

**LA ACTIVACION DE LA FASE DE CONTACTO EN EL TRANSPLANTE ALOGENICO
DE MÉDULA ÓSEA Y SU ASOCIACION CON LA ENFERMEDAD HEPATICA
VENOOCCLUSIVA.**

Tesis que para obtener el grado de Maestría en Ciencias Médicas presenta:

Saida Myriam Zavala Cervantes.

TUTOR:

Dr. Abraham Majluf Cruz
Unidad de Investigación Médica en Trombosis, Hemostasia y Aterogénesis
Hospital General Regional Carlos MacGrégor Sánchez Navarro.

Sede Centro Médico Nacional Siglo XXI

Instituto Mexicano del Seguro Social



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

INDICE:

RESUMEN	2
INTRODUCCION	4
JUSTIFICACION	13
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA, HIPOTESIS Y OBJETIVOS	14
PACIENTES Y METODOS	15
PROCEDIMIENTO	18
ANALISIS ESTADISTICO	19
CONSIDERACIONES ETICAS	19
RESULTADOS	20
COMENTARIO	27
CONCLUSIONES	29
BIBLIOGRAFIA	30
ANEXOS	37

RESUMEN.

La fase de contacto de la coagulación se forma por 4 proteínas, el cininógeno de alto peso molecular, la precalicreína y los factores XI y XII. Su regulación depende de la α -2-macroglobulina, del primer componente del complemento y de la α -1-antitripsina. La activación de la fase aparece por exposición de la sangre a superficies artificiales. El trasplante alogénico de médula ósea (TAMO) es eficaz en diversas hemopatías. Tradicionalmente, se utilizaba la médula ósea del donador obtenida por punciones óseas (PO). La alternativa es la leucoféresis (LF). La enfermedad hepática venooclusiva (EHVO), es una causa de mortalidad en el TAMO y su frecuencia varía con el régimen de condicionamiento. Los objetivos de este trabajo fueron determinar si en el TAMO hay diferencia en la activación de la fase de contacto comparando las dos técnicas para obtener el injerto y si la activación de la fase se asocia con la EHVO. Realizamos un estudio prospectivo, descriptivo, comparativo y longitudinal de pacientes en TAMO para neoplasias hematológicas. Incluimos adultos que recibieron condicionamiento con busulfán+ciclofosfamida. Excluimos los pacientes con condicionamiento incompleto; tratamiento con heparina o trombolíticos; y con aumento de enzimas hepáticas pre-TAMO. Las variables dependientes fueron activación de la fase de contacto y presencia de EHVO. La activación se definió por: a. Caída de 3 factores de la fase; b. Caída de 2 factores y de un inhibidor; c. Caída de 2 factores y aumento de 1 complejo. La EHVO se diagnosticó con 2 criterios: aumento de peso >10% del inicial; hepatomegalia dolorosa o ictericia (bilirrubinas >3mg/dL). El muestreo fue basal, en los días -6, -2, 0 (antes del TAMO); 1, 2, 4, 8 y 12 h luego del TAMO; y los días +1, +2, +3, +4, +5, +7, +10, +15, +20, +25 y +30 post-TAMO. Incluimos 30 pacientes asignados a dos grupos de estudio (8 mujeres, 22 hombres). Aunque analizando por separado cada variable de la fase de contacto no hubo diferencia entre los grupos de trabajo, al analizar a los pacientes individualmente encontramos que en 13 pacientes se activó la fase de contacto (4 mujeres, 9 hombres) correspondientes a 3 pacientes del grupo LF y a 10 del grupo PO, por lo tanto se demostró diferencia significativa entre ambos grupos, a favor del grupo de PO ($p = 0.01$). Seis pacientes tuvieron EHVO (5 hombres, 1 mujer); 5 en el grupo PO y 1 del grupo LF. Cinco de los 6 pacientes murieron a consecuencia de la EHVO (4 del grupo PO); sólo 1 de los 6 no presentó activación de la fase de contacto. En 5 enfermos se encontró activada la fase de contacto y la EHVO se hizo patente pocos días luego de la activación, en 1 el mismo día y ocurrió siempre después de la infusión del injerto. Sin embargo, a pesar de esto y de que se ha descrito que el sistema de coagulación tiene un papel importante en la génesis de esta complicación, no encontramos asociación entre la activación de la fase de contacto y la presencia de la EHVO, probablemente debido al tamaño de la muestra y a las variables de confusión que existen en la presentación de esta patología. Se requieren estudios más grandes para determinar si realmente existe esta asociación y en tal caso definir si la activación de la fase de contacto puede ser un factor de riesgo en la aparición de EHVO en los pacientes sometidos a TAMO.

Palabras clave: Enfermedad hepática venooclusiva, Fase de contacto, Trasplante alogénico de médula ósea.

ABSTRACT

Contact system of blood coagulation encompasses four factors: high molecular weight kininogen, prekallikrein, and factors XI and XII. Its regulation depends on α -2-macroglobulin, C1 inhibitor, and α -1-antitrypsin. Activation of this system initiates when blood contacts artificial surfaces. Allogeneic bone marrow transplantation (ABMT) is useful in the treatment of hematological malignancies. Years ago, bone marrow was collected through several bone marrow punctures (BMP) in the donor. Today, leukapheresis (LP) is a more suitable alternative in order to obtain proper grafts. Hepatic veno-occlusive disease (VOD) is one of the leading causes of mortality in ABMT and its frequency varies according to the conditioning regimen. The aims of this research were to determine if activation of contact system is different when two techniques to obtain the graft are employed, and to know if the activation is associated with VOD. We performed a prospective, observational, comparative study of patients requiring ABMT for the treatment of hematological neoplasias. We included adult patients receiving a conditioning regimen based on busulphan plus cyclophosphamide. We excluded patients with an incomplete conditioning regimen; those treated with heparin or thrombolytics; or those with increased levels of liver enzymes before the procedure. Dependent variables were activation of the contact system and VOD. Activation was defined by: a. Low plasma levels of three factors of the system; b. Low plasma levels of two factors and one inhibitor; c. Low plasma levels of 2 factors and high plasma levels of one complex. VOD was diagnosed when two criteria were present: 10% weight gain above basal; painful hepatomegaly or jaundice (bilirubins $>3\text{mg/dL}$). Samples were obtained at days -6, -2, 0 (before ABMT); 1, 2, 4, 8 y 12 h after ABMT; and days +1, +2, +3, +4, +5, +7, +10, +15, +20, +25 y +30 post-ABMT. We included 30 patients in each of two groups (8 women, 22 men). When each variable of the contact system was analyzed separately there were no significant differences between the groups. However, analysis of individual patients showed that 13 of them had activation of the contact system (4 women, 9 men). Three patients were from LP group and 10 to BMP group ($p = 0.01$). Six patients had VOD (5 men, 1 woman); 5 from BMP group and 1 from LP group. Five out of six patients died because of VOD (4 from the BMP group). Only one of these patients had not activation of the contact system. In 5 patients contact system was activated and VOD appeared a few days after activation. In one patient, activation occurred simultaneously with activation of the contact system. VOD occurred always after infusion of graft. Although it has been described a role of the blood coagulation system in the etiology of VOD, we could not find an association between contact system activation and the presence of VOD. We feel that this may be due to the limited size of the sample in this study or perhaps due to the several confounding variables related to VOD. More studies with larger numbers of patients are required in order to determine if there is a true association between VOD and contact system activation. If so, it will be necessary to define whether or not contact system activation may be a risk factor for VOD in patients treated with ABMT.

Key words: Veno-Occlusive Liver Disease, Contact System, Allogeneic Bone Marrow Transplantation.

INTRODUCCIÓN.

La fase de contacto de la hemostasia se compone por cuatro proteínas, el cininógeno de alto peso molecular (CAPM), la precalicreína (PC) y los factores hemostáticos XI y XII (FXI, FXII, respectivamente). Originalmente, se creía que sólo las superficies artificiales con carga negativa, como el vidrio, eran capaces de activar esta fase, sin embargo, hoy sabemos que éstas no son necesarias para la activación *in vivo* (1). Datos recientes indican que esta fase tiene efecto procoagulante, profibrinolítico, antiadhesivo y proinflamatorio. El análisis molecular, bioquímico, biológico y fisiológico muestra que sus proteínas interactúan con un diferentes sistemas fisiológicos (como el de la regulación de la presión arterial) y patológicos. La fase de contacto tiene interacciones específicas con la membrana del endotelio, plaquetas, neutrófilos y monocitos que indican que su ensamblaje y activación ocurre fisiológicamente. Sólo el FXI tiene relevancia hemostática, ya que la deficiencia congénita de las demás proteínas no se traduce en hemorragia pero sí, ocasionalmente, en trombosis (1).

Interacción entre los componentes de la fase de contacto.

Activación. Se inicia con la unión del FXII a una superficie negativa o a membranas celulares donde se autoactiva y autoconvierte en FXII activado (FXIIa) (2). El FXIIa activa a la PC, al FXI y al CAPM. La PC y el FXI se unen a la superficie mediante el CAPM en donde este último es proteolizado por la calicreína o por el FXIIa (retroalimentación del sistema). La adherencia del CAPM ocurre en coordinación con la del FXIIa. La adhesión del CAPM permite que llegue más PC y FXI a la superficie ya que ambos circulan unidos al CAPM (3). La calicreína produce FXIIa más rápidamente que la autoactivación del FXII. La calicreína se separa de la superficie y proteoliza al CAPM liberando bradicinina. El objetivo inicial de la fase de contacto es producir

bradicinina y localizar los complejos de CAPMa/FXI y CAPMa/PC sobre la superficie, en proximidad con el FXIIa.

Amplificación. Sobre la superficie de contacto, el FXIIa actúa sobre CAPMa/PC y CAPMa/FXI y forma CAPMa/caliceína y CAPMa/FXIa. La caliceína no queda firme y pasa al plasma donde encuentra al FXII y al plasminógeno y convierte al FXIIa en el fragmento de FXII (fFXII) que retiene el sitio activo del FXIIa pero sin capacidad de adherirse a la superficie (4). El FXIa se une al CAPMa en la superficie y proteoliza al FIX en el plasma o en una micela de fosfolípidos activando la vía intrínseca de la hemostasia. El CAPMa unido a PC o a FXI penetra al coágulo y mantiene en la superficie fijando a sus substratos para la activación por FXIIa. Aquí, el FXIa proteoliza al CAPMa haciéndole perder su adhesión a la superficie y su efecto catalítico (5).

Regulación. Depende de los inhibidores naturales de proteasas α -2-macroglobulina (α 2-Mac), inhibidor del primer componente del sistema del complemento (C1-Inh) y α -1-antitripsina (α 1-AT). El C1-Inh inactiva el 90% del FXIIa y del fFXII y es el inhibidor más importante de la caliceína (75%) (6). La α 2-Mac inhibe el otro 25% de la caliceína. La α 1-AT es el más importante de los inhibidores del FXIa (66%).

Interacción de la fase de contacto con otros sistemas biológicos.

Fibrinólisis. La caliceína y el FXIa activan al plasminógeno pero el FXIa sólo es importante como profibrinolítico en la deficiencia de PC (4). El FXIIa y el fFXIIa activan al plasminógeno aunque su efecto, con relación al de la caliceína, es de sólo 5% (7). Además, la caliceína activa a la prourocinasa en el plasma o en la superficie plaquetaria (8). El papel fisiológico de la activación fibrinolítica por el sistema de

contacto no es claro ya que la potencia del FXIIa y del FXIa para activar plasminógeno es 1/10,000-1/40,000 de la urocinasa.

Presión arterial. La proteólisis del CAPM por la calicreína genera bradicinina. Este nonapéptido es el vasodilatador más potente que se conoce (9). El inhibidor de bradicinina, cinasa II, es similar a la enzima convertidora de angiotensina y eleva la presión arterial destruyendo a la bradicinina (vasodilatador).

Sistema del complemento. El C1-Inh es el inhibidor más importante del FXIIa, fFXII, calicreína y del C1r y C1s del sistema del complemento (10). Por otra parte, la plasmina que se forma por la acción de la calicreína y otras proteasas del sistema de contacto, activa al C1s (11). El fFXII activa la vía clásica actuando sobre el complejo del C1 (12) sin PC o plasminógeno; esto se debe a que activa, directamente, al C1r y en menor medida al C1s (13).

Interacciones con células.

Plaquetas. El tiempo de coagulación en sangre total se prolonga sin evidencia de hemorragia en la deficiencia de FXII (14), PC (15) o CAPM (16) y sólo algunos pacientes con deficiencia de FXI (17) presentan hemorragia clínica. Esto sugiere que existe una vía alterna para activar al FXI. La plaqueta activada corrige *in vitro* el problema hemostático de la deficiencia de FXII (18) al permitir la proteólisis de FXI en mezclas conteniendo FXII, calicreína y CAPM (19) y contiene una sustancia antigénica y fisiológicamente similar al FXI aunque de menor peso molecular (20). Los gránulos α contienen CAPM que se expresa en la superficie de la plaqueta activada. La plaqueta tienen receptores para CAPM (21) y una proteasa de cisteína que activa al CAPM. El FXI y el FXIa se unen a la plaqueta mediante el CAPM y éste inhibe la agregación

plaquetaria por trombina. Finalmente, los gránulos también tienen C1-Inh y α 2-Mac que se liberan en la activación plaquetaria, regulando el sistema.

Neutrófilos. La interacción entre el sistema de contacto y estas células es importante en la inflamación. El FXIIa estimula la agregación y degranulación de neutrófilos y la calicreína aumenta su quimiotaxis (22), la glucólisis aerobia, la vía de la hexosamonofosfato (23) e induce la secreción de elastasa y la producción de superóxido (24). En las reacciones de coagulación *in vitro* se libera elastasa de los neutrófilos pero en el plasma deficiente en PC o en FXII, la liberación es 1/3 del control. Probablemente, la calicreína formada durante la sepsis atrae más neutrófilos amplificando la defensa. El CAPM se une a los neutrófilos específica, saturable e irreversiblemente y es un requerimiento para que sean estimulados por calicreína (25).

Monocitos. El FXIIa se une al receptor Fc γ R1 en la superficie del monocito con lo cual disminuye la concentración de este receptor sin afectar su afinidad; el resultado es la disminución del catabolismo de complejos inmunes circulantes.

Endotelio. La bradicinina es un agonista endotelial específico (26). Al incubarse juntos, producen prostaciclina, tromboxano A₂ y activador tisular del plasminógeno. La prostaciclina inhibe la agregación plaquetaria. Por lo tanto, indirectamente, la bradicinina inhibe la agregación plaquetaria. La bradicinina induce proliferación muscular liso subendotelial que se asocia con aterosclerosis.

Consideraciones clínicas acerca de la fase de contacto de la hemostasia.

Las deficiencias congénitas de los factores de la fase de contacto se heredan con un carácter autosómico recesivo sin relación con hemorragia pero si con trombosis (27,28). Sólo los deficientes de FXI tienen hemorragia (50%) pero algunos también sufren

trombosis. Las hemorragias espontáneas son infrecuentes y pueden presentarse como hemorragia subaracnoidea, epistaxis, hematuria, metrorragia o hemorragia retiniana. También se han descrito deficiencias de los inhibidores naturales del sistema como la deficiencia del C1-Inh o edema angioneurótico hereditario.

Existen múltiples entidades clínicas asociadas con alteraciones adquiridas de la fase de contacto. En la septicemia y choque séptico la bradisinina actúa como hipotensor. El patrón hemodinámico inicial de la bacteremia por Gramm (-) y del choque endotóxico semeja al de la infusión de bradisinina (29). La cuantificación de CAPM en el choque séptico tiene valor pronóstico (30): la caída del CAPM se asocia directamente con la mortalidad. Otras enfermedades relacionadas etiológicamente con alteraciones en la fase de contacto son la rinitis alérgica (31), asma (32), síndrome postgastrectomía (33), artritis reumatoide, enfermedad articular inflamatoria (34), síndrome de insuficiencia respiratoria progresiva del adulto (35), síndrome del carcinoide y anafilaxia por picadura de insectos.

De importancia mayúscula para este proyecto es el hecho de que algunos procesos terapéuticos se asocian con activación de la fase de contacto luego de la exposición plasmática a superficies artificiales extensas y de carga negativa como las que se utilizan en la cirugía con bomba de circulación extracorpórea (36), en la aféresis terapéutica con equipos de fibra hueca (37) y en algunas membranas de hemodiálisis nuevas (38,39). Recientemente, se sugirió que pueden ocurrir tanto un aumento en la activación por contacto como acumulación de bradisinina si se utilizan filtros para plaquetas con filtros para leucocitos cargados negativamente (40), eventos que pueden explicar la hipotensión observada ocasionalmente luego de una transfusión. Ya que la activación por contacto es un fenómeno mediado por superficies, el porcentaje de

activación es proporcional al área de superficie contactada por la sangre (40). Las alteraciones en las células sanguíneas y en las proteínas plasmáticas que aparecen con la activación de la fase de contacto, aumentan el tiempo de hemorragia, la pérdida sanguínea postoperatoria y generan inflamación. El sistema fibrinolítico puede activarse mediante FXIIa. Los neutrófilos secretan elastasa y lactoferrina y los complejos calicreína/C1-Inh aumentan. Ya que la calicreína estimula la degranulación de neutrófilos, su presencia eleva la posibilidad de que la fase de contacto active a estas células (41).

Trasplante de médula ósea y enfermedad hepática venooclusiva.

El trasplante de médula ósea en sus dos variantes, alogénico y autólogo, es un arma eficaz en el tratamiento de diversos padecimientos oncológicos, especialmente los hematológicos. Con un gran número de aplicaciones adicionales en la actualidad, el trasplante alogénico de médula ósea (TAMO) representa quizá una alternativa de curación para pacientes con neoplasias que hasta hace algunos años eran incurables. Actualmente, en nuestro país se practican entre 150 a 200 TAMO anualmente (42), tanto en niños como en adultos. Tradicionalmente, el TAMO se realizaba mediante la transfusión de médula ósea proveniente de un donador histocompatible que se obtenía por 250 a 300 punciones óseas (PO) cuando el donador se encontraba bajo anestesia general. Sin embargo, con este procedimiento se cosechaban contaminantes como coágulos y espículas óseas, era necesario purgar 3 veces el material medular en filtros de vidrio lo que permitía el contacto de dicho material con una superficie sintética muy extensa. La alternativa actual es la extracción de células madre totipotenciales mediante leucoféresis (LF) en una máquina especialmente concebida para tal fin, un proceso mediante el cual el contacto de la sangre con una superficie extraña es menor pero

importante. Para llevar a cabo este procedimiento es necesario que el donador cuente con un acceso venoso apropiado.

Aunque el TAMO representa una excelente alternativa terapéutica, no carece de efectos colaterales que pueden llegar a ser letales para el paciente. Dentro de las complicaciones se encuentran: la infección, hemorragia, rechazo del injerto y en el caso particular del TAMO, la enfermedad injerto contra huésped. Además de estos, una de las complicaciones más temidas en ambas variantes de este trasplante es la enfermedad hepática venooclusiva (EHVO).

La EHVO es un síndrome clínico que complica al TAMO en los primeros 30 días luego del procedimiento siendo una de las causas de mortalidad más importantes asociadas a este procedimiento. Se considera que aparece secundario a daño endotelial, sinusoidal y de los hepatocitos de la zona 3 del acino hepático (43,44). Anatomopatológicamente, se encuentra oclusión de las vénulas hepáticas terminales, dilatación e ingurgitación de los sinusoides y necrosis de los hepatocitos (43,44). Su gravedad varía desde una enfermedad ligera hasta una fase terminal fatal caracterizada por falla multiorgánica (45-47). El diagnóstico se basa en los hallazgos clínicos y en la tríada compuesta por hepatomegalia, aumento de peso e ictericia (48-50). Hasta 60% de los enfermos tiene esta tríada (45,46,51,52). Los cambios iniciales son hepatomegalia y hepatalgia que ocurren más entre los días 8 y 10 después del TAMO aunque pueden aparecer desde el día 1 hasta el 20. La retención de sodio causa la ganancia de peso por retención hídrica, se asocia al desarrollo de hipertensión intrasinusoidal y obstrucción del flujo sanguíneo hepático y aparece casi simultáneamente con la hepatomegalia (53). La hiperbilirrubinemia se desarrolla posteriormente, usualmente alrededor del día 12 luego del TAMO (50). Cursan con edema periférico y ascitis (46).

Los hallazgos anatomopatológicos se correlacionan perfectamente con el cuadro clínico y desarrollo final de la enfermedad pero la biopsia hepática no es necesaria para el diagnóstico. Aunque otras entidades que complican el TMO se presentan con daño hepático, la presencia de retención hídrica y aumento de peso, son características de la EHVO y ayudan a hacer el diagnóstico diferencial. Cuando todavía existen dudas diagnósticas a pesar de los hallazgos clínicos, la medición de la presión transvenosa hepática y la biopsia son útiles aunque existe siempre el riesgo de complicaciones por trombocitopenia e infección. La ultrasonografía hepática puede también ser útil en los estadios tardíos de la enfermedad (54).

Se refiere que la prevalencia de EHVO va de 4 a 54% de los casos y que la mortalidad oscila entre 0 y 67% (46,54). La gravedad de la EHVO se define retrospectivamente en base al resultado final: los pacientes con criterios de EHVO pero que no son tratados y en los que la enfermedad se autolimita tienen EHVO leve; aquéllos que si requieren tratamiento y la enfermedad se resuelve se considera que tuvieron EHVO moderada; en los que mueren o en los que la EHVO no se resuelve en los 100 días postransplante se considera grave (55).

La causa más importante para que aparezca este daño es la terapia citoreductora utilizada en el condicionamiento del TAMO de hecho esto condiciona las grandes variaciones en la frecuencia y gravedad de la EHVO, otras de las variables asociadas más frecuentes son el antecedente de hepatitis viral, fiebre prolongada, respuesta inflamatoria durante el condicionamiento, y el uso de médula incompatible también los regímenes con radiación corporal total con o sin ciclofosfamida y la asociación de etopósido, carmustina y ciclofosfamida, sin embargo está demostrado que el busulfán favorece una mayor aparición del síndrome (58,59). En relación a este último fármaco, aunque la dosis es

importante, lo son más sus niveles séricos. Las dosis superiores a 16 mg/Kg de peso se relacionan estrechamente con la aparición de EHVO

Se ha documentado en estudios previos que el sistema de coagulación es crucial en la génesis de la EHVO. Las células endoteliales son particularmente sensibles a la quimiorradioterapia por lo que se sugiere que la agresión endotelial en los sinusoides y vénulas hepáticas durante la terapia de condicionamiento resulta en la activación local de las fases hemostáticas del sistema de coagulación ocluyendo inicialmente los poros que drenan en las vénulas y causando posteriormente obstrucción postsinusoidal al flujo venoso (60). Esta hipótesis se basa en los hallazgos de denudación endotelial en modelos animales y la demostración de factores hemostáticos activados dentro de las biopsias humanas de enfermos con EHVO. La liberación de citocinas endoteliales también puede favorecer la activación hemostática (44,61) como el FNT- α que se encuentra elevado en la EHVO (61,62). Algunos estudios muestran alteraciones en el sistema de coagulación antes, durante y después de la terapia citorreductiva (63-67). Se ha encontrado disminución de los niveles de AT, PC y PS durante el condicionamiento manteniéndose así durante el TMO, mientras que los factores procoagulantes como fibrinógeno y FvW permanecen altos (63,65,67). Se ha observado que el PAI-1 también permanece marcadamente elevado. El daño endotelial produce liberación de endotelinas con propiedades vasoconstrictoras y proagregantes plaquetarias que pueden promover una mayor lesión (68).

JUSTIFICACIÓN.

El TAMO es un procedimiento que se realiza cada vez con mayor frecuencia en todo el mundo. Mientras que algunas de las complicaciones más importantes de este procedimiento se manejan mejor con factores de crecimiento hemopoyético, antibióticos más potentes y apoyo transfusional, otras todavía son difíciles de prevenir y tratar adecuadamente. Una de estas complicaciones es la EHVO de la cual se cuentan con relativamente pocos datos acerca de su etiopatogenia. La EHVO es una complicación grave para la que no se cuenta con un esquema eficaz de tratamiento. Existe evidencia sólida en relación al papel fundamental del sistema de coagulación en su génesis.

El TAMO realizado mediante la técnica tradicional por PO hace necesaria la purga extensiva del material medular extraído, lo que permite el contacto de dicho material con una superficie sintética extensa y de carga negativa. Como se ha referido, existe evidencia de activación de la fase de contacto de la hemostasia durante la exposición de la sangre con superficies extrañas, por lo que es posible suponer que el procedimiento de extracción medular utilizado tradicionalmente sea también capaz de activar a la fase de contacto. En el TAMO por LF el contacto de la sangre con una superficie extraña parece ser menor y, por lo tanto, pareciera posible que la activación de la fase de contacto pudiera presentarse pero con una menor frecuencia e intensidad. Los eventos moleculares que se presentan con la activación de esta fase afectan un número importante de sistemas bioquímicos plasmáticos y juegan un rol importante en varias condiciones fisiopatológicas. Hasta ahora, se desconoce el papel real de la fase de contacto en la etiopatogenia de la EHVO, por lo que, dado el impacto de esta enfermedad en el resultado final del individuo trasplantado, es importante conocer el comportamiento de este sistema y su posible relación con la EHVO.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

1. ¿Existe diferencia en la activación de la fase de contacto de la hemostasia en los individuos que se someten a TAMO cuando las células a trasplantar se obtiene por diferentes técnicas (PO o por LF)?
2. ¿La activación de la fase de contacto de la hemostasia en pacientes sometidos a TAMO se asocia con la aparición de EHVO?

HIPÓTESIS.

1. La activación de la fase de contacto de la hemostasia se presenta con mayor frecuencia en pacientes sometidos a TAMO cuando el tejido se obtiene por PO que cuando se obtiene por LF.
2. La activación de la fase de contacto de la hemostasia en pacientes sometidos a TAMO se asocia con la aparición de EHVO.

OBJETIVOS.

1. Conocer si existen diferencias en la frecuencia de activación de la fase de contacto de la hemostasia en los individuos que se someten a TAMO cuando el tejido se obtiene por PO o por LF.
 - 1ª. Describir los cambios observados en la activación de la fase de contacto en los pacientes con TAMO con ambas técnicas de obtención del injerto PO y LF.
2. Conocer si la activación de la fase de contacto de la hemostasia en pacientes con TAM se relaciona con la aparición de EHVO.

PACIENTES Y METODO.

Lugar y población de estudio.

Pacientes que fueron sometidos a TAMO para el tratamiento de neoplasias hematológicas: leucemia aguda y leucemia mieloide crónica, en los cuales se obtuvieron las células progenitoras por 2 técnicas diferentes PO y por LF en el servicio de Hematología del CMN La Raza y del HGR Gabriel Mancera del IMSS, de marzo de 1999 a febrero del 2000.

Tipo de estudio.

Es un diseño prospectivo, descriptivo, comparativo, longitudinal.

Criterios de inclusión.

1. Pacientes que fueron sometidos a TAMO y que recibieron terapia de condicionamiento con busulfán + ciclofosfamida.
2. De sexo masculino y femenino.
3. Mayores de 16 años.
4. Portadores de neoplasias hematológicas: leucemia aguda o crónica.
5. En primera remisión hematológica.

Criterios de no inclusión.

1. Pacientes que no recibieron el condicionamiento completo.
2. Pacientes que recibieron tratamiento con heparina.
3. Pacientes que recibieron tratamiento con medicamentos trombolíticos.
4. Pacientes con alteraciones en las enzimas hepáticas antes del TAMO.

Criterios de eliminación.

1. Pacientes que no tuvieron una muestra sanguínea basal.
2. Pacientes que no aceptaron ingresar al estudio.

Variables.

Independientes.

Problema 1.

a. TAMO obteniendo las células por PO.

b. TAMO obteniendo las células por LF.

Problema 2.

a. Activación de la fase de contacto del sistema de coagulación en pacientes sometidos a TAMO.

Dependientes.

Planteamiento 1. Activación de la fase de contacto del sistema de coagulación.

Planteamiento 2. EHVO.

Descripción operacional de las variables.

Variables predictoras.

1. TAMO con células obtenidas por Punción Ósea.

Definición operacional. Infusión de células progenitoras provenientes de un donador histocompatible obteniendo las células a trasplantar mediante punción repetida de la médula ósea. Escala: dicotómica (sí o no).

2. TAMO con células obtenidas por LF.

Definición operacional. Infusión de células progenitoras provenientes de un donador histocompatible obteniendo las células a trasplantar por LF. Escala: dicotómica (sí, no).

Variables de desenlace.

3. Activación de la fase de contacto del sistema de coagulación.

Definición conceptual. Presencia de marcadores selectivos de activación bioquímica de esta fase en el plasma: disminución de los factores FXI (70-120 U/mL), FXII (70-

120/U/mL), CAPM (70-120 U/mL) o PC (35µg/mL); de los inhibidores naturales C1-Inh (240/µg/mL), α_2 -Mac (2-5 µM), α_1 -AT (2.5 mg/dL), y elevación de los complejos enzima-inhibidor α_2 -Mac/calicleína (<0.05 µg/mL) y α_1 -AT/FXI (<0.01 µg/mL).

Definición operacional. Consideramos activación de la fase de contacto del sistema de la coagulación cuando hubo simultáneamente: a. Disminución de la concentración plasmática de 3 de los factores de la fase; b. Disminución de dos factores y disminución de uno de sus inhibidores naturales; c. Disminución de dos factores con aumento de cualquiera de los complejos α_2 -Mac/calicleína o α_1 -AT/FXI. Escala: nominal dicotómica (activado, no activado).

4. EHVO.

Definición conceptual. Síndrome causado por obstrucción de los sinusoides hepáticos debido a daño isquémico en la zona 3 del acino hepático con daño endotelial, trombosis sinusoidal, necrosis de los hepatocitos circulantes y fibrosis. Esto resulta en una inversión de líquidos intravascular al extravascular que genera la tríada clínica característica.

Definición operacional. Se consideró presente cuando existieron por lo menos 2 de los criterios mencionados de la enfermedad: aumento de peso >10% del previo al TAMO; hepatomegalia dolorosa (corroborada clínica y ultrasonográficamente), o ictericia (aumento de las bilirrubinas >3mg/dL). Escala: nominal, dicotómica: (presente, ausente).

Selección de la muestra.

Tamaño.

Debido a la falta de evidencias en relación a este tema, diseñamos este estudio piloto. Incluimos todos los pacientes que reunieron los criterios de ingreso al estudio en el periodo comprendido entre el 01 de marzo del 2000 al 28 de febrero del 2001. Al final,

tuvimos 15 pacientes en cada uno de los dos grupos. Un grupo estuvo formado por los pacientes con TAMO por método tradicional por PO y el otro por los pacientes con TAMO realizado mediante LF.

PROCEDIMIENTO.

Los pacientes que cumplieron con los requisitos de los protocolos de TAMO de los Departamentos de Hematología del HGR Gabriel Mancera y del HE CMN La Raza fueron informados e incluidos en este trabajo. Cuando aceptaron ingresar al estudio, se les tomó una muestra de sangre de 6mL distribuida en dos tubos de plástico con citrato de sodio al 3.8% (9:1, vol:vol) o con citrato de sodio más un coctel de inhibidores de proteasas (benzamidina 100mM, 400µg/mL de polibreno, EDTA 20mM, 2mg/mL de SBTI, α -PMSF 2mM y 10mM Phe-Phe-Arg-CMK.), respectivamente.

Inmediatamente después de su recolección, los tubos se centrifugaron a 3500g por 10min para obtener el plasma pobre en plaquetas. La obtención de este último se hizo con pipetas Pasteur de plástico. Las muestras se alicuotaron en tubos Eppendorf de plástico de 2mL y se almacenaron a -80°C hasta su procesamiento. Luego de esta muestra basal, las siguientes tomas se realizaron en los días -6 , -2 , 0 (antes de la transfusión del material de trasplante); 1 , 2 , 4 , 8 y 12 h luego de la transfusión; y en los días $+1$, $+2$, $+3$, $+4$, $+5$, $+7$, $+10$, $+15$, $+20$, $+25$ y $+30$ luego del TAMO.

Una vez colectada la totalidad de las muestras del estudio, se procesaron de manera ciega. Las pruebas para FXI, FXII y CAPM se llevaron a cabo mediante una prueba coagulométrica utilizando plasma deficiente en el factor hemostático respectivo. Para determinar la PC se utilizó una prueba amilodítica que emplea un sustrato cromogénico específico según la técnica validada en la literatura. La determinación de

las concentraciones plasmáticas de los complejos α 2-Mac/callicreína y α 1-AT/FXI se llevó a cabo con un equipo de ELISA disponible comercialmente (Stago, Anseries, Francia) previa acidificación plasmática. La cuantificación de la concentración plasmática de los inhibidores naturales de la fase de contacto α 2-Mac, α 1-AT y C1-Inh se realizó mediante una prueba amilodítica con una técnica que requiere acidificación del plasma de acuerdo a la descripción previamente publicada. La evolución de los pacientes fue vigilada por los médicos responsables del enfermo en el servicio respectivo. En el apartado 3 se muestra la forma en que recabamos los datos relevantes en cuanto a la EHVO.

ANALISIS ESTADISTICO.

Los resultados de la variable activación de fase de contacto se analizaron mediante una prueba de X^2 con corrección de Yates para determinar diferencias entre los dos grupos. Para la asociación de la activación de la fase de contacto con la aparición de EHVO, se empleo un Prueba exacta de Fisher debido a que las frecuencias esperadas fueron menores de 5 en 3 casillas de la tabla de contingencia. Las diferencias entre las variables analizadas fueron significativas cuando $p < 0.05$.

CONSIDERACIONES ETICAS.

Este proyecto sólo utilizó muestras de sangre periférica para tener el plasma de los pacientes sometidos a TAMO. Las muestras son las requeridas rutinariamente en todo paciente sometido a este procedimiento terapéutico. Por lo tanto, no fueron una molestia o riesgo adicional para los enfermos. Sin embargo, a cada paciente que ingresó al estudio se le informó de la naturaleza del mismo y debió firmar una carta de

las concentraciones plasmáticas de los complejos α 2-Mac/callicreína y α 1-AT/FXI se llevó a cabo con un equipo de ELISA disponible comercialmente (Stago, Anseries, Francia) previa acidificación plasmática. La cuantificación de la concentración plasmática de los inhibidores naturales de la fase de contacto α 2-Mac, α 1-AT y C1-Inh se realizó mediante una prueba amilodítica con una técnica que requiere acidificación del plasma de acuerdo a la descripción previamente publicada. La evolución de los pacientes fue vigilada por los médicos responsables del enfermo en el servicio respectivo. En el apartado 3 se muestra la forma en que recabamos los datos relevantes en cuanto a la EHVO.

ANALISIS ESTADISTICO.

Los resultados de la variable activación de fase de contacto se analizaron mediante una prueba de X^2 con corrección de Yates para determinar diferencias entre los dos grupos. Para la asociación de la activación de la fase de contacto con la aparición de EHVO, se empleo un Prueba exacta de Fisher debido a que las frecuencias esperadas fueron menores de 5 en 3 casillas de la tabla de contingencia. Las diferencias entre las variables analizadas fueron significativas cuando $p < 0.05$.

CONSIDERACIONES ETICAS.

Este proyecto sólo utilizó muestras de sangre periférica para tener el plasma de los pacientes sometidos a TAMO. Las muestras son las requeridas rutinariamente en todo paciente sometido a este procedimiento terapéutico. Por lo tanto, no fueron una molestia o riesgo adicional para los enfermos. Sin embargo, a cada paciente que ingresó al estudio se le informó de la naturaleza del mismo y debió firmar una carta de

consentimiento (apartados 1 y 2). Además, el proyecto fue aprobado por los Comités Locales de Investigación de los hospitales participantes antes de iniciar el estudio.

RESULTADOS.

Incluimos en este estudio un total de 30 pacientes asignados a dos grupos de estudio, 3 mujeres y 12 varones en el grupo PO y 5 mujeres y 10 hombres en el grupo LF. La mediana de edad para todos fue 32 años (rango: 22 a 43). Para el grupo LF la mediana de edad fue 31 años (rango: 22 a 43 años) y para el grupo PO fue 33 años (rango: 23 a 42 años). No hubo diferencias significativas entre los grupos en términos de edad y sexo.

Los promedios de los factores de la fase de contacto, sus inhibidores y de los complejos plasmáticos a lo largo del estudio se muestran en la Tabla 1. Como puede apreciarse, en algunos puntos se obtuvieron valores que corresponden con los criterios de activación de la fase de contacto. En algún momento del estudio encontramos alteraciones en casi todos los factores, reguladores y complejos. Así, el FXI comenzó a descender en los días +7 y +5 en los grupos LF y PO, respectivamente y se mantuvo así hasta el día +20 en ambos grupos. Durante el período de descenso, la concentración promedio de FXI fue 62.3U/mL (rango: 59-68) en el grupo LF y en el grupo PO la concentración promedio fue 64.5U/mL (rango: 60-69) ($p=0.07$). El FXII comenzó a descender en los días +7 y +5 en los grupos LF y PO, respectivamente y se mantuvo así hasta el día +20. Durante el periodo de descenso, la concentración promedio del FXII en el grupo LF fue 61.6U/mL (rango: 60-63), mientras que en el grupo PO fue 43U/mL (rango:41-45) ($p=0.051$).

No encontramos alteraciones en la concentración del CAPM a lo largo del estudio para ambos grupos. Para la PC, observamos en ambos grupos una disminución de su concentración en el día +7 y, nuevamente, al día +20, las concentraciones de ambos

grupos eran normales. La concentración promedio en el descenso para el grupo LF fue 24 μ g/dL (rango: 22-26) y de 21.3 μ g/mL para el grupo PO (rango: 15-26) ($p=0.1$).

La concentración de los complejos α 2-Mac/calícreína aumentó en los días +7 y +10 en los grupos LF y PO, respectivamente y en ambos casos se encontraron normales hasta el día +25. El promedio de estos complejos durante los días en que se encontraron elevados fue 0.08 μ g/mL (rango:0.04-0.1 μ g/mL) para el grupo LF y de 0.13 μ g/mL (rango: 0.1-0.2 μ g/mL) para el grupo PO ($p=0.06$). Mientras que para el grupo LF no fue posible determinar la presencia de complejos α 1- AT/FXI a lo largo del estudio, en el grupo PO encontramos un ascenso en la concentración de este complejo que inició en el día +7 y que fue nuevamente indetectable al día +20. La concentración de este complejo durante el periodo de ascenso fue de 0.056 μ g/mL (rango: 0.03-0.09 μ g/mL).

Las concentraciones de los reguladores de la fase de contacto tuvieron un comportamiento sugestivo de activación similar al descrito antes. La α 2-Mac descendió en los días +7 en ambos grupos y los valores se normalizaron hasta los días +20 y +25 en los grupos LF y PO, respectivamente. En el descenso, la concentración media de este inhibidor fue 1.16 μ M (rango: 0.9-1.4 μ M) en el grupo LF y en el grupo PO la concentración promedio fue 1.2 μ M (rango: 1.1-1.4 μ M) ($p=0.7$). Para la α 1-AT, el descenso sólo apareció en el grupo PO, empezando el día +5 y permaneciendo así hasta el día +15. La concentración promedio durante la caída fue 1.5mg/dL (rango: 1.2-2.0mg/dL). Tampoco encontramos alteraciones en el C1-Inh en ninguno de los dos grupos a lo largo del estudio.

Tabla 1. Promedios de la concentración de los factores, reguladores y complejos funcionales de la fase de contacto de la coagulación en sujetos sometidos a TAMO.

Gpo	FXI 70-120 U/mL		FXII 70-120 U/mL		CAPM 70-120 U/mL		PC >35 µg/mL		α2-Mac/Cal <0.05 µg/mL		α1-AT/FXI <0.01 mg/mL		α2-Mac >2-5 µM		α1-AT >2.5 mg/dL		C1-inh >240 µg/mL	
	LF	PO	LF	PO	LF	PO	LF	PO	LF	PO	LF	PO	LF	PO	LF	PO	LF	PO
B	97	82	96	73	74	76	38	42	0	0	0	0	3.3	5.8	2.8	3.0	358	384
-6	100	87	82	92	75	73	36	40	0	0	0	0	3.6	3.9	2.6	3.4	458	346
-2	90	97	76	97	84	76	37	44	0	0	0	0	3.7	5.4	3.1	3.8	403	371
0	98	85	94	88	80	80	39	35	0	0	0	0	4.8	6.6	3.4	4.0	325	424
+1h	78	84	103	87	75	84	38	34	0	0	0	0	4.6	5.7	2.9	3.6	374	431
+2h	102	97	84	83	76	83	40	36	0	0	0	0	5.0	4.0	2.7	2.7	496	346
+4h	86	89	93	87	84	84	46	48	0	0	0	0	6.5	4.1	3.0	3.4	378	373
+8h	79	104	79	105	73	72	38	50	0	0	0	0	3.5	4.3	3.3	3.5	364	362
+12h	91	101	72	90	81	72	44	51	0	0	0	0	4.3	5.6	3.8	4.0	341	347
+1	86	93	70	70	82	64	50	48	0	0	0	0	4.7	6.0	4.0	3.7	459	462
+2	87	78	96	94	84	75	36	50	0	0	0	0	3.9	4.8	3.8	3.9	402	504
+3	99	84	94	83	82	71	34	52	0	0	0	0	5.2	3.5	3.4	2.9	364	403
+4	100	89	82	87	98	70	39	45	0	0	0	0	5.3	4.6	3.4	2.6	347	361
+5	78	64	99	44	95	73	45	43	0	0	0	0	4.5	6.6	3.9	2.0	462	371
+7	68	69	62	41	81	72	24	15	0.09	0	0	0.09	1.4	1.1	4.1	1.2	287	399
+10	60	60	60	42	75	79	26	23	0.04	0.1	0	0.05	1.2	1.3	4.0	1.3	365	342
+15	59	65	63	45	73	84	22	26	0.1	0.1	0	0.03	0.9	1.1	3.1	3.4	345	364
+20	85	98	82	82	98	86	32	45	0.1	0.2	0	0	4.2	1.4	2.9	3.8	368	402
+25	96	79	97	75	85	80	38	43	0	0	0	0	4.3	3.9	2.9	3.7	398	321
+30	78	86	102	99	73	72	39	41	0	0	0	0	3.5	4.8	3.0	3.9	318	496
X	85.9	84.5	84.3	74.2	81.4	76.3	37.0	40.5	0.165	0.02	0	0.085	3.9	4.2	3.3	3.19	380	390
±DS	12.9	12.5	13.7	27,6	7.9	5.9	7.03	9.9	0.035	0.005	0	0.02	1.4	1.7	0.47	0.84	53.6	50.6
p*	0.7		0.151		0.27		0.205		0.806		0.107		0.551		0.06		0.554	

*: LF vs. PO.

Los criterios para establecer la activación del sistema de contacto en algún momento del estudio en cada uno de estos pacientes se muestran en la Tabla 2 y en la tabla 3 se resume el promedio de niveles de los cambios encontrados en los diferentes componentes de la fase de de contacto y se comparan con los niveles normales.

Tabla 2. Criterios para definir la activación de la fase de contacto.

Pte	FXI 70-120 U/mL	FXII 70-120 U/mL	PC 35µg/mL	α2-Mac/Cal <0.05µg/mL	α1- AT/FXI <0.01mg/mL	α2-Mac >2-5µM	α1-AT >2.5mg/DI
GRUPO LEUCOFERESIS							
1	89	62	24	0	0.07	2.0	1.9
10	65	65	22	0.09	0	1.9	2.9
11	60	78	29	0.12	0.08	1.8	2.1
X±DS	71±15.5	68±8.5	25±3.6	0.07±0.6	0.05±0.04	1.9±0.1	2.3±0.5
GRUPO PUNCION OSEA							
2	68	70	25	0	0.07	1.9	2.1
6	60	60	23	0	0.09	2.8	2.8
7	86	62	26	0.05	0	1.8	2.2
8	60	59	32	0	0.05	3.9	1.6
9	63	61	41	0.05	0	2.6	1.7
10	59	54	31	0	0	2.1	1.7
11	61	59	40	0.12	0.05	1.9	1.9
12	62	60	38	0	0	1.3	2.5
14	60	61	32	0	0.08	1.7	2.7
15	62	78	15	0.2	0	2.8	1.7
X±DS	64±8.1	62±6.7	30±8.2	0.04±0.2	0.034±0.01	2.28±0.75	2.1±0.4

Tabla 3. Promedio de los cambios en los factores de la fase de contacto en pacientes con TAMO con 2 técnicas diferentes.

FACTORES	TAMO PO	TAMO LF	VAL. NORMAL
FXI	64	63	70-120
FXII	43	61	70-120
CAPM	-----	-----	70-120
PC	21.3	24	>35
α 2-Mac	1.2	1.16	>2-5
A1-AT	1.5	-----	>2.5
C1-Inh	-----	-----	>240
α 2-Mac/cal	0.13	0.8	<0.05
A1-AT/FXI	0.56	-----	<0.01

En el análisis de cada paciente, encontramos un total de 13 enfermos que reunieron los criterios para considerar activada la fase de contacto (Tabla 4). Fueron 4 mujeres y 9 varones. En total se observó activación en la fase de contacto en 10 pacientes en el grupo de PO (3 mujeres y 7 hombres) y 3 pacientes en el grupo de LF (1 mujer y 2 varones) (Tabla 4). Se realizó X^2 con corrección de Yates por frecuencias esperadas menores de 5 para buscar diferencia entre los 2 grupos la cual fue de 4.89 con $P=0.01$. Estos resultados permiten afirmar que si existen diferencias significativas en la activación de la fase de contacto entre ambas técnicas.

Tabla 4. Pacientes con TAMO con diferentes técnicas que presentaron activación de la fase de contacto

TAMO	ACTIVACION DE FASE DE CONTACTO		
	SI	NO	TOTAL
PO	10	5	15
LF	3	12	15

Tabla 5. Características de los pacientes con TAMO y activación de la fase de contacto que presentaron EHVO.

Pte	Edad Años	Sexo	Peso* %	Hepatomegalia	Bilirrubinas mg/dL	Activación de la FC	Día activación de la FC	Día del diagnóstico de la EHVO	Desenlace final
GRUPO LEUCOFERESIS									
10	35	M	15	Si	4.8	Si	7	9	Muerto
GRUPO PUNCION OSEA									
1	32	M	12	Si	5.3	No	-	16	Vivo
2	28	M	15	Si	3.8	Si	7	7	Muerto
7	40	F	11	Si	3.3	Si	10	11	Muerto
8	29	M	13	Si	5.6	Si	10	11	Muerto
14	33	M	12	Si	4.9	Si	7	12	Muerto
X_±DS	32.5**		13±1.6		4.6±0.88		7**	11**	

*: ganancia en % por arriba del peso basal; **: mediana; FC: fase de contacto.

Seis pacientes cumplieron los criterios para considerarlos portadores de EHVO (Tabla 5). Fueron 5 hombres y una mujer. Cinco pacientes fueron del grupo PO y 1 del grupo LF y sus características se muestran en la Tabla 5. De los 13 pacientes que presentaron activación de la fase de contacto 5 se asociaron con la presentación de EHVO. Sólo un paciente con EHVO no presentó activación de la fase de contacto durante su evolución (paciente 1 del grupo PO). En los 5 pacientes con activación de la fase de contacto, la mediana de aparición de la activación fue 7 días (rango: 7-10 días) y para la aparición de

la EHVO de 11 días luego de la realización del trasplante (rango: 7-16 días). En 4 pacientes la activación de la fase de contacto de la coagulación se inició antes de la aparición la EHVO. En el otro paciente que presentó EHVO y activación de la fase, la detección de ambas entidades se realizó en el mismo día. Cinco de los pacientes murieron a consecuencia de la EHVO, cuatro de ellos del grupo PO. En la tabla 6 se resumen los pacientes con activación de la fase de contacto con las 2 técnicas de trasplante que presentaron EHVO. Se realizó Prueba Exacta de Fisher para buscar asociación entre activación de la fase de contacto en pacientes con TAMO y la presencia de EHVO, sin embargo el valor p asociado al estadístico de Fisher fue de 0.68 por lo que no hubo evidencia estadística de asociación entre ambas variables.

Tabla 6. Pacientes con TAMO y activación de la fase de contacto que tuvieron EHVO

ACTIVACION DE FASE DE CONTACTO	EHVO	
	SI	NO
TAMO POR PUNCION OSEA	4	6
TAMO POR LEUCOFERESIS	1	2

: Uno de los pacientes con EHVO no presentó activación de la fase de contacto por lo que no se incluyó en esta tabla

COMENTARIO.

EL TAMO sigue siendo un procedimiento con mortalidades inmediata y mediata muy elevadas. La EHVO junto con la EICH y las infecciones constituyen una de las principales causa de muerte en los primeros 20 días luego de la realización del procedimiento (56). Ya que en años recientes se sugirió que la exposición prolongada a ciertos tipos de materiales utilizados en los sistemas de infusión y almacenamiento activaban la fase de contacto del sistema de coagulación, intentamos establecer si esta activación aparecía en los diferentes procedimientos para obtener células madre hematopoyéticas para TAMO y si, en caso de que existiera, ésta se asociase a la EHVO, una complicación temida relacionada con la activación patológica del sistema de coagulación.

En el análisis global de nuestros resultados encontramos que existen diferencias en las concentraciones de las proteínas de la fase de contacto o sus complejos dependiendo de la técnica empleada para obtener el material para el TAMO (Tabla 1). El análisis de los datos de cada paciente muestra que existe activación la fase de contacto y que, para la mayor parte de las variables analizadas, la activación comienza entre los días +5 y +7 post-TAMO y finaliza, generalmente, alrededor del día +20. El análisis del patrón de activación de la fase de contacto de los enfermos muestra que los parámetros se hacen positivos prácticamente en el mismo punto en la evolución, un dato sólido a favor de que realmente existe activación y que el patrón es reproducible. El mayor número de pacientes con criterios de activación se observó en el grupo PO (Tabla 2), por lo que pareciera que los sistemas de recolección activan la fase en el TAMO. Cada uno de estos casos cumplió con los criterios para considerar activada la fase de contacto y hubo diferencia significativa en la activación entre ambos grupos de trabajo. Esto era de esperarse por el gran contacto con superficies de carga negativas al que se expone el injerto durante la PO.

Por otro lado, las grandes variaciones en la frecuencia de la EHVO dependen de las diferencias entre los regímenes de condicionamiento, sin embargo, otros factores inciden por lo que nosotros pensamos que la activación de la fase de contacto debida a la técnica empleada para la recolección de células tallo podría asociarse a la presentación de esta.

En este estudio incluimos 30 pacientes con una distribución equitativa entre los dos grupos. En todos empleamos el mismo régimen de condicionamiento. Ningún paciente tenía daño hepático u otro factor asociado a la EHVO para evitar sesgos posibles. Además, ya que el sistema de coagulación es el punto de análisis, excluimos pacientes que recibieron medicamentos que interfirieran con este sistema, por ejemplo, heparina.

Cabe mencionar que incluimos pacientes que recibieron una infusión de médula ósea proveniente de punciones óseas repetidas. Este procedimiento no se utiliza más (salvo en casos especiales) debido a la disponibilidad amplia de la LF, método con el que se obtiene una cosecha de células progenitoras mayor para asegurar un mejor resultado del TAMO, además que implica mayor confort y seguridad para el donador. La razón por la que incluimos este grupo fue porque en el momento en el que se inició el proyecto este método era aún utilizado regularmente. Afortunadamente, este grupo nos permite ahora comparar directamente vs. La LF, lo cual hubiera sido de otra manera imposible.

Se ha documentado que el sistema de coagulación es crucial en la génesis de la EHVO. Tuvimos seis pacientes con EHVO (la mayoría del grupo PO) y llama la atención que en cinco encontramos datos compatibles con actividad de la fase de contacto. Ésta apareció, además, en todos los enfermos luego de la infusión del material de transplante y en casi todos la EHVO se hizo patente pocos días de la activación de la fase de contacto, lo que parecía indicar que la activación de la fase de contacto y la técnica de obtención del injerto estuvieran asociadas a la presentación de EHVO, sin embargo no se pudo demostrar esta

asociación. A pesar de lo anterior y de contar con información involucrando al sistema de coagulación en la génesis de la EHVO, no logramos establecer una asociación entre la activación de la fase y la presencia de EHVO. Quizá esto se debió a que el tamaño de la muestra fue pequeño y a las múltiples variables de confusión implicadas en la aparición de la EHVO. La frecuencia de EHVO cayó dentro de la expectativa para este tipo de procedimientos terapéuticos.

CONCLUSIONES.

Los resultados de este estudio muestran que la obtención de las células progenitoras por PO en el TAMO se asocia con activación de la fase de contacto del sistema de coagulación en algún momento durante la evolución de este procedimiento. La activación de la fase de contacto no se asocia con la presencia de la EHVO pero esta falta de evidencia es quizá debida al tamaño de la muestra y a las múltiples variables de confusión implicadas en la aparición de la EHVO, por lo que se requiere, de estudios prospectivos más grandes para determinar si realmente existe esta asociación y así definir si la activación de la fase de contacto puede ser un factor de riesgo en la presentación de EHVO en los pacientes sometidos a TAMO.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Colman RW, Schmaier AH. Contact system: A vascular biology modulator with anticoagulant, profibrinolytic, antiadhesive, and proinflammatory attributes. *Blood* 1997;90:3819-3843.
2. Revak SD, Cochrane CG, Griffin JH. The binding and cleavage characteristics of human Hageman factor during contact activation: A comparison of normal plasma with plasma deficient in factor XI, prekallikrein or high molecular weight kininogen. *J Clin Invest* 1977;58:1167-1175.
3. Mandle R Jr, Colman RW, Kaplan AP. Identification of prekallikrein and high molecular weight kininogen as a complex in human plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976;73:4179-4183.
4. Colman RW. Activation of plasminogen by human plasma kallikrein. *Biochem Biophys Res Commun* 1969;35:273-284.
5. Colman RW, Silver LD, Schapira M. Regulation of the coagulant activity and surface binding of high molecular weight kininogen. *Clin Res* 1984;32:551a.
6. de Agostini A, Lijnen HR, Pixley RA. Inactivation of factor XII active fragment in normal plasma: Predominant role of C1-inhibitor. *J Clin Invest* 1984;73:1542-1549.
7. Mandle RJ, Kaplan AP. Hageman-factor-dependent fibrinolysis: Generation of fibrinolytic activity by the interaction of human activated factor XI and plasminogen. *Blood* 1979;54:850-862.
8. Loza JP, Gurewich V, Johnstone M, Pannell R. Platelet-bound prekallikrein promotes pro-urokinase induce clot lysis: A mechanism for the factor XII dependent intrinsic pathway of fibrinolysis. *Thromb Haemost* 1994;71:347-351.

9. Roche e Silva M, Beraldo WJ, Rosenfeld B. Bradykinin, hypotensive and smooth muscle stimulator released from plasma globulin by snake venoms and by trypsin. *Am J Physiol* 1949;156:261-266.
10. Laurell AB, Johnson U, Martensson U, Sjöholm AG. Formation of complexes composed of C1r, C1s and C1-inactivator in human serum on activation of C1. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1978;86:299-306.
11. Ratnoff OD, Naff GB. The conversion of C1s to C1 esterase by plasmin and trypsin. *J Exp Med* 1961;25:337-341.
12. Ghebreehiwet B, Silverberg M, Kaplan AP. Activation of the classical pathway of complement by Hageman factor fragment. *J Exp Med* 1981;153:665-671.
13. Ghebreehiwet B, Randazzo BP, Dunn JT. Mechanism of activation of the classical pathway of complement by Hageman factor fragment. *J Clin Invest* 1983;71:1450-1456.
14. Ratnoff OD, Colopy JE. A familial hemorrhagic trait associated with a deficiency of a clot-promoting fraction of plasma. *J Clin Invest* 1955;34:602-608.
15. Hathaway WE, Belhasen LP, Hathaway HS. Evidence for a new plasma thromboplastin factor. I. Case report, coagulation studies and physicochemical properties. *Blood* 1965;26:521-522.
16. Colman RW, Bagdasarian A, Talamo RC. Human kininogen deficiency with diminished levels of plasminogen proactivator and prekallikrein associated with abnormalities of the Hageman factor-dependent pathways. *J Clin Invest* 1975;56:1650-1655.
17. Seligsohn U. High gene frequency of factor XI (PTA) deficiency in Ashkenazi Jews. *Blood* 1978;51:1233-1228.

18. Walsh PN. The role of platelets in the contact phase of blood coagulation. *Br J Haematol* 1972;22:237-240.
19. Walsh PN, Griffin JH. Contributions of human platelets to the proteolytic activation of blood coagulation factors XII and XI. *Blood* 1981;57:106-118.
20. Tuszynski GP, Bevacqua SJ, Schmaier AH, Colman RW, Walsh PN. Factor XI antigen and activity in human platelets. *Blood* 1982;59:1148-1156.
21. De La Cadena RA, Bradford HN, Kunapuli SP, Colman RW. The platelet binding site on the heavy chains of human high (HK) and low (LK) molecular weight kininogens is confined to residues Lys-262 Pro-272. *Thromb Haemost* 1993;69:781a.
22. Kaplan AP, Kay AB, Austen KF. A prealbumin activator of prekallikrein. III. Appearance of chemotactic activity for human neutrophils by the conversion of human prekallikrein to kallikrein. *J Exp Med* 1972;135:81-84.
23. Goetzl EJ, Austin KF. Stimulation of human neutrophil leukocyte aerobic glucose metabolism by purified chemotactic factors. *J Clin Invest* 1974;53:591-595.
24. Zimmerli W, Huber I, Bouma BN, Lammle B. Purified human plasma kallikrein does not stimulate but primes neutrophils for superoxide production. *Thromb Haemost* 1989;62:1121-1128.
25. Gustafson EJ, Lukasiewicz H, Wachtfogel YT, Colan RW. High molecular weight kininogen inhibits fibrinogen binding to cytoadhesins of neutrophils and platelets. *J Cell Biol* 1989;109:377-387-391.
26. Ryan US, Ryan JW, Habliston DL, Pena GA. Endothelial cells and components of the kallikrein-kinin system. *Adv Exp Med Biol* 1979;120B:275-277.
27. Gluek HI, Roehll W Jr. Myocardial infarction in a patient with a Hageman (factor XII) defect. *Ann Intern Med* 1966;64:390-395.

28. Currimbhoy Z, Vinciguerra V, Palakavongs P, Kuslansky P, Degnan TJ. Fletcher factor deficiency and myocardial infarction. *Am J Clin Pathol* 1976;65:970-974.
29. Mason DT, Melmon KL. Effects of bradykinin on forearm venous tone and vascular resistance in man. *Clin Res* 1965;17:106-111.
30. Hirsch EF, Nakajima T, Oshima G, Erdos EG, Herman CM. Kinin system responses in sepsis after trauma in man. *J Surg Res* 1974;17:147-151.
31. Proud D, Baumgarten CR, Naclerio RM, Lichtenstein LM. The role of kinins in human allergic disease. *NER Allergy Proc* 1986;7:213-218.
32. Freyria AM, Lasser EC, Lyon SG, Simon RA. α 2 Macroglobulin-kallikrein potentiates contact system activity: Possible effect in asthma. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1987;83:341-347.
33. Wong PY, Talamo RC, Babior BM, Raymond GG, Colman RW. Kallikrein-kinin system in postgastrectomy dumping syndrome. *Ann Intern Med* 1974;80:577-582.
34. De La Cadena RA, Stadnicki A, Uknis B. Inhibition of plasma kallikrein prevents peptidoglycan-induced arthritis in the Lewis rat. *FASEB J* 1995;9:446-450.
35. Carvalho AC, DeMarinis S, Scott CF, Silver LD, Schmaier AH, Colman RW. Activation of the contact system of plasma proteolysis in the adult respiratory distress syndrome. *J Lab Clin Med* 1988;112:270-275.
36. Watchfogel YT, Harpel PC, Edmunds LH, Colman RW. Formation of C1s-C1-inhibitor, kallikrein-C1-inhibitor, and plasmin- α 2-plasmin inhibitor complexes during cardiopulmonary bypass. *Blood* 1989;73:468-471.
37. Isbister JP, Biggs JC. Reactions to rapid infusion of stable plasma protein solutions during large volume plasma exchange. *Anesth Intensive Care* 1976;4:105-108.

38. Schaefer RM, Fink E, Schaefer L, Barkhausen R, Kulzer P, Heiland A. Role of bradikinin in anaphylactoid reactions during hemodialysis with AN69 dialyzers. *Am J Nephrol* 1993;13:473-479.
39. Schulman G, Hakm R, Silverberg M, Kaplan AP, Arbeit L. Bradikinin generation by dialysis membranes: Possible role in anaphylactoid reactions. *J Am Soc Nephrol* 1993;3:1563-1569.
40. Scott CF, Colman RW. Lack of clinically significant contact activation during platelet concentrate filtration by leukocyte removal filters. *Blood* 1998;92:616-22.
41. Wachtfogel YT, Pixley R, DeLa Cadena RA, Colman RW. Human neutrophil degranulation during extracorporeal circulation. *Blood* 1987;69:324-330.
42. Registro Nacional de Trasplantes 2006. Secretaría de Salud. México.
43. Shulman HM. An analysis of venoocclusive disease and centrilobular hepatic degeneration following bone marrow transplantation. *Gastroenterology* 1980;79:1178-1191.
44. Shulman HM, Hinterberger W. Hepatic venoocclusive disease-liver toxicity syndrome after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1992;10:197-214.
45. Jones RJ. Venooclusive disease of the liver following bone marrow transplantation. *Transplantation* 1987;44:778-783.
46. McDonald GB. Veno-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation: A cohort study of 355 patients. *Ann Intern Med* 1993;118:255-267.
47. Kanamori H, Unis TK, Roland WR. Case report: fulminant hepatitis C viral infection after allogenic bone marrow transplantation. *Am J Med Sci* 1992;303:109-111.
48. McDonald GB, Gibson RT, Andrei GT, Roberts GJ. The clinical course of 53 patients with venoocclusive disease of the liver after bone marrow transplantation 1985;36:603-608.

49. Rollins BJ. Hepatic veno-occlusive disease. *Am J Med* 1986;81:297-306.
50. McDonald GB, Shulman HM, Wolford HL, Spencer GD. Liver disease after bone marrow transplantation. *Semin Liver Dis* 1987;7:210-229.
51. McDonald GB. Venooclusive disease of the liver after bone marrow transplantation: Diagnosis, incidence and predisposing factors. *Hepatology* 1984;4:116-122.
52. Ganem G, Ross FG, Kim F, Asher TH, Ulam B, Sting TR. Venooclusive disease of the liver after allogenic bone marrow transplantation in man. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1988;14:879-884.
53. DiBona GF. Update on renal neurology: Role of the renal nerves in formation of edema. *Mayo Clin Proc* 1989;64:469-472.
54. Bearman SI. The syndrome of hepatic veno-occlusive disease after marrow transplantation. *Blood* 2001;85:3005-3020.
55. Bearman SI. Venooclusive disease of the liver: Development of a model for predicting fatal outcome after bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 1993;9:1729-1735.
56. Mc Donald GD, Hinds MS, Fisher LD. Liver disease in marrow transplant patients lead to multi organ failure: a prospective study of 355 patients. *Hepatology* 1991;14:163A.
57. Shuhart MC, McDonald GB. Gastrointestinal and hepatic complications. En: Forman SJ, Blume KG, Thomas ED: *Bone Marrow Transplantation*. Primera Edición. Blackwell Scientific Publications. 1994;454-481.
58. Atkinson K, Rivers A, Melanei T, Han TH, Marcuso RTA. Preparative regimens for marrow transplantation containing busulphan are associated with haemorrhagic cystitis and hepatic veno-occlusive disease but a short duration of leucopenia and little oropharyngeal mucositis. *Bone Marrow Transplant* 1987;2:385-394.

59. Vassal G. Is 600 mg m² appropriate dosage of busulphan in children undergoing bone marrow transplantation? *Blood* 1992;79:2475-2479.
60. Shulman HM, Gown AM, Nugent DJ. Hepatic venoocclusive disease after bone marrow transplantation. Immunohistochemical identification of the material within occluded central venules. *Am J Pathol* 1987;127:549-558.
61. Holler E, Klob HJ, Moller A. Increased serum levels of tumor necrosis factor- α precede major complications of bone marrow transplantation. *Blood* 1990;75:1011-1016.
62. Jaattela M. Biology of disease. Biologic activities and mechanisms of action of tumor necrosis factor-alpha cachectin. *Lab Invest* 1991;64:724-742.
63. Scrobahaci ML. Liver venoocclusive disease after bone marrow transplant. Changes in coagulation parameters and endothelial markers. *Thromb Res* 1991;63:509-519.
64. Faioni EM, Cattaneo M, Shulman W, Brister Y, Kim A. Naturally occurring anticoagulants and bone marrow transplantation: Plasma protein C predicts the development of veno-occlusive disease of the liver. *Blood* 1993;81:3458-3462.
65. Gordon B. High frequency of antithrombin 3 and protein C deficiency following autologous bone marrow transplantation for lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 1991;8:497-502-505.
66. Harper PL, Kurowi L, Coins B, Lambert R, Chi R, Burton K. Changes in the natural anticoagulants following bone marrow transplant. *Bone Marrow Transplant* 1990;5:39-42.
67. Collins P. Haemostatic changes in uncomplicated bone marrow transplants. *Bone Marrow Transplant* 1991;7(suppl):54.
68. Battistini B, D'Orleans-Juste P, Sirois P. Endothelins: Circulating plasma levels and presence in other biologic fluids. *Lab Invest* 1993;68:600-628.

ANEXO 1.

Información para participar en el estudio:

La activación de la fase de contacto en el trasplante alogénico de médula ósea y su asociación con la enfermedad hepática venooclusiva.

Estimado paciente:

Me permito solicitarle unos momentos de su atención para informarle de las características del estudio que estamos llevando a cabo. Usted ha sido seleccionado para ser sometido a un trasplante de médula ósea procedimiento mediante el cual se espera terminar con su problema hematológico. Como Usted ya sabe, se trata de un procedimiento relativamente seguro, sin embargo, ocasionalmente se presentan algunas complicaciones importantes que pueden llegar a ser graves. Una de estas complicaciones es la enfermedad hepática venooclusiva en la cual las venas pequeñas del hígado se tapan y ocluyen la circulación de la sangre a este nivel. Como resultado, aparece una gran cantidad de complicaciones secundarias y aunque en una gran parte de los enfermos este problema desaparece, en algunos casos esto no es tan fácil y se puede presentar un desenlace fatal. Desgraciadamente, se desconocen muchos de los aspectos que determinan la aparición de esta enfermedad. Por tal motivo, lo estamos invitando a participar en este proyecto en el cual pretendemos determinar cual es el papel de una parte del sistema de coagulación que se denomina fase de contacto en la aparición de la enfermedad.

Para llevar a cabo el estudio, sólo requerimos de una pequeña cantidad de sangre extra de la que se le tomará todos los días para verificar la evolución del trasplante. No serán necesarias punciones adicionales, ni ningún otro procedimiento incómodo o que ponga en riesgo su salud. Por lo tanto, las molestias que le ocasionaremos serán muy pocas si considera que la mayor parte de las punciones que se requieren son necesarias, aún cuando no acepte ingresar a este estudio. Gracias de antemano por su comprensión acerca de la trascendencia de este estudio. Tenga por seguro que de no aceptar, esto no interferirá con que reciba el mejor de los tratamientos posibles para su enfermedad.

A T E N T A M E N T E.

Dra. Saida Myriam Zavala Cervantes.

Tel: 5639-5822 (ext. 1158).
Unidad de Investigación. HGR Gabriel Mancera.

Tel: 5725-5900 (ext. 3221)
Departamento de Hematología. Hospital de Especialidades CMN La Raza
Instituto Mexicano del Seguro Social.

ANEXO 2.
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Por medio de este conducto y luego de haber leído la carta de información pertinente, el que firma, _____, hago de su conocimiento que libre y voluntariamente he aceptado en participar en el proyecto de investigación “**La activación de la fase de contacto en el trasplante alogénico de médula ósea y su asociación con la enfermedad hepática venooclusiva**” que se realiza en los Departamentos de Hematología del Hospital General Regional Gabriel Mancera y del Hospital de Especialidades del Centro Médico La Raza del Insituto Mexicano del Seguro Social. Estoy consciente que para tal estudio es necesario que todos los días me sea extraída una cantidad extra de sangre a la que se requiere rutinariamente para evaluar mi evolución durante el trasplante de médula ósea. Estoy enterado que en el seguimiento de mi enfermedad se requiere de múltiples punciones venosas y que la cantidad extra de sangre que se me extraiga no implica ningún perjuicio para mi salud. Por otra parte, es de mi conocimiento que seré libre de retirarme del proyecto en el momento que yo así lo desee y que también puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en este estudio. En caso de que decidiera retirarme, la atención que como paciente recibo en esta institución no se verá afectada.

A T E N T A M E N T E.

Nombre _____	Firma
Dirección _____	Fecha
Testigo	
Dirección	
Testigo	
Dirección _____	

ANEXO 3.

Hoja 1 de recolección de datos clínicos.

La activación de la fase de contacto en el trasplante alogénico de médula ósea y su asociación con la enfermedad hepática venooclusiva

Nombre:					Edad			Número progresivo:					
Cédula					Sexo:	Fecha ingreso:			Tipo de trasplante:				
	FXI	FXII	CAPM	PC	α2-Mac/caliceína	α1- AT/FXI	α2-Mac	α1-AT	C1-inh	↑ de peso	hepatomegalia	ictericia	
B													
-6													
-2													
0													
+1h													
+2h													
+4h													
+8h													
+12h													
+1													
+2													

ANEXO 3

Hoja 2 de recolección de datos clínicos.

La activación de la fase de contacto en el trasplante alogénico de médula ósea y su asociación con la enfermedad hepática venooclusiva

Nombre:								Cédula:			No. Progresivo:	
	FXI	FXII	CAPM	PC	α 2-Mac/calícreína	α 1- AT/FXI	α 2-Mac	α 1-AT	C1-inh	↑ de peso	hepatomegalia	ictericia
+3												
+4												
+5												
+7												
+10												
+15												
+20												
+25												
+30												
EHVO en los días:										SI	NO	Grado:
Estado final del paciente a los 30 días post-TMO:										VIVO		MUERTO