente en SMD es la trisomía 8. De manera importante, las anormalidades cromosómicas correlacionan con el pronóstico, *v.gr.*, con tratamiento el 60% de los enfermos con cariotipo normal alcanzan remisión completa (RC; mediana de duración 16 meses) mientras que aquellos con deleciones de los cromosomas 5 y 7 o CC tuvieron

una tasa de RC del 20% (mediana de duración 4 a 5 meses).

En la actualidad se cuenta con la clasificación del grupo Franco-Americano-Británico (FAB) y la de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para categorizar a los SMD. Ambas clasificaciones toman en cuenta la proporción de blastos en MO y sangre, presencia de cuerpos de Auer, el número de sideroblastos en anillo, así como los hallazgos citomorfológicos de displasia. La FAB incluye además el número absoluto de monocitos, para el diagnóstico de leucemia mielomonocítica crónica (LMMC) y la OMS la citogenética. En la clasificación de la OMS desaparece la LMMC y la anemia refractaria con excesos de blastos en transformación (AREB-t); la primera se incluye en una nueva categoría de SMD/mieloproliferativo y la AREB-t se clasifica como LMA y, se reconocen las siguientes enfermedades: citopenia refractaria con displasia de multilinaje (CRDM) sin y con sideroblastos en anillo, AREB-1 (blastos entre 5% y 9%), AREB-2 (blastos entre 10% y 19%), SMD asociado a del(5q) y deja lugar para los SMD inclasificables.

En 1997, un grupo de expertos publicó una escala pronóstica denominada IPSS (International Prognostic Scoring System) que divide a los SMD en riesgo bajo, intermedio-1, intermedio-2 y riesgo alto de acuerdo a la proporción de blastos, hallazgos citogenéticos y número de citopenias en sangre. Esta escala reproducible y validada por distintos grupos permite predecir la supervivencia (SV) y la probabilidad de desarrollo LMA. La OMS por su parte propone dividir a los SMD en riesgo bajo (anemia refractaria [AR], anemia refractaria con sideroblastos en anillo [ARSA] y SMD 5q-) y riesgo alto (CRDM y AREB). Sin embargo esta escala pronóstica aún no se ha validado.

El pronóstico en los adultos con SMD continúa siendo pobre ya que sólo el 6 % de ellos permanecen vivos y en RC a los 7 años de establecido el diagnóstico. La decisión de cómo manejar la morbilidad de la enfermedad comparada con los beneficios y toxicidades del tratamiento dependerá de la edad, desempeño físico y preferencias personales del enfermo. En general se acepta que la meta en pacientes con

SMD de riesgo bajo e intermedio-1 es mejorar la calidad de vida, mientras que en aquellos con riesgo intermedio-2 y alto es mejorar la SV.

En el cuadro 1 se muestra las alternativas de tratamiento basadas en el mecanismo de acción farmacológico. La eritropoyetina (EPO) y el factor estimulante de colonias de granulocitos (FEC-G) promueven el crecimiento y diferenciación de los progenitores hemopoyéticos e inhiben su apoptosis. En fecha reciente se ha encontrado que los eritroblastos de enfermos con SMD de riesgo bajo, en particular de aquellos con ARSA, liberan al citosol la proteína pro-apoptótica mitocondrial citocromo-c y acumulan una forma aberrante de ferritina mitocondrial. Varios estudios han demostrado que la adición de dosis bajas de FEC-G mejoran la respuesta eritropoyética mediada por EPO exógena. La respuesta a tratamiento con EPO+FEC-G se puede predecir en base al requerimiento transfusional de paquete globular y a la concentración de EPO en suero. El tratamiento con inmunosupresores como la globulina antitimocito (GAT) y ciclosporina A (CSA) ha mostrado ser de utilidad en pacientes con SMD de riesgo bajo en especial en aquellos con AR. La respuesta favorable a GAT se asocia con el fenotipo HLA-DR15 y con edad <60 años. Al parecer la magnitud de las respuestas es superior con GAT que con CSA. El razonamiento para el uso terapéutico de inmunomoduladores como talidomida y lenalidomida se basa en la evidencia de disfunción del microambiente hematológico, así como del efecto inhibitorio de la hemopoyesis mediado por el factor de necrosis tumoral (FNT)- $\alpha$ . Cerca del 20 % de los enfermos con SMD de riesgo bajo que reciben talidomida muestran mejoría en Hb y de manera interesante los respondedores fueron los más jóvenes, con AR y aquellos que fallaron a tratamiento con EPO. La limitante terapéutica de la talidomida radica en sus efectos adversos como fatiga, estreñimiento y neuropatía. La lenalidomida, un potente análogo de la talidomida que carece de efectos neurotóxicos y teratogénicos, indujo respuesta en el 57 % de los enfermos con SMD y cariotipo normal, mientras que en pacientes con cariotipo anormal la respuesta fue marginal (12%). La lenalidomida

parece ser de gran utilidad en enfermos con del(5q) quienes alcanzaron 75 % de respuestas citogenéticas completas. Sin embargo, la neutropenia (65%) y la trombocitopenia (74%) son frecuentes con lenalidomida. La formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) en MO es un fenómeno frecuente en SMD. Hasta el momento, la experiencia obtenida con el empleo de inhibidores de la angiogénesis (anticuerpos contra FNT- $\alpha$  y moléculas inhibitoras del receptor de cinasa de tirosina del factor de crecimiento endotelial vascular [VEGF]) es limitada. Se conoce que la metilación aberrante del ADN es relevante en la patogenia de los SMD. La azacitidina y la decitabina, fármacos hipometiladores del ADN, permiten la desrepresión de genes normales. Un estudio aleatorizado y controlado en el que se comparó azacitidina vs medidas de apoyo en pacientes con diferentes tipos de SMD demostró, de manera estadísticamente significativa, índices de respuesta mayores, mejor calidad de vida, menor riesgo de transformación leucémica y mayor SV en los casos tratados con azacitidina. La decitabina también ha mostrado utilidad terapéutica ya que incrementó significativamente la cifra de Hb, neutrófilos y plaquetas en >50 % de enfermos con diferentes tipos de SMD. El estado de acetilación de las histonas desempeña un papel importante en la regulación de la transcripción génica y guarda relación con la metilación del ADN. La disminución de la acetilación de histonas debida a incremento en la actividad de la desacetilasa de histonas (HDAC; del inglés histone deacetylase activity) puede ocasionar silenciamiento de los genes supresores de tumores. El ácido valproico y otros compuestos inhibidores de HDAC están siendo evaluados en pacientes con SMD. Los inhibidores de la farnesilación inhiben el crecimiento tumoral mediado por RAS. Un estudio aleatorizado mostró que el tipifarnib, inhibidor de la farnesil transferasa, administrado por vía oral produjo respuestas en un tercio de los enfermos con SMD de riesgo alto.

El trasplante de células hemopoyéticas (TCH), alogénico, es una estrategia terapéutica potencialmente curativa en los SMD. Sin embargo el médico tratante deberá analizar las ventajas y riesgos del TCH de acuerdo a: riesgo del SMD

(bajo e intermedio-1 vs intermedio-2 y alto), análisis cromosómico (CC sí vs no), desempeño físico, presencia de enfermedades subyacentes y requerimiento transfusional de su paciente. En base a la edad del enfermo (< o >60 años), se elegirá el esquema de acondicionamiento (mieloablativo vs de intensidad reducida) y la fuente de células hemopoyéticas a trasplantar (sangre vs MO).

En México se cuenta con experiencia en TCH y desafortunadamente con un arsenal terapéutico limitado que incluye: EPO, FEC-G, GAT (en ocasiones), CSA, talidomida y ácido valproico. En general estas estrategias de tratamiento son costosas y por tanto poco accesibles a la mayoría de nuestros pacientes.

**Cuadro 1. Tratamiento en SMD.**

| <b>Mecanismo de Acción</b>            | <b>Compuesto Terapéutico</b>     |
|---------------------------------------|----------------------------------|
| Inhibición de apoptosis               | EPO, FEC-G                       |
| Inmunosupresión                       | GAT, CSA                         |
| Inmunomodulación                      | Talidomida, lenalidomida         |
| Inhibición de angiogénesis            | Inhibidores del VEGF             |
| Hipometilación ADN                    | Azacitidina, decitabina          |
| Inhibición desacetilación de histonas | Ácido valproico                  |
| Desactivación de oncogenes            | Inhibidores farnesil transferasa |

## **NOVEDADES TERAPÉUTICAS EN LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS.**

### **A. Aguayo-González.**

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son un grupo heterogéneo de enfermedades originadas en las células hematopoyéticas de la médula ósea (MO) caracterizados clínicamente por citopenias en sangre periférica, una MO normo o hiperclular y displasia de los elementos sanguíneos. Ésta diferencia está dada por anomalías en la proliferación, diferenciación, y apoptosis de las células hematopoyéticas. La enfermedad puede evolucionar, en mayor o menor grado, a leucemia aguda mieloide (LAM), pero la mayoría de los pacientes mueren por citopenias prolongadas y sus complicaciones (sangrado e infecciones) sin haber progresado nunca a LAM.

La primera clasificación formal de los SMD fue la del grupo franco-americano-británico (FAB) quien los clasificó en 5 grupos basados en características morfológicas, porcentaje de blastos en sangre y MO, presencia de sideroblastos y porcentaje de monocitos en sangre periférica.

Recientemente la Organización Mundial de la Salud (OMS) propuso una nueva clasificación basada en citogenética, genética molecular, historia de tratamiento antineoplásico y mielodisplasia previa. En resumen:

- El porcentaje de blastos que definen leucemia aguda es ahora  $\geq 20\%$ .
- Se elimina la AREB-T.
- Presencia de displasia en 2 o más líneas celulares se cataloga como citopenia refractaria con displasia multilineaje.
- El síndrome 5q- es considerado una entidad separada dentro de los SMD.
- Se agrega la categoría de SMD no clasificable.
- La LMMC se cataloga como una entidad separada de los SMD.

Las anomalías citogenéticas encontradas en los SMD juegan un papel primordial en la biología de la enfermedad, su clasificación y pronóstico.

Los genes responsables de la transformación maligna incluyen alteraciones en la familia de genes Ras en 20 a 40%, principalmente *N-ras*. Otras anomalías incluyen alteraciones en los genes NF1, FMS, p53, TEL, EVI, AXL, TEC, HCK, y *c-mpl*. Las alteraciones estructurales, numéricas y epigenéticas (silenciamiento selectivo de genes dependiente de metilación) de estos genes lleva al desarreglo y modificación de factores de transcripción y citoquinas reguladoras de proliferación y apoptosis incluyendo factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) responsables de las alteraciones clínicas de los SMD.

En años recientes se ha avanzado en el conocimiento de la fisiopatología de los SMD. La angiogénesis o la neoformación de vasos sanguíneos a partir de una red vascular preexistente es un proceso que en condiciones patológicas se ha considerado como un componente importante en la formación,

crecimiento, progresión y metástasis en tumores sólidos.

Las sustancias pro-angiogénicas más activas y mejor conocidas son el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF por sus siglas en inglés) y el factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGF).

Las estrategias de tratamiento actuales incluyen: factor de estimulante de crecimiento de colonias de granulocitos, factor estimulante de crecimiento de colonias de granulocitos y macrófagos, eritropoyetina, globulina antitumoral, ciclosporina A, andrógenos, amifostina y quimioterapia. Ninguna de éstas modalidades ha alterado de manera significativa la historia natural de los SMD por lo que el tratamiento estándar es apoyo transfusiones y antibióticos. El trasplante allogenico de médula ósea es el único tratamiento con potencial de curación pero es una opción en no más de 5% de los pacientes con SMD.

La metilación del ADN permite a las células de los mamíferos modificar la expresión genética. Dicho proceso ocurre cuando la metiltransferasa de ADN agrega covalentemente un grupo metilo en la posición 5 de los residuos de citosina. La hipermetilación de los promotores es la alteración epigenética más frecuente en el cáncer humano incluyendo a los SMD. Éste acontecimiento produce un "silenciamiento" e inactivación de los genes supresores por represión transcripcional.

El Grupo B de Cáncer y Leucemia (CALGB) reportó los resultados de un estudio aleatorizado del agente hipometilante 5-Azacitidina (75 mg/m<sup>2</sup>/d x 7 días, s.c., cada 28 días por 4 ciclos) contra observación en 191 pacientes con SMD y una mediana de edad de 68 años. Las respuestas se observaron en 63% de los pacientes con 5-Azacitidina vs. 7% en los pacientes que recibieron medidas de sostén (P=0.0001). Los pacientes en el grupo de estudio tuvieron un mayor tiempo medio de progresión a leucemia aguda (22 meses vs 12 meses, P=0.0034) y menor probabilidad de transformación a leucemia (11% vs 31%, P=0.003). La calidad de vida fue mejor en grupo de estudio comparado con el grupo de observación. Esto llevó a la aprobación del primer medicamento para el tratamiento de SMD en

adultos mayores.

La angiogénesis y las citocinas promotoras de angiogénesis han sido recientemente estudiadas en síndromes mielodisplásicos y hay evidencia que apoya que éste proceso juega un papel primordial en la fisiopatología de ésta entidad.

La talidomida es un agente con actividad antiangiogénica, inmunomoduladora y antineoplásicos al inhibir varias moléculas involucradas en la transformación neoplásica incluyendo TNF- $\alpha$ , interleucina 6 (IL-6), IL-10, IL-8 e IL-12. En neoplasias hematológicas la talidomida como agente único y en combinación con dexametasona ha sido agentes muy activos, y ahora considerados de primera línea en el tratamiento de pacientes con mieloma múltiple.

Recientemente se han reportado una serie de estudios pequeños con talidomida y sus derivados con resultados alentadores y, en resumen, parece haber actividad con el tratamiento y mejoría de las citopenias en los SMD incluso revirtiendo la anemia, disminuyendo y, en algunos casos, eliminando la necesidad de transfusiones (cuadro 2).

El problema asociado con el uso de talidomida ha sido su perfil tóxico (neuropatía) que ha limitado su uso en pacientes con estado físico deteriorado y otras enfermedades asociadas. La lenalidomida (inicialmente llamado CC5013) es un derivado de la talidomida que posee la misma eficacia pero con un mejor perfil tóxico. Un estudio reciente reportó un 56% de respuestas en 43 pacientes con SMD dependiente de transfusiones y que fueron tratados con lenalidomida. Interesantemente las respuestas fueron mayores en pacientes con la deleción intersticial del cromosoma 5q31.1 (83% vs 57%,  $p=0.007$ ) y se observaron respuestas citogenéticas en al menos 50% de los pacientes, incluyendo 10 pacientes con respuestas citogenéticas completas. LA principal limitante de la lenalidomida es la neutropenia y trombocitopenia asociada (65% y 75% respectivamente) que llevaron a la interrupción del medicamento en 58% de los pacientes. Estos resultados han llevado a la reciente aprobación de éste fármaco por parte de la Administración de Fármacos y Alimentos de los

EUA (FDA) para este subgrupo de pacientes.

Otros agentes como dosis bajas de citarabina más mesilato de imatinib, inhibidores de la farnesyl transferasa (tipifarnib), trióxido de arsénico e inhibidores de metaloproteinasas han dado resultados modestos en grupos pequeños de pacientes.

Cuadro 2. Eficacia de la talidomida en SMD.

| Autor          | Año  | No. de pacientes                | Población              | Talidomida         | Respuesta   |
|----------------|------|---------------------------------|------------------------|--------------------|---|
| Raza           | 2001 | 83                              | SMD                    | 100-400mg x 12 sem | Mala tolerancia a $\uparrow$ dosis de Talidomida. 19% respuesta en IAT (16/33) 31% respuesta en pts evaluables (16/51)  |
| Moreno-Aspitia | 2002 | 73                              | SMD                    | 200-1000mg         | Mala tolerancia a $\uparrow$ dosis de Talidomida 1 RP con desaparición de -7, 24 Mejorías hematológicas   |
| Bertolini      | 2001 | 34MM<br>5 SMD<br>1Histiocitosis | SMD, MM, Histiocitosis | 100-400mg          | Mala tolerancia a $\uparrow$ dosis de Talidomida Respuesta clínica en 2/5 SMD, disminución de blastos en SP, $\uparrow$ Hb y plaquetas, independencia de transfusiones en 1 pt. |
| Strupp         | 2002 | 34                              | SMD y LMMC             | Mediana 400mg      | Mala tolerancia a $\uparrow$ dosis de Talidomida 19/34 respuesta clínica (56%).   |

IAT=intención de tratar, pts=pacientes, RP=respuesta parcial, Hb=hemoglobina, MM=mieloma múltiple, LMMC=Leucemia mielomonocítica crónica (Modificada según Referencia 24)

## HEMOGLOBINURIA PAROXÍSTICA NOCTURNA: HEMÓLISIS INTRAVASCULAR CRÓNICA Y DEFICIENCIA DE OXIDO NÍTRICO. UN NUEVO MECANISMO FISIOPATOGÉNICO.

R.A. Góngora-Biachi.

### Introducción.

La Hemoglobinuria Paroxística Nocturna (HPN) es un padecimiento clonal adquirido del tejido hematopoyético, que se caracteriza por la producción de células sanguíneas y precursores medulares que presentan mayor sensibilidad al efecto citolítico del complemento (C). Este defecto es secundario a la pérdida parcial o total de proteínas ligadas al glucosilfosfatidil inositol (GPI), que regulan la actividad biológica del C y su

expresión se traduce en hemólisis intravascular. Otra característica de la HPN es hematopoyesis ineficaz y, en algunos casos, fenómenos trombóticos.

### **El glucosilfosfatidil inositol y la HPN.**

La deficiencia de la acetilcolinesterasa reportada en los glóbulos rojos con defecto HPN (GR-HPN) y que no se ha relacionado como factor causante de la hemólisis, fue identificada tempranamente como una expresión más del defecto de membrana de los GR-HPN. La identificación de otras proteínas con expresión deficiente en estos GR (antígeno 3 relacionado con la función linfocitaria, el CD14 (proteína fijadora y receptora de endotoxina), CD24 (activador de células B) y el receptor IIIa del FC, entre otras) sugerían que el defecto debería estar en un origen común. El detalle común de estas proteínas, radica en que todas ellas se encuentran ancladas a la superficie de las células, a través de una estructura de GPI. Dos proteínas más, ancladas al GPI, participan importantemente en la regulación de la actividad biológica del C, protegiendo al GR de una destrucción segura al activarse este sistema orgánico de defensa, que es muy eficiente. Estas proteínas son el factor que acelera la degradación de las convertasas del C fijadas a la membrana (DAF = "*decay accelerating factor*", o CD55) y la proteína reguladora de la fracción citolítica C5b-9, el inhibidor de membrana de la lisis reactiva o CD59. Otra proteína reguladora del C y que también se ancla al GPI es el y HRF65/HRF-C8bp o factor homólogo de restricción ("*homologous restriction factor*").

En 1992, Mahoney y col. y Hirose y su grupo demostraron que en la HPN la síntesis del GPI era defectuosa, lo que en su turno impedía se anclaran las proteínas antes descritas. Estas observaciones otorgaron por vez primera el conocimiento del trastorno molecular de la HPN. Estudios realizados por Takeda y col., en la Universidad de Osaka Japón, y publicados en 1993, demostraron que las líneas celulares de dos pacientes con HPN y líneas celulares mutantes deficientes en GPI tenían el mismo gen defectuoso. Este mismo grupo de investigadores, logró clonar este gen en 1993 y lo denominó gen

PIG-A (por la clase A de fosfatidilinositolglican) e identificaron el DNA complementario. Encontraron que éste participaba en la síntesis del primer compuesto intermedio del GPI. Asimismo Takeda y su grupo pudieron demostrar que el DNA complementario del gen PIG-A, corregía el fenotipo defectuoso de las células HPN e identificaron una mutación somática que ocasionaba la pérdida de la función del gen PIG-A. Este gen ha sido ubicado por este grupo en la porción p22.1 del cromosoma X, lo que lo define como un gen haploide en las células somáticas de hombres, así como de las mujeres por el fenómeno de la inactivación del cromosoma X. Se han descrito que las mutaciones del gen PIG-A en pacientes con HPN y de diferentes grupos étnicos son similares.

En los GR-HPN hay una disminución cuantitativa del DAF. Esta disminución es relativa en los GR-HPN II (que son de 3 a 5 veces más sensibles a la acción del C), mientras que en los GR-HPN III (que son de 15 a 25 veces más sensibles a la acción del c), la deficiencia es total). Por otro lado, los GR-HPN III tienen una marcada deficiencia de CD59. En los GR-HPN II la actividad del CD59 es parcialmente deficiente.

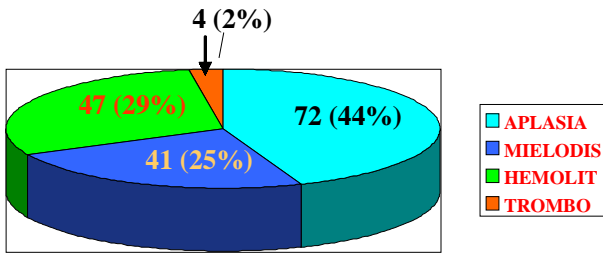
### **Los patrones clínicos en la HPN.**

Clínicamente, la HPN se caracteriza por hematopoyesis ineficaz, hemólisis intravascular y en algunos grupos raciales (anglosajones) está presente con mayor frecuencia el fenómeno trombótico como evento inicial. Basados en el análisis de 164 pacientes mexicanos con HPN, diagnosticados a través de sistemas de hemólisis específicos, es decir con clona HPN presente en  $\geq 5\%$  de los eritrocitos, hemos propuesta una clasificación de la enfermedad considerando las manifestaciones iniciales (35). Así, los pacientes pueden agruparse en cuatro clases (figura 1):

Clase I (Grupo Aplásico/hipoplásico): pacientes con médula ósea (MO) hipocelular o aplásica, con o sin hemoglobinuria y/o hemólisis. (n=72, 44%).

Clase II (Grupo Mielodisplásico): pacientes con MO normo celular o hiper celular, sin expresión clínica de hemólisis o hemoglobinuria y con citopenia (n=41, 25%).

Clase III (Grupo Hemolítico): pacientes con MO normo celular o hiper celular, con o sin



N= 164 pacientes mexicanos con HPN

**Figura 1.-** Clasificación de la Hemoglobinuria Paroxística Nocturna, en un grupo de pacientes mexicanos.

leucopenia y/o trombocitopenia y con hemólisis clínica y/o hemoglobinuria. (n=47%, 29%).

Clase IV (Grupo Trombótico): pacientes con MO normo celular o hiper celular, sin hemólisis clínica o hemoglobinuria y con trombosis (n=4, 2%).

Las curvas de supervivencia actuarial definen el curso clínico de la enfermedad en cada clase (figura 2). Así, el porcentaje estimado de supervivencia a 10 años fue de 67% en la Clase I, 73% en la Clase II, 95% en la Clase III. Los pocos casos de la Clase IV no comparan la supervivencia actuarial de este grupo. La expresión de la HPN como enfermedad crónica es más evidente en el Grupo Hemolítico.

El curso clínico de la HPN es muy variable. Las muertes tempranas se relacionan con aplasia/hipoplasia medular y síndrome hemorrágico por trombocitopenia. Los fenómenos tromboembólicos se acompañan de alta letalidad en el transcurso de esta enfermedad. En algunos sujetos, con expresión sólo de citopenias o hemólisis compensada, la evolución es más favorable y crónica.

Algunas complicaciones asociadas con HPN son: infecciones bacterianas recurrentes, coagulación intravascular diseminada, insuficiencia renal aguda o crónica, hemocromatosis, crisis aplásica, desarrollo de anemia aplásica, trombosis y, en alrededor del 2% de los casos, anemia refractaria con exceso de blastos y leucemia aguda. Los casos pertenecientes a las clases I y II presentan con frecuencia síndrome hemorrágico por plaquetopenia, que representa la principal causa

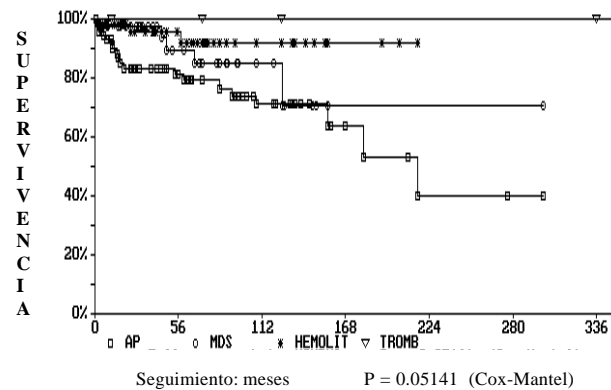
de defunción en estos pacientes.

En general, la HPN en pacientes mexicanos, puede considerarse como un padecimiento crónico y se ha estimado una supervivencia actuarial a 10 años de 71%, a 20 años de 57% y a 30 años de 54%. La supervivencia más prolongada se observa los pacientes con clase III: 95% y 90% a 10 y 20 años respectivamente. Además, en México, predomina un patrón clínico de HPN muy similar a los países asiáticos (alta incidencia de Anemia Aplásica y HPN tipo Síndrome Mielodisplásico, baja frecuencia de trombosis).

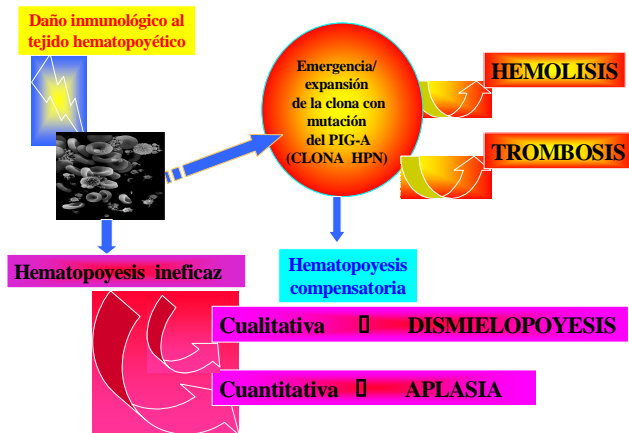
**Patogénesis de la hemólisis.**

Establecida la clona, gran parte de la expresión clínica dependerá de su capacidad proliferante. El crecimiento lento o ineficaz puede no ser compensatorio y permitir que sea evidente una mielodisplasia o una aplasia medular. La producción acelerada de células HPN, por su parte, haría evidente el fenómeno hemolítico (figura 3).

Este fenómeno hemolítico se explica por la deficiencia de las proteínas que regulan la actividad del C y que no pueden fijarse al GPI. (CD55 o DAF, el factor de restricción de la actividad del complemento (CD59 MIRC ("membrane inhibitor of reactive lysis"), y HRF65/HRF-C8bp ("homologous restriction factor"). Esto trae como resultado mayor fijación de C al GR y una actividad biológica magnificada en estas células.



**Figura 2.-** Supervivencia actuarial en un grupo de pacientes mexicanos con Hemoglobinuria Paroxística Nocturna, de acuerdo a la clase clínica al diagnóstico de la enfermedad.



**Figura 3.-** Modelo fisiopatogénico de la Hemoglobinuria Paroxística Nocturna.

Se ha sugerido que la "hemoglobinuria nocturna" observada en la forma clásica de la HPN, se debe a la activación del C por endotoxinas que son absorbidas del tubo digestivo y cuyo efecto puede ser magnificado por la ausencia en los GR de la proteína CD14 (proteína fijadora de endotoxina).

Aunque la hemólisis clínica o la hemoglobinuria -o ambas- como parte de las manifestaciones iniciales de la HPN, en nuestra serie, sólo estuvieron presentes en la tercera parte de estos pacientes, las evidencias de hemólisis (hemoglobina libre en plasma y/o disminución de haptoglobinas) se detectaron en 85% de los casos, independientemente de la clase clínica a la que pertenecían los pacientes. Los niveles incrementados de hemoglobina libre se detectaron en 75/97 (77%), y no necesariamente asociados a eventos hemolíticos clínicos (cuadro 3). Las crisis de hemólisis se asociaron con situaciones de alarma, aunque en la mayoría de los enfermos este evento era crónico, persistente, de intensidad variable y dependiente de la proporción de GR-HPN.

#### **La depleción de óxido nítrico en la HPN.**

El óxido nítrico (ON) es un regulador biológico de gran importancia de homeostasis vascular, incluyendo la vasodilatación y la hemostasia. La interacción del ON con la hemoglobina es un campo de reciente interés por sus posibles consecuencias, en especial en condiciones asociadas a hemólisis crónica.

El ON tiene una alta capacidad de reacción

**Cuadro 3**  
**Niveles supranormales de hemoglobina libre en un grupo de pacientes con HPN.**

| Clase clínica   | N / Total (%) |
|-----------------|---------------|
| Aplásica        | 30/43 (69%)   |
| Mielodisplásica | 17/24 (71%)   |
| Hemolítica      | 26/28 (93%)   |
| Trombótica      | 2/2 (100%)    |
| Total           | 75/97 (77%)   |

con la hemoglobina, que además de ser muy rápida ( $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) es irreversible. Hipotéticamente, la hemoglobina intravascular, contenida en su inmensa mayoría por los GR (16 g/dL), si estuviera como hemoglobina libre, inactivaría a todo el ON producido por el endotelio e impediría su difusión paracrina hacia el músculo liso y hacia el torrente intravascular. Sin embargo, la habilidad del ON para reaccionar con la hemoglobina es limitada, porque los GR actúan como "compartimientos" de hemoglobina e impiden la interacción de ésta con el ON.

En consecuencia, la hemoglobina libre que se genera con la hemólisis fisiológica es inactivada a través de varios mecanismos. La hemoglobina libre adopta forma de dímeros y rápidamente se fija a la proteína plasmática haptoglobina. El complejo haptoglobina-hemoglobina expone un epítipo que es reconocido por el receptor de "remoción" de la hemoglobina, el CD163 de los monocitos/macrófagos, que fija el complejo con gran afinidad y posterior a endocitosis se logra la degradación de la hemoglobina. Debido a que la haptoglobina no es reciclable, la formación de grandes cantidades e complejos haptoglobina-hemoglobina produce una rápida depleción de haptoglobina, lo que explica que sea indetectable en la mayoría de las anemias hemolíticas con gran componente intravascular, como es el caso de la HPN.

El heme ferroso ( $\text{Fe}^{II}$ ), el componente de la hemoglobina que fija el oxígeno, puede ser oxidado a heme férrico ( $\text{Fe}^{III}$ ), que es luego liberado de la hemoglobina y se fija con gran afinidad a la glicoproteína plasmática hemopexina.

El heme fijado a la hemopexina es degradado por el hígado, a través de varios pasos enzimáticos. La oxigenasa de heme tipo 1 (HO-1) transforma, en pasos subsecuentes, al pro-oxidante y pro-inflamatorio heme en monóxido de carbono, biliverdina y hierro. El monóxido de carbono tiene propiedades vasodilatadoras, anti-proliferativas, anti-inflamatorias y anti-oxidante. La biliverdina es un anti-oxidante, que es convertido a bilirrubina por la enzima reductasa de biliverdina, que en sí misma tiene propiedades catalíticas anti-oxidante. El hierro es inactivado por la ferritina. Complementariamente a estos procesos, la haptoglobina-hemoglobina fijada al CD163, induce a la formación de la IL-10 (con propiedades anti-inflamatorias) y HO-1.

En este contexto, los efectos anti-oxidantes, anti-coagulantes, anti-proliferativos y vasodilatadores del sistema CD163/HO-1/reductasa de biliverdina, parecen representar un sistema biológico compensador a los efectos de la hemoglobina, el heme y el hierro extracelulares (inactivación del ON, vasoconstricción, efecto proliferativo y pro-oxidante).

Cuando la capacidad de estos mecanismos depuradores de la hemoglobina libre y sus compuestos es saturado durante la hemólisis intravascular, los niveles de hemoglobina se incrementa en el plasma y en la orina. La hemoglobina libre tiene la habilidad de inactivar al ON, mientras que el heme posee múltiples propiedades pro-inflamatorias y pro-oxidantes. Así, la hemólisis intravascular crónica, como acontece en la HPN, condiciona a un estado de deficiencia de ON.

### **Consecuencias clínicas de la depleción del ON en la HPN.**

Una de las consecuencias de la depleción del ON se refleja en la disfunción del músculo liso de varios órganos. Esta depleción de ON se relaciona con el dolor abdominal, los espasmos esofágicos y la disfunción eréctil.

En nuestro grupo de pacientes (n=168), el 35% de ellos manifestaban dolor abdominal durante las crisis de hemólisis clínica, la mayoría de ellos de la clase clínica III (grupo hemolítico). Sin embargo, el 54% de ellos, independientemente de la clase clínica, refirieron dolor abdo-

minal, aún en ausencia de crisis hemolíticas clínicamente evidentes. En estos casos se excluyó la posibilidad de trombosis de venas mesentéricas como causa de dolor. Es decir, la hipótesis es que la deficiencia de ON causa distonía intestinal y espasmo.

También es común en la HPN el espasmo esofágico y la disfagia, debidas a ondas peristálticas intensas. La incidencia en el grupo de pacientes mexicanos es de alrededor del 25%. El grupo de pacientes que reportan mayor incidencia y severidad de estos eventos clínicos, son los pacientes con hemólisis clínica.

La disfunción eréctil es un tópico de reciente exploración en la HPN y se ha estimado que ocurre en el 35% de los varones con esta enfermedad. Aunque la respuesta a inhibidor de PDE-5 es efectiva en estos pacientes, su efectividad es menor cuando existen crisis aguda o crónicas de intensidad importante, lo que apoya el concepto de deficiencia de ON.

Aunque la trombosis no es un evento frecuente de presentación en los pacientes mexicanos con HPN, el 9% de ellos presentan algún fenómeno trombótico durante la evolución de la enfermedad y representa el 15% como causa de defunción. Entre las causas fisiopatológicas de este fenómeno se considera a la disfunción plaquetaria como una de las más importantes. Así, la deficiencia de ON puede contribuir a este fenómeno al favorecer a la adhesión y agregación plaquetaria, además de favorecer a la activación del sistema de coagulación.

Recientemente, se han reportado 11 pacientes con HPN tratados con el inhibidor de C, eculizumab, por 52 semanas. En este lapso hubo resolución de la hemólisis intravascular y los síntomas asociados a las contracciones de los músculos lisos, así como la calidad de vida. Otro reporte de dos pacientes, tratados por dos años, muestra resultados similares, incluyendo la resolución de la disfunción eréctil.

### **Conclusiones.**

En la HPN la hemólisis intravascular crónica es un evento común (77%). Las consecuencias de este fenómeno se traducen en

incrementos de hemoglobina libre en plasma y depleción de ON. La depleción del ON en la HPN es un evento fisiopatogénico que recientemente se ha identificado y representa un nuevo mecanismo de enfermedad humana: hemólisis intravascular asociada a distonía de músculo liso, a vasculopatía y disfunción endotelial. El del impacto de exceso de moléculas de heme, aunado a la deficiencia de ON, deberá considerarse en los futuros enfoques de la investigación de la HPN.

## REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.

### SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS (SMD).

- 1.- Aguayo A. The role of angiogenesis in the biology and therapy of myelodysplastic syndromes. *Current Hematology Reports* 2004;3:184-91.
- 2.- Deeg HJ. Optimization of transplant regimens for patients with myelodysplastic syndrome (MDS). 2005. Págs. 167-73.
- 3.- Hellström-Lindberg E. Update on supportive care and new therapies: Immunomodulatory drugs, growth factors, and epigenetic-acting agents. 2005. Págs. 161-6.
- 4.- Leone G, Teofili L, Voso MT, Lübert M. DNA methylation and demethylating drugs in myelodysplastic syndromes and secondary leukemias. *Haematologica* 2002;87:1324-41.
- 5.- López-Karpovitch X, Barrales-Benítez O, Flores M, Piedras J. Effect of azacytidine in the release of leukemia inhibitory factor, oncostatin M, interleukin (IL)-6, and IL-11 by mononuclear cells of patients with refractory anemia. *Cytokine* 2002; 20:154-62.
- 6.- Look AT. Molecular pathogenesis of MDS. 2005. Pag. 156-60.

### NOVEDADES TERAPÉUTICAS EN LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS.

- 1.- Cortés JE, Kantarjian H, List A, Aguayo A: Myelodysplastic Syndromes in: *Cancer Management: a multidisciplinary approach*, 6<sup>th</sup> Edition. 2002, Edit:

PRR, Melville, NY. Chapter 37 pp: 735-748.

- 2.- Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) Classification of the myeloid neoplasms. *Blood* 2002; 100: 2292-2302.
- 3.- Aguayo A, Kantarjian H, Manshour T, Gidel C, Estey E, Thomas D, *et al.* Angiogenesis in acute and chronic leukemias and myelodysplastic syndromes, *Blood* 2000; 96:2240-2245.
- 4.- Aguayo A., The Role of Angiogenesis in the Biology and Therapy of Myelodysplastic Syndromes. *Current Hematology Reports* 2004; 3:184-191.
- 5.- Raza A, Meyer P, Dutt, *et al.* Thalidomide produces transfusion independence in long standing refractory anemias of patients with myelodysplastic syndromes. *Blood* 2001; 98:958-965.
- 6.- Moreno – Aspitia A, Geyer S, Li C, *et al.* N998B: multicenter phase II trial of thalidomide in adult patients with myelodysplastic syndromes. *Blood* 2002; 100:96 a.
- 7.- Silverman LR, Demakos EP, Peterson BL, *et al.* Randomized Controlled Trial of Azacitidine in Patients with Myelodysplastic Syndrome: A Study for the Cancer And Leukemia Group B. *J Clin Oncol* 2002; 20: 2429-40.
- 8.- List A, Kurtin S, Roe DJ, *et al.* Efficacy of Lenalidomide in Myelodysplastic Syndromes. *N Engl J Med* 2005; 352: 549-57.

### HEMOGLOBINURIA PAROXÍSTICA NOCTURNA: HEMÓLISIS INTRAVASCULAR CRÓNICA Y DEFICIENCIA DE ÓXIDO NÍTRICO. UN NUEVO MECANISMO FISIOPATOGÉNICO.

Bessler M, Mason P, Hillmen P, Luzzatto L. Somatic mutations and cellular selection in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Lancet* 1994;343:951-53.

Góngora-Biachi RA, López-Borrasca A. Hemoglobinuria Paroxística Nocturna. En López-Borrasca A, ed. *Enciclopedia Iberoamericana de Hematología: 1ª edición*. Salamanca: Ediciones Universal, 1992: vol. I: 327-33.

Góngora-Biachi RA, González-Martínez P, Pinto-Escalante D, Ceballos-Quintal JM. Chromosomal

findings in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Int J Hematol* 1993; 58: 163-7.

Góngora-Biachi RA. Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: The mexican experience. *Rev Invest Clin* 1997; 49 (supl): 85-8.

Góngora-Biachi Ra, González-Martínez P, Sosa-Muñoz J, Castro-Sansores C, Delgado-Lamas JL, Vázquez-Villegas V, et al. Historia natural de hemoglobinuria paroxística nocturna en adolescentes, adultos y en la edad pediátrica; la experiencia mexicana. *Sangre* 1997; 42:171-7.

Góngora-Biachi RA. Hemoglobinuria Paroxística Nocturna: Nuevos Conceptos de una vieja enfermedad. En Góngora-Biachi RA, editor. *Hematología Actualización 2005*. Mérida: Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C; 2005; p 31-41.

Hill A; Hillmen P; Richards SJ; Elebute D; Marsh JC; Chan J; Mojcik CF; Rother RP. Sustained response and long-term safety of eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2005; 106:2559-65.

Hill A, Rother RP, Hillmen P. Improvement in the symptoms of smooth muscle dystonia during eculizumab therapy in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica* 2005; 90 (suppl): ECR40

Hillmen P, Hall C, Marsh JC, Elebute M, Bombara MP, Petro BE, et al. Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2004; 350:552-9.

Hirose S, Ravi L, Prince GM. Synthesis of mannosylglucosaminylinositol phospholipids in normal but not paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:6025-9.

Mahoney JF, Urakaze M, Halls S. Defective glycosylphosphatidylinositol anchor synthesis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria granulocytes. *Blood* 1992; 79:1400-3.

Miyata T, Takeda J, Iida J, et al. The cloning the PIG-A, a component in the early step of GPI anchor synthesis. *Science* 1993;259:1318-20.

Nakakuma H, Kawaguchi T. Pathogenesis of selective expansion of PNH clones. *Int J Hematol* 2003; 77:121-4.

Nicholson-Weller A, March JP, Rosenfel SI, Austen KF. Affected erythrocytes of patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria are deficient in the complement regulatory protein decay accelerating factor. *Proc natl Acad Sci USA* 1983; 80:5066-70.

Okamoto M, Shichishima T, Noji H, Ikeda K, Nakamura A, Akutsu K, Maruyama Y. High frequency of several PIG-A mutations in patients with aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. *Leucemia* 2006; 20: 627-34.

Pangburn MK, Schreiber RA, Müller-Eberhard HJ. Deficiency of an erythrocyte membrane protein with complement regulatory activity in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80:5430-4.

Rother RP, Bell L, Hillman P, Gladwin MT. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extravascular plasma hemoglobin. A novel mechanism of juman disease. *JAMA* 2005; 293:1653-62.

Takahashi M, Takeda J, Hirose S. Deficient biosynthesis of -acetyl-glucosaminyl-phosphatidylinositol, the first intermediate of glycosyl phosphatidylinositol anchor biosynthesis, in cell lines established from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Exp Med* 1993; 177:517-21.

Takeda J, Miyata T, Kawagoe K, et al. Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Cell* 1993; 73:703-6

Young, N. S. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: current issues in pathophysiology and treatment. *Curr Hematol Rep* 2005; 4:103-109.

## TÓPICOS EN HEMOSTASIA.

## Capítulo 6

**Sandra Quintana-González, Jaime García-Chávez, Abraham Majluf-Cruz, Guillermo J. Ruiz-Argüelles.**

### ALARGAMIENTO DE LOS TIEMPOS DE COAGULACIÓN.

**S. Quintana-González.**

#### INTRODUCCIÓN.

Una de las interconsultas más frecuentes a los servicios de hematología es el alargamiento en los tiempos de coagulación. Sin embargo, no debemos olvidar que la historia clínica y la exploración física son componentes esenciales en la evaluación de un paciente con tiempos prolongados de coagulación. Así mismo, estas herramientas son indispensables para evaluar principalmente el riesgo de hemorragia en estos pacientes.

El uso de las pruebas de laboratorio para evaluar la hemostasia no sustituyen por ningún motivo la evaluación clínica del enfermo. Es muy importante señalar, que existen evidencias que las pruebas de escrutinio no son útiles para predecir el riesgo de hemorragia, especialmente cuando se aplican de manera indiscriminada.

El tiempo de sangrado (TS) no es útil para predecir el riesgo quirúrgico de hemorragia. Un TP/INR anormal puede reflejar enfermedad hepática o deficiencia de vitamina K, el cual previamente no se había considerado. El TTPa no es una prueba útil en la evaluación preoperatorio en pacientes sin historia de hemorragia. Recientemente, se ha establecido que las pruebas de escrutinio de hemostasia se realizan para confirmar la presencia y el tipo de enfermedad hemorrágica en un paciente con sospecha clínica de hemorragia. Una excepción a esta sugerencia puede ser para la evaluación pre-operatoria en niños o adolescentes, en quienes la historia clínica pue-

de darnos menos información.

Cabe señalar, que la alteración en las pruebas de coagulación pueden reflejar resultados no válidos, por ejemplo, la forma de obtención de la muestra, el almacenamiento de la misma, etc., que se consideran factores críticos para obtener resultados confiables, por tal motivo, cuando se tiene prolongación de los tiempos de coagulación en un paciente sin hemorragia, se recomienda repetir los estudios con atención a estos factores conocidos como pre-analíticos. La mayoría de las pruebas de coagulación se realizan con citrato de sodio como anticoagulante, el cual es recalificado para la prueba.

Uno de los errores frecuentes es que la proporción entre el anticoagulante y la sangre no es la adecuada o incorrectamente se mezcla en los tubos de colección lo cual proporciona resultados erróneos. La elevación del hematocrito (>55%) puede darnos falsos positivos por la disminución en la proporción del plasma con el anticoagulante. Un resultado exacto se obtiene ajustando la cantidad de la solución de citrato de sodio a la sangre en base a un volumen de plasma.

#### Tiempo de Protrombina (TP).

El TP fue desarrollado por Quick y col. en 1935 y evalúa la vía extrínseca del sistema de coagulación; factor VII, y la vía común; incluyendo al factor II (protrombina), V, y X, así como la formación del coágulo (1). El TP mide el tiempo para la formación del coágulo del plasma citratado después de la recalificación y adición de tromboplastina. La tromboplastina es una combinación de factor tisular (FT), que es el receptor de membrana para el factor VII, VIII y fosfolípidos.

La velocidad de reacción del TP esta influenciado no solamente por la concentración en plasma de los factores de coagulación de la vía intrínseca y de la vía común, sino también por la concentración y propiedades del FT. La sensibilidad para diferentes deficiencias de factores y coagulopátías varía por la fuente de tromboplastina.

El grado de prolongación del TP es dependiente de la tromboplastina en la reacción y también del instrumento utilizado para la prueba. En el pasado, el uso de varias tromboplastinas e instrumentos dieron como resultado variación en los niveles de anticoagulación cuando la relación del TP fue usado para evaluar el tratamiento con anticoagulantes orales (AO). Para ajustar esta variabilidad, la sensibilidad en conjunto con diferentes tromboplastinas actualmente es expresado como el índice de sensibilidad internacional (ISI) (2). Es determinado por la calibración de la tromboplastina contra una tromboplastina estándar. Una relación inversa existe entre el ISI y la sensibilidad de la tromboplastina.

Aunque el INR fue desarrollado para evaluar la anticoagulación debido a la reducción de los factores dependientes de la vitamina K, es útil para evaluar a pacientes con enfermedad hepática, particularmente cuando se comparan los valores de la prueba realizada en diferentes laboratorios. Sin embargo, la progresión de la insuficiencia hepática esta asociada con cambios variables de los factores de coagulación, el grado de prolongación del TP o del INR útil solamente predice el riesgo de hemorragia. Por otro lado, el INR no es una medida para evaluar la anticoagulación oral en algunos pacientes con anticoagulante lúpico.

### **Tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa).**

Al igual que el TP/INR el TTPa es realizado con plasma citratado recalcificado. Evalúa la vía intrínseca y la vía común del sistema de coagulación. El reactivo del TTPa contiene fosfolípidos, los cuales funcionan como sustitutos de plaquetas en la vía de coagulación. La prueba de TTPa también incluye un activador del sistema intrínseco de la coagulación, como el ácido elálgico o caolin, celite o sílica micronizada.

La composición de fosfolípidos de diferentes reactivos para el TTPa varían considerablemente e influyen en la sensibilidad de reactivos individuales para las deficiencias de los factores de coagulación e inhibidores, entre ellos la heparina y el anticoagulante lúpico. El reactivo de TTPa varía en sensibilidad a deficiencias individuales de los factores de coagulación. Usualmente el TTPa se prolonga, cuando la deficiencia del factor de coagulación esta entre el 30-40%.

### **Estudios de mezclas.**

Los estudios de mezclas son usados para evaluar la prolongación de los tiempos de coagulación, para distinguir entre una deficiencia de un factor y un inhibidor. En esta prueba, el plasma normal y el plasma del paciente se mezclan en una proporción de 50:50, y el TTPa o el TP es determinado inmediatamente después de la incubación a 37°C y a diferentes tiempos 30 minutos, 60 minutos, y/o 120 minutos. Cuando se presentan deficiencias de los factores de coagulación, el TTPa corrige con la mezcla y permanece de la misma forma después de la incubación. En caso de sospechar deficiencia se deben de determinar los factores específicos para cada tiempo de coagulación, ejemplo pacientes con hemorragia y exclusivamente TTPa prolongado se debe de determinar factor VIII, IX y XI. Cuando el TTPa esta prolongado debido a un anticoagulante lúpico, la mezcla inicial y la incubación no muestran corrección (3).

En inhibidores adquiridos, como el inhibidor del factor VIII adquirido, la prueba inicial puede o no puede corregirse inmediatamente después de la mezcla pero se prolongará con la incubación a 37°C. Otros factores que influyen para corregir en las mezclas pueden también ser causadas por otros inhibidores como la heparina, los productos de degradación de la fibrina (PDF) y paraproteínas.

### **Tiempo de Trombina (TT).**

El TT es una prueba simple que mide el tiempo para la formación del coágulo en un plasma citratado después de la adición de trombina. Por lo tanto, el TT refleja la acción de la trombina sobre el fibrinógeno con la formación

de fibrina.

El TT prolongado, es causado por una deficiencia o a una anomalía estructural del fibrinógeno o por la presencia de un inhibidor de la reacción trombina-fibrinógeno. Es anormal en pacientes con hipofibrinogenemias, afibrinogenemias, disfibrinogenemias, empleo de heparina y presencia de productos de degradación fibrinógeno- fibrina circulantes que interfieren con la polimerización de la fibrina y provocan alargamiento del TT.

#### **Abordaje del paciente con hemorragia.**

En la evaluación clínica y de laboratorio, varios escenarios pueden ocurrir dependiendo de la presencia y tipo de hemorragia, en la cual, si cualquier prueba de escrutinio resultará anormal se debe de determinar los factores de coagulación dependiendo de la alteración en las pruebas de escrutinio y cuantificar los niveles del factor deficiente. Debemos tomar en cuenta la naturaleza de la hemorragia, el sitio y magnitud de la misma, y adicionalmente los antecedentes heredofamiliares, la ausencia de estos antecedentes no excluye por completo que el paciente no presente una alteración hereditaria de la hemostasia, ya que puede existir una mutación de novo.

#### **Los pacientes con historia de hemorragia, TTPa y TP prolongados.**

##### **Enfermedades Hereditarias.**

En pacientes con deficiencias hereditarias de los factores de la vía común prolongarán el TP y el TTPa, generalmente el TP es el más prolongado de los dos. Ambos tiempos se encuentran prolongados en pacientes con deficiencia de protrombina (factor II), factor V y X, estas deficiencias son heredadas de manera autosómica recesiva y son muy raras. En pacientes con alteraciones del fibrinógeno se prolongan ambos tiempos y adicionalmente pueden presentar síntomas de daño en hemostasia primaria y secundaria. Las disfibrinogenemias son hereditarias y de transmisión autosómica dominante. En adición a un TP prolongado y TTPa con menor prolongación, los pacientes tendrán TT y TR pro-

longados. Aproximadamente, la mitad de los pacientes con disfibrinogenemias no tendrán síntomas; aproximadamente un 25% de los pacientes pueden presentar síntomas hemorrágicos, usualmente hemorragias leves, y ocasionalmente algunos pacientes presentan trombosis venosa y/o arterial (4).

##### **Enfermedades Adquiridas.**

Los inhibidores de los factores de la vía común son extremadamente raros. El más común es un inhibidor del factor V resultado del uso de trombina bovina tóxica, la cual esta contaminada con factor V de origen bovino (5). Se pueden desarrollar anticuerpos con reacción cruzada al factor V humano. Es raro que los pacientes con anticoagulante lúpico cursen con deficiencia de protrombina de manera significativa. La amiloidosis pueden producir deficiencia de los factores vitamina K dependientes, principalmente de factor X, debido a la absorción del factor sobre la fibras amiloides.

#### **Los pacientes con historia de hemorragia, TTPa prolongado y TP normal.**

##### **Enfermedades Hereditarias.**

Se pueden detectar a los pacientes con hemofilia A o clásica (deficiencia de factor VIII), deficiencia de factor IX (Hemofilia B) y deficiencia de factor XI. Los pacientes con hemofilia A y B clínicamente son indistinguibles, sin embargo, es importante diferenciarlas porque el tratamiento es totalmente diferente. Es importante recalcar que ambas son deficiencias hereditarias ligada al cromosoma sexual X, y aproximadamente, el 30% de nuevos casos de hemofilia son debidas a nuevas mutaciones (hemofilia de novo) y carecen de antecedentes familiares. En la tabla 1 se muestra enfermedades hereditarias y adquiridas con historia de hemorragia, TTPa prolongado con TP normal.

Las portadoras de hemofilia A o B pueden tener lyonización extrema y pueden tener síntomas hemorrágicos. Si los niveles están disminuidos, ellas usualmente tienen niveles de factor de más del 5% y pueden presentar hemorragia postoperatoria, postparto o menorragia.

Otras enfermedades que se debe sospechar con TTPa prolongado es la enfermedad de von Willebrand (EvW). La EvW es la enfermedad hemorrágica más común, incluso en países europeos la prevalencia es del 1% de la población. El factor de von Willebrand (FvW) tiene dos funciones en la hemostasia; en la hemostasia secundaria su función es estabilizar al factor VIII y en hemostasia primaria participa en la adhesión y en la agregación plaquetaria. Por lo tanto, en los pacientes con EvW el factor VIII disminuye porque no hay quien lo estabilice, y por este motivo, disminuye el factor VIII y por ende, el TTPa se prolonga. El TTPa se prolonga cuando los niveles de factor VIII usualmente son menores del 35%. En algunos pacientes con EvW tipo I, el factor VIII puede ser mayor del 35% y por lo tanto, el TTPa se encuentra normal. El TTPa esta significativamente prolongado en pacientes con EvW tipo 3, en donde el nivel del factor VIII usualmente es menor del 5%, y en pacientes con EvW tipo 2N (Normandy) existe una alteración en la unión entre el FvW y el factor VIII, lo que produce una prolongación significativa del TTPa.

Los pacientes con deficiencia de factor XI, tienen síntomas hemorrágicos variables, incluso pacientes con niveles de factor XI muy bajo pueden tener hemorragias leves. La mayoría de los pacientes con valores menores del 10% son de origen judío Ashkenazi. Esta enfermedad es rara en otro tipo de población. Los cuadros hemorrágicos son menos graves que los que se observan en pacientes con hemofilia A y B, no ocurren hemartrosis espontáneas y lo que predominan son hemorragias en mucosas.

### **Enfermedades adquiridas.**

La enfermedad hemorrágica hereditaria más común con esta presentación es debido a la presencia de inhibidores contra el factor VIII. Los inhibidores adquiridos al factor IX y XI se han reportado de manera poco frecuente. Los inhibidores adquiridos contra el factor VIII ocurren más comúnmente en el viejo (mayores de 60 años), pero se han reportado en niños, en el postparto, enfermedades autoinmunes, etc. El diagnóstico de los pacientes con inhibidor adquirido contra el factor VIII, el TTPa se encuentra

prolongado, el cual no corrige de manera inmediata en el estudio de mezclas y permanecerán o se prolongarán aún más cuando se incuban a 37°C. Algunos pacientes con EvW adquirida tienen niveles bajos de factor VIII y por lo tanto, prolongación del TTPa.

### **Los pacientes con historia de hemorragia, TTPa normal y TP prolongado.**

#### **Enfermedades Hereditarias.**

La deficiencia de factor VII es la deficiencia que se caracteriza por prolongación exclusiva del factor VII. El nivel hemostático que se requiere de factor VII en plasma es del 10-15%. La hemorragia es muy variable, y en casos de factor VII menor al 1% pueden presentar hemartrosis. Algunos pacientes pueden presentar trombosis, particularmente en asociación con el tratamiento. La deficiencia leve de factor VII, no esta asociada con hemorragia, pero prolonga el TP.

El TP es más sensible que el TTPa en pacientes con deficiencias de los factores de la vía común y en pacientes con disfibrinogenemia, y por lo tanto, los pacientes con deficiencia leve de los factores de la vía común, pueden tener solamente TP prolongado. La prolongación del TP y TTPa se observa en deficiencias más severas.

#### **Enfermedades Adquiridas.**

El TP es más sensible en los pacientes con insuficiencia hepática y deficiencia de vitamina K más que el TTPa, esto se debe a que la disminución inicial es del factor VII debido a su vida media corta. Posteriormente, se prolonga el TTPa conforme existe una disminución más importante del resto de los factores dependientes de vitamina K. En pacientes con CID, el TP puede estar prolongado con un TTPa normal, por los efectos sobre el fibrinógeno. Cuando hay hemorragia en estos pacientes el TTPa se encuentra prolongado, aunque en menor grado que el TP. Por otro lado, los pacientes con CID presentan adicionalmente trombocitopenia, la cual incrementa el riesgo de hemorragia en estos pacientes. Las paraproteínas pueden prolongar el TP, usualmente más que el TTPa, porque interfieren con la polimerización de la fibrina. Esto

también prolonga el TT y el tiempo de reptilasa.

### Los pacientes con historia de hemorragia, TTPa y TP normales.

#### Enfermedades Hereditarias.

En algunos pacientes con EvW en donde el factor VIII no es suficientemente bajo el TTPa se encuentra normal. En pacientes con deficiencia de factor XIII el TTPa y el TP son normales y se requieren pruebas específicas para determinar este factor (Cuadro 2). En pacientes con deficiencia leve de fibrinógeno pueden tener TP y TTPa normales. En enfermedades cualitativas de la función de las plaquetas solo se detectan en estudios de hemostasia primaria, que incluyen el TS, el PFA-100, pruebas de función plaquetaria como la agregación.

#### Enfermedades Adquiridas.

Algunos medicamentos o alimentos pueden llegar a interferir con la función de las plaquetas y provocar enfermedad hemorrágica. Se han reportado, los inhibidores adquiridos contra el factor XIII o la fibrina.

### Los pacientes sin historia de hemorragia, con tiempos de coagulación anormales.

Existen pacientes que se solicitan estudios de hemostasia previo a cirugía o como rutina y que niegan antecedentes de hemorragia, estos pacientes pueden presentar prolongación aislada del TP o TTPa, y menos común de ambos tiempos.

#### Enfermedades Hereditarias.

En pacientes con deficiencia del factor XII, precalicreína o cininógeno de alto peso molecular tienen una marcada prolongación del TTPa sin presentar hemorragias. La gran variabilidad clínica de los pacientes con deficiencia de factor XI, pueden presentar prolongación del TTPa sin presentar hemorragia.

En relación a la prolongación aislada del TP es más comúnmente vista en pacientes con deficiencia de factor VII, pero en pacientes con deficiencia leve de este factor (Factor VII entre 10 y 15 %) clínicamente no presentan hemorragia.

El TP es más sensible en pacientes con disfibrinogenemia más que con el TTPa, muchos pacientes con disfibrinogenemia no presentan fenómenos hemorrágicos.

#### Enfermedades Adquiridas.

El anticoagulante lúpico típicamente prolongan el TTPa y no el TP. La mayoría de los pacientes con AL presentan una prolongación discreta del TTPa, y ocasionalmente se prolonga el TP. Algunos pacientes con AL están asociados con hipoprotrombinemia que se sospecha con la prolongación del TP. Si la hipoprotrombinemia es severa se asocia a hemorragia.

**Cuadro 1**  
Causas posibles de tiempos de coagulación prolongados.

| TP y TTPa<br>Via Común   | TP<br>Via Extrínseca   | TTPa<br>Via Intrínseca  | TT<br>Fibrinoformación   |
|--|--|---|--|
| Causas de TP y TTPa prolongados:   | Causas de TP Prolongado con TTPa normal:   | Causas de TTPa Prolongado con TP normal:  | Causas de TT prolongado  |
| Hereditarias:<br>Deficiencia de factores II, V y X<br>Deficiencia de fibrinógeno con TT y TR prolongados   | Hereditarias:<br>Deficiencia de F.VII  | Hereditarias:<br>Deficiencia de los factores: XII, Fletcher, Fitzgerald, XI, IX, VIII.<br>EvW   | Hereditarias:<br>Afibrinogenemia<br>Disfibrinogenemia  |
| Adquiridas:<br>Inhibidor específico<br>Anticoagulante lúpico (anti-FII)<br>Amiloidosis<br>CID<br>Deficiencia de factores por insuficiencia hepática<br>Deficiencias de factores por deficiencia de vitamina K<br>Disfibrinogenemia por enfermedad hepática<br>Paraproteinemias | Adquiridas:<br>Tratamiento con anticoagulantes (cumarínicos, heparina).<br>Deficiencia de factores por insuficiencia hepática<br>Deficiencias de factores por deficiencia de vitamina K<br>Inhibidor contra factor VII<br>Anticoagulante Lúpico<br>CID<br>Paraproteinemias | Adquiridas:<br>Tratamiento con anticoagulantes (heparina, cumarínicos).<br>Inhibidores específicos contra factores de vía intrínseca.<br>Anticoagulante Lúpico. | Adquiridas:<br>Tratamiento con heparina.<br>Presencia de productos de degradación fibrinógeno-fibrina. |

**Cuadro 2**

### Enfermedades hemorrágicas que cursan con pruebas de escrutinio de hemostasia normales.

Deficiencia de factor XIII  
Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria  
Púrpura vascular  
Deficiencia de la 2-antiplasmina

### Análisis global del enfermo en cirugía.

La guía de Rappaport nos indica que tipo de exámenes de laboratorio son los necesarios para evaluar al paciente dependiendo del tipo de cirugía, en la práctica todo paciente que será sometido a

una intervención quirúrgica sea mayor o menor, requiere de manera obligatoria el interrogatorio y la exploración física del enfermo, como los parámetros más importantes en la evaluación preoperatoria. El monitoreo de la hemostasia en estos pacientes es esencial para el manejo de los problemas de coagulación, incluyendo a aquellos pacientes que reciben tratamiento anticoagulante. Las pruebas tradicionales de la hemostasia, como el TP y el TTPa, miden la formación del coágulo pero no reflejan los efectos de las plaquetas sobre la trombina y la estructura de la fibrina (6). Como resultado, estas pruebas no describen la calidad final del trombo o predicen la respuesta al tratamiento, ni tampoco si el paciente pueden presentar hemorragia en cirugía.

El TP y TTPa fueron diseñados para detectar las deficiencias de los factores de hemostasia, no para evaluar el riesgo clínico de hemorragia. Los rangos normales están basados en la población en general y no reflejan valores de pacientes post-quirúrgicos sin hemorragia significativa. De igual importancia, la probabilidad de una deficiencia hereditaria de un factor de coagulación en una población de pacientes no seleccionados es pequeña, aproximadamente 17:100,000 hombres y 5:100,000 mujeres. La prevalencia de una deficiencia hereditaria de factor VII es aún más baja de 2-3/1 millón de personas. Las deficiencias adquiridas de factor VII se observa principalmente en pacientes con enfermedad hepática, mala absorción o desnutrición. Por otra parte es importante investigar en la historia clínica el origen de las personas, ejemplo, el caso de los judíos Ashkenazi, los cuales tienen una alta prevalencia de deficiencia hereditaria de factor XI. Estos pacientes cursan con TTPa prolongado, y se identifica determinando el nivel del factor XI. La hemorragia en estos pacientes pueden ser prevenible por administrar el factor deficiente.

El objetivo de realizar TP/TTPa es útil para detectar enfermedades hereditarias de la coagulación, algunos autores recomiendan realizar estos estudios previo a la cirugía, sin embargo, otros lo realizan como mecanismo de defensa por los problemas de demandas. No todos los pacientes con pruebas de coagulación anormales sangran después de la cirugía. Close

y cols (7) en un estudio prospectivo, señala que el TP/TTPa antes de la cirugía no son predictores útiles de hemorragia post-cirugía. Un estudio prospectivo y multicéntrico donde estudiaron a 3,242 pacientes comprobaron que las pruebas de escrutinio de coagulación preoperatorios solo deben de realizarse en pacientes con historia previa de hemorragia (8).

Por otro lado, la tonsilectomía y/o amigdalectomía son las cirugías electivas más comunes en la edad pediátrica, con hemorragia en el post-operatorio (POP) de 2-4% de los casos. Habitualmente, en estos pacientes se solicitan como estudios preoperatorios de coagulación; TTPa, TP e INR (Razón internacional normalizado). Existe debate si a estos niños sanos con cirugía electiva, se les debe de realizar como rutina los estudios de hemostasia anteriormente descritos, antes de la cirugía. La Academia Americana de Cirugía otorrinolaringológica y de cabeza y cuello recomiendan exclusivamente realizar las pruebas de escrutinio solamente a aquellos pacientes con historia previa o a la exploración física que pueden indicar problemas de coagulación (9).

En un estudio retrospectivo (10), de pacientes con cirugía electiva de adenoidectomía y/o tonsilectomía, se determinó la correlación positiva entre el TTPa/TP/INR en niños sanos, sin historia previa de problemas de coagulación y hemorragia durante la cirugía y un mes después de esta. Encontrando, que el 29.1% de los pacientes presentaron TP prolongado, y solamente el 3.3% de estos presentó hemorragia leve durante la cirugía. El 5.8% de los pacientes con TP prolongado presentaron hemorragia leve durante el primer mes de la cirugía. El 15.6% de los pacientes presentaron valores prolongados de INR antes de la cirugía y de estos 3.1% presentaron hemorragia leve en el primer mes de la cirugía. Solamente 14.3% de los pacientes presentaron TTPa prolongado y solo el 3.3% tuvieron hemorragia leve. Por lo que estos autores concluyen que las pruebas de coagulación previas a la cirugía son de baja sensibilidad y el valor predictivo de hemorragia también es bajo, por lo tanto, estas pruebas de hemostasia no están indicadas al menos que el paciente presente

sospecha de enfermedad hemorrágica.

La evaluación de laboratorio es crítica en la evaluación del paciente con hemorragia. aunque hay mucho interés en desarrollar una prueba global de la hemostasia, a la fecha no existe una prueba que pueda predecir el riesgo de hemorragia y trombosis.

Las pruebas de escrutinio de la hemostasia, desafortunadamente no pueden predecir que el paciente presente hemorragia durante la cirugía, existen limitaciones importantes de las pruebas tradicionales de la hemostasia, como el TP y TTPa miden la evidencia inicial de la formación del coágulo, pero no reflejan los efectos de las plaquetas sobre la generación de trombina y la estructura de fibrina (8). Esto ha suscitado el desarrollo de nuevas técnicas que pretenden evaluar y monitorear la formación del coágulo. Entre estas nuevas técnicas se encuentra el trombograma, el tromboelastograma (TEG®), el tromboelastograma rotacional (ROTEG®/ROTEM®), el sistema de análisis de la hemostasia (Hemodyne) (11). El trombograma calcula la concentración de trombina. El tromboelastograma y el tromboelastograma rotacional son instrumentos que evalúan la presencia de la fibrina y monitorean los cambios en la elasticidad de la misma. El TEG reporta los efectos de las plaquetas sobre la hemostasia desde la iniciación de la coagulación a través del ensamble de fibrina, la relación del incremento en la rigidez del coágulo y la lisis del coágulo. El tromboelastograma rotacional es similar al TEG excepto que los pistones internos rotan, pero los parámetros de medición son exactamente iguales. El Hemodyne puede detectar los estados hemorrágicos o trombofílicos y puede proporcionar información clínica útil acerca de la respuesta a medicamentos procoagulantes y anticoagulantes (12).

## EVALUACIÓN DEL PACIENTE CON INSUFICIENCIA HEPÁTICA.

### J. García-Chávez.

El hígado es, con mucho, el órgano de la

hemostasia. Sintetiza el 95% de las proteínas que intervienen en los procesos de: coagulación, anticoagulación y fibrinólisis (1-5). Es por esta razón que una de las manifestaciones más tempranas y fidedignas de la insuficiencia hepática, sean las alteraciones de la coagulación y una hemostasia defectuosa.

Ya en el terreno fisiopatológico de la hemorragia del paciente con cirrosis hepática, intervienen en distinta magnitud una gran cantidad de variables como las alteraciones en las presiones hidrostáticas de los diferentes lechos vasculares, un ambiente molecular caracterizado por el predominio de citocinas con altísima repercusión biológica, lo que condiciona una ruptura del delicadísimo balance que mantiene a la sangre líquida y dentro de los vasos.

Los defectos de la hemostasia, constituyen uno de los problemas clínicos más frecuentes para éstos enfermos, por fortuna, ahora se conocen bien los mecanismos fisiopatológicos que condicionan ésta tendencia hemorrágica, por lo que la podemos enfrentar y resolver con éxito en la mayoría de los casos.

Entre los factores etiopatogénicos más comúnmente involucrados en el sangrado anormal del paciente cirrótico, podemos señalar los siguientes:

1. **La hipertensión portal.** Los cambios en la presión hidrostática del sistema portal, modifican notablemente la estructura y función de todos los vasos portales y en consecuencia de los órganos involucrados (hígado, bazo, esófago y estómago), de ésta manera se dan las condiciones para que por simple efecto mecánico, es decir por una ruptura vascular, el paciente puede presentar un sangrado anormal de gravedad variable. Las consecuencias funcionales de la hipertensión son de mayores alcances y van desde cambios en el fenotipo celular, hasta propiciar un desorden homeostático incontrolable.

2. **Trombocitopenia y/o trombocitopatías.** La trombocitopenia es una constante en el paciente con cirrosis, y los mecanismos etiológicos son varios. El hiperesplenismo, es sin duda la causal número uno y está dado por la multicitada hipertensión portal, La presencia de autoanticuerpos contra las plaquetas y un defecto

central por alteraciones físicas y metabólicas en los megacariocitos de la médula ósea, son otros de éstos factores causales.

**3. Defecto en la síntesis de los factores de la coagulación.** Como es sabido, prácticamente todos los factores de la coagulación son de síntesis hepática, solamente el Factor de von Willebrand y el Factor VIII, son producidos principalmente por las células endoteliales extrahepáticas (6), El hepatocito, puede participar en la síntesis de la proteína completa, o bien en algunos casos solo una parte de ella como en el caso del factor XIII, pero también puede procesar modificaciones proteicas en una fase post-sintética, tal es el caso de los llamados factores dependientes de la vitamina K, como el II, VII, IX, X, Proteína Z, Proteína C y S y la osteocalcina. A todos ellos, los somete a una reacción bioquímica que resulta en la gamacarboxilación (7-8) de una parte de la molécula, con éste cambio, los factores adquieren la capacidad de "fijarse" en superficies lipídicas termodinámicamente aptas para que se realicen las reacciones enzimáticas que culminarán con la generación de Trombina, la enzima central de la coagulación.

El bloqueo de éste proceso, es el mecanismo de acción de la warfarina, el anticoagulante oral más utilizado actualmente.

**4. Disfibrinogenemia.** Como parte de la pérdida de la homeostasis, el paciente con cirrosis, tiene un exceso de algunas enzimas, las transferasas de carbohidratos son unas de ellas (9-10). Normalmente, estas enzimas catalizan la cantidad de residuos de carbohidratos que contendrán algunas proteínas fibrilares como el fibrinógeno, el hidrato de carbono funcional para ésta molécula es el ácido siálico, en el caso del paciente con cirrosis, el fibrinógeno es disfuncional porque contiene grandes cantidades de Este carbohidrato, y en éstas condiciones no es un buen sustrato para la trombina ni para las otras enzimas que ejercen su acción sobre el fibrinógeno y la fibrina. La disfibrinogenemia así generada, a pesar de ser muy común en ésta enfermedad, no se le atribuye una acción causal definitiva.

**5. Hiperfibrinolisis.** Los mecanismos profibrinolíticos están muy aumentados en los pa-

cientes con cirrosis hepática (11-13). Clínicamente éste estado se manifiesta por sangrados en mucosas y órganos internos como el Sistema Nervioso Central (14). La alteración radica en un exceso de activadores del plasminógeno (t-AP) y una baja concentración de los inhibidores del proceso (á-2 antiplasmina (15-16), lo que resulta en una tendencia profibrinolítica que se manifiesta a la mínima provocación traumática y cuya intensidad es directamente proporcional al grado de insuficiencia hepática.

Con frecuencia, los médicos olvidamos la evaluación de éste sistema lo que conlleva un alto riesgo de sangrado perioperatorio.

### Evaluación y tratamiento.

En términos generales, el riesgo de sangrado es proporcional al grado de insuficiencia hepática. De los exámenes de laboratorio realizados a un paciente cirrótico, destacan como mejores predictores de hemorragia el I tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de lisis de euglobulinas (TLE), cuando el TP está prolongado mas de 4 segundos y el TLE es menor a 120 minutos, el riesgo de hemorragia perioperatoria es máximo (12, 14, 17). El INR no es un buen indicador del riesgo de sangrado en éstos pacientes (18).

También en términos muy generales, el paciente con cirrosis hepática por alcohol o virus de la hepatitis C, tiene mucho mas riesgo de hemorragia que alguien con cirrosis biliar primaria por ejemplo.

Cuando la intervención quirúrgica es electiva y a juicio del médico no modificaría en nada la evolución clínica o el tratamiento del paciente, podemos sugerir que se suspenda si encontramos las siguientes alteraciones:

- A.- Trombocitopenia  $<50 \times 10^9/L$
- B.- TP prolongado en  $>4$  segundos en relación al pool (control)
- C.- Tiempo de Lisis de Euglobulinas  $<120$  minutos
- D.- Tiempo de Hemorragia con la técnica de Ivy  $>12$  minutos

Si la intervención es inevitable, podemos prescribir plasma fresco a razón de 12-20 mL/Kg

de peso como dosis inicial y repetir la tercera parte de este cálculo cada 6-8 horas, según sea el caso (19-20). Como podemos inferir, el volumen a infundir es muy grande, lo que representa una potencial sobrecarga de líquidos a un paciente que ya de por sí tiene una redistribución de los fluidos corporales, queda a discreción del médico el uso de diuréticos para controlar la hipervolemia. Es oportuno mencionar que no siempre se logra la corrección de los tiempos alterados.

El plasma fresco es la mejor fracción de la sangre para corregir las alteraciones de la hemostasia en el paciente con insuficiencia hepática, ya que como vimos antes, el plasma contiene todos los factores e inhibidores que le hacen falta al paciente, y aunque los tiempos no corrijan, el riesgo de hemorragia disminuye notablemente.

Las alternativas al tratamiento perioperatorio con plasma fresco, lo constituyen los complejos de factores activados (21-22) y más recientemente el Factor VII recombinante (rFVIIa) (23-24), sin embargo, la evidencia para éstas indicaciones es aun débil y habrá que esperar a que se genere. El rFVIIa, sólo está autorizado por la FDA para el tratamiento del sangrado de los pacientes hemofílicos con inhibidor, sin embargo, ante un sangrado que no corrige con plasma, éste puede ser la alternativa de elección. Por otro lado, dado que el paciente con cirrosis paradójicamente también tiene tendencia a la trombofilia, se han documentado casos de trombosis con el uso de complejos activados.

Los agentes antifibrinolíticos como el ácido epsilon-amino-caproico son útiles y seguros cuando se trata de manejar sangrados de mucosas, pero está contraindicado en el caso de que haya hematuria y también se han descrito casos de trombosis sobre todo si hay datos de CID crónica como ocurre con el paciente con ascitis a tensión (25).

La transfusión de plaquetas sólo se recomienda si la cuenta basal de las mismas es  $<50 \times 10^9/L$  (26).

### **Cirrosis y trombofilia.**

Aún cuando la tendencia hemorrágica es la situación que nos genera más problemas clínicos,

la trombosis, contra lo que podríamos suponer no es infrecuente, y para explicarla, tenemos un marco teórico compatible.

Los principales sistemas anticoagulantes naturales del ser humano están constituidos por moléculas de síntesis hepática. La Antitrombina, es responsable de aproximadamente el 70% del poder anticoagulante de un individuo, el paciente con cirrosis tiene deficiencia de ésta por disminución en la síntesis, por redistribución en un volumen expandido y por consumo (27). Por otro lado se ha demostrado que la infusión de AT-III a pacientes cirróticos, disminuye notablemente la generación de trombina en términos de D-D, F1+2 y fibrinógeno (28).

En el caso de el sistema C-S, la deficiencia de éstas proteínas se debe fundamentalmente a la falta de gamacarboxilación dependiente de la vitamina K por el hígado deficiente, y claro, también el grado de deficiencia de éste sistema es directamente proporcional al grado de insuficiencia hepática.

La coagulopatía por consumo (CID), se presenta en la insuficiencia hepática en etapas tardías de la enfermedad, generalmente asociada a la presencia de ascitis a tensión, ya que en éstas condiciones, se establecen corto circuitos portosistémicos y en consecuencia es fácil que entre a la circulación material trombotoplastico como el mismo líquido de ascitis, endotoxinas bacterianas o bien tejido necrótico del hígado (29-30).

## **TRATAMIENTO DE LA HEMORRAGIA EN EL PACIENTE CON CÁNCER.**

### **A. Majluf-Cruz.**

#### **ALTERACIONES PLAQUETARIAS.**

La trombocitopenia es un problema clínico importante en el paciente con cáncer; puede originarse por padecimientos que afectan a la medula ósea (leucemias y mielomas) o por metástasis a esta por tumores sólidos (mieloptisis). El efecto de la quimio y radioterapia también afectan la cuenta plaquetaria (CP). El aumento del riesgo hemorrágico es el efecto

directo de la trombocitopenia. Si la hemorragia afecta órganos vitales (cerebro, pulmón, tracto gastrointestinal), pone en riesgo la vida (1). Las neoplasias linfoides pueden cursar con trombocitopenia autoinmune. La esplenomegalia y/o el hiperesplenismo asociados a un tumor raramente generan trombocitopenia grave(2). La coagulación intravascular diseminada (CID) acompaña a las neoplasias avanzadas. En la leucemia promielocítica y en los adenocarcinomas de próstata, pulmón, ovario, gastrointestinales y en el carcinoma pancreático se liberan enzimas proteolíticas que activan la hemostasia causando trombocitopenia por consumo(1,2). Sin embargo, la causa más común de trombocitopenia es la quimio/radioterapia. La quimioterapia para leucemias y linfomas, cáncer de mama, ovario, otros tumores sólidos y en el trasplante de células progenitoras incrementa la demanda de concentrados plaquetarios (CPs) (3).

**Tratamiento de la trombocitopenia.** La terapia más efectiva es la transfusión de CPs. Se desconoce el rol de las citocinas trombopoyéticas (3,4). La trombocitopenia clínicamente significativa con hemorragia grave es una complicación de la quimioterapia, especialmente, si no se usan esquemas adecuados o si se exceden las dosis recomendadas. La disminución transitoria y significativa de la CP requiere vigilancia, soporte y dosis bajas de esteroides. Si aparece hemorragia grave se aplican CPs hasta el cese hemorrágico. Los pacientes sin sensibilización a antígenos plaquetarios pueden recibir CPs de donadores múltiples, ABO y Rh compatibles. Si existe refractariedad se indican plaquetas de donador HLA-idéntico por plaquetaféresis. Los CPs no están indicados en toda trombocitopenia (5) y sólo lo están hasta la recuperación de la CP o hasta que cesa la hemorragia(5). Los CPs obtenidos de donadores múltiples y los de plaquetaféresis tienen, en proporción, casi la misma cantidad de plaquetas y son similares en mejorar la CP postransfusional y la hemostasia. Los efectos secundarios son similares aunque los CPs preparados de donadores aleatorios confieren una mayor exposición antigénica que la de una plaquetaféresis (3).

La CP de  $10 \times 10^9/L$  es segura en pacientes

con otros factores de riesgo: sepsis, uso de antibióticos y otras alteraciones hemostáticas. En pacientes sin estos factores de riesgo, la CP crítica puede ser  $5 \times 10^9/L$  si hay duda de aloinmunización que pudiera producirse y la refractariedad secundaria a esta. La sensibilidad de la CP  $<10 \times 10^9/L$  puede dificultar tomar una decisión. Establecer una CP crítica específica es inapropiado en pacientes con trombocitopenia crónica estable (6).

El aspirado y biopsia de la médula ósea se practican aún con trombocitopenia grave aplicando una presión adecuada. Para punción lumbar, anestesia epidural, gastroscopía y biopsia, inserción de catéteres endovasculares, biopsia transbronquial, biopsia hepática, laparotomía y procedimientos similares, la CP debe subir hasta  $50 \times 10^9/L$ (4-6); para neurocirugía y oftalmología hasta  $100 \times 10^9/L$ . Nunca debe asumirse que la CP aumentó sólo porque se transfundieron CPs; por lo tanto la CP debe corroborarse siempre antes de la cirugía.

**Transfusión masiva y CID.** Se espera que la CP caiga  $50 \times 10^9/L$  cuando se transfunde un volumen de concentrado de glóbulos rojos equivalente a dos volúmenes plasmáticos corporales. Las siguientes recomendaciones son importantes(4,6): a. No permitir que la CP caiga a  $<5 \times 10^9/L$  en pacientes con hemorragia aguda; b. En los pacientes con trauma múltiple (cirugía, por ejemplo) o con una lesión en el sistema nervioso central la CP debe mantenerse  $>100 \times 10^9/L$ ; c. La transfusión plaquetaria es parte del manejo de la CID aguda con hemorragia secundaria a trombocitopenia además del manejo del problema primario del paciente, reponiendo factores hemostáticos si se requiere. Se recomienda cuantificar frecuentemente la CP y realizar las pruebas de hemostasia necesarias en el tiempo necesario; intentar mantener la cuenta  $>50 \times 10^9/L$ ; en la CID crónica (presente en gran cantidad de pacientes con cáncer), o en ausencia de hemorragia, la transfusión plaquetaria no debe indicarse sólo para corregir la CP.

**Contraindicaciones para transfundir CPs.** En la púrpura trombocitopénica trombótica los CPs se contraindican a menos que exista hemorragia que ponga en riesgo la vida ya que

se asocia a trombosis (7). En la trombocitopenia inducida por heparina los CPs pueden aumentar el riesgo de trombosis arterial (4,6).

**Productos irradiados y productos negativos para citomegalovirus (CMV).** La enfermedad injerto contra huésped asociada a transfusión es una de las causas de muerte asociadas a la transfusión. Los pacientes en riesgo de desarrollar esta complicación deben recibir CPs irradiados. La infección postransfusión causa morbi-mortalidad importante en pacientes inmunocomprometidos y seronegativos. Los productos de donadores negativos para CMV son el estándar para prevenir la transmisión transfusional del CMV. La sangre negativa para CMV y desprovista de leucocitos se indica en embarazadas y mujeres negativas para CMV, transfusión intrauterina, receptores de trasplante de células hemopoyéticas seronegativos, candidatos a trasplante de órganos sólidos, pacientes negativos que quizá requieran trasplante alogénico de células hemopoyéticas y pacientes seronegativos pero con VIH(4).

**Cálculo de la dosis.** Usualmente, se indica una plaquetaféresis a la mayoría de los adultos. En niños menores de 20 Kg se utilizan 10-15mL/Kg. En niños mayores se usan dosis para adultos. La dosis plaquetaria ( $\times 10^9/L$ ) puede calcularse a partir del incremento deseado (IP), el volumen sanguíneo (VS: multiplicando la superficie corporal  $\times 2.5$  o bien 70 mL/Kg en un adulto), y un factor de corrección (F) de 0.67 para permitir considerar el almacenaje de casi 33% de las plaquetas en el bazo(7):

$$\text{Dosis} = \text{IP} \times \text{VS} \times F^{-1}$$

La respuesta se monitorea para guiar el tratamiento posterior. Si la transfusión se indicó por hemorragia, la respuesta clínica es el mejor marcador de la efectividad. La respuesta se evalúa con la CP post-transfusión. Se usan fórmulas para corregir dependiendo de la superficie corporal y el número de plaquetas transfundidas(8).

La refractariedad a plaquetas es la falla en obtener una respuesta satisfactoria con la transfusión plaquetaria. Algunos pacientes tienen una respuesta pobre pero buena respuesta en transfusiones subsiguientes. Por lo tanto, se diagnostica sólo si la mala respuesta aparece luego de

dos transfusiones(6). Las causas son inmunológicas y no inmunológicas: aloinmunización HLA, aloinmunización HPA, incompatibilidad ABO, auto-anticuerpos plaquetarios, anticuerpos inducidos por medicamentos, infección, CID y esplenomegalia (4,6-8). La respuesta a la transfusión compatible en el HLA debe monitorearse con cuidado, idealmente, con CP a la hora y 20 a 24 horas postransfusión. Si mejora la respuesta, deben seguir usándose. Si la respuesta es pobre, se considera la incompatibilidad HLA (más probable en pacientes con HLA raros con pocos donadores estudiados), consumo plaquetario no inmunológico e incompatibilidad HPA o ABO. Otros estudios serológicos como el patrón HPA se indican para diferenciar estas posibilidades. Dependiendo del resultado, una opción pueden ser concentrados HLA o HPA idénticos si se encuentra la especificidad para los anticuerpos anti-HPA(6). El manejo de la aloinmunización al HLA o al HPA sin donador compatible es difícil. Los pacientes aloinmunizados no se benefician de CPs no compatibles por lo que la transfusión debe suspenderse. Si aparece hemorragia, los CPs de donadores aleatorios o de los más compatibles reduce la gravedad de la hemorragia aunque se requieren grandes dosis de plaquetas. Otras alternativas no son efectivas (4). El manejo del consumo no inmunológico es igualmente problemático. La práctica usual es mantener transfusiones diarias profilácticas pero se desconoce si esto es efectivo o cuando deben suspenderse o incrementarse (8).

#### **ALTERACIONES DE LA FASE FLUIDA DE LA HEMOSTASIA Y DE LA FIBRINOLISIS.**

Como en cualquier condición asociada a CID, el paso más importante es la resolución de la enfermedad de fondo. En el paciente con cáncer, las medidas de sostén aplicadas temprano importantes ya que el tratamiento mismo empeora la hemorragia. La herramienta clave es la transfusión de CPs; otras medidas son debatibles. El ATRA inició una nueva era de manejo de complicaciones hemorrágicas(9).

**Tratamiento con reposición de los factores de la fase fluida.** Aunque la mayoría de las hemorragias del paciente con cáncer

obedecen trombocitopenia, en ocasiones el problema se origina en la hemostasia y raramente por hiperfibrinólisis (10,11). En la hemorragia activa sin trombocitopenia (12,13): a. La deficiencia aislada de un factor es muy rara (fibrinógeno, factores K-dependientes y FV, en especial con L-asparaginasa), y son de poca importancia clínica; b. Considerar siempre un inhibidor de un factor. Estos auto-anticuerpos son específicos y aparecen en las neoplasias linfoides. El plasma o sustitutos hemostáticos pueden ser contraproducentes ya que el inhibidor impide su efecto. El cuadro clínico depende del factor "blanco"; c. El hígado tiene un rol hemostático central porque produce la mayoría de los factores. Toda hepatopatía se traduce en un problema hemostático. En el paciente con cáncer existen dos tipos: las metástasis hepáticas y la hepatopatía inducida por gran parte de los radioquimioterapéuticos; d. Es ideal la menor exposición transfusional posible diagnosticando adecuadamente la alteración hemostática.

**Tratamiento de hemorragia secundaria a alteraciones de la fase fluida.** Ya que la mayor parte de estas alteraciones dependen de cierto grado de falla hepática, el tratamiento transfusional es clave: a. La sangre total NO está indicada; b. El plasma fresco envejecido no es útil; c. El plasma fresco congelado es la única fuente de todos los factores; d. Los crioprecipitados son fuente de FVIII, FvW, FXIII y fibrinógeno y su uso se restringe a la deficiencia aislada de uno de estos factores; e. El concentrado de FVIII y FIX se limita a estas deficiencias.

**FVII activado recombinante humano (FVIIar).** Recientemente se introdujo para el control de hemorragia local. Su uso previene la hemorragia espontánea y reduce la perioperatoria en 15-25% de los hemofílicos con inhibidores. La dosis y su frecuencia cambian en cada paciente y por el tipo y grado de hemorragia.

**Anti-fibrinolíticos.** Se administran VO o parenteral(14). Suprimen la fibrinólisis normal o incontrolada aunque tienen efecto protrombótico. Se usan los trastornos cualitativos o cuantitativos plaquetarios apoyando la preservación de un coágulo frágil. Son útiles en una variedad de estados hemorrágicos. Existen tres importantes:

acetato de desmopresina (DDAVP), ácido 6-aminohexanoico (EACA) y ácido carboxílico trans-p-aminometil-ciclohexano (AMCA o ácido tranexámico). AMCA y EACA se asocian con obstrucción nasal vascular, lagrimeo, erupción cutánea, náusea, vómito y diarrea. Aunque es posible la aparición de una trombosis la frecuencia se ha exagerado excepto en la cirugía prostática y de vías urinarias.

**Heparina.** Se debate su papel en la coagulopatía de la leucemia aguda. Su objetivo es inhibir la formación intravascular de fibrina previniendo microtrombos y el consumo de factores y plaquetas y limitar la tendencia hemorrágica. No tiene beneficio significativo vs. antifibrinolíticos o medidas generales. No se recomienda rutinariamente en la leucemia aguda.

## ESTADOS DE TROMBOFILIA PRIMARIA EN MÉXICO.

(Modificado de *Am J Hematol* 2005; 78:21-26)

### G.J. Ruiz-Argüelles.

Existen evidencias clínicas y experimentales de que algunos cambios en la hemostasia pueden llevar a un estado hipercoagulable o trombogénico en la circulación fomentando la formación de trombos (1-4). En los últimos años nos hemos interesado en analizar las características en el sistema hemostático de los mestizos mexicanos con trombofilia y hemos encontrado diferentes anomalías en varios de los mecanismos anti-trombóticos naturales (1-4). En un esfuerzo por identificar las causas de la trombofilia de los mestizos mexicanos, hemos evaluado de manera prospectiva varias condiciones de trombofilia en un grupo de 46 pacientes mestizos mexicanos trombofílicos en quienes encontramos que en 42 (91%) se encontró un resultado anormal que en la mayoría de los casos (88%) coexistió con otras anomalías trombofílicas, lo que apoya la idea de que en la mayoría de los casos la trombofilia de los mestizos mexicanos es multifactorial (4-9).

### Material y métodos.

### a) Pacientes:

En un periodo de 36 meses estudiamos a pacientes mestizos mexicanos referidos a nuestra clínica por médicos de diferentes partes del país; todos ellos tenían por lo menos uno de los siguientes marcadores clínicos asociados con un estado hipercoagulable primario (1,10):

- 1) Trombosis antes de los 40 años,
- 2) Historia familiar de trombosis,
- 3) Trombosis recurrente sin la presencia de un factor precipitante aparente,
- 4) Trombosis en sitios anatómicos inusuales y
- 5) Resistencia a la terapia antitrombótica convencional.

Los individuos con enfermedades malignas, embarazo, puerperio, anticonceptivos orales u otras condiciones asociadas con trombofilia secundaria, fueron excluidos del estudio.

### b) Métodos analíticos:

1) Evaluación del síndrome de las plaquetas pegajosas (SPP): Se usó el método descrito por Mammen: la sangre se obtiene entre las 8:30 y 10:30 am por venopunción usando una aguja de mariposa del No. 19 o 21, después de la venopunción el torniquete fue retirado y descartando los primeros 5 ml, entonces se aspiraron 18 ml de sangre en una jeringa de 20 ml conteniendo 2 ml de solución de citrato de sodio al 3.8%: La sangre anticoagulada fue centrifugada 10 min a 100g a temperatura ambiente para obtener el plasma rico en plaquetas (PRP). Para obtener el plasma pobre en plaquetas (PPP) se centrifuga el resto de sangre anticoagulada 10 min. a 2000g. Para la agregación el PRP se ajusta a  $200 \times 10^9/L$  plaquetas con PPP. La agregación plaquetaria fue medida en un agregómetro (Chrono Log Corporation, Havertown, PA, U.S.A) empleando la técnica original de Born y Cross (12). Los cambios en la densidad óptica se registraron en un Chrono Log (modelo 703). La temperatura debe de estar a 37°C, con rotación del imán constante a 1000 rpm. La agregación fue inducida por tres concentraciones de ADP (2.34, 1.17 y 0.58  $\mu M$ ) y tres concentraciones de epinefrina (11, 1.1, y 0.55  $\mu M$ ) (concentración final en la cubeta con PRP). La concentración máxima fue expresada en 100%. Se estudiaron contro-

les normales para cada caso. Los resultados anormales para la agregación plaquetaria con las tres concentraciones de ADP (2.34, 1.17 y 0.58  $\mu M$ ) fueron por arriba de 55, 36 y 12% respectivamente, en tanto que para epinefrina (11, 1.1 y 0.55  $\mu M$ ) fueron por arriba de 80, 27 y 20% también respectivamente (4).

2) El fenotipo de la resistencia a la proteína C activada, la actividad funcional y el antígeno de la proteínas C, proteína S, antitrombina III, plasminógeno, actividad del activador tisular del plasminógeno, inhibidor del activador del plasminógeno, anticuerpos antifosfolipido isotipos tanto IgG como IgM se buscaron como se ha descrito previamente (1-4).

3) Las mutaciones del gen del factor V: Se analizaron por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y en combinación con polimorfismo del tamaño de fragmentos de restricción (RFLP). Para la detección de la mutación Leiden del FV (R-506-Q) se utilizaron dos iniciadores del exon 10 del factor V de acuerdo a Zöller y Dahlbäck (14). El producto de amplificación es sujeto a una digestión con una edonucleasa de restricción, con la enzima Mnl I. El patrón de restricción producido se analiza por electroforesis en gel de poliácridamida al 4.5%. Para la detección del haplotipo HR2 del factor V, se amplificó el exón 13 con un par de iniciadores según Lunghi *et al.* (15). Se identifica el haplotipo por la detección del polimorfismo H1299R en el exón 13. La mutación afecta un sitio de restricción de la enzima Rsa I. Por medio de una digestión con esta enzima y mediante un corrimiento electroforético se pueden distinguir el los 3 diferentes genotipos R1/R1, el estado heterocigoto R1/R2 y el genotipo R2/R2. Para la detección de la mutación Cambridge (R306T) del gen del factor V, se amplificó con dos iniciadores el exón 7 del gen del factor V (16, 17). La mutación afecta un sitio de restricción de la enzima BstN I. Por lo tanto, después de la amplificación la mutación fue identificada por análisis de restricción con la enzima BstN I. Para investigar la mutación Hong Kong del factor V (R306G) se amplificó utilizando también el par de iniciadores del exón 7 del factor V (17). Después el producto amplificado se digirió con la enzima de restricción

Hpa II de acuerdo con Chan *et al.* (17) para identificar los distintos genotipos posibles. La detección de la mutación Liverpool del factor V (I359T) se detecta amplificando el exón 8 del gen del factor V según Mumford *et al.* (18). El producto de amplificación obtenido fue digerido con la enzima Bsr I. Y detectado por corrimiento electroforético.

4) La mutación 667 C->T en la 5,10 metilen tetrahidrofolato reductasa (MTHFR) se detectó según Kluijtmans *et al.* (19). Para determinar el genotipo, la amplificación se sometió a un análisis de restricción usando la enzima Hinf I.

5) El polimorfismo G20210A se detectó según Poort *et al.* (20) utilizando dos iniciadores, de los cuales uno introduce una segunda mutación que junto con la mutación 20210G->A produce un sitio de restricción para Hind III. Por medio de una digestión con esta enzima mencionada, se pueden identificar los distintos genotipos mediante un corrimiento electroforético.

### Resultados.

De los 46 pacientes consecutivos que se incluyeron en el estudio, sólo 12 (26%) fueron hombres. La mediana de edad fue de 38 años (el rango de edad es de 10 a 63 años). Los cuadros 3 y 4 muestran los datos de los pacientes. Sólo en 4 individuos 9%, no encontramos ninguna anomalía. En 5 de los 42 pacientes con resultados anormales (12%) se encontró sólo una anomalía, en tanto que en el resto (88%) se identificaron entre 2 y 5 anomalías. Identificamos en 22 pacientes (48%) el SPP, en 11 (24%) el fenotipo de la RPCa, en 5 (11%) la mutación Leiden del gen del factor V, en 7 (15%) la mutación del gen de la protrombina, en 32 (69%) la mutación del gen MTHFR, en 11 (24%) anticuerpos antifosfolípidos, en 4 (9%) deficiencia de PS, en 6 (13%) deficiencia de PC y en uno sólo deficiencia de ATIII. El haplotipo HR2 fue identificado en 11 individuos (24%) y un paciente mostró la mutación Hong Kong del gen del factor V.

De los 32 individuos con la mutación del gen MTHFR, 23 fueron heterocigotos (CT) para la mutación y 9 fueron homocigotos (TT). En orden decreciente de frecuencia, se encontró el SPP

en el 48% de los sujetos, identificándose 12 casos para el tipo I, 4 para el tipo II y 6 para el tipo III. De los 11 pacientes con fenotipo de RPCa, 5 mostraron la mutación Leiden y de los demás, 5 mostraron la mutación 677 del gen de la MTHFR, 2 tuvieron anticuerpos antifosfolípido y uno mostró la mutación del gen factor II. El paciente con la mutación Hong Kong del gen del factor V no presentó el fenotipo a la RPCa. Dentro del grupo de los 11 individuos quienes tuvieron el haplotipo HR2 del factor V, solamente 3 mostraron el fenotipo a la RPCa.

### Discusión.

En este estudio prospectivo se hacen avances en la comprensión de la trombofilia de los mestizos mexicanos: Sólo en el 9% de los pacientes con algún marcador clínico de trombofilia no encontramos alguna alteración, lo que indica que en la mayoría, específicamente el 91% de los casos, sí encontramos alguna alteración asociada con trombofilia. Por otro lado, encontramos que en la mayoría de los casos (88%) en que se encontró alguna anomalía, se encontraron dos o más condiciones trombofílicas coexistentes. La hetero u

Cuadro 3

Hallazgos asociados con trombofilia en un grupo de 46 mestizos mexicanos con un marcador clínico de trombofilia primaria. Las cifras encontradas en mestizos mexicanos normales se incluyen para propósitos de comparación.

| Condición                       | n  | (%)  | % en sanos |
|---------------------------------|----|------|------------|
| Mutación del gen MTHFR          | 32 | (69) | 78         |
| Síndrome de plaquetas pegajosas | 22 | (48) | 0          |
| Fenotipo RPCa                   | 11 | (24) | 2          |
| Anti-fosfolípidos               | 11 | (24) | 3          |
| Haplotipo HR2 del gen FV        | 11 | (24) | 18         |
| Mutación del gen protrombina    | 7  | (15) | 0          |
| Deficiencia de proteína C       | 6  | (13) | 0          |
| Mutación Leiden del gen FV      | 5  | (11) | 0.7        |
| Deficiencia de proteína S       | 4  | (9)  | 0          |
| Deficiencia de AT-III           | 1  | (2)  | 0          |
| Mutación Hong Kong del gen FV   | 1  | (2)  | 0          |

Cuadro 4

Datos principales de los 46 pacientes mestizos mexicanos trombofílicos estudiados. F = femenino; M = masculino; SPP = síndrome de las plaquetas pegajosas; RPCa = fenotipo de la resistencia a la proteína C activada; FV = factor V; PT = protrombina; MTHFR = metilen-tetra-hidrofolato-reductasa, AAF = anticuerpos anti-fosfolípido. N = normal; A = anormal; PC = deficiencia de proteína C; PS = deficiencia de proteína S; AT-III = deficiencia de antitrombina III; HR2 = haplotipo HR2 del gen del factor V; Hong Kong = mutación tipo Hong Kong del gen del factor V.

| #  | Sexo | Edad | SPP      | RPCa | FV 1691 | PT-20210 | MTHFR-677 | AAF | Otros          |
|----|------|------|----------|------|---------|----------|-----------|-----|----------------|
| 1  | F    | 24   | Tipo II  | N    | GG      | GG       | CC        | +   | -              |
| 2  | F    | 49   | Tipo III | N    | GG      | GG       | CC        | -   | -              |
| 3  | F    | 10   | No       | N    | GG      | GG       | CC        | -   | PS / HR2       |
| 4  | F    | 63   | Tipo III | N    | GG      | GG       | CT        | -   | PC / HR2       |
| 5  | F    | 37   | No       | N    | GG      | GA       | TT        | -   | -              |
| 6  | F    | 25   | No       | N    | GG      | GG       | CT        | +   | -              |
| 7  | F    | 27   | Tipo II  | N    | GG      | GG       | CT        | -   | -              |
| 8  | F    | 45   | Tipo III | N    | GG      | GG       | TT        | -   | -              |
| 9  | F    | 29   | No       | A    | GG      | GA       | TT        | -   | -              |
| 10 | M    | 44   | No       | A    | GA      | GG       | TT        | -   | HR2            |
| 11 | F    | 53   | Tipo I   | N    | GG      | GG       | CT        | -   | -              |
| 12 | F    | 18   | No       | A    | GA      | GG       | CC        | -   | -              |
| 13 | M    | 38   | No       | N    | GG      | GG       | CT        | -   | HR2            |
| 14 | F    | 34   | Tipo I   | A    | GG      | AA       | TT        | -   | -              |
| 15 | F    | 29   | Tipo I   | N    | GG      | GG       | CT        | -   | -              |
| 16 | M    | 31   | No       | N    | GG      | GG       | CC        | -   | HR2            |
| 17 | M    | 48   | No       | N    | GG      | GG       | CT        | -   | HR2            |
| 18 | F    | 39   | Tipo I   | N    | GG      | GG       | TT        | -   | -              |
| 19 | F    | 28   | Tipo II  | N    | GG      | GG       | CT        | -   | HR2            |
| 20 | M    | 56   | No       | A    | GA      | GG       | CC        | -   | PC / HR2       |
| 21 | F    | 24   | No       | N    | GG      | GG       | CT        | -   | -              |
| 22 | F    | 34   | No       | N    | GG      | GG       | CT        | -   | -              |
| 23 | F    | 45   | Tipo I   | A    | GA      | GG       | CC        | -   | -              |
| 24 | M    | 44   | Tipo II  | N    | GG      | GG       | CT        | -   | -              |
| 25 | F    | 33   | No       | N    | GG      | GG       | CT        | -   | PS             |
| 26 | F    | 31   | No       | A    | GG      | GG       | CT        | +   | -              |
| 27 | F    | 38   | Tipo III | N    | GG      | GA       | CT        | +   | -              |
| 28 | F    | 25   | Tipo I   | N    | GG      | GG       | TT        | +   | HR2            |
| 29 | F    | 36   | Tipo III | N    | GG      | GG       | CC        | +   | -              |
| 30 | F    | 51   | Tipo III | A    | GG      | GG       | CT        | -   | -              |
| 31 | M    | 24   | Tipo I   | N    | GG      | GG       | CT        | -   | -              |
| 32 | F    | 35   | No       | N    | GG      | GG       | CC        | -   | -              |
| 33 | M    | 43   | Tipo I   | N    | GG      | GA       | CT        | +   | PS             |
| 34 | F    | 19   | No       | N    | GG      | GG       | CT        | +   | PC             |
| 35 | F    | 39   | No       | N    | GG      | GG       | CC        | +   | -              |
| 36 | M    | 62   | No       | A    | GA      | GG       | CC        | -   | HR2            |
| 37 | M    | 56   | Tipo I   | N    | GG      | GG       | TT        | -   | PC             |
| 38 | F    | 59   | No       | A    | GG      | GG       | CT        | -   | -              |
| 39 | F    | 61   | Tipo I   | N    | GG      | GA       | CT        | -   | PC / Hong Kong |
| 40 | F    | 36   | No       | N    | GG      | GG       | CC        | -   | -              |
| 41 | F    | 54   | No       | N    | GG      | GG       | CC        | -   | -              |
| 42 | F    | 58   | Tipo I   | N    | GG      | GG       | CT        | -   | PC             |
| 43 | F    | 50   | No       | N    | GG      | GG       | CC        | -   | -              |
| 44 | M    | 59   | No       | N    | GG      | GG       | TT        | +   | HR2            |
| 45 | F    | 45   | No       | A    | GG      | GG       | CT        | +   | -              |
| 46 | M    | 52   | Tipo I   | N    | GG      | GA       | CT        | -   | ATIII / PS     |

homocigosidad para la mutación C677T del gen de la MTHFR se ha asociado o no, a trombofilia (1-4, 21) y parece cada vez más claro que esta mutación *per se* es insuficiente para explicar la trombofilia, a menos que se asocie con otras condiciones trombofílicas (1-4, 21). En este estudio hemos confirmado que las mutaciones de ese gen son muy frecuentes en mestizos mexicanos (1-4). En estudios previos también hemos encontrado que el SPP es un hallazgo frecuente en mexicanos; en este estudio lo encontramos en el 48% de los pacientes, cifra similar a las encontradas previamente (4, 20, 21). El fenotipo RPCa se ha encontrado hasta en el 40% de los mestizos mexicanos trombofílicos (1-3); sin embargo, la mayoría de los casos de fenotipo de RPCa en México no están asociados a la mutación tipo Leiden del gen del factor V (1-3). En un trabajo previo, señalamos que deberían buscarse otras mutaciones del gen del factor V en mestizos mexicanos trombofílicos, además de la mutación tipo Leiden. En un estudio previo, además de buscar las mutaciones Leiden, Cambridge, Hong Kong y Liverpool del gen del factor V, investigamos el haplotipo HR2 del mismo gen, y encontramos que ninguna de estas mutaciones genéticas se asoció al fenotipo de RPCa en mestizos mexicanos trombofílicos (24). Nuestros hallazgos en este nuevo estudio también confirman otras observaciones previas hechas en mestizos mexicanos con trombofilia como son la prevalencia baja de la mutación tipo Leiden del gen del factor V, la prevalencia alta de la mutación 20210 del gen de la protrombina y las prevalencias bajas de las deficiencias de proteína C, proteína S y antitrombina III, distribuciones diferentes de las descritas en sujetos caucásicos (2-3).

En relación a las interacciones entre las determinantes genéticas y adquiridas de la tromboembolia venosa (TEV), parece que nuestros hallazgos apoyan el modelo propuesto por Schafer (22): posiblemente todos los pacientes con TEV tienen una predisposición genética como una o más condiciones trombofílicas heredadas, lo que determina el nivel basal de hipercoagulabilidad de cada persona. Se precisa entonces de un evento que “dispara” la trombosis y la precipita en consecuencia.

En estas condiciones, en un sujeto con un nivel bajo de hipercoagulabilidad heredada (como podría ser la mutación heterocigota tipo Leiden del gen del factor V) se requiere de un evento trombogénico enérgico (un embarazo por ejemplo) para que se desarrolle una TEV. Estos sujetos en la mayoría de los casos nunca sufren una TEV a menos que se presente un evento trombogénico intenso; por esta misma razón, a estos sujetos casi nunca les repiten los episodios de TEV.

En contraste, en un sujeto con un nivel alto de trombofilia heredada, como podría ser alguien con varias mutaciones o polimorfismos en genes, un evento trombogénico menor podría causar el episodio de TEV, dando la apariencia de que el paciente tiene una trombosis “espontánea” o “idiopática”; además, en estos sujetos, la TEV tiene mayor posibilidades de reaparecer.

Es claro que, mientras más estudios hagamos a los sujetos con estados trombofílicos, mayor es la posibilidad de encontrar alguna alteración asociada con episodios vaso-occlusivos. Este estudio demuestra esto al encontrar que el 91% de los sujetos trombofílicos mestizos mexicanos estudiados tuvieron algún marcador de trombofilia. En nuestro primer estudio de la serie de estudios en trombofílicos mexicanos, no encontramos alteración alguna en el 54% de los pacientes (2); ahora, cinco años después, esta cifra la hemos logrado abatir desde el 54 hasta el 9%. También es cierto que el encontrar alguna alteración asociada con trombofilia no indica con certeza que esa haya sido la causa de la trombosis.

Parece que debe aceptarse el concepto de “umbral de trombosis”, derivado del otro concepto, el de “trombofilia multifactorial”. En este modelo, las alteraciones genéticas asociada con trombofilia constituyen un nivel de trombofilia basal que puede o no hacerse evidente de acuerdo a la ocurrencia de otras condiciones trombogénicas, heredadas o adquiridas. Con el paso del tiempo habremos de aprender a estratificar el riesgo trombogénico de cada una de estas condiciones, para tener una mejor comprensión de la trombosis (25-30). Hemos ido haciendo avances, poco a poco.

## REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.

### ALARGAMIENTO DE LOS TIEMPOS DE COAGULACIÓN.

- 1.- Quick AJ, Stanley-Brown M, Bancroft FW: A study of the coagulation defect in hemophilia an in jaundice. *Am J Med Sci* 1935; 190: 501-511.
- 2.- WHO expert Comité on biological standarization. Guidelines for thromboplastins and plasma used to monitor oral anticoagulant therapy- World Health Organization Tech Rep Ser 1999; 889: 1-111
- 3.- Greaves M, Cohen H, Machin SJ. Guidelines on the investigation and management of the antiphospholipid síndrome. *Br J Haematol* 2000; 109: 704-715
- 4.- Roberts HR, Stinchcombe TE, Gabriel DA. The dysfibrinogenaemias. *Br J Haematol* 2001; 114: 249-257
- 5.- Zehdner JL, Leung LL: Development of antibodyesto thrombin and factor V with recurrent bleeding in a patient exposed to topical bovine thrombin. *Blood* 1990; 76: 2011-2016
- 6.- Gabriel DA, Carr M, Roberts HR. Monitoring coagulation and the clinical effects of recombinant factor VIIa. *Semin Hematol* 2004; 41 (suppl 1): 20-24
- 7.- Close HL, Kryzer 1h, nowlin y cols. Hemostatic assessment of patients befote tonsillectomy: a prospective study. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 111: 733-738
- 8.- Houry S, Georgeac C, hay JM, Fingerhut A, Boudet MJ. A prospective multi-center evaluation of preoperative hemostatic screening tests. *Am J Surg* 1995; 170: 19-23
- 9.- American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Clinical Indicators Compendium, American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery Inc., Alexandria, VA, 1999.
- 10.- Asaf T, Reuveni H, Yermiahu T, Leiberman A, Gurman G, Porat A, Schaeffer P, Shifra S, Kapelushnik. The need for routine pre-operative coagulation screening tests (prothrombin time PT/partial thromboplastin time PTT) for healthy children undergoing elective tonsillectomy and/or adenoidectomy. *Int J Ped Otro* 2001; 61: 217-222.

11.- Ingerslev J, Christiansen K, Calatzis A. Management and monitoring of recombinant activated factor VII. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2000; 11 (suppl 1): S25-S30

12.- Carr ME Jr. Development of platelet contractile force as a research and clinical measure of platelet function. *Cell Biochem Biophys* 2003; 38: 55-78.

### EVALUCACIÓN DEL PACIENTE CON INSUFICIENCIA HEPÁTICA.

- 1.- Nelly DA, Tuddenham EG. Haemostatic problems in liver disease. *Gut* 1986;27:339-349.
- 2.- Paramo JA, Rocha E. Hemostasis in advanced liver disease. *Sem Thromb Hemost* 1993;19:184-190.
- 3.- Mammen EF. Coagulopathies of liver disease. *Clin Lab Med* 1994;14:769-779.
- 4.- Boks AL, Bromer EJ, Schalm SW, *et al.* Hemostasis and fibrinolysis in severe liver failure end the relation to hemorrhage. *Hepatology* 1986;6:76-86.
- 5.- Rapaport SI. Coagulation problems in liver disease. *Blood Coagul Fibrinol* 2000;11:S69-S74.
- 6.- Jaffe EA, Hoyer LW, Nachman RL. Synthesis of anti-hemophilic factor antigen by cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1973;52:2757-2764.
- 7.- Furie B, Furie BC. Molecular bases of vitamin K-dependente-gammacarboxilation. *Blood* 1990; 75;1753-1762.
- 8.- Blanchard RA, Furie BC, Jorgensen M. Acquired vitamin K-dependent carboxylation deficiency of liver disease. *N Eng J Med* 1981;305:242-248.
- 9.- Martínez J, Palascak JE, Kwasniac D. Abnormal sialic acid content of the dysfibrinogenemia associated with liver disease. *J Clin Invest* 1978;61:535-538.
- 10.- Martínez J, MacDonald KA, Palascak JE. The role of sialic acid in the dysfibrinogenemia associated with liver disease: distribution of sialic acid on the constituents chains. *Blood* 1983;61:1196-1202.
- 11.- Paramo JA, Rocha E. Hemostasis in advanced liver disease. *Sem Thromb Hemost* 1993;19:184-190.

- 12.- Boks AL, Brommer EJ, Schalm SW, *et al.* Hemostasis and fibrinolysis in severe liver failure and the relation to hemorrhage. *Hepatology* 1986;6:79-86
- 13.- Tytgat G, Collen D, De Breker R, *et al.* Investigation in fibrinolytic system in the liver cirrhosis. *Acta Haematol* 1968; 40:265-274.
- 14.- Francis RB, Feinstein DI. Clinical significance of accelerated fibrinolysis in liver disease. *Haemostasis* 1984;14:460-465.
- 15.- Aoki N, Yamanka T. The  $\alpha$ -2 plasmin inhibitor level in liver disease. *Clin Chim Acta* 1978;84:89-105.
- 16.- Knot EA, Drijfhout HR, Ten Kate JW, *et al.*  $\alpha$ -2-plasmin inhibitor metabolism in patients with liver cirrhosis. *J Lab Clin Med* 1985;105:353-358.
- 17.- Hu KQ, Yu AS, Tiyyagura L, *et al.* Hyperfibrinolysis activity in hospitalized cirrhotic patients in a referral liver unit. *Am J Gastroenterol* 2001;96:1581-1586.
- 18.- Kovacs MJ, Wong A, MacKinnon K *et al.* Assessment of the validity of de INR system for patients with liver impairment. *Thromb Haemost* 1994;91:727-730.
- 19.- Gazzard VG, Henderson JM, Williams R. The use of fresh frozen plasma or a concentrate of Factor IX as replacement therapy before liver biopsy. *Gut* 1975;16:621-625.
- 20.- Jagathambal K, Grunwald HW, Rosner F. Evaluation and management of the bleeding patient. *Med Clin North Am* 1991;65:133-146.
- 21.- Lusher JM, Thrombogenicity associated with Factor IX concentrates. *Sem Hematol* 1991;28:3.
- 22.- Kohler M, Hellstern P, Lechler E, *et al.* Thromboembolic complications associated with de use of prothrombin complex and Factor IX concentrates. *Thromb Haemost* 1998;80:395-402.
- 23.- Bernstein DE, Jeffers L, Erdhardtsen E, *et al.* Liver, páncreas and biliary tract: recombinant FVIIa corrects prothrombin time in cirrhotic patients: a preliminary study. *Gastroenterology* 1997;113:1930-1937.
- 24.- Bernstein DE. Effectiveness of the recombinant factor VIIa in patients with coagulopathy of advanced Child's B and C cirrhosis. *Sem Thromb Haemost* 2000;26:437-8.
- 25.- Ben-Ari Z, Osman E, Hutton RA, *et al.* Disseminated intravascular coagulation in liver cirrhosis: Fact or fiction?. *Am J Gastroenterol* 1999;94:2977-2982.
- 26.- Consensus Conference. Platelet transfusion therapy. *JAMA* 1987;257:1777-1780.
- 27.- Duckert F. Behaviour of antithrombin III in liver disease. *Scand J Gastroenterol* 1974;19 Supp 8):109-111.
- 28.- Schipper HG, ten Cate JW. Antithrombin III transfusion in patients with hepatic cirrhosis. *Br J Haematol* 1982;52:25-33.
- 29.- Hannon DC, Demirjlan Z, Ellman L. Disseminated intravascular coagulation after peritoneal-venous shunt. *Ann Internal Med* 1979;90:774-776.
- 30.- Gleysteen JJ, Hussey CV, Heckman MG. The cause of coagulopathy after peritoneal shunt for malignant ascitis. *Arch Surg* 1990;125:474-477.

#### **TRATAMIENTO DE LA HEMORRAGIA EN EL PACIENTE CON CÁNCER.**

- 1.- Kaushansky K. The thrombocytopenia of cancer. *Hematol Oncol Clin North Am* 1996; 10:431-455.
- 2.- Good KE, Harvey RG. Coagulation disorders in cancer. *Hematol Oncol Clin North Am* 1996; 10:457-484.
- 3.- Bishop JF, McGrath K, Wolf MM, *et al.* Clinical factors influencing the efficacy of pooled platelet transfusions. *Blood* 1988; 71:383-387.
- 4.- British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for platelet transfusions. *Transf Med* 1992; 2,311-318.
- 5.- Gmur J, Burger J, Schanz U, Fehr J, Schaffner A. Safety of stringent prophylactic platelet transfusion policy for patients with acute leukaemia. *Lancet* 1991; 388:1223-1226.
- 6.- Schiffer CA, Anderson KC, Bennett CL, Bernstein S, Elting LS, Goldsmith M, Goldstein M, Hume H, McCullough JJ, McIntyre RE, Powell BL, Rainey JM, Rowley SD, Rebutta P, Troner MB, Wagnon AH, for the American Society of Clinical Oncology. Platelet

transfusion for patients with cancer: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* 2001;19: 1519–1538.

7.- Hunt BJ. Indications for therapeutic platelet transfusions. *Blood Reviews* 1998; 12: 227–33.

8.- Doughty HA, Murphy MF, Metcalfe P, Rohatiner AZS, Lister TA, Waters AH. Relative importance of immune and non-immune causes of platelet refractoriness. *Vox Sanguinis* 1994; 66:200–205.

9.- Federici AB, Falanga A, Lattuada A, *et al.* Proteolysis of von Willebrand factor is decreased in acute promyelocytic leukemia by treatment with all-trans-retinoic acid. *Br J Haematol* 1996; 92:733-739.

10.- Falanga A, Rickles FR. Pathophysiology of the thrombophilic state in the cancer patient. *Semin Thromb Hemost* 1999; 25:173-182

11.- Tornebohm E, Lockner D, Paul C. A retrospective analysis of bleeding complications in 438 patients with acute leukemia during the years 1972–91. *Eur J Haematol* 1993; 50:160–167.

12.- Falanga A. Mechanisms for hypercoagulation in malignancy and during chemotherapy. *Haemostasis* 1998; 28(Suppl 3):50-60

13.- Freireich EJ. Supportive care for patients with blood disorders. *Br J Haematol* 2000; 111:68–77.

14.- Aoki N, Harpel PC. Inhibitors of the fibrinolytic enzyme system. *Semin Thromb Hemost* 1984; 10:24-41.

## ESTADOS DE TROMBOFILIA PRIMARIA EN MÉXICO.

1.- Ruiz-Argüelles GJ. Trombofilia. En Ruiz-Argüelles GJ. Editor: Fundamentos de Hematología, 3th. ed. Editorial Médica Panamericana. México City, 2003. pp. 424-436.

2.- Ruiz-Argüelles GJ, González-Estrada S, Garcés-Eisele J, Ruiz-Argüelles A.: Primary thrombophilia in México: A prospective study. *Am J Hematol* 1999; 60:1-5.

3.- Ruiz-Argüelles GJ, Garcés-Eisele J, Reyes-Núñez

V, Ramírez-Cisneros F.: Primary thrombophilia in México II: Factor V G1691A (Leiden), prothrombin G20210A and methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism in thrombophilic Mexican mestizos. *Am J Hematol* 2001, 66:28-31.

4.- Ruiz-Argüelles GJ, López-Martínez B, Cruz-Cruz D, Reyes-Aulis MB.: Primary thrombophilia in México III. A prospective study of the sticky platelet syndrome. *Clin Appl Thromb Hemost* 2002, 8:273-277.

5.- Mannucci PM.: The measurement of multifactorial thrombophilia. *Thromb Haemost* 2002; 88:1-2.

6.- Yang Q, Khoury MJ, Botto L, Friedman JM, Flanders WD.: Improving the prediction of complex diseases by testing for multiple disease-susceptibility genes. *Am J Hum Genet* 2003; 72:636-649.

7.- Curvers J, Thomasen MC, Rimmer J, Hamulyak K, van der Meer J, Tans G, Predston FE, Rosing J.: Effects of hereditary and acquired risk factors of venous thrombosis on a thrombin generation-based APC resistance test. *Thromb Hemost* 2002; 88:5-11.

8.- Emmerich J, Aiach M.: Genetic risk factors of thrombosis. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)* 2002; 51:129-134.

9.- Reitsma PH.: Genetic heterogeneity in hereditary thrombophilia. *Haemostasis* 2002; 30 (Suppl 2) 1:10.

10.- Cumming AM, Shiach CR.: The investigation and management of inherited thrombophilia. *Clin Lab Haematol* 1999; 21:77-92.

11.- Pons-Estel BA, Catoggio LJ, Cardiel MH, Soriano ER, Gentiletti S, Villa AR, Abadi I, Caeiro F, Alvarellos A, Alarcón-Segovia D.: The GLADEL multinational Latin American prospective inception cohort of 1214 patients with systemic lupus erythematosus. Ethnic and disease heterogeneity among “Hispanics”. *Medicine* 2004; 83: 1-17.

12.- Mammen EF.: Ten years experience with the “Sticky platelet syndrome”. *Clin Appl Thromb Hemost* 1995; 1:66-72.

13.- Born GVR, Cross MJ.: The aggregation of blood platelets. *J Physiol* 1963; 168:178-183.

14.- Zöller B, Dahlbäck B.: Linkage between inherited resistance to activated protein C and factor V gene

- mutation in venous thrombosis. *Lancet* 1994; 343:1536-1538.
- 15.- Lunghi B, Castoldi E, Mingozzi F, Bernardi F. 1998. A new factor V gene polymorphism (His 1254 Arg) present in subjects of african origin mimics the R2 polymorphism (His 1299 Arg). *Blood* 1998; 91:364-365.
- 16.- van Wijk R, Nieuwneuis K, van der Berg M, Huizinga EG, van der Meijden BB, Kraaijenhagen RB, van Solinge WW. Five novel mutations in the gene for the human blood coagulation factor V associated with Tipo I factor V deficiency. *Blood* 2001; 98:358-367.
- 17.- Chan WP, Lee CK, Kwong YL, Lam CK, Liang R.: A novel mutation of Arg306 of factor V gene in Hong Kong Chinese. *Blood* 1998; 91:1135-1139.
- 18.- Mumford AD, McVey JH, Morse CV, Gómez K, Steen M, Norstrom EA, Tuddenham EGD, Dahlbäck B, Bolton-Maggs PHB.: Factor V I359T: A novel mutation associated with thrombosis and resistance to activated protein C. *Br J Haematol* 2003; 123:496-501.
- 19.- Kluijtmans LAJ, van den Heuvel LPWJ, Boers GHJ, Frosst P, Stevens EMB, van Oost BA, den Heijer M, Trijbels FMJ, Rozen R, Blom HJ: Molecular genetic analysis in mild hyperhomocysteinemia: a common mutation in the methylentetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for cardiovascular disease. *Am J Hum Genet* 1996; 58:35-41.
- 20.- Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM.: A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996; 88:3698-3703.
- 21.- Ruiz-Argüelles GJ, Ruiz-Delgado GJ. López-Martínez B: El "síndrome de las plaquetas pegajosas": Una causa frecuente pero ignorada de trombofilia. *Rev Invest Clín Méx* 2002; 54:394-396.
- 22.- Schafer AI.: Inherited and acquired causes of thrombosis. In Schafer AI, Levine MN, Konkle BA, Kearon C.: *Thrombotic disorders: Diagnosis and treatment. Education Program Book. American Society of Hematology. San Diego CA, 2003. pp. 520-522.*
- 23.- Hernández-Hernández DS, Villa R, Murillo-Bonilla LM, Cantú-Brito C, Arauz-Góngora A, López-Gómez M, Ledesma-González JE, Césarman G.: Hiperagregabilidad plaquetaria y síndrome de las plaquetas pegajosas en eventos cerebrales vasculares en jóvenes. *Rev Hematol* 2002; 3:19.
- 24.- Ruiz-Argüelles GJ, Poblete-Naredo I, Reyes-Núñez V, Garcés-Eisele J, López-Martínez B, Gómez-Rangel D.: Primary thrombophilia in México IV: Thrombophilic mutations in the factor V gene in Mexican mestizos. *Rev Invest Clín Méx* 2004; 56:600-604.
- 25.- Buchholz T, Thaler CJ.: Inherited thrombophilia: impact on human reproduction. *Am J Reprod Immunol* 50: 20-32.
- 26.- Buchanan GS, Rodgers GM, Ware Branch D.: The inherited thrombophilias: genetics, epidemiology, and laboratory evaluation. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003;17):397-411.
- 27.- Perry SL, Ortel TL.: Clinical and laboratory evaluation of thrombophilia. *Clin Chest Med* 2003;24:153-70.
- 28.- De Stefano V, Rossi E, Paciaroni K, Leone G.: Screening for inherited thrombophilia: indications and therapeutic implications. *Haematologica* 2002;87:1095-108.
- 29.- Thomas RH.: Hypercoagulability syndromes. *Arch Intern Med* 2001; 161:2433-9.
- 30) Sykes TC, Fegan C, Mosquera D.: Thrombophilia, polymorphisms, and vascular disease. *Mol Pathol* 20.

---

# **TERAPÉUTICA CON ANTICUERPOS MONOCLONALES EN HEMATOLOGÍA.**

## **Capítulo 7**

**Norman Maldonado, David Gómez-Almaguer.**

### **ANTICUERPOS MONOCLONALES TERAPÉUTICOS EN HEMATOLOGÍA.**

#### **N. Maldonado.**

En el siglo XVIII, Edward Jenner un medico rural ingles observo que las jóvenes que ordeñaban las vacas y que padecían de la viruela animal (Cowpox) no les daba la mas severa viruela humana. En 1796 inoculo un niño con la viruela animal y luego comprobó que no adquiría la enfermedad dando inicio a la era de la inmunoterapia. Esto transformo la medicina. En 1885 Louis Pasteur preparo la primera vacuna contra la rabia que la administro a un niño mordido por un lobo rabioso y le salvo la vida. Emil von Behring demostró mas tarde que podía traspasar pasivamente la protección contra la difteria y el tétano usando suero obtenido de animales inmunizados y así nació el uso de las antitoxinas o antisueros terapéuticos, hoy día conocido como inmunoterapia pasiva. Paul Ehrlich respaldo los trabajos de von Behring y a su vez describió la respuesta inmunológica secundaria y la inmunidad pasiva natural. Eventualmente se estableció que los beneficios terapéuticos se debían a la formación de proteínas únicas llamadas anticuerpos o inmunoglobulinas. Cuando Bruton's en el 1952 describe la deficiencia de inmunoglobulinas en pacientes con inmunodeficiencias, comienza otra era con el uso de preparaciones de gammaglobulina como terapia. En el 1975 Cesar

Milstein y Georges J.F. Kohler produjeron los primeros anticuerpos que le ganaron el Premio Nobel de Medicina en 1984 y abrieron el camino para tanto ensayos especializados, como los de ELISA, y eventualmente nuevas terapias.

El uso de anticuerpos para el tratamiento del cáncer data de los comienzos del siglo XX pero sin resultados alentadores hasta 1975. Sin embargo la respuesta en los pacientes fue pobre. En 1982 se publico la primera experiencia positiva en una clase de anticuerpos de ratón contra el lugar de acoplamiento del antígeno conocido como un antiidiotipo en células B neoplásicas. Las técnicas de biología molecular han permitido la producción de inmunoglobulinas terapéuticas con mayores elementos humanos y por ende menos inmunogeneticidad.

No cabe la menor duda que los anticuerpos monoclonales terapéuticos dirigidos a un diana bien definida dirigida están transformando el manejo de muchas enfermedades. Esto forma parte de un movimiento mayor que busca más especificidad terapéutica y menos daño a los elementos normales, no tan solo de la medula ósea, sino en todo el organismo, como lo es el caso del imatinib (Gleevec).

Las estrategias inmunoterapeuticas se han convertido en parte de los tratamientos establecidos para muchas enfermedades malignas. Es un cambio de paradigma. En el último Congreso de ASH se presentaron 127 trabajos sobre el uso de Rituximab solamente. Hoy tendremos a distinguidos médicos e

investigadores actualizando los adelantos en el uso de tres de estas nuevas inmunoterapias rituximab (MabThera), alemtuzumab (Campath-1H, MabCampath) y gemtuzimab (Mylotarg).

Rituximab es un anticuerpo murino humanizado. Fue el primero de estos en recibir autorización por la Administración de Alimentos y Drogas (FDA como se conoce con sus siglas en inglés) para ser utilizado en el tratamiento de linfomas de bajo grado en el 1997. Este anticuerpo dirigido contra el antígeno CD20 que se encuentra exclusivamente en los linfocitos B, ha revolucionado el tratamiento no tan solo de estos linfomas sino también han resultados útiles en otras condiciones como la leucemia crónica linfática y la macroglobulinemia de Waldenström. Su uso no solo se ha extendido a condiciones hematológicas sino que también varias condiciones reumatológicas. Hay reportes de su uso en púrpura idiopática trombocitopenica (ITP), púrpura trombótica trombocitopenica (TTP) y anemia hemolítica autoinmune (AIHA) entre otros. Las condiciones autoinmunes reumatológicas en las que existe evidencia de su beneficio siguen expandiéndose. La artritis reumatoide es la más estudiada, pero se ha reportado también un beneficio en la granulomatosis de Wegeners y lupus sistémico eritematoso entre otras.

Otro de los anticuerpos humanizados es el gemtuzimab (Mylotarg) dirigido a CD33 que tiene actividad en casos de leucemia aguda mielocítica y puede eliminar enfermedad mínima residual en leucemia pro mielocítica. Este anticuerpo fue aprobado en el año 2000 para uso en pacientes envejecientes que habían recaído. La terapia dirigida con anti-CD33 caliqueamicina para formar gemtuzumab ozogamicina (GO) ha producido remisiones en leucemia mielocítica aguda cuando ha habido relapso. Además su uso en combinación con quimioterapia de inducción inicial ha resultado beneficioso.

Alemtuzumab (Campath) es un anticuerpo dirigido contra CD52 que ha demostrado efectividad en malignidades de linfocitos tanto T como B. Su uso incluye acondicionamiento previo a trasplante de médula ósea y ayuda en modificar la enfermedad de injerto sobre huésped (GvHD).

Se ha usado exitosamente en un paciente de ITP, según reportado en ASH 2005.

Los anticuerpos monoclonales no están exentos de reacciones adversas que pueden ser fatales. La inmunosupresión sigue siendo un problema real. Reacciones alérgicas incluyendo el síndrome de angustia respiratoria (ARDS) y el síndrome de lisis tumoral se han observado como complicaciones. Tomando todo en consideración, afortunadamente los efectos secundarios son menores comparados con nuestros tratamientos usuales.

Estamos ante el umbral de una nueva era que ha sido el producto de muchos y buenos investigadores por más de un siglo. El impacto de estos cambios en la medicina es espectacular y solo esta comenzando.

## **ALEMTUZUMAB.**

### **D. Gómez-Almaguer.**

El alemtuzumab es un anticuerpo humanizado que esta dirigido contra el CD52 presente en los linfocitos normales maduros y en linfocitos de pacientes con leucemia linfocítica crónica (LLC) y otras enfermedades linfoproliferativas indolentes. Por ello su utilidad principal radica en el tratamiento de esta leucemia y en la capacidad de producir inmunosupresión. El anticuerpo se une a su célula blanco y es capaz de destruirla por citotoxicidad celular mediada por anticuerpos, para la destrucción el anticuerpo no requiere de penetración celular y no tiene resistencia cruzada con quimioterapia. El medicamento puede ser administrado vía intravenosa, si bien, recientemente se ha observado que su utilidad es similar usándose por vía subcutánea con menos efectos negativos y facilitando su administración ambulatoria (1). Los efectos negativos son los inmediatos; fiebre, mialgias, alergia etc, mismos que son importantes con el uso intravenoso del anticuerpo y se minimizan con su empleo subcutáneo; los efectos colaterales de mediano plazo son secundarios a la inmunosupresión-linfopenia: infecciones.

### **Leucemia linfocítica crónica.**

En esta enfermedad su efectividad para disminuir linfocitos de la sangre y la médula ósea es notable, pudiendo incluso producir remisión completa. Se utilizó inicialmente en el rescate de pacientes resistentes a terapia con quimioterapia como clorambucil, ciclofosfamida, fludarabina y combinaciones diversas. Quedando claro que el medicamento es útil incluso en casos de pacientes multitratados y resistentes a la quimioterapia con el medicamento más útil: fludarabina. Alrededor de un 30% de los pacientes mejoraron y responden forma parcial y ocasionalmente en forma completa. El medicamento es de mayor utilidad si se usa en pacientes sin adenomegalia importante.

La respuesta en pacientes sin tratamiento previo suele ser alta y es eficaz hasta en un 90% de las ocasiones sin importar si se usa vía intravenosa o subcutánea. El medicamento tradicionalmente se utiliza a razón de 30 mg tres veces por semana por un lapso de 12 semanas. Su principal toxicidad es la habitual con el uso de citocinas u otros anticuerpos como fiebre o mialgias etc., sin embargo, la toxicidad más importante recae en la inmunosupresión y el riesgo de infecciones inesperadas u oportunistas. También pueden observarse trombocitopenia, neutropenia y en menor grado anemia, todo lo cual es reversible (2).

En la actualidad el alemtuzumab se está estudiando clínicamente en combinación con quimioterapia, ya sea simultáneamente o posteriormente como consolidación con el fin de obtener no solo remisión completa sino molecular. También se ha combinado con rituximab y en el acondicionamiento en trasplante hematopoyético para pacientes con LLC (3).

### **Otras enfermedades linfoproliferativas.**

La utilidad en la LLC es notable y el alemtuzumab es ya un medicamento con un lugar establecido en esta enfermedad. Sin embargo, se ha demostrado efectividad en otras patologías, incluyendo enfermedades de linfocitos T. El antígeno CD52 también se expresa generosamente en linfocitos T benignos y malignos y al igual que en la LLC es

particularmente útil cuando la enfermedad se encuentra en sangre o médula ósea y menos útil en pacientes con adenomegalia importante. Los resultados más alentadores se han encontrado en leucemia prolinfocítica de células T (76% de respuestas y 60% completas) y en linfoma cutáneo de células T. Se tiene menos experiencia en otras neoplasias (4).

### **Trasplante hematopoyético.**

El alemtuzumab con la característica de ser un potente agente anti-linfocítico tiene utilidad en la prevención del rechazo en el acondicionamiento pretrasplante y a su vez tiene el efecto de prevenir o minimizar la enfermedad del injerto vs huésped. El anticuerpo se ha utilizado principalmente en acondicionamiento no mieloablativo o en esquemas de intensidad reducida. Básicamente se han utilizado 2 formas de utilizar el alemtuzumab: se puede infundir en la bolsa de células hematopoyéticas para disminuir los linfocitos a trasplantar sin impacto en el rechazo y con la idea de evitar el injerto vs huésped; o bien se puede aplicar antes del trasplante en combinación con otros agentes para disminuir tanto los linfocitos del receptor como los del donador. Cada vez toma más importancia como un medicamento útil para mejorar los resultados del trasplante, sin embargo, su uso debe ser cauteloso y en dosis bajas para evitar un aumento en la susceptibilidad a las infecciones o la recaída neoplásica por disminución de células T del donador (3).

En un estudio reciente de 69 pacientes en los cuales se usó un acondicionamiento de intensidad reducida con fludarabina, melfalan y ciclosporina, se demostró que la utilidad del alemtuzumab es importante, ya que mejora los resultados del trasplante siempre y cuando se utilice una dosis no mayor a 30 mg.

También se ha utilizado el anticuerpo para disminuir el rechazo en el trasplante renal y los resultados publicados hasta el momento son muy alentadores en este campo (5).

### **Enfermedades autoinmunes y otras indicaciones.**

Al igual que el rituximab, el anticuerpo tiene lógicamente un papel en las enfermedades autoinmunes, existen ya reportes de ello y se están llevando a cabo estudios al respecto. Se ha empleado en púrpura trombocitopénica, anemia hemolítica, anemia aplásica, enfermedad de injerto vs. huésped.

Nuestro grupo en la Universidad de Nuevo León cuenta con experiencia en casos de enfermedad de injerto vs. huésped aguda y crónica, los resultados preliminares son francamente alentadores. En el caso de la anemia aplásica se cuenta con un protocolo de investigación en el cual se pretende reemplazar la globulina antitimocito de origen animal por el alemtuzumab a dosis bajas en conjunto con ciclosporina. Inicialmente se han tratado dos pacientes con respuestas buenas aunque parciales (6,7).

Recientemente se presentó la experiencia de 24 estudios que incluyen un total de 323 pacientes con enfermedades autoinmunes incluyendo artritis, esclerosis múltiple, vasculitis, anemia hemolítica y púrpura trombocitopénica entre otras. En general se considera que el medicamento es seguro con un 75% de mejoría o respuesta clínica y 15% de los pacientes obtuvieron remisión completa. El medicamento es notablemente útil en estas enfermedades y tendremos que aprender a utilizarlo, combinarlo y asociarlo a una terapia de mantenimiento posterior para lograr la máxima efectividad (6-8).

### **RITUXIMAB: ANTI-CD 20.**

#### **N. Maldonado.**

El uso de anticuerpos monoclonales ha sido el mayor adelanto en la terapia de los linfomas tipo B y de muchas condiciones inmunológicas en años recientes. El Rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico anti-CD20 con una región variable murina y una molécula de inmunoglobulina G kappa con una

región variable (Fab) de origen murino la cual le provee especificidad y una región de tamaño grande de origen humano constante (Fc) la cual fija complemento. Los mecanismos de citotoxicidad no son conocidos del todo. Se ha demostrado citotoxicidad por medio de complemento, citotoxicidad de células dependiente de anticuerpo (ADCC) y por apoptosis entre otras. El uso de citoquinas se ha usado para potenciar el efecto del rituximab. Interferón alfa, factores de crecimiento (GM-CSF) e interleuquinas se han utilizado con resultados alentadores.

El rituximab se ha usado con IL 12 para pacientes con linfoma indolente y agresivo con una respuesta de 69%. Las secuencias de DNA inmunoestimuladora (ISS) han sido combinadas con rituximab para potenciar su efecto en estudios in vitro, en animales experimentales y en estudios fase I con buenos resultados. Se genera una inmunidad antitumoral.

Un puertorriqueño egresado de nuestra Universidad de Puerto Rico fue el que desarrolló el rituximab para su aprobación por la FDA en 1997. Los estudios iniciales demostraron una respuesta de 50% en pacientes con linfomas indolentes que duraron alrededor de un año. Desde entonces se ha conseguido mejorar la eficiencia de esta terapia novel combinándola con quimioterapia convencional, aumentando las dosis y uniéndola a radionucleidos como radioinmunoterapia. Se ha usado el antiCD20 para dirigir ya sea el yodo 131 y el ytrio 90 directamente hacia el tumor con resultados excelentes. Este tratamiento ha demostrado resultados superiores cuando se compara con rituximab solo. Los primeros estudios de rituximab se realizaron en Stanford con pacientes refractarios y se notó una respuesta en 3 de 15 pacientes. En los estudios de fase II hubo una respuesta de 50%. Luego vinieron los estudios de R-CHOP para linfomas de célula grande demostrando una ventaja sobre CHOP tanto en el periodo libre de enfermedad al igual que en la sobrevivencia global y tasa de remisiones completas. El estudio del GELA que fue publicado en 1999 y por último en el demostró que R-CHOP era superior en linfomas de célula grande (DLCL). El grupo de MD Anderson liderado

por el Dr. Fernando Cabanillas demostró en linfomas foliculares de bajo grado en combinación con FND. En algunos estudios se han reportado menos efectos secundarios y menos toxicidad en los pacientes que reciben el rituximab.

El estudio de Bertrand Coiffier y colaboradores comparo 196 pacientes con CHOP y 202 con R-CHOP entre las edades de 60 y 80 años. La supervivencia global a los dos años fue superior para R-CHOP a 68%. Libre de eventos 70 contra 57% a favor de R-CHOP. La supervivencia libre de a dos años fue 58% contra 49% a favor de R-CHOP. La remisión completa fue 63% para CHOP y 76% para R-CHOP. En el tratamiento de rescate con ICE (Ifosfamida, carboplatino y etoposido) el añadir rituximab mejora la remisión completa de 27 a 57%. Otros estudios usando R con fludarabina, novantrone y dexametasona (R-FND) para linfomas de bajo grado están resultando exitosos y se vislumbra la posible cura de tumores que se consideraban incurables anteriormente. HiperCVAD es usado en linfoma de Mantle. En estudios recientes se ha demostrado una mejor respuesta cuando se añade rituximab a este tratamiento.

El uso en leucemia crónica linfática en combinación con fludarabina y/o ciclofosfamida ha sido exitoso y se ha convertido en el tratamiento más utilizado. Sin embargo en los pacientes con inmunodeficiencia adquirida y linfoma los resultados no son favorables con una mayor incidencia de infecciones y muerte. En años recientes se ha expandido el uso de rituximab para tratar condiciones Inmunológicas benignas. La condición más estudiada es la artritis reumatoide. El grupo del Dr. Jonathan C.W. Edwards de Londres reporto los hallazgos en 161 pacientes divididos en cuatro grupos. A uno se le dio Metotrexato oral como grupo control, otro rituximab 1000mg en el día 1 y el 15, otro recibió rituximab con ciclofosfamida y otro rituximab y Metotrexato. Se usaron los criterios del Colegio Americano de Reumatología y de la Liga Europea Contra el Reumatismo. Los resultados fueron una mayor respuesta en el grupo que recibió rituximab con Metotrexato de 20% mejor. El segundo grupo mejor fue el de rituximab con ciclofosfamida. Recientemente la FDA ha aprobado el uso de

rituximab para tratar artritis reumatoide.

El uso en púrpura trombocitopénica idiopática, en púrpura trombótica trombocitopénica, anemia hemolítica autoinmune, pancitopenias post trasplantes cardiacos, lupus sistémico eritematoso están entre varias condiciones reportadas como exitosas. El síndrome de Sjögrens, pénfigo, vasculitis por crioglobulinemia, arteritis temporal, hemofilia adquirida, granulomatosis de Wegener's son algunas de las entidades donde se han reportado efectos beneficiosos.

El rituximab no esta libre de efectos adversos. La infusión causa fiebre, dificultad respiratoria e hipotensión. Se han reportado casos fatales de reactivación de hepatitis B y citomegalovirus. Ha habido pacientes con neumonitis intersticial y sinusitis. En pacientes leucemia crónica linfática y en otras condiciones se ha notado neutropenia prolongada. El Dr. Fernando Cabanillas ha observado disminución de las gama globulinas en sus pacientes.

Rituximab se ha convertido en un medicamento de uso múltiple que ha ayudado a prolongar vida y curar a miles de enfermos.

## REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.

### ANTICUERPOS MONOCLONALES TERAPÉUTICOS EN HEMATOLOGÍA.

Schnipper LE. A magic bullet for cancer – How near and how far? *N Engl J Med.* 2001; 345:283-284.

Maloney DG, Grillo-Lopez AJ, White CA, *et al.* IDEC-C2B8 (rituximab) anti-CD20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 90:2188-2195.

Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, Morel P, Van Den Neste E, Salles G, Gaulard P, Reyes F, Lederlin P, Gisselbrecht C. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2002; 346:235-42.

Lozanski G, Heerema NA, Flinn IW, Smith L, Harbison J, Webb J, Moran M, Lucas M, Lin T, Hackbarth ML, Proffitt JH, Lucas D, Grever MR, and Byrd JC. *Blood* 2004; 103: 3278-3281.

Moreton P, Kennedy B, Lucas G, Leach M, Rassam SM, Haynes A, Tighe J, Oscier D, Fegan C, Rawstron A, Hillmen P. Eradication of minimal residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia after alemtuzumab therapy is associated with prolonged survival. *J Clin Oncol*. 2005; 23:2971-9.

van der Velden VHJ, te Marvelde JG, Hoogeveen PG, Bernstein ID, Houtsmuller AB, Berger MS, van Dongen JJM. *Blood* 2001; 97:3197-3204.

Taussig DC, Pearce DJ, Simpson J, Rohatiner, AZ, Lister TA, Kelly G, Luongo JL, Danet-Desnoyers GH, and Bonnet D. Hematopoietic stem cells express multiple myeloid markers: implications for the origin and targeted therapy of acute myeloid leukemia. *Blood* 2005; 106:4086-4092.

#### **ALEMTUZUMAB.**

1.- Osterborg A, Mellstedt H, Keating M. Clinical effects of alemtuzumab (Campath-1H) in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Med Oncol* 2002; 19:S21-S26.

2.- Cheson BD. Monoclonal antibody therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Immunol Immunother* 2006;55:188-196.

3.- Juliusson G, Theorin N, Karlsson K *et al*. Subcutaneous alemtuzumab vs ATG in adjusted conditioning for allogeneic transplantation : influence of Campath dose on lymphoid recovery, mixed chimerism and survival. *Bone Marrow Transplant* 2006;37:503-510.

4.- Dearden C, Matutes E, Catovsky D. Alemtuzumab in T cell malignancies. *Med Oncol* 2002;19:S27-S32.

5.- Kaufman DB, Leventhal JR, Gallon LG, Parker MA. Alemtuzumab induction and prednisone-free maintenance immunotherapy in simultaneous pancreas-kidney transplantation comparison with rabbit antithymocyte globulin induction-long term results . *Am J Transplant* 2006;6:331-339.

6.- Russell NH, Byrne JL. In vivo Campath for the prevention of GVHD following allogeneic HSCT: effects of dose, schedule and antibody type. *Bone Marrow Transplant* 2004;33:833-837.

7.- Reiff A. A review of Campath in autoimmune disease: biologic therapy in the gray zone between

immunosuppression and immunoablation. *Hematology* 2005; 10:79-93.

8.- Au WY, Lam CC, Chim CS *et al*. Alemtuzumab induced complete remission of therapy-resistant pure red cell aplasia. *Leuk Res* 2005; 29:1213-1215.

#### **RITUXIMAB: ANTI-CD 20.**

1.- Czuczman M, Grillo Lopez A, White C, Saleh M, Gordon L, LoBuglio F, Jonas C, Klippenstein D, Dellaire B, Varns C. Treatment of patients with low grade lymphoma the combination of a chimeric anti-CD20 monoclonal antibody and CHOP Chemotherapy and CHOP chemotherapy. *J Clin Onco* 1999; 17(1):268-76.

2.- Davis TA, Grillo Lopez AJ, White CA, McLaughlin P, Czuczman MS. Link BK, Maloney DG, Weaver RL, Rosenberg J, Levy R. Rituximab anti-CD20 monoclonal antibody therapy in non Hodgkin's lymphoma: Safety and efficacy of treatment *J Clin Onc* 2000; 18 (17):3135-3143.

3.- Grillo Lopez AJ Radioimmunotherapy with 90 yttrium Zevalin for indolent and aggressive non Hodgkin's Lymphoma. *Haematol*. 2001; 86: 65 -69.

4.- Gordon LI, Solai-Celigny P, Gascoyne RD, Freedman AS. Follicular lymphoma: Management options in the era of targeted therapy. *ASCO Educational Book*; 2005. p. 511-26.

5.- Edwardsa JCW, Szczepanski L, Szechinski J, Filipowicz A, Emery P, Close D R, Stevens R M, Shaw T, Efficacy of B-Cell targeted therapy with rituximab in patients with arthritis. *N Eng J Med* 2004; 350:2572-2581.

6.- Coiffier B, Pfreundschuh M, Stahel R, Vose J, Zinzani PL. Aggressive lymphoma : Improving treatment outcomes with rituximab, *Anticancer Drugs* 2002; Suppl 2:S43-50.

7.- Coiffier B, Lepage E, Briere J, *et al* CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large cell lymphoma *N Engl J Med* 2002; 346: 235-242.

## LEUCEMIAS AGUDAS EN EL ADULTO.

## Capítulo 8

Mario Gutiérrez-Romero, Juan R. Labardini-Méndez, Xavier López-Karpovitch, Guillermo J. Ruiz-Argüelles, Miguel A. Sanz.

### CRITERIOS ACTUALES DE DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO EN LEUCEMIA AGUDA DEL ADULTO.

#### M. Gutiérrez-Romero.

Los criterios de base para el diagnóstico de leucemia aguda son morfológicos a la microscopia de luz. Lo integran la presencia de “blastos” en sangre periférica con mas del 5 % y en la médula ósea mas del 20%, además de las manifestaciones clínicas ya conocidas

#### Criterio morfológico.

Para orientar al tipo de leucemia, la observación al microscopio de luz y de acuerdo con los criterios morfológicos del grupo franco-americano-británico (FAB), se intentan distinguir las de tipo linfóide y las mieloides, pero solo se logra una concordancia diagnóstica entre observadores expertos del 70-80% (Cuadro 1).

#### Citoquímica.

Es de gran ayuda, ya que permite separar las leucemias agudas linfoides de las mieloides e identificar otras subvariedades que resultan difíciles al simple microscopio de luz como L2, M1, M2, M4, así como las de tipo T, llevándonos a una concordancia diagnóstica del 90-95%. (cuadro 2).

#### Cuadro 1. Leucemia aguda. Criterio morfológico.

- Blastos en sangre periférica > 5%
- En médula ósea > 20%

- Microscopia simple grupoFAB:

LINFOBLASTICAS: L1, L2, L3.

MIELOBLASTICAS (o no linfoblásticas):

M1, M2, M3, M4, M5, M6.

Concordancia diagnóstica entre morfológicos expertos: 70 - 80%

#### Cuadro 2 Leucemia aguda. Citoquímica.

- TINCIONES:  
PAS: L1, L2, L3 y M6.  
Peroxidasa / Negro Sudan:  
M1, M2, M3, M4, M5.  
Esterasa no específica: M4, M5.  
Fosfatasa ácida / • naftil acetato esterasa:  
LAL T.

CONCORDANCIA DIAGNOSTICA 90 - 95%.

### Inmunofluorescencia.

Habitualmente por medio de la citometría de flujo y contando con la gran variedad de Ac monoclonales (CD). Equipo y material muy costoso, lo que ha hecho el diagnóstico más elitista. En los países más desarrollados ha desplazado a los estudios clásicos incluyendo a la microscopía electrónica. Con el inmunofenotipo podemos demostrar fácilmente las variedades de los tipos de leucemia ya conocidos y otros como la leucemia con poco grado de diferenciación o M0 con el marcador CD34 y la leucemia de megacarioblastos con los CD41 y CD61. Con esta tecnología se puede llegar a una concordancia diagnóstica de más del 95%; pero más aún descubrir subvariedades dentro de las mismas, lo que en ocasiones complica el diagnóstico, sobre todo cuando se identifican clonas con marcadores mixtos. Esta clasificación y la frecuencia de las subvariedades se muestran en el cuadro 3.

### Citogenética y biología molecular.

Son la caja de Pandora, han demostrado que se pueden sacar marcadores de buen pronóstico y de mal pronóstico.

### Alteraciones cuantitativas.

Desde muchos años atrás la genética ha informado las hiperdiploidias que se ven en las leucemias linfoblásticas son de buen pronóstico, no así las hipodiploidias.

### Alteraciones cualitativas.

Leucemia linfoblástica B.

De pronóstico favorable: La fusión t(12;4)(TEL-AML1). En adultos 2-7%, niños 20 a 25%.

Pronóstico desfavorable: La t(9;22)(BCR-ABL). En adultos 30% y en mayores de 50 años 50%, en niños 3%. La t(4;11)(MLL-AF4). En adultos 5-6%, niños 40-60%.

Leucemia linfoblástica T.

Deleción del cromosoma 1p32 en TAL (SIL-TAL1) adultos 1%, niños 20%, con significado pronóstico aún no determinado.

Leucemia mieloblástica

Se han caracterizado en las de riesgo favorable: La (inv 16)(CBFB-MYH11). La t(8;21)(AML1-ETO). La t(15;17) PML-RARá, todas con un promedio de supervivencia de 70 -75% (¿curación?).

Riesgo desfavorable: Anormalidades del cromosoma 5, (11q32)(MLL), El Complejo (7 3q-). La t(9;22)(BCR-ABL), con supervivencias aproximadas del 15%.

LAM con otros tipos de lesiones, o cariotipos normales, tienen supervivencias aproximadas del 50%.

Con base a lo anterior la OMS en 2001 lanzó su clasificación tomando en cuenta estos factores (cuadro 4).

### Conclusiones.

1.- La edad es un factor importante, ser adulto es desfavorable y más aún arriba de los 60 años.

2.- El tipo de leucemia aguda, la leucemia aguda linfoblástica en general es de mejor pronóstico que la mieloblástica.

3.- El inmunofenotipo, además de corroborar lo anterior, informa que las leucemias agudas con dobles marcadores (My+LAL) son de pronóstico desfavorable por activar genes de resistencia a multidrogas (MDR).

4.- Las hiperdiploidias y algunos marcadores genéticos específicos son favorables.

5.- Estos marcadores moleculares, pueden en el seguimiento (enfermedad mínima residual)

**Cuadro 3**  
**Leucemia aguda. Inmunofenotipo.**

- Microscopía de fluorescencia o citometría de flujo:

LAL

|          | ProB (BI) | Común (BII) | PreB (BIII) | B (BIV) | T      |
|----------|-----------|-------------|-------------|---------|--------|
| CD       | HLA1      | 10          | 19          | 20      | 2      |
| Adultos: | 20-25%    | 50%         | -           | 2-5%    | 20-25% |
| Niños:   | 50-70%    | 90%         | 25%         | 2-5%    | 15%    |

LAL con marcadores mieloides (My+LAL): 15-50% (inducen MDR)

LAM

| TIPO:   | M0 | M1   | M2  | M3   | M4          | M5          | M6      | M7  |
|---------|----|------|-----|------|-------------|-------------|---------|-----|
| CD      | 34 | > 13 | Y   | 33 < | >11b,14,36< | glicoforina | >41,61< |     |
| Adultos | 5% | 10%  | 40% | 15%  | 20%         | 2%          | 3%      | 10% |

### Cuadro 4 Leucemia aguda. Clasificación OMS

---

|   |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mieloblástica (LAM)           <ul style="list-style-type: none"> <li>LAM con anomalías genéticas recurrentes:               <ul style="list-style-type: none"> <li>LAM t(8;21)(q22;q22)(AML-ETO)</li> <li>LAM inv.(16)(p13;q22) o t(16;16)(p13;q22)(CBF•-MYH11)</li> <li>LAM M3 t(15;17) 8q22;q12(PML-RAR•)</li> <li>LAM con anomalías (11q23)(MLL)</li> </ul> </li> <li>LAM con displasia de multilinea:               <ul style="list-style-type: none"> <li>LAM con SMD anterior</li> <li>LAM sin SMD anterior</li> </ul> </li> <li>LAM y SMD relacionados a Tx alquilantes y analogos, o inhibidores de la topoisomerasa II</li> </ul> </li> <li>• LAM caracterizada           <ul style="list-style-type: none"> <li>LAM con mínima diferenciación, M0</li> <li>LAM sin maduración, M1</li> <li>LAM con maduración, M2</li> <li>LAM promielocítica, M3</li> <li>LAM mielomonocítica, M4</li> <li>LAM monoblástica, M5</li> <li>LAM eritroleucemia, M6</li> <li>LAM Megacarioblástica, M7</li> <li>LAM basofílica</li> <li>LAM con panmielosis y mielofibrosis</li> <li>LAM sarcoma mielóide</li> </ul> </li> <li>• Leucemia linfoblástica (LAL)           <ul style="list-style-type: none"> <li>LAL de precursores B (Leucemia/linfoma B)</li> <li>LAL de precursores T (Leucemia/linfoma T)</li> <li>LAL Leucemia/Linfoma tipo Burkitt</li> <li>LAL de linaje ambiguo</li> <li>LAL bifenotípica</li> <li>LAL indiferenciada.</li> </ul> </li> </ul> |
|---|

---

llegar a desaparecer, considerándose la remisión molecular (¿curación?).

## LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA. TRATAMIENTO.

### J.R. Labardini-Méndez.

La leucemia aguda mieloblástica (LAM) es un grupo heterogéneo de enfermedades de la célula progenitora hematopoyética clonal con un gran espectro de características morfológicas, inmunofenotípicas, citogenéticas y moleculares.

Existen 2 grupos de LAM cuyo pronóstico y evolución son muy diferentes, son las llamadas LAM de novo y LAM secundaria. La LAM de novo es la que se presenta sin historia clínica de síndrome mielodisplásico (SMD), enfermedad mieloproliferativa (EMP) o exposición a agentes o terapéuticas potencialmente leucemogénicas.

La LAM secundaria se refiere a pacientes que tienen tales historias clínicas y deben categorizarse como LAM secundaria a SMD previo, EMP previa o exposición a un agente leucemogénico demostrado.

La incidencia de LAM es de 2.4 casos por 100,000 habitantes y su frecuencia aumenta conforme aumenta la edad, al grado de que en mayores de 65 años llega ser de 12.6 casos por 100,000 habitantes.

La LAM puede ser originada por una o varias mutaciones de una célula progenitora hemopoyética o bien de sus descendientes, activación de protooncogenes que muchas veces se acompaña de inactivación de uno o varios genes supresores. Todo esto da como resultado una proliferación fuera de todo control, detención del proceso de maduración y esto conduce a un aumento en la producción leucémica que en un momento dado llega a desplazar a la población celular normal.

Los datos clínicos más frecuentes son: anemia, fiebre, hemorragia y los signos que más se encuentran, son: adenomegalia y esplenomegalia (son más frecuentes en la variedad linfoblástica), dolor óseo e infiltración gingival. El laboratorio confirma la anemia, que es normocítica normocrómica, los leucocitos se encuentran elevados o bien pueden estar en números normales o disminuidos y las plaquetas están disminuidas. De acuerdo con la FAB se requería 30% de blastos en la sangre periférica y/o en la médula ósea para poder afirmar que era LAM; la OMS acepta que dicho diagnóstico se puede aceptar con 20% de blastos en médula ósea y/o en sangre periférica.

El diagnóstico debe hacerse por medio de morfología, histoquímica, inmunofenotipo, citogenética y biología molecular.

De acuerdo con la FAB la clasificación es el siguiente (Cuadro 1):

**Cuadro 1**  
**Clasificación FAB**

|   |   |                              |
|---|---|------------------------------|
| M | 0 | Indiferenciada               |
| M | 1 | Mieloblástica                |
| M | 2 | Mieloblástica con maduración |
| M | 3 | Promielocítica               |
| M | 4 | Mielomonoblástica            |
| M | 5 | Monoblástica                 |
| M | 6 | Eritroleucemia               |
| M | 7 | Megacarioblástica            |

**Cuadro 5**  
**LAM**

LAM y SMD pos Rp  
Agentes alquilantes  
Epipodofilotoxina  
Inhibidores de topoisomerasa  
Otros tipos

De acuerdo con la OMS, la clasificación es (Cuadros 2 a 6)

**Cuadro 2**  
**Clasificación OMS**

Con translocaciones recurrentes  
Con displasia multilinaje  
SMD pos Rp  
No clasificadas arriba.

**Cuadro 3**

Con translocaciones recurrentes:

- t(8;21)(q22; q22), LAM 1(CBF-alfa)/ETO
- t(15;17)(q22, q11-12). PML/RAR-alfa.
- [inv(16)(p13 q22) o t(16;16)(p13; q11), CFB beta/MYH11X]
- Con anormalidades 11q 23(MLL)

**Cuadro 4**

*LAM*

Con displasia multilinaje  
Con SMD o SMP previos  
Sin SMD o SMP previos

**Cuadro 6**

*No clasificadas arriba*

- Con mínima diferenciación
- Sin maduración
- Con maduración
- Mielomonoblástica
- Monoblástica
- Eritroide
- Megacarioblástica
- Basofílica
- Panmielosis aguda con MF

El pronóstico puede depender de las alteraciones citogenéticas presentes y de otras características comunes a otros tipos de leucemia aguda.

**Cuadro 7**

**Factores pronósticos en la LAM**

Favorables:

|                    |     |
|--------------------|-----|
| t (8 ;21)          | M 2 |
| t (15 ;17)         | M 3 |
| Inv (16)/t(16 ;16) | M 4 |

Intermedios: cariotipo N

**Cuadro 8**  
**Factores pronósticos adversos en la LAM**

|   |                                |
|---|--------------------------------|
| ➤ | Edad > 60 años                 |
| ➤ | Leucocitos > 30,000            |
| ➤ | Leucemia secundaria            |
| ➤ | Alteraciones de 5, 7, t (9;22) |
| ➤ | No respuesta a 1 er. Ciclo     |

El objetivo de la quimioterapia es la curación del paciente. Las fases del tratamiento son: inducción de la remisión completa (RC), consolidación, intensificación tardía y mantenimiento. El objetivo de la inducción a la remisión es el rápido restablecimiento de la función normal de la médula ósea. El término RC se reserva para pacientes que han recuperado la normalidad de las cuentas sanguíneas de sangre periférica y tienen menos de 5% de blastos en la médula ósea y ninguno tiene fenotipo leucémico.

En ausencia de síntomas y signos de infiltración a sistema nervioso central (SNC), no es necesario realizar, al momento del diagnóstico, punción lumbar para examinar el líquido cefalorraquídeo (LCR). Sin embargo, ya que el LCR es un santuario para enfermedad oculta, debe hacerse una punción lumbar en todos los pacientes al obtener remisión de la médula ósea, principalmente en los pacientes con un fenotipo monoblástico.

El tratamiento de inducción a la RC es prácticamente el mismo para todos excepto los pacientes con LAM-M3 (LA promielocítica) y los pacientes mayores de 60 años. El régimen de inducción a la RC más comúnmente usado es citarabina (Ara-C) en infusión continua intravenosa, 100 mg/m<sup>2</sup> por 24 horas por 7 días más daunorrubicina (DAU) a la dosis de 45 a 60 mg/m<sup>2</sup>, en bolo, por día, por los 3 primeros días. La cifra de RC es 60-80% según la edad y selección de las pacientes.

Cuando se hace el diagnóstico de LAM el paciente tiene 1X10<sup>12</sup> células leucémicas. En el momento en que se obtiene RC aún le quedan al paciente 1X10<sup>9</sup> células leucémicas. Por esta razón, es absolutamente necesario continuar con tratamiento posremisión y las modalidades pueden ser tres: quimioterapia (Qt) de

consolidación y trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) alogénico o autólogo. Es posible que el TCPH reduzca en forma significativa la cifra de recaídas pero se asocia con mayores morbilidad y mortalidad.

Se ha demostrado que no se obtiene evidente mejoría si se cambia de antraciclina, se aumentan dosis de Ara-C o de DAU o bien se agregan 3<sup>a</sup> ó 4<sup>a</sup> drogas. En 5 ensayos, compararon en 1052 pacientes DAU vs otra antraciclina y encontraron que la idarrubicina (IDA) produjo mayores cifras de RC (62 vs 53%) y supervivencia a 5 años (13 vs 9%). No se sabe con certeza si las dosis de IDA y DAU fueron equitoxicas.

Normalmente el Ara-C se usa a dosis de 100 a 200 mg/m<sup>2</sup> en infusión continua por 7 a 10 días. Las dosis elevadas son 1000 a 3000 mg/m<sup>2</sup> en 1 a 3 horas por 8 a 12 dosis y se acepta que pueden aumentar las cifras de RC en menores de 60 años pero con el costo de toxicidad aumentada. No se ha demostrado mejoría en la mortalidad relacionada con el tratamiento, en la cifra de recaídas tempranas ni en la supervivencia global. El régimen 7+3+3 (es decir, el 7+3+3 días de dosis altas de Ara-C) dio RC de 89% en 94 pacientes menores de 65 años. Sin embargo, cuando se usó el mismo régimen en 2 grandes ensayos cooperativos, las RC fueron menores y la toxicidad relacionada con el tratamiento fue prohibitiva.

Las dosis altas de Ara-C han sido muy útiles si se utilizan después de la inducción de RC en los pacientes con t(8;21) (q22;q22): si se compara la administración de 1 ciclo de dosis altas (DA) vs ≥ 3 ciclos, las recaídas disminuyen de 62 a 19%, la SVLE en meses aumenta de 10.5 a 35 y la S V a 5 años, en %, aumenta de 44 a 76%. Lo mismo se observa en los casos con Inv 16/t(16;16): disminuye la probabilidad de recaída si se comparan con dosis menores de Ara-C.

En lo que toca a agregar 3<sup>a</sup> ó 4<sup>a</sup> drogas, se ha demostrado que adicionar etopósido o tioguanina no ha dado mejores resultados.

El TCPH alogénico realizado en primera RC da buenos resultados en el 45 al 65% de los casos; si se hace en recaída da ≤ 35%, ya que habitualmente el paciente está más débil o bien la enfermedad es resistente y se presentan

mayores mortalidad y recaídas. Si la primera RC duró > 6 meses se puede llegar al 35% mencionado pero si fue < 6 meses, sólo se alcanza un 20%. Si se hace en pacientes que fallaron a la primera inducción sólo se alcanza el 15% y si la primera recaída es refractaria o el paciente se encuentra en 3ª ó 4ª RC el mejor porcentaje sólo llega a 5.

## **PREVALENCIA DE LA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA (LPA) EN LATINOAMERICA.**

### **X. López-Karpovitch.**

En 1996, Douer, *et al*, llamaron la atención de la comunidad médica latinoamericana al informar una frecuencia elevada de LPA en el condado de Los Ángeles, California, Estados Unidos de Norteamérica en comparación a lo informado por otras series europeas y norteamericanas. Mientras que la frecuencia de LPA en series europeas y norteamericanas es de entre un 5% a 13%, en el condado de Los Ángeles ésta fue del 24%. Douer, *et al*, atribuyeron esta mayor frecuencia de LPA a la composición étnica constituida mayoritariamente por latinos (56%). De manera interesante, desde 1991 se publicaron los resultados de un estudio multicéntrico realizado en México en el que se incluyeron 43 pacientes adultos con leucemia mieloide aguda. En este trabajo la frecuencia de LPA fue del 25.6%. En la ciudad de Puebla, México, Ruíz-Argüelles, *et al*, informaron en 1997 en una serie de 198 casos con leucemia aguda, 60 de ellos con leucemia mieloide aguda, una frecuencia de LPA del 20%. El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán de la ciudad de México, identificó en una serie de 97 pacientes adultos con leucemia aguda (54 con leucemia linfocítica aguda y 43 con leucemia mieloide aguda) 15 casos (34.9%) con LPA. En 2003, el registro brasileño de leucemia mieloide aguda (<http://ctc.fmrp.usp.br/lma>), informó una frecuencia de LPA del 18.1%. Estos resultados muestran que la prevalencia de LPA en México va de un 20% a

35% cifra discretamente superior a la informada por Brasil. Es pertinente hacer notar que es probable que las diferencias en la frecuencia de LPA observadas en México se expliquen por los métodos diagnósticos empleados, por ejemplo, la frecuencia de la LPA será distinto si el diagnóstico de la enfermedad se establece con criterios exclusivamente citomorfológicos que cuando éste se basa en los hallazgos citogenéticos y de biología molecular, en particular en los casos de LPA microgranular.

## **MARCADORES MOLECULARES DE LA LEUCEMIA AGUDA PROMIELOCÍTICA EN LATINOAMÉRICA.**

### **G.J. Ruiz-Argüelles.**

La distribución de los subtipos de leucemias agudas mieloblásticas (LAM) en mestizos mexicanos no se conoce con mucho detalle. Existen algunas publicaciones nacionales que han analizado estos datos (1-6) y que sugieren que algunos tipos de LAM tienen una distribución diferente en mestizos mexicanos en comparación a otros sitios del mundo. Los dos subtipos de LAM que se han descrito como más frecuentes en México son la leucemia aguda promielocítica (LAM-M3) y la leucemia aguda megacarioblástica (LAM-M7). Se describen a continuación algunas de las características de la leucemia aguda promielocítica en Latinoamérica.

El Dr. Dan Douer y sus colaboradores, en Los Angeles, California, en el año 2003 fue quien observó que los pacientes mexicanos y latinoamericanos tenían una mayor prevalencia de LAM-M3 (7). Los datos de Douer fueron rápidamente confirmados en México tanto en estudios regionales (3, 5-6) como en estudios multicéntricos nacionales (4); la prevalencia aumentada de la LAM-M3 se observó también en varios países latinoamericanos en los que el mestizaje ha sido muy importante. Existe información que indica que en México, la LAM-M3 representa alrededor del 20-25% de las LAM, cifra significativamente mayor que la observada en

caucásicos, en quienes la proporción es de 10% aproximadamente. Para intentar aclarar la causa de estas diferencias, se han hecho estudios sobre los tipos de región de fractura del gen quimérico PML/RAR alfa y se ha encontrado que en México, la proporción de pacientes con el subtipo bcr1 del PML/RARalfa es significativamente mayor que en caucásicos y, de manera interesante, similar a la observada en asiáticos, tanto chinos como japoneses (8). El cuadro 1 resume algunas de estas observaciones. Por ello, se ha especulado sobre la posibilidad de que los mestizos mexicanos tengamos genes heredados de nuestros ancestros asiáticos quienes llegaron a América a través del estrecho de Behring hace 12000 años y que nos predisponen a sufrir ciertos tipos de LAM-M3, específicamente aquellos en los que el sitio principal de fractura (bcr) es de tipo bcr1 (8). Esta es una posible explicación de la prevalencia incrementada de LAM-M3 en mestizos mexicanos y otros mestizos de América.

**Cuadro 1**  
**Distribución de los tipos de región de fractura (bcr) del PML / RAR alfa en diferentes poblaciones. Modificado de *Leuk Lymphoma*. 2004;45:1365-8.**  
**n = número de casos estudiados.**

|                       | n   | bcr1 | bcr2 | bcr3 |
|-----------------------|-----|------|------|------|
| Caucásicos            |     |      |      |      |
| Norteamericanos       | 205 | 54%  | 8%   | 37%  |
| Espanoles e italianos | 373 | 50%  | 3.7% | 46%  |
| Italianos             | 43  | 46%  | 2.3% | 49%  |
| Chinos                | 33  | 67%  | 6%   | 27%  |
| Mestizos              |     |      |      |      |
| Latinoamericanos      | 52  | 75%  | 10%  | 15%  |
| Mestizos Mexicanos    | 43  | 63%  | 9%   | 28%  |

## **PROTOCOLO AUSPICIADO POR LA AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY PARA EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA EN PAÍSES EN DESARROLLO.**

**M. A. Sanz.**

Bajo los auspicios del "International Members Committee (IMC)" de la "American Society of Hematology (ASH)", en Diciembre de 2004 se fundó el Consorcio Internacional sobre la Leucemia Promielocítica Aguda (IC-APL). Este proyecto fue concebido para establecer una cooperación entre grupos consolidados de Europa y EEUU con gran experiencia en el campo de la leucemia promielocítica (LPA) con otros países en vías de desarrollo. Por diversas razones de oportunidad se optó, en una primera instancia, por reclamar la colaboración de Brasil, Jordania y México para participar desde un principio en el proceso de creación del IC-APL, con la idea de, una vez creado, permitir la incorporación de otros países que reúnan los requisitos para una eficiente cooperación internacional en el campo de la LPA. Los principales objetivos del IC-APL son: 1) Iniciar estudios clínicos cooperativos de LPA en países en vías de desarrollo; 2) Fomentar el intercambio de información científica entre los grupos participantes; 3) Desarrollar una red internacional sobre el estudio de la LPA; y 4) Promover la disponibilidad de reactivos y fármacos que faciliten el diagnóstico y el tratamiento óptimo de una enfermedad con alto potencial curativo.

Conocidos expertos de EEUU, Europa, Sudamérica, Centroamérica, Oriente Próximo, y Asia han participado activamente en las actividades llevadas a cabo durante un par de años para la puesta a punto del proyecto IC-APL. Finalmente, alcanzado un consenso sobre el protocolo diagnóstico y terapéutico, y tras haberlo sometido a los correspondientes comités éticos para su aprobación, está previsto iniciar el reclutamiento de pacientes en la primavera de 2006. Los diferentes países participantes que integran esta red temática internacional, como es el IC-APL, a su vez estarán constituidos en redes

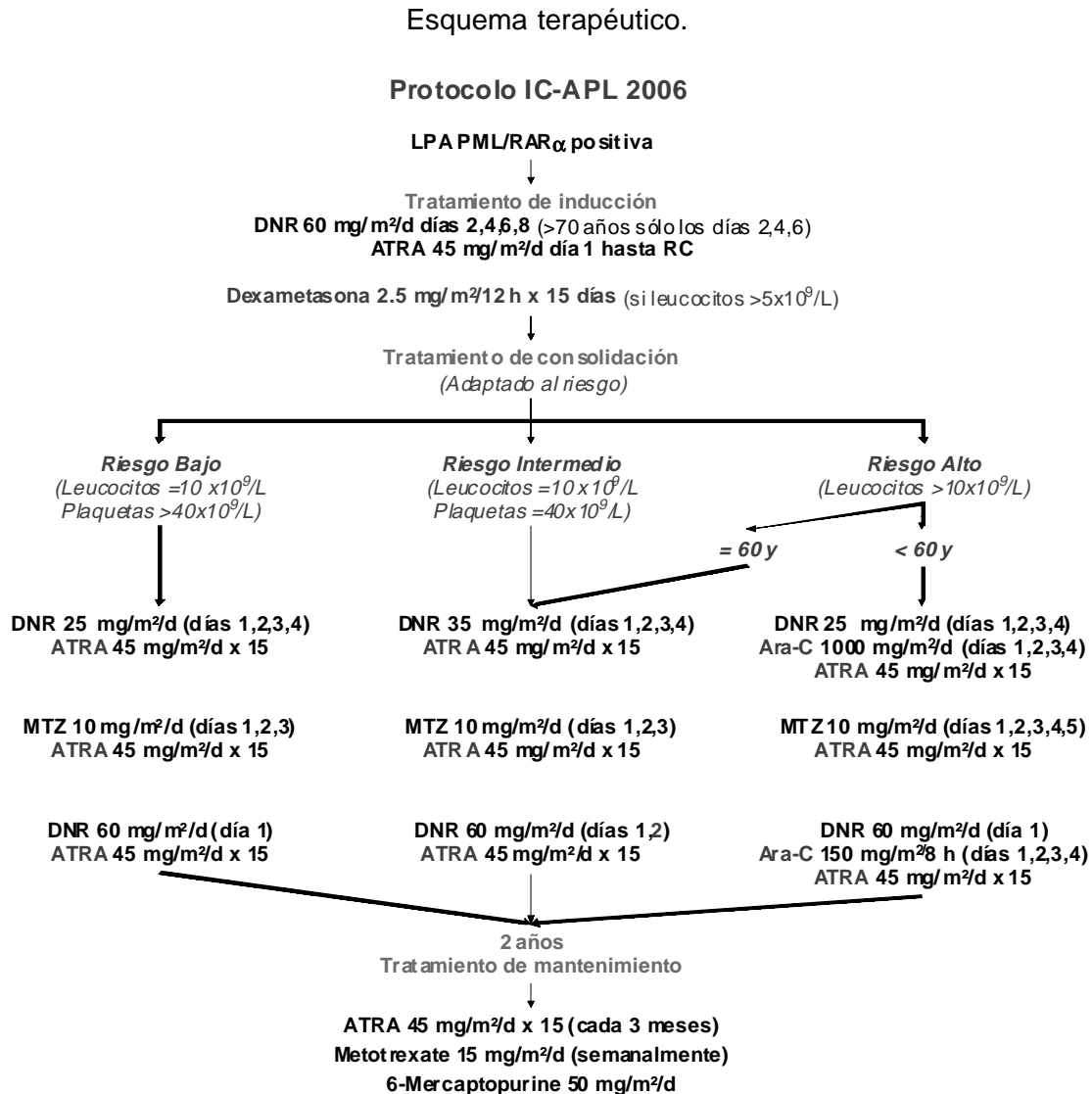
nacionales que facilitarán la integración de diversas instituciones en cada país. Una vez se establezca la bondad de este modelo de cooperación, hasta ahora sin precedentes, está previsto extenderlo a otros países y posiblemente a otras enfermedades.

El protocolo IC-APL 2006 ha sido diseñado para ser llevado a cabo como un estudio multicéntrico, multinacional, no aleatorizado, con el mismo fundamento que el protocolo LPA2005 de los grupos PETHEMA/HOVON actualmente en marcha. El protocolo IC-APL 2006, como el PETHEMA/HOVON APL2005, reúne las principales virtudes que han caracterizado los protocolos del grupo PETHEMA que le han precedido (LPA96 y LPA99) y que han sido ampliamente reportados en la literatura (1-5). El modelo de los estudios

del grupo PETHEMA se consideró que era el que mejor se ajustaba para la cooperación en una red temática multicéntrica multinacional entre países en vías de desarrollo debido a haber demostrado: i) Una eficacia antileucémica alta; ii) Una toxicidad baja, junto a un alto grado de cumplimiento del protocolo; iii) Una aplicabilidad muy simple y un costo bajo; iv) Un funcionamiento exitoso de la que también podría considerarse una red temática emergente, como es la que constituye el propio grupo PETHEMA. De hecho, la actividad de dicho grupo se inició a finales de 1996, con un número muy limitado de instituciones españolas comprometidas en la cooperación, y en la actualidad colaboran más de 90 instituciones de diversos países con diferentes niveles en los cuidados médicos hospitalarios.

#### SINOPSIS DEL ESTUDIO

|  |  |
|--|--|
| Objetivos del estudio                          | Determinar la eficacia antileucémica y la toxicidad de una estrategia adaptada al riesgo en pacientes con LPA tratados con la combinación de ATRA y quimioterapia basada en antraciclinas usando daunorubicina en lugar de idarubicina en el tratamiento de inducción y consolidación, añadiendo citarabina en consolidación para los pacientes de alto riesgo.  |
| Tipo de Pacientes                              | Pacientes con diagnóstico genético de LPA  |
| Diseño del estudio                             | Estudio prospectivo, multicéntrico, no aleatorizado  |
| Fases y duración del tratamiento               | Tratamiento de inducción con la administración simultánea de ATRA (45 mg/m <sup>2</sup> día hasta la RC) y daunorubicina (60 mg/m <sup>2</sup> días 2, 4, 6 y 8), 3 ciclos mensuales de consolidación con ATRA (45 mg/m <sup>2</sup> días 1-15) y daunorubicina (25 mg/m <sup>2</sup> días 1-4) en el ciclo #1, mitoxantrona (10 mg/m <sup>2</sup> días 1-3) en el ciclo #2 y daunorubicina (60 mg/m <sup>2</sup> día 1) en el ciclo #3. La consolidación fue reforzada para el grupo de pacientes con riesgo intermedio mediante un incremento de la daunorubicina a 35 mg en el ciclo #1 y a 2 días en el ciclo #3. En los pacientes de alto riesgo, la consolidación fue reforzada con la adición de ara-C en los ciclos #1 y #3. Para el tratamiento de mantenimiento, se administrará ATRA intermitente (15 días cada 3 meses) y quimioterapia dosis bajas con methotrexate semanal y 6-mercaptopurina diario durante dos años. |
| Número de pacientes                            | 174-225  |
| Fecha prevista de comienzo                     | Abril 2006   |
| Fecha prevista para finalizar el reclutamiento | Abril 2009   |



Nota: En pacientes con edad <20 años, la dosis de ATRA será reducida a 25 mg/m<sup>2</sup>/día fraccionada en 2 tomas.  
 LPA = leucemia promielocítica aguda; ATRA = all-trans retinoic acid; DNR = daunorubicina; MTZ = mitoxantrene; Ara-C = Citarabina

En definitiva, el protocolo IC-APL 2006 es una adaptación del protocolo PETHEMA/HOVON LPA2005, en el que la idarubicina administrada para el tratamiento de inducción y consolidación ha sido sustituida por daunorubicina (equivalencia, DNR 5 mg igual a IDA 1 mg). Así pues, es una variante del régimen AIDA, que es considerado un estándar terapéutico de más amplia aceptación en el tratamiento de primera línea de la LPA. Los objetivos, criterios de elegibilidad, así como los criterios de tratamiento y evaluación del protocolo IC-APL 2006 permanecen inalterados con

respecto al protocolo PETHEMA/HOVON LPA2005, excepto en que se trata de determinar la eficacia y toxicidad de daunorubicina en lugar de idarubicina.

## REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.

### CRITERIOS ACTUALES DE DIAGNÓSTICO Y PRONÓSTICO EN LEUCEMIA AGUDA DEL ADULTO.

- 1.- Foa R, Vitale A, Chiaretti S, Guarini A. A broad and integrated diagnostic work-up for a modern management of acute lymphoblastic leukemia. *Hematology*, 2005; 10 Suppl 1:55-62.
- 2.- Ching-Hon P. Impact of molecular profiling and cytogenetics in acute lymphoblastic leukemia. *Hematology*, 2005; 10 Suppl 1:176-177.
- 3.- Burnett AK. The treatment of AML: Current status and novel approaches. *Hematology*, 2005; 10 Suppl 1:50-53.
- 4.- Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardman JW, eds. World Health Organization classification of tumors pathology and genetics: tumors of haemathopoietic and lymphoid tissues, Lyon: IARC press, 2001.
- 5.- Gutiérrez RM. Síndromes hematológicos. Su relación con las causas que los producen, México: Ed. Prado, 2006.

### LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA. TRATAMIENTO.

- 1.- Byrd, JC, Ruppert, AS, Mrozek, K, *et al.* Repetitive cycles of high-dose cytarabine benefit patients with acute myeloid leukemia and inv (16)(P13q22) or t(16;16)(p13q22) results from CALGB 8461. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1087.
- 2.- Berman, E, Heller, G, Santorsa, J, *et al.* Results of a randomized trial comparing idarubicin and cytosine arabinoside with daunorubicin and cytosine arabinoside in adult patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia. *Blood* 1991; 77: 1666.
- 3.- Wiernik, PH, Banks, PLC, Case, DC Jr, *et al.* Cytarabine plus idarubicin or daunorubicin as induction and consolidation therapy for previously untreated adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 1992; 79: 313.
- 4.- Rowe, JM, Neuberg, D, Friedenber, W, *et al.* A phase 3 study of three induction regimens and of priming with GM-CSF in older adults with acute myeloid leukemia: a

trial by the Eastern Cooperative Oncology Group. *Blood* 2004; 103: 479.

- 5.- A systematic collaborative overview of randomized trials comparing idarubicin with daunorubicin (or other anthracyclines) as induction therapy for acute myeloid leukemia: AML Collaborative Group. *Br J Haematol* 1998; 103: 100.
- 6.- Bishop, JF, Lowenthal, RM, Joshua, D, *et al* for the Australian Leukemia Study Group. Etoposide in acute nonlymphocytic leukemia. *Blood* 1990; 75: 27.
- 7.- Bishop, JF, Matthews, JP, Young, GA, *et al.* A randomized study of high dose cytarabine in induction in acute myeloid leukemia. *Blood* 1996; 87: 1710.
- 8.- ADE as induction chemotherapy in children and younger adults with acute myeloid leukemia. Results of the Medical Research Council's 10<sup>th</sup> AML trial (MRC AML 10). Adult and childhood leukemia working parties of the Medical Research Council. *Blood* 1997; 89:2311.
- 9.- Hiddemann, W, Kern, W, Heinecke, A, *et al.* Priming with G-CSF in acute myeloid leukemia: Preliminary data of the AMLCG (abstract). *Ann Hematol* 2004; 83 Suppl 1: S53.

### PREVALENCIA DE LA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA (LPA) EN LATINOAMÉRICA.

- Douer D, Preston-Martin S, Chang E, Nichols PW, Watkins KJ, Levine AM. High frequency of acute promyelocytic leukemia among latinos with acute leukemia. *Blood* 1996; 87:308-13.
- Lobato-Mendizabal E, Ruíz-Argüelles GJ, Gómez-Almaguer D, Ganci-Cerrud G, Lozano de la Vega A, Labardini-Méndez J. Tratamiento a largo plazo y factores pronósticos en leucemia aguda mieloblástica del adulto. Experiencia del grupo INNSZ (Puebla-Monterrey-México). *Revista de Investigación Clínica* 1991; 43:215-22.
- Piedras J, López-Karpovitch X, Cárdenas MR. Inmunofenotipos celulares en 97 adultos con leucemia aguda. *Revista de Investigación Clínica* 1997; 49:457-64.
- Ruíz-Argüelles GJ. Promyelocytic leukemia in mexican mestizos. *Blood* 1997; 89:348-9.

## MARCADORES MOLECULARES DE LA LEUCEMIA AGUDA PROMIELOCÍTICA EN LATINOAMÉRICA.

- 1.- Ruiz-Argüelles GJ, Marín-López A, Ruiz-Argüelles A.: Immunologic classification of the acute non-granular leukemias in the city of Puebla, México; Its value in the diagnosis and prognosis. *Rev Invest Clin (Méx)* 39:143-147, 1987.
- 2.- Ruiz-Argüelles GJ, Ruiz-Argüelles A, Pérez-Romano B, López-Martínez B, López-Tapia JD, Lobato-Mendizábal E, Marín-López A.: Immunologic classification of acute leukemia in México according to the First Latinamerican Consensus Conference for immunophenotyping of leukemia. *Cancer Res Ther Control* 1999; 10:163-166.
- 3.- Ruiz-Argüelles GJ.: Promyelocytic leukemia in Mexican mestizos. *Blood* 1997; 89:348-9.
- 4.- Ruiz-Argüelles GJ, Gómez-Almaguer D, Delgado-Lamas JL, Mejía Domínguez AM, Gil-Rondero C, Almaguer-Gaona C, Apreza-Molina MG.: High frequency of acute promyelocytic leukemia in Mexican Mestizos. A multicenter study. *Brit J Haematol* 1998; 102 (Suppl 1):37.
- 5.- Almaguer-Gaona C, Cantú-Rodríguez OG, Hernández-Garza NE, Gómez-Almaguer D.: Leucemia aguda. Observaciones epidemiológicas en el Hospital Universitario de la Universidad Autónoma de Nuevo León. *Medicina Univ* 1998; 1:15.17
- 6.- Piedras J, López-Karpovitch X, Cárdenas MR.: Cellular immunophenotypes in 97 adults with acute leukemia. *Rev Invest Clín Méx* 1997; 49:457-464.
- 7.- Douer D, Santillana S, Ramezani L, Samanez C, Slovak ML., Lee MS, Watkins K, Williams T, Vallejos C. Acute promyelocytic leukemia in patients originating in Latin America is associated with an increased frequency of the bcr1 subtype of the PML/RAR alpha fusion gene. *Brit J Haematol* 2003; 122, 563-570.
- 8.- Ruiz-Argüelles GJ, Garcé-Eisele J, Reyes-Núñez V, Gómez-Rangel JD, Ruiz-Delgado GJ. More on geographic hematology: the breakpoint cluster regions of the PML/RAR alpha fusion gene in Mexican Mestizo patients with promyelocytic leukemia are different from those in Caucasians. *Leuk Lymphoma*. 2004;45:1365-8.

## PROTOCOLO AUSPICIADO POR LA AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY PARA EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA EN PAÍSES EN DESARROLLO.

- Sanz MA, Martín G, Rayón C, *et al*. A modified AIDA protocol with anthracycline-based consolidation results in high antileukemic efficacy and reduced toxicity in newly diagnosed PML/RAR $\alpha$ -positive acute promyelocytic leukemia. *Blood*. 1999;94:3015-3021.
- Sanz MA, Lo Coco F, Martín G, *et al*. Definition of relapse risk and role of non-anthracycline drugs for consolidation in patients with acute promyelocytic leukemia: a joint study of the PETHEMA and GIMEMA cooperative groups. *Blood* 2000; 96: 1247-1253.
- Sanz M, Martín G, Gonzalez M, *et al*. Risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukemia with all-trans-retinoic acid and anthracycline monotherapy: a multicenter study by the PETHEMA group. *Blood*. 2004 ; 103:1237-43.
- Sanz MA, Vellenga E, Rayón C, Díaz-Mediavilla J, Rivas C, Amutio E, Arias J, Debén G, Novo A, Bergua J, de la Serna J, Bueno J, Negri S, Beltrán de Heredia JM, Martín G. All-Trans Retinoic Acid and Anthracycline Monochemotherapy for the Treatment of Elderly Patients with Acute Promyelocytic Leukemia. *Blood* 2004; 104:3490-3493.
- Ortega JJ, Madero L, Martín L, Verdeguer A, García P, Parody R, Fuster J, Molines A, Novo A, Debén G, Rodríguez A, Conde E, de la Serna J, Allegue MJ, Capote FJ, González JD, Bolufer P, González M, Sanz MA. Treatment with all-trans retinoic acid and anthracycline monochemotherapy for children with acute promyelocytic leukemia: A multicenter study by the PETHEMA group. *J Clin Oncol* 2005; 23:7632-7640.

---

## **DIAGNÓSTICO PATOLÓGICO Y POR IMAGEN EN HEMATOLOGÍA.**

### **Capítulo 9**

**Carmen Lome-Maldonado, Carlos Ortiz-Hidalgo, Javier Altamirano-Ley.**

#### **LINFOMAS NO HODGKIN ACTUALIDADES Y RELEVANCIA CLÍNICA DEL DIAGNÓSTICO HEMATOPATOLÓGICO.**

##### **C. Lome- Maldonado**

La clasificación de las neoplasias hemato-poyéticas y del tejido linfoide, de la Organización Mundial de la Salud, (OMS) nació como un proyecto cooperativo, de la Asociación Europea de Hematopatología y de la Sociedad de Hematopatología. El proyecto inició en 1995, y estuvo conformado por un comité constituido por miembros de ambas sociedades, y 10 comités de enfermedades relacionadas, incluyendo entonces una lista de neoplasias mieloides, histiocíticas y linfoides, con descripciones y criterios para su diagnóstico. Esta clasificación de la OMS está basada en la clasificación de REAL "Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasm", originalmente publicada por el Grupo Internacional de estudio de linfomas, en 1994. Aproximadamente 50 patólogos fueron implicados en el proyecto. Esta clasificación representó el primer esfuerzo de realizar un consenso internacional para la clasificación de las neoplasias hematológicas. La clasificación de REAL corresponde a una lista de neoplasias linfoides considerando cada una de ellas como una verdadera entidad con características, clínicas, morfológicas, inmunofenotípicas y genéticas. Cada una de estas características tienen su relevancia propia pero ninguna por si sola debe

considerarse como el estándar de oro para el diagnóstico.

Con el fin de asegurar que la clasificación tuviese utilidad y aplicación clínica el comité organizativo incluyó a un grupo de expertos hematólogos y oncólogos con el fin de aportar elementos clínicos relevantes para la clasificación. Se incluyeron un total de 40 clínicos de todo el mundo.

La clasificación de la OMS para neoplasia hematológicas estratifica las neoplasia inicialmente de acuerdo a su linaje: mieloides, linfoides, histiocíticas/ dendríticas, proliferaciones de mastocitos. Cada categoría o entidad es definida de acuerdo a una combinación de criterios morfológicos, inmunohistoquímicos, genéticos y clínicos. Para cada neoplasia se propone un origen celular que representa un estadio de diferenciación de las células neoplásica que puede verse en algún tejido linfoide.

En el caso de linfomas no Hodgkin, la clasificación reconoce dos categorías principales: neoplasias de células B y neoplasias de células T/NK. Linfomas y leucemias linfoides están incluidas en esta clasificación, dependiendo si la fase tumoral o circulante predomina, pero considerando que representan siempre la misma entidad, así la leucemia linfocítica crónica y el linfoma de linfocitos pequeños son simplemente manifestaciones distintas de la misma neoplasia, igual ocurre en los linfomas linfoblásticos y las leucemias linfoblásticas o en el caso del linfoma de Burkitt.

Entre las proliferaciones de células B y T/NK, dos grupos son reconocidos: neoplasias precursoras correspondientes a estadios tempranos de diferenciación y neoplasias periféricas o maduros correspondientes a estadios más diferenciados.

En el grupo de los linfomas no Hodgkin encontramos un gran número de entidades distintas, todas ellas asociadas con características epidemiológicas, etiológicas, clínicas y respuestas terapéuticas diversas. Uno de los principales objetivos de esta clasificación es definir entidades de acuerdo a su grado histológico o agresividad clínica, sin embargo el grado histológico por sí sólo debe considerarse como un factor pronóstico más, que debe ser aplicado a la entidad específica implicada. Es muy importante que tanto el patólogo como el clínico establezcan una comunicación abierta para cada entidad considerando el espectro o morfológico y el comportamiento clínico para cada una de ellas.

El comité clínico implicado en la clasificación de la OMS consideró que el establecer grupos de comportamiento clínico en estas proliferaciones de acuerdo a su pronóstico no tendría utilidad práctica específica. De tal manera la clasificación de OMS evita las formaciones de estos grupos. En cambio con un enfoque más práctico las proliferaciones de células T/NK y de células B se agrupan de acuerdo a su manifestación clínica más común: predominante diseminada, leucémica, linfomas primarios extra-ganglionares y linfomas predominantemente ganglionares.

Es importante mencionar que cualquier clasificación debe ser periódicamente revisada y actualizada con el fin de incorporar nueva información incluyendo patólogos, clínicos y biólogos moleculares lo cual facilitara el progreso en el entendimiento y tratamiento de estas neoplasias.

Durante las últimas décadas se han producido rápidos adelantos en el conocimiento de la estructura molecular de muchas proteínas y por consiguiente en el reconocimiento de diversas alteraciones de estas proteínas en diferentes enfermedades. De la misma manera el conocimiento de la estructura de los ácidos nucleicos y de la patología genética ha permitido

una clasificación más clara y específica de las enfermedades.

Actualmente existen diversas técnicas especiales de ayuda diagnóstica aplicables para un laboratorio de anatomía patológica, en primer lugar están las técnicas de inmunohistoquímica para la detección de antígenos celulares de superficie, citoplasmáticos y nucleares así como diversas proteínas de la matriz extracelular. Estas técnicas permiten caracterizar de manera más precisa poblaciones celulares y por lo tanto permiten diferenciar una proliferación neoplásica de otra; en el caso de la patología hematológica permitirán clasificar de manera más precisa una determinada proliferación linfoide.

Las técnicas de biología molecular aplicadas al diagnóstico de la enfermedad hematológica constituyen una herramienta de ayuda diagnóstica importante pues aunadas a la morfología, el inmunofenotipo, la citogenética y las características clínicas, definen entidades precisas consideradas actualmente dentro de las clasificaciones actuales OMS (Organización Mundial para la Salud) y REAL (Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasm).

Las técnicas de biología molecular son actualmente también aplicables en el laboratorio de anatomía patológica, principalmente la técnica de hibridación *in situ* para la detección de antígenos vírales y su localización exacta en el tejido. La detección de re-arreglos génicos sobre tejido es también posible, aplicando técnicas relativamente sencillas como la técnica de la reacción de polimerasa en cadena (PCR) esta técnica permite confirmar o eliminar un diagnóstico inicial con un alto grado de sensibilidad y especificidad, sobre todo en lo referente a la enfermedad hematológica<sup>3</sup> en donde también es aplicable para el seguimiento de la enfermedad.

### **Neoplasias maduras (no agresivas) de células B.**

Las neoplasias maduras de células B constituyen 90% de las neoplasias linfoides totales. Corresponden aproximadamente a 4 % de cáncer cada año en la población mundial. Son más comunes en países desarrollados como

Estados Unidos, Australia, Nueva Zelanda y Europa. La incidencia anual varía 15/100,000 en Estados Unidos hasta 1.2/100,000 en china, con rangos intermedios en países de América del Sur, África y Japón. Los tipos más frecuentes son el linfoma folicular y el linfoma difuso de células grandes.

Diferentes agentes infecciosos se han visto asociados en el desarrollo de muchos tipos de proliferaciones linfoides. El virus de Epstein-Barr (VEB), está presente en 100% de casos de linfoma endémico de Burkitt y en 40% de los esporádicos o asociados a HIV, y está claramente involucrado en la patogénesis de la mayoría de los linfomas B originados en estados diversos de inmunosupresión. Otros virus implicados en la patogénesis de estas neoplasias maduras de células B incluyen el herpes virus-8 (HHV8) / herpes virus del sarcoma de Kaposi (KSHV) en el linfoma primario de cavidades serosas o bien relacionado con la enfermedad de Castleman multicéntrica en pacientes infectados con HIV. El virus de hepatitis C asociado a linfoma linfoplasmocítico en pacientes con crioglobulinemia tipo II y con algunos otros linfomas hepáticos o de glándulas salivales. En el caso de las bacterias o respuesta inmune generada por las mismas se han implicado en la patogénesis de linfomas extra ganglionares de la zona marginal derivados del tejido linfoide asociado a mucosas (MALT). Los linfomas gástricos tipo MALT en pacientes infectados con *H. pylori* dependiendo de la respuesta de células T activadas por los antígenos de proliferación de la bacteria, en muchos de estos casos el tratamiento de erradicación provoca la regresión del linfoma en muchos pacientes. De la misma manera B. Bugdorferi a sido implicada en la patogénesis de los linfomas MALT cutáneos y en el caso de los linfomas MALT intestinales o enfermedad inmunoproliferativa del intestino delgado (IPSID) / enfermedad de cadenas pesadas alfa, una mezcla de bacterias intestinales también han sido implicadas.

Desde el punto de vista genético las proliferaciones maduras de células B presentan anomalías genéticas importantes para determinar sus características biológicas y que

permiten establecer un diagnóstico diferencial preciso. Entre las más utilizadas e relevantes podemos mencionar la t(11;14) en el linfomas de células del manto, este tipo de linfoma combina las peores características de un linfoma indolente y las de un linfoma agresivo, es una entidad considerada como clínicamente agresiva con una sobre-vida promedio de sólo 3 años, por lo que es de particular relevancia establecer un diagnóstico preciso y si es posible confirmarlo en bases moleculares. La t(14;18) en el linfoma folicular, la t(8;14) o sus variantes del linfoma de Burkitt. La t(11;18) para el linfoma de MALT, que particularmente difiere de otros tipos de linfomas constituidos por células pequeñas en morfología, inmunohistoquímica e historia natural. Como mencionamos en este campo la investigación abrió las puertas de la relación de la infección por *H. pylori* que puede ser controlada con antibióticos y auto-limitar el proceso linfoproliferativo.

El empleo de anticuerpos monoclonales dirigidos contra antígenos de superficie como CD20 ha ido incrementando su uso complementando a tratamientos previamente establecidos.

### **Neoplasias maduras de células B (Linfomas B agresivos).**

#### **Linfoma/leucemia linfoblástico B.**

Neoplasia de linfoblastos B, que puede cursar de forma exclusivamente leucémica o con formación de masas tumorales en ganglio linfático, hueso, piel u otras localizaciones extra-ganglionares.

**Rasgos clínicos:** La mayoría de los casos se dan en pacientes jóvenes (<20 años) y con presentación leucémica. De forma infrecuente, la enfermedad puede debutar como tumores sólidos, sin compromiso leucémico.

**Morfología:** Los linfoblastos tienen una morfología característica, con tamaño celular intermedio, núcleo redondo o escotado, cromatina fina, nucleolo poco evidente y escaso citoplasma.

**Inmunofenotipo y genotipo:** Tdt+, CD19+, CD79a+, CD20-/+ , CD10+/- , CD34+/- . La demostración de Tdt es crítica en el diagnóstico.

Algunos casos pueden ser CD99+. Un rasgo frecuente es la expresión de marcadores inmunohistoquímicos aberrantes, como CD3 o CD43.

Además de reordenamiento monoclonal del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (IgH), se puede encontrar también reordenamiento en los genes del receptor de células T (TCR). Algunas translocaciones se asocian a cursos clínicos diferentes, y se recomienda incluir esta información en el informe del paciente, así:

Translocaciones afectando el gen *MLL* en 11q23 conllevan un mal pronóstico.

Hiperdiploidía y translocación t(12; 21) (*TEL/AML1*) se asocian a un pronóstico favorable.

Translocación t(9; 22) (*BCR/ABL*) se asocia a pronóstico desfavorable.

Translocación t(1; 19) (*E2A-PBx*), asociada a pronóstico desfavorable.

**Variantes:** Existe un consenso generalizado acerca de que las formas que cursan como tumorales y las leucémicas son sustancialmente la misma enfermedad en diferentes fases o con tropismo por diferentes órganos. No obstante, para evitar confusiones se recomienda mantener la denominación de leucemia para aquellas caracterizadas por presentación leucémica.

La terminología FAB no parece actualmente adecuada, ya que muestra una pobre correlación con el fenotipo, genotipo o manifestaciones clínicas de la enfermedad

### **Linfoma B difuso de células grandes (LBDCG).**

Más que de una entidad precisa se trata de un grupo de linfomas B agresivos, en el que no existen conocimientos precisos que permitan una sub-clasificación de este frecuente grupo de linfomas. Incluye localizaciones ganglionares y extra-ganglionares, enfermedades primarias y secundarias.

**Rasgos clínicos:** Edad > 50 años, aunque pueden verse en niños y adultos jóvenes. Con relativa frecuencia el tumor tiene un estadio clínico limitado, especialmente en los de presentación extra-ganglionar. Enfermedad agresiva, curable

después de tratamiento, con una esperanza de vida a los 5 años cercana al 50% de los pacientes.

**Morfología:** El patrón arquitectural de estos tumores es difuso en la mayoría de los casos, aunque la presencia de algunos nódulos es también posible, siempre que la mayoría del tumor muestre un patrón difuso. La afectación ganglionar puede ser parcial, sinusoidal o ínter folicular.

La citología puede estar compuesta por células tipo centroblasto, inmunoblasto o células grandes pleomórficas. El diagnóstico diferencial con linfomas T siempre requiere estudio inmunofenotípico y molecular. En casos ocasionales pueden mostrar un alto índice proliferativo y patrón en cielo estrellado requiriendo adicionalmente estudio citogenético o molecular para excluir la posibilidad de linfoma de Burkitt. Algunos de estos casos han sido denominados en el pasado como linfomas Burkitt-like, denominación que en la actualidad no es reconocida como categoría diagnóstica por la OMS.

**Inmunofenotipo y genotipo:** Fenotipo B con ocasional ausencia de algún antígeno Pan-B. Expresión de Bcl6 en hasta el 80% de estos casos. La expresión de Bcl2 es más frecuente en los tumores de origen ganglionar. Esta expresión elevada de Bcl2 se asocia además a una menor supervivencia global y especialmente a supervivencia libre de enfermedad más corta. La alta expresión de p53 se ha encontrado asociada, como en otros linfomas, a una pobre respuesta a quimioterapia y supervivencias más cortas. Un alto índice proliferativo aparece, en numerosas series, también asociado a una supervivencia global más corta. No se ha encontrado que la expresión de CD30 guarde relación con ninguna otra característica del tumor.

Puede detectarse translocación de Bcl2 con IgH en un porcentaje aproximado del 20% de casos. Un porcentaje mayor (alrededor del 30%) tiene translocaciones afectando la región 3q27 (Bcl6), con mayor frecuencia en casos con origen extra-ganglionar. Además de translocaciones afectando a Bcl6, otras alteraciones moleculares pueden participar también en la expresión alterada de este proto-oncogen.

Recientes estudios parecen confirmar la heterogeneidad molecular de este conjunto de enfermedades. Así, mediante análisis de expresión génica se han descrito las categorías de LBDCG de tipo “centro germinal” y de tipo “célula B activada”, que parecen diferir en su patogenia y respuesta terapéutica

**Variantes:** Los LBDCG de localización extra-ganglionar, aunque no sean diferenciables morfológicamente de sus contrapartidas ganglionares, deben de identificarse como tales ya que numerosos estudios han confirmado que estos tumores presentan unas características clinicopatológicas dependientes de la localización de la enfermedad. Por ejemplo, la conducta clínica de los tumores que se presenta en la piel es extremadamente indolente, lo cual contrasta con tumores de citología similar que se pueden presentar en el sistema nervioso central.

#### **Linfomas cutáneos de células grandes B.**

Son tumores con muy baja agresividad clínica, en los que aún existe muy escasa documentación acerca de sus características moleculares o fenotípicas. Algunos datos preliminares que muestran que la expresión de Bcl2 es característica de los linfomas B cutáneos de células grande originados en las piernas, con comportamiento más agresivo, esperan su confirmación por parte de otros grupos.

#### **Linfoma B de células grandes gastrointestinal.**

En estos tumores (como en los cutáneos) con frecuencia se observa una transición con un componente de célula pequeña, sugiriendo que algunos de estos tumores derivan de linfomas de bajo grado preexistentes (tipo MALT). También el hecho de que los linfomas de célula grande gastrointestinal compartan la frecuencia de trisomía 3 e inestabilidad de microsatélites propias de linfomas MALT, sugiere un origen compartido para estas neoplasias. Adicionalmente, el origen en tejido linfoide asociado a mucosas puede explicar parcialmente la conducta clínica menos agresiva de muchos de estos casos.

Sin embargo, algunas de las localizaciones que se asocian con formas características de esta enfermedad son reconocidas como entidades diagnósticas por la OMS:

**Mediastínico:** Típicamente es un tumor de adultos jóvenes (más frecuente en mujeres que hombres), con sintomatología clínica derivada de su localización (ocasionalmente síndrome de vena cava superior). Con frecuencia estos tumores tienen una esclerosis fina que abraza y deforma las células neoplásicas, dificultando su reconocimiento. De forma peculiar, se describe la frecuente expresión de CD30, CD23 y proteína MAL1 en este tipo tumoral. La presencia de ganancias del cromosoma 9 y amplificación del oncogén *REL* soporta la existencia de rasgos característicos de esta neoplasia. El curso clínico es estrechamente dependiente del estadio clínico.

#### **Intravascular.**

El linfoma B intravascular tiene una distribución histológica fundamentalmente limitada a la luz de pequeños vasos, sobre todo capilares. Típicamente el tumor afecta vasos del SNC o piel, aunque puede verse en cualquier otra localización extra-ganglionar. Consecuentemente el cuadro clínico que produce es bastante singular, y muy dependiente del órgano afecto. La enfermedad suele tener un curso clínico extremadamente agresivo, agudo, que conduce rápidamente a la muerte. Se observan ocasionalmente casos de similar morfología pero fenotipo T.

#### **Linfoma primario asociado a efusiones.**

Se trata de linfomas más frecuentes en enfermos HIV+, aunque pueden verse también casos en pacientes sin inmunodepresión. Se presentan como derrames en cavidades corporales (con más frecuencia derrame pleural o ascítico). La citología es característica, de tipo plasmablastico. La mayoría de los casos están asociados al virus KSHV y EBV.

**Granulomatosis linfomatoide:** Se trata de un proceso linfoproliferativo angiocéntrico y angiodestructivo, afectando de forma característica al pulmón con una clínica y radiología peculiares, que en la actualidad se reconoce como una forma de linfoma B de células grandes inducido por EBV. Habitualmente tiene una heterogénea composición celular “rico en células T”. También se puede presentar en otras localizaciones extra-ganglionares como riñón, piel, cerebro o tracto gastrointestinal.

**Variante citológicas:** Se pueden identificar en función de la composición celular predominante: centroblástico, inmunoblástico, linfoma B rico en células T e histiocitos, y formas anaplásicas. Algunas variedades morfológicas presentan correlación definida con características clínicas o moleculares de estos tumores. Así la forma de linfoma B rico en células T suele mostrar una presentación clínica diseminada, con frecuente afectación hepatoesplénica. Tumores de citología inmunoblástica tienen un comportamiento más agresivo, mientras que linfomas en los que el tipo citológico está compuesto por células B multilobuladas con frecuencia expresan altos niveles de Bcl2 y derivan de células centrofoliculares. Se han descrito linfomas B de localización intrasinusoidal, con citología tipo inmunoblasto, con expresión de la proteína ALK citoplasmática. No obstante, los intentos de crear una clasificación basada en variedades morfológicas tropiezan con la dificultad de la existencia de formas intermedias y la baja reproducibilidad de la misma.

### Linfoma de Burkitt (LB).

Tumor derivado de células del centro germinal con muy alta fracción de crecimiento secundaria a sobre expresión de *C-MYC* derivada de translocaciones afectando a 8q24. EBV puede encontrarse en un porcentaje variable de casos.

**Rasgos clínicos:** Enfermedad más frecuente en niños y adultos jóvenes, con mayor frecuencia en varones. La forma no endémica suele manifestarse como enfermedad abdominal, con afectación intestinal, mesentérica y en ocasiones genitourinaria. No obstante, la enfermedad puede debutar en ganglio linfático, siendo esta presentación más común en adultos. Los linfomas de Burkitt asociados a inmunodeficiencia (HIV y otros) se manifiestan con mayor frecuencia como enfermedad ganglionar. La mayoría de las leucemias agudas de las denominadas en el pasado como morfología L3 corresponden a linfoma de Burkitt.

**Morfología:** Tumor de frecuente localización extra-ganglionar, con citología cohesiva de tama-

ño medio, contorno nuclear relativamente redondeado, varios nucleolos paramediales, citoplasma basofílico con vacuolas, alto índice mitótico. En ocasiones el origen del tumor se encuentra en centros germinales periféricos al tumor principal. Existen frecuentes variaciones morfológicas de este patrón (citología grande, pleomorfismo, diferenciación plasmocitoide), que hacen frecuentemente necesario el concurso de técnicas de citogenética o moleculares para el diagnóstico.

**Inmunofenotipo y genotipo:** La mayoría de los casos de linfoma de Burkitt tienen un fenotipo CD20+ CD10+ bcl6+ bcl2- Tdt-. La negatividad para bcl2 y Tdt es un criterio exigible en este diagnóstico. En la mayoría de los casos es posible encontrar translocaciones del gen *c-myc* con IgH, lambda o kappa. La detección de la translocación es actualmente relativamente simple empleando técnicas basadas en FISH, y es imprescindible en todos los casos de diagnóstico dudoso por la trascendencia pronóstica y terapéutica del diagnóstico diferencial con otros linfomas agresivos. El punto de ruptura en el gen IgH en los casos endémicos afecta la región J, mientras que en los casos esporádicos la translocación afecta la región *switch*. La presencia de EBV caracteriza los casos endémicos y un porcentaje del 25 al 40% de los asociados con inmunodeficiencia. La presencia de mutaciones somáticas del gen IgH confirma que estos tumores tienen un origen post folicular.

**Variante:** Algunos de los linfomas denominados en el pasado como Burkitt-like, especialmente en niños e inmunodeficientes, deben de ser identificados como linfomas de Burkitt, ya que la conducta clínica, fenotipo y genotipo se superpone por completo con esta enfermedad. La negatividad para bcl2 y una fracción de crecimiento del 100% son criterios necesarios para el diagnóstico de linfoma de Burkitt.

**Diagnóstico diferencial:** Es importante el diagnóstico diferencial con otros linfomas agresivos "no Burkitt" pero que tienen morfología y fenotipo similar, para lo que se hace en ocasiones imprescindible el estudio citogenético. No obstante, debe siempre tenerse en cuenta que la presencia de reordenamientos del gen *C-MYC*

no es exclusiva del Linfoma de Burkitt, ya que puede aparecer también en la transformación agresiva de linfomas de bajo grado o linfomas difusos de células grandes convencionales.

## **LA BIOPSIA DE MÉDULA ÓSEA. INFORME HISTOPATOLÓGICO BÁSICO.**

**C. Ortiz-Hidalgo.**

### **Introducción.**

La biopsia de médula ósea debe de dar información suficiente para que el hematólogo pueda establecer un adecuado manejo del paciente. Los patólogos debe sistematizar lo que vierte en el informe de médula ósea para no pasar por alto ningún elemento morfológico importante para el diagnóstico. En la biopsia de médula ósea se puede evaluar el componente hematopoyético, las trabéculas óseas y la presencia de células metastásicas en pacientes en estadificación de neoplasias.

Además nos puede dar información en el estudio de pacientes con enfermedades por atesoramiento y en la búsqueda de microorganismos en infecciones sistémicas, tal como ocurre en el caso de fiebre de origen desconocido. Es necesario conocer el informe de la sangre periférica y del aspirado y saber la historia clínica del paciente lo más detalladamente posible (edad, sexo, historia de ingesta de medicamentos, etc.). Sin los datos anteriores el patólogo no debe comprometerse a emitir un diagnóstico específico. La mayor parte de las biopsias de médula ósea se obtienen de la cresta ilíaca posterior y superior.

En pacientes adultos generalmente el cilindro obtenido mide 1-2 cm. de longitud. Una biopsia de menos de 1.0 cm debe considerarse como subóptima e informar junto con los hallazgos histológicos el tamaño de la muestra. La biopsia de médula ósea debe de ser fijada en formol amortiguado para asegurar buena morfología celular y conservar los determinantes antigénicos celulares por si son necesarios estudios de inmunohistoquímica.

Es conveniente que además de la tinción tradicional de hematoxilina y eosina se use las tinciones de PAS y de retículo. El PAS nos ayu-

da a evaluar los elementos mieloides, megacariocitos, células plasmáticas ( si producen IgM por ser rica en carbohidratos) y moco en casos de metástasis de adenocarcinomas en cuyo caso se puede optar por comprobar la presencia de moco mediante el azul alciano pH 2.5. El retículo nos ayuda a evaluar la fibrosis (ver tabla II). La tinción de Masson impregna únicamente colágena madura por lo que no podemos evaluar las fibrosis incipientes.

### **Interpretación del corte en parafina de la biopsia de médula ósea.**

El informe de médula ósea debe contener la siguiente información:

#### **1.- Celularidad**

La celularidad esta en relación con la cantidad relativa de grasa y componente hematopoyético. Esta puede ser evaluada con el objetivo de bajo aumento (lupa) del microscopio. La celularidad depende de la edad del paciente. Hasta el primer año de vida, no hay adipocitos en la médula ósea por lo tanto la celularidad es de cerca del 100%. En general, Harstock y col. informaron que durante la primera década de la vida la celularidad es del 79%; en la cuarta década disminuye a 50% y se mantiene relativamente constante hasta los 70 años. En la octava década puede disminuir hasta 15-20%. Es importante conocer que los 2 o 3 espacios intertrabeculares por abajo del hueso cortical son generalmente hipocelulares especialmente en personas ancianas y no es representativo de la celularidad real

#### **2.- Relación mieloide-eritroide.**

Esta se refiere a la proporción relativa del componente granulocítico y eritroide que varía de 2:1 a 3:1. Esto nos da una apreciación inicial sobre la cantidad de estos dos componentes medulares. En las primeras semanas de vida hasta el 70% de las células son de la serie eritroide principalmente proeritroblastos y eritroblastos basófilos por lo que la relación en esta primera etapa de la vida está revertida y es aproximadamente de 1:2. Posteriormente el

componente granulocítico aumenta hasta ser el predominante y la relación se estabiliza 2.5:1.

### 3.- Serie eritroide

Los elementos eritroides generalmente se encuentran distribuidos en grupos (islas hematopoyéticas) en el centro de los espacios intertrabeculares generalmente con relación a vasos sanguíneos. Estos conjuntos eritroides se localizan alrededor de un macrófago que puede ser identificado por medio de la tinción de Perls pues este contiene hierro en su citoplasma. En la médula ósea del neonato los elementos eritroides se encuentran considerablemente aumentados y forman pequeños grupos, dato importante para no malinterpretarlos como metástasis de tumores de células redondas y pequeñas. Los elementos eritroides presentan núcleo hipercromático y un halo perinuclear, características que nos ayuda a diferenciarlos de linfocitos pequeños. Con la tinción de Giemsa se puede identificar la serie eritroide por la basofilia citoplásmica intensa. Se debe de informar si hay maduración normoblástica o megaloblástica. La maduración normoblástica se caracteriza por predominio de policromatófilos y ortocromáticos y las formas menos maduras son escasas o ausentes. En la maduración megaloblástica prevalecen los proeritroblastos y los eritroblastos basófilos, con limitación en la maduración hacia formas ortocromáticas y presentan irregularidad en el tamaño de los eritroblastos.

### 4.- Serie granulocítica.

Los precursores de la serie granulocítica se encuentran distribuidos junto a la superficie del endostio de las trabéculas o alrededor de los vasos sanguíneos y no exceden de 2-3 %. (Un mínimo de 25-30% de blástos se requiere para hacer diagnóstico de leucemia. Los metamielocitos, bandas y segmentados se localizan hacia el centro de la región intertrabecular. Esta imagen de compartimentalización se observa en forma exagerada en la hiperplasia neutrofílica presente en la leucemia granulocítica crónica. La localización de formas inmaduras en el centro de los espacios intertrabeculares (localización anormal de precursores inmaduros) se ve en

casos de leucemias y mielodisplasias. En el estudio citológico de improntas los neutrófilos tienen hasta 5 lóbulos, sin embargo en el corte histológico si se identifican más de tres lóbulos debe considerarse como hipersegmentado. Un aumento en los neutrófilos hipersegmentados es un dato de anemia megaloblástica. LA Mieloperoxidasa identifica el componente mielóide, el CD117 las células cebadas y el CD34 los blástos.

### 5.- Megacariocitos

Los megacariocitos se encuentra distribuidos irregularmente en la médula ósea y se hacen más evidentes con las tinciones de PAS. El megacariocito maduro presenta núcleo polilobulado y citoplasma granular de donde se forman las plaquetas. El número de megacariocitos varía en la médula ósea normal de 7 a 15 por mm<sup>2</sup>. Un milímetro cuadrado es aproximadamente 2 o 3 espacios intertrabeculares. Se considera hiperplasia cuando el numero es mayor de 35 x mm<sup>2</sup>. Los megacariocitos y sus precursores se encuentran distribuidos en la parte central de la médula en ocasiones asociados a sinusoides venosos pero nunca en contacto con trabéculas ni formando grupos. Solamente en médulas óseas mielodisplásicas/mieloproliferativas los megas se encuentran en contacto directo con el hueso. La presencia de grupos de megacariocitos en contacto con las trabéculas debe considerarse como anormal. La emperipolesis (el paso de una célula a través del citoplasma de otra) se ve en megacariocitos y es prominente en trombocitosis reactivas. Es importante mencionar si los megacariocitos presentan datos de displasia como lo es los núcleos múltiples separados, la hiposegmentación y los megacariocitos pequeños (micromegacariocitos). Los megacariocitos pueden identificarse con CD61, antígenos relacionados al Factor VIII, CD41. El CD79a. Que es un marcador para células B, también identifica megas.

### 6.-Otras células.

#### A) Linfocitos

Aproximadamente 10% de las células de la

médula ósea son linfocitos y se encuentran difusamente distribuidos. En la población pediátrica (hasta los tres años de edad) la cuenta de linfocitos puede ser hasta del 40%. La proporción B:T es de 1:3 y la relación CD4:CD8 es de 2:1. En 20% de las biopsias hay agregados linfoides que pueden llegar a tener centros germinales. Estos aumentan con la edad y se presentan habitualmente después de la cuarta década, más frecuente en mujeres que en hombres. Más de cinco agregados linfoides en una biopsia por trucut sugiere proceso neoplásico en vez de reactivo. Puede haber hiperplasia linfoide en médula ósea en artritis reumatoide, hipertiroidismo y anemias hemolíticas.

### **B) Células plasmáticas.**

Aproximadamente las células plasmáticas constituyen alrededor del 2 % de la celularidad. Generalmente se encuentran alrededor de vasos sanguíneos y en ocasiones son positivas para la tinción de PAS y al CD138. Se eleva el número de estas en pacientes con reacciones inmunológicas agudas y crónicas y están particularmente aumentadas en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). En forma global si el número de células plasmáticas excede del 25%, es muy probable que se trate de un proceso neoplásico lo que el estudio con cadenas ligeras kappa y lambda ayudará para el diagnóstico entre reactivo y neoplásico. Además en casos de neoplasias de células plasmáticas estas se agrupan en áreas mayores de 0.2mm ricas en fibras reticulares.

### **C) Células cebadas.**

Estas células son muy escasas pero pueden ser identificadas fácilmente por medio de alguna tinción metacromática, triptasa o CD117. Se encuentran en toda la médula ósea principalmente localizadas en la zona para trabéculas y alrededor de los vasos sanguíneos. Estas pueden aumentar en algunos padecimientos como mastocitosis sistémica, reacciones inmunológicas, y enfermedades linfoproliferativas como es el caso de la macroglobulinemia de Waldenström. Las células cebadas junto con los linfocitos y las células plasmáticas, son par-

te de la población residual en medulas óseas con aplasia medular.

### **D) Eosinófilos**

Por sus característicos gránulos anaranjados refringentes, los eosinófilos son fácilmente identificables. Estos constituyen el 4% de las células de la médula ósea y están aumentados en infecciones por hongos, parásitos, y reacciones de hipersensibilidad, alteraciones mielo y linfoproliferativas y algunos carcinomas metastásicos a médula ósea.

### **7.- Fibras reticulares (fibrosis).**

Un aumento leve o moderado de fibras reticulares en la médula ósea puede ser inespecífico como dato aislado, sin embargo puede orientar hacia algunos tipos de enfermedades hematológicas. Aumento marcado de estas fibras se presentan en diversas neoplasias hematológicas y por lo que no es exclusivo de la metaplasia mieloide agnogenica, policitemia vera o trombocitemia esencial. Fibrosis reticulínica intensa se encuentra en la fase blástica de la leucemia granulocítica crónica, en las leucemias agudas después de quimioterapia, en carcinomas metastásicos a médula ósea y en enfermedades granulomatosas. El esquema más usado para evaluar la fibrosis en médula ósea es el de la escala de Bauermeister que la divide en 5 grados (0, I, II, III y IV). Las fibras reticulares normalmente se encuentran alrededor de los vasos sanguíneos, en el tejido conectivo adyacente a las trabéculas y en los nódulos linfoides. En las áreas que presentan compresión artificial puede dar la falsa impresión de fibrosis. Si se toma una biopsia en un sitio previamente biopsiado, la médula ósea generalmente muestra fibrosis y tejido de granulación sin evidencia de células hematopoyéticas ni tejido adiposo.

### **8) Hemosiderina.**

La hemosiderina se deposita en forma de gránulos refráctiles amarillo café dentro de macrófagos, células endoteliales, fibroblastos y eritrocitos maduros (siderocitos). Gránulos de hemosiderina también se pueden encontrar dentro de precursores eritroides (sideroblastos).

Se cuantifica la hemosiderina por medio de la escala de Krause. La ausencia de hemosiderina es característica de la policitemia vera. Por otro lado el aumento de hemosiderina puede verse en entidades como anemia aplásica, algunos casos de leucemias y transfusiones.

## FUNDAMENTOS DE LA TOMOGRAFIA POR EMISION DE POSITRONES Y TOMOGRAFIA MULTICORTE EN HEMATO-ONCOLOGIA.

**J. Altamirano-Ley.**

### Introducción.

La tomografía por emisión de positrones (PET) es la técnica reina de la Medicina Nuclear, que proporciona mapas numéricos de la actividad metabólica de los tejidos sanos y enfermos, de una forma no invasiva previa administración de radiopartículas marcadas. El ciclotrón es el aparato con el que se producen los radioisótopos emisores de positrones, siendo el  $^{18}\text{F}$  (flúor) el más utilizado por su periodo de semidesintegración de 110 minutos. En el Laboratorio de Radioquímica se realiza la síntesis y marcaje de la  $^{18}\text{F}$ -2-deoxi-D-glucosa ( $^{18}\text{F}$ FDG), la cual es un análogo de la glucosa. En el interior de las células la  $^{18}\text{F}$ FDG es fosforilada por efecto de las enzimas hexoquinasa y glucoquinasa pasando a  $^{18}\text{F}$ FDG-6-fosfato, quedando atrapada en el interior de las células. Con el Tomógrafo PET-CT se obtienen imágenes que proporcionan información de índole anatómica, metabólica y funcional. La preparación del paciente incluye: ayuno de seis horas, hidratación con líquidos no azucarados y la determinación de la glucemia. Administración: de un relajante muscular por vía oral, intravenosa del radiofármaco, contraste oral o intravenoso dependiendo del caso. Reposo de 45 a 60 minutos y la posterior exploración tomográfica.

La técnica PET/CT representa un eficaz procedimiento de examen de la totalidad del organismo que permite un diagnóstico preciso tanto de tumores primarios como recurrentes, determina exactamente la extensión de la enfermedad proporcionando así un mejor estadiaje del proceso tumoral y por tanto del tratamiento y por último una

eficaz y rápida predicción de la respuesta al tratamiento elegido, sin tener que esperar a lentos cambios anatómicos en los que se basan otras técnicas convencionales de imagen (1).

La  $^{18}\text{F}$ -FDG se trata de un análogo de la glucosa que habitualmente se sintetiza por el método de Hamacher (2) y mediante módulos automáticos de síntesis (3) que reducen los errores y la exposición a radiaciones del manipulador. Tras ser introducida en el organismo por vía intravenosa, pasa al interior de las células, por difusión pasiva facilitada por proteínas transportadoras cuya actividad se incrementa por efecto de la insulina y la hipoxia (1). La valoración del metabolismo de la  $^{18}\text{F}$ FDG en las imágenes PET se puede realizar a 4 niveles de sofisticación: análisis visual, análisis semicuantitativo, medida indirecta de la tasa metabólica local de glucosa o medida directa de esta misma tasa (4-5). En los estudios clínicos rutinarios se prefiere el análisis visual y el semicuantitativo. Diversas publicaciones lo refieren como una herramienta muy útil para la diferenciación de benignidad malignidad y grado de la misma. El nivel de corte más utilizado para discriminar lesiones benignas de malignas extra cerebrales se define entre los valores de 2.5 a 3.0 en tejidos blandos y de 2.0 a 2.5 en el esqueleto (5-6).

La intensidad de captación de  $^{18}\text{F}$ FDG se ha llegado a proponer como un índice de proliferación celular (7-8), aunque más recientemente se ha relacionado con los cambios en el programa genético anteriormente relacionados y que guardan relación con el grado histológico. La captación de  $^{18}\text{F}$ FDG no es específica de los tejidos tumorales, pues los tejidos normales (como el tejido cerebral) y otros tejidos patológicos no tumorales pueden captar la  $^{18}\text{F}$ FDG, incluso en ocasiones con extraordinaria avidéz. Ello no es un obstáculo para su uso en Oncología, aunque es necesario conocer la posible existencia de falsos positivos (FP) en procesos inflamatorios (9-10).

La técnica PET/CT actualmente está disponible como una herramienta diagnóstica de cuerpo completo para el estudio de los linfomas. Tanto los linfomas de Hodgkin (LH) como los linfomas no Hodgkin (LNH) muestran una marcada captación de  $^{18}\text{F}$ FDG, y existe una relación entre el grado de captación del trazador y la actividad

proliferativa según se demuestra en diversos estudios (11-12).

### **Objetivo.**

Dar a conocer las aplicaciones hematológicas de la PET-CT orientadas hacia el diagnóstico y valoración de enfermedades de alta prevalencia y gran agresividad.

### **Estadificación y re-estadificación.**

La gran capacidad que tiene la PET-FDG en detectar la afección tumoral en cualquier órgano o tejido del organismo de forma muy sencilla y en un tiempo corto hace que sea potencialmente la herramienta ideal tanto para estadificación como re-estadificación de los linfomas, pero además la realización de una PET basal antes de cualquier tratamiento, puede ser muy útil para poder valorar posteriormente la respuesta a la terapia (13). Diferentes autores confirman una gran exactitud diagnóstica de la PET-FDG en la estadificación y re-estadificación de los linfomas, tanto en detección de afectación ganglionar como extraganglionar y la comparan con otras técnicas, principalmente con la tomografía computada (TC), informando cifras de sensibilidad (S) y especificidad (E) muy elevadas, del 83 al 100%, en la mayoría de los estudios por encima del 93%, y superiores en comparación con la TC (18 al 43%) tanto en la estadificación/re-estadificación como en la detección del número de lesiones. La PET demuestra su utilidad tanto en la detección nodal como extranodal y detecta metástasis no sospechadas en un 14-48% de los pacientes, modificando el estadio tumoral en un 10-16% de pacientes (1).

### **Valoración de la respuesta al tratamiento.**

Con la FDG se pueden detectar cambios en el metabolismo tumoral antes de que se produzcan los cambios morfológicos del tumor, por lo que tiene un papel importante en el seguimiento de los pacientes valorando precozmente la respuesta al tratamiento, y en caso de pacientes con bajo nivel de respuesta al tratamiento se podrían utilizar otras terapias alternativas, evitando alta toxicidad, elevado costo y disminución de calidad de vida. Diversos autores (14-15) han encontrado importante reducción en la intensidad de captación de  $^{18}\text{F}$ FDG, del 60 - 67%, pocos días después del

inicio del tratamiento que posteriormente resultó efectivo y antes de que se produjera la reducción macroscópica del tamaño, mientras que en los pacientes que no respondieron adecuadamente a la QT la captación de  $^{18}\text{F}$ FDG persistió sin variaciones significativas. Otros autores (16,17) encuentran S y E del 91% con PET frente a 62% con las demás técnicas en la valoración de la respuesta al tratamiento.

### **Valor pronóstico.**

En diversos trabajos publicados se demuestra una clara relación entre la intensidad de captación de  $^{18}\text{F}$ FDG por el tumor y el pronóstico. Cuando persiste la captación de  $^{18}\text{F}$ FDG tras los momentos precoces del tratamiento, la probabilidad de enfermedad residual es muy alta y el pronóstico es malo. Los pacientes con masa residual tras el tratamiento y PET positiva (evidencia de lesiones) se asocian a un pronóstico peor que los que tienen la PET negativa (sin evidencia de lesiones) (18). Jerusalem y colaboradores (19-20) realizaron estudios PET-FDG en 54 pacientes con LNH para valoración de masa residual tras tratamiento y su valor pronóstico. Los autores concluyen que los pacientes que presentaban diagnóstico positivo se asociaron a un pronóstico peor con supervivencias a un año libre de enfermedad del 0%, y supervivencia global del 50%, mientras que los que tenían diagnóstico negativo presentaban una supervivencia libre de enfermedad del 86%, y la supervivencia del 92%. Mikhaeel (21) compara PET-FDG y TC a 49 pacientes con LNH de alto grado, y encuentra a la técnica PET más efectiva en la valoración de la remisión y predicción de supervivencia libre de enfermedad. Además, realiza PET tras 2-3 ciclos de QT y puede diferenciar precozmente los pacientes que van a responder satisfactoriamente a la QT y que tendrán un buen pronóstico. Así como diagnosticar a los pacientes con respuesta terapéutica no satisfactoria y con peor pronóstico, en los que se puede contemplar anticipadamente un tratamiento alternativo.

### **Detección de enfermedad residual.**

Una vez finalizado un tratamiento clínico, la TC continúa mostrando resultados ambiguos en la detección de tumores residuales en al menos

un 50% de los pacientes sin que pueda distinguir entre masa residual viable y no viable. En cambio la técnica PET-FDG tiene capacidad para diferenciar células metabólicamente hiperactivas, de las que no lo están. En los LH y LNH de alto grado es importante diagnosticar correctamente si la masa residual contiene tejido viable o si es sólo tejido necrótico o fibrosis postratamiento, ya que el pronóstico y manejo del paciente varían sustancialmente en cada caso. La valoración de tumor residual viable tras QT ha sido estudiada por diversos autores (22,19-25) utilizando PET-FDG alcanzando un valor predictivo negativo (VPN) muy elevado. La técnica PET tiene impacto clínico al añadir información adicional en un 10 a un 40% de los pacientes según los diversos estudios y modifica el manejo terapéutico entre un 8 y 34%, como se ha reportado por distintas series (26-29).

### Conclusión.

En los pacientes con linfomas la PET/CT mejora la seguridad de la estadificación inicial, define la respuesta al tratamiento y afina el seguimiento tras finalizarlo; con el objeto de minimizarlo en los pacientes con enfermedad localizada y respondedora, evitando el sobretratamiento y maximizándolo en la enfermedad avanzada y poco respondedora al tratamiento de primera línea. Por lo que ésta tecnología se considera como una herramienta necesaria y de gran utilidad en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con linfomas.

### REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.

#### LINFOMAS NO HODGKIN ACTUALIDADES Y RELEVANCIA CLÍNICA DEL DIAGNÓSTICO HEMATOPATOLÓGICO.

- 1.- Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman J (Eds). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of Haematopoietic and Lymphoid tissues. IARC Press: Lyon, 2001.
- 2.- Anon. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Blood* 1997; 89:3909-18.
- 3.- Armitage JO, Weisenburger DD: New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. Non Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *J Clin Oncol* 1998; 16:2780-95.
- 4.- Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, Lister TA, Bloomfield CD. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting-Airlie House Virginia November 1997. *J Clin Oncol* 1999; 17:3835-49.
- 5.- Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, Delsol G, Wolf-Peeters C, Falini B, Gatter KC. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84:1361-92.
- 6.- Hamilton-Dutoit SJ, Raphael M, Audouin J, Dieold J, Lisse I, Pedersen C, Oksenhendler E, Marelle L, Pallesen G. In situ demonstration of Epstein-Barr virus small RNAs (EBER 1) in acquired immunodeficiency syndrome-related lymphomas: correlation with tumor morphology and primary site. *Blood* 1993; 82:619-24.
- 7.- Gaidano G, Carbone A. AIDS-related lymphomas: from pathogenesis to pathology. *Br J Haematol* 1995; 90:235-243.
- 8.- Gascoyne RD, Adomat SA, Krajewski S, Krajewska M, Horsman DE, Tolchr AW, O'Reilly SE, Hoskins P, Coldman AJ, Reed JC, Connors JM. Prognostic significance of Bcl-2 protein expression and Bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 90:244-51.
- 9.- Gaidano G, Carbone A, Pastore, Capello D, Migliazza A, Gloghini A, Roncella S, Ferrarini M, Saglio G, Dalla-Favera R. Frequent mutation of the 5' noncoding region of the BCL-6 gene in acquired immunodeficiency syndrome-related non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1997; 89:3755-62.
- 10.- Horsman DE, Gascoyne RD, Coupland RW, Coldman AJ, Adomat SA. Comparison of cytogenetic analysis, southern analysis and polymerase chain reaction for the detection of t(14;18) in follicular lymphoma. *Am J Clin Pathol* 1995; 103:472-78.

11.- Issacson PG. Gastrointestinal lymphoma . Hum Pathol 1994; 25:1020-29.

12.- Issacson PG, Dogan A, Price SK, Spencer J. Immunoproliferative small intestinal disease. An immunohistochemical study. Am J Surg Pathol 1999; 13: 1023-33..

13.- Kanavaros P, Gaulard P, Charlotte F, Martin N, Ducos C, Lebezu M, Mason DY: Discordant expression of immunoglobulin and its associated molecule mb-1/ CD79a is frequently found in mediastinal large B cell lymphomas. Am J Pathol 1995; 146:735-41.

14.- Agarwal S, Ramanathan U, Naresh K. Epstein-Barr virus asocciation and ALK gen expression in Anaplastic large cell lymphoma. Human Pathology 2002; 33:146-51.

#### **LA BIOPSIA DE MÉDULA ÓSEA. INFORME HISTOPATOLÓGICO BÁSICO.**

Ortiz-Hidalgo C, Lara Torres CO. Interpretación de la biopsia de médula ósea. El informe histopatológico básico. Patología ( Revista latinoamericana) 2004;42:39-49.

Brown DC, Gatter KC. The bone marrow trephine biopsy: a review of normal histology. Histopathology 1993;22;411-422.

Wilkins BS. Histology of normal haemtopoyesis: Bone marrow Histology Y. J Clin Path 1992;45:645-649.

De Wolf-Peeters C. Bone marrow trephine interpretation: diagnostic utility and potential pitfalls. Histopathology 1991;18:489-493.

#### **FUNDAMENTOS DE LA TOMOGRAFIA POR EMISION DE POSITRONES Y TOMOGRAFIA MULTICORTE EN HEMATO-ONCOLOGIA.**

1.- Altamirano L J, Estrada S G, Carreras D J L. En: PET y PET/CT en oncología. Ed. Intersistemas, ed. 1ra. 2005. México D.F. pp10-200.

2.- Hamacher K, Coenen HH, Stöcklin G. Efficient stereospecific syntesis of no-carrier-added 2-(<sup>18</sup>F)-fluoro-2-deoxy-D-glucose using amino-polyether supported nucleophilic substitution. J Nucl Med 1986; 27: 235-238.

3.- Hamacher K, Blessing G, Nebeling B. Computer-aided synthesis (CAS) of no-carrier added 2-(<sup>18</sup>F)-fluoro-2-deoxyglucose: an efficient automated system for the amino polyether-supported nucleophilic fluorination. Appl J Radiat Isot 1990; 41: 49-65.

4.- Fichman AJ, Alpert NM. FDG-PET in oncology: there's more to it than looking at pictures (Editorial). J Nucl Med 1993; 34: 6-11.

5.- Carreras JL. La Tomografía por Emisión de Positrones en Oncología. Ed. Real Academia Nacional de Medicina. Madrid. 1995. p. p. 25-98.

6.- Haberkorn U, Strauss LG, Dimitrakopoulou A, Engenhardt R, Oberdorfer F, Ostertag H *et al.* PET studies of FDG metabolism in patients with recurrent colorrectal tumors receiving radiotherapy. J Nucl Med 1991; 32: 1485-1490.

7.- Minn H, Joensuu H, Ahonen A, Klemi P. Fluorodeoxyglucose imaging: a method to assess the proliferative activity of human cancer in vivo. Comparison with DNA flow cytometry in head and neck tumors. Cancer 1988; 61:1776-1781.

8.- Slosman DO, Pittet N, Donath A, Polla BS. Fluorodeoxyglucose cell incorporation as an index of cell proliferation: evaluation of accuracy in cell culture. Eur J Nucl Med 1993; 20: 1084-1088.

9.- Haberkorn U, Ziegler SI, Oberdorfer F, Strauss LG, Doll J, Van Kaick G. Relation of FDG uptake to proliferation and the expression of glycolysis-associated genes in animal tumor models (Abstract). J Nucl Med 1994; 35: 220P.

10.- Gámez C, Cabrera A, Sopena R, García MJ. La tomografía por emisión de positrones (PET) en oncología (Parte I). Rev Esp Med Nuclear 2002; 21: 41-60.

11.- Okada J, Yoshikawa K, Itami M, Imaseki K, Uno K, Itami J *et al.* Positron emission tomography using fluorine-18-fluorodeoxyglucose in malignant lymphoma: a comparison with proliferative activity. J Nucl Med 1992; 33:325-329.

12.- Lapela M, Leskinen S, Minn Hr, Lindholm P, Klemi PJ. Increased glucose metabolism in untreated non-Hodgkin s lymphoma: a study with positron emission tomography and fluorine-18-fluorodeoxyglucose. Blood 1995; 86:3522-3527.

- 13.- Schoder H, Meta J, Yap C, Ariannejad M, Rao J, Phelps ME *et al.* Effect of whole-body (18)F-FDG PET imaging on clinical staging and management of patients with malignant lymphoma. *J Nucl Med* 2001; 42:1139-1143.
- 14.- Hoekstra OS, Ossenkoppele GL, Golding R, van Lingen A, Visser GW. Early treatment response in malignant lymphoma, as determined by planar fluorine-18-fluorodeoxyglucose scintigraphy. *J Nucl Med* 1993; 34:1706-1710.
- 15.- Romer W, Hanauske AR, Ziegler S, Thodtmann R, Weber W, Fuchs C. Positron emission tomography in non-Hodgkin's lymphoma: assessment of chemotherapy with fluorodeoxyglucose. *Blood* 1998; 91:4464-4471.
- 16.- Hueltenschmidt B, Sautter-Bihl ML, Lang O, Maul FD, Fischer J, Mergenthaler HG *et al.* Whole body positron emission tomography in the treatment of Hodgkin disease. *Cancer* 2001; 91:302-310.
- 17.- Lang O, Bihl H, Hultenschmidt B, Sautter-Bihl ML. Clinical relevance of positron emission tomography (PET) in treatment control and relapse of Hodgkin's disease. *Strahlenther Onkol* 2001; 177:138-144.
- 18.- Spaepen K, Stroobants S, Dupont P, Van Steenweghen S, Thomas J, Vandenberghe P *et al.* Prognostic value of positron emission tomography (PET) with fluorine-18 fluorodeoxyglucose (18F-FDG) after first-line chemotherapy in non-Hodgkin's lymphoma: is (19F)FDG-PET a valid alternative to conventional diagnostic methods? *J Clin Oncol* 2001; 19:414-419.
- 19.- Jerusalem G, Beguin Y, Fassotte MF, Najjar F, Paulus P, Rigo P *et al.* Persistent tumor 18F-FDG uptake after a few cycles of polychemotherapy is predictive of treatment failures in non-Hodgkin's lymphoma. *J Nucl Med Haematologica* 2000; 85:613-618.
- 20.- Jerusalem G, Beguin Y, Fassotte M, Najjar F, Paulus P. Whole-body positron emission tomography using 18F-fluorodeoxyglucose for posttreatment evaluation in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma has higher diagnostic and prognostic value than classical computed tomography scan imaging. *Blood* 1999; 94:429-433.
- 21.- Mikhaeel NG, Timothy AR, Hain SF, O Doherty MJ. 18-FDG-PET for the assessment of residual masses on CT following treatment of lymphomas. *Ann Oncol* 2000; 11(Suppl 1):147-150.
- 22.- Zinzani PL, Magagnoli M, Chierichetti F. The role of positron emission tomography (PET) in the management of lymphoma patients. *Ann Oncol* 1999; 10:1181-1184.
- 23.- Bangerter M, Moog F, Griesshammer M, Elsner K, Kotzerke J, Heimpel H *et al.* Role of whole body FDG\_PET imaging in predicting relapse of malignant lymphoma in patients with residual masses after treatment. *Radiography* 1999; 5:155-163.
- 24.- Cremerius U, Fabry U, Neuerburg J, Zimny M, Bares R, Osieka R, Bull U. Prognostic significance of positron emission tomography using fluorine-18-fluorodeoxyglucose in patients treated for malignant lymphoma. *Nuklearmedizin* 2001; 40:23-30.
- 25.- Cremerius U, Fabry U, Kroll U, Zimny M, Neuerburg J. Clinical value of FDG PET for therapy monitoring of malignant lymphoma results of a prospective study in 72 patients. *Nuklearmedizin* 1999; 38:24-30.
- 26.- Valk PE, Pounds TR, Wokow HB. PET-FDG whole-body imaging in staging Hodgkin's disease: comparison to conventional imaging. *J Nucl Med* 1995; 36:199P.
- 27.- Partridge S, Timothy A, O Doherty MJ, Hain SF, Rankin S. 2-Fluorine-18-fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography in the pretreatment staging of Hodgkin's disease: influence on patient management in a single institution. *Ann Oncol* 2000; 11:1273-1279.
- 28.- Shah N, Hoskin P, McMillan A, Gibson P, Lowe J. The impact of FDG positron emission tomography imaging on the management of lymphomas. *Br J Radiol* 2000; 73:482-487.
- 29.- Yap CS, Valk P, Ariannejad M, Seltzer MA, Phelps ME, Gambhir SS; Czernin J. FDG-PET influences the clinical management of lymphoma patients. *J Nucl Med* 2000; 41:70p.

# MIELOMA MÚLTIPLE.

## Capítulo 10

Jorge Vela- Ojeda, José Clemente Díaz-Maqueo, Miriam A. García Ruiz Esparza

### INTRODUCCIÓN.

#### J. Vela-Ojeda.

Es de suma importancia conocer los aspectos históricos tan interesantes de esta enfermedad. Existen excelentes revisiones históricas, la mayoría de ellas realizadas por el Dr. Robert Kyle, sin embargo, el Dr. José Clemente Díaz Maqueo (quien además de ser un excelente hematólogo, es un experto en historia y filosofía de la medicina, bioética y teología) ha realizado recientemente una exhaustiva revisión del tema, la cual presentará en este capítulo.

Sin duda alguna la inmunología es una ciencia de importancia capital en la medicina, pues al conocerla, se puede entender la fisiopatología de la mayoría de las enfermedades en hematología. El Dr. Jorge Vela Ojeda abordará algunos aspectos inmunológicos importantes de esta enfermedad, sobre todo referentes a la inmunología celular.

En los últimos años han ocurrido importantes avances en la investigación del cáncer, sobre todo en las enfermedades onco-hematológicas, y muy especialmente en el mieloma múltiple (MM).

El paradigma que anteriormente se conocía como una enfermedad devastadora e incurable, hoy en día ha cambiado, pues existe evidencia de que con el trasplante de células hematopoyéticas, en sus variedades doble trasplante autólogo o autólogo/alogénico, cuando menos el 20-30% de los pacientes se encuentran vivos y sin actividad de la enfermedad a largo plazo (1). Sin duda alguna con el advenimiento

de la talidomida se ha modificado la forma de tratamiento inicial y de la recaída de esta enfermedad, sin embargo, es necesario aprender a manejar esta droga para así poder evitar sus efectos adversos (2).

Sin duda alguna, el presente y el futuro en esta enfermedad son alentadores, pues con nuevas drogas como bortezomib y lenalidomide, sobre todo cuando estas se utilizan en etapas tempranas de la enfermedad, seguramente aumentará la proporción de pacientes vivos a largo plazo y tal vez estos medicamentos sustituirán al trasplante como el tratamiento de elección de primera línea en estos pacientes (3,4).

### HISTORIA DEL MIELOMA MÚLTIPLE.

#### J. C. Díaz-Maqueo.

Gracias a la paleopatología se ha descubierto que es una enfermedad que ha afligido a la humanidad desde remotas épocas. La evidencia esquelética más antigua conocida de su existencia se ha obtenido de los estudios de las momias egipcias (1).

Los dos primeros pacientes de la literatura moderna fueron descritos por el Dr. Samuel Solly, quien le asignó el nombre de "*mollities ossium*" (2). El primero, publicado en 1845, nos relata el caso Thomas Alexander McBean, de 44 años, que fue atendido en Londres por el Dr. William Macintyre. El segundo correspondió a Sarah Newbury, de 39 años. Para obtener una

información precisa y detallada de estos casos remito al lector al excelente trabajo del Dr. Kyle (3) recientemente publicado en el *British Journal of Haematology*.

El Dr. Henry Bence Jones estudió especímenes de orina proporcionados por los Dres. Macintyre y Watson (éste último asesoró al primero en el tratamiento del Sr. McBean) y describió las llamadas proteínas de Bence Jones (4). El mismo caso del Sr. McBean da lugar a otra publicación en la que el Dr. John Dalrymple informa sus hallazgos detectados en los huesos y presenta unos dibujos de las células encontradas en estos, que sin duda corresponden a plasmocitos (5).

En 1873, Rustizky describió otro paciente y utilizó por primera vez el término MIELOMA MULTIPLE para resaltar las variadas lesiones óseas que estaban presentes (6). En 1889 Otto Kahler estudió el caso de un médico y publicó una revisión sobre la enfermedad que se dio a conocer como “Enfermedad de Kahler” (7), pues este esfuerzo, según las opiniones de la época, opacó al que describió el primer caso y al que acuñó el nombre de la enfermedad. Sin embargo, los italianos le suelen llamar “enfermedad de Bozzolo” (8), en honor de su compatriota Camillo Bozzolo (1845-1920).

Los informes aislados de casos se fueron haciendo más frecuentes y el primer caso publicado en U.S.A. fue el de los Dres. Herrick y Hektoen en 1894 (9). En 1903 Weber asociado con dos colaboradores (10), concluyeron que el sitio de producción de la proteína de BJ era la médula ósea, mencionando que “su presencia era de significado fatal” y que “casi siempre, si no siempre, indicaba que el paciente padecía de mieloma múltiple”. En 1928 Geschikter y Copeland reportaron 13 casos y revisaron los 412 que se habían publicado hasta entonces (11). Bayrd y Heck en 1947, describieron 83 pacientes con demostración histológica de mieloma múltiple y que habían sido atendidos en la Clínica Mayo hasta 1945 (12). El término de “*célula plasmática*” fue utilizado por primera vez (13) por el patólogo alemán Wilhelm von Waldeyer-Hartz (1836–1921). Sin embargo, existe la probabilidad de que lo que describió hayan sido células cebadas

tisulares, siendo hasta 1890, que Ramón y Cajal las describiera con precisión (14). Pero fue James Homer Wrigth (1869-1928) hasta 1900, quien en dos sucesivos artículos (15, 16), publicó sus descubrimientos relacionados con los plasmocitos, demostrando que se encontraban normalmente en la médula ósea y eran las células malignas del mieloma. Él mismo, en 1915, con el Dr. Richard C. Cabot, empezó la publicación de los célebres “*Case Records of the Massachusetts General Hospital*”, en el *Boston Medical and Surgical Journal* que devendría el *New England Journal of Medicine*. Los laboratorios de patología del Mass General llevan su nombre desde 1956. Arinkin, en 1927 (17), destacó la importancia del aspirado de médula ósea en el diagnóstico del mieloma múltiple, y posteriormente, en 1938, Rosenthal y Vogel (18) confirmaron esta aseveración.

Una relación entre las proteínas de BJ y las séricas del mieloma se demostró hasta 1956, gracias a los trabajos de Korngold y Lipari (por cierto la designación de las cadenas ligeras en kappa y lambda se hizo en honor de estos investigadores (19)). Con relación a la hiperglobulinemia, fue reconocida por Perlzweig y cols. hasta 1928, cuando describieron un paciente que tenía de 9 a 11 gr de globulinas (20). En 1939, Longsworth y cols. emplearon la electroforesis en el estudio del mieloma (21) demostrando la existencia del pico monoclonal. Son también dignos de mención los trabajos de Kunkel que demostró que las proteínas monoclonales son producto de los plasmocitos malignos, anormales por su carácter monoclonal, y equivalentes a los anticuerpos normales. Fue este autor, quien en 1968 describió las subclases de las IgG e IgA y descubrió la IgD (22). La crioglobulinemia, que no siempre se encuentra, fue reconocida por Wintrobe y Buell en 1933 (23), aunque el término fue introducido por Lerner y Watson hasta 1947 (24).

El camino en el conocimiento del tratamiento, que se inició años después con el advenimiento de la radioterapia, ha sido más acelerado pero dista mucho de llegar a la meta que todos deseamos. Durante décadas sólo sirvió la radioterapia misma, hasta que Blokhin y cols.,

reportaron resultados exitosos con la mostaza l-fenilalanina (25) – entonces llamada sarcolisina – y en 1962, Bergsagel y cols., del SWOG, informaron que ésta, ahora llamada MELFALÁN, podía inducir remisiones en aproximadamente un tercio de los pacientes con mieloma (26). Finalmente, llegaron múltiples combinaciones medicamentosas, pero el grupo del *Myeloma Trialists' Collaborative Group* demostró, en 1999, que ninguna de ellas era superior a la combinación de Melfalán / Prednisona (27). Ahora se cuenta con múltiples recursos como, el trióxido de arsénico, el bortezomib, las autovacunas, el ATRA y hasta el interferón alfa, asociados a terapias de apoyo como los bisfosfonatos.

Ha sido decepcionante tratar de recopilar información histórica sobre esta enfermedad en México y Latino América. No pude detectar el informe del primer caso ni el primer artículo publicado. Sólo puedo referir algunas revisiones como la de mi grupo de trabajo (28) y la del grupo del Dr. Ruiz Argüelles (29) y mencionar que el Dr. Sánchez Medal menciona algo del tratamiento paliativo en su trabajo sobre androstanos en hematología (30).

## LA RESPUESTA INMUNE EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE.

**J. Vela-Ojeda, M.A. García-Ruiz Esparza.**

El mieloma múltiple (MM) es una gamopatía monoclonal maligna caracterizada por producir alteraciones de la respuesta inmune tanto a nivel humoral como celular, lo cual ocasiona que los pacientes tengan una mayor predisposición a infecciones y a una respuesta antitumoral defectuosa.

### **Respuesta antitumoral en mieloma múltiple.**

Una respuesta inmune antitumoral adecuada depende de la correcta detección de las células tumorales y de la habilidad de provocar una respuesta efectiva por parte del sistema inmune del individuo. En los pacientes con MM ninguna de estas dos condiciones se cumple, debido a

que existen alteraciones fenotípicas y funcionales en linfocitos B, linfocitos T, macrófagos y células NK/LAK.

### **Linfocitos B en mieloma múltiple.**

Las poblaciones de linfocitos B y pre-B se encuentran disminuidas (1) y más aún, los monocitos de los pacientes con MM inhiben la producción policlonal de inmunoglobulinas inducida *in vitro* por mitógenos, cuando se cultivan con linfocitos B normales o linfocitos B de pacientes con MM (2), lo cual resulta en reducción de la síntesis de inmunoglobulinas normales, ocasionando hipogamaglobulinemia grave.

### **Linfocitos T en mieloma múltiple.**

Los pacientes con MM tienen inversión del índice CD4/CD8 debido a reducción en el número absoluto y porcentaje de linfocitos CD4+, particularmente la variedad de linfocitos vírgenes CD4+/CD45RA+ (3). Esta disminución celular es más pronunciada en pacientes con enfermedad avanzada y se ha demostrado que los pacientes con cifras de linfocitos CD4+ menores a  $700 \times 10^6/L$ , tienen una menor supervivencia y una mayor probabilidad de recaída.

### **Células NK en mieloma múltiple.**

Se ha demostrado que estas células son capaces de destruir a las células malignas del MM (4), sin embargo, muchos autores han reportado que son anormales en cuanto a número, fenotipo y función en pacientes con enfermedades oncohematológicas (5). Davies y cols. (6) demostraron que la talidomida y sus análogos (IMiDS), especialmente lenalidomida, aumentan el número y función de las células NK, lo cual sugiere que además del efecto directo antimieloma y la potente actividad antiangiogénica de estas drogas, las células NK contribuyen a los beneficios clínicos obtenidos, por lo que actualmente se realizan varios estudios consistentes en la aplicación conjunta de células NK expandidas y talidomida o lenalidomida. Esta última droga es 2000 veces más potente que la talidomida en estimular a las células NK.

### **Células NKT en mieloma múltiple.**

Se ha demostrado que la cantidad y función de las células NKT se encuentran disminuidas en algunas enfermedades autoinmunes, en pacientes trasplantados y alérgicos. Así mismo,

se ha reportado disminución de estas células en la sangre periférica de pacientes con cáncer (7). En los pacientes con MM en recaída o progresión y no así en pacientes con gamopatía monoclonal de significado incierto ni en MM en estadio I, las células NKT son deficientes en la producción de IFN- $\alpha$  inducida por alfa-galactosil-ceramida, lo cual indica una clara relación entre la pérdida en las funciones de estas células y la progresión clínica de la enfermedad (8), por lo que sería interesante, extraerlas y expandirlas en etapas iniciales de la enfermedad, para posteriormente aplicarlas después de la quimioterapia o del trasplante de células hematopoyéticas, como se ha realizado ya en pacientes con otras patologías malignas de células B como la leucemia linfocítica crónica (9).

#### **Células dendríticas (DC) en mieloma múltiple.**

En pacientes con cáncer, las DC tipo 1 y 2 que infiltran el sitio tumoral, expresan un fenotipo inmaduro y sus moléculas de coestimulación son defectuosas, por lo que inhiben la activación de las células T vírgenes y por lo tanto disminuyen la actividad antitumoral de estas últimas (10).

En los pacientes con MM, al igual que el resto de las células inmunológicas, se han detectado defectos funcionales en las células dendríticas, que son en parte responsables de la inmunodeficiencia con que cursan estos enfermos (11).

#### **Células T reguladoras en mieloma múltiple.**

Las células Treg se han encontrado aumentadas tanto en sangre periférica como en los sitios tumorales de pacientes con cáncer (12).

Recientemente, Prabhala y col. (13) reportaron que se encuentran disminuidas en cantidad y en función en pacientes con MM. Estos autores encontraron que las células CD4+CD25+ se encuentran elevadas en pacientes con MM y gamopatía monoclonal de significado incierto, en comparación con personas sanas. Cuando analizaron a las células CD4+CD25<sup>high</sup> la cifra era similar en los tres grupos de individuos, sin embargo, a estudiar a las células CD4+CD25+Foxp3+ se observó que estaban disminuidas en los dos grupos de enfermos. Los autores atribuyen estos defectos

de la función inmune principalmente a IL-6 y TGF- $\beta$ , factores que son capaces de regular a las células Treg.

## **REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.**

### **MIELOMA MÚLTIPLE.**

- 1.- Vela-Ojeda J, Ruiz-Esparza MA. Hematopoietic stem cell transplantation in multiple myeloma. *Rev Invest Clin.* 2005;57(2):305-13.
- 2.- Garcia-Sanz R. Thalidomide in multiple myeloma. *Expert Opin Pharmacother* 2006; 7(2):195-213.
- 3.- Richardson PG, Mitsiades C. Bortezomib: proteasome inhibition as an effective anticancer therapy. *Fut Oncol.* 2005;1(2):161-167.
- 4.- Crane E, List A. Lenalidomide: an immunomodulatory drug. *Fut Oncol.* 2005; 1(5):575-583.

### **HISTORIA DEL MIELOMA MÚLTIPLE.**

- 1.- Salmon SE, Cassady JR. Plasma Cell Neoplasms. En: DeVita VT Jr, Hellman S y Rosenberg SA editores. *CANCER. Principles and Practice of Oncology.* 4<sup>th</sup> Edition. Volume 2. J. B. Lippincot Co. Philadelphia, Penn. 1993. pp 1986.
- 2.- Solly S. Remarks on the Pathology of mollities ossium, with cases. *Med Chir Trans* 1844; 27:435-461.
- 3.- Kyle RA. Multiple Myeloma. An Odyssey of Discovery. *British Journal of Haematology* 2000; 111:1035-1044.
- 4.- Bence Jones H. On a New Substance Occurring in the Urine of a Patient with Mollities and Fragilitas Ossium. *Phil Trans R Soc Lond* 1848; 55:673.
- 5.- Dalrymple J. On the Microscopical Character of Mollities Ossium. *Dublin Q J Med Sci* 1846; 2:85.
- 6.- Rustizky J. Multiple Myeloma. *Deutsch Z Chir* 1873;3:162-172.
- 7.- Kahler O. Zur Symptomatologie des Multiplen Myeloma: Beobachtung von Albuminurie. *Prog Med*

Wochnschr 1889; 14:33-45.

8.- Brighetti A. Kahler-Bozzolo disease (Evolution of knowledge). Policlinico - Sezione Pratica May 22, 1967; 74(21):702-8.

9.- Herrick JB, Hektoen L. Myeloma: report of a case. Medical News 1894; 65:239-242.

10.- Weber EP, Hutchinson R, MacLeod JJR. Multiple myeloma (myelomatosis), with Bence – Jones protein in the urine: (myelopathic, albuminuria of Bradsahw, Kahler's disease). American Journal of Medical Science 1903; 126:644-665.

11.- Geschikter CF, Copeland MM. Multiple Myeloma. Archives of Surgery 1928; 16:807-863.

12.- Bayrd ED, Heck EJ. Multiple myeloma: e review of eighty – three proved cases. Journal of the American Medical Association 1947; 133:147-157.

13.- Waldeyer W. Ueber Bindegewebzellen. Archiv für Microbiologie und Anatomie 1875;11:176-194.

14.- Ramón y Cajal S. Estudios histológicos sobre los tumores epiteliales. Revista de Trimestr Microgr 1896; 1:83.

15.- Wright JH. A case of multiple myeloma. Transactions of the Association of American Physicians 1900; 15:137-147.

16.- Wright JH. A case of multiple myeloma. Johns Hopkins Hospital Report 1900; 9:359-366.

17.- Arinkin MI. Die intravitale Untersuchungsmethodik des Knochenmarks. Folia Haematologie 1929; 38:233-240.

18.- Rosenthal N, Vogel P. Value of the sternal puncture in the diagnosis of multiple myeloma. Journal of Mount Sinai Hospital 1938; 4:1001-1019.

19.- Korngold L, Lipari R. Multiple-myeloma proteins. III. The antigenic relationship of Bence Jones proteins to normal gamma-globulin and multiple-myeloma serum proteins. Cancer 1956; 9:262-272.

20.- Perlzweig WA, Delrue G, Geschikter C. Hyperproteinemia associated with multiple myelomas: report of an unusual case. Journal of the American Medical Association 1928; 90:755-757.

21.- Longsworth LG, Shedlovshy T, Macinnes DA. Electrophoretic patterns normal and pathological human blood serum and plasma. Journal of Experimental Medicine 1939; 70:399-413.

22.- Kunkel HG. The 'abnormality' of myeloma proteins. Cancer Research, 1968; 28:1351-1353.

23.- Wintrobe MM, Buell MV. Hyperproteinemia associated with multiple myeloma, with report of a case in which an extraordinary hyperproteinemia was associated with thrombosis of the retinal veins and symptoms suggesting Raynaud's disease. Bulletin of the Johns Hopkins Hospital 1933; 52:156-165.

24.- Lerner AB, Watson CJ. Studies of cryoglobulins. I. Unusual purpura associated with the presence of a high concentration of cryoglobulin (cold precipitable serum globulin). American Journal of Medical Sciences 1947; 214: 410 – 415.

25.- Blokhin N, Larionov L, Perevodchikova N, Chebotareva L, Merkulova N. Clinical experiences with sarcolysin in neoplastic diseases. Annals of the New York Academy of Sciences 1958; 68:1128-1132.

26.- Bergsagel DE, Griffith KM, Haut A y cols. Evaluation of New Chemotherapeutic Agents in the Treatment of Multiple Myeloma. IV: L-Phenylalanine Mustard (NSC-8806). Cancer Chemother Rep 1962; 21:87-99.

27.- Myeloma Trialists' Collaborative Group. Combination chemotherapy versus melphalan plus prednisone as treatment for multiple myeloma: an overview of 6,633 patients from 27 randomized trials. Journal of Clinical Oncology 1999; 16:3832-3842.

28.- Avilés A, Díaz Maqueo JC, Guzmán R, García EL, Talavera A. Mieloma múltiple. Un análisis retrospectivo de 486 casos. Rev Med IMSS 1990; 28:137-141.

29.- Ruiz-Argüelles GJ. Gómez-Rangel JD. Ruiz-Delgado GJ. Aguilar-Romero L. Multiple myeloma in Mexico: a 20-year experience at a single institution. Archives of Medical Research 2004 Mar-Apr; 35(2):163-7.

30.- Sánchez-Medal L. The hemopoietic action of androstanes. Progress in Hematology 1971; 7:111-136.

## LA RESPUESTA INMUNE EN PACIENTES CON MIELOMA MÚLTIPLE.

1.- Duperray C, Bataille R, Boiron JM, Haagen IA, Cantaloube JF, Zhang XG, Boucheix C, Klein B. No expansion of the pre-B and B-cell compartments in the bone marrow of patients with multiple myeloma. *Cancer Res* 1991; 51:3224-3228.

2.- Peest D, Brunkhorst U, Schedel I, Deicher H. In vitro immunoglobulin production by peripheral blood mononuclear cells from multiple myeloma patients and patients with benign monoclonal gammopathy. Regulation by cell subsets. *Scand J Immunol* 1984; 19:149-157.

3.- San Miguel JF, Gonzalez M, Gascon A, Moro MJ, Hernandez JM, Ortega F, Jimenez R, Guerras L, Romero M, Casanova F, Lymphoid subsets and prognostic factors in multiple myeloma. *Br J Haematol* 1992; 80:305-309.

4.- Frohn C, Hoppner M, Schlenke P, Kirchner H, Koritke P, Luhm J. Anti-myeloma activity of natural killer lymphocytes. *Br J Haematol* 2002; 119:660-664.

5.- Costello RT, Sivori S, Marcenaro E, Lafage-Pochitaloff M, Mozziconacci MJ, Reviron D, Gastaut JA, Pende D, Olive D, Moretta A.. Defective expression and function of natural killer cell triggering receptors in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2002; 99:3661-3667.

6.- Davies FE, Raje N, Hideshima T, Lentzsch S, Young G, Tai YT, Lin B, Podar K, Gupta D, Chauhan D, Treon SP, Richardson PG, Schlossman RL, Morgan GJ, Muller GW, Stirling DI, Anderson KC.. Thalidomide and immunomodulatory derivatives augment natural killer cell cytotoxicity in multiple myeloma. *Blood* 2001; 98:210-216.

7.- Tahir SM, Cheng O, Shaulov A, Koezuka Y, Buble GJ, Wilson SBBalk SP, Exley MA. Loss of IFN- $\gamma$  production by invariant NK T cells in advanced cancer. *J Immunol* 2001; 167:4046-4050.

8.- Dhodapkar MV, Geller MD, Chang DH, Shimizu K, Fujii S, Dhodapkar KM, Krasovsky J. A reversible defect in natural killer T cell function characterizes the progression of premalignant to malignant multiple myeloma. *J Exp Med* 2003; 197:1667-1676.

9.- Guven H, Gilljam M, Chambers BJ, Ljunggren HG, Christensson B, Kimbi E, Dilber MS. Expansion of natural killer (NK) and natural killer-like T (NKT)-cell populations derived from patients with B-chronic lymphocytic leukemia (B-CLL): a potential source for cellular immunotherapy. *Leukemia* 2003; 17:1973-1980.

10.- Chaux P, Favre N, Martin M, Martin F. Tumor-infiltrating dendritic cells are defective in their antigen-presenting function and inducible B7 expression in rats. *Int J Cancer* 1997; 72:619-624.

11.- Brown RD, Pope B, Murray A, Esdale W, Sze DM, Gibson J, Ho PJ, Hart D, Joshua D. Dendritic cells from patients with myeloma are numerically normal but functionally defective as they fail to upregulate CD80 (B7-1) expression after huCD40L stimulation because of inhibition by transforming growth factor-beta 1 and interleukin-10. *Blood* 2001; 98:2992-2998.

12.- Wolf AM, Wolf D, Steurer M, Gastl G, Gunsilius E, Gruberck-Loebstein B. Increase in regulatory T cells in the peripheral blood of cancer patients. *Clin Cancer Res* 2003; 9:606-612.

13.- Prabhala RH, Neri P, Bae JE, Tassone P, Shamma MA, Allam CK, Daley JF, Chauhan D, Blanchard E, Thatte HS, Anderson KC, Munshi NC. Dysfunctional T regulatory cells in multiple myeloma. *Blood* 2006; 107:301-304.

# **EL BANCO DE SANGRE EN EL ESTUDIO DEL TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS.**

## **Capítulo 11**

**Malva Mejía-Arregui, José Luis Alcaraz-López, Julio César Martínez-Álvarez.**

### **ESTUDIOS INMUNOHEMATOLÓGICOS EN TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS.**

**M. Mejía-Arregui, J. L. Alcaraz-López.**

Uno de los aspectos a los que se ha dado mayor relevancia es la documentación del injerto postrasplante y la caracterización del quimerismo. Es de primordial importancia para la salud del paciente trasplantado que las células progenitoras injerten y por ello el clínico sigue puntualmente dicho evento.

Cuando las nuevas células inician su proliferación y toman su nueva casa el paciente se convierte en una quimera. En ese sentido se habla de quimeras mixtas o quimeras completas de acuerdo al origen de las células presentes en el receptor.

Los estudios de quimerismo nos sirven para varios propósitos (1): para comprender mejor los mecanismos de falla o rechazo del injerto, para la evaluación de la recurrencia de la enfermedad de base, para determinar la importancia de las quimeras, conocer los mecanismos de tolerancia y enfermedad injerto contra hospedero, proporciona información acerca de la cinética de injerto en diferentes enfermedades y regímenes de tratamiento.

Tanto la documentación del injerto como los estudios de quimerismo pueden realizarse por varios métodos a saber: determinación de los

antígenos eritrocitarios, persistencia de los anticuerpos contra antígenos del sistema ABO de glóbulos rojos, marcadores citogenéticos, alotipos de inmunoglobulinas, marcadores enzimáticos, tipificación HLA e hibridización *in situ*. Nos referiremos en esta ocasión a los dos primeros que son estudios basados en métodos inmunológicos y que forman parte del estudio inmunohematológico que se realiza del paciente desde que es candidato al trasplante hasta que se trasplanta y como parte de su seguimiento posterior dentro de su protocolo de estudio por el banco de sangre que será uno de los servicios de apoyo durante este evento.

Los antígenos eritrocitarios son una herramienta muy útil y relativamente fácil de estudiar, sin embargo la adecuada interpretación de los fenotipos estudiados implica el conocimiento de los sistemas de grupos sanguíneos que aquí esbozaremos brevemente. Existen 28 sistemas de grupos sanguíneos bien caracterizados y que en conjunto implican más de 300 variantes alélicas, de diferente naturaleza bioquímica y que tienen así mismo diferente antigenicidad.

El cuadro 1 nos muestra los sistemas que con mayor frecuencia nos son de utilidad y las características básicas de los mismos (1, 2). Este hecho se basa tanto en las características bioquímicas de los antígenos, como en el comportamiento de los anticuerpos "*in vivo*" e "*in vitro*" y en la incidencia en la diferencia de alelos

**Cuadro 1**  
**Sistemas de grupos sanguíneos fuera del de mayor utilidad para seguimiento de trasplante por inmunofenotipo (1, 2).**

| Sistema | Número de alelos de estudio más frecuente | Porcentaje de disparidad en binomios de TMO <sup>1</sup> |
|---------|---|--|
| ABO     | 3   | 36   |
| Rh-Hr   | 5 (53)*                                   | 48   |
| MNSs    | 8 (40)*                                   | 62   |
| Duffy   | 2   | 57   |
| Kidd    | 2   | 29   |
| P       | 3   | 18   |
| Kell    | 2 (24)*                                   | 11   |

Sensibilidad de los antígenos eritrocitarios 0.1 a 0.5%<sup>7</sup>

entre la población estudiada, los sistemas con mayores diferencias alélicas nos serán siempre de mayor utilidad para documentar el seguimiento del injerto y las quimeras producidas.

Como sabemos en el sistema ABO existen siempre además de los antígenos respectivos también la presencia de los anticuerpos antitéticos correspondientes por lo que, una de las primeras cosas que hay que establecer es si existe incompatibilidad mayor o menor en el binomio donador-receptor dentro de este sistema. Esta incompatibilidad no constituye contraindicación para el trasplante de medula ósea (TMO) pero debe conocerse por la posibilidad de hemólisis y para planificar el manejo conveniente de la medula ósea, de la cosecha de células progenitoras o los procedimientos

necesarios para disminuir los anticuerpos de sistema ABO en el receptor, según sea el caso. Además porque puede ser una herramienta para el seguimiento del injerto (cuadro 2).

Los sistemas que han resultado más convenientes para seguimiento inmunohematológico de los injertos han sido el Rh-Hr, el Duffy, el, MNSs el Kidd y por supuesto el ABO como podrá observarse en el cuadro 1 en la que se hace referencia a la disparidad de fenotipos que se encuentra en estudio de población sajona, cuanto mayor sea la posibilidad de disparidad será mayor la utilidad que puede tener para seguimiento de trasplante y por eso serán los fenotipos de primera elección para ser estudiados; algunas veces se ha referido en los estudios de los binomios al sistema Lewis, hecho que ha condicionado alguna confusión; cabe destacar que éste es un sistema de antígenos solubles y que cuando se detectan en la superficie de los eritrocitos se trata únicamente de sustancias adsorbidas a la superficie, es por ello que ese sistema no es de utilidad en estos casos.

La población de células estudiadas por fenotipo, que puede detectarse es de 1 a 5% (3) del total, de tal manera que nos ofrece la posibilidad de seguimiento del injerto de una forma relativamente sencilla, siendo de interés detectar aquellos antígenos que se encuentran presentes en el donador y ausentes en el receptor esto fue descrito por Thomas y colaboradores y después modificado por Van Dijk, quien propuso que incluso desde 4 meses antes las transfusiones aplicadas al paciente deberían ser negativas a los antígenos

**Cuadro 2**  
**Estrategias de manejo de incompatibilidad ABO (8).**

| Incompatibilidad Mayor  | Incompatibilidad menor   |
|---|--|
| Remoción ex vivo de eritrocitos de la cosecha de MO o células progenitoras por diferentes técnicas.           | Remoción ex vivo de isohemaglutininas en la cosecha de MO o células progenitoras                           |
| Reducción in vivo de los anticuerpos (ABO) presentes en el receptor por recambio plasmático o inmunoadsorción | Remoción in vivo de eritrocitos incompatibles en el receptor por transfusión o recambio con eritrocitos O. |
| Combinación de depleción de eritrocitos e isoahemaglutininas  |  |

que se usarían como marcadores.

Las complicaciones inmunoematológicas que se han considerado tradicionalmente se refieren básicamente a la hemólisis inmediata o retardada de acuerdo a la incompatibilidad mayor o menor que se presente; sin embargo actualmente se ha documentado que también puede ser causa de que el injerto se retrase particularmente en la serie eritroide llegando en casos graves hasta la aplasia pura de serie roja y también por ello mismo estos pacientes podrán requerir de un soporte transfusional mayor (4, 5). Casi el 20 por ciento de los pacientes con una incompatibilidad mayor presentan un injerto retardado de la serie eritroide, algunos de los pacientes continúan produciendo isohemaglutininas hasta por un año, requiriendo por ello soporte transfusional por mayor tiempo, teniendo menor problema aquellos pacientes con incompatibilidad cruzada; esto ha sido demostrado por diferentes autores incluyendo un estudio multicéntrico con 807 pacientes (4, 6).

Scholl y colaboradores (5) consideran que la situación del sistema ABO en trasplante puede considerarse en 4 categorías: 1) compatibilidad ABO, 2) incompatibilidad menor ABO con posibilidad de hemólisis de los eritrocitos del receptor por isoaglutininas del donador 3) incompatibilidad mayor ABO cuando existen isoaglutininas del receptor contra los eritrocitos trasplantados, 4) incompatibilidad cruzada ABO que combina ambas situaciones de incompatibilidad mayor y menor como en binomio A para B o viceversa. Una vez que el laboratorio de inmunohematología aporta la información que documente el tipo de incompatibilidad se decidirán las estrategias convenientes para el manejo de la incompatibilidad que se resumen en el cuadro 2; no todas las propuestas son idóneas para todos los pacientes, se elegirán aquellas para las que se tengan los recursos y la experiencia disponibles, de acuerdo al tipo de paciente y a la experiencia particular para el logro del mejor resultado. En todos los casos de incompatibilidad a sistema ABO son importantes la determinación del título de anticuerpos en forma basal, durante la preparación y postransplante, el seguimiento del título de anticuerpos de ese sistema, es impor-

tante en la vigilancia de la hemólisis, con las particularidades propias de la incompatibilidad que se presente sea esta mayor o menor; en nuestro caso ha dado buen resultado realizar el seguimiento mencionado semanalmente.

En nuestro servicio hemos observado respecto a los pacientes con aloanticuerpos previos al trasplante que, en la mayoría de los casos el anticuerpo desaparece después del trasplante a excepción de el anti D.

## **ESTUDIOS DE HLA EN EL PACIENTE DE TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS.**

**J.C. Martínez-Álvarez.**

La histocompatibilidad la determinan principalmente los genes del MHC (Major Histocompatibility Complex - Complejo Principal de Histocompatibilidad), conocido como sistema HLA (Human Leucocyte Antigen—Antígenos Leucocitarios Humanos) en el humano, y se localizan en un segmento de 4 mega bases del brazo corto del cromosoma 6 (1). La región HLA comprende 6 principales loci que codifican para proteínas estructuralmente homólogas que son clasificadas en Antígenos HLA clase I (HLA-A, -B y Cw) y clase II (HLA-DR, -DQ y -DP), de acuerdo a la función, distribución tisular y características en la presentación de péptidos a las células T (1-3).

Los antígenos HLA son glicoproteínas de la superficie celular que se caracterizan por un alto grado de polimorfismo alélico dentro de las poblaciones humanas (4-6).

La función biológica de las moléculas HLA es presentar péptidos derivados de patógenos a los linfocitos T citotóxicos CD8<sup>+</sup> y linfocitos T cooperadores CD4<sup>+</sup> (1, 2, 7), a este proceso se le conoce como presentación antigénica – dependiente del MHC. Los complejos péptido-HLA son reconocidos por receptores de células T distribuidos en clonas.

Los receptores de células T (TCR's, T-Cell Receptor) son capaces también de reconocer moléculas HLA alogénicas, de tal forma que el 1-

10% de los linfocitos de sangre periférica de un donador puede responder a un alo-antígeno (8, 9).

La respuesta inmune contra antígenos HLA compatibles representa la principal barrera al trasplante de órganos y de células progenitoras hematopoyéticas (CPH). Estas respuestas pueden ser extremas como en el caso de EICH (Enfermedad Injerto Contra Hospedero) mediada por linfocitos T-citotóxicos alorreactivos después de un trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas, o en el caso de un rechazo agudo mediado por anticuerpos específicos anti-HLA preformados después de un trasplante de órgano.

La correcta y exacta tipificación HLA y el criterio de compatibilidad son los principales factores para el éxito de un trasplante.

A principios de 1980 la clonación molecular de los genes de clase I y II permitió el entendimiento de las bases moleculares de la diversidad del sistema HLA, y para el desarrollo de técnicas de tipificación basadas en el DNA (5).

El trasplante de células de cordón umbilical (CCU) es una opción terapéutica en pacientes pediátricos con trastornos hematológicos, una de las ventajas es su bajo riesgo para desarrollar EICH severo y cierta disparidad HLA entre las CCU y el receptor; sin embargo en adultos el éxito del injerto está condicionado a la dosis celular de CD34<sup>+</sup>, por lo cual es necesario realizar el trasplante utilizando dos unidades de CCU que cumpla con la dosis celular. Una alta dosis de células CD34<sup>+</sup> está asociada a una mejor supervivencia, dosis de CD34<sup>+</sup> menores a  $1.8 \times 10^7$  por Kg de peso o menor a  $1.7 \times 10^5$  CD34<sup>+</sup> células/Kg de peso del receptor tiene un marcado decremento en el éxito del injerto y la supervivencia del receptor (10), aunado a esto, hay que tomar en cuenta la tipificación HLA en baja, mediana y alta resolución, hoy día la mayoría de los centros de trasplante y bancos de CCU, seleccionan unidades de sangre de cordón basado en la tipificación de HLA-A, -B a baja resolución y HLA-DRB1 a alta resolución. En contraste en el trasplante de médula ósea, donde se tiene que realizar la tipificación HLA clase I (A, B y Cw) y HLA clase II (DRB1 y DQB1) en alta resolución

en el donador, con el fin de minimizar el riesgo de dos obstáculos importantes para el éxito del trasplante de CPH, Enfermedad Injerto Contra Hospedero y rechazo del injerto (11).

### **Polimorfismo.**

El polimorfismo del sistema HLA fue inicialmente detectado por técnicas serológicas, utilizando reactivos obtenidos del suero de mujeres multíparas o donadoras de sangre que han recibido múltiples transfusiones.

El MHC ha permanecido a través de la evolución, existe en todos los mamíferos, es el sistema más polimórfico que existe, en el humano, siendo esta su principal característica. Cada molécula del MHC se une solo con un péptido en el "nicho" peptídico, formado por dos dominios,  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  y la cadena  $\beta$  plegada, y sólo permite un péptido de 9 a 11 aminoácidos en los de clase I, y de 10 a 30 aminoácidos los de clase II. Esta zona de unión es la que presenta el mayor polimorfismo, determinado por la especificidad y la afinidad de la unión del antígeno y del reconocimiento de la célula T. En junio de 2002 se habían descrito 1531 alelos, sin embargo esta cifra ha variado considerablemente, siendo hasta enero de 2005 un total de 1814 alelos estudiados y esto se ha logrado con el desarrollo de las técnicas moleculares (12). La página web del *Anthony Nolan Research Institute*, muestra una gráfica muy interesante que ilustra cómo ha evolucionado el estudio y la descripción de los antígenos (técnicas serológicas) y alelos (técnicas moleculares) (13).

El gran polimorfismo en la región HLA proporciona cierta resistencia a las infecciones, los genes del MHC están asociados con la mayoría, si no es que con todas, las condiciones autoinmunes comunes, y esto está dado por el fuerte desequilibrio de enlace en esta región. La causa de enfermedades autoinmunes es desconocida. Lo que si está bien establecido es que existe una estrecha relación entre factores ambientales y genéticos. Diferentes enfermedades están asociadas con las moléculas HLA, por ejemplo DR3 o el haplotipo A1-B8-DR3-DQ2, el cual es conocido como "haplotipo autoinmune", o bien moléculas HLA como DQ6 (DQA1\*0102,

DQB1\*0602) está asociada estrechamente como alelo de susceptibilidad para desarrollar algunas enfermedades (ejemplo narcolepsia y esclerosis múltiple), y algunas otras proveen protección para el desarrollo de otras enfermedades (diabetes tipo 1) (14, 15).

### Nomenclatura del Sistema HLA (basada en la secuencia de nucleótidos).

La estandarización de la nomenclatura de los genes HLA y alelos es llevada a cabo por el Comité de Nomenclatura de la Organización Mundial de la Salud (WHO) para los factores del sistema HLA constituido en 1984. Los primeros antígenos nombrados, fueron determinados serológicamente y se identificaron con el prefijo HLA, seguido del nombre del locus al cual pertenecen y el número asignado por el Comité de Nomenclatura (i.e. HLA-A2, B7, -DR3, etc.). Sin embargo, con el advenimiento de la determinación molecular del HLA el nivel de identificación fue aumentando su complejidad, debido al uso de técnicas moleculares cada vez más avanzadas. Inicialmente, los alelos determinados a nivel molecular también se identificaron con el prefijo HLA seguidos del locus del cual derivan, un asterisco el cual es un separador entre el nombre del locus y la designación del alelo e indicativo de su determinación por métodos moleculares, y un número de cuatro dígitos. Los dos primeros identifican su relación con el antígeno determinado serológicamente, y los dos siguientes el subtipo específico asignado por el Comité de Nomenclatura. El continuo descubrimiento de nuevos alelos secuenciados aumentó la dificultad de mantener la relación entre la secuencia y el perfil serológico del antígeno, es por ello que se decidió aumentar en 1990 un quinto dígito. Este dígito toma en cuenta los alelos que difieren únicamente es sustituciones silenciosas (sinónimas), no codificantes dentro de los exones de un alelo. Otros dos dígitos fueron adicionados en 1995, la introducción de estos dos dígitos, ha permitido nombrar alelos los cuales tienen variación fuera de las regiones expresadas de la secuencia, así como polimorfismo dentro de los intrones y las

secuencias 5' ó 3' que flaquean. En ese mismo año también se introdujo la letra "N" y "L" que indican un alelo no expresado o alelo nulo y baja expresión, respectivamente (Ver cuadro I) (4).

**Cuadro I**  
**Nomenclatura del Sistema HLA.**

| Nomenclatura       | Significado  |
|--------------------|--|
| HLA                | Región HLA y prefijo para un gen HLA                                   |
| HLA-DRB1           | Un locus particular HLA (i.e. DRB1)                                    |
| HLA-DRB1*13        | Un grupo de alelos el cual codifica el antígeno DR13                   |
| HLA-DRB1*1301      | Un alelo específico HLA  |
| HLA-DRB1*1301N     | Un alelo nulo  |
| HLA-DRB1*130102    | Un alelo que difiere por una mutación sinónima                         |
| HLA-DRB1*13010102  | Un alelo que contiene una mutación fuera de la región codificante      |
| HLA-DRB1*13010102N | Un alelo nulo que contiene una mutación fuera de la región codificante |

### REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.

#### ESTUDIOS INMUNOHEMATOLÓGICOS EN TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS.

- 1.- Petz LD. Documentation of engraftment and characterization of chimerism following marrow transplantation in Bone Marrow transplantation Editor Forman SJ., Blume KG., Thomas ED. First. Ed. Blackwell Scientific Publication Boston USA 1994.
- 2.- Brecher ME. Technical Manual. 14<sup>th</sup> ed. Bethesda Maryland USA, 2002.
- 3.- Sniecinski I Management of ABO Incompatibility in allogeneic bone marrow transplantation. In in Bone Marrow transplantation Editor Forman SJ, Blume KG., Thomas ED. First. Ed. Blackwell Scientific Publication Boston USA 1994.
- 4.- Schetelig J, Breitchaft A, Kröger N, Zabelina T, Ebell W, Bornhäuser M, Haack A, Ehninger G, Salama A, Siegert W. After major ABO-mismatched allogeneic hematopoietic progenitor cell transplantation, erythroid

engraftment occurs later in patients with donor blood group A then donor blood group B. *transfusion* 2005; 45: 779-787.

5.- Schol S, Klink A, Múge LO, Schilling K, Höffken K and Sayer HG. Safety and impact of donor-type red blood cell transfusion before allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation with major mismatch. *Transfusion* 2005; 45: 1676-16683.

6.- Bryant E, Martin PJ, Documentation of engraftment and characterization of chimerism followin hematopoietic cell transplantation. In: Bone Marrow transplantation Editor Thomas ED Forman SJ., Blume KG.. 2d . Ed. Blackwell Scientific Publication Boston USA 1999.

7.- Sniecinski IJ, O'Donell MR. Hemolytic complications of hematopoietic cell transplantation. In: : Bone Marrow transplantation Editor Thomas ED Forman SJ., Blume KG.. 2d . Ed. Blackwell Scientific Publication Boston USA 1999.

#### **ESTUDIOS DE HLA EN EL PACIENTE DE TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS.**

1.- Klein J, Sato A. The system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000;343:702-709.

2.- Rhodes DA, Trowsdale J. Genetics and molecular genetics of the MHC. *Rev Immunogenet* 1999;1:21-31.

3.- McCluskey J, Peh CA. the human leucocyte antigens and clinical medicine: an overview. *Rev Immugenet* 1999;1:3-20.

4.- Marsh SG, Bodmer JG, Albert ED, *et al.* Nomenclature for factors of the HLA system, 2002. *Tissue Antigens* 2002;60:407-464.

5.- Mach B. Genetics of histocompatibility. *Curr Opin Hematol* 1994;1:4-11.

6.- Parham P, Ohta T. Population biology of antigen presentation by MHC class I molecules. *Science* 1996;272:67-74.

7.- Germain RN, Margulies DH. The biochemistry and cell biology of antigen processing and presentation. *Annu Rev Immunol* 1993;11:403-450.

8.- Sherman LA, Chattopadhyay S. The molecular basis of allorecognition. *Annu Rev Immunol* 1993;11:385-402.

9.- Warrens AN, Lombardi G, Lechler RI. Presentation and recognition of major and minor histocompatibility antigens. *Transpl Immunol* 1994;2:103-107.

10.- Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, *et al.* Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood* 2005;105:1343-1347.

11.- Kögler G, Enczmann J, Rocha V, *et al.* High-resolution HLA typing by sequencing for HLA-A,-B,-C,-DR,-DQ in 122 unrelated cord blood/patient pair transplants hardly improves long-term clinical outcome. *None marrow Transplantation* 2005;36:1033-1041.

12.- Martínez AJ. El papel del Complejo principal de Histocompatibilidad en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2005;43 (Supl1):S87-S89.

13.- HLA Informatics Group, Anthony Nolan Research Institute. Disponible en . Consultada en agosto de 2005.

14.- Thorsby E, Benedicto A. HLA associated genetic predisposition to autoimmune diseases: Genes involved and possible mechanisms. *Transplant Immunology* 2005; 14:175-182.

15.- Trowsdale J. HLA genomics in the third millennium. *Curr Opin Hematol* 2005;17:498-504.

# TRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS.

## Capítulo 12

Manuel Antonio López-Hernández, Eucario León-Rodríguez, Oscar González-Llano, Julia Palma.

### AUTOTRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS EN CARDIOPATÍA ISQUÉMICA.

**M. A. López-Hernández.**

A partir de la fecundación de un óvulo por un espermatozoide se inicia la segmentación, que comprende las primeras divisiones a partir de la célula resultante inicial. En algunos seres vivos (moluscos, anélidos y otros), desde la segmentación las células originadas tienen un destino fijo e inalterable. En animales más evolucionados las células iniciales, y hasta en épocas tardías, tienen un destino modificable. Al principio la totalidad de posibles destinos de una célula temprana (blastómera), es muy diverso e incluso son capaces de generar, a partir de una sola, un organismo completo. En esta fase se han bautizado como totipotenciales. En los humanos existen durante la segmentación, hasta la etapa de 4 a 8 blastómeras (1). Al proseguir el desarrollo las divisiones continúan y se llega a la etapa de blastocisto, con abundantes células embrionarias situadas en una capa externa, el trofoblasto (implicado en el desarrollo de las membranas fetales) y un acúmulo celular en el interior, llamado masa celular interna (MCI). La MCI, especialmente en su parte superior (epiblasto), tiene células con diversos posibles destinos y capacidades para formar los numerosos tejidos del cuerpo, pero ya no pueden formar un organismo completo; se han denominado pluripotenciales. En poco tiempo

adquieren las conocidas propiedades de autorenovación y diferenciación. Es decir, ahora son células progenitoras embrionarias (CPE) o *stem cells embrionarias*.

Las CPE, puestas en cultivo de tejidos adecuados pueden proliferar y mostrar capacidad para diferenciarse en células ectodérmicas, endodérmicas y mesodérmicas, según numerosas evidencias obtenidas en ratones. También existen varios estudios en que se informa de la diferenciación de CPE humanas, *in vitro*, con diversos tipos celulares resultantes: neuronales (2), productoras de insulina (3), endoteliales (4) y otras. Cuando se han obtenido cardiomiocitos (5, 6) muestran características fenotípicas muy precisas (7) que incluyen propiedades contractiles espontáneas, tinción con anti-miosina cardíaca, anti- $\alpha$  actinina, anti-desmina y antitropomina cardíaca; en la microscopía electrónica se advierte organización miofibrilar. Incluso existe actividad eléctrica extracelular y efecto cronotrópico relacionado con la aplicación de isoproterenol.

En los organismos adultos también hay células progenitoras. Mucho tiempo se aceptó como dogma que, a diferencia de las CPE, sólo podían ser antecesoras de un linaje específico y fijo pero, en los últimos diez años, han aparecido múltiples informes que evidencian su plasticidad. Así, a partir de células progenitoras hematopoyéticas (CPH), en medios de cultivo, se han logrado no sólo descendientes ontogenéticamente muy próximos, como células endote-

liales, cardiomiocitos y músculo estriado; también se informa de células neuroectodérmicas (8) y diferentes tipos de derivados epiteliales. Esta capacidad, ahora reconocida, de cambiar su destino evolutivo tiene como explicación más de un mecanismo (9, 10) entre los que se incluye la posibilidad de que verdaderas CPE persistan, en algunos sitios, por toda la vida postnatal.

La obtención de cardiomiocitos *in vivo*, a partir de células mononucleares de la médula ósea (CMMO), fue estudiada en conejos (11): se provocaron infartos cardiacos, mediante ligadura de la coronaria anterior; las células mononucleares de la médula ósea fueron cultivadas y marcadas con bromodesoxiuridina; dos semanas después del infarto la suspensión de células se inyectó en el miocardio afectado de la mitad de los conejos; en el resto sólo se inyectó el medio acelular. Las mediciones hemodinámicas y electrocardiográficas mostraron recuperación sólo en los animales trasplantados. Se demostró la existencia de cardiomiocitos, originados de las CMMO inoculadas, por la identificación de bromodesoxiuridina mediante anticuerpos monoclonales. Paralelamente se encontró incremento sostenido en los niveles de citocinas angiogénicas (IL-1B y VEGF), que promovieron vascularización local. Hallazgos comparables se han observado en ratones (12).

En los últimos cincuenta años la mortalidad secundaria a infarto agudo del miocardio ha disminuído. Sin embargo, la consecuente necrosis de los cardiomiocitos y su substitución por una cicatriz fibrosa, con pérdida de la función ventricular, es causa de muerte súbita e insuficiencia cardiaca; son motivo del 50% de todas las muertes cardiovasculares y del 40% de los casos de insuficiencia cardíaca (11), a pesar de los procedimientos de revascularización. Las evidencias de que pueden obtenerse cardiomiocitos y endotelio a partir de células progenitoras, de distintas fuentes, ha provocado la expectativa de una nueva terapéutica. En teoría pueden emplearse CPE, obtenidas de sangre del cordón umbilical, CMMO ó células progenitoras hematopoyéticas periféricas (CPHP). La factibilidad de usar CMMO o CPHP del propio paciente evita procedimientos de inmunosupresión al manejar-

se como un autotrasplante celular.

En este contexto existen diferentes estudios clínicos. En algunos se usaron CMMO y fueron introducidas por vía intracoronaria, menos de una semana después de sucedido el infarto (13); en comparación con 10 pacientes controles, que no recibieron las células, se encontró aumento de la perfusión regional y recuperación de la actividad contráctil. Resultados semejantes se obtuvieron con un grupo de 60 pacientes, de los cuales 30 fueron controles, usando CMMO por vía intracoronaria días después del infarto agudo (14).

En otros estudios, con características y resultados semejantes a los anotados, las células se extrajeron de la médula ósea y se obtuvo un concentrado, con la intención de reunir el mayor número posible de células progenitoras mesenquimatosas donde se supone abundan las que originan cardiomiocitos y endotelio, referidas como pobres en CD34, sin CD45 y con elevado c-Kit (12). Una vez que es bien conocido existen células progenitoras hematopoyéticas en la sangre periférica, provenientes de la médula ósea, se planteó la pregunta de si podrían conseguirse resultados comparables a las CMMO, a partir de las CPHP obtenidas por los procedimientos habituales de citaféresis. Ya existían evidencias, en ratones, de la formación de cardiomiocitos y células epiteliales a partir de células CD34+ periféricas (15).

En el año de 2002 se publicaron los resultados de un estudio comparativo (16) en el que se trataron 20 enfermos con infarto al miocardio. Cuatro días después del evento se infundieron por vía intracoronaria CMMO (n=9) o CPHP (n=11). Se presentó mejoría en la fracción de expulsión, en la motilidad del area afectada, reducción en los volúmenes terminales del ventrículo izquierdo, aumento en la contractilidad e incremento en el flujo coronario; estos resultados fueron muy superiores cuando se compararon con controles históricos. No se encontró ninguna diferencia, en los indicadores estudiados, entre los pacientes que recibieron CMMO o CPHP. Posteriormente se informaron resultados idénticos en un grupo de 59 enfermos asignados a ambas ramas (CMMO/CPHP) (17).

El empleo de CMMO o CPHP ha mostrado

su utilidad en el infarto agudo. Una condición diferente es la muerte de los cardiomiocitos, formación de tejido fibroso cicatricial y pérdida de la función ventricular, de evolución progresiva e irreversible, que sigue a los infartos antiguos. En esta condición la aplicación de CMMO ó CPHP a través de un vaso coronario no se ha relacionado con éxitos consistentes, como en el infarto agudo (18). Además, se han informado casos de reestenosis (19). En el CMN "20 de Noviembre", ISSSTE se realizó un estudio con pacientes que habían tenido infarto del miocardio por lo menos un año antes. Se emplearon células CD34 movilizadas con factor estimulante de colonias G; luego de su cosecha fueron aplicadas por punciones múltiples en el área perilesional después de una revascularización convencional. Los pacientes controles sólo fueron revascularizados. Los pacientes que recibieron las células CD34+ mejoraron sus indicadores hemodinámicos y motilidad cardíaca (20). Estos hallazgos indican la posibilidad de mejoría substancial en pacientes cuyo destino es la insuficiencia cardíaca crónica y progresiva.

El tratamiento con células progenitoras, después de un infarto del miocardio, se encuentra en una etapa optimista. No obstante existen muchos aspectos aún no explicados y aún se encuentran informes contradictorios en cuanto al origen de los cardiomiocitos regenerados. Algunos autores piensan que la mejor opción son las CPE una vez que existan facilidades para su empleo (21).

## **MÉDULA ÓSEA ESTIMULADA CON FACTOR ESTIMULADOR DE GRANULOCITOS COMO FUENTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS EN TRASPLANTE ALOGÉNICO.**

### **E. León-Rodríguez.**

Las células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica (CPHSP), movilizadas de la médula ósea mediante el uso de factor estimulador de colonias granulocito (FEC-G), han

substituido a la médula ósea (MO) en los autotrasplantes de CPH para diversas patologías hematológicas y tumores sólidos. Esto se ha basado en la facilidad de su recolección, la obtención de un número mayor de células CD34+ y un injerto más rápido, en comparación con la MO obtenido mediante punciones múltiples de crestas iliacas.

Estudios recientes también han sugerido un injerto más rápido cuando se usan CPHSP en trasplantes alogénicos (TMOA) (1-4). En este tipo de trasplantes una de las complicaciones más graves es la enfermedad de injerto contra huésped (EICH) aguda y crónica. La incidencia de EICH aguda (EICHa) va del 30-50% en las diferentes series publicadas (5,6) y un 30% de los pacientes que sobreviven >100 días después de un TMOA, con donador HLA idéntico, desarrollan EICH crónica (EICHc) (7), complicación que puede evolucionar de una manera crónica y se asocia con una morbilidad y mortalidad significativa.

La dosis de células T infundidas con las CPH al momento del trasplante parecen influir en el desarrollo y gravedad de la EICHc, como se observó en la experiencia de Seattle, al infundir "buffy coat" posterior al TMOA para disminuir el rechazo en pacientes con anemia aplásica grave multitransfundidos (8).

El uso de CPHSP en trasplantes alogénicos, se asocia con una infusión 4-10 veces mayor de células T en comparación con la MO. A este respecto, comparaciones retrospectivas de CPHSP vs. MO han sugerido un incremento en la incidencia de la EICHc extensa (9,10) con el uso de CPHSP, aunque estudios prospectivos aleatorizados han reportado resultados contradictorios (1-4).

Hay escasa información sobre el uso de MO estimulada con FEC-G (MO-E) como fuente de CPH en pacientes trasplantados. Damiani y cols (11) aleatorizaron a 55 pacientes que se sometieron a un trasplante autólogo para diferentes hemopatías malignas, a recibir CPHSP o MO-E (recolección después de 3 días de FEC-G a 16 mg/kg). No se observaron diferencias en el tiempo de recuperación de neutrófilos (11 vs. 12 días) o de plaquetas (11 vs. 13 días). Un segundo estudio aleatorizado en trasplantes

autólogos tampoco encontró diferencias en velocidad de recuperación hematológica (12).

Existe información aún más escasa con el uso de MO-E en trasplantes alogénicos. Isola y cols (13) reportaron su experiencia con el uso de MO-E (10 ug/kg de FEC-G 2 días antes de la recolección de MO) en 10 pacientes sometidos a un TMOA por diversas hemopatías malignas. El acondicionamiento utilizado fue: Ciclofosfamida (120 mg/kg) y Radiación corporal total (RCT) (1,500 cGy) y la profilaxis para EICH fue a base de Ciclosporina (CyA) y Metotrexate (MTX). La recuperación hematológica comparada con controles históricos trasplantados con MO no estimulada mostró una reducción de 9 días para alcanzar cifras de  $> 1,000$  neutrófilos/uL y de 6 días para alcanzar  $>20,000$  plaquetas/ $\mu$ L. Ninguno de los pacientes desarrolló EICH grave (grado II-IV) y 7 pacientes se encontraban vivos y sin enfermedad 49 a 585 días postrasplante al momento de la publicación.

Serody y cols (14) compararon en forma secuencial no aleatoria, 2 grupos de pacientes sometidos a un TMOA por diversas hemopatías malignas, usando MOE o CPHSP. La mediana de días para alcanzar  $>500$  neutrófilos/uL fue de 16 y 17 días ( $p= 0.90$ ) y para alcanzar  $> 20,000$  plaquetas / $\mu$ L 16 y 13 días respectivamente ( $p=0.06$ ). No hubo diferencias en requerimiento transfusionales de paquete globular o plaquetas. El número de células CD34+ fue de 6.6 y 1.6 x  $10^6$ /Kg ( $p= 0.001$ ) y el número de células transfundidas fue de 5.4 x  $10^7$ /Kg y 4 x  $10^6$ /Kg respectivamente ( $p= 0.001$ ). Hubo una franca tendencia a desarrollar más frecuentemente EICHa en el grupo que recibió CPHSP (60%) comparado con el que recibió MO-E (27%) ( $p=0.07$ ). A los 12 meses postrasplante existió un incremento significativo en la incidencia de EICHc en los pacientes trasplantados con CPHSP (68%) comparado con los pacientes trasplantados con MO-E (37%) ( $p= 0.049$ ). No existió diferencia significativa en la supervivencia a 2 años (60% vs. 54% respectivamente ( $P= 0.9$ )).

En el único estudio aleatorizado publicado, Morton y col. (15), del Royal Brisbane Hospital en Australia, compararon dos grupos de pacientes con diversas hemopatías malignas utilizando MO-

E o CPHSP en trasplantes alogénicos. Los esquemas de acondicionamiento utilizados fueron: BUCY (70%), CFM + RCT (18%) y otros (12%). La profilaxis para EICH, que recibieron todos los pacientes, fue a base de CyA y MTX (días +1+, +3+ y +6). La mediana para alcanzar  $> 500$  neutrófilos/uL fue de 16 días para MO-E y de 14 días para CPHSP ( $p <0.1$ ). La mediana de recuperación de plaquetas fue de 14 y 12 días respectivamente ( $p < 0.1$ ). La mediana de paquetes transfundidos fue de 3 y 3 respectivamente ( $p <0.3$ ) y de unidades de plaquetas de 5 y 3 ( $p < 0.1$ ). La incidencia de EICHa grado II-IV fue de 52% en el grupo de MO-E y de 54% en el de CPHSP ( $p <0.6$ ). La incidencia de EICHc fue mayor en pacientes trasplantados con CPHSP (90%) que con MO-E (47%) ( $p <0.02$ ). En el análisis multivariado, la edad  $<45$  años y el uso de CPHSP fueron los únicos factores predictivos para el desarrollo de EICHc extenso. Por otro lado, la duración del tratamiento inmunosupresor fue significativamente más prolongado después de CPHSP (mediana de 680 días) que en el grupo trasplantado con M-E (mediana de 173 días) ( $p <0.009$ ). La supervivencia a 18 meses fue similar en ambos grupos ( $67 \pm 9\%$  y  $64 \pm 9\%$ ) ( $p <0.9$ ).

En el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición (INCMNSZ) desde el año 2000 se ha utilizado como fuente de CPH la MO-E en trasplantes alogénicos. Durante este período se han realizado 15 TMOA en igual número de pacientes (12 hombres 3 mujeres) con diferentes hemopatías malignas (Leucemia Mielocítica Crónica 7 pacientes, SMD 2 pacientes, Leucemia aguda 2 pacientes), utilizando como esquema de acondicionamiento una modificación al esquema BUCY2 (80% de las dosis habituales). La mediana de recuperación de neutrófilos ( $>500$ /uL) fue de 18 días y la de plaquetas ( $> 20,00$ /uL) 17 días. La frecuencia de EICHa fue de 7.6% y la EICHc de 16.6% (generalmente limitado). La supervivencia proyectada a 5 años es de 72%.

Basados en la información previa, se puede concluir que:

a) La recuperación hematológica (velocidad de injerto) después de un trasplante autólogo o alogénico es similar usando MO-E o CPHSP.

b) La incidencia de EICH grado II-IV parece ser similar con ambas fuentes de CPH

c) Existe una menor frecuencia de EICHc con el uso de MO-E, lo que se traduce en una menor duración de tratamientos inmunosupresores

d) La dosis óptima y el esquema de administración de FEC previos a la recolección de MO aún está por determinarse.

## TRASPLANTE DE PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS EN NIÑOS CON SÍNDROMES HISTIOCÍTICOS.

### O. González-Llano.

El desconocimiento de las enfermedades del histiocito puede ser explicado por la baja incidencia de las mismas y por la confusa y cambiante clasificación de estas patologías. Actualmente están separadas en tres categorías, las alteraciones en las células dendríticas donde la histiocitosis de células de Langerhans (HCL) es el mejor ejemplo, los desórdenes en los macrófagos como la linfocitosis hemofagocítica (LH), en cualquiera de sus dos variedades y los trastornos malignos como la leucemia monoclonal aguda. Sin embargo, la HCL y la LH son la que representan un mayor reto diagnóstico, son las más frecuentes entre las primeras dos categorías y además parece también ser un hecho que son subdiagnosticadas. Por otro lado, ambas comparten ciertos datos de su forma de presentación (edad de aparición, fiebre, hepatosplenomegalia, citopenias etc.) y cuenta también cada una de ellas con características distintivas. Es muy importante mencionar además que los pacientes con estas patologías forman parte de la mayoría de las series de trasplantes publicadas, especialmente cuando son incluidos niños menores de dos años de edad.

En los pacientes con HCL, tanto la presentación aguda multiorgánica que aparece usualmente en lactantes y que corresponde a la forma más agresiva de la enfermedad o aquella multifocal pero menos grave en su inicio y resistente a esquemas de quimioterapia intensiva,

son las dos presentaciones en las que el trasplante de precursores hematopoyéticos (TPH) debe estar indicado. Estos pacientes pueden corresponder al 20-30% del total de los pacientes pediátricos con HCL. La limitada información acerca del trasplante en niños con esta enfermedad se inicia en la década de los años noventa, cuando se describían TPH mieloablativos convencionales, con tasas elevadas de mortalidad relacionada al trasplante (MRT). En los últimos años se han reportado resultados favorables en pequeños grupos de pacientes donde se llevaron a cabo TPH, utilizando regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida (RAIR).

Por ser una entidad poco más frecuente y por haber probado también hasta ahora ser la única opción terapéutica curativa, hay mucho más información acerca de la participación del TPH en niños con LH familiar y de manera aún controversial en la variedad secundaria o relacionada a virus. A partir del primer reporte del uso del TPH en LH en 1986, por médicos franceses, se publicaron durante los años noventa diferentes series de trasplantes donde se utilizaron esquemas convencionales de quimioterapia generalmente a base de busulfán, etopósido y ciclofosfamida y siendo la médula ósea la fuente de los precursores hematopoyéticos (PH), obteniendo supervivencias libres de enfermedad a tres años, entre el 40 y 70%, dependiendo del grado de compatibilidad y con la toxicidad relacionada al trasplante propia de estos esquemas de acondicionamiento.

Recientemente se han publicado resultados muy favorables con la administración de RAIR con los que se obtiene una disminución muy importante en la toxicidad aguda del procedimiento y en las secuelas a largo plazo secundarias a la administración de esquemas mieloablativos, considerando que tal vez en estos pacientes la mieloablación por sí misma no juega un papel muy importante en la erradicación de la enfermedad y en donde un quimerismo mixto puede ser suficiente para lograr la curación.

En resumen, los síndromes histiocíticos continúan siendo problemas de difícil diagnóstico tal vez debido al poco conocimiento que se tiene

de ellos y la baja incidencia de los mismos, sin embargo ambas patologías son indicación frecuente de TPH especialmente en lactantes. En la actualidad parece ser razonable considerar para éste tipo de tratamiento regímenes de acondicionamiento menos tóxicos e igualmente efectivos, como por ejemplo los trasplantes con regímenes de acondicionamiento de intensidad reducida.

## **TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA PEDIÁTRICO EN EL SISTEMA PÚBLICO DE SALUD EN CHILE: OCTUBRE 1999-DICIEMBRE 2005.**

**J. Palma.**

### **Introducción.**

El trasplante de precursores hematopoyéticos (TPH), es el tratamiento de elección de algunas patologías oncológicas de alto riesgo y definitivo de una serie de patologías no malignas. Desde 1988 existe en Chile el PINDA (Programa Infantil Nacional de Drogas Antineoplásicas), que tiene una cobertura de casi un 100 % de los pacientes pediátricos del sistema público de salud con una tasa de supervivencia global a 5 años de un 65% (1), lo que es absolutamente comparable con estadísticas internacionales. Este programa, financiado por el Ministerio de Salud, cubre la atención oncológica integral de estos niños y como parte de su desarrollo surgió en 1997 la necesidad de contar con una unidad de trasplante de médula ósea (UTMO). Para ello se elaboró un proyecto que finalmente permitió la construcción, acreditación e inicio de actividades, lo que se concretó en el año 1999 con la apertura de una UTMO en el hospital Luis Calvo Mackenna. Así nació la primera unidad pediátrica de TPH en un hospital del sistema público. El objetivo de esta comunicación es dar a conocer el desarrollo del proyecto, el programa de TPH y resultados de los primeros cinco años de funcionamiento de la unidad.

### **Definición de la magnitud del problema.**

Epidemiológicamente, el cáncer infantil es la primera causa de muerte médica en E.E.U.U. en el niño de 1 a 14 años (2) y la segunda causa de muerte médica en Latinoamérica en los países con mejores índices de desarrollo sanitarios. En Chile ocupa el primer lugar como causa de muerte médica en niños de 5 a 15 años (3). Considerando que el PINDA atiende un promedio de 400 casos nuevos por año, con una cobertura de aproximadamente un 100% de los pacientes del sistema público y con una tasa de curación global de un 65 %. La incorporación de un programa de TPH surgió como una alternativa necesaria para mejorar estos índices, rescatando a los enfermos sin posibilidades de curación mediante quimioterapia convencional. Inicialmente, se hizo un cálculo estimativo del número de pacientes a transplantar, basado en cifras de incidencia de enfermedades oncológicas, hematológicas, metabólicas e inmunodeficiencias congénitas estimándose que alrededor de 60 pacientes pediátricos tendrían indicación de trasplante cada año en Chile.

### **Tipo TPH, fuente de PH y criterios generales de indicación.**

De este número teórico de 60 pacientes por año, se calculó que aproximadamente un 30% tendría un donante emparentado histocompatible; además, se decidió que inicialmente se realizarían sólo trasplantes autólogos y alogénicos de donante relacionado, con lo cual la cifra de pacientes a transplantar sería de aproximadamente 20 casos nuevos por año. Con respecto a la fuente de obtención de los progenitores hematopoyéticos, la sangre periférica (SP) fue considerada la fuente de obtención ideal para trasplantes autólogos, la médula ósea (MO) preferentemente para trasplantes alogénicos y la sangre de cordón umbilical (SCU) en una segunda etapa sólo en casos muy excepcionales. Se planteó que con una actividad mínima de 20 trasplantes anuales, se accederá a la acreditación internacional para la realización de TPH no relacionados de médula ósea y sangre de cordón umbilical. Los criterios generales, para indicar el trasplante, fueron los que se enumeran a conti-

nuación y se basaron en normas internacionales (5): Bajas tasas de curación con quimioterapia no mieloablativas, que la mortalidad esperada con el trasplante no fuera superior a la tasa esperada con quimioterapia. El trasplante de hermano HLA idéntico debía ser la primera opción; se consideró cuidadosamente las ventajas y desventajas de un auto trasplante, y trasplante haploidéntico en cada caso.

#### **Desarrollo del programa de TPH.**

En la génesis del proyecto participaron numerosas instituciones y personas. El concepto y líneas generales fueron fruto de un trabajo mancomunado del ministerio de Salud (MINSAL), a través del PINDA. El financiamiento fue definido por FONASA (Fondo Nacional de Salud). La construcción de la unidad fue planificada y supervisada por la dirección del Hospital Luis Calvo Mackenna (HLCM) y la ayuda de AMICAM (Asociación de Amigos del Calvo Mackenna). Se contó con la asesoría técnica del Hospital St. Jude de Memphis, Tennessee, E.E.U.U. (6), una de las instituciones más importantes en el campo de la oncología infantil a nivel mundial para el entrenamiento de médicos, tecnólogos médicos y enfermeras, incluyendo becas de especialización desde tres meses y hasta un año en E.E.U.U, Brasil y España. Los tres médicos especialistas en trasplante se formaron en el servicio de TMO del hospital Valle de Hebrón de Barcelona España, dirigido por el Doctor Juan José Ortega. Debido a las implicancias académicas del proyecto, especialmente para la formación de médicos especialistas e investigación, se contó con la participación de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Como unidad de apoyo externo en el área de técnicas especializadas de laboratorio no disponibles en el Hospital (Radioterapia, criopreservación, etc.), se firmó un convenio con la Clínica Alemana de Santiago. Se plantearon, elaboraron y cumplieron secuencialmente metas de desarrollo a corto, mediano y largo plazo, que se definen a continuación.

#### **Metas a corto plazo: (hasta diciembre 1998).**

En Junio de 1998 se crea el comité de TMO del PINDA. Las indicaciones de trasplante se definieron de acuerdo a las normas de la Escuela Europea de Hematología (ESH), tomando en cuenta además los protocolos nacionales en uso. Los candidatos a transplantar se evalúan una vez al mes, en el comité. El protocolo de estudio pre trasplante de donante y receptor se realiza de acuerdo a las pautas de registro del IBMR (*International Bone Marrow Registry*). Las pautas de acondicionamiento se normaron de acuerdo a la literatura internacional. La unidad se construyó y equipó con el esfuerzo conjunto del área privada AMICAM y con aporte estatal. Se efectuó la acreditación técnica de la UTMO según normas JACIE (7) (*Joint Accreditation Comitee of Ishage-Europe and EBMT*), las cual fue realizada por la unidad de acreditación ministerial.

#### **Metas a mediano plazo: (Diciembre de 1999).**

Desde Octubre a Diciembre 1999 se realizan inicialmente tres trasplantes, un autólogo y dos alogénicos. Al inicio del programa el presupuesto anual del programa PINDA era de mil millones de pesos que se transferían desde FONASA a los hospitales públicos que atienden niños, con este dinero se adquieren las drogas antineoplásicas, antibióticos y algunas otras drogas de apoyo. Se desarrollo arancel FONASA para TMO pediátrico de acuerdo a los estudios de costos efectuados. En Octubre de 1999 se obtiene el arancel diferenciado para trasplante autólogo y alogénico emparentado. Este cubre el costo del preTPH, TPH y postTPH con un seguimiento de dos años. El monto asignado para el TPH autólogo es de \$15.000.000\* y para el TPH alogénico de \$30.000.000\*\*. Cabe destacar que Chile es el único país latinoamericano en el cual el estado cubre la totalidad del costo del TMO. (\*US\$25.000, \*\* US\$50.000)

Metas a largo plazo: (diciembre 2002 en adelante):

Estas metas se concretaron con el inicio del TPH de SCU en el año 2003 y con el proyecto de TPH haploidéntico.

## Resultados.

Desde la apertura de la unidad en octubre 1999 hasta Diciembre 2005 se han efectuado 91 TPH, en todos ellos la indicación fue de acuerdo a las pautas previamente definidas por el comité de TMO del PINDA. La distribución por sexo fue 56 hombres, 35 mujeres, siendo la edad promedio del grupo total fue de 8,0 años (máx. 17, min. 0,3 años). El TPH fue alogénico relacionado en 59 casos, alogénico no relacionado de sangre de cordón umbilical en 11, haploidénticos en 4 y 17 autólogos. La patología de base que motivo el trasplante fue oncológica en el 71% de los pacientes. El acondicionamiento usado dependió de la enfermedad de base y la edad del paciente; en 43 pacientes se utilizó sólo quimioterapia y en los restantes quimioterapia más radioterapia. La celularidad CD 34 + promedio infundida fue de  $1,46 \times 10^6/\text{kg}$  peso del receptor en los trasplantes alogénicos de médula ósea,  $0,27 \times 10^6/\text{kg}$  en los trasplantes de SCU y  $3,9 \times 10^6/\text{kg}$  peso receptor en los autólogos. En los TPH alogénicos se utilizó profilaxis de EICH con ciclosporina en todos los casos, combinado con metotrexato en 5 casos y depleción de linfocitos T con el método de "roseteo" con lecitina de soya en 3 casos (TPH haploidénticos). El promedio de implante (RAN mayor a 500) fue a los 15,5 días post TPH en los alogénicos, 17,5 días en los autólogos, 33 días en los de SCU y 28 días en los Haplos. La incidencia de enfermedad injerto contra huésped (EICH) aguda fue de 32% en los TPH alogénicos grado III a IV, en cambio en los TPH haploidénticos la incidencia de EICH severo fue de 100. En el grupo total presentaron neutropenia febril 73/91 pacientes, aislándose germen en el 36% de los casos. En todos los pacientes se efectuó vigilancia para citomegalovirus (CMV), con antigenemia semanal, en 26 casos ésta fue positiva, por lo que se indicó tratamiento antiviral con una buena respuesta, no se presentaron casos de enfermedad por CMV. Tampoco, casos de enfermedad venooclusiva hepática.

En suma, la mortalidad relacionada al trasplante fue de un 4,2% para alogénico y autólogos y 14% para SCU. El estado actual de los pacientes, con un seguimiento de 4 - meses, es de 59/91 vivos, siendo la escala de Lanski

normal en 45 de los 59 supervivientes. La supervivencia total es de más de un 60% para todo el grupo. Creemos que la incorporación de un programa nacional de TMO pediátrico ha permitido mejorar los resultados de supervivencia de los pacientes oncológicos que no tenían curación con quimioterapia convencional, así como también rescatar aquellos pacientes con patología no oncológica que no tenían hasta ahora ninguna otra opción terapéutica. Esto ha sido posible gracias al esfuerzo común de varios hospitales pediátricos bajo el amparo del PINDA dentro del sistema público de salud, gracias al ministerio de Salud y también al apoyo recibido del Hospital St. Jude de Memphis, Estados Unidos.

## REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.

### AUTOTRASPLANTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS EN CARDIOPATÍA ISQUÉMICA.

- 1.- Pera MF. Embryonic stem cells. In: American Society of Hematology; Education Program Book. Hematology 2002: 374-81.
- 2.- Reubinoff BE, Itsykson P, Turetsky T. Neural progenitors from human embryonic stem cells. Nat Biotechnol 2001; 19: 1134-40.
- 3.- Assady S, Maor G, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Skorecki KL, Tzukerman M. Insulin production by human embryonic stem cells. Diabetes 2001; 50: 1691-7.
- 4.- Levenberg S, Golub JS, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Langer R. Endothelial cells derived from human embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99: 4391-6.
- 5.- Lev S, Kehat I, Gepstein L. Differentiation pathways in human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes. Ann NY Acad Sci 2005; 1047: 50-65.
- 6.- Kehat I, Gepstein L. Human embryonic stem cells for myocardial regeneration. Heart Fail Rev 2003; 8(3): 229-36.
- 7.- Kehat I, Kenyagin KD, Snir M, Segev H, Amit M, Gepstein A, Livne E, Binah O, Gepstein L. Human

embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest* 2001; 108(3): 363-4.

8.- Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, Blau HE. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science* 2000; 290: 1775-9.

9.- Verfaillie CM. Adult stem cell plasticity. In: American Society of Hematology; Education Program Book. Hematology 2002: 381-7.

10.- Medvinsky a, Smith a: Stem cells: fusion brings down barriers. *Nature* 2003; 422: 823-5.

11.- Lin G, Lu J, Jian X, Li X, Li G. Autologous transplantation of bone marrow mononuclear cells improved heart function after myocardial infarction. *Acta Pharmacol Sin* 2004; 7: 876-86.

12.- Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hastley CJ, Majesky MW, Entman ML, Michael LH, Hirschi KK, Goodell MA. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest* 2001; 107(11): 1395-402.

13.- Strauer BE, Brehm M, Zeus T. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002; 106: 1913-8.

14.- Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, Fichtner S *et al.* Autologous bone marrow-derived progenitor cell transplantation for myocardial regeneration after acute infarction. *Lancet* 2004; 364 (9429): 141-8.

15.- Yeh ET. Transdifferentiation of human peripheral blood CD34+ enriched cell population into cardiomyocytes, endothelial cells and smooth muscle cells in vivo. *Circulation* 2003; 108(17): 2070-3.

16.- Assmus B, Schachinger V, Teupe C, Britten M, Lehman R, Dobert N, Grunwald F, Aicher A, Urbich C, Martin H, Hoelzer D, Dimmeler S, Andreas M, Zeiher AM. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002; 106(24): 3009-17.

17.- Schachinger V, Assmus V, Britten M, Honold J, Lehman R, Teupe C, Nasreddin D, Vogl TJ, Hofman WK, Martin H, Dimmeler, Szeiher AM. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute

myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI trial. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44(8): 1690-9.

18.- Franz WM. Stem cell therapy for chronic cardiac insufficiency—therapy of the future?. *MMW Fortschr Med* 2005; 147(35-36): 37-8.

19.- Kang HJ, Kim HS, Zhang SY, Park KW, Cho HJ, Koo BK, Kim YJ, Soo Lee D, Sohn DW, Han KS, Oh BH, Lee MM, Park YB. Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial. *Lancet* 2004; 363(9411): 751-6.

20.- Archundia A, Aceves JL, López-Hernández M, Alvarado IM, Rodríguez E, Díaz-Quiroz G, Paez A, Masso-Rojas F, Montaña L. Direct cardiac injection of G-CSF mobilized bone-marrow stem-cells improves ventricular function in old myocardial infarction. *Life Sciences* 2005; 78: 279-83.

21.- Franz WM. Stem cell therapy in chronic heart failure. *Med Klin (Munich)* 2006; 101(1): 77-81.

#### **MÉDULA ÓSEA ESTIMULADA CON FACTOR ESTIMULADOR DE GRANULOCITOS COMO FUENTE DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS EN TRASPLANTE ALOGÉNICO.**

1.- Powles R, Mehta J, Kulkarni S, *et al.* Allogeneic blood and bone marrow stem cell transplantation in haematological malignant diseases: a randomized trial. *Lancet* 2000; 362:1806-10.

2.- Blaise D, Kuenz M, Fortanier C, *et al.* Randomised trial of bone marrow versus lenograstim-primed blood cell allogeneic transplantation in patients with early-stage leukemia: a report from the Societe francaise de greffe de moelle. *J Clin Oncol* 2000; 18:537-46.

3.- Heldad D, Tjonnfjord G, Brinch L, *et al.* A randomized study of allogeneic transplantation with stem cells from blood or bone marrow. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25: 1129-36.

4.- Bensinger WI, Martin PJ, Storer B, *et al.* Transplantation of bone marrow as compared with peripheral blood cells from HLA-identical relatives in

patients with hematologic cancers. *N Engl J Med* 2000; 344:175-81.

5.- Gale RP, Bortin MM, Van Bekkum DW, *et al.* Risk factors for acute graft-versus host disease. *Br J Haematol* 1987; 67:397-406.

6.- Nash RA, Pepe MS, Storb R, *et al.* Acute graft-versus host disease: analysis of risk factors after allogeneic marrow transplantation and prophylaxis with cyclosporine and methotrexate. *Blood* 1992; 80:1838-45.

7.- Sullivan KM, Agura E, Anasetti C, *et al.* Chronic graft-versus host disease and other late complications of bone marrow transplantation. *Semin Hematol* 1991;28:250-9.

8.- Storb R, Prentice RL, Sullivan KM, *et al.* Predictive factors in chronic graft-versus host disease in patients with aplastic anemia treated by marrow transplantation from HLA-identical sibling. *Ann Intern Med* 1983; 98:461-6.

9.- Storek J, Gooley T, Siadak M, *et al.* Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation may be associated with high risk of chronic graft-versus host disease. *Blood* 1997; 90:4705-9.

10.- Champlin RE, Schmitz N, Horowitz MM, *et al.* Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation. IBMTR Histocompatibility and Stem Cell Sources Working Committee and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) *Blood* 2000; 95: 3702-9.

11.- Damiani D, Fanin R, *et al.* Randomized trial of autologous filgrastim-primed bone marrow transplantation versus filgrastim-mobilized peripheral blood stem cell transplantation in lymphoma patients. *Blood* 1997; 90:36-42.

12.- Weisdorf D, Miller J, Verfaillie C, *et al.* Cytokine-primed bone marrow stem cells vs peripheral blood stem cells for autologous transplantation: a randomized comparison of GM-CSF vs G-CSF. *Biol Blood Marrow Transplant.* 1997; 3:217-23.

13.- Isola LM, Scigliano E, Skerrett D, *et al.* A pilot study of allogeneic bone marrow transplantation using related donors stimulated with G-CSF. *Bone Marrow Transplant* 1997; 20:1033-7.

14.- Serody JS, Sparks SD, Lin Y, *et al.* Comparison of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)-mobilized peripheral blood progenitor cells and G-CSF-stimulated bone marrow as a source of stem cells in HLA-matched siblings transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2000; 6:434-40.

15.- Morton J, Hutchins Ch, Durrant S. Granulocyte-colony-stimulating factor (G-CSF)-primed illogeneic bone marrow: significantly less graft-versus-host disease and comparable engraftment to G-CSF-mobilized peripheral blood stem cells. *Blood* 2001; 98:3186-91.

#### **TRASPLANTE DE PRECURSORES HEMATOPOYÉTICOS EN NIÑOS CON SÍNDROMES HISTIOCÍTICOS.**

1.- Arico M, Clementi R, Caselli D, *et al.* Histiocytic disorders. *Hematol J* 2003; 4:171-9.

2.- Steiner M, Matthe-Martin S, Attarbaschi A, *et al.* Improved outcome of treatment-resistant high-risk Langerhans cell histiocytosis after allogeneic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 36: 215.

3.- Akkari V, Donadieu J, Pigué C, *et al.* Bertrand Bone Marrow Transplant 2003; 31:1097.

4.- Durken M, Finckenstein FG, Janka GE. Bone marrow transplantation in hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Leuk Lymphoma* 2001; 41:89-95.

5.- Janka GE, Schneider EM. Modern management of children with haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br J Haematol* 2004; 124:4-14.

6.- Gonzalez O, Mancias C, Cantu OG, *et al.* Bone marrow transplantation in a child with hemophagocytic lymphohistiocytosis using a less toxic conditioning regimen. *Arch Med Res* 1999; 30:338-40.

7.- Shenoy S, Grossman WJ, DiPersio J, *et al.* A novel reduced-intensity stem cell transplant regimen for nonmalignant disorders. *Bone Marrow Transplant* 2005; 35:345-52.

8.- Cooper N, Rao K, Gilmour K, *et al.* Stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood.* 2006; 107: 1233.

---

**TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA PEDIÁTRICO EN EL SISTEMA PÚBLICO DE SALUD EN CHILE: OCTUBRE 1999-DICIEMBRE 2005.**

1.- Lautaro Vargas. Cáncer en Pediatría. Aspectos generales. Rev.Chil.Pediatr. 71(4); 283-295, 2000.

2.- National Cancer Institute. Ries LA, Hankey BF, Miller BA, *et al* (eds): Cancer Statistics Review 1973-88, NIH Publications N°91-2789. Bethesda, 1991.

3.- Improved at outcome for ALL in children of the developing countries: Results of the chilean national trial PINDA 87. Med. and P. Oncology 33:88-94 (1999)

4.- MINSAL (Ministerio de Salud de Chile), Anuario Epidemiológico, año 2000.

5.- Goldman JM, Schmitz N, Niethammer D, Gratwohl A. Allo and autol transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe in 1998. Bone Marrow Transplant 1998; 21: 1-7.

6.- Wilimas J, Ribeiro R. Pediatric hematology-oncology outreach for developing countries. Hematology oncology clinics of North America. August 2001. 775-87.

7.- Joint Accreditation Committee EBMT – Euro ISHAGE (JACIE) Accreditation Manual.