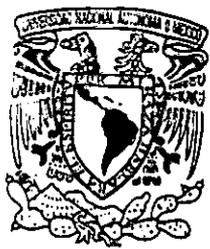


112361



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
Facultad de Medicina

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
División de estudios de postgrado
Hospital General Dr. Gaudencio González Garza
Centro Médico Nacional "La Raza"

Efectividad de deferoxamina en bolos subcutáneos a las cuatro
semanas de tratamiento en el paciente pediátrico con
hemocromatosis adquirida

T E S I S D E P O S G R A D O

Para obtener la especialidad de
Patología Clínica

Presenta
Dr. Eduardo Juárez Rangel

Asesor
Dra. María Teresa Dueñas González

México, D.F

Septiembre 2001





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

FIRMAS

DR JOSE LUIS MATAMOROS TABIA
JEFE DE LA DIVISION DE EDUCACION E INVESTIGACION MEDICA
HOSPITAL GENERAL DR GAUDENCIO GONZALEZ GARZA
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"



DRA MARIA DEL ROSARIO MARTINEZ SANCHEZ
JEFE DE LABORATORIO CLINICO
HOSPITAL GENERAL DR GAUDENCIO GONZALEZ GARZA
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"



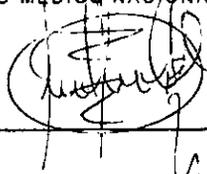
DR ANTONIO ORTIZ FERNANDEZ
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA PEDIATRICA
HOSPITAL GENERAL DR GAUDENCIO GONZALEZ GARZA
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"



DR MARIA TERESA DUEÑAS GONZALEZ
ASESOR Y HEMATOLOGA PEDIATRICA
HOSPITAL GENERAL DR GAUDENCIO GONZALEZ GARZA
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"

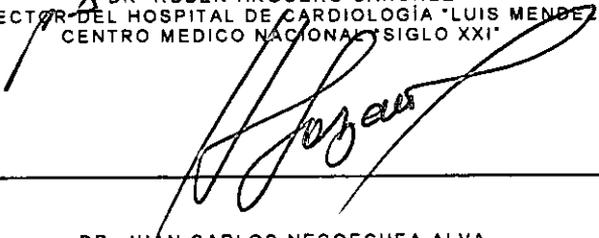


DR EDUARDO JUÁREZ RANGEL
RESIDENTE DE PATOLOGÍA CLINICA
HOSPITAL GENERAL DR GAUDENCIO GONZALEZ GARZA
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"



SUBDIVISION DE ESPECIALIZACION
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U. N. A. M

DR RUBEN ARGÜERO SÁNCHEZ
DIRECTOR DEL HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA "LUIS MENDEZ"
CENTRO MEDICO NACIONAL "SIGLO XXI"



DR JUAN CARLOS NECOECHEA ALVA
JEFE DE LA DIVISIÓN DE EDUCACION E INVESTIGACIÓN MEDICA
HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA "LUIS MENDEZ"
CENTRO MEDICO NACIONAL "SIGLO XXI"



DRA ROSA MA GARCIA ESCAMILLA
TITULAR DEL POSTGRADO DE PATOLOGÍA CLINICA
HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA "LUIS MENDEZ"
CENTRO MEDICO NACIONAL "SIGLO XXI"



AGRADECIMIENTOS

A mi asesor:

Dra. Ma. Teresa Dueñas González
Hematóloga pediátrica

Al servicio de Hematología pediátrica:

Dr. Antonio Ortiz Fernández
Jefe del departamento de Hematología Pediátrica

Al personal de Laboratorio clínico:

QFB. Olga Orozco Verástegui
QFB. Ramona Baca Armendáriz
QBP. Olga Lucio Landin
Lab. Ma. Rocio Morales Cortéz
Lab. Ma. Rocio Cortéz Villegas

DEDICATORIA

A mi familia:
por su apoyo y comprensión

A Norma:
a quien quiero mucho

A nuestro hijo:
que pronto estará con nosotros

CONTENIDO

| | |
|--------------------------------|----|
| Resumen | 1 |
| Antecedentes científicos | 2 |
| Justificación | 14 |
| Objetivos | 15 |
| Material y métodos | 16 |
| Resultados | 22 |
| Discusión | 25 |
| Conclusiones | 26 |
| Bibliografía | 27 |
| Anexos | |

RESUMEN

Titulo. Efectividad de deferoxamina en bolos subcutáneos a las cuatro semanas de tratamiento en el paciente pediátrico con hemocromatosis adquirida.

Dra. Dueñas González María Teresa y Dr. Juárez Rangel Eduardo. Hematología Pediátrica y Laboratorio de análisis clínicos. Hospital General Dr. Gaudencio González Garza. Centro Médico Nacional "La Raza" México, D.F.

Objetivo. Demostrar que la administración de bolos subcutáneos de deferoxamina en el paciente pediátrico con hemocromatosis adquirida durante cuatro semanas disminuye el nivel sérico de ferritina

Material y métodos. Se estudiaron a 7 pacientes portadores de hemocromatosis adquirida con un rango de edad de 4-8 años, los cuáles fueron 5 femeninos y 2 masculinos en el servicio de Hematología pediátrica del Hospital General CMN "La Raza" durante el periodo de marzo 2000 a agosto 2001. A todos los pacientes se les midió indirectamente sus depósitos de hierro a través de una determinación basal de ferritina, además de hierro sérico, transferrina y TIBC iniciándose tratamiento de quelación con deferoxamina en bolos subcutáneos en un esquema de cuatro semanas de la siguiente manera: la dosis fue de 30-50 mg/kg/día dividida en dos dosis cada 12 horas durante 5 días por semana por un mes, al final del esquema de tratamiento se determinó nuevamente el valor de ferritina sérica, hierro sérico, transferrina y TIBC. La dosis se ajustó utilizando el índice terapéutico. Todos los pacientes continuaron con sus regímenes de transfusión según lo requirieran.

Resultados. Se alcanzó una disminución del 9% en la ferritina sérica posterior a un mes de tratamiento, con valores estadísticamente significativos ($p=0.018$ prueba de Wilcoxon). Los valores de hierro sérico, transferrina y TIBC no fueron estadísticamente significativos ($p=0.310$, $p=0.680$ y $p=0.799$ respectivamente, prueba de Wilcoxon).

Conclusiones. La disminución en la concentración de ferritina sérica fue estadísticamente significativa lo cuál no es suficiente desde el punto de vista clínico, lo cuál apoya el proporcionar un tratamiento continuo y a largo plazo para evitar las complicaciones secundarias al depósito de hierro en los tejidos mismo que condicionará la muerte a un plazo no determinado. Esta modalidad de tratamiento es una alternativa a la terapia convencional reflejándose en el cumplimiento de la terapia de quelación en estos pacientes. No se encontró cambios estadísticamente significativos en hierro sérico, TIBC y transferrina. Es necesario aumentar el tamaño de la muestra.

Palabras clave: Hemocromatosis, deferoxamina, ferritina, terapia de quelación

Antecedentes científicos

El hierro es indispensable para la vida y esencial para procesos tales como el transporte de oxígeno, transferencia de electrones, fijación de nitrógeno y síntesis de DNA. El hierro, es el elemento de transición esencial más importante, representa de 45 a 55 mg por Kg de peso corporal en hombres y mujeres adultos. Normalmente, alrededor del 60 al 70% del hierro corporal total está presente en la hemoglobina de los eritrocitos circulantes. La mioglobina, citocromos y otras enzimas que contienen hierro comprometen cerca del 10% y el resto del 20 al 30% es almacenado en la ferritina. Normalmente cerca del 80% de este hierro es transportado a la médula ósea en humanos y al bazo en roedores para la síntesis de hemoglobina para el desarrollo de precursores eritroides. Los restantes 5 mg de hierro plasmático es intercambiado con tejidos no eritroides, por ejemplo el hígado. Cerca de 1mg de hierro de la dieta es absorbido en 24 hrs y el balance de hierro neto se mantiene por una pérdida diaria de aproximadamente 1 mg. Aunque la cantidad de hierro extraído de la dieta es pequeña, la regulación de la absorción intestinal de hierro es crucial. Las células de las criptas duodenales perciben los requerimientos de hierro del cuerpo dentro de los enterocitos absorptivos. Estos forman las vellosidades de absorción cercanas a la unión gastroduodenal responsables de toda la absorción de hierro. El hierro pasa del lumen intestinal a través de las membranas apical y basolateral del enterocito para alcanzar el plasma. El hierro obtenido de la comida no se une a la transferrina, en lugar de ello, el pH gástrico ayuda a su disolución y proporciona protones. Estas facilidades enzimáticas reducen el hierro férrico a su forma ferrosa por la ferrireductasa del borde en cepillo. El metalotransportador divalente 1 DMT1; anteriormente llamado Nramp2 o DCT1 es una proteína que transfiere hierro a través de la membrana apical y a la célula a través de un mecanismo protónico-acoplado. DMT1 no es específico para el hierro; este puede transportar una amplia variedad de iones metálicos divalentes, que incluyen manganeso, cobalto, cobre, zinc y cadmio. La absorción del hierro intestinal es regulada por varias vías. Primero, este puede ser modulado por la cantidad de hierro recientemente consumido en la dieta, un mecanismo referido como regulador de la dieta. A varios días después de esta, los enterocitos absorptivos son resistentes a adquirir hierro adicional. Este fenómeno ha sido previamente llamado bloqueo de mucosa. Esta acción de bloqueo probablemente resulte de la acumulación de hierro intracelular, llevando al enterocito a creer que este sea el punto fijo de requerimiento. El segundo mecanismo regulador además percibe los niveles de hierro pero responde al hierro corporal total, mejor que el hierro de la dieta. Este mecanismo ha sido denominado regulador de almacén. Este es capaz de intercambiar la cantidad de hierro absorbida en un límite extenso. Aunque los detalles moleculares de la regulación de almacén no es conocido, este probablemente actúa a nivel de las células de las criptas en respuesta a la saturación de la transferrina plasmática con el hierro. El tercer mecanismo regulador conocido como el regulador eritropoyético, no responde del todo a los niveles de hierro. Mas bien este modula la absorción de hierro en respuesta a los requerimientos de la eritropoyesis. Este tiene la capacidad de incrementar la absorción de hierro que el regulador de almacén. Es lógico que el eritrocito deba influir en el porcentaje de absorción del hierro intestinal, cuando mucho del hierro corporal deba ser usado para la eritropoyesis. El regulador

eritropoyetico probablemente involucre señales solubles que son transportadas por el plasma de la médula ósea al intestino.

El hierro es normalmente transportado vía unión específica de Fe III por la transferrina en el plasma sanguíneo. Este complejo se une a los receptores de transferrina de las células de los órganos blanco, los cuáles permiten la captación específica de acuerdo a las necesidades individuales. La transferrina se sintetiza en el Hígado y tiene una vida media de 8 a 12 días. Pertenece a la familia de proteínas que unen hierro relacionadas a la lactoferrina y ovotransferrina. Es una glucoproteína de alto peso molecular 79.6 KD y con movilidad electroforética $\beta 1$. Las transferrinas son glucoproteínas monoméricas (8% de carbohidratos) consistentes de 2 dominios homólogos, cada uno de los cuales contiene un sitio de unión al Fe III de alta afinidad. La transferrina une 2 átomos de Fe III con alta afinidad, pero solo cuando ocurre la unión concomitante de carbonato bicarbonato. Esta unión es un proceso pH dependiente, una propiedad que es involucrada en mecanismos fisiológicos de liberación de hierro de las proteínas. Corresponde alrededor de 1.41 μg de hierro por mg de transferrina. La transferrina en plasma es saturada con hierro alrededor del 30%. Leibman y Aisen establecieron 4 especies de transferrinas en el suero humano normal en el siguiente orden de abundancia: apotransferrina > transferrina monomérica que ocupa el sitio N-terminal > transferrina diférrica > transferrina monomérica con hierro que ocupa el sitio C-terminal. La transferrina es reconocida por receptores celulares específicos de membrana que son "guardianes de entrada" responsables para la adquisición fisiológica de hierro por muchos tipos celulares del organismo. Jandl y cols. Fueron los primeros en sugerir la existencia del receptor de transferrina sobre la membrana del reticulocito. A finales de 1970, varios laboratorios reportaron el aislamiento de este receptor de la membrana del reticulocito y posteriormente de placenta y de líneas celulares cultivadas. Con la excepción del eritrocito maduro, los receptores de transferrina son probablemente expresados sobre todas las células, con alta expresión sobre células sintetizadoras de hemoglobina, placenta, tejido neoplásico y células normales de división rápida. En resumen, el receptor de transferrina consiste de un homodímero glucoproteico transmembrana con ligando disulfuro con peso molecular de 180 KD y cada subunidad (90 KD) une una molécula de transferrina. El receptor de transferrina humano contiene pequeños dominios citoplásmicos N-terminales de carácter hidrofílico con una masa molecular de 5 KD y frecuentemente contiene un grupo fosfato unido al hidroximetil de la serina 24. Sin embargo, la fosforilación y desfosforilación de este último residuo no se requiere para controlar la endocitosis o reciclaje del receptor de transferrina. El dominio citoplásmico del receptor de transferrina es esencial para el receptor de internalización y la secuencia tetrapeptídica dentro del extremo citoplásmico del receptor de transferrina actúa como señal de endocitosis de alta eficiencia. El status de hierro de la transferrina ha sido un importante efecto sobre la afinidad de la transferrina para este receptor; la transferrina diférrica tiene alta afinidad, la transferrina monoférrica afinidad intermedia y la apotransferrina muy baja afinidad. La concentración de transferrina plasmática normal es alrededor de 50 $\mu\text{g/L}$ de los cuales la transferrina diférrica constituye aproximadamente el 10%. La adquisición de hierro por vía endocítica mediada por el

receptor de transferrina es idéntica en todos los tipos celulares. La ferritina es una proteína obicua la cual solo se ha definido claramente su función en el secuestro y almacenaje de hierro. La ferritina de los mamíferos consiste de una proteína encapsulada que puede acomodar 4500 átomos de hierro en su cavidad interna. Esta proteína tiene un peso molecular de 430 y 460 KD y esta hecha de 24 subunidades relacionadas simétricamente de 2 tipos, la subunidad ligera (subunidad L) de alrededor de 19 KD y subunidad pesada (subunidad H) de cerca de 21 KD. Las moléculas de ferritina tienen un diámetro interno de 70 y 80 Å y un diámetro externo de 120 a 130 Å. Una vez dentro de esta, el hierro es almacenado en estado férrico como fosfato férrico-oxihidroxido. En una molécula de ferritina vacía, la superficie interior de la subunidad proteica tiene los sitios catalíticos para la conversión de Fe II a Fe III. Esta actividad ferroxidasa solo se encuentra en la subunidad H, mientras que la subunidad L tiene un sitio de nucleación que esta involucrada en la formación del core de hierro. La modificación en la proporción de subunidades H y L en la ferritina encapsulada puede permitir que la célula ajuste cambios en el metabolismo de hierro. Por ejemplo un incremento en la proporción de la subunidad L se asocia con almacenaje de hierro, mientras que la subunidad H es mas abundante cuando el hierro es necesario para el metabolismo intracelular. En los sitios de nucleación, los depósitos de hierro férrico proporciona centros de nucleación para el crecimiento de oxihidroxido férrico. Mientras que normalmente el hierro es almacenado en ferritina, las células sobrecargadas de hierro contienen otras forma de almacenaje, la hemosiderina, la cuál es probablemente producto de degradación de la ferritina. Evidencias in vitro indican que el hierro ferroso es relativamente soluble, el cuál es incorporado dentro de la cápsula mas eficientemente que el hierro férrico donde este es oxidado y depositado después en asociación con el interior de la superficie de las subunidades. Ambos homopolímeros recombinantes H y L pueden incorporar hierro, pero la ferritina H recombinante no es en un alto porcentaje como las cadenas L recombinantes. Esta diferencia es probablemente causada por la ferroxidasa central de la subunidad ferritínica H que promueve la oxidación de Fe II a Fe III. Por otra parte la apoferritina de la cadena L tiene mas alta capacidad que la subunidad H para inducir nucleación del core de hierro, sugiriendo que ambas cadenas cooperan en la captación total de hierro dentro de la ferritina. Las flavinas reductoras o varios agentes reductores (cisteína, glutatión o ácido ascórbico) facilitan la liberación de hierro de la ferritina in vitro, pero la liberación significante aparece por los agentes quelantes. (1,2,3,4).

La hemocromatosis es una de las mas frecuentes enfermedades genéticas en la población caucásica, afectando aproximadamente uno de cada tres por cada 100 personas en descendientes del Norte de Europa. Es el resultado de una condición heredada de la cual mucho del hierro es absorbido por la dieta. La hemocromatosis fue inicialmente descrita en el siglo XIX. El nombre de hemocromatosis fue descrito por Von Recklinghausen (1889) para indicar que el pigmento establecido en el Hígado era derivado de la sangre. En 1935 Sheldon revisó más de 300 casos publicados e hizo muchas propuestas acerca de la naturaleza de la enfermedad, incluyendo la sugerencia de que era un desorden heredado. Además 787 casos fueron revisados por Finch y Finch en 1955. La visión de que la hemocromatosis es un desorden heredado recibió soporte continuo. En 1974 Suddi y Feingold formalmente propusieron el modo de

herencia recesivo para la hemocromatosis genética. La descripción de la asociación entre el HLA-A3 y hemocromatosis por Simons y cols. (1975,1976) rápidamente llevó a la localización del gen en el brazo corto del cromosoma 6. El gen de la hemocromatosis (HFE) se encuentra ampliamente expresado. La proteína ha sido detectada con anticuerpos monoclonales como una secuencia peptídica C-terminal y se ha demostrado que esta asociada con la membrana plasmática de las células epiteliales del tracto gastrointestinal superior e inferior. Sin embargo, en las células epiteliales del duodeno y yeyuno es curiosa la distribución perinuclear de esta proteína. La razón de esto no está entendida aunque Parkkila y cols. (1997) sugieren que esto es indicativo de una relación con la absorción de hierro en estas células. La proteína virgen y la proteína con mutación H63D son expresados sobre la superficie celular y se unen a la $\beta 2$ microglobulina pero la proteína con la mutación C282Y no alcanza la superficie celular, no ocurriendo esta unión. Es claro que cualquier función de la proteína HFE en la regulación o absorción de hierro es retirada por la presencia de la mutación C282Y.

La sobrecarga de hierro por transfusión es la condición tóxica relacionada a metales con un alto porcentaje de mortalidad alrededor del mundo. El riesgo es alto en aquellos que pertenecen a la categoría de desordenes heredados más comunes llamados hemoglobinopatías. Se estima que 270 millones de personas son heterocigotos de una hemoglobinopatía y por los menos 20000 bebés que nacen cada año, la mitad son portadores de enfermedad de células falciformes y la otra mitad con talasemia. Alrededor del 73% de aquellos nacimientos con talasemia pueden potencialmente desarrollar sobrecarga de hierro y toxicidad por transfusión y/o incremento en la absorción del mismo. En particular la β talasemia representa el 40% de nacimientos y tiene una alta mortalidad si las transfusiones regulares de eritrocitos son llevados a cabo sin terapia de quelación. Sin transfusiones sanguíneas ellos mueren dentro de los 4 años de nacidos. La vida media de los eritrocitos transfundidos es alrededor de 60 días. Usualmente el porcentaje de eritrocitos transfundidos es asignado a cada paciente para mantener niveles de hemoglobina preferentemente cerca de 11 g/dl. Cada unidad de sangre transfundida contiene de 200 a 250 mg de hierro. La sobrecarga de hierro y las complicaciones asociadas además pueden ser desarrollados en muchas otras condiciones en adición a las talasemias, tales como la drepanocitosis, mielodisplasia, mielofibrosis, anemia aplásica, anemia sideroblástica, deficiencia de piruvatoquinasa, anemia de Blackfan Diamond, anemia de fanconi, anemia hipocromica hereditaria, enfermedad hepática, porfiria cutánea tarda, hemodiálisis, etc. Las manifestaciones clínicas de la hemocromatosis son iguales solo con la adición de anemia en la hemocromatosis transfusional. Las anomalías clínicas se manifiestan usualmente seguidas a la transfusión de 50 a 100 unidades de eritrocitos, los cuales equivalen de 12.5 a 25 g de hierro almacenado en el cuerpo. Pacientes con talasemia homocigota requieren transfusiones regulares a edad muy temprana. El manejo correcto los lleva a una vida normal e inhibir la hiperactividad de la médula ósea y retardar la aparición de hiperesplenismo. Su media anual es de 140 a 165 mg de eritrocitos puros/kg, los cuales corresponden a 160-180 mg de hierro/kg/año o 0.44-0.49 mg/kg/día. Los síntomas pueden aparecer mas o menos asociados, entre los que se encuentran

melanodermia difusa (piel gris o café), astenia, fatiga crónica inexplicable, artralgia y artropatía. La colección de hierro en las fibras celulares particularmente en aquellas de la pared ventricular así como en el septum ventricular, músculos papilares y epicardio condicionan daño cardíaco y generan hipertrofia ventricular izquierda y alteraciones de la conducción, arritmias e insuficiencia cardíaca refractaria. La enfermedad hepática es otro resultado de la sobrecarga de hierro y esta asociada con fibrosis reactiva llevando a una fibrosis portal en un número significativo de pacientes, manifestándose clínicamente por hepatomegalia. Las más comunes anomalías endocrinas incluyen hipogonadismo hipogonadotrópico, deficiencia de hormona de crecimiento y diabetes mellitus. La diabetes mellitus en talasemia se ha atribuido a secreción impar de insulina secundaria a sobrecarga de hierro pancreática y resistencia a la insulina como consecuencia del depósito de hierro dentro del hígado o músculo esquelético. El hipogonadismo con talla baja y falta en la maduración sexual son consecuencias adicionales de la acumulación de hierro en las glándulas endocrinas. (5,6,7,8,9)

En todas las condiciones de sobrecarga de hierro, la toxicidad puede elevarse principalmente por la incapacidad de las células para almacenar hierro en forma de almacenaje seguro, resultando en la ruptura lisosomal y subsecuentemente daño tisular y celular. Este incremento excede las concentraciones celulares de proteínas que unen hierro tales como la ferritina, lisosomas y complejos de hemosiderina. El hierro no unido a la transferrina, el hierro en sus formas de alta y bajo peso molecular pueden iniciar reacciones por radicales libres. Los oxirradicales dañan lípidos celulares, ácidos nucleicos y proteínas. La peroxidación lipídica se asocia con deterioro de mitocondrias, lisosomas, microsomas y función membranar. El daño de membranas lisosomales es seguida por la liberación dentro del citoplasma de enzimas hidrolíticas. Estas se acoplan con el daño mitocondrial y son responsables de la necrosis celular, seguida por una reacción pericelular y fibrosis de acuerdo con los tejidos afectados. En el hígado, las células de Kupffer son activadas y producen citocinas fibrogénicas tales como el factor transformador de crecimiento $\beta 1$. (6,8)

Las mediciones directa e indirecta o ambas para la valoración del hierro corporal están disponibles pero no son un indicador individual ni su combinación es ideal para la evaluación del status de hierro en todas las circunstancias clínicas. La medición del almacén de hierro hepático proporciona la medida cuantitativa de valoración de la carga de hierro corporal en pacientes con talasemia mayor y puede ser considerada el método de referencia para la comparación de otros métodos. Las mediciones de ferritina plasmática y sérica son las más comúnmente usadas para estimar indirectamente los almacenes de hierro corporal. Normalmente, las concentraciones de ferritina disminuyen con la depleción del almacén de hierro e incrementan con su acumulación. La concentración de ferritina plasmática glicosilada máxima cerca de 4000 $\mu\text{g/L}$ puede representar el límite alto fisiológico del porcentaje de síntesis. La interpretación de los valores de ferritina puede ser complicado por una variedad de condiciones que pueden alterar las concentraciones independientemente de los cambios en la carga de hierro corporal, estos incluyen

deficiencia de ascorbato, fiebre, infección aguda, daño hepático agudo o crónico, hemólisis y eritropoyesis inefectiva, todos los cuales son comunes en talasemia mayor. El hierro sérico, transferrina, saturación de transferrina, concentración del receptor de transferrina no reflejan cuantitativamente los almacenes de hierro corporal. El hierro no unido a la transferrina (NTBI) representa varias formas de hierro lábil que aparece en el plasma de pacientes con varias condiciones patológicas. El NTBI se presenta más comúnmente en pacientes en quienes la capacidad de fijación de hierro a la transferrina ha sido excedida por la sobrecarga de hierro como en la hemosiderosis transfusional y hemocromatosis hereditaria. Como su nombre lo indica el NTBI compromete a todas las formas de hierro en el plasma que se unen a otros ligandos diferentes a la transferrina. El hierro plasmático está normalmente sostenido a niveles bajos por la capacidad de fijación a la transferrina (TIBC), este es liberado dentro del plasma donde se ajusta su regulación. Cuando el hierro no unido a la transferrina aparece en plasma se asume que el resultado es un imbalance de hierro. Otro caso es cuando la transferrina plasmática se satura fuertemente resultando en la disminución de la capacidad de fijación de hierro y por lo tanto se acumula hierro en forma de NTBI. La evidencia de la naturaleza heterogénea del NTBI es proporcionada por su accesibilidad variable a los queladores. Se ha reportado un método de valoración de hierro quelado por deferoxamina (DCI) como un componente del NTBI sérico. El DCI es medido con DFO-fluorescente y utiliza un volumen relativamente pequeño de muestra. El DCI ha sido establecido en el suero de pacientes con hemosiderosis transfusional en una minoría de pacientes con hemocromatosis hereditaria y en ningún sujeto sano. Este ha sido aplicado además a pacientes con quelación oral (L1) demostrando movilización sustancial del CDI dentro del suero e igualmente ha sido probado *in vitro* en asociación con deferoxamina. Este ensayo es de utilidad como índice del status de quelación. En estados de sobrecarga aguda de hierro las determinaciones de hierro sérico y TIBC no son útiles para monitorizar la terapia con deferoxamina. (12,13,14) La tomografía computada y resonancia nuclear con manganeso 56 (NRJ) y la más ampliamente modalidad usada, la imagen con resonancia magnética pueden ser usadas para evaluar los almacenes de hierro tisular *in vitro* e *in vivo*, pero ninguno está clínicamente disponible para la medición de las concentraciones de hierro hepático. La resonancia magnética (MRI) representa el único método de imagen en uso clínico para detectar hierro dentro del corazón. Aunque muchos estudios muestran que la MRI puede reflejar la presencia de cambios en el hierro tisular *in vivo*, este método no ha sido validado como una medición que proporcione el hierro tisular que sea equivalente cuantitativamente para aquella determinada por biopsia. La medición de la concentración de hierro hepático es el método más sensible, específico y cuantitativo para determinar la carga de hierro corporal en pacientes con talasemia mayor permitiendo la medición química de la concentración de hierro no hémico (almacenaje) y examen histoquímico del patrón de acumulación de hierro en hepatocitos y células de Kupffer así como la evaluación de la extensión de la inflamación, fibrosis y cirrosis. La susceptometría magnética usando un aparato magnetómetro de interferencia de quantum de superconducción (SQUID) proporciona una medición directa del hierro hepático almacenado que está basado sobre la propiedad física fundamental de ferritina y hemosiderina. Esta tecnología es simple y se basa en un compartimiento que produce resonancia por la aplicación de campos magnéticos oscilantes usados en los estudios de resonancia

magnética. Cuando el almacén de hierro corporal incrementa, los resultados de determinaciones no invasivas de susceptibilidad magnética y de análisis químico de tejido hepático obtenido por biopsia son cuantitativamente equivalentes. Esta ha sido utilizada en investigación clínica pero generalmente no está disponible. En la enfermedad por sobrecarga de hierro en humanos, el Hígado es el principal sitio de almacenaje de hierro responsable por lo menos del 70-90% de este exceso de carga. El SQUID ha llegado a ser el método de rutina para monitorizar la sobrecarga de hierro en hemosiderosis postransfusión. En la década pasada se realizaron mediciones de la concentración del hierro hepático (LIC) en los siguientes pacientes: β talasemia mayor (n=722), β talasemia intermedia (n=40), drepanocitosis/beta talasemia (n=20), β talasemia menor (n=11), extalasia después del trasplante de M.O (n=26), drepanocitosis (n=11), anemia aplásica (n=10) y pacientes exleucémicos después del trasplante de M.O o Stem Cell(n=76). El LIC fue además medido en 661 sujetos con sospecha de hemocromatosis hereditaria. Los datos confirman que la ferritina sérica es sólo un pobre predictor de la sobrecarga de hierro. En algunos centros europeos de β talasemia mayor por ejemplo, Italia, Grecia, Suecia y Alemania usan el SQUID ahora como parte de su programa de seguimiento regular. La susceptometría hepática biomagnética (LBS) es extremadamente útil en pacientes con talasemia: (I) con ferritina sérica (FS) relativamente alta bajo tratamiento de quelación regular, especialmente en niños con efectos colaterales de sobredosis, (II) con FS baja pero con buena aceptación o cumplimiento (compliance) con el tratamiento de quelación, o para excluir siderosis severa, (III) en pacientes jóvenes (3-10 años) para ajustar la dosis individual del quelador, (IV) en pacientes con mala aceptación del quelador para llevar a cabo alta motivación cuando se confrontan estos pacientes con los resultados de BSL y (V) en pacientes con β talasemia intermedia que tienen valores de FS relativamente bajas para definir el inicio del tratamiento de quelación. La cuantificación de hierro hepático por biomagnetismo no invasivo es una técnica precisa y clínicamente verificada la cuál ofrece una información más directa acerca de la eficiencia a largo plazo de la terapia de quelación de hierro que por otros métodos. Esta técnica puede ser usada en la evaluación clínica de nuevos queladores orales. (6,9,10,11)

La investigación de queladores de hierro usados clínicamente se ha extendido. Es necesario describir las propiedades del quelador de hierro ideal, las cuáles han sido definidas por Chaberek y Martell. Primero, el ligando debe ser bioespecífico, con alta afinidad por el hierro in vivo comparado con la hemosiderina, ferritina y transferrina, pero baja cuando se compara con la hemoglobina y citocromos. En suma los queladores deben tener baja afinidad por otros cationes fisiológicamente importantes con Fe II o Fe III. Segundo, el compuesto debe ser biodisponible preferentemente adecuado para su administración oral, absorbible por el intestino y transportado a una concentración efectiva en el torrente sanguíneo. El quelador ideal además debe unir rápidamente hierro en competencia con otras proteínas fijadores de hierro, notablemente la transferrina. Tercero, el ligando debe ser estable a la degradación hidrolítica y enzimática previa y después de la absorción. Cuarto, el quelador debe ser biocompatible, teniendo mínimos efectos colaterales agudos y acumulativos. La droga debe formar un complejo con el hierro que

sea bastante lipofílico para difundir fuera de la célula, pero no debe ser demasiado para prevenir la acumulación dentro de las membranas celulares o tejido adiposo. Quinto, el quelador ideal debe causar una excreción larga y posible de hierro por unidad de peso de la droga administrada para su fácil aplicación y economía. Finalmente, el compuesto debe ser razonablemente barato y tener relativamente pocos pasos sintéticos. Las investigaciones iniciales para obtener el "quelador de hierro ideal" han sido enfocadas a las moléculas microbianas transportadoras de hierro conocidas como sideroporos. Los sideroporos son definidos como agentes transportadores de hierro de bajo peso molecular elaborados por microorganismos aerobios y anaerobios facultativos. Los microbios primariamente usan 2 tipos de grupos químicos para quelar hierro, llamados ácidos hidroxámicos y catecoles. La Deferoxamina (DFO) la cuál se conoce como Desferal es el único sideroporo que ha sido clínicamente usado con éxito. Esta droga es una sideroamina naturalmente sintetizada por el *Streptomyces pilous* y es un quelador de tri hidroxamato ferrico que une Fe III con alta afinidad. En efecto, esta unión constante para Fe III es similar a la de la transferrina pero es apreciablemente mas baja para otros elementos biológicamente importantes. La DFO es altamente selectiva y solo puede remover hierro de la ferritina y hemosiderina pero no de la hemoglobina, mioglobina, citocromos, oxidasas, catalasas o peroxidasas. Una molécula de deferoxamina une 1 átomo de hierro formando un complejo de hierro altamente estable a pH fisiológico, por lo tanto 1gr de este puede unir casi 93 mg. de hierro. Desafortunadamente, mientras que la DFO puede ser absorbida por el intestino, la excreción urinaria de Fe es sólo del 1-10% de la cantidad que es movilizada después de la infusión subcutánea a la misma dosis, preeludiendo esta ruta de administración. La DFO es rápidamente retirada del plasma con una vida media es de 5-10 minutos y una vida media total de 3hrs, por lo que necesita largas infusiones subcutáneas. La deferoxamina es pobremente absorbida en el intestino, es depurada por el Riñón, Hígado o ambos. Sin embargo la ferrioxamina plasmática, la forma unida al hierro, es depurada de la circulación casi exclusivamente por el riñón. La deferoxamina dentro del hígado se une al hierro de los hepatocitos formando ferrioxamina y es excretada por la bilis. Este medicamento fue descubierto accidentalmente como un bioproducto de la investigación con antibióticos por científicos del Instituto de Tecnología Federal Suizo en Zurich y Ciba. Aunque la DFO ha estado disponible desde los inicios de 1960, la era moderna y la terapia de quelación efectiva inició hace sólo 20 años con la introducción de las infusiones subcutáneas como parte integral del manejo de talasemias y otras anemias dependientes de transfusión. La combinación de transfusiones y quelación de hierro es ahora el tratamiento de referencia para talasemia mayor. La transfusión es necesaria para mantener niveles de hemoglobina altos y además suplir adecuadamente oxígeno a los tejidos y para suprimir la producción de eritrocitos defectuosos. Los regímenes de hipertransfusión llevados a cabo entre 1979 y 1981 significaron el punto clave para corregir la anemia sintomática manteniendo niveles de hemoglobina cerca de 12 g/dl. Con el intento de frenar la anemia, estos regímenes incrementaron el grado de sobrecarga de hierro y sus complicaciones, por lo tanto, la recomendación es mantener una hemoglobina entre 9 y 10.5 g/dl. Cerca de 1.16 mg. de hierro es contenido en la hemoglobina de 1ml de eritrocitos. Si la sangre transfundida tiene un hematocrito de 35% contiene alrededor de 0.41 mgde hierro por 1ml de sangre transfundida. El equivalente de 100-200 ml de

eritrocitos por año es de 116-232 mg. de hierro/kg/año o 0.32-0.64 mg/kg/día. El tratamiento de quelación debe ser iniciado cuando los niveles de ferritina estén cerca de 1000 µg/L, lo cuál ocurre después de las primeras 10 a 20 transfusiones. La DFO es administrada vía infusión a través de una aguja insertada a nivel subcutáneo y conectada a una línea de infusión de una bomba portátil. La infusión continua es de 8 a 10 horas y aplicada de 5 a 7 veces por semana con una dosis media total de 20 a 50 mg/kg/día aplicada en los distintos puntos corporales como se muestra en el anexo 4. La excreción urinaria de hierro de 0.5 mg/kg/día generalmente indica balance negativo de hierro. La dosis de DFO debe ser ajustada de acuerdo al almacén de hierro corporal y a la edad como se muestra en el anexo 6. El ajuste de la dosis puede ser hecho con los niveles séricos de ferritina como referencia usando el índice terapéutico

$$\text{Índice terapéutico} = \frac{\text{Dosis media diaria (mg/kg)}}{\text{Ferritina (}\mu\text{g/L)}}$$

$$\text{Dosis media diaria} = \frac{\text{dosis actual recibida en cada ocasión} \times \text{dosis por semana}}{7}$$

El índice debe ser <0.025 en todas las ocasiones.

La vigilancia del tratamiento con deferoxamina debe realizarse como se muestra en el anexo 7. En casos de alto riesgo, la infusión I.V continua de deferoxamina es potencialmente más benéfica que las infusiones periódicas porque reduce la exposición al hierro libre tóxico (hierro no unido a la transferrina), el cuál retoma a niveles pretratamiento dentro de unos minutos después de terminar la infusión I.V (Porter 1996). La infusión I.V debe ser considerada para aquellos pacientes con sobrecarga de hierro severa por complicaciones cardiacas. Las indicaciones para terapia I.V son: sobrecarga de hierro severa: valores de ferritina persistentes >2500 µg/l (Olivieri 1994), hierro hepático >15 mg/g de peso seco (Olivieri 1995); enfermedad cardiaca significativa: disritmias cardiacas significativas (Davis y Porter 2000), evidencia de falla de la función ventricular (Davis y Porter 2000). Si una de las indicaciones están presentes: incapacidad para usar deferoxamina subcutánea regularmente o pobre persistencia del cumplimiento, pacientes femeninos con embarazo planeado, pacientes con hepatitis C activa. La dosis recomendada es de 50 mg/kg/día. En un seguimiento reciente a largo plazo, la sobrevivencia del 61% a 13 años se observó en pacientes con alto riesgo. Este método de terapia de quelación reduce marcadamente los almacenes de hierro, revirtiendo las disritmias cardiacas y mejora la fracción eyección ventricular izquierda. Varios estudios en pacientes con y sin talasemia han reportado que la DFO administrada en inyecciones subcutáneas 2 veces diariamente puede ser efectiva a la misma dosis administrada por vía infusión subcutánea. El cumplimiento a la terapia con deferoxamina se define como la aceptación y entendimiento del paciente de forma coincidente con la prescripción del médico, por el cuál el paciente se adhiere al número de días por semana, número de horas por día y número de grs. del

medicamento por infusión. En pacientes con incumplimiento se reduce la frecuencia de dosis y falla del seguimiento de los lineamientos de administración. Sin embargo no hay un parámetro para la medición del cumplimiento. Uno sugerido es el índice de cumplimiento (Cohen, Cappellini et al 1999).

$$\text{Índice de cumplimiento} = \frac{\text{Número de días de tratamiento/año}}{\text{Número de días en los cuáles el tratamiento es prescrito}}$$

Los efectos colaterales de la DFO son raros pero pueden presentarse. Los más comunes son dolor, eritema, edema e inflamación principalmente en el sitio de aplicación. Muchos de los efectos tóxicos como el retardo del crecimiento, deformidades óseas metafisarias, pérdida de la audición así como daño ocular, pulmonar y renal se han asociado cuando se sobrepasa la dosis por arriba de 50 mg/kg/día. Asimismo hay que tomar en consideración la presencia de reacciones alérgicas y anafilácticas. (15,16,17,18,19,20,21,22,23)

Canatan y cols. Investigaron el cumplimiento del tratamiento, los efectos y efectos colaterales de 2 diferentes infusores. Los 26 pacientes que usaron infusores se dividieron en 2 grupos a quienes se les infundió deferoxamina por 48 horas (grupo A) y por 120 horas (grupo B). La excreción urinaria de zinc y hierro de 24 horas en ambos grupos fue estadísticamente significativa al inicio y al final de la terapia ($p < 0.001$). Los niveles de ferritina sérica disminuyeron en ambos grupos comparados con el control ($p < 0.001$). No hubo reacciones adversas durante el tratamiento. El cumplimiento y uso de infusores fueron del 97% en el grupo A y 72% en el grupo B. Concluyó que la infusión subcutánea de deferoxamina con ambos aparatos de liberación puede ser ideal para aquellos pacientes que tienen problemas con la adherencia al tratamiento y no pueden usar bombas portátiles. Los aparatos son novedosos y costosos, pero excelentes y efectivos para la infusión de deferoxamina a largo plazo. (24) Taher y cols. reportaron su experiencia con deferiprone (L1 DFP) en 17 pacientes talasémicos, estudiados en un centro de Líbano, quienes inicialmente estaban tratados con deferoxamina y luego cambiaron a DFP a dosis de 50-75 mg/kg/día como único quelador por 1 año. Todos los pacientes cumplieron con la terapia y no hubo cambios en el examen físico. 8 pacientes (47.1%) fueron positivos para anticuerpos contra VHC. La excreción urinaria de hierro fue de 21.8 ± 14 mg/24 hrs, una semana después de iniciar DFP se observó una caída a los 12 meses de 13 ± 7.4 mg/24 hrs ($p = 0.009$, prueba de *t* pareada). Los niveles iniciales de ferritina sérica fueron de 3.863 ± 2.344 μl , los cuáles declinaron a 3.179 ± 2.075 al año de tratamiento ($p = 0.07$). Los pacientes negativos para VHC como grupo exhibieron una disminución significativa en la ferritina sérica después de 6 y 12 meses (3.942 ± 2739 vs 2.341 ± 1.179 y 2.681 ± 1.519 μl ; $p < 0.03$ y $p < 0.05$ respectivamente). Los efectos colaterales más frecuentes fueron dolor articular, rigidez e hinchazón en 6 pacientes (35.3%) y náusea en 7 pacientes (41.2%) estos fueron tolerados y no requirieron detener el tratamiento. (25) Borgna y cols compararon la efectividad de DFO administrada por inyecciones subcutáneas dobles diarias con la administración convencional por infusores subcutáneos en 20 pacientes con talasemia. La excreción urinaria de hierro fue comparable con los 2 métodos pero

disminuyó significativamente cuando la dosis total fue administrada como una sola inyección. Las reacciones locales fueron similares en la infusión y en la inyección. Las inyecciones subcutáneas de DFO pueden ser consideradas como una alternativa a las infusiones convencionales. (26) Di Gregorio y cols. estudiaron a 16 pacientes con talasemia mayor en tratamiento con DFO subcutánea a dosis de 50 mg/kg/día, por 5 días consecutivos por 2 meses. En cada semana la dosis total fue administrada por 12 hrs en bombas de infusión o por inyección rápida a la misma dosis doble por día. Los 2 métodos de administración de DFO no produjeron diferencias significativas en la excreción urinaria de hierro. No hubo cambios significativos en los niveles séricos de ferritina al inicio y al final del tratamiento. Comparada con la infusión subcutánea, las inyecciones rápidas son equivalentes en eficacia y no inducen efectos adversos serios y ambos son aceptados por los pacientes y pueden mejorar su cumplimiento a la terapia de quelación de hierro. (27) Araujo y cols. Estudiaron a 15 pacientes con sobrecarga de hierro por talasemia mayor y 2 homocigotos para drepanocitosis donde fueron tratados continuamente por 7 días por semana con un novedoso aparato de liberación de DFO subcutánea para 8 hrs (Baxter C1083) y 10 de estos pacientes con talasemia mayor recibieron con aparato de liberación DFO I.V continua por 24 hrs (1071). Los 27 pacientes tuvieron tratamiento convencional previamente con DFO s.c de 8 hrs por 5 o más días por semana. Los niveles séricos de hierro no unido a la transferrina cayeron significativamente en ambos grupos dentro de las 12 hrs de inicio de la infusión continua. En el grupo subcutáneo los niveles cayeron de 4.2 a 2.0 mol/l ($p=0.001$), mientras que en el grupo I.V cayó de 3.6 a 0.1 mol/l ($p=0.006$) estos niveles se midieron a las 12 hrs después de detener el tratamiento con DFO subcutánea. Después de 4 semanas hubo una caída significativa en la ferritina sérica en ambos grupos ($p=0.009$). El nuevo aparato de liberación es efectivo para retirar hierro tóxico del plasma y reducir el hierro corporal. Sin embargo, algunos pacientes prefieren esta modalidad de tratamiento comparado con la terapia convencional con bomba de infusión. (28) Franchini y cols. compararon la excreción urinaria de hierro a las 48 hrs después de la inyección de bolos subcutáneos con DFO 2 veces al día y después de 12 hrs de la infusión continua subcutánea de la droga en 27 pacientes con sobrecarga de hierro. En muchos pacientes, la sobrecarga de hierro fue debida a múltiples transfusiones administradas durante quimioterapia como parte del cuidado por enfermedades oncológicas o hematológicas. 1 paciente tuvo anemia de células falciformes y 1 tuvo hemocromatosis hereditaria y esferocitosis. La excreción urinaria de hierro fue similar con los 2 métodos de administración de $6.935 \pm 3832 \mu\text{g}/48 \text{ hrs}$ con los bolos subcutáneos y $6630.4 \pm 3606.9 \mu\text{g}/48 \text{ hrs}$ con infusión subcutánea continua ($p=0.03$). 26 pacientes (96.3%) eligieron continuar la terapia con bolos. La eficacia a largo plazo de los bolos fue evaluado por la medición de ferritina sérica a intervalos regulares de 20.1 ± 4.5 meses. La concentración de ferritina disminuyó por debajo de $1000 \mu\text{g/l}$ en el 73% de los pacientes y por debajo de $500 \mu\text{g/l}$ en el 42%, hasta llegar a valores normales en el 26%. Mejores resultados se obtuvieron en pacientes en quienes no recibieron por periodo prolongado transfusiones sanguíneas cuando iniciaron la terapia de quelación. 3 de 26 pacientes (11.5%) tuvieron efectos colaterales leves y transitorios después de la aplicación de los bolos. (29) Wonke y cols. Estudiaron a 13 pacientes dependientes de transfusión

quienes estaban bajo tratamiento con deferiprone y/o terapia combinada con deferiprone y DFO en infusión subcutánea. La dosis inicial diaria de deferiprone en 9 pacientes fue de 75 mg/kg a 83-100 mg/kg resultando en la caída de la ferritina sérica en todos ($n=0.0022$). La terapia combinada de deferiprone diaria con DFO subcutánea de 2-6 días por semana en 5 pacientes resultó en una caída en la ferritina sérica en todos después de ser estudiados por 7-15 meses. No hubo efectos tóxicos atribuibles a la droga en estos pacientes. Estos resultados sugieren que el incremento en la dosis de deferiprone o la combinación de DFO subcutánea con deferiprone son 2 métodos con eficacia en la quelación de hierro. Con deferiprone puede mejorar la quelación inadecuada a dosis diaria de 75 mg/kg. (30) Aydinok y cols. Valoraron la efectividad del uso secuencial de deferiprone y DFO en niños con talasemia mayor. 17 pacientes talasemicos en quienes la excreción urinaria de hierro inducida por deferiprone fue suficiente para mantener un balance negativo se enrolaron en el estudio a largo plazo. Deferiprone a dosis de 75 mg/kg/día en 3 dosis divididas fue tomado por 4 días escolares por semana. El grupo que tomó DFO a dosis de 40-50 mg/kg/día subcutánea por 8-12 hrs con bomba operada por batería fue por 2 días el fin de semana. Se monitorizó los niveles de ferritina sérica a intervalos de 2 meses y las concentraciones de hierro en tejido hepático fue determinado al inicio y a los 6 meses de la terapia. La severidad del daño hepático fue graduado de acuerdo al índice de actividad hepática de Knodel y se cuantificó la fibrosis. Ninguno de los pacientes sufrió de efectos adversos a la terapia pero hubo incremento transitorio en los niveles séricos de ALT. La ferritina sérica no declinó significativamente ($p=0.08$). Una reducción significativa en la concentración de hierro hepático fue determinada ($p=0.03$). El índice de actividad en tejido hepático de pacientes a los 6 meses de terapia secuencial disminuyó significativamente ($p=0.03$) mientras la escala de fibrosis no difirió significativamente ($p=0.25$). (31)

JUSTIFICACION

La hemocromatosis adquirida es una situación grave que se presenta en pacientes multitransfundidos de forma crónica. Dado que estos pacientes requieren anualmente entre 12 y 15 unidades de sangre, la cantidad de hierro por año oscila entre 2.5 y 11 gr. Esta enfermedad es mortal a evolución natural por lo que la terapia de quelación con deferoxamina es una solución a este problema. Se han utilizado diversas formas de administración de deferoxamina, la vía intravenosa y subcutánea continua mediante una bomba de infusión continua, para lo cuál se requiere internamiento del paciente; además de los infusores portátiles subcutáneos que también son efectivos en la disminución de la sobrecarga de hierro, sin embargo además de costosos, la adherencia al tratamiento no es el óptimo. La administración de bolos subcutáneos es otra modalidad de tratamiento que no se ha estudiado lo suficiente como un alternativa eficaz para administrar la droga reduciendo los costos y mejorando la adherencia. Sin embargo los estudios realizados son en población adulta por lo que es trascendente la valoración en niños.

OBJETIVO

Demostrar que la administración de bolos subcutáneos de deferoxamina en el paciente pediátrico con hemocromatosis adquirida durante cuatro semanas, disminuye el nivel sérico de ferritina.

MATERIAL Y METODOS

UNIVERSO DE TRABAJO

Se estudiaron pacientes menores de 16 años de edad portadores de hemocromatosis adquirida secundaria a múltiples transfusiones por ser portadores de padecimientos heredados como anemias hemolíticas y aplasia pura de serie roja atendidos en el Servicio de Hematología Pediátrica del Hospital General CMN "La Raza" a partir de Octubre de 2000 a Agosto de 2001.

TAMAÑO DE MUESTRA

Prueba *t* para mediciones apareadas, datos obtenidos del estudio publicado en: Canatan D, Temimhan N, Dincer N, Ozsancak A, oguz N, Temimhan M. Continuous desferrioxamine infusión by an infusor in thalassaemia mayor. Acta Paediatr 1999; 88: 550-2.

$\alpha=0.05$ $\beta=0.20$ POTENCIA = 80 CAMBIO = 1257ng DESVIACIÓN ESTANDAR CAMBIO = 842ng

TAMAÑO ESTANDARIZADO DEL EFECTO: $1257/842=1.5$

De acuerdo a la tabla fueron menos de 12 pacientes (con un tamaño de efecto estandarizado de 1 la muestra sería de 12), lo cual nos cubre más del 15% de pérdidas, sin embargo por exceso de seguridad aumentamos otro 15% más de posibles pérdidas que nos da 14 pacientes.

Con la misma alfa y beta pero con cambio de 523ng y desviación estándar de 549 el tamaño de muestra es de 12.

CRITERIOS DE SELECCIÓN**CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Pacientes portadores de hemocromatosis adquirida secundaria a múltiples transfusiones
- Con nivel sérico de ferritina mayor de 1000 ng/dl
- Menores de 16 años
- Ambos sexos
- Carta de consentimiento informado firmada por el padre, madre o tutor

CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN

- Portadores de hemocromatosis hereditaria
- Pacientes que dejaron de ser dependientes de transfusiones
- Con proceso infeccioso o inflamatorio clínico
- Mayores de 16 años
- Con hipertermia

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Intolerancia al medicamento
- Que se niegue a continuar en la investigación
- Con proceso infeccioso o inflamatorio clínico y por laboratorio
- Defunción

VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE

DESFEROXAMINA

DESCRIPCIÓN CONCEPTUAL: Sideroamina natural sintetizada por el *streptomyces pilous* y quelante de tri-hidroxamato férrico que liga Fe (III) de manera estrecha.

DESCRIPCIÓN OPERACIONAL: La deferoxamina (Desferal, Ciba) tiene la presentación de un frasco con 0,5 g de la droga liofilizada y una ampollita de agua inyectable, reconstituida corresponde a 500 mg. Se diluye en 5 ml de agua inyectable y se administra vía subcutánea. La droga puede causar al momento de su aplicación sólo reacciones a nivel local como dolor, eritema, hiperemia, induración, comezón o incluso celulitis las cuáles son totalmente autolimitadas. Se han reportados efectos colaterales a nivel auditivo y ocular cuando la dosis del medicamento sobrepasa los 50 mg/kg/día.

ESCALA DE MEDICIÓN: Cualitativa nominal.

INDICADOR. Presente o ausente.

VARIABLE DEPENDIENTE

NIVEL SÉRICO DE FERRITINA

DESCRIPCIÓN CONCEPTUAL: La ferritina es una macromolécula de aproximadamente 440 kD que contiene en medio de su estructura alrededor de 2500 iones de hierro.

DESCRIPCIÓN OPERACIONAL: Para la determinación de ferritina se utiliza el suero o plasma. Se utilizaron tubos libres de hierro (tratados con solución 1:5 de ácido nítrico). Se recomienda su análisis dentro de las primeras 48 horas posterior a su recolección. El método utilizado para su determinación fué por turbidimetría.

ESCALA DE MEDICIÓN: Cuantitativa de razón.

INDICADOR: Se reporta en ng/ml.

OTRAS VARIABLES

HIERRO SÉRICO

DESCRIPCIÓN CONCEPTUAL: El hierro es un metal de transición que interviene en el transporte de oxígeno y electrones así como catalizador de muchas reacciones necesarias para el desarrollo, diferenciación y proliferación celulares.

DESCRIPCIÓN OPERACIONAL: El hierro se puede determinar en suero o plasma. Se utilizaron tubos libres de hierro (tratados con solución 1:5 de ácido nítrico). Se recomienda su análisis dentro de las primeras 48 horas posterior a su recolección. El principio se basa en un análisis monocromático por punto final. La metodología se basa en la formación de un complejo de color azul entre el hierro y el Ferene-S en solución ácida en analizadores de Química clínica Monarch IL.

ESCALA DE MEDICIÓN: Cuantitativa de razón.

INDICADOR: Se mide en $\mu\text{gr/dl}$

NIVEL SÉRICO DE TRANSFERRINA

DESCRIPCIÓN CONCEPTUAL: Beta globulina de 79 kD con 2 fragmentos glucosídicos formados por ácido siálico, que puede unir un máximo de 2 iones de Fe (III).

DESCRIPCIÓN OPERACIONAL: La transferrina se determina en suero o plasma. Se utilizaron tubos libres de hierro (tratados con solución al 1:5 de ácido nítrico). Se recomienda su procesamiento dentro de las primeras 48 horas posterior a su recolección. El método utilizado es por nefelometría cinética. El principio se basa en que las proteínas contenidas en el suero forman un complejo con anticuerpos específicos, por medio de una reacción inmunológica, inmunocomplejos, los cuáles pueden dispersar un rayo de luz incidente. La intensidad de la luz dispersada es proporcional a la concentración de la correspondiente proteína en la muestra, misma que se analiza en los nefelómetros Bhering.

ESCALA DE MEDICIÓN: Cuantitativa de razón.

INDICADOR: Se mide en g/l

CAPACIDAD DE FIJACIÓN DE HIERRO TOTAL (TIBC)

DESCRIPCIÓN CONCEPTUAL: Es la cantidad de hierro que puede ser unido a la transferrina en un volumen específico de suero. Es una medida indirecta de los niveles de transferrina.

DESCRIPCIÓN OPERACIONAL: El TIBC se puede determinar en suero o plasma. Se utilizaron tubos libres de hierro (tratados con solución 1:5 de ácido nítrico). Se recomienda su procesamiento dentro de las primeras 48 horas posterior a su recolección. El principio se basa en un análisis dicromático. Este método emplea una técnica de intercambio iónico en el cuál la muestra es saturada con hierro y el exceso de este es eliminado por agitación. El valor del TIBC se determina en el sobrenadante mediante la prueba IL de hierro en los analizadores de Química clínica Monarch IL.

ESCALA DE MEDICIÓN: Cuantitativa de razón.

INDICADOR: Se mide de $\mu\text{gr/dl}$.

VARIABLE DE CONFUSIÓN

INFECCIÓN

DEFINICIÓN CONCEPTUAL: Estado que se produce cuando la invasión de microorganismos o sus toxinas se encuentran en suficiente cantidad y virulencia como para estimular una respuesta inflamatoria en la parte del cuerpo afectada, de tal manera que se presentan signos y síntomas observables como la fiebre (local o sistémica), enrojecimiento y dolor.

DEFINICIÓN OPERACIONAL: Se considerará infección la presencia de hipotermia mayor o igual a 38 grados centígrados, malestar general así como la observación de algún foco infeccioso a cualquier nivel corporal.

ESCALA DE MEDICIÓN: Cualitativa nominal

INDICADOR: Presente o ausente.

Se manejará en el análisis de acuerdo a los resultados obtenidos.

METODOLOGÍA

A cada paciente se le aplicó un esquema de quelación de acuerdo a su peso que consistió en la administración de deferoxamina en bolos subcutáneos a una dosis de 30 a 50 mg/kg/día dividida en 2 cada 12 horas durante 5 días descansando sábado y domingo por 1 mes. Cada dosis se diluyó en 10 ml de agua inyectable utilizando jeringa de 10 ml con aguja de insulina y administrada a una velocidad de 1ml por minuto o más dependiendo de la tolerancia del paciente. Se tomó una muestra de sangre venosa de aproximadamente 5 ml para la determinación de ferritina, transferrina, TIBC y hierro sérico así como fibrinógeno, proteína C reactiva, factor reumatoide y pruebas de función hepática. Para el ajuste de la dosis se utilizó el índice terapéutico. Los sitios de aplicación del medicamento fueron preferentemente en la pared abdominal, y caras laterales de muslos; y brazos en aquellos pacientes que no toleraron su aplicación en el abdomen así como rotación de los bolos. Las primeras 2 aplicaciones del medicamento se llevó a cabo en el hospital y se instruyó al padre de familia sobre la técnica de aplicación para llevarse a cabo en su domicilio. Se vigilaron los efectos colaterales y reacciones anafilácticas durante su administración. Los pacientes continuaron con sus esquemas de transfusión según lo requirieran. Al final del tratamiento se tomó una nueva muestra para valorar la respuesta al tratamiento.

TIPO DE ESTUDIO

Pertenece al área clínica con diseño causiexperimental.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables cualitativas se presentan en tablas, gráficos de barras y pastel, mediante estadística descriptiva, con frecuencias y porcentajes.

El nivel de ferritina sérica se midió antes y después de las cuatro semanas de administración de la deferoxamina. Se comparó la determinación antes y después del tratamiento de cuatro semanas. Siendo una variable cuantitativa continua medida en dos grupos dependientes, para probar la hipótesis se utilizó estadística paramétrica mediante una *t* pareada de tener la muestra distribución normal; en caso de no tenerla una prueba de Wilcoxon.

FACTIBILIDAD

En el Hospital se contó con suficientes pacientes para el tamaño de muestra, portadores de hemocromatosis adquirida secundaria a múltiples transfusiones.

Hay personal capacitado en la atención de éstos pacientes. La deferoxamina se encuentra dentro del cuadro básico de medicamentos. La determinación de ferritina se realizó en el Laboratorio de análisis clínicos de este hospital.

Es importante comentar que aunque la deferoxamina se encuentra incluida en cuadro básico, el suministro del medicamento no es constante en el IMSS por lo que para analizar la factibilidad tomamos en cuenta el medicamento disponible al momento de elaborar el proyecto, alcanzando para 7 pacientes con lo que se elaboró una tesis de especialidad.

CONSIDERACIONES ETICAS

Se explicó a los padres y pacientes en que consistió el estudio, de los riesgos y beneficios, lo que quedó por escrito en la carta de consentimiento informado, señalando que pudiesen salir del estudio en el momento que lo consideren conveniente sin detrimento en la atención que reciba el paciente. Todos los datos obtenidos serán confidenciales y utilizados únicamente para publicación médica (formato de consentimiento informado anexo 1)

RESULTADOS

Se estudiaron a 7 pacientes con un rango de edad de 4-8 años (mediana 6), los cuáles fueron 5 femeninos (71%) y 2 masculinos (29%). Los diagnósticos de base establecidos en estos pacientes fueron aplasia pura de serie roja en 4 y drepanocitosis en 3.



Gráfico 1. Muestra los diagnósticos de los pacientes en estudio

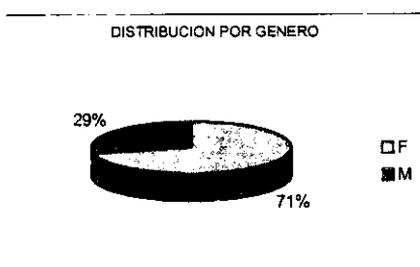


Gráfico 2. Distribución por sexo de los 7 pacientes en tratamiento de quelación

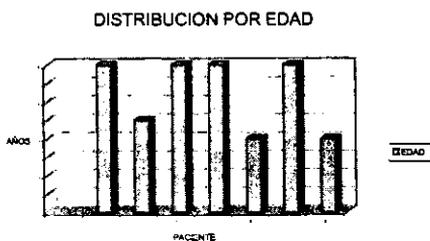


Gráfico 3. Edad en años de la población en estudio

Se obtuvieron los siguientes resultados posterior al tratamiento de quelación con deferoxamina: los valores de ferritina al inicio del tratamiento fueron de 6040-1020 ng/ml (mediana 2830 ng/ml) y al final de 2900-715 ng/ml (mediana 2558 ng/ml) lográndose una disminución del 9% el cuál fue estadísticamente significativo ($p=0.018$ prueba de Wilcoxon). Los valores de hierro sérico fueron al inicio de 204-71 $\mu\text{g/dl}$ (mediana 170 $\mu\text{g/dl}$) y al final de 206-106 $\mu\text{g/dl}$ (mediana 171 $\mu\text{g/dl}$) sin diferencia estadísticamente significativos ($p=0.799$ prueba de Wilcoxon). Con el TIBC se obtuvieron valores iniciales de 220-153 $\mu\text{g/dl}$ (mediana 205 $\mu\text{g/dl}$) y final de 271-150 $\mu\text{g/dl}$ (mediana 211 $\mu\text{g/dl}$), los cuáles no fueron estadísticamente significativos ($p=0.310$ prueba de Wilcoxon). Finalmente los valores de transferrina fueron al inicio de 1.5-1.1 g/l (mediana 1.3) y al final de 1.4-1.0 g/l (mediana 1.3 g/L) igualmente no fueron estadísticamente significativos ($p=0.680$ prueba de Wilcoxon).

Tabla 1. Resultados de monitoreo sérico en pacientes tratados con deferoxamina

| *C | **E/S | ***DX | Ferritina ng/ml INICIAL | Ferritina ng/ml FINAL | Valor p | TIBC $\mu\text{g/dl}$ INICIAL | TIBC $\mu\text{g/dl}$ FINAL | Valor p | Transferrina g/l INICIAL | Transferrina g/l FINAL | Valor p | Hierro $\mu\text{g/dl}$ INICIAL | Hierro $\mu\text{g/dl}$ FINAL | Valor p |
|----|-------|-------|-------------------------------|-----------------------------|------------|-------------------------------------|-----------------------------------|------------|--------------------------------|------------------------------|------------|---------------------------------------|-------------------------------------|------------|
| 1 | 8/+M | *APSR | 2765 | 2558 | 0.018 | 153 | 271 | 0.310 | 1.5 | 1.2 | 0.680 | 200 | 189 | 0.799 |
| 2 | 5/M | °DPS | 2830 | 2588 | | 207 | 199 | | 1.3 | 1.2 | | 180 | 130 | |
| 3 | 8/++F | APSR | 2890 | 2638 | | 220 | 150 | | 1.1 | 1.0 | | 170 | 140 | |
| 4 | 8/F | APSR | 3081 | 2900 | | 179 | 223 | | 1.2 | 1.4 | | 204 | 171 | |
| 5 | 4/F | DPS | 1944 | 1810 | | 206 | 216 | | 1.2 | 1.3 | | 80 | 187 | |
| 6 | 8/F | APSR | 6040 | 1041 | | 184 | 199 | | 1.3 | 1.3 | | 167 | 200 | |
| 7 | 4/F | DPS | 1020 | 715 | | 205 | 211 | | 1.4 | 1.4 | | 71 | 106 | |

*C: Caso

**E/S: Edad/Sexo

***DX: Diagnóstico

°APSR: Aplasia pura de serie roja

°DPS: Drepanocitosis

+M: Masculino

++F: Femenino

El dolor fue el efecto adverso más frecuente en todos los pacientes (100%) principalmente en el sitio de aplicación del medicamento. El enrojecimiento posterior a su administración se presentó en 3 pacientes (35%) efecto que fue autolimitado y no requirió de tratamiento. Ninguno de los pacientes presentó anafilaxia. En general, todos los pacientes tuvieron buena aceptación al tratamiento de quelación.

Tabla 2. Efectos colaterales de deferoxamina

| Signo | Si | No | Ocasional |
|----------------|----|----|-----------|
| Dolor | 7 | 0 | 0 |
| Enrojecimiento | 3 | 4 | 0 |
| Hinchazón | 0 | 7 | 0 |
| Edema | 0 | 7 | 0 |
| Induración | 0 | 7 | 0 |
| Rash | 0 | 7 | 0 |
| Anafilaxia | 0 | 7 | 0 |

Se excluyó a un paciente por presentar cuadro infeccioso a nivel pulmonar el cuál se reflejó clínicamente y en los resultados de ferritina sérica, fibrinógeno, PCR y FR.

DISCUSION

La deferoxamina ha probado ser efectiva y segura como agente quelante en pacientes con sobrecarga de hierro por transfusión. Los resultados sugieren que la administración de deferoxamina en bolos subcutáneos es efectiva como otra modalidad de tratamiento. En nuestro estudio se encontró una disminución del 9% en los niveles de ferritina sérica con significancia estadística, sin embargo consideramos que no es suficiente desde el punto de vista clínico, apoyando el proporcionar un tratamiento continuo y a largo plazo para evitar complicaciones secundarias al depósito de hierro en los tejidos mismo que condicionará la muerte en tiempo no determinado. Es importante tomar en consideración que en los países desarrollados, la terapia de quelación en este tipo de pacientes se lleva a cabo oportunamente y a largo plazo, contrariamente a lo que sucede en nuestro país en donde la mayoría de los pacientes no lleva a cabo un esquema de quelación estandarizado. En la mayoría de ellos se les aplica una dosis de deferoxamina durante la transfusión lo que no es suficiente para evitar la sobrecarga de hierro. Borgna y cols. encontró que la aplicación de bolos subcutáneos en estos pacientes es una buena alternativa al esquema de aplicación subcutánea continua resultados que fueron parecidos en nuestro estudio, reflejándose en el incremento del cumplimiento a la terapia y disminución de los niveles séricos de ferritina. Un aspecto importante en la vida del paciente pediátrico son sus actividades cotidianas, las cuáles son limitadas parcialmente por el uso de bombas de infusión subcutánea, con esta modalidad de tratamiento mejoran su desempeño físico y escolar como lo demuestra Aydinok y cols. quienes utilizaron una terapia combinada de deferoxamina y deferiprone obteniendo buenos resultados. Las reacciones locales con la aplicación de bolos subcutáneos y terapia convencional con bomba de infusión subcutánea son comparables. Todos los pacientes estudiados presentaron dolor en el sitio de aplicación del medicamento que fue bien tolerado y autolimitado, efectos que son similares a lo reportado en la literatura mundial. Los pacientes incluidos en este estudio continuaron con sus actividades habituales, lo cual si bien no medimos, sabemos mejora la calidad de vida.

Nuestro estudio apoya que la terapia de quelación con deferoxamina administrada vía subcutánea reduce significativamente los niveles de ferritina sérica, sin embargo esta debe llevarse a cabo oportunamente y a largo plazo para que incida en la mortalidad. Esta modalidad de tratamiento es efectiva en aquellos pacientes que tengan problemas con la terapia estándar sin embargo, para apoyar esto es necesario más estudios con terapia vía subcutánea a largo plazo, aumentar el tamaño de la muestra para valorar la respuesta y adherencia al tratamiento en la población pediátrica.

CONCLUSIONES

Se alcanzó una disminución en la concentración de ferritina sérica posterior a un mes de tratamiento del 9%.

La disminución en la concentración de ferritina sérica es estadísticamente significativa.

No se encontró cambios estadísticamente significativos en hierro sérico, TIBC y transferrina

Es necesario aumentar el tamaño de la muestra

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Andrews N. Disorders of iron metabolism. *The New England Journal of Medicine* 1999; 341 (26): 1986-94
2. Ponka P, Beaumont C and Richardson D. Function and regulation of transferrin and ferritin. *Seminars in Hematology* 1998; 35 (1): 35-54
3. Finch C. Regulators of iron balance in humans. *Blood* 1994; 84 (6): 1697-1702
4. Wick M, Pinggera W and Lehmann P. Physiological principles in ferritin iron metabolism. *Diagnosis of anemias*. Springer-Verlag Wien New York 1994: 1-13
5. Worwood M. Haemochromatosis. *Clin Lab Haem* 1998; 20: 65-75
6. Kontoghiorghes G, Pattichi K, Hadjigavriel M and Kolnagou A. Transfusional iron overload and chelating therapy with deferoxamine and deferiprone (L1). *Transfusion Science* 2000; 23: 211-223
7. Brissot P, Guyader D, Loréal O, Lainé F et al. Clinical aspects of hemochromatosis. *Transfusion Science* 2000; 23: 193-200
8. Gabutti V and Pigga A. Results of long-term iron chelating therapy. *Acta Haematologica* 1996; 95: 26-36
9. Olivieri N and Brittenham G. Iron chelating therapy and the treatment of thalassemia. *Blood* 1997; 89 (3): 739-61
10. Nielsen P, Engelhardt R, Duerken M, Janka G and Fisher R. Using SQUID biomagnetic liver susceptometry in the treatment of thalassemia and other iron loading diseases. *Transfusion Science* 2000; 23: 257-58
11. Nielsen P, Fisher R, Engelhardt R, Tondury P, Gabbe E and Janka G. Liver iron stores in patients with secondary hemosiderosis under iron chelation therapy with deferoxamine or deferiprone. *British Journal of Haematology* 1995; 91: 827-33
12. Brevor W and Hershko C. The importance of non-transferrin bound iron in disorders of iron metabolism. *Transfusion Science* 2000; 23: 185-92
13. Potrakul P, Abramov A, Hershko C and Cabantchik Z. Desferrioxamine-chelatable iron (DCI), a component of serum non-transferrin bound iron (NTBI) used for assessing iron chelation therapy. *Transfusion Science* 2000; 23: 241-42
14. Williams L, Todd S, John W and Rainey P. Performance characteristics of three serum iron and total iron binding capacity methods in acute iron overdose. *Am J Clin Pathol* 1999; 112: 657-64
15. Richardson D and Ponka P. Development of iron chelators to treat iron overload disease and their use as experimental tools to probe intracellular iron metabolism. *American Journal of Hematology* 1998; 58: 299-305
16. Porter J. Evaluation of new iron chelators for clinical use. *Acta Haematologica* 1996; 95: 13-25
17. Hider R, Liu Z and Piyamongkol S. The design and properties of 3-hydroxypyridin-4-one iron chelators with high pFe31 values. *Transfusion Science* 2000; 23: 201-09

18. Hershko C, Konija A and Link G. Iron chelators for thalassemia. *British Journal of Hematology* 1998; 101: 399-406
19. Eleftheriou A. Compliance to iron chelation therapy with desferrioxamine. *Thalassaemia International Federation* 2000 : 55
- 20 De Swarte W, Groncy P and Finklestein J. Iron chelation with deferoxamine: comparing the results of a critical Pathway to a National Survey. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 1999; 21(2): 136-141
21. Hoffbrand A and Wonke B. Iron chelation therapy. *Journal of Internal Medicine* 1997;242(supp 740): 37-41
22. Cappellini N, Cohen A, Eleftheriou A, Piga A and Porter J. Guidelines for the clinical management of thalassaemia. *Thalassaemia International Federation*. April 2000: 1-34
23. Porter J. Current strategies and perspectives in thalassaemia treatment. *Excerpta Haematologica*. 1999; 1: 11-20
24. Canatan D, Temimhan N, Dincer N, Ozsancak A, Oguz N and Temimhan M. Continuous desferoxamine infusion by an infusor in thalassemia major. *Acta Paediatrica* 1999; 88: 550-2
25. Taher A, Chamoun M, Koussa S et al. Efficacy and site effects of deferiprone (L1) in thalasemia patients not compliant with desferoxamina. *Acta Haematologica* 1999; 101: 173-77
26. Borgna C and Cohen A. Evaluation of a new method of administration of the iron chelating agent desferoxamine. *Journal of Pediatrics* 1997; 130: 86-8
27. Di Gregorio F, Romero M, Pizarelli G, Aiello G and Russo G. An alternative to continuous subcutaneous infusion of desferoxamine in thalassaemic patients. *British Journal of Hematology* 1997; 98: 601-02
28. Araujo A, Kosaryan A, Dowell M et al. A novel delivery system for continuous desferoxamine infusion in transfusional iron overload. *British Journal of Hematology* 1996; 93: 835-37
29. Franchini M, Gandini G and DeGiron M. Safety and efficacy of subcutaneous bolus injection of desferoxamine in adult patient with iron overload. *Blood* 2000; 95: 2776-79
30. Wonke B, Wright C and Hoffbrand A. Combined therapy with deferiprone and desferoxamine. *British Journal of Hematology* 1998; 103: 361-64
31. Aydinok Y, Nisli G, Kavakli K, Coker C, Kantar M and Cetingul N. Sequential use of deferiprone and desferoxamine in primary school children. *Acta Haematologica* 1999; 102: 17-21

18. Hershko C, Konija A and Link G. Iron chelators for thalassemia. *British Journal of Hematology* 1998; 101: 399-408
19. Eleftheriou A. Compliance to iron chelation therapy with desferrioxamine. *Thalassaemia International Federation* 2000 : 55
- 20 De Swarte W, Groncy P and Finklestein J. Iron chelation with deferoxamine: comparing the results of a critical Pathway to a National Survey. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* 1999; 21(2): 136-141
21. Hoffbrand A and Wonke B. Iron chelation therapy. *Journal of Internal Medicine* 1997;242(supp 740): 37-41
22. Cappellini N, Cohen A, Eleftheriou A, Piga A and Porter J. Guidelines for the clinical management of thalassaemia. *Thalassaemia International Federation*. April 2000: 1-34
23. Porter J. Current strategies and perspectives in thalassaemia treatment. *Excerpta Haematologica*. 1999, 1: 11-20
24. Canatan D, Temimhan N, Dincer N, Ozsancak A, Oguz N and Temimhan M. Continuous desferoxamine infusion by an infusor in thalassemia major. *Acta Paediatrica* 1999; 88: 550-2
25. Taher A, Chamoun M, Koussa S et al. Efficacy and site effects of deferiprone (L1) in thalassemia patients not compliant with desferoxamina. *Acta Haematologica* 1999; 101: 173-77
26. Borgna C and Cohen A. Evaluation of a new method of administration of the iron chelating agent desferoxamine. *Journal of Pediatrics* 1997; 130: 86-8
27. Di Gregorio F, Romero M, Pizarelli G, Aiello G and Russo G. An alternative to continuous subcutaneous infusion of desferoxamine in thalassaemic patients. *British Journal of Hematology* 1997; 98: 601-02
28. Araujo A, Kosaryan A, Dowell M et al. A novel delivery system for continuous desferoxamine infusion in transfusional iron overload. *British Journal of Hematology* 1996; 93: 835-37
- 29 Franchini M, Gandini G and DeGiron M. Safety and efficacy of subcutaneous bolus injection of desferoxamine in adult patient with iron overload. *Blood* 2000; 95: 2776-79
30. Wonke B, Wright C and Hoffbrand A. Combined therapy with deferiprone and desferoxamine. *British Journal of Hematology* 1998; 103: 361-64
31. Aydinok Y, Nisli G, Kavakli K, Coker C, Kantar M and Cetingul N. Sequential use of deferiprone and desferoxamine in primary school children. *Acta Haematologica* 1999; 102: 17-21

RESEARCH AND DEVELOPMENT
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

ANEXO 1

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México, D.F a ____ de ____ de 200__

Por medio de la presente autorizo que mi hijo(a) _____ Participe en el proyecto de investigación titulado "Efectividad de deferoxamina en bolos subcutáneos a las cuatro semanas de tratamiento en el paciente pediátrico con hemocromatosis adquirida" registrado en el Comité Local de Investigación con el número ____ El objetivo de este estudio es demostrar que la administración de bolos subcutáneos de deferoxamina en el paciente pediátrico con hemocromatosis adquirida durante 1 mes disminuye el nivel sérico de ferritina.

Se me ha explicado que su participación consistirá en la toma de 1 muestra de sangre para valorar los depósitos de hierro en el cuerpo. El tratamiento con deferoxamina consistirá en la aplicación de bolos subcutáneos en la pared abdominal y otras regiones corporales por medio de una jeringa para aplicarse cada 12 horas por 5 días por semana por 1 mes.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de su participación en el estudio, que son los siguientes: Durante la administración del medicamento el paciente puede presentar intolerancia al medicamento, reacciones de anafilaxia que requiera suspender inmediatamente el tratamiento o reacciones locales como eritema, inflamación y dolor, mismas que pueden ser leves o severas y en casos extraordinarios la muerte por complicaciones inherentes al medicamento. El beneficio principal es la disminución de los depósitos corporales de hierro principalmente a nivel hepático, cardíaco y endocrino, que sin tratamiento y a largo plazo conduciría inevitablemente a la muerte del paciente por falla orgánica múltiple.

Entiendo que conservo el derecho de retirar a mi hijo(a) del estudio en cualquier momento en que considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibe y que los datos relacionados con su atención serán manejados de forma confidencial.

Nombre y firma del paciente

Dra. María Teresa Dueñas González

Testigo

Testigo

ANEXO 2

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

México, D.F a ____ de _____ de 200__

Nombre del paciente _____

Afiliación _____ Edad _____ años _____ Peso _____

Diagnostico _____ Infección clínica _____

Dosis de deferoxamina _____

Datos de hemocromatosis

| | | |
|-----------------|----|----|
| Fatiga | SI | NO |
| Letargia | SI | NO |
| Perdida de peso | SI | NO |
| Dolor abdominal | SI | NO |
| Artralgias | SI | NO |
| Cefalea | SI | NO |

| | | |
|---------------------------------|----|----|
| Piel grisacea o bronceada | SI | NO |
| Artropatías | SI | NO |
| Hepatomegalia | SI | NO |
| Esplenomegalia | SI | NO |
| Transtornos del ritmo cardiaco | SI | NO |
| Datos de insuficiencia cardiaca | SI | NO |
| Alteraciones endocrinas | SI | NO |
| Alteraciones del crecimiento | SI | NO |

Laboratorio

| PARÁMETRO | INICIO | FINAL |
|-----------------------|--------|-------|
| HIERRO SERICO | | |
| TIBC | | |
| TRANSFERRINA | | |
| FÉRRITINA | | |
| FIBRINOGENO | | |
| PROTEINA C REACTIVA | | |
| FACTOR REUMATOIDE | | |
| AST | | |
| ALT | | |
| BILIRRUBINA DIRECTA | | |
| BILIRRUBINA INDIRECTA | | |
| BILIRRUBINA TOTAL | | |
| LDH | | |

ANEXO 3

Determinación de ferritina sérica

Principio

El procedimiento esta basado en la turbidimetría

Cuando una muestra que contiene ferritina se mezcla con el reactivo látex, se produce una aglutinación. El grado de aglutinación es directamente proporcional a la concentración de ferritina en la muestra y se determina midiendo el incremento de la absorbancia a 570 nm.

Uso

Los reactivos **quantex FERRITIN** son para la determinación cuantitativa in vitro de ferritina en suero o plasma humano usando los sistemas de química clínica (Lab).

Componentes reactivos

-Ferritina R1 (tampón):

Tampón HEPES 100 mM pH 7.0

-Ferritina R2 (Látex):

Suspensión de partículas de látex de poliestireno sensibilizadas con IgG antiferritina humana.

Muestras

Suero y plasma (EDTA). La ferritina es estable en las muestras durante 48 horas si se conserva de 2 y 8 °C. Para conservarlas por periodos mas prolongados se recomienda la congelación del suero. Evitar congelar y descongelar las muestras repetidamente. Homogenizar las muestras antes de ser analizadas.

Calibración

Debe usarse el **quantex FERRITIN** estándar multipunto. Las concentraciones en ng/ml están indicadas en las etiquetas de los viales. El estándar de 1000 ng/ml no debe usarse en la calibración. Recalibrar cada 30 días al cambiar el lote de reactivos, cuando el control reporte un valor fuera del rango de aceptación o cuando se haga ajustes en el instrumento. Se recomienda hacer un blanco de reactivo cada día de trabajo antes de analizar las muestras.

Análisis de datos

A partir del incremento de absorbancia de los 5 calibradores, se calcula la fórmula a aplicar. Esta fórmula se utiliza para calcular la concentración de ferritina en las muestras a partir del incremento de absorbancia obtenido con las mismas,

Control de calidad

De acuerdo con la normativa Buenas Prácticas de Laboratorio se recomienda el uso de 2 niveles de control. Comprobar que los controles por lo menos una vez al día. Usar 2 niveles de control tales como **quantex FERRITIN/MYOGLOBINE IgE control I/II**. Ver rangos de valores en la hoja adjunta al producto.

Interferencias

Se observa una interferencia máxima por lipemia de hasta un 10% con muestras con 1000 mg/dl de triglicéridos. No se observa interferencia por bilirubina hasta concentraciones de 20 mg/dl. No se observa interferencia por hemoglobina hasta concentraciones de 500 mg/dl.

Valores de referencia

Las concentraciones de ferritina que se consideran normales son:

| | |
|---|-----------------|
| Niños y adolescente (de 6 meses a 18 años)..... | 15 a 120 ng/ml |
| Hombres..... | 30 a 300 ng/ml |
| Mujeres menores de 50 años..... | 15 a 160 ng/ml |
| Mujeres mayores de 50 años..... | 20 a 300 ng/ml. |

Precisión

En el ILab 600 y en el ILab 900/1800, el cociente de variación para una muestra con 40 ng/ml de ferritina debe ser inferior al 6% dentro del ensayo e inferior al 8% en total.

Linealidad

Si la concentración de la muestra excede el rango de linealidad después de ser reanalizada automáticamente diluir 1:10 con solución salina y volver a analizarla. Multiplicar el resultado por el factor de dilución.

ANEXO 4

Determinación de ferritina por método inmunoradiométrico (IRMA)

IRMA Coat-A-count ferritin es un ensayo inmunoradiométrico de fase sólida basado con anticuerpos poli y monoclonales antiferritina.

El anticuerpo es marcado con I 125 en la fase líquida y el anticuerpo monoclonal es inmovilizado en la pared del tubo de poliestireno en el procedimiento siguiente:

-La ferritina es capturada entre los anticuerpos monoclonales antiferritina inmovilizados en la superficie interior del tubo de poliestireno y los anticuerpos policlonales marcados.

-El anticuerpo antiferritina marcado con I 125 es removido por decantación de la mezcla de reacción y lavado del tubo, esto reduce las uniones no específicas a muy bajo nivel y asegurar una excelente precisión.

-La concentración de ferritina es directamente proporcional a la radiactividad presente en el tubo después del lavado. La radiactividad es medida usando un contador gamma, después que la concentración de ferritina en la muestra del paciente es obtenida por la comparación de la cuenta por minuto del obtenido por el que establece el calibrador proporcionado por el contador.

Estandarización

El kit está equipado con calibradores de ferritina con valores de 5 a 2000 ng/ml. El ensayo está estandarizado en los terminos que establece la OMSS, con el segundo estandar internacional de ferritina número 80/587. Los calibradores están proporcionados en forma líquida listos para usarse.

Especificidad

Los anticuerpos empleados en el ensayo son altamente específicos para ferritina con muy baja reacción cruzada con otros componentes presentes en la muestra.

Materiales proporcionados

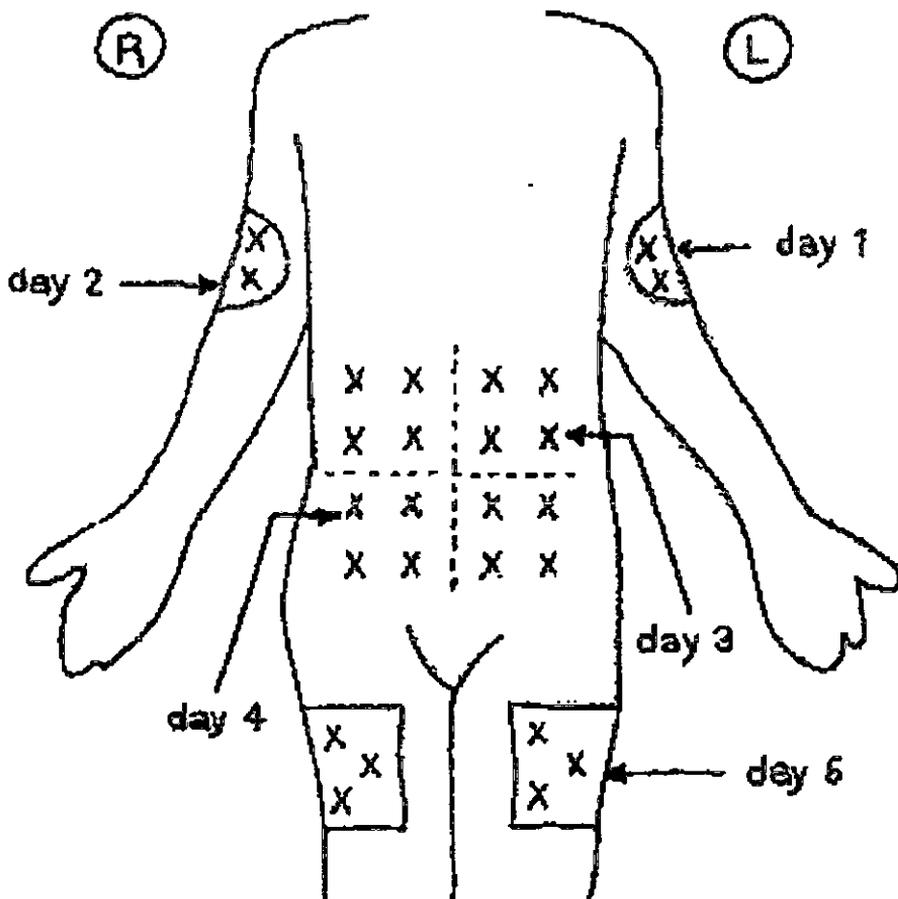
- Tubos de poliestireno con anticuerpos antiferritina monoclonal murino
- Viales con anticuerpos policlonales antiferritina ionizante
- Calibradores de ferritina (B,C,D,E,F,G) y controles A y H (1 y 2000ng/ml)
- Buffer
- Solución de lavado concentrado

Procedimiento

- Rotular por duplicado los controles, calibradores y muestras
- Pipetear 10 µl de cada calibrador, control y muestra del paciente dentro de los tubos preparados (tubos de poliestireno con anticuerpos monoclonales antiferritina murinos)
- Adicionar 100 µl de anticuerpo antiferritina marcados con I 125 en cada tubo
- Agitar por 30 minutos
- Adicionar 200 µl de buffer en todos los tubos
- Decantar completamente
- Medir por 1 minuto en el contador gamma (300.000 cpm).

ANEXO 5

Rotación de los sitios de aplicación con deferoxamina



Anexo 6

Esquema para ajustar dosis de deferoxamina

| OBSERVACIÓN | ACCIÓN |
|--|--|
| -Ferritina > 1000 µg/L o hierro hepático > 3.2 mg/g peso seco o edad ≥ 3 años y ha recibido ≥ 20 transfusiones | -Iniciar 25-30 mg/kg 5 días por semana -Reducir dosis para mantener índice terapéutico <0.025 |
| -Ferritina disminuye < 1000 µg/L o el hierro hepático 3.2-7 mg/g peso seco | -Considerar detener el tratamiento y reevaluar a los 6 meses |
| -El hierro hepático disminuye <3.2 mg/g peso seco | |
| -Ferritina > 2000 µg/L o hierro hepático 3.2-7 mg/g peso seco | -Incrementar dosis y/o frecuencia -Índice terapéutico <0.025 -No exceder 35 mg/kg si es < 5 años -No exceder 40 mg/kg hasta el total del crecimiento -No exceder 50 mg/kg en adultos |
| -Ferritina > 2000 µg/L o hierro hepático permanece >15 mg/g peso seco o complicaciones cardíacas | -Considerar infusión de 24 horas i.V O S.C si es tolerada -Índice terapéutico <0.025 -No exceder 50-60 mg/kg/día |

Anexo 7

Vigilancia de pacientes en tratamiento con deferoxamina

| EFEECTO | VIGILAR | FRECUENCIA |
|--------------------------|--|---|
| Sobrecarga de hierro | -ferritina sérica -hierro hepático | -3 meses índice terapéutico -Anual o valoración clínica |
| Complicaciones cardiacas | -ECG en reposo y ejercicio -ECG 24 hrs -MUGA o ECHO | -Anual -Sospecha de disritmia -Anual o mas frecuente si hay complicaciones |
| Crecimiento | -altura | -3 meses |
| Desarrollo sexual | -Tanner -FSH, LH ó estradiol, testosterona | -6 meses desde los 10 años de edad -6 meses |
| Diabetes | -Glucosa en orina -GTT | -Cada visita -Anual |
| Hígado | -Pruebas de función hepática -Serología hepatitis | -3 meses -Anual o valoración clínica |
| Hipotiroidismo | -T4, TSH | -6 meses |
| Hipoparatiroidismo | -Ca, PO4 -PTH y vitamina D si el calcio es bajo | -3 meses |
| Huesos | -Edad ósea (Rx de rodillas y muñecas) -Dexa scan para osteoporosis -Rx espinal | -Inicio de tratamiento y 1-2 años hasta completar crecimiento -Anual post. a 8 años de edad -Anual hasta crecimiento completo |
| Ototoxicidad | -Audiometría | -Anual o por valoración clínica |
| Toxicidad de retina | -Fondo de ojo -Electroretinografía | -Anual o por valoración clínica |
| Infección por yersinia | Cultivos de sangre y heces así como serología | -Sospecha clínica |