



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

FISIOPATOLOGÍA Y TRATAMIENTO DE LA ANEMIA
APLÁSICA.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A:

NORMA PATRICIA MÉNDEZ ORTIZ

TUTOR: C.D. RODRIGO GUZMÁN ÁLVAREZ

ASESORA: C.D. REBECA ACITORES ROMERO



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.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme en mi camino todo lo necesario para llegar a este momento.

A mis padres, por su apoyo incondicional, sus consejos, su esfuerzo, su confianza y principalmente por su infinito amor.

A mis hermanos, por estar conmigo, apoyarme en todos los instantes y por enseñarme cual es el camino correcto.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	5
-------------------	---

CAPÍTULO I ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE LOS COMPONENTES SANGUÍNEOS

1.1 Definición.....	7
1.2 Historia.....	8
1.3 Anatomía y fisiología de los componentes sanguíneos.....	9
1.3.1 Hematopoyesis.....	10
1.3.2 Factores de crecimiento hematopoyético.....	13
1.3.3 Sangre.....	15
1.3.4 Elementos figurados de la sangre.....	16
1.3.5 Valores normales sanguíneos.....	21

CAPÍTULO II EPIDEMIOLOGÍA, ETIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO

2.1 Epidemiología.....	23
2.2 Etiología.....	25
2.3 Diagnóstico y clasificación.....	28

CAPÍTULO III FISIOPATOLOGÍA DE LA ANEMIA APLÁSICA

3.1 Alteraciones a nivel de progenitores hematopoyéticos.....	34
3.2 Alteraciones en el microambiente hematopoyético.....	37
3.3 Alteraciones en células circulantes.....	40
3.3.1 Destrucción de la médula por mediación inmune de las células T.....	41
3.3.2 Sobre expresión del ligando Fas sobre linfocitos T en anemia aplásica.....	42

3.3.3 Mutación del gen perforin.....	43
3.3.4 Deficiencia de CD4+CD25+FOXP3+ reguladores de células T.....	45

CAPÍTULO IV TRATAMIENTO PARA LA ANEMIA APLÁSICA

4.1 Terapia inmunosupresora.....	47
4.2 Transplante de células hematopoyéticas.....	58
4.2.1 Indicaciones del transplante.....	59
4.2.2 Evaluación del candidato a transplante, con donador compatible.....	61
4.2.3 Programa de transplante alogénico relacionado.....	62
4.2.4 Transplante con donador no relacionado.....	65
4.2.5 Células de cordón placentario.....	65
4.2.6 Terapia de soporte.....	66

CAPÍTULO V MANIFESTACIONES ORALES Y MANEJO ODONTOLÓGICO

5.1 Manifestaciones orales y manejo odontológico.....	72
---	----

CONCLUSIONES.....	80
-------------------	----

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
---------------------------------	----

INTRODUCCIÓN

La anemia aplásica es un síndrome de insuficiencia medular, que cursa con pancitopenia. Esta enfermedad puede presentarse a cualquier edad, pero es más común en pacientes jóvenes. Es una enfermedad rara, sin embargo, su incidencia varía en cada región del mundo, por ejemplo, en México existe un alto porcentaje de pacientes con anemia aplásica, comparado con países europeos.

La lista de los posibles agentes causales es muy larga e incluyen diversos medicamentos, químicos, así como diferentes tipos de virus, entre otros.

Esta enfermedad cursa con síntomas típicos de una anemia, la cual es difícil de diagnosticar por su parecido a otras enfermedades que cursan igualmente con pancitopenia.

Diversos estudios indican que las alteraciones se dan en el sistema hematopoyético; estas alteraciones pueden presentarse a tres niveles: en primer lugar a nivel de las células seminales hematopoyéticas, en segundo lugar a nivel del microambiente de la médula ósea y finalmente a nivel del sistema inmunológico y es muy factible que éstas alteraciones se presenten en forma simultánea.

El tratamiento principalmente consiste, en terapia inmunosupresora y transplante de médula ósea, lo cual va depender de las características de cada paciente. Estas terapias llevan un régimen muy rígido que alteran órganos y sistemas, por tanto el tratamiento odontológico se enfoca en brindar al paciente las mejores alternativas, sin perjudicar su tratamiento y evitar mayores daños.

Así mismo, en la medida que el cirujano dentista se involucra en esta alteración, podrá conocer sus efectos en la cavidad bucal y de esta manera, si el paciente no ha sido diagnosticado, ante una hemorragia inexplicable enviarlo a un laboratorio de análisis clínicos para descartar ésta u otras alteraciones y por lo tanto, brindar un tratamiento adecuado, mejorar la sintomatología oral y evitar iatrogenias.

CAPÍTULO I

ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE LOS COMPONENTES SANGUÍNEOS

1.1 Definición

Anemia aplásica es un término hasta cierto punto erróneo, aplicado a un síndrome de insuficiencia medular que cursa con pancitopenia (neutropenia y trombocitopenia). El fracaso medular procede de la insuficiencia o la desaparición de células madre mieloides multipotentes.¹

La anemia aplásica adquirida es distinta de la aplasia medular iatrógena, es decir, de la médula hipocelular que aparece con frecuencia después de utilizar quimioterapia citotóxica intensiva, para combatir las neoplasias malignas. La anemia aplásica también puede ser constitucional: así ocurre en la forma genética de la anemia de Fanconi, que si bien suele asociarse a anomalías físicas características y a la aparición de pancitopenia en las primeras fases de la vida, también puede manifestarse como una insuficiencia de la médula ósea en adultos jóvenes previamente sanos. Con frecuencia la anemia aplásica adquirida ofrece manifestaciones muy estereotipadas: comienza de manera súbita con recuentos celulares bajos en un adulto joven previamente sano y puede ir precedida de una hepatitis seronegativa o de un ciclo terapéutico con algún fármaco al que se considera responsable. A veces, la citopenia sanguínea es moderada o incompleta, manifestándose por alguna combinación de anemia, leucopenia y trombocitopenia. La anemia aplásica guarda relación con la hemoglobinuria paroxística nocturna PNH y con las MDS (síndromes mielodisplásicos), y en ocasiones resulta imposible distinguir con claridad estos procesos.²

1.2 Historia



Fig. 1 Paul Ehrlich⁴⁵

Paul Ehrlich describió el primer caso de anemia aplásica en 1888. Su enfermo era una mujer de raza blanca, de 21 años de edad, que murió aproximadamente un mes después de comenzar la enfermedad, que se caracterizó por menorragia, hemorragias retinianas y palidez intensa. La sangre periférica, que presentaba anemia y

leucopenia intensa, se consideró anormal por no observarse en ella células rojas nucleadas, a pesar de la anemia intensa. Esta falta manifiesta de aumento de producción sanguínea en respuesta a la anemia, se explicó por el aspecto inactivo y graso de la médula ósea, al efectuar la autopsia. Después de la descripción de Ehrlich, se publicaron casos similares de esta enfermedad mortal. Se reconoció también que un cuadro clínico idéntico al de estos casos “ideopáticos” ocurría a consecuencia de la exposición a productos tóxicos como benceno, arsenicales y rayos X.

El concepto del trastorno se amplió más todavía, incluyendo al paciente con el cuadro clínico y la imagen histológica de sangre periférica característicos de la anemia aplásica, a pesar de que la médula ósea presentara celularidad normal o aumentada. Muchos de estos pacientes parecen sufrir en realidad una eritropoyesis inadecuada de un tipo u otro, más que una aplasia.

Además otros casos se consideran incluidos en esta categoría, si la anemia resultaba de insuficiencia de eritropoyesis, cuando tal anemia ocurría sola o se acompañaba de neutropenia o trombocitopenia.³

1.3 Anatomía y fisiología de los componentes sanguíneos

Médula ósea: La cavidad medular de los huesos largos y los intersticios entre las trabéculas de los huesos esponjosos albergan al tejido blando gelatinoso, muy vascularizado y celular conocido como médula. Se encuentra aislada del hueso por el endosito (compuesto por células osteogénicas, osteoblastos y osteoclastos ocasionales). La médula ósea constituye casi el 5% del peso corporal total. Es la encargada de la formación de las células sanguíneas (hematopoyesis) y su descarga en el sistema circulatorio, y efectúa esta función desde el quinto mes de la vida prenatal hasta que la persona fallece. La médula ósea ofrece también un microambiente para gran parte del proceso de maduración de los linfocitos B y para la maduración inicial de los linfocitos T.⁴

Las células de la sangre aparecen primero durante la tercera semana de desarrollo embrionario en el saco vitelino, pero estas células proceden de una población de células madre primitivas limitadas a la producción de células mieloides. Todavía no está claro el origen de las células madre hematopoyéticas definitivas que dan lugar a las células linfoides y mieloides. Al tercer mes de la embriogénesis, las células madre procedentes del saco vitelino emigran al hígado, que representa el principal lugar de formación de células sanguíneas, hasta poco antes del nacimiento. A partir del cuarto mes del desarrollo, las células madre emigran a la médula ósea para comenzar la hematopoyesis en ese sitio. En el momento del parto, la médula distribuida por todo el esqueleto exhibe actividad hematopoyética, y representa virtualmente la única fuente de células sanguíneas. Hasta la pubertad, la médula distribuida por el esqueleto permanece roja y hematopoyéticamente activa. A los 18 años solo las vértebras, las costillas, el esternón, el cráneo, la pelvis y las regiones epifisarias proximales del húmero y el fémur conservan médula roja; la médula restante se convierte en amarilla, grasa e

inactiva. Así, en los adultos aproximadamente sólo la mitad del espacio medular total participa en forma activa en la hematopoyesis.¹

1.3.1 Hematopoyesis

Todas las células sanguíneas se originan en células madres hematopoyéticas pluripotenciales (CMHP), que constituyen aproximadamente 0.1% de la población de células nucleadas de la médula ósea. Suelen ser amitóticas, pero pueden experimentar explosiones de división celular y originar más CMHP lo mismo que dos tipos de células madres hematopoyéticas multipotenciales (CMHM). Las dos poblaciones de CMHM, unidades esplénicas formadoras de colonias (CFU-S) y unidades formadoras de colonias de linfocitos (CFU-Ly), son las encargadas de la formación de diversas células progenitoras.

Las células CFU-S son predecesoras de las células mieloides (eritrocitos, granulocitos, monocitos y plaquetas), en tanto que los CFU-Ly son predecesores de las células linfoides células T y células B y posiblemente las células asesinas naturales (NK). Las células tanto las CMHP como las CMHM se parecen a los linfocitos, y constituyen una fracción pequeña de la población de células nulas de la sangre circulante.

Las células progenitoras parecen también linfocitos pequeños, pero son unipotenciales (es decir, están programadas para formar una sola línea celular, por ejemplo, de eosinófilos). Su actividad mitótica y su diferenciación se encuentran bajo el control de factores hematopoyéticos específicos. Estas células tienen solo capacidad limitada para renovarse por sí solas.

Las células precursoras se originan en las células progenitoras, y son incapaces de renovarse por sí mismas. Cuentan con características

morfológicas que permiten reconocerlas como las primeras células. Las células precursoras experimentan división y diferenciación celular, y por último dan origen a una clona de células maduras. Conforme prosigue la maduración y la diferenciación celular, las células sucesivas se van volviendo más pequeñas, desaparecen sus nucléolos, se vuelve más densa su red de cromatina y las características morfológicas de sus citoplasmas se aproximan a las de las células maduras.

Se ha demostrado que todas las células sanguíneas se derivan de una sola célula madre pluripotencial. Sin embargo, células individuales aisladas, originan sólo eritrocitos, eosinófilos, o algún otro tipo de célula sanguínea. Se ha demostrado que existen dos tipos de células pluripotenciales, CFU-S y CFU-Ly, que origina la serie mieloide de células y los linfocitos, respectivamente. La investigación adicional ha demostrado que cada célula precursora cuenta con una unidad formadora de colonias unipotencial como su predecesora. Las células precursoras experimentan una serie de divisiones y diferenciaciones celulares para producir la célula madura. Fig.1¹

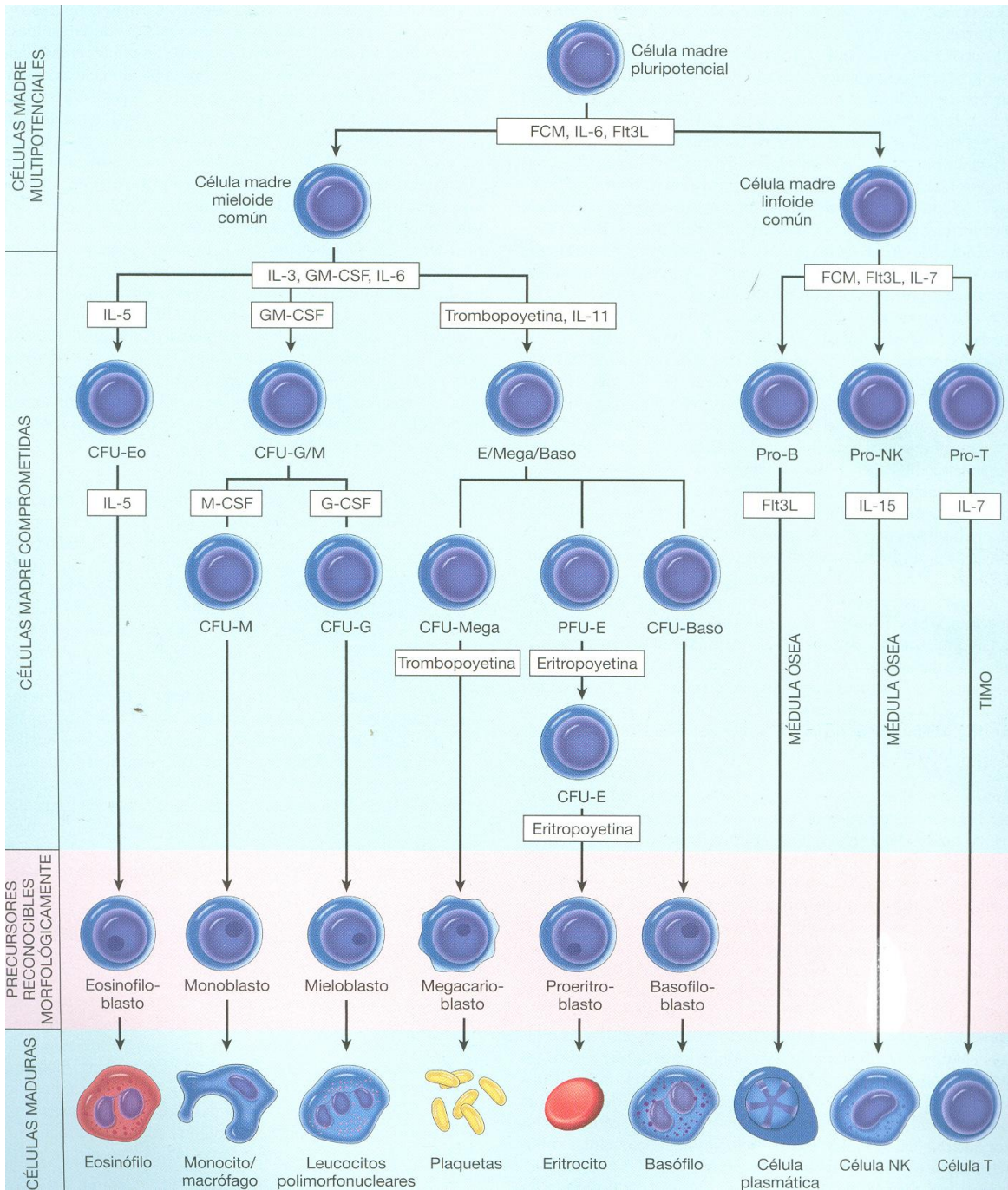


Fig.2 Diferenciación de las células hematopoyéticas¹

1.3.2 Factores de crecimiento hematopoyético (Factores estimulantes de colonia)

Las CMHP se pueden distinguir de otras células de la médula ósea por una proteína característica denominada CD34 que se expresa en sus superficies celulares. Ésta es una de un número considerable de proteínas, a cada una de las cuales se conoce por las iniciales CD (que se refieren a grupos de diferenciación) seguidas por un número único de identificación. Este sistema de nomenclatura CD se desarrolló primero para proteínas de membrana o complejos proteínicos que pudieran identificarse por sus propiedades físicas (como peso molecular) o por otros medios, cuyas funciones biológicas no se han determinado. La mayor parte de las proteínas CD no se relacionan entre sí, ya sea de manera funcional o estructural. La nomenclatura CD se usa con mayor frecuencia para las proteínas que se expresan en las células hematopoyéticas, aunque varias de las proteínas que tienen designaciones de CD también se expresan en uno o más tipos de células no hematopoyéticas.

Las CMHP expresan en particular CD34, pero no lo hacen con una proteína diferente llamada CD38; por tanto, se dice que son CD34+CD38-. Las CMHP, tienen una enorme capacidad de proliferación, aunque la mayor parte del tiempo permanecen mitóticamente inactivas. Sin embargo cuando se retiran del cuerpo y se cultivan in vitro, puede inducirse la proliferación de las CMHP, tratándolas con dosis grandes de ciertos factores hormonales llamados citocinas, presentes en el ambiente medular. Las citocinas son una familia diversa de hormonas polipeptídicas que pueden secretarse de modo particular por células de uno o más tipos, pero cada una tiene efectos específicos sobre el crecimiento, diferenciación o funciones de otras células. Hay varias clases diferentes de citocinas la mayor parte es conocida por

regular la hematopoyesis y pertenece a subgrupos llamados factores estimulantes de colonias (CSF), o a las interleucinas.⁵

FACTOR DEL CRECIMIENTO HEMATOPOYÉTICO		
Factores	Acción principal	Sitio de origen
Factor de célula madre	Promueve la hematopoyesis	Células de estroma de la médula ósea
GM-CSF	Promueve la mitosis y la diferenciación de CFU-GM; facilita la actividad de los granulocitos	Células T; células endoteliales
G-CSF	Promueve la mitosis y la diferenciación de CFU-G; facilita la actividad de los neutrófilos	Macrófagos; células endoteliales
M-CSF	Promueve la mitosis y la diferenciación de CFU-M	Macrófagos; células endoteliales
IL-1	En conjunto con la IL-3 e IL-6, promueve la proliferación de CMHP, CFU-S y CFU-Ly; suprime a los precursores eritroides	Monocitos; macrófagos; células endoteliales
IL-2	Estimula la mitosis activada de las células T y B; induce la diferenciación de las células NK	Células T activadas
IL-3	En conjunto con la IL-1 e IL-6, promueve la proliferación de CMHP, CFU-S, y CFU-Ly lo mismo que a todos los precursores unipotenciales.	Células T y B activadas
IL-4	Estimula la activación de las células T y B y el desarrollo de los mastocitos y los basófilos.	Células T activadas
IL-5	Promueve la mitosis de CFU-Eo y activa a los eosinófilos	Células T
IL-6	En conjunto con la IL-1 e IL-6, promueve la proliferación de CMHP, CFU-S, y CFU-Ly; también facilita la diferenciación de CTL y células B	Monocitos y fibroblastos
IL-7	Promueve la diferenciación de los CFU-LyB; fomenta la diferenciación de las células NK	¿Células reticulares adventicias?
IL-8	Induce la migración y la desgranulación de los neutrófilos	Leucocitos, células

		endoteliales y células del músculo liso
IL-9	Induce la activación y la proliferación de los mastocitos; modula la producción de IgE; promueve la proliferación de células T cooperadoras	Células T cooperadoras
IL-10	Inhibe la producción de citocina por los macrófagos, las células T y la NK; facilita la diferenciación de CTL y la proliferación de las células B y de los mastocitos.	Macrófagos y células T
IL-12	Estimula a las células NK; incrementa la función de los CTL y las células NK.	Macrófagos
Interferones - γ	Activa a las células B y a los monocitos, fomenta la diferenciación de los CTL; aumenta la expresión del HLA de clase II	Células T y células NK
Eritropoyetina	Diferenciación de CFU-E; mitosis de las BFU-E	Células endoteliales de la red capilar peritubular del riñón: hepatocitos
Trombopoyetina	Proliferación y diferenciación de CFU-Meg y megacarioblastos.	No se conoce

CTL, células T citotóxicas, CFU, unidad formadora de colonias (Eo, eosinófilos; G granulocitos; GM, granulocito y monocito; Ly, linfocito; s, bazo); CSF, factor estimulante de colonias (G, granulocitos; GM, granulocitos y monocitos); IL, Interleucina; NK, asesinas naturales; CMHP, células madres hematopoyéticas pluripotenciales.⁴

1.3.3 Sangre

La sangre es un líquido ligeramente alcalino (pH 7.4) viscoso y de color rojo brillante a rojo oscuro que corresponde al 7% del peso corporal. El volumen total de sangre del adulto es de cerca de 5 litros. La sangre es un tejido conectivo especializado, compuesto por elementos figurados, eritrocitos, leucocitos y plaquetas, que se encuentran suspendidos en un componente líquido, la matriz extracelular, que recibe el nombre de plasma.

1.3.4 Elementos figurados de la sangre

Eritrocitos (glóbulos rojos): cada eritrocito da la impresión de un disco de forma bicóncava, de 7.5 μm de diámetro, 2.0 μm de espesor en su región más ancha y menos de 1 μm de espesor en su centro. Esta forma brinda a la célula una gran área de superficie, en relación con su volumen. Se encarga del transporte de oxígeno y del dióxido de carbono que se forma en los procesos de combustión. Con este fin los eritrocitos contienen el pigmento rojo de la sangre (hemoglobina), que tiene la capacidad de combinarse con el oxígeno y el CO_2 .

Los varones tienen más eritrocitos por unidad de volumen en sangre que las mujeres (5×10^6 a 6×10^6 contra 4.5×10^6 por mm^3 a 5.5×10^6 por mm^3) y los miembros de ambos sexos que viven a grandes altitudes tienen de manera correspondiente más eritrocitos que los que viven en regiones cercanas a nivel del mar.

Los eritrocitos humanos tienen una vida promedio de 120 días; una vez que llegan a esa edad, manifiestan sobre su superficie un grupo de oligosacáridos. Los macrófagos destruyen a los eritrocitos que llevan estos oligosacáridos.

Leucocitos (glóbulos blancos): El número de leucocitos es mucho más pequeño que el de los eritrocitos de 6 500 y 10 000 leucocitos por mm^3 de sangre, es decir, solamente un 0.1%- 0.3% del número de eritrocitos.

A diferencia de los eritrocitos los leucocitos no funcionan dentro de la sangre, sino que la emplean como medio para viajar desde una región del cuerpo hacia otra.

Los leucocitos se clasifican en dos grupos: granulocitos que poseen gránulos específicos en el citoplasma y agranulocitos, que carecen de gránulos específicos. Son tres los tipos de granulocitos: neutrófilos, eosinófilos y basófilos, que se distinguen según el color de su reacción de color con los tipos de tinciones de Romanovsky. Son dos clases de granulocitos, linfocitos y monocitos.

Neutrófilos: Son polimorfonucleares, dentro de los leucocitos son los más numerosos, constituyen 60-70% de la población total de leucocitos. Su diámetro es de 9-12 μ m; la vida media es de unos cuantos días, y su permanencia en sangre es solamente de unas horas. Su principal función es entrar en interacción con agentes quimiotácticos, para emigrar hacia los sitios invadidos por microorganismos. Una vez allí, destruyen a los microorganismos por fagocitosis y descarga de enzimas hidrolíticas (la explosión respiratoria). Por añadidura, al elaborar y descargar leucotrienos, los neutrófilos ayudan a iniciar el proceso inflamatorio.

Eosinófilos: corresponden solamente un 2-4% de los leucocitos en la sangre, su vida media es de una o dos semanas. Sus características son: numerosos gránulos específicos de gran tamaño que se tiñen con los métodos habituales en color rojo intenso y son algo mayores que los neutrófilos. Diámetro de 1-14 μ m. Su función principal es la fagocitosis del complejo antígeno anticuerpo.

Basófilos: Son el más raro (< 1%) de los cinco tipos de leucocitos en la sangre. Características: Numerosos gránulos específicos de gran tamaño que se tiñen con los métodos habituales de tinción en azul intenso, de manera que el núcleo queda oculto. Los gránulos contienen histamina, heparina y otras sustancias vasoactivas. Su función principal es la secreción de sustancias vasodilatadoras y anticoagulantes.

Monocitos: Los monocitos son los más grandes de las células sanguíneas circulantes, miden de 12-15µm de diámetro en los frotis sanguíneos, y constituyen 3-8% de la población de leucocitos. Los monocitos quedan en la circulación solo unos cuantos días; emigran a continuación por el endotelio de las vénulas y los capilares hacia el tejido conectivo, en el que se diferencian en macrófagos. Su función principal es ser fagocitos ávidos, y como miembros del sistema fagocítico mononuclear, fagocitan y destruyen a las células muertas y moribundas (como los eritrocitos envejecidos), lo mismo que a los antígenos y las partículas de materia extraña (como bacterias).

Producen citocinas que activan la reacción inflamatoria, lo mismo que la proliferación y la maduración de otras células. Ciertos macrófagos, que se conocen como células presentadoras de antígeno, fagocitan antígenos y presentan sus porciones más antigénicas, llamadas epítopes, en conjunto con las proteínas integrales, antígeno leucocitario humano de la clase II (HLA de la clase II) a la células inmunosuficientes.^{4,6}

Linfocitos: Los linfocitos constituyen 20-25% de la población total circulante de leucocitos. Son células redondas en el frotis sanguíneo, pero puede ser pleomórfico al emigrar por el tejido conectivo. Los linfocitos son un poco más grandes que los eritrocitos, pues miden de 8-10µm de diámetro.

Tipos de linfocitos: Los linfocitos se pueden subclasificar en tres categorías funcionales que son: linfocitos B, linfocitos T y células nulas. Cerca del 80% de los linfocitos circulantes son células T, 15% son células B y el resto células nulas.⁴

Linfocitos B: Los linfocitos B maduran dentro de la médula ósea; cuando la abandonan, cada uno expresa un receptor de unión de antígeno

único en su membrana. Este receptor de unión de antígeno o de la célula B es una molécula de anticuerpo unida a la membrana. Los anticuerpos son glucoproteínas. Cuando una célula B virgen (la célula que no ha encontrado antes algún antígeno) ha hallado por primera vez el antígeno que corresponde a su anticuerpo unido a la membrana, la unión del antígeno al anticuerpo da lugar a que la célula se divida con rapidez y su progenie se diferencie en células B de memoria y células B efectoras llamadas células plasmáticas.

Las células B de memoria tienen un periodo de vida más prolongado que las células vírgenes y expresan el mismo anticuerpo unido a membrana que su célula B original. Las células plasmáticas producen el anticuerpo en una forma que puede secretarse y no tienen anticuerpo unido a membrana, o muy poco. Los anticuerpos secretados son las principales moléculas efectoras de la inmunidad humoral.

Linfocitos T: Los linfocitos T también se generan en la médula ósea. A diferencia de los B que maduran en la médula ósea, las células T migran a la glándula timo para madurar. Durante su maduración dentro del timo, la célula T comienza a expresar en su membrana una molécula de unión de antígeno única, el denominado receptor de célula T. Los receptores de células T solamente pueden identificar antígenos unidos a proteínas de membrana celular llamadas moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Las moléculas del MHC que actúan en este fenómeno de reconocimiento, que se conoce como “presentación de antígeno”, son glucoproteínas polimórficas que se encuentran en las membranas celulares. Cuando una célula T virgen encuentra antígeno combinado con una molécula de MHC en una Célula, la célula T prolifera y se diferencia en célula T de memoria y varias células T efectoras. Existen dos subpoblaciones de células T bien definidas: células T colaboradoras (TH)

y células T citotóxicas (TC). Las células T colaboradoras y citotóxicas pueden diferenciarse entre sí por la presencia de glucoproteínas de membrana CD4 o CD8 en su superficie. Dentro de las células T CD4⁺ existen dos subpoblaciones mayoritarias claramente definidas en función de las citocinas que producen y de su actividad predominante (las Th1 y las Th2), además de otras poblaciones minoritarias como las Th0, Th3 y Tr1.

Una vez que la célula TH reconoce un complejo de antígeno y molécula de MHC clase II e interactúan con él, se activa la célula y se convierte en una célula efectora, que secreta varios factores de crecimiento conocidos en conjunto como citocinas. Las citocinas secretadas tienen una función importante en la activación de células B, células TC, macrófagos y varios tipos celulares más, que intervienen en la reacción inmunitaria.

Bajo la influencia de citocinas derivadas de TH, una célula TC que reconoce un complejo de antígeno y molécula de MHC clase I prolifera y se diferencia hacia una célula efectora llamada linfocito T citotóxico (CTL). En contraste con la célula TC, el CTL no suele secretar muchas citocinas y, por el contrario, muestra una actividad destructora de células o citotóxica. El CTL tiene una función vital en la vigilancia de las células del cuerpo y en la eliminación de cualquiera que muestre antígeno, como las células infectadas por virus, las células tumorales y las células de un injerto de tejido extraño. Las células que muestran antígeno extraño en contraste con una molécula de MHC clase I se denominan células propias alteradas y son blancos de los linfocitos T citotóxicos.

Los linfocitos T y los linfocitos B reconocen antígenos a través de receptores superficiales de naturaleza proteica, pero mientras que los receptores de los linfocitos B (BCR), son moléculas preformadas de anticuerpo, los receptores de linfocitos T, son polipéptidos diméricos conocidos como TCR.

Células Asesinas naturales (NK): Son linfocitos granulosos grandes que, como los CTL, emplean gránulos citoplasmáticos que contienen perforinas, para matar a las células blanco.⁷

Plaquetas (trombocitos): En realidad las plaquetas son solo fragmentos celulares de los megacariocitos. En las extensiones sanguíneas forman frecuentes grumos y no pueden valorarse adecuadamente, su diámetro es de unos 2-4µm. La sangre de los individuos sanos contiene unas 150,000 y 450,000 plaquetas por mm³: su función principal contiene enzimas necesarias para la coagulación sanguínea.⁶

1.3.5 Valores normales sanguíneos

Serie roja

Hemoglobina (Hg) (g/dl).

12.5 g/dl en mujeres y 15.5 g/dl en varones.

Hematocrito (Hct) se mide en porcentaje (%) y representa la proporción de eritrocitos en el total de la sangre.

39% y 50% para mujeres, 46% y 56% para varones.

Número de glóbulos rojos (GR). Los varones tienen más eritrocitos por la unidad de volumen de sangre que las mujeres (5 a 6 millones contra 4.5 a 5.5 millones por mm³).

Volumen globular medio (VGM). Se mide en fentolitros (fl) ó micras cúbicas.

78 a 103 fl para mujeres y 83 a 98 fl para varones.

Hemoglobina corpuscular media (HCM) se expresa en picogramos (pg) y representa la cantidad promedio de hemoglobina en cada eritrocito, 27 a 34 pg.

Serie blanca

Número de glóbulos blancos GB. 6 500 y 10 000 leucocitos por mm^3 de sangre.

Cuenta diferencial de glóbulos blancos: normalmente en la sangre periférica pueden encontrarse los siguientes tipos de leucocitos: neutrófilos o polimorfonucleares (incluye las formas con núcleo segmentado, las de núcleo en banda y los metamielocitos), eosinófilos, basófilos, linfocitos y monocitos.

Célula	Porcentaje (%)	Número/ mm^3
Neutrófilos totales	60-70	3500-7000
Eosinófilos	2-4	150-400
Basófilos	< 1	50-100
Monocitos	3-8	200-800
Linfocitos	20-25	1500-25000

Serie trombocítica

Número de plaquetas (PLT). 150,000 y 450 000 plaquetas por mm^3 .

CAPÍTULO II

EPIDEMIOLOGÍA, ETIOLOGÍA Y DIAGNÓSTICO

2.1 Epidemiología

Es una enfermedad que se distribuye mundialmente y la incidencia parece variar entre las regiones geográficas, estudios internacionales reportan una incidencia baja sobre todo en Europa, Estados Unidos y Brasil. La incidencia en Barcelona entre 1980 y 2003, fue de un total de 235 casos de anemia aplásica, en global la incidencia era 2.34 casos por millón de habitantes por año y la incidencia aumenta con la edad.⁸ La mayoría de los casos era clasificada como anemia aplásica severa o muy severa. En Brasil se presentan características similares entre éstas se estima la incidencia de 2.7 casos por millón de habitantes por año.⁹ Mientras tanto la incidencia de anemia aplásica es más alta en Asia, se reportan gran número de casos en China, Corea, Tailandia y otras partes de Asia. Un estudio grande de Tailandia, encuentra una proporción de 3.9 por millón de habitantes al año para Bangkok, el área metropolitana y 5 por millón de habitantes al año en la región nordeste de Khonkaen, otra serie Asiática ha producido un rango de 5 a 7 por millón de habitantes al año. Por consiguiente, la anemia aplásica parece ser de 2 a 3 veces más común en Asia que en Europa.

En casi todos los estudios modernos de anemia aplásica, la proporción del sexo ha estado cerca de 1:1. En los estudios más grandes, como en el informe actual de Barcelona y Tailandia, la incidencia en la edad de los pacientes es, uno entre los adultos jóvenes y en segundo lugar en el anciano.^{10,11}

La incidencia de la anemia aplásica en México ha sido objeto de debates y controversias. Estudios previos al establecimiento de los criterios actuales de diagnóstico sugerían incidencias elevadas (6-12 casos nuevos por millón de habitantes por año). Estudios más recientes de centros hospitalarios individuales también han arrojado cifras elevadas (9-15 casos por millón de habitantes por año). Sin embargo a diferencia de otros países, no se han llevado a cabo estudios multicéntricos nacionales y/o regionales, que pudieran brindar información más confiable. Como primer intento a este respecto se realizó un estudio basado en la población derechohabiente del IMSS en la ciudad de México.

De acuerdo a dicho estudio, la incidencia de anemia aplásica en la población derechohabiente menor de 15 años de edad varió entre 2.5 y 5.0 casos nuevos por millón de habitantes por año, con una media de 4.2. En cuanto a la población adulta la incidencia fluctuó entre 3.1 y 4.8 casos nuevos por millón de habitantes por año, con una media de 3.9.

De estas observaciones se desprenden algunos puntos de interés, en primer lugar cabe mencionar que la incidencia anual observada en adultos es superior a la observada en diferentes regiones de Europa y es similar a la observada en Tailandia. Lo anterior apoya el concepto de que la anemia aplásica es más frecuente en países de desarrollo que en aquellos del llamado primer mundo¹², además es probable que algunos factores ambientales, automedicación y la falta de protección industrial desempeñen algún papel en la elevada prevalencia de la hipoplasia medular. Los insecticidas con gran frecuencia se identifican como causantes de hipoplasia medular en México, Brasil y Cuba.

En México se ha descrito contacto con DDT en 24% de los pacientes con hipoplasia medular y con clorafenicol 7%, pero no ha sido posible establecer

con certeza la relación causa- efecto.¹³ Otro punto de llamar la atención es la incidencia observada en la población infantil, la cual resultó ser significativamente superior a la observada en las poblaciones infantiles de Europa (1-2 casos nuevos por millón de habitantes por año) y Tailandia (0.4-2.1 casos nuevos por millón de habitantes por año). La razón de lo anterior no está clara, sin embargo, es muy factible que factores sociales y ambientales estén involucrados en este fenómeno.¹²

2.2 Etiología

Los orígenes de la anemia aplásica. Se ha deducido considerando varias asociaciones clínicas que se repiten una y otra vez; por desgracia, esas coincidencias no son fidedignas, ni tampoco necesariamente causales en un determinado paciente. Además la mayor parte de los casos de anemia aplásica son idiopáticos, la historia y pocas cosas más, distinguen a estos casos de aquellos otros en los que se supone una causa concreta, como la exposición a un fármaco.

Entre las asociaciones potencialmente etiológicas, el benceno es el mas viejo y ampliamente aceptado. La historia laboral tiene interés, en particular en las industrias donde el benceno se utiliza para fines secundarios, por ejemplo, como disolvente. Las hemopatías relacionadas con el benceno han disminuido desde que se establecieron normas para regular los contactos industriales con este producto. Aunque el benceno ya no se utiliza como disolvente en el ámbito doméstico, hay contactos con sus metabolitos en las dietas normales y con el uso de la gasolina sin plomo.

Las convincentes asociaciones entre la anemia aplásica y la exposición a otros solventes ha sido aún difícil de establecer, a pesar de informes de casos que implican una variedad de químicos relacionados casualmente con

la anemia aplásica, los números limitados de estudios de población, no han confirmado para tales agentes como los tintes de pelo y éteres del glicol. En la región rural de Tailandia existe una asociación significativa con varios pesticidas, incluso los organofosfatos y el DDT. El uso de insecticida profesional es también un factor de riesgo para la anemia aplásica.

El fracaso de la médula, anemia aplásica y agranulocitosis, son una complicación idiosincrásica severa del uso de ciertas drogas médicas. Una historia fiable de exposición a drogas es a menudo difícil. El uso de cloranfenicol, tan abiertamente asociado con la anemia aplásica en los años cincuenta y las décadas siguientes fue considerada como la causa común de la enfermedad, sin embargo, se ha rechazado al punto donde no ha sido un factor de riesgo significativo en cualquier estudio epidemiológico de anemia aplásica, incluso en Tailandia donde la necesidad para tal antibiótico es eficaz y barato.

Los riesgos relativos para otras clases de drogas como, sulfonilureas y sulfonamidas, anticonvulsivantes, anti-inflamatorios no esteroideos, sales de oro, alopurinol, y penicilamina; y en Tailandia, sulfonamidas y diuréticos tiazídicos. Debe enfatizarse que la asociación no es equivalente a la causalidad; por ejemplo, los eslabones entre el fracaso de la médula y segundas enfermedades como la artritis reumatoide están confundiendo potencialmente. Una proporción más alta de anemia aplásica en el oeste parece atribuible a las drogas médicas más que en el este.

Para otros factores, los acercamientos de estudios de población han sido menos definitivos, porque la asociación clínica es poco frecuente (como con la fascitis eosinófila) o quizás en la realidad sólo es coincidente como el embarazo donde la anemia aplásica aparece y reaparece muy rara vez, y desaparece con el parto, o con el aborto espontáneo o provocado.⁸

De interés particular es la etiología infecciosa. La anemia aplásica puede seguir de una mononucleosis infecciosa por el virus del Epstein-Barr, Parvovirus B19 y solo unos pequeños casos de varicela zoster han sido asociados a una pancitopenia y anemia aplásica¹⁴, así como del 5-10% de los casos de anemia aplásica siguen un episodio de hepatitis seronegativa.¹⁵ Algunos nuevos factores de riesgo en el estudio tailandés, incluso la fuente de agua, la exposición a animales y el uso de fertilizantes animales podrían ser de una proporción grande de casos, y ellos apuntan a un etiología infecciosa.^{10,11}

Clasificación etiológica de anemia aplásica

Idiopática

Secundaria

Agentes químicos

Benceno

Organofosfatos,

DDT

Fármacos

Cloramfenicol

Sulfonilureas y sulfonamidas

Anticonvulsivos (hidantoínas, carbamazepina, fenacemida, felbamato)

AINEs (como fenilbutazona, indometacina, ibuprofeno, sulindac, ácido acetilsalicílico)

Metales pesados (sales de oro, arsénico, bismuto y mercurio)

Alopurinol, y

Penicilamina

Diuréticos tiazídicos y

Mebendazol

Virus

Epstein-Barr

Parvovirus B19

Varicella zoster

Hepatitis seronegativa

Enfermedades inmunitarias

Fascitis eosinófila
Embarazo

Hereditarias
Anemia de Fanconi

Otros
Fuente de agua,
La exposición a animales
El uso de fertilizantes animales

2.3 Diagnóstico y clasificación

A partir de los criterios establecidos por Camitta y colaboradores, en 1982, y confirmados por el grupo de agranulocitosis y anemia aplásica unos años más tarde, el diagnóstico de esta enfermedad ha sido manejado en forma más clara en las dos últimas décadas.¹²

Los requisitos previos esenciales para planear las estrategias terapéuticas en los pacientes con anemia aplásica es primeramente, confirmación del diagnóstico y secundariamente, definir la enfermedad en términos de si la enfermedad es (a) adquirida o constitucional, (b) la etiología, (c) la presencia y tamaño de coexistentes clones anormales y (d) la severidad de la enfermedad

Manifestaciones clínicas: En las fases tempranas de la anemia aplásica, pocas anormalidades físicas están presentes. Los síntomas tempranos típicos son la fatiga y la disnea. Conforme la enfermedad progresa la neutropenia y la anemia empeoran, y aparecen; púrpura, petequias y palidez

en la conjuntiva, cara, y palmas. Se presenta sangrando en mucosa o dermis y la infección también puede aparecer.

La hepatoesplenomegalia y la linfadenopatía no se asocia típicamente con la anemia aplásica, cuando se presentan estos rasgos pueden indicar un desorden hematológico más severo, como una leucemia aguda.¹⁶

El diagnóstico de anemia aplásica, en la mayoría de los casos es sincero, pero existen otras condiciones que a veces pueden presentarse con pancitopenia e hipocelularidad de la médula ósea imitando la anemia aplásica,¹⁷ El diagnóstico de anemia aplásica adquirida requiere la exclusión de otras condiciones asociadas con pancitopenia: entre éstas están la falla medular congénita, como es la anemia de Fanconi (FA), y síndromes mielodisplásicos (MDS). FA puede sospecharse por el examen del paciente, especialmente si es niño o adolescente y puede ser excluido usando una prueba de rotura cromosomal ya que las células de FA muestran excesiva rotura cromosomal. Esta prueba es no solo para evaluar a niños con falla en la medula ósea, porque los adultos jóvenes pueden también ser encontrados con FA.¹⁸ Una cuidadosa historia familiar puede ser tomada como evidencia de afectaciones similares en los miembros, como alguna evidencia de enfermedad sanguínea o anormalidades en los conteos sanguíneos.¹⁷

El diagnóstico clínico se basa en los hallazgos en sangre periférica como en aspiración de médula ósea y una biopsia. Deben presentarse dos de las siguientes tres anormalidades para un diagnóstico de anemia aplásica: un valor de hemoglobina de menos de 10 g/dL, una cuenta de plaquetas menor de $50 \times 10^9/L$ ($50,000/mm^3$), y una cuenta de neutrófilos de menos de $1.5 \times 10^9/L$ ($1,500/mm^3$), el diagnóstico de anemia aplásica es dado por dos resultados separados de cuenta de reticulocitos periféricos notablemente deprimido y la biopsia de medula ósea debe incluir hipoplasia medular (con una celularidad claramente disminuida) y disminución de las tres series

(eritroide, mieloide y megacariocítica), así como un aumento en la proporción de células grasas. La ausencia de blastos y la ausencia de fibrosis son muy importantes para establecer los diagnósticos diferenciales en relación a los síndromes mielodisplásicos, las leucemias agudas y los linfomas.

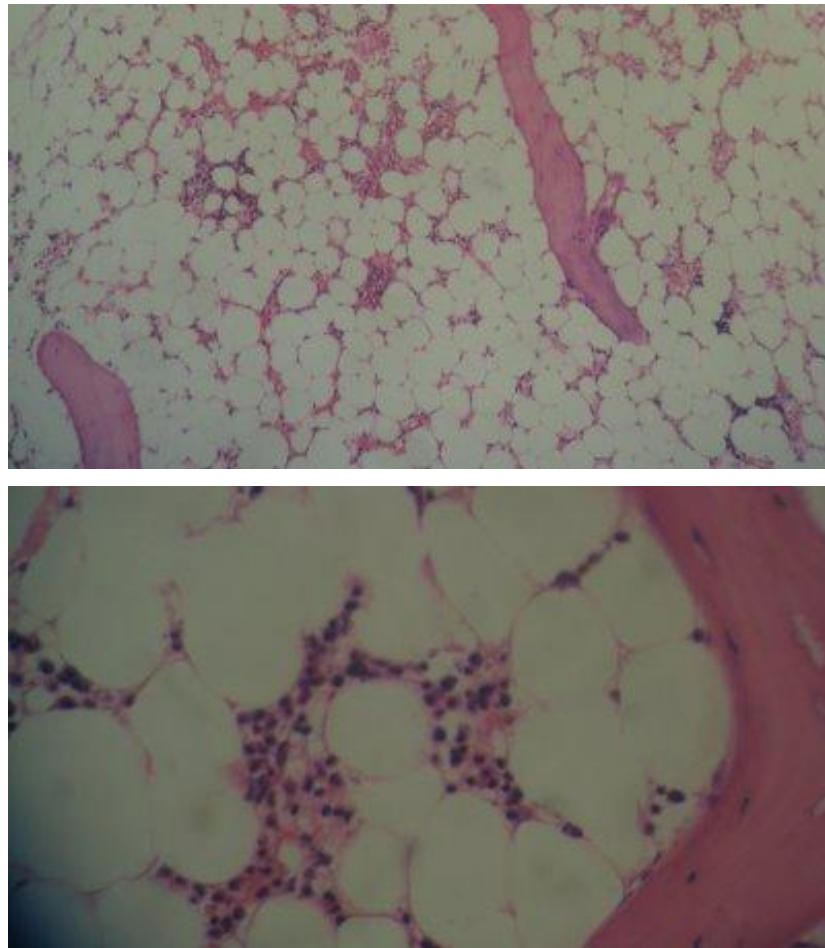


Fig. 3 Médula ósea hipocelular⁴³

Existen formas severas, muy severas y no severas, según el grado de neutropenia. Un caso se clasifica como severo (AAS) cuando, además de hipoceluridad de la médula ósea, por lo menos dos de las anomalías siguientes están presentes: una cuenta del neutrófilos por debajo de $0.5 \times 10^9/L$ ($500/mm^3$), una cuenta de la plaqueta debajo de $20 \times 10^9/L$ ($20,000/mm^3$) y una cuenta del reticulocitos de menos de 1%, la celularidad

de la médula ósea presenta <25%, o 25_50% con <30% de células hematopoyéticas residuales. Un caso muy severo (AAMS) es uno en que los neutrófilos están por debajo de $>0.2 \times 10^9/l$ $200/mm^3$. La anemia aplásica no severa es aquella que no cumple con los criterios para AAS o AAMS.^{12,16,18}

Una buena calidad de sangre en el aspirado medular y una buena longitud de biopsia medular son esenciales. A menudo se exige la repetición del examen de médula ósea para confirmar el diagnóstico cuando existe alguna duda del examen inicial, o si la muestra fue tomada inadecuadamente.¹⁷

Es importante resaltar que en algunos centros hospitalarios se ha llegado a emplear la resonancia magnética nuclear como una herramienta de apoyo en el diagnóstico de la anemia aplásica. La idea es monitorear la distribución de focos de actividad hematopoyética en diversos huesos. El estudio resulta útil, sin embargo es costoso y poco accesible por lo que definitivamente no puede considerarse como obligatorio.¹²

Estudio citogenético: Aún cuando éste no es obligatorio, en la mayoría de los casos resulta muy útil, ya que a través de él, es posible establecer un diagnóstico diferencial con respecto al MDS. Sin embargo los requerimientos para una normal citogenética en el diagnóstico de anemia aplásica está sujeto a controversia; en una proporción de pacientes el análisis citogenético puede no ser informativo. Muchos expertos piensan que la presencia de anormalidades cariotípicas es solo consistente con el diagnóstico de MDS. Sin embargo, en muchos reportes de casos de anemia aplásica con anormalidades citogenéticas tienen a menudo que ser incluidas.

Citometría de flujo: El análisis de la citometría de flujo de células rojas y granulocitos puede realizarse para establecer la presencia de clones de hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH). La presencia de clones de PNH

ha sido asociada con una buena respuesta a la terapia inmunosupresora. Aunque esto es controversial ya que los clones PNH aparentemente también han sido encontrados en individuos sanos.¹⁹

CAPÍTULO III

FISIOPATOLOGÍA DE LA ANEMIA APLÁSICA

Diversos estudios principalmente in vitro, han demostrado claramente que la anemia aplásica se desarrolla a partir de alteraciones en el sistema hematopoyético. Aún cuando el origen de dichas alteraciones no se conoce totalmente, sabemos que éstas pueden presentarse a tres niveles: en primer lugar, a nivel de las células seminales hematopoyéticas, afectando procesos como su proliferación y expansión. En segundo lugar, al nivel del microambiente de la médula ósea, afectando su capacidad para mantener el crecimiento de las células hematopoyéticas. Finalmente, a nivel del sistema inmunológico, ocasionando alteraciones que conducen a los linfocitos a montar respuestas contra las propias células hematopoyéticas primitivas. Incluso, es muy factible que alteraciones en todos estos niveles se presenten en forma simultánea.

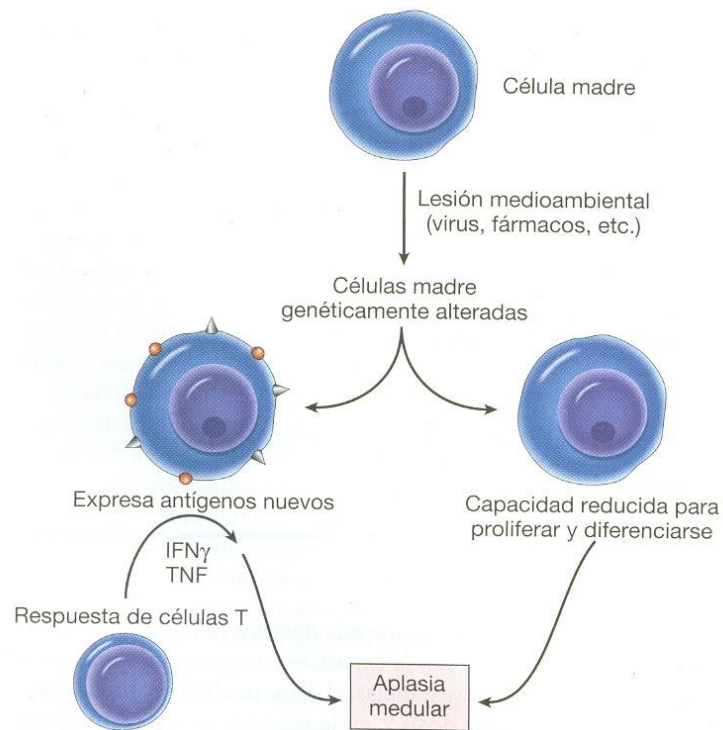


Fig. 4 Fisiopatología de la anemia aplásica¹

3.1 Alteraciones a nivel de progenitores hematopoyéticos.

Diversos estudios han demostrado que en la gran mayoría de los pacientes con anemia aplásica, el número de células progenitoras hematopoyéticas, incluyendo mieloides, eritroides y multipotenciales, se encuentran dramáticamente reducidos. Esto es particularmente evidente en pacientes que no han recibido algún tratamiento.¹²

El ataque inmune lleva al fracaso de la médula. La “in hematopoyesis” fue inferida desde la apariencia de vacío de la médula en la autopsia, por una pronta observación de la enfermedad. La palidez en el centro de la biopsia, las espículas vacías de un aspirado, pocas o ninguna célula de CD34 en la citometría de flujo y un número mínimo de colonias de progenitores, todos reflejan la severa reducción de células hematopoyéticas que definen la enfermedad.

Los cultivos a largo plazo muestran células progenitoras multipotenciales inmóviles, también muestran marcada deficiencia, un bajo porcentaje de celularidad medular y un escaso número en los cultivos a largo plazo de células mononucleares, sugiere que solo un pequeño porcentaje de células tempranas hematopoyéticas residuales, permanecen afectadas severamente a la presentación. Cuantitativamente los rasgos de estas pocas células, son medidas, por ejemplo, por una pobre formación de colonias CD34 o una inadecuada respuesta a los factores de crecimiento hematopoyético, son difíciles de interpretar, aunque recientes estudios genéticos han sugerido mecanismos explicativos. El reducido número y la función de la médula es secundaria a la destrucción medular y prevalece la apoptosis entre los pocos elementos permanentes. La micro serie de las escasas células CD34, desde la falla medular de los pacientes revela una transcripción en que los genes

involucran apoptosis, muerte celular y regulación inmune; esta transcripción fue reproducida en células CD34 normales, expuestas a interferón-gama.

Un rasgo peculiar de las células sanguíneas diana en anemia aplásica es un telómero corto. La acortación del telómero fue inicialmente el mas fácilmente culpado en el agotamiento de las células madre o tallo celular. Sin embargo, el descubrimiento, primero por el análisis de la unión en las grandes genealogías, que el ligado a X por la disqueratosis congénita fue debida a mutación en DKC1 y subsecuentemente determinaron la mutación en TERC en algunos pacientes autosómicos dominantes con este síndrome constitucional de falla medular, indicando una base genética por el telómero deficiente. La central de la maquinaria de reparación es una plantilla de RNA, codificado por TERC, o con telomerasa, una transcriptasa reversa codifica en TERT, alargando el nucleótido de estructura repetida; otra proteína incluida, disquerina producto del gen DKC1, son asociadas con el complejo reparador del telómero.

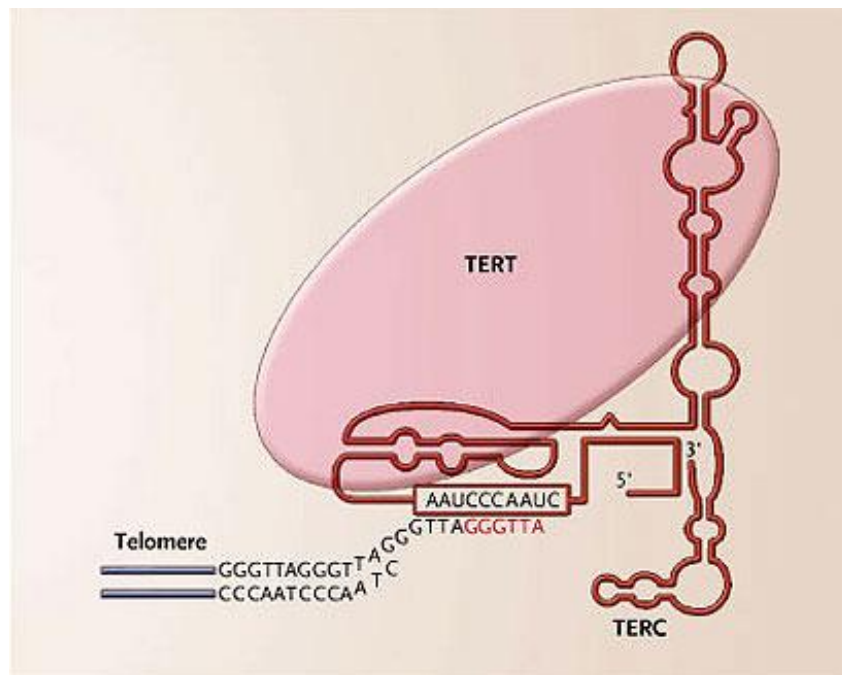


Fig.5 Estructura de la telomerasa humana⁴⁴

Estudios sistemáticos de ADN descubrieron primero la mutación en TERC y después en TERT en algunos pacientes con aparente anemia aplásica adquirida, incluidos adultos viejos. Los miembros familiares que comparten la mutación a pesar de un normal o cerca de los conteos normales sanguíneos, tienen hipocelularidad medular, reducidos conteos celulares de CD34 y una pobre formación de colonias hematopoyéticas, incremento en los niveles de factores de crecimiento hematopoyético, y un claro telómero corto; sin embargo, su presentación clínica es mucho después que en la típica disqueratosis congénita y les falta las anomalías físicas típicas. Los cromosomas son también protegidos por varias proteínas que ligan directamente al telómero y el polimorfismo de sus genes (TERF1, TERF2) son también más o menos presentes en la anemia aplásica con controles saludables.

Unos pocos pacientes también tienen mutación heterocigoto en el síndrome del gen de Shwachman-Bodian-Diamond (SBDS). Casi todos los niños con esta forma constitucional de anemia aplásica son heterocigotos en mutaciones de SBDS, y sus células diana tienen telómero extremadamente corto. Sin embargo el producto del gen SBDS no ha sido directamente ligado al complejo reparador del telómero o a la atadura del telómero. Una parsimoniosa conclusión de todos estos datos es que la mutación hereditaria en genes que reparan o protegen el telómero es un factor de riesgo genético en anemia aplásica adquirida, probablemente porque ello confiere una reducción cuantitativa del compartimiento de células madre hematopoyéticas y puede también ser cualitativamente inadecuada para sostener el daño inmune.

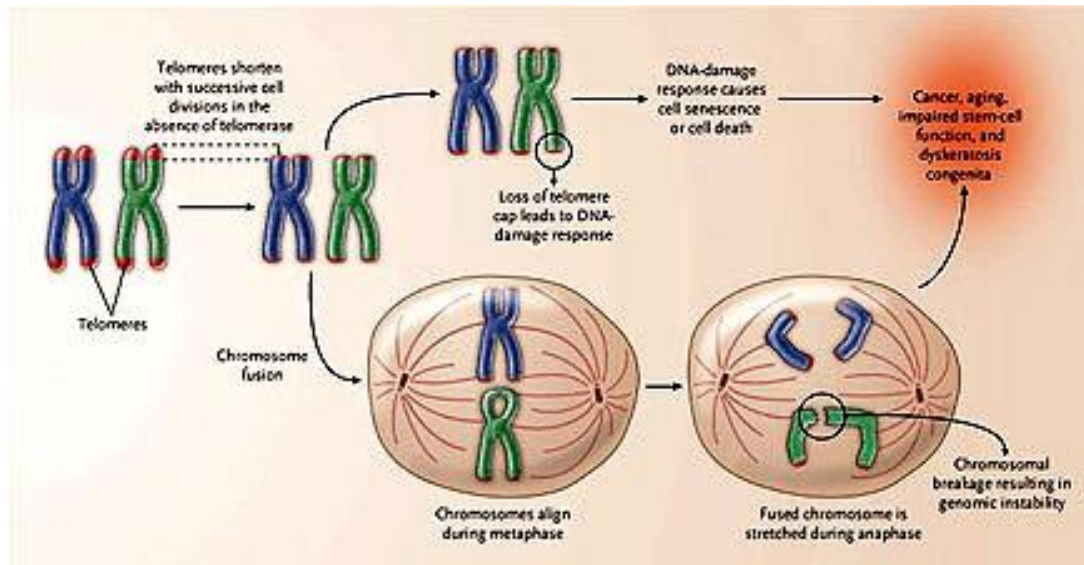


Fig.6 Acortamiento del telómero⁴⁴

Los telómeros son cortos en una tercera parte o en la mitad de los pacientes con anemia aplásica. Pero las mutaciones solo se han identificado en menos de 10% de los casos. La explicación más interesante es el involucramiento de otros genes, incluso los genes para otros miembros del gran complejo reparador, el telómero ligado a proteínas, todavía oculta componentes del sistema reparador alternativo y algunas hélices del ADN. Alternativamente, el acortamiento del telómero puede ser secundario a la replicación de células madre.^{20,21}

3.2 Alteraciones en el microambiente hematopoyético

Además de las alteraciones cuantitativas y cualitativas observadas a nivel de los progenitores hematopoyéticos, estudios in vitro han demostrado que el microambiente hematopoyético de pacientes con anemia aplásica presenta también anormalidades. Al establecer cultivos de médula ósea a largo plazo, el número de células estromales (fibroblastos y macrófagos, principalmente) fue extremadamente reducido, correspondiendo a un 20% del número observado en cultivos de médula ósea normal.

Estudios más recientes han demostrado que las células estromales del microambiente medular en anemia aplásica producen niveles anormalmente elevados de factor de necrosis tumoral-alfa (TNF), una proteína inhibidora de la hematopoyesis.¹²

Un análisis cuantitativo de citocinas intracelulares por citometría de flujo, revela valores de índice de producción significativamente más altos de TNF-alfa en linfocitos de médula ósea y en linfocitos de sangre periférica en los pacientes con anemia aplásica, que en pacientes sanos.

Estos resultados demuestran que los linfocitos de médula ósea en pacientes con anemia aplásica producen grandes cantidades de TNF-alfa y todas las células de la médula ósea pueden exponerse continuamente a TNF-alfa. El número total de células de la médula ósea realmente disminuye en pacientes con anemia aplásica. Sin embargo, como el porcentaje de linfocitos de médula ósea en los pacientes con anemia aplásica es más alto que en los controles normales, la producción relativa de TNF-alfa al número celular de médula ósea, parece ser todavía mas alto en pacientes con anemia aplásica.

Muchos estudios han demostrado que la IFN-gama también está involucrada en los mecanismos de la subyacente anemia aplásica. Pero todavía es incierto si la IFN-gama está directamente relacionada con un efecto inhibitorio en la hematopoyesis.

Como la IFN-gama es bien conocido el papel que juega en la diferenciación de células Th1 y Tc1, los valores en el índice de producción de IL-2 está también incrementado en pacientes con anemia aplásica, en linfocitos de sangre periférica pero no en linfocitos de médula ósea. Como la anemia aplásica es causada por falla en la médula ósea, la importancia de la alta

producción de IL-2 en linfocitos de sangre periférica es incierta. La expresión aumentada de TNF-alfa en linfocitos de médula ósea requiere la activación de célula T. Es probable que el aumento de la expresión de IL-2 en las células T diferenciadas sea asociado con el incremento de células T que producen TNF-alfa.

Estos resultados indican que la TNF-alfa pudiera estar implicada en la fisiopatología de la enfermedad, ya que sus elevados niveles pueden contribuir al incremento en la apoptosis observada en los progenitores hematopoyéticos de estos pacientes.²²

La producción excesiva de interferón-gama (IFN-gama), factor de necrosis tumoral (TNF-alfa), e interleucina 2 (IL-2) de células T de los pacientes, sugiere que las células hematopoyéticas son destruidas por la respuesta Th1 de célula T. Esta Th1 en anemia aplásica produce, muerte celular mediada por Fas, e inhibición de la proliferación de células madre hematopoyéticas. La expansión oligoclonal de linfocitos T citotóxicos (CTLs) pone en correlación la actividad de la enfermedad. En un modelo animal de anemia aplásica, se le inyectaron linfocitos aloreactivos resultando en falla de médula ósea, pero la pancitopenia puede ser prevenida con anti-IFN-gama y un anticuerpo monoclonal anti-TNF.

La IFN-gama es una citocina de la respuesta inmune Th1, es producida primariamente por células T y células asesinas naturales (NK). La activación siguiente, células T sencillas diferenciadas dentro de Th1 CD4+ y células citotóxicas CD8+ que secretan IFN-gama y otras citocinas, y células Th2 CD4- que producen IL-4 y otras citocinas. Dos factores de transcripción son responsables del cambio de células T CD4- dentro del fenotipo Th1 o Th2: el T-bet para Th1 y GATA-3 para Th2. El IFN-gama es también producido cuando las células T son estimuladas con IL-12 o IL-18 secretada por célula

presentadora de antígeno (APCs). La regulación de la producción del IFN-gama ocurre primariamente en el nivel de transcripción. El sitio proximal del gen IFN-gama, es un sitio de unión por factor nuclear para la activación de células T. En el próximo sitio promotor IFN-gama y una secuencia mediada por T-box permite la unión T-bet, resultando en el incremento de la producción de IFN-gama.

La T-bet es un miembro de la familia T-box de factores de transcripción. Esta familia contiene un muy conservado dominio de la unión de ADN, del T-box. El T-box une una secuencia específica en el promotor de diferentes genes. La T-bet es encontrada en Th1 pero no en células Th2 y es un importante regulador del desarrollo y función de Th1.

Estos datos muestran que el T-bet, es un importante regulador del desarrollo y función del Th1, es aberrantemente expresada en células T en anemia aplásica, correlacionado con el incremento en la producción de IFN-gama. Una posible explicación para estos resultados es un defecto intrínseco en el TCR, que puede ser el primer paso en señales alteradas de transducción, incrementando la producción de IFN-gama y subsiguiente inhibición de células madre hematopoyéticas tal como se observa en pacientes con anemia aplásica.²³

3.3 Alteraciones en células circulantes

Diversos estudios han demostrado que los linfocitos T están implicados en la fisiopatología de la anemia aplásica. En efecto, son claras las evidencias de que este tipo de células generan respuestas contra el sistema hematopoyético y de hecho, éste es el principio por el cual se emplea terapia inmunosupresora en esta enfermedad.

En la mayoría de los casos la anemia aplásica es una enfermedad mediada inmunológicamente. Se han trazado los caminos celulares y moleculares con un poco de detalle para ambos, el efector (los linfocitos T) y las células blanco (los progenitores y el tallo hematopoyético). Las exposiciones específicas al medio ambiente, los diversos factores de riesgo genético y las diferencias individuales en las características de la respuesta inmune probablemente cuentan para la poca frecuencia de la enfermedad, variaciones en la conducta clínica y modelos de sensibilidad al tratamiento.

3.3.1 Destrucción de la médula por mediación inmune de las células T

Un mecanismo inmune fue inferido hace décadas desde la recuperación de la hematopoyesis en pacientes con falla de injerto después del trasplante de células hematopoyéticas, cuando se renuevan las células sanguíneas autólogas, la producción fue acreditada al régimen condicionado.

Es sugestivo que la mayoría de los trasplantes singénicos en que la médula ósea era infundida sin condicionar fallaba. La sensibilidad de la anemia aplásica a la terapia inmunosupresora resta una buena evidencia de una subyacente fisiopatología inmune. De hecho, se distingue poco la respuesta a la terapia inmunológica de los pacientes que no responden al tratamiento, (otra es edad, puesto que los niños muestran las proporciones más altas de recuperación y supervivencia).

Una fisiopatología no inmune ha sido relacionada con el fracaso para responder a la inmunosupresión, pero la falta de respuesta a la terapia es también consistente con una muy severa depleción de las células hematopoyéticas, una gastada respuesta inmune o mecanismos inmunológicos no susceptibles a las terapias actuales.

En los tempranos experimentos de laboratorio, se remueven los linfocitos desde una médula ósea aplásica, mejorando los números en la colonia de cultivo tisular y su adición a una médula normal, inhibe la hematopoyesis in vitro.

3.3.2 Sobre expresión del ligando Fas sobre linfocitos T en anemia aplásica.

La expresión aumentada de Fas por los progenitores de la hematopoyesis en la anemia aplásica, hace pensar que este sistema ligando de Fas/Fas (FasL) juega un papel importante en la formación de pancitopenia severa.

Las células T, se estudiaron en pacientes con anemia aplásica sistemáticamente para su modelo de distribución FasL's, de manera libre, comparada con una célula normal T en reposo y células T citotóxicas artificialmente activadas. Los resultados demostraron, que en la anemia aplásica las células T expresaron anormalmente bajos niveles de unión de membrana FasL y contuvieron altos niveles de FasL intracelular.

La expresión aumentada del Fas en los progenitores de CD34 en los pacientes con anemia aplásica sugiere, que la actividad de células T, probablemente induce una mediación Fas de muerte celular de progenitores hematopoyéticos y células madre, resultando finalmente en una comentada disminución en el número de estas células, llevando a una severa pancitopenia. Sin embargo, la evidencia directa de la participación de células T mediada en Fas, matando los progenitores en anemia aplásica, está faltando todavía.

En un estudio donde se usó (FCM) citometría de flujo, fue identificado que las células T en la anemia aplásica contienen altos niveles de FasL intracelular, que las células T normales en reposo. Es interesante que en la activación artificial de células T citotóxicas también contengan gran cantidad de FasL en su citoplasma, indicando que en la anemia aplásica las células T comparten algunas características de activación con las T citotóxicas. Desde que fue encontrado que la expresión FasL en la superficie de células T podría liberar inversas coestimulaciones de señales durante la activación de células T, existe la hipótesis de que la superficie de unión FasL de células T en anemia aplásica debe jugar un papel importante en señales de transducción inversa. Esta hipótesis parece particularmente verificada por extensos estudios experimentales que muestran niveles altos de FasL intracelular en células T en anemia aplásica que fue capaz de ser estimulada para liberarse y ejecutar esta actividad apoptótica inducida.

Tomando estos datos, muestran que la expresión FasL's son elevadas en células T, en anemia aplásica. Estos resultados no solo descubren un nuevo mecanismo a través del cual en la anemia aplásica, las células T inducen muerte celular, mediado por Fas, sino que también proporcionan, la evidencia directa para la hipótesis de que las células T pueden mediar la destrucción de los progenitores hematopoyéticos en anemia aplásica a través del sistema Fas/FasL, que puede ayudar a elucidar el mecanismo de supresión hematopoyética en anemia aplásica.²⁴

3.3.3 Mutación del gen perforin

La mutación en PRF1, por el gen perforin, es responsable de algunos casos de hemofagocitosis familiar; mutación en SAP, un gen codificado por una pequeña modulación de proteína que inhibe la producción de interferón-gama, debajo de la linfoproliferación vinculado a X, una enfermedad fatal

asociada con una aberrante respuesta inmune en virus del herpes y a anemia aplásica. Perforin es hiperexpresado en la anemia aplásica. Se han detectado mutaciones de heterocigotos en PRF1 en 5 adultos con severa anemia aplásica, hemofagocitosis de la médula y los niveles de proteína SAP son marcadamente disminuidos en la mayoría de los casos con anemia aplásica adquirida. Esta alteración en la secuencia del nucleótido y la regulación del gen sugiere una base genética para la aberración en la activación de células T en la falla medular.

Perforin es una proteína citolítica expresada principalmente en la actividad citotóxica de los linfocitos y células asesinas naturales. La mutación perforin hereditaria corresponde del 20 al 40% de linfocitosis fagocítica familiar, una enfermedad fatal de la niñez, caracterizada por ausencia del perforin funcional. Fue examinada si la mutación en el gen perforin ocurre en la anemia aplásica adquirida. Los niveles de la proteína perforin en algunos pacientes fueron muy bajos o ausentes y los gránulos perforin fueron completamente ausentes. Las células asesinas naturales (NK) citotóxicas de estos pacientes fueron significativamente disminuidos. Estos datos sugieren que las alteraciones genéticas PRF1 ayudan a explicar la proliferación y activación de células T citotóxicas y pueden representar factores de riesgo genético para una falla medular ósea.

Las células NK y CTL (linfocitos T citotóxicos) producen lisis en células tumorales y células infectadas por virus. Pero ellos también tienen actividad contra algunas células normales que presentan el mismo antígeno (como las células dendríticas inmaduras), principalmente previenen autoinmunidad. Uno de los caminos que las células NK y CTLs usan para destruir las células diana es liberado de proteínas citolíticas. El perforin, un componente importante en estos procesos citolíticos, se expresa principalmente en CTLs y células NK; el perforin es guardado en gránulos citoplasmáticos y es

esencial para matar por mecanismos mediados de no-Fas. El perforin funcional es esencial para un normal funcionamiento de CTL y células NK.

Fueron descritos cuatro pacientes no relacionados con la mutación en el exón 2 del gen PRF1 y un paciente con una mutación en el exón 3, todas las mutaciones fueron en la región codificada de PRF1 y todos menos un gen, llevan también un poliformismo en el exón 3. La hipótesis es que las alteraciones genéticas pueden contribuir al desarrollo de anemia aplásica adquirida.²⁵

3.3.4 Deficiencia de CD4+CD25+FOXP3+ reguladores de células T

La subpoblación de células T, término regulador de células T (tregs) han sido descritos en modelos humanos y animales, estas células son importantes porque ellas suprimen la autorreactividad de células T directamente por contacto celular. Fenotípicamente, tregs son caracterizados por expresión de superficie celular de las proteínas CD4 y CD25 y por expresión intracelular del factor de transcripción FOXP3. Solo la CD4+CD25+FOXP3 de células T expresan función supresora. En humanos las mutaciones en FOXP3 resultan de un síndrome autoinmune. La transcripción del factor NFAT1 induce la expresión FOXP3 por unión de estos promotores. En suma, la expresión FOXP3, su efecto represivo en la expresión de citocinas y su efecto activador en CD25 por cooperación con NFAT1.

Los números disminuidos de CD4+CD25+FOXP3+ de células T (treg) son asociadas con daño a la homeostasis inmune y desarrollo de enfermedad autoinmune. Los factores de transcripción FOXP3 y NFAT1 tienen un papel importante en la regulación del desarrollo y función de células T. Se ha mostrado que las treg son disminuidas en casi todos los pacientes con anemia aplásica. La proteína FOXP3 y los niveles de ARNm son

significativamente bajos en pacientes con anemia aplásica y los niveles de la proteína NFAT1 son disminuidos o ausentes. La expresión FOXP3 es disminuida cuando la expresión NFAT1 es también disminuida. Los resultados indican que la disminución de NFAT1 explica la baja expresión y disminución de término regulador de células T (treg) frecuente en anemia aplásica. Los defectos en treg son ahora implicados en la falla medular autoinmune.^{18,16}

CAPÍTULO IV

TRATAMIENTO PARA LA ANEMIA APLÁSICA

4.1 Terapia inmunosupresora.

Para la anemia aplásica severa, definida por conteos de sangre periférica, definitivamente la terapia es inmunosupresión o trasplante de células madre; la terapia inmunosupresora es la más extensamente usada por la falta de histocompatibilidad de hermano donador, la edad del paciente y el inmediato costo del trasplante. Incluso en pacientes que responden, los conteos sanguíneos a menudo permanecen por debajo de lo normal pero es adecuado para evitar transfusiones y prevenir infecciones.²⁷

Muchos especialistas usan un régimen basado en ATG en combinación con ciclosporina. La gran experiencia es la ATG producida por caballo, aunque el ATG de conejo es recientemente aceptado por el uso en los Estados Unidos, es más potente por peso y en el tratamiento por rechazo de injerto después de un trasplante de órgano sólido. El ATG es citolítico: el número de linfocitos consistentemente declina durante los primeros días de infusión y entonces retornan a niveles de pretratamiento en una semana o 2.

Las ATGs son producidas por inmunización de animales contra timocitos humanos, no linfocitos, y la mezcla de anticuerpos específicos. Su mecanismo de acción: la globulina antitimocítica contiene anticuerpos citotóxicos que se ligan a las moléculas CD2, CD3, CD4, CD8, CD11, CD18, CD25, CD44, CD45 y HLA de clase I y II en la superficie de los linfocitos T de seres humanos. Los anticuerpos agotan los linfocitos circulantes por citotoxicidad directa (mediada por complemento y por mecanismos

celulares), y bloquean la función linfocítica al unirse a moléculas de la superficie de las células que intervienen en la regulación de su función.²⁸

Experimentación más directa sugiere que la ATG puede ser inmunomoduladora así como linfotóxica, quizás produciendo un estado de tolerancia por depleción preferencial de la activación de células T. La toxicidad de ATG es alergénica, por la administración de una proteína heteróloga y ello es agregado al poco riesgo de infección más allá de la neutropenia intrínseca de la enfermedad. Las dosis de ATG y el régimen son empíricos y tradicionales. El régimen más común de la terapia inmunosupresora es la combinación de caballo (ATGam a 20 mg/kg/día por 4 días) o conejo ATG (Timoglobulin a 3.5mg/kg/día por 5 días) con ciclosporina (12mg/kg por día en los adultos y 15mg/kg por día en los niños) dado usualmente por 6 meses, dosis que después se corrige según las concentraciones sanguíneas que se determinan cada dos semanas. Deben alcanzarse niveles mínimos de 150 a 200 ng/ml. Los esteroides son usualmente agregados para neutralizar la enfermedad del suero intrínseco a la terapia de ATG, a la mayoría de los pacientes se les trata con **metilprednisolona**, 1mg / kg por día durante dos semanas, para aliviar esta reacción inmunitaria consecutiva a la infusión de proteínas heterólogas.¹⁹

Por la administración de grandes dosis, en menos días, la formación de complejo inmune y consecuentemente enfermedad del suero son minimizadas, como los pacientes usualmente no producen sus propios anticuerpos por la proteína exterior hasta una semana o 10 días después de la exposición.

La ciclosporina es un polipéptido cíclico compuesto de 11 aminoácidos, es producido por una especie de hongos *Beauveria nivea*. El mecanismo de acción de la ciclosporina es: suprime parte de la inmunidad de tipo humoral,

pero es más eficaz contra los mecanismos inmunitarios que dependen de linfocitos T. Inhibe de preferencia la transducción de señales activada por antígeno, en los linfocitos T, con lo cual se inactiva la expresión de innumerables linfocinas, incluida la interleucina-2, también la expresión antiapoptótica. La ciclosporina forma un complejo con la ciclofilina, proteína del receptor citoplasmático que aparece en las células a las que se dirige la acción del fármaco. Dicho complejo se une a la calcineurina, e inhibe la desfosforilación estimulada por calcio del componente citosólico de NFAT.

Una vez desfosforilado el NFAT citoplasmático translocado al núcleo, sitio en el cual forma complejos nucleares necesarios para la activación completa de linfocitos T, incluso la transactivación de los genes de IL-2 y otras linfocinas. La actividad de la fosfatasa de la calcineurina es inhibida después de la interacción física del complejo de ciclosporina con ciclofilina. Ello previene la desfosforilación de NFAT de tal manera que estos últimos no penetran el núcleo, no se activa la transcripción génica y el linfocito T no responde a una estimulación antigénica específica. La ciclosporina también aumenta la expresión de factor de transformación del crecimiento β , un inhibidor potente de la proliferación de células T activadas por IL-2 y la generación de linfocitos T citotóxicos.

Interacciones farmacológicas: la ciclosporina interactúa con muy diversos fármacos de uso común y hay que presentar atención especial a las interacciones mutuas. Cualquier medicamento que modifique las enzimas microsómicas, en particular el sistema CYP3A, puede alterar las concentraciones de ciclosporina en la sangre. Las sustancias que inhiben dicha isoforma enzimática pueden disminuir el metabolismo de la ciclosporina e incrementar sus concentraciones en sangre; comprenden bloqueadores de canales de calcio (como verapamilo, nifedipina), antimicóticos (es decir, fluconazol, itraconazol), antibióticos (por ej., eritromicina), glucocorticoides

(como metilprednisolona), inhibidores de proteasa de VIH (como el indinavir) y otros medicamentos (como el alopurinol y la metoclopramida). La toronja y el jugo de toronja bloquean el CYP3A y la bomba de expulsión de múltiples fármacos; estos efectos pueden aumentar las concentraciones sanguíneas de esta última. A diferencia de ello los fármacos que inducen la actividad de CYP3A aumentan el metabolismo de la ciclosporina y con ello aminora sus concentraciones en sangre. Entre tales fármacos están los antibióticos (como nafcilina, rifampicina), anticonvulsivos (por ej., fenobarbital, fenilhidantoína y otros productos (como octreótido, ticlopidina). En general si se utilizan tales combinaciones se necesita la mediación minuciosa y seriada de los valores de ciclosporina y de otros fármacos en sangre.²⁸

Mientras que la reducida anemia aplásica puede responder sólo a ciclosporina, esto es menos efectivo que ATG solo o ATG con ciclosporina. Como con ATG, la dosis y la longitud del tratamiento no han sido formalmente establecidas. La ciclosporina tiene muchos efectos, pero son manejables con la reducción de la dosis; el daño permanente al riñón es usual en los monitoreos. Mantener los niveles en los conteos sanguíneos puede ser logrado con muy bajas dosis de ciclosporina, tal que los niveles de droga en sangre son indetectables y la toxicidad es mínima, incluso con años de tratamiento.²⁰

Resultado de la combinación de terapia inmunosupresora. Los reportes de la proporción de la respuesta hematológica son variables, en parte, por lo menos debido a la falta de consensos sobre los parámetros (transfusiones independientes, absoluta o relativa mejora en los conteos sanguíneos). La experiencia muestra que, la mejora en los conteos sanguíneos así como los conteos de la severidad no son de gran contraste, muy correlacionados con la terminación de transfusiones, libre de infecciones por neutropenia, y una buena supervivencia. Por estos estándares 60% de los pacientes responden

de tres a seis meses después de iniciar con ATG de caballo. La respuesta tiene muy buenos prospectos de supervivencia que la falta de respuesta. A largo plazo el pronóstico es predecible por la robustez de una temprana respuesta a los conteos sanguíneos (definido con plaquetas o reticulocitos $>50 \times 10^9 /L$ ($50\,000/\mu/L$) tres meses después del tratamiento: el 50% de los pacientes que son tratados con ATG de caballo tienen una robusta respuesta y casi todos ellos tienen una buena supervivencia a largo plazo. Los resultados de la terapia inmunosupresora son relativos a la edad del paciente: 5 años de supervivencia del más del 90% en niños, ha sido reportado en recientes ensayos, comparado con el 50% de supervivencia para adultos viejos de 60 años.²⁹

Los pacientes niños que presenta una muy severa anemia aplásica, predicen una mejor supervivencia a la terapia inmunosupresora (con un régimen de ATG y ciclosporina y en caso de poco conteo de neutrófilos $0.5 \times 10^9 /L$ ($<500/\mu/L$) G-CSF), que en niños que presentan severa anemia aplásica según un estudio realizado por la sociedad americana de hematología. Los niños con muy severa anemia aplásica muestran una alta proporción de respuesta completa que en niños con severa anemia aplásica (68% contra 45%; $P=.009$), así como una buena supervivencia (93% contra 81%; $P<.001$).

Estos resultados claramente sugieren, especialmente en niños con muy severa anemia aplásica que el sistema inmune juega un papel en los mecanismos patológicos de la falla de médula ósea, y las células madre saludables del compartimiento son capaces de compensar, las células madre perdidas en cuanto la destrucción de la mediación de células T se interrumpe. La severa granulocitopenia en el diagnóstico puede por consiguiente, ser un substituto marcador para una enfermedad mediada inmunológicamente, en cambio de una falla primaria de células madre.³⁰

La recaída, definida consecutivamente como un requerimiento para una adicional inmunosupresión y no necesariamente pancitopenia recurrente, es común. La recaída se define por la necesidad de renovar la transfusión, fue estimada en el 12% de los pacientes en 3 años, pero la prolongada dependencia a la ciclosporina entre todos los pacientes es común. La reutilización de la ciclosporina da usualmente un incremento de los conteos sanguíneos, pero puede requerir una segunda ronda de ATG de caballo o conejo usualmente efectiva. Un segundo curso de terapia inmunosupresora, es dado por una falta de respuesta o recaída después del primer curso.

La proporción de respuesta varía entre 30-70% cuando la terapia inmunosupresora es dada por una falta de respuesta y entre 60 y 65% cuando es dada por recaída. Si no responde a un segundo curso, es improbable que un tercer curso pueda conferir beneficios, pero un tercer curso es útil cuando el paciente respondió previamente a la terapia inmunosupresora.³¹ La experiencia muestra que la recaída no confiere un pobre pronóstico, pero es obviamente inconveniente y puede ser no siempre remediable. En el análisis molecular responden las células T en anemia aplásica y esto sugiere que la mejor razón para la recaída es una incompleta erradicación de clones patógenos por ATG.

Más seria que la recaída es la evolución de la anemia aplásica a otras enfermedades hematológicas clonales, PNH, mielodisplasia y leucemia. Pequeños clones de PNH presentan un diagnóstico usualmente estable sobre el tiempo, pero pueden expandirse suficientemente para producir síntomas de hemólisis. Para mielodisplasia y leucemia, el acumulativo a largo plazo de la evolución clonal es cerca del 15%, la evolución es inevitable en anemia aplásica, y algunas anormalidades citogénicas pueden ser transitorias o con trisomía 8, como respuesta a los tratamientos inmunosupresores.²⁰

Mejora de la ATG y ciclosporina: factores de crecimiento y anabólicos esteroides. Los factores de crecimiento no son usados como la única modalidad de tratamiento para la anemia aplásica en un ambiente primario. Algunos pacientes muestran mejora de la neutropenia con G-CSF, pero la neutropenia severa se debe principalmente a la típica anemia aplásica que no responde al tratamiento. En combinación con ATG y ciclosporina, G-CSF puede mejorar la neutropenia y la respuesta a esta terapia constituye un factor positivo para el pronóstico temprano, que considera la respuesta en el futuro. Dosis escaladas de G-CSF no parece ser un beneficio. La G-CSF en combinación con otros agentes ha sido usada como una terapia de salvamento en el ambiente de una falta de respuesta al tratamiento y su prolongada administración ha sido asociada con recuperación de los conteos en algunos pacientes. Sin embargo, algunos reportes implican a la prolongada terapia con G-CSF como causa de evolución clonal, especialmente monosomía 7.

Los anabólicos esteroides fueron extensamente usados para el tratamiento de anemia aplásica, anterior al advenimiento de la terapia inmunosupresora. Recientemente los andrógenos son solo usados como salvadores de la terapia inmunosupresora de pacientes que no responden al tratamiento convencional, pero constituye un pilar principal en la terapia del pasado. Los recientes andrógenos disponibles incluyen oximetolona y danazol.¹⁹ La oximetolona, como todos los esteroides anabólicos, provoca toxicidad y mal funcionamiento hepático, con ictericia y el desarrollo de hematomas y peliosis hepática, por lo tanto deberá usarse con precaución, con monitoreo regular de la función hepática y ultrasonido semestral. Como provoca virilización, con frecuencia es inaceptable para las mujeres.¹²

Otras drogas inmunosupresoras. Como la adición de ciclosporina claramente mejora los resultados, comparando con el uso de ATG solo, otras drogas inmunosupresoras pueden ser pronosticadas, basado en otro modo de acción, estudios animales y experiencia en otras enfermedades humanas y con transplante de órganos, son efectivas. **El mofetilo de micofenolato** es un éster 2-morfolinoetilo de ácido micofenólico.

Su mecanismo de acción es: el mofetilo de micofenolato es un profármaco hidrolizado rápidamente hasta la forma de fármaco activo, que es el ácido micofenólico (MPA), que es un inhibidor selectivo, no competitivo ni reversible de la deshidrogenasa de monofosfato de inopina, enzima importante en la vía de novo de la síntesis de nucleótidos de guanina. Los linfocitos B y T dependen de modo importante de dicha vía para su proliferación, en tanto que otros tipos celulares pueden utilizar vías de "reutilización", el MPA inhibe de manera selectiva la proliferación y las funciones de los linfocitos, incluidas la formación de anticuerpos, la adherencia celular y la migración.²⁸

En un estudio reciente de 104 pacientes, la combinación de ATG, ciclosporina y Mofetilo de micofenolato produce una respuesta similar (62% en 6 meses). Sin embargo ocurrieron más recaídas (63%) mientras recibían Mofetilo de micofenolato a pesar de continuar la droga por 18 meses.¹⁷

Ciclofosfamida. Es un agente alquilante que actúa a través de un grupo reactivo alquilo capaz de formar enlaces covalentes con los ácidos nucleicos, a continuación se establecen enlaces transversales entre los dos filamentos del ADN, lo cual impide la replicación, o se produce la ruptura de los filamentos del ADN. Como con ATG la recuperación de los conteos sanguíneos puede ocurrir después de una falla de médula ósea, precedido por condiciones de ciclofosfamida. Altas dosis de ciclofosfamida (45mg/kg

durante cuatro días) fue usada intermitentemente por investigadores durante periodos en que la ATG fue aparentemente no disponible para ellos; en la más reciente actualización, de 38 pacientes no tratados, la proporción de respuesta fue del 74% y una supervivencia estimada de 86%. En contraste, un estudio fue interrumpido en forma prematura a causa de un exceso de muertes tempranas, infecciones micóticas y la recaída y evolución citogenética fueron observadas. La mayor toxicidad de altas dosis de ciclofosfamida, prolongada la neutropenia con susceptibilidad concomitante a infección, por una rutina profiláctica antimicrobiana y prolongada administración de G-CSF. La terapia con ciclofosfamida no erradica los clones de PNH.

Manejo de pacientes que no responden a la terapia, con anemia aplásica: No ha sido establecido el algoritmo para el manejo de pacientes que tiene falla a la respuesta de ATG. El transplante es una alternativa que ofrecen muchos centros para niños que tienen falla a un curso simple de inmunosupresión y para adultos, después de dos rondas de terapia de ATG. La proporción de respuesta secundaria a ATG fluctúa de 22% a 64%. En un estudio en Italia de ATG de conejo como segunda terapia, 23 (77%) de 30 mejoraron; en la experiencia, la proporción de respuesta fue cerrada en un 30%. La ciclofosfamida también ha sido administrada en estos escenarios, reportando una proporción de respuesta entre el 50%. Un tercer curso de inmunosupresión puede beneficiar solo a pacientes que muestran alguna respuesta a previos tratamientos. La respuesta al tratamiento correlacionado a una buena supervivencia de pacientes que no responden a inmunosupresión, es debido a una buena terapia de soporte.

Se tienen pruebas del **alemtuzumab** (campath-1H), un anticuerpo monoclonal humanizado específico para CD52, una glucoproteína que se expresa en linfocitos, monocitos, macrófagos y linfocitos citolíticos naturales.

En consecuencia, el fármaco causa linfólisis extensa induciendo apoptósis de las células blanco y ha sido efectiva en enfermedades linfoproliferativas, enfermedad injerto contra huésped (EICH) y desórdenes autoinmunes. Los datos de 4 de 8 pacientes que no respondieron al tratamiento con ATG de caballo tienden a responder a alemtuzumab y la toxicidad ha sido moderada.

Tratamiento para pancitopenia moderada. Clínicamente el curso de anemia aplásica moderada es variable: algunos pacientes progresan a enfermedad severa, otras permanecen estables y no requieren intervención; las transfusiones regulares no pueden ser requeridas. Muy pocos ensayos clínicos han especificado la dirección de una moderada enfermedad. La inmunosupresión puede revertirse a pancitopenia moderada y aliviar los requerimientos de transfusión; la ATG y la ciclosporina son más efectivas en combinación, pero en la práctica son usadas secuencialmente.

El **Daclizumab**, un anticuerpo monoclonal humanizado del receptor de interleucina-2, mejora los conteos sanguíneos y alivia los requerimientos de transfusión en 6 de 16 pacientes evaluados; el régimen de pacientes externos tiene poca toxicidad.

Manejo del embarazo en anemia aplásica. En raros casos la anemia aplásica se asocia con el embarazo y puede ocurrir la remisión espontánea al tiempo del aborto o al término del embarazo, aunque no en todos los pacientes. No es evidente la reducción de la fertilidad en anemia aplásica adquirida siguiendo el tratamiento con ATG y ciclosporina, pero la anemia aplásica puede recaer en más de una tercera parte de pacientes embarazadas. La decisión final de continuar con el embarazo es de las pacientes, después de dar totales informes de los riesgos potenciales.

El tratamiento de el novo o recaída de anemia aplásica en el embarazo puede requerir soporte transfusional intensivo que incrementa los riesgos de aloinmunización de células rojas, HLA y antígenos de plaquetas. Datos de un estudio para trasplante renal no muestra incremento en los defectos de nacimiento o abortos espontáneos en infantes nacidos de madres que tomaron ciclosporina comparado con la población en general, así la terapia con ciclosporina puede ser considerada durante el embarazo en anemia aplásica. La ATG ha sido usada raramente en el embarazo. El embarazo sigue un éxito después del trasplante de médula ósea (BMT) y no resulta en recaída de anemia aplásica, en contraste con la experiencia en pacientes tratados con terapia inmunosupresora.^{17,19}

ATG y ciclosporina para el tratamiento de anemia aplásica asociada con hepatitis. La hepatitis asociada a anemia aplásica es una variante de la anemia aplásica adquirida en que un episodio de hepatitis precede a la anemia aplásica, por un periodo de semanas o meses. Un mecanismo inmunológico es asociado con la patogénesis y el resultado de la terapia inmunosupresora ha sido reportado en pequeños estudios. Fueron analizados los resultados de 44 niños con anemia aplásica asociada a hepatitis que recibieron terapia inmunosupresora con ATG y ciclosporina. Catorce pacientes (31.8%) lograron completa respuesta y 17 (38.6%) lograron una parcial respuesta, para una respuesta global de 70.4% después de 6 meses. Siete no respondieron y recibieron trasplante de médula ósea para HLA-donador no relacionado. La probabilidad de la supervivencia global a 10 años fue 88.3+-4.9%, que apoyan el papel de la terapia inmunosupresiva con ATG y ciclosporina como tratamiento de opción para niños con anemia aplásica asociada a hepatitis sin un HLA idéntico hermano donador gemelo.

La toxicidad en el hígado es uno de los más comunes efectos adversos en pacientes que recibieron ATG y ciclosporina. En 70% de los pacientes, la disfunción del hígado fue observada menos de tres semanas después del tratamiento. Esto es por consiguiente una importante pregunta si la terapia inmunosupresora exacerba la precedida hepatitis. Sin embargo en este estudio no se observó ningún grado de toxicidad. Los niveles de enzimas en el hígado decrecen rápidamente después del tratamiento, incluso en pacientes con disfunción en el hígado. La toxicidad de los linfocitos T se piensa son la causa de daño en el hígado en hepatitis viral. La ATG y la ciclosporina pueden eliminar la citotoxicidad de los linfocitos T y mejorar la disfunción en el hígado. La terapia inmunosupresora puede por consiguiente ser útil incluso en pacientes con activa hepatitis y es recomendable que la terapia pueda comenzar tempranamente.^{17,32}

4.2 Transplante de células hematopoyéticas.

La anemia severa o muy severa, es una urgencia hematológica, derivada de los altos requerimientos transfusionales que demandan estos enfermos para su soporte vital. El tratamiento de primera elección es el transplante de células hematopoyéticas, cuyo fin es curar la enfermedad y debe aplicarse en las primeras semanas de evolución. Las recomendaciones de grupos consensuados, como el Registro Internacional de Transplante de Médula Ósea (IBMTR), el Grupo Europeo de Transplante de Médula Ósea (EBMT) y las experiencias de ensayos clínicos o estudios de cohorte, de centros líderes de transplante, han dado la pauta para el abordaje de los enfermos con síndromes de falla medular.

4.2.1 Indicaciones del trasplante

El clínico que identifica a un enfermo con síndrome de falla medular de la máxima intensidad, debe proporcionar su recomendación terapéutica después de considerar las características individuales de cada enfermo, su edad, la disponibilidad de un donador y su entorno, algunos temas de reflexión son:

Etiología. Está demostrado que la causa de la anemia aplásica no afecta de manera adversa la toma de decisiones sobre el trasplante, sin reducir las expectativas del trasplante.

La terapia de soporte transfusional. Debe emplearse para la correlación de anemia y el sangrado, además del tratamiento antimicrobiano si existe una infección concomitante. La terapia transfusional al diagnóstico tiene un impacto pronóstico en la evolución del enfermo, ya que una correcta terapia transfusional elimina los riesgos de aloinmunización, infección asociada a la transfusión o a reacción febril, con su principal consecuencia, el fracaso de trasplante. Por esta misma razón los familiares de primer orden no deben ser donadores de productos sanguíneos.

La clínica del trasplante. Todo enfermo con anemia aplásica debería ser referido para su valoración a la unidad clínica de trasplante, con el fin de proporcionar información relacionada al procedimiento y en su caso el inicio de los estudios correspondientes a la búsqueda de un donador compatible, en el sistema de histocompatibilidad clase I y II por estudios de serología y biología molecular.

La edad. El trasplante singénico o el alogénico de donador relacionado, se recomienda como terapia de primera elección en todos aquellos enfermos

menores de 40 años, que cuenten con un familiar sano, idéntico en el sistema de histocompatibilidad mayor (HLA).

Se debe acudir a la posibilidad de un trasplante alternativo en los niños que han fracasado al tratamiento con inmunosupresores. Al tiempo de recibir un segundo curso de tratamiento inmunosupresor, debe iniciarse la búsqueda de un donador no relacionado. Lo mismo ocurre para adultos menores de 40 años con anemia aplásica grave.³³

Disponibilidad de un donador. Existe un donador compatible en el sistema HLA cuando un enfermo cuenta con un gemelo idéntico, en cuyo caso el trasplante puede no requerir de algún régimen de acondicionamiento, solo requiere la infusión de las células hematopoyéticas del donante. Desafortunadamente esta posibilidad es remota. El trasplante de elección es el proporcionado por un donador relacionado compatible en los antígenos de histocompatibilidad I y II, en 6 de 6 alelos, definidos por estudio de serología y tipificación de ADN. Generalmente sólo del 25 al 30% de los enfermos cuenta con un donante con esta posibilidad terapéutica.

Existen donadores no relacionados provenientes de un banco de células de cordón placentario o bien de un registro de donadores voluntarios, lo que permitirá tener un donante disponible en un 25%, por cada opción. La supervivencia después del trasplante no relacionado ha mejorado sobre los pasados 15 años, se sugiere que es debido a que el HLA es similar en el nivel alélico usando técnicas de alta resolución de tipificación de ADN por lo que el trasplante con donadores no relacionados puede ser una buena opción en pacientes niños o jóvenes sin un donador relacionado compatible.³⁴

4.2.2 Evaluación del candidato a transplante, con donador compatible.

Presencia de infecciones en el recetor. El enfermo con severa anemia aplásica, debe ser sujeto a una evaluación integral para determinar por estudios de imagen y función si es un sujeto elegible a transplante: se evalúa sistema nervioso, cardio-pulmonar, hepático, renal, digestivo, urinario y músculo-esquelético; se realiza erradicación de fuentes de infección en los aparatos respiratorio (senos paranasales) digestivo (cavidad bucal, región anoperineal), urinario, genital y piel. Se deberá colocar un catéter venoso central permanente.

Evaluación de aloinmunización. Se debe realizar un rastreo de aloanticuerpos, estudio de linfocitotoxicidad, y el inmunofenotipo de serie roja específico del enfermo y su donador, posteriormente proporcionar el producto sanguíneo más adecuado a cada enfermo. Se recomienda no emplear a un familiar como donador, porque incrementa la probabilidad de tener aloinmunización y por tanto el fracaso del transplante. De manera ideal el enfermo debe recibir menos de 20 productos sanguíneos antes del transplante, con el fin de evitar aloinmunización y fracaso del transplante, con un impacto pronóstico adverso, ya que suele afectar el 30 a 40% de los enfermos. Se recomienda que todos los productos sanguíneos sean sometidos a radiación gama.

Presencia de infecciones en el donador. Es común la presencia de ciertas infecciones virales en el donador, tales como el virus del Epstein Barr o el virus citomegálico. En estos casos se recomienda solo que la infección no esté en fase activa.

4.2.3 Programa de trasplante alogénico relacionado.

Cuando se dispone de un donante apto y el receptor es elegible para el trasplante, las recomendaciones a considerar son:

Momento del trasplante. Se debe realizar en los primeros 60 días del diagnóstico, para evitar las complicaciones inherentes a la enfermedad, infección y sangrado, así como evitar dentro de lo posible la terapia transfusional.

Origen de las células hematopoyéticas. De manera convencional se emplea la médula ósea, aunque se realiza cada vez más la toma de sangre periférica movilizada con factor estimulante de colonia de granulocitos. La desventaja de la médula ósea estriba en la incertidumbre para lograr la dosis óptima de células mononucleares para el trasplante $>3.0 \times 10^8$ /L /kg de peso del receptor. La desventaja de la sangre periférica movilizada, consiste en el alto contenido de linfocitos maduros y una mayor asociación a la enfermedad del injerto en contra del hospedero crónica. Las células del cordón placentario han sido suficientes para reconstituir la hematopoyesis; se recomienda una dosis $>3.0 \times 10^6$ /L células CD34+ por kg de peso del receptor. Una dosis insuficiente se asocia con fracaso de injerto. Estas células tienen la característica de no predisponer a la enfermedad de injerto en contra del hospedero.³³

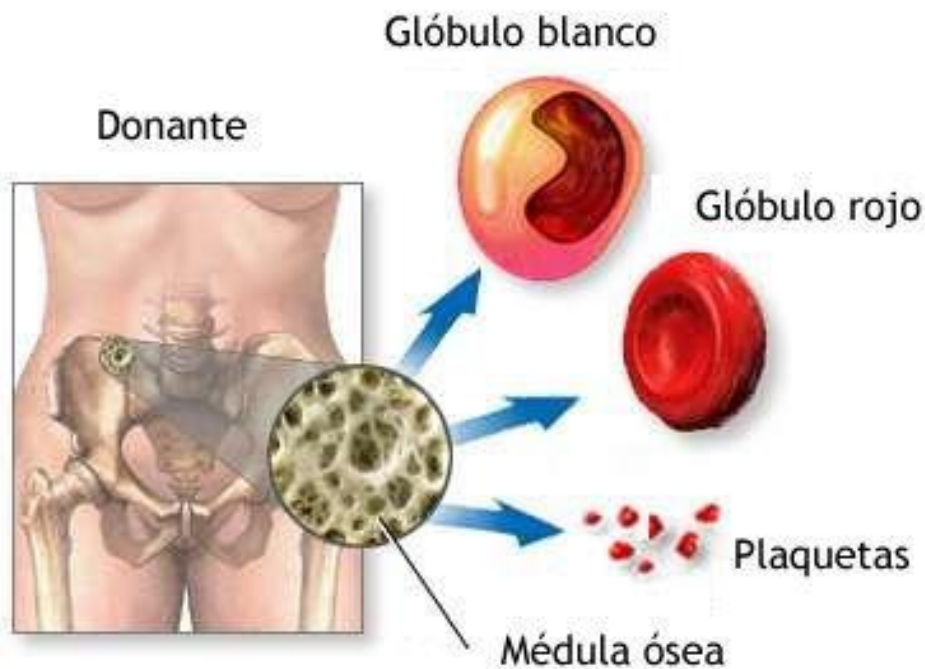


Fig. 7 transplante de células hematopoyéticas⁴²

Régimen de acondicionamiento. La condición estándar es **ciclofosfamida** en 200 mg /kg y **ATG** 90 mg /kg en 3 días, con los cuales se puede lograr de un 65 a 90% de éxito a largo plazo. Las complicaciones derivadas de este régimen han sido daño transitorio en la fertilización, con predominio en mujeres mayores de 26 años, y las manifestaciones de enfermedad del suero por el uso de globulina.

Inmunopprofilaxia para la enfermedad del injerto en contra del huésped aguda. La combinación **ciclosporina y metotrexato** (Antineoplásico del grupo de los antimetabolitos, citostático del grupo de los antifolatos. El principal modo de acción del metotrexato es ser un inhibidor competitivo de la enzima dihidrofolato-reductasa. Esta enzima permite reducir el ácido dihidrofólico en ácido tetrahidrofólico. Este paso es fundamental para la síntesis de ADN. El metotrexato al inhibir así la síntesis del ADN, impide la

duplicación celular, esto explica en parte, su efecto antineoplásico), es el estándar de oro para la prevención de la EICH aguda, lo que ha reducido la frecuencia a menos de 10% y al mismo tiempo la inmunosupresión prolongada con ciclosporina es útil para evitar el fracaso secundario del trasplante. Para lograr este objetivo la inmunosupresión debe mantenerse por un mínimo de un año y la dosis solo será modificada con base a los resultados de quimerismo entre donador-receptor.^{31,35,36}

La enfermedad del injerto en contra del hospedero crónica. Tiene una frecuencia que oscila de un 25 a 55%, cuando se emplea médula ósea y puede ser hasta del 80% cuando se aplica sangre periférica movilizada. Esta complicación requiere tratamiento con inmunosupresores de manera prolongada, lo que predispone a un mayor riesgo de infecciones por gérmenes oportunistas intracelulares (15 a 20%) con virus o micosis o la posibilidad de daño orgánico residual por la EICH extendida que afecta al 5% de los enfermos.

El injerto y el fracaso del injerto. El injerto ocurre en el 95% de los enfermos con anemia aplásica sometidos a trasplante alogénico de donador relacionado. El fracaso del injerto es la principal complicación inherente al trasplante, el cual puede ser primario o secundario. Es primario cuando no ocurre el injerto después de 28 días del trasplante; se denomina secundario, cuando el injerto es transitorio y a mediano plazo hay citopenia progresiva e intensa; ocurre en el 5% de los enfermos. La mejor manera de prevenir o mejorar el injerto es con un mejor control de calidad, una correcta selección del donador, una dosis adecuada de células hematopoyéticas, un régimen inmunosupresor intenso y profilaxis inmunosupresora de EICH a largo plazo. Las medidas tienen como fin lograr el quimerismo y la tolerancia inmune.³³

4.2.4 Transplante con donador no relacionado.

Recientemente para intentar reducir el rechazo de injerto y mejorar la supervivencia incluye el uso de dosis bajas de irradiación total del cuerpo o una no irradiación con régimen basado en **fludarabina** (90 mg /m²) (interfiere con la capacidad celular de elaborar ADN, lo que impide que las células cancerosas se multipliquen). En un estudio se reportó bajo rechazo de injerto en proporción del 5%, entre 87 pacientes transplantados para donador no relacionado usando una dosis escalonada de radiación corporal total en más pacientes. Sin embargo la toxicidad pulmonar fue observada y EICH siguió siendo un problema. En contraste un estudio donde se uso fludarabina, bajas dosis de ciclofosfamida (1200 mg /m²) y ATG reportaron un rechazo superior de injerto (18%), particularmente entre pacientes viejos, pero una baja proporción de aguda y crónica EICH. Otro acercamiento ha sido el uso de **alemtuzumab** en cambio de ATG resultando en una baja incidencia de EICH, especialmente EICH crónica, pero la falla de injerto fue alta, de 24%. Sin embargo se requiere más evaluación de un estudio largo.¹⁷

4.2.5 Células de cordón placentario

En los recientes años, las células de cordón placentario que cuenta con una rica fuente de células madre hematopoyéticas, ha sido usada exitosamente como alternativa de donador alogénico. Porque ésta disminuye el riesgo de enfermedad de injerto contra hospederio después del transplante de células de cordón placentario usando donador relacionado similar.³⁷

La terapia inmunosupresora y el transplante de células hematopoyéticas para un HLA- donador idéntico son el mejor tratamiento para la severa anemia aplásica. Sin embargo los tratamientos todavía necesitan ser desarrollados para pacientes que no tienen un HLA donador idéntico y no muestran una

respuesta a la terapia inmunosupresora. Existe el reporte de dos pacientes en que estos problemas pueden ser superados por transplante de HLA desigual sangre de cordón placentario para donador no relacionado. Dos pacientes japoneses con severa anemia aplásica sufren condiciones con fludarabina (30mg /m²/día para el día -5 a -3), ciclofosfamida (750mg /m²/día para el día -5 a -3), y bajas dosis de radiación total del cuerpo (2 Gy/día para -2 a -1) para recibir transplante de células de cordón placentario no relacionado, el seguimiento de tres años muestra una buena respuesta. Esta alternativa reduce la dosis del régimen con fludarabina, ciclofosfamida y radiación total corporal, y puede ser una atractiva alternativa para pacientes que no tienen donador relacionado o no responden a la terapia inmunosupresora. Sin embargo se requiere más investigación.³⁸

4.2.6 Terapia de soporte

La terapia de soporte es la piedra angular en el tratamiento de los enfermos con anemia aplásica, ya que las medidas implementadas influyen directamente en la supervivencia y la posibilidad de curación.

Terapia transfusional

Dado que las manifestaciones clínicas predominantes en estos enfermos son el síndrome anémico y la hemorragia, las políticas de medicina transfusional son la base de una evolución satisfactoria. Así pues, el apoyo transfusional de concentrados eritrocitario y plaquetario será de suma importancia, mientras se lleva a cabo una terapia inmunosupresora o un transplante de médula ósea (TMO).

Se debe limitar el número de transfusiones de manera racional y llevarlas a cabo en forma específica, con el componente sanguíneo de la más alta calidad, del mismo grupo sanguíneo e idealmente los productos deben ser

leucorreducidos. Los beneficios de esta política son evitar infecciones, alosensibilización, y por tanto fracaso del injerto cuando existe la opción de trasplante. Es necesario definir la terapia transfusional profiláctica, toda vez que los enfermos con anemia aplásica puedan tolerar, en forma crónica, cifras de hemoglobina de 8g/dL, sin repercusión clínica, y que la cifra de plaquetas que justifica la transfusión sea $<20,000/\mu\text{L}$, en ausencia de alguna causa de refractariedad, tales como la presencia de infección, esplenomegalia, hemorragia o coagulación intravascular diseminada.

La hemorragia ha sido reconocida como una causa común de muerte en los pacientes con anemia aplásica. Hoy en día sin embargo, la obtención de concentrados plaquetarios se ha facilitado enormemente y su aplicación se ha convertido en una herramienta fundamental.

Cuando los niveles de plaquetas se encuentran entre 75×10^9 y $140 \times 10^9/\text{L}$, los pacientes son generalmente asintomático; con niveles entre 20×10^9 y $75 \times 10^9/\text{L}$ los pacientes pueden presentar equimosis, menstruaciones abundantes y ocasionalmente epistaxis. Estas tendencias hemorrágicas pueden exacerbarse, pero permanecen sin significancia clínica. Con niveles entre 10×10^9 y $20 \times 10^9/\text{L}$, se puede observar petequias, púrpura espontánea, sangrado gingival y puede haber sangrado espontáneo de origen renal. La decisión de cuando transfundir plaquetas es aún un punto de debate. La experiencia internacional, de acuerdo a la mayoría de las publicaciones, indica que la transfusión debe efectuarse cuando la cuenta plaquetaria es inferior a $10 \times 10^9/\text{L}$. hay que suprimir la menstruación, bien con estrógenos orales o con antagonistas de las hormonas foliculoestimulantes / hormonas luteinizantes administrado por vía nasal.

Tanto en los concentrados plaquetarios y eritrocitarios, se recomienda el uso de componentes leucorreducidos, con la finalidad de disminuir o evitar aloinmunizaciones, así como reacciones febriles no hemolíticas.

Terapia antimicrobiana.

Compensando el síndrome anémico y logrando el control de la hemorragia, sigue prevenir infecciones y en este aspecto se deben considerar las políticas de terapia transfusional, el uso de catéteres y aplicación de fármacos, así como las políticas del manejo del enfermo con falla medular.

En este contexto existen dos situaciones clínicas particulares: hay enfermos con anemia moderada, con neutropenia $>0.5 \times 10^9/L$, cuya probabilidad de infección ocurre en el 20% de los casos; para ello es conveniente implementar medidas de higiene general, erradicación de focos sépticos y tratamiento de infecciones específicas. La segunda situación incluye enfermos con la cifra de neutrófilos menor $0.5 \times 10^9/L$, aquí la probabilidad de infección alcanza el 36%, por ello, además de los cuidados previos se requieren medidas especiales, como el uso de G-CSF o GM-CSF, que tiene el objetivo de estimular la hematopoyesis residual y finalmente prevenir la infección. Un subgrupo aparte son aquellos enfermos con neutropenia $<0.2 \times 10^9/L$, cuya incidencia de infección puede superar el 50%; estos pacientes suelen tener una respuesta mínima a citocinas y requieren en forma inmediata tratamiento inmunosupresor intensivo combinado o bien trasplante. Estas acciones terapéuticas inicialmente prolongan el periodo de neutropenia intensa y adicionan cierto grado de inmunodeficiencia; estos enfermos requieren el uso de antibióticos profilácticos, además de la terapia con citocinas, y en los casos de infección sistémica, la aplicación de concentrados de granulocitos.

Adicionalmente, se ha demostrado que la infección suele producir citocinas supresoras de la hematopoyesis, luego entonces no es raro que un enfermo

que tiene una respuesta incipiente pierda su respuesta ante un proceso séptico. Esto obliga al clínico a tener una conducta agresiva ante cualquier evidencia de infección. En este caso las medidas de higiene universal, de la piel y mucosas, la atención de focos sépticos potenciales tales como piel, dental y anal, son prioritarios para la atención de excelencia en estos enfermos. Los alimentos cocidos o asados suelen ser la base del éxito y las bebidas pasteurizadas suelen ser también obligadas.

Las condiciones particulares del enfermo pueden ayudar a definir el esquema profiláctico antimicrobiano. Si bien se ha demostrado que algunos enfermos desarrollan resistencia a antibióticos y gérmenes más agresivos, también es conocido que la descontaminación selectiva del tubo digestivo juega un papel central en la prevención de sepsis. En este aspecto, la experiencia del grupo específico debe dictar políticas particulares a cada hospital, habitualmente los fármacos empleados con este fin son las quinolonas y las sulfas. El empleo de antivirales, particularmente aciclovir, durante el periodo inicial postransplante suele evitar complicaciones letales, tales como la neumonía, y debe ser obligatoriamente proporcionado. El uso de antimicóticos posiblemente se relacione con la situación de prevalencia en cada hospital; los enfermos sometidos a transplante suelen requerirlos durante la etapa crítica de este apoyo, en cuyo caso se puede emplear fluconazol o el itraconazol.

Por lo general la bacteremia se documenta en el 20% de los enfermos, y los cultivos son positivos en el 40%; así cerca del 60% de los enfermos no muestran un germen causal. Por tal motivo, los esquemas de neutropenia y fiebre son vitales en estos enfermos, ya que la evolución a sepsis suele ocurrir en un transcurso de horas.

El paciente con síndrome de sepsis se justifica, adicionar el uso de antimicrobianos, el empleo de transfusión de granulocitos con una dosis superior a 3×10^{10} /L de un donador compatible. El uso de citocinas, particularmente G-CSF y la GM-CSF ha sido recomendado durante los episodios de infección y durante la etapa crítica por un tiempo menor a 15 días. El grupo de trabajo deberá considerar en cada situación si las políticas para el uso de citocinas son con la finalidad de prevenir infecciones o bien, como terapia adyuvante al tratamiento inmunosupresor.³³

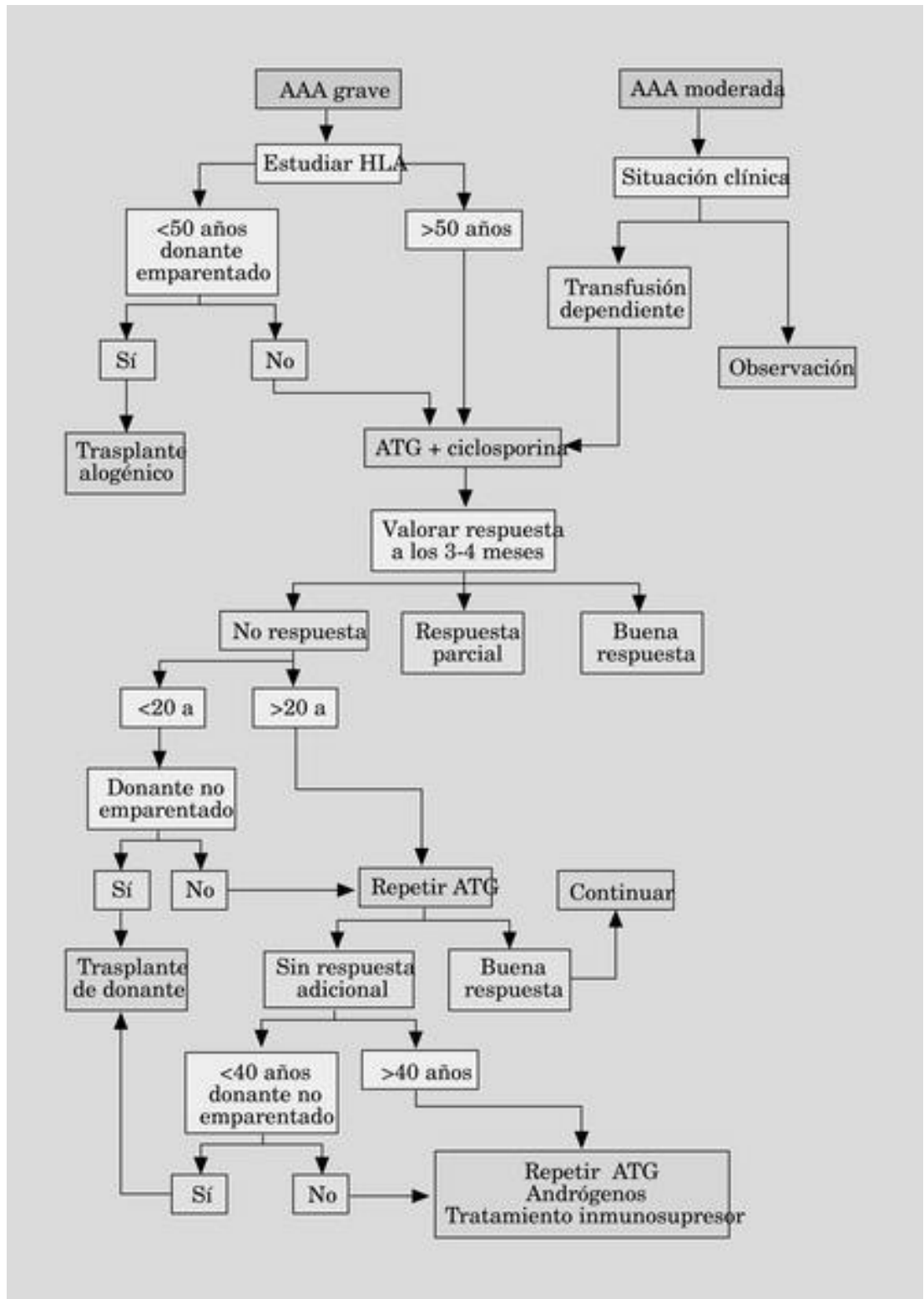


Fig. 8 Algoritmo más común para el tratamiento de anemia aplásica⁴²

CAPÍTULO V

MANIFESTACIONES ORALES Y MANEJO ODONTOLÓGICO

5.1 MANIFESTACIONES ORALES Y MANEJO ODONTOLÓGICO

Las lesiones orales pueden ser la primera manifestación de anemia aplásica; por consiguiente, los cirujanos dentistas deben ser conscientes de estas manifestaciones para que un diagnóstico temprano de la enfermedad pueda hacerse.

Se ha encontrado que los episodios hemorrágicos son la primera manifestación oral y más común en los pacientes, por lo que es importante dirigir una evaluación clínica rigurosa de un paciente con sangrado inexplicable o persistente en la cavidad oral.



Fig.9 Paciente con sangrado espontáneo gingival³⁹

Las lesiones orales más frecuentes son además úlceras no específicas, mucositis y candidiasis. La candidiasis es la enfermedad oral más común en estos pacientes.



Fig. 10 Paciente con candidiasis eritematosa en lengua³⁹

Se debe señalar que es muy común las infecciones orales ya sean fúngicas, virales (herpes simple, herpangina, varicela zoster) o bacterianas, durante la enfermedad. La boca es un puerto de entrada para las infecciones tempranas en estos pacientes que pueden complicar las condiciones generales.³⁹

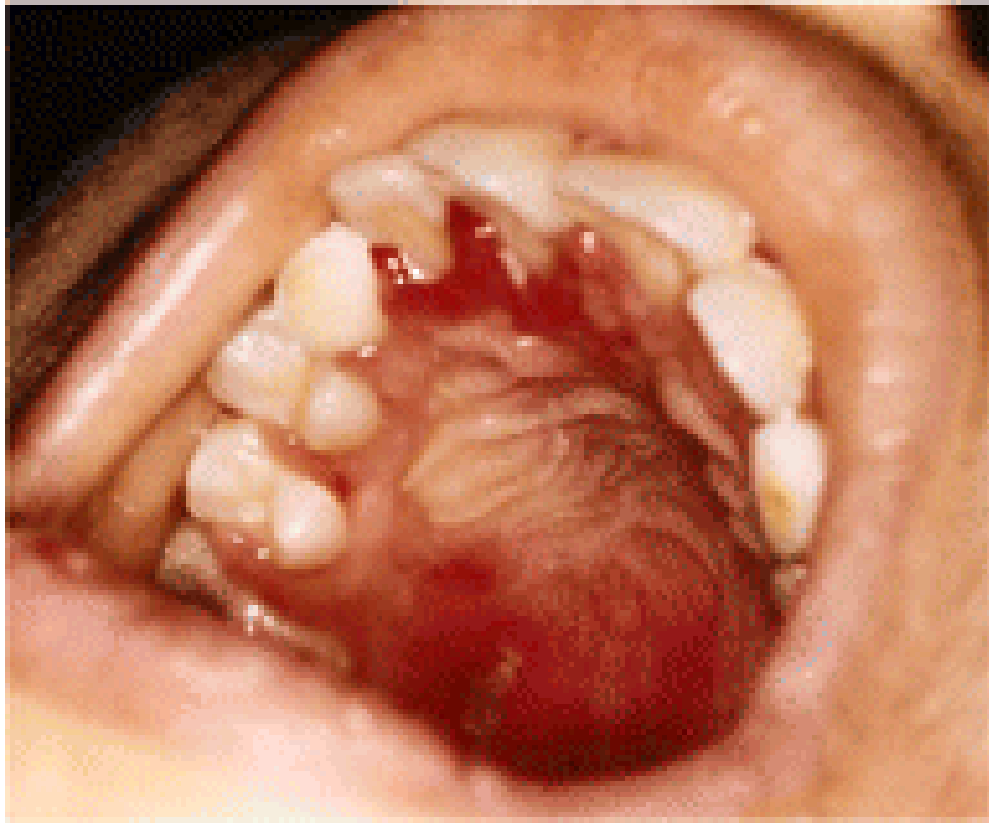


Fig. 11 Paciente con herpes simple en la encía y paladar³⁹

Las complicaciones orales más comunes observadas después de la terapia son la mucositis, la disfunción de las glándulas salivales, la disfunción del sentido del gusto y el dolor. Estas complicaciones pueden, a su vez, producir otras secundarias como deshidratación, disgeusia y malnutrición

El manejo de las complicaciones orales, comprende identificación de poblaciones a alto riesgo, educación del paciente, iniciación de intervenciones antes del tratamiento y manejo oportuno de lesiones. La evaluación del estado oral y la estabilización de la enfermedad oral antes de la terapia son medidas críticas para la atención completa del paciente. Como se indica, esta atención debe ser tanto preventiva como terapéutica para reducir al mínimo el riesgo de complicaciones orales y de otras complicaciones sistémicas asociadas.

Cada vez se entienden mejor los mecanismos asociados con las complicaciones orales. Desafortunadamente, en estos momentos no hay agentes ni protocolos de eficacia universal que eviten la toxicidad. Sin embargo, la eliminación de infecciones preexistentes dentales, periapicales, periodontales y de las mucosas, la institución de protocolos integrados de higiene oral y la reducción de otros factores que puedan afectar la integridad de la mucosa oral (o sea, trauma físico de los tejidos orales), pueden reducir la frecuencia y severidad de las complicaciones orales en el paciente.

La severidad de las complicaciones orales en los pacientes se puede reducir significativamente cuando se inicia antes del tratamiento una estrategia agresiva para estabilizar la higiene oral. Las medidas preventivas principales, tales como consumo nutritivo apropiado, higiene oral eficaz y detección temprana de lesiones orales, constituyen intervenciones importantes previas al tratamiento.

La participación de un equipo dental experimentado puede reducir el riesgo de complicaciones orales mediante la examinación directa del paciente o mediante consulta con un dentista de la comunidad. La evaluación debe realizarse lo más pronto posible antes del tratamiento. Este examen permite que el dentista determine la condición de la cavidad oral antes de la terapia e inicie las intervenciones necesarias para intentar reducir las complicaciones orales durante la terapia y después de ésta. Lo ideal es que este examen se realice por lo menos un mes antes del tratamiento para permitir la curación adecuada de cualquier procedimiento dental que sea necesario. Se debe iniciar un programa de higiene oral, asegurándose que el paciente lo siga obedeciendo después al pie de la letra.

Las intervenciones específicas se dirigen a:

- lesiones de las mucosas

- caries dental y enfermedad endodóntica
- enfermedad periodontal
- dentaduras postizas mal ajustadas
- dispositivos ortodónticos
- disfunción temporomandibular
- anormalidades salivales

Se pueden emplear estas pautas para extracciones dentales, manejo endodóntico e intervenciones relacionadas según sea apropiado. La profilaxis antibiótica antes de los procedimientos orales invasores podría justificarse en el contexto de catéteres venosos centrales; el protocolo de la American Heart Association (AHA Asociación Cardíaca Norteamericana) para endocarditis infecciosa y procedimientos orales se utiliza frecuentemente para tratar a estos pacientes.

Pautas para el manejo de procedimientos dentales invasores		
Estado médico	Pauta	Comentarios
Pacientes con líneas de acceso venosas implantadas	Recomendaciones antibióticas profilácticas de la Asociación Cardíaca Norteamericana (riesgo bajo)	No existe prueba científica positiva que detalle el riesgo de infección de estas líneas después de procedimientos dentales, esta es una recomendación empírica.
Neutrófilos		Hacer una hematimetría completa y diferencial
>2000 mm ³	Antibióticos no profilácticos	
1000 a 2000 mm ³	Recomendaciones antibióticas profilácticas de la Asociación Cardíaca	El juicio clínico es crítico. Si hay infección presente o no se sabe si hay infección, se

	Norteamericana (riesgo bajo)	indica una terapia antibiótica mas agresiva
< 1000 mm ³	159 mg/m ² de ampicilina antes de la cirugía, 75mg/kg de ticarcilina IV media hora antes de la operación. Repítanse ambas seis horas después de la operación.	Si se sabe o se sospecha que hay organismos, ajustar debidamente según sensibilidades.
plaquetas		Hacer recuento de plaquetas y examen de coagulación
>75,000mm ³	No se necesita apoyo adicional	
40,000 a 75,000mm ³	Transfusión de plaquetas optativa; considere su administración preoperatorio y 24 horas después. Transfusión adicional basándose en el curso clínico	Técnicas para fomentar el establecimiento y el mantenimiento del control del sangrado (o sea suturas, pesos para ejercer presión, reducir trauma al mínimo).
<40,000 mm ³	Transfusión de plaquetas una hora antes, del procedimiento, obtener recuento inmediato de plaquetas, transfusión con regularidad para mantener recuentos superiores a 30-40,000 mm ³ hasta que comience a sanar.	Además de lo anterior considere usar agentes hemostáticos (por ej; colágeno microfibrilar, trombina tópica). Observar sitios con cuidado.

Supone que todos los demás parámetros de coagulación están dentro de los límites normales y que el recuento de plaquetas se mantendrá al nivel especificado o por encima de él hasta que ocurra la estabilización o curación inicial.

La limpieza de los dientes con cepillo e hilo dental representa dos métodos simples y rentables para controlar la placa dentobacteriana. Esta estrategia está diseñada para reducir el riesgo de infección oral de los tejidos blandos durante la mieloablación. Sin embargo, estas intervenciones varían según las

instituciones. Por ejemplo, los equipos en algunos centros promueven su uso, mientras que los equipos de otros centros hacen que sus pacientes discontinúen el cepillado dental y el uso del hilo dental cuando los componentes sanguíneos periféricos disminuyen por debajo de los umbrales definidos (o sea, $< 30,000$ plaquetas por mm^3).

La infección periodontal (gingivitis y periodontitis) causa riesgo de sangrado oral; los tejidos sanos no sangran. Discontinuar la limpieza dental con cepillo e hilo dental puede aumentar el riesgo de sangrado gingival, infección oral y bacteremia. Por lo tanto, el riesgo de infección y sangrado gingival se reduce eliminando la infección gingival antes de la terapia y fomentando diariamente la higiene oral con la eliminación de la placa bacteriana por medio de una abrasión suave con un cepillo de dientes suave o ultrasuave durante la terapia. El control mecánico de la placa no solo fomenta la salud gingival, sino que también puede disminuir el riesgo de exacerbación de la mucositis oral secundaria a la colonización microbiana en las superficies mucosas lesionadas.

La limpieza dental con cepillo e hilo dental debe realizarse en el marco de una supervisión diaria apropiada por el personal profesional. Los pacientes deben utilizar un cepillo de dientes de cerdas de nylon suave 2 ó 3 veces al día con técnicas que limpian específicamente la porción gingival del diente y el surco periodontal, manteniéndolos libres de placa bacteriana. Enjuagar el cepillo en agua caliente cada 15 ó 30 segundos durante el cepillado ablanda el cepillo y reduce el riesgo de ocasionar trauma.

El enjuague oral con agua o solución salina 3 ó 4 veces durante el cepillado ayuda aún más a quitar la placa dental que el cepillo haya soltado. Los enjuagues que contienen alcohol deben evitarse. Como los agentes saborizantes de la pasta pueden irritar los tejidos suaves orales, se debe considerar el uso de una pasta que tenga un sabor relativamente neutral. Los

cepillos deben secarse al aire entre usos. Aunque se ha sugerido que se usen desinfectantes, no se ha probado que su uso rutinario para limpiar los cepillos tenga ningún valor. Se puede utilizar cepillos ultrasónicos en vez de manuales si se enseña al paciente a utilizarlo como es debido.

Es importante evitar la resequedad de los labios para reducir el riesgo de lesión al tejido. Los productos para el cuidado de los labios contienen aceites y ceras a base de petróleo que pueden resultar útiles. Las cremas y ungüentos a base de lanolina, sin embargo, pueden ser más eficaces en proteger contra este tipo de trauma.⁴⁰

Candidiasis

Las infecciones más frecuentes en el transplante de médula ósea son las debidas a Candida. El riesgo de desarrollarla aumenta al disminuir la concentración de IgA en la saliva con la xerostomía y la neutropenia. Se ha informado una prevalencia de colonización bucal por Candida del 31%, en pacientes con transplante de médula ósea, y 56% de esos portadores tenían candidiasis clínica. La forma pseudomembranosa aguda es la más común en pacientes con afección de glándulas salivales, pero en el curso de la enfermedad se pueden presentar todas las formas clínicas: eritematosa, pseudomembranosa, hiperplásica y queilitis angular. La profilaxis con fluconazol y los enjuagues de clorhexidrina reducen la frecuencia de colonización por Candida, disminuyendo el riesgo de diseminación sistémica. El tratamiento tópico consiste en aplicación de nistatina en suspensión o crema, o trociscos de clotrimazol disueltos en la cavidad bucal y enjuagues bucales de clorhexidrina. Los medicamentos de primera elección para el tratamiento sistémico son fluconazol, ketoconazol, o itraconazol.⁴¹

CONCLUSIONES

Esta enfermedad puede presentarse a cualquier edad, pero es más común en pacientes niños y adultos jóvenes, con una incidencia de 1-2 personas por millón de habitantes en Europa, en México se ha reportado una incidencia de 5-7 personas por millón de habitantes al año, similar a la presentada en países de alta incidencia como China y Tailandia, esto es asociado a una pobre seguridad industrial y a la automedicación.

Los posibles agentes causales son muchos e incluyen principalmente diversos medicamentos como el cloramfenicol, químicos de origen industrial como el benceno y el DDT, así como diferentes tipos de virus.

El diagnóstico clínico se basa en los hallazgos en sangre periférica, como en aspiración de médula ósea y una biopsia.

El tratamiento para la anemia aplásica es principalmente terapia inmunosupresora y trasplante de células hematopoyéticas, siendo la primera la más altamente usada por la falta de un donador histocompatible, la edad del paciente y el inmediato costo del trasplante. Sin embargo el trasplante de células hematopoyéticas es el tratamiento de primera elección, cuyo fin es curar la enfermedad y debe aplicarse en las primeras semanas de evolución. Por otra parte, sea cual fuere el tratamiento seguido, generalmente se requiere una terapia de apoyo, la cual es la piedra angular en el tratamiento de estos enfermos, ya que las medidas implementadas influyen directamente en la supervivencia y la posibilidad de curación; estas son terapia transfusional y terapia antimicrobiana.

Aún se requiere mucha investigación ya que la fisiopatología de la enfermedad no es del todo clara y por lo tanto el tratamiento resulta complicado, altamente costoso y muchas veces ineficaz.

El cirujano dentista debe estar consiente que las primeras manifestaciones de esta enfermedad, se dan en la cavidad bucal (hemorragias e infecciones recurrentes); por lo que es necesario conocerlas, para lograr un diagnóstico temprano y así atenderlas y tratarlas adecuadamente, dando al paciente una mejor oportunidad de supervivencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Vinay Kumar, Abul K, Nelson fausto. ***Patología estructural y funcional***. 7ª. Ed. España: Editorial Elsevier, 2005, Pp. 624-627 y 651-.653
2. - Kasper Denis L, Braunwald Eugene, Fauci, Anthony S, y cols. ***Harrison Principios de medicina interna***. 16a edición. Chile: Editorial Mc Graw- Hill Interamericana, 2006, Pp. 692-698.
3. - Leavell S Byrd, Thorup Oscar A. Jr. ***Hematología Clínica***. 4ª. Ed. México D.F. Editorial Interamericana, 1978, Pp. 4-20 y 152-165.
- 4.- Garrtner Leslie P, Hiatt James L. ***Histología, Texto y Atlas***. México. Editorial Mc Graw- Hill Interamericana, 1997, Pp. 196-223.
- 5.- Suites Daniel P, Terr Abba I, Parslow Tristram G. ***Inmunología básica y clínica***. 9ª. Ed. México. Editorial manual moderno. 2000. Pp. 3-8
- 6.- Lippert Herbert, ***Anatomía, estructura y morfología del cuerpo humano***. 4ª. Ed.Madrid España. Editorial Marbán libros, S.L. 1996, Pp. 57-66
7. - Goldsby Richard A, Kindt Thomas J, Osborne Barbara A, Kuby Manis. ***Inmunología***. 5a. Ed. México. Editorial Mc Graw- Hill Interamericana. 2004, Pp 5-12.
- 8.- Montané E, Ibáñez L, Vidal X, Ballarín E, Puig R, García N, Laporte JR. ***Epidemiology of aplastic anemia: a prospective multicenter study***. Rev. Haematologica 2008; 93 (4): 518-523

- 9.- Hamerschlak N, Maluf E, Pasquín R, Eluf-Neto J y col`s. ***Incidence of aplastic anemia and agranulocytosis in Latin America- The Latin study.*** Rev. Sao Paulo Medical Journal 2005; 123 (3): 1-8
10. - Young N, Kaufman D. ***The epidemiology of acquired aplastic anemia.*** Rev. Haematologica 2008; 93 (4): 489-492
11. - Issaragrisil S, Kaufman D, Anderson T, Chansung K y cols. ***The epidemiology of aplastic anemia in Thailand.*** Rev. Blood 2006; 107: 1299-1307
- 12.- Sánchez E, Vélez M, Benítez H, Díaz S y cols. ***Estudio y tratamiento de la anemia aplásica en México: una perspectiva sobre el estado actual.*** Rev. De Hematología 2004; 5 (1): 3-16
- 13.- 6.1 Ruiz Arguelles Guillermo. ***Fundamentos de hematología.*** México. Editorial medica panamericana 1998 Pp. 134-143.
- 14.- Kuskonmaz B, Cetil M, Uckan D, Yetgin S. ***Varicella zoster-associated severe aplastic anemia in a child and its successful treatment with peripheral blood stem cell transplantation from HLA-5/6-identical donador.*** Rev. Med Sci Monint 2007; 13(10): 128-131
- 15.- Gupta A, Bansal D, Marwaha RK, Trehan A. ***Hepatitis-associated aplastic anemia: successful outcome following immunosuppressive therapy.*** Rev. Indian J Gastroenterol 2005; 24 (4): 175-176

16. - Elizabeth A, Morrison, Candis. ***Detecting aplastic anemia: A case illustrates the importance of attending to the results of routine test.*** Rev. American of Nursing 2006; 106 (9): 72AA-72II
17. - Marsh J. ***Marking therapeutic decisions in adults with aplastic anemia.*** Rev. Hematology 2006; 78-84
18. - Bacigalupo A. ***Aplastic anemia: pathogenesis and treatment.*** Rev. Hematology 2007; 23-27
19. - Maciejewski JP, Risitano AM. ***Aplastic anemia: Management of adult patients.*** Rev. Hematology 2005; 110-117
20. - Young NS, Calado RT, Scheinberg P. ***Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia.*** Rev. Blood 2006; 108: 2509-2519
21. - Calado RT, Graf SA, Wilkerson KL, Kajigaya S y cols. ***Mutations in the SBDS gene in acquired aplastic anemia.*** Rev. Blood 2007; 110: 1141-1146
22. - Takeshi H, Kazuki A, Hisashi T, Hisataka M. ***Excessive production of tumor necrosis factor-alpha by bone marrow T lymphocytes is essential in causing bone marrow failure in patients with aplastic anemia.*** Rev. European Journal of Haematology 2004; 73(1): 10-16
23. - Solomou EE, Keyvanfar K, Young NS. ***T-bet, a Th1 transcription factor, is up-regulated in T cells from patients with aplastic anemia.*** Rev. Blood 2006; 107: 3983-3991

24. - Li X, Fu J, Wang F, Yu G, Wang Y, Zhang X. ***Distinct overexpression of Fas ligand on T lymphocytes in aplastic anemia.*** Rev. Cellular y Molecular Immunology 2004; 1(2): 142-146
25. - Solomou EE, Gibellini F, Stewart B, Malide D, Berg M y cols. ***Perforin gene mutations in patients with acquired aplastic anemia.*** Rev. Blood 2007; 109: 5234-5237
26. - Solomou EE, Rezvani K, Mielke S, Malide D, Keyvanfar K y cols. ***Deficient CD4+ CD25+ FOXP3+ T regulatory cells in acquired aplastic anemia.*** Rev. Blood 2007; 110: 1603-1606
- 27.- Rosenfeld S, Follmann D, Nuñez O, Young NS. ***Antithymocyte globulin and cyclosporine for severe Aplastic Anemia.*** Rev. Hematologic 2003; 289: 1130-1135
28. –Goodman y Gilman. ***Las bases farmacológicas de la terapéutica.*** Undécima edición. Colombia: Editorial Mc Graw- Hill Interamericana, 2007, P.p. 1406-1421
29. - Jagdish C, Rahul N, Rakesh R, Varinder S, Shashi N y cols. ***Antithymocyte globulin and cyclosporine in children whit acquired aplastic anemia.*** Rev. Departament of Pathology 2008; 75(3): 229-233
- 30.- Führer M, Rampf U, Baumann I, Faldum A, Niemeyer C y cols. ***Immunosuppressive therapy for aplastic anemia in children: a more severe disease predicts better survival.*** Rev. Blood 2005; 106: 2102-2104
31. - Marsh JCW. ***Treatment of acquired aplastic anemia.*** Rev. Journal haematology 2007; 92(01): 2-4

- 32.- Osugi Y, Yagasaki H, Sako M, Kosaka Y, Taga T y cols. ***Antithymocyte globulin and cyclosporine for treatment of 44 children with hepatitis associated aplastic anemia.*** Rev. Journal haematology 2007; 92(12): 1687-1689
- 33.- Gómez E. ***Transplante de células hematopoyéticas en anemia aplásica.*** Rev. De Hematología 2004; 5(1): 33-39
34. - Maury S, Lorraine M, Appert B, Chir Z, Boiron JM y cols. ***Unrelated stem cell transplantation for severe acquired aplastic anemia: improved outcome in the era of high-resolution HLA matching between donor and recipient.*** Rev. Journal haematology 2007; 92(5): 589-595
35. - Champlin RE, Perez WS, Passweg JR, Klein JP, Camitta BM y cols. ***Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: a randomized controlled study of conditioning regimens.*** Rev. Blood 2007; 109: 4582-4585
- 36.- Villa m, Díaz C, Díaz MA, Serra IB, Martínez A y cols. ***Aplasia medular grave adquirida: Evolución histórica de los resultados obtenidos con transplante de progenitores hematopoyéticos de donante familiar. Estudio del grupo español para el transplante de médula ósea en niños (GETMON).*** Rev. An pediatr (Barc) 2008; 69(1): 5-9
37. - Lubin B, Shearer WT. ***Cord Blood Banking for potential future transplantation.*** Rev. Official Journal of the American Academy of Pediatrics 2007; 119:165-170

38. - Tajika K, Mizuki T, Nakayama K, Yamaguchi H, Dan K. ***Umbilical-cord blood cell transplantation conditioned with a reduced intensity-regimen is a practical salvage therapy for severe aplastic anemia refractory to immunosuppressive therapy with antithymocyte globulin/ciclosporin.*** Rev.J Nippon Med Sch 2007; 74(6): 424-428

39.- Sepúlveda E, Brethauer U, Rojas J, Le Fort P. ***Oral manifestations of aplastic anemia in children.*** Rev. American Dental Association 2006; 137(4): 474-478.

40. – <http://meb.un.bonn.de/cancernet/spanish>

41.- García ER, Belogna R, Vega MT. ***Enfermedad de injerto contra huésped. Presentación de 8 casos y revisión de la literatura.*** Rev. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006; 11: E486-92

42. - <http://db.doyma.es>

43. –<http://vzmechani.blogspot.com/2007/08/historia-clinic...>

44.- <http://www.savai.cl/.../ProgresosMedicos/8078>

45.- http://www.chemistry.msu.edu/Portraits/PortraitsHH_D...