



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN SUR DEL DISTRITO FEDERAL
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
"DR. BERNARDO SEPÚLVEDA"

DIAGNÓSTICO DE LOS SÍNDROMES
MIELODISPLÁSICOS POR CITOMETRÍA DE FLUJO Y
CORRELACIÓN CON LOS TIPOS DE ACUERDO A LA
CLASIFICACIÓN DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE
LA SALUD.

T E S I S

QUE PRESENTA:

DR. JORGE LUIS LÓPEZ MARTHEN

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD EN

HEMATOLOGIA

ASESOR: DRA. SUSANA GUERRERO RIVERA



México, D. F. Febrero de 2013



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.

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**

**DOCTORA
DIANA G. MENEZ DÍAZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE EDUCACIÓN EN SALUD
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**

**MAESTRO EN CIENCIAS
LUIS ANTONIO MEILLON GARCÍA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE HEMATOLOGÍA
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**

**MAESTRA EN CIENCIAS
SUSANA GUERRERO RIVERA
ASESORA DE TESIS
JEFE DE LA DIVISION DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI**



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud

Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3601
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO
XXI, D.F. SUR

FECHA 10/07/2012

MTRA. SUSANA GUERRERO RIVERA

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

Diagnóstico de los síndromes mielodisplásicos por citometría de flujo y correlación con los tipos de acuerdo a la clasificación de la Organización Mundial de la Salud.

que usted sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2012-3601-127

ATENTAMENTE

DR. CARLOS FREDY CUEVAS GARCÍA
Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3601

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

Agradecimientos:

*Al Servicio de hematología del Hospital de Especialidades Siglo XXI.
Por todo el apoyo para que éste trabajo se llevara a cabo.*

*A mis asesoras la Dra. Susana Guerrero Rivera y la Maestra Laura Rabelo Carrasco por la
paciencia, la enseñanza y el ejemplo.*

Dedicatoria:

Al creador.

*A mi familia, que es mi apoyo, impulso y motivación.
Soy un reflejo suyo, por lo tanto, este logro es de ustedes.*

A los pacientes, quienes son la razón de existir para los médicos

*A todas las personas que han tocado mi vida de diferente manera contribuyendo a mi
formación personal y profesional.*

ABREVIATURAS.

SMD. Síndrome Mielodisplásico.

OMS. Organización Mundial de la Salud.

CRDU. Citopenia (s) Refractaria con Displasia Unilinaje.

CRDM. Citopenia (s) Refractaria con Displasia Multilinaje.

AREB. Anemia Refractaria con Exceso de Blastos.

IPSS. International Prognostic Score System.

WPPS. WHO-Clasificación Prognostic Score System.

CF. Citometría de Flujo.

BD. Becton Dickinson.

CD. Grupo de diferenciación.

FITC. Isotiocianato de Fluoresceína.

PE. Ficoeritrina.

PerCP. Proteína peridina de clorofila.

IMSS. Instituto Mexicano del Seguro Social.

ÍNDICE

I. Resumen	8
II. Introducción	9
III. Planteamiento del problema.	19
IV. Justificación	19
V. Hipótesis	20
VI. Objetivos.	20
VII. Metodología	21
VIII. Análisis estadístico	26
IX. Aspectos éticos	27
X. Resultados	28
XI. Discusión	38
XII. Conclusiones	42
XIII. Bibliografía	43
XIV. Anexos	46

DIAGNÓSTICO DE LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS POR CITOMETRÍA DE FLUJO Y CORRELACIÓN CON LOS TIPOS DE ACUERDO A LA CLASIFICACIÓN DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.

RESUMEN

Antecedentes: Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son un grupo de enfermedades hematológicas de origen clonal con gran heterogeneidad biológica, con potencial de progresión a leucemia mieloide aguda. actualmente clasificados en varios tipos de acuerdo a la OMS.

La citometría de flujo es capaz de analizar aberraciones en las células de pacientes con mielodisplasia. Su utilidad no se encuentra bien establecida; en nuestro país no hay estudios que evalúen la citometría de flujo en el estudio de los SMD y su correlación con los subtipos de la OMS.

Metodología: Se analizó una cohorte de 31 casos de SMD clasificados por tipo de la OMS, IPSS y WPSS, cariotipo y sobrevida. Se analizaron las muestras de médula ósea usando la citometría de flujo con un panel determinando de anticuerpos en búsqueda de aberraciones en la expresión de antígenos celulares para determinar la presencia o ausencia de displasia. Se incluyó el análisis de un sujeto sano.

La displasia se determinó para cada una de las poblaciones celulares: progenitores, granulocitos, monocitos y compartimento eritroide; así como su el porcentaje de expresión para cada antígeno del panel utilizado.

Se compararon medias de expresión de antígenos con el tipo de la OMS de cada síndrome mielodisplásico, el IPSS, WPSS, cariotipo y progresión a leucemia aguda.

Resultados: La citometría de flujo se determinó la expresión aberrante de antígenos en pacientes con mielodisplasia y se determinó displasia en 27 de los 29 casos analizados con SMD. Por medio de la CF se pueden diferenciar los que tienen AREB-2 de los que no lo tienen. También se encontró que no hay relación entre el tipo de mielodisplasia y la cantidad de poblaciones con características de displasia.

La expresión de CD34 y CD117 tiene relevancia para distinguir el IPSS de alto riesgo, WPSS de muy alto riesgo, cariotipo de riesgo pobre y del resto de los demás grupos de cada una de las clasificaciones y fue un factor que los dos marcadores que se encontraron pueden afectar la supervivencia.

Conclusiones: La citometría de flujo es útil para determinar si hay displasia en la hematopoyesis y permite conocer la agresividad de los síndromes mielodisplásicos.

Palabras clave: Síndromes Mielodisplásicos, Citometría de flujo, CF, Mielodisplasia, diagnóstico.

II. INTRODUCCIÓN

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son un grupo heterogéneo de enfermedades hematológicas, que se define por una alteración clonal de las células progenitoras hematopoyéticas, presentando características displásicas y hematopoyesis ineficaz (maduración alterada y muerte prematura de los precursores). Clínicamente se manifiestan con citopenias periféricas (anemia, trombocitopenia y leucopenia) y un riesgo mayor de progresión a leucemia mieloide aguda ^{1,2}.

Las manifestaciones clínicas dependen del tipo y severidad de las citopenias, los síntomas más frecuentes están en relación con el síndrome anémico como: palidez de tegumentos, cansancio crónico, palpitaciones y disnea que se traducen en conjunto limitan el desarrollo de las actividades cotidianas. En algunos pacientes se presentan complicaciones infecciosas, y/o hemorrágicas, que se traduce en mayor detrimento de la calidad de vida. ²

En algunos pacientes se presentan complicaciones infecciosas, y/o hemorrágicas, que finalmente se traduce en gran detrimento de la calidad de vida de los pacientes que padecen esta enfermedad. ²

La incidencia de los SMD se incrementa con la edad, es más frecuente en pacientes mayores de 70 años; en Estados Unidos hay una incidencia de 3.3 casos por 100,000 habitantes en la población general, sin embargo, llega a ser de hasta 20 por 100,000 habitantes en los mayores de 70 años. No obstante los SMD se pueden presentar en cualquier etapa de la vida, incluyendo niños y adultos jóvenes. ^{1,2,3,4,5}

De acuerdo a la clasificación de la OMS más reciente, los SMD se agrupan en siete categorías: 1) citopenias refractarias con displasia unilínea (CRDU), de la cual puede haber tres tipos: anemia refractaria, neutropenia refractaria, Trombocitopenia refractaria; 2) anemia refractaria con sideroblastos en anillo, 3) citopenia refractaria con displasia multilineal (CRDM), 4) anemia refractaria con exceso de blastos-1 (AREB-1), 5) anemia refractaria con exceso de blastos-2 (AREB-2), 6) SMD no clasificable (SMDU), 7) síndrome mielodisplásico con delección del 5q [del(5q)] ¹, (Tabla 1).

La definición y el diagnóstico de la enfermedad de acuerdo a esta clasificación se sustenta en dos métodos diagnósticos; el primero es el estudio citomorfológico de las células obtenidas por aspirado de la médula ósea en búsqueda de cambios displásicos, que puede afectar una o las tres líneas celulares:

Serie eritroide: Características de diseritropoyesis a nivel del núcleo de los eritroblastos como puentes internucleares, punteado internuclear, multinuclearidad, hiperlobulación, cambios megaloblásticos, entre otros. A nivel del citoplasma con sideroblastos en anillo en la tinción de pearls, vacuolización, Positividad para tinción de PAS ^{1,2}.

Serie granulocítica: disgranulopoyesis entre las que se encuentran alteraciones en el tamaño, hipolobulación nuclear (pseudo pelger-huët), hipersegmentación de forma irregular, alteraciones en la granulación del citoplasma desde un decremento en la cantidad (hipogranulación) hasta una ausencia de ellos y presencia de mieloblastos con o sin bastones de auer.

Serie megacariocítica: entre las que figuran micromegacariocitos, hipolobulación nuclear y multinucleación (a diferencia de los megacariocitos normales con núcleo único pero multilobulado).

El segundo método diagnóstico es el estudio del cariotipo en el cual se buscan alteraciones a nivel cromosómico; dichas alteraciones se documentan en aproximadamente 50% de los casos con SMD *de novo* y en 90% de los SMD secundarios ^{2,3}. También tienen implicaciones en el curso clínico de la enfermedad ya que existen alteraciones de buen pronóstico como la delección del brazo largo del cromosoma 5 [del(5q)], del brazo largo del cromosoma 20 [del(20q)], pérdida del cromosoma Y (-Y) y cariotipo normal; de mal pronóstico como la presencia de más de 3 anormalidades citogenéticas y anormalidades del cromosoma 7.

Con respecto al curso de la enfermedad y tomando en cuenta la heterogeneidad biológica de la mielodisplasia ya que agrupa enfermedades que presentan curso indolente hasta enfermedades con rápida progresión a leucemia aguda, por lo que se han creado índices pronósticos como el IPSS (international prognostic Scoring System)

el cual toma en cuenta variables como el porcentaje de blastos en médula ósea, el cariotipo y el número de citopenias. En conjunción de estos parámetros resultan 4 grupos de riesgo: riesgo bajo, intermedio 1, intermedio 2 y alto, (tabla 3). La supervivencia y el riesgo de evolucionar a leucemia aguda es diferente para cada grupo, más prolongada para los de riesgo bajo y mucho menor para el riesgo alto. El IPSS es útil además, para tomar decisiones terapéuticas.

Existe también el WPSS (WHO Casification based Pronostic System Score) el cual toma en cuenta el subtipo OMS de mielodisplasia, el cariotipo y la dependencia trasfusional agrupando los Síndromes mielodisplásicos en 5 grupos de riesgo, con diferencias en la sobrevida y tiempo de progresión a leucemia³.

1.1. Citometría de Flujo y sus aplicaciones en hematología.

La CF es un método diagnóstico que evalúa a las células individuales en suspensión e identifica la presencia o ausencia de antígenos específicos de la superficie (membrana) celular y de algunos que se encuentran dentro del citoplasma celular, obteniendo así un fenotipo de cada célula en particular.^{2,5}

Actualmente, la CF es reconocida como una herramienta indispensable para diagnosticar, clasificar, estadificar y monitorizar enfermedades hematológicas en las cuales ya se encuentra estandarizada y validada su utilidad, como en el caso de las leucemias de cualquier tipo, los linfomas y el mieloma por mencionar algunos ejemplos.⁵

En una descripción breve este método de diagnóstico, se hace pasar en forma individual, a cada una de las células que se encuentran suspendidas en un fluido ya sea sangre periférica, Médula ósea o líquido cefalorraquídeo por mencionar algunos, a través un espacio en el que un láser que va a incidir sobre la superficie celular en la cual hay anticuerpos fluorescentes adheridos (los cuales son específicos) y que a su vez reflejarán longitudes de onda de diferentes características las cuales serán cuantificadas por detectores específicos.

Dichas variaciones en la longitud de onda de la luz reflejada representan diferencias en la cantidad de fluorocromo adherido a la superficie celular traduciendo así la presencia o ausencia del antígeno estudiado. Lográndose de esta manera obtener mediciones precisas y objetivas que se pueden representar en eventos y a su vez representarse en gráficas susceptibles de análisis con rigor matemático.

1.2 La aplicación de la Citometría de Flujo en los SMD.

Algunos estudios proponen a la citometría de flujo como una herramienta útil para el diagnóstico y pronóstico de los SMD, sin embargo, ha sido difícil llegar a un consenso debido a lo heterogéneo de los padecimientos y las escasas descripciones que se tienen al respecto. Las técnicas para su evaluación deben ser estandarizadas para su correcta interpretación y que exista concordancia entre los diferentes laboratorios que realicen el estudio de los SMD con esta tecnología.

El primer estudio que demostró la utilidad de la citometría de flujo para el diagnóstico de los SMD fue el realizado por Stetler-Stevenson en 2001 en el que sentó las bases y abrió el campo de la citometría de flujo para la evaluación de la displasia en la médula ósea.⁶ Dicho análisis lo llevo a cabo realizando una comparación en la expresión de antígenos en la ontogenia normal de cada compartimiento hematopoyético y a su vez contrastando los antígenos expresados en pacientes con mielodisplasia, encontrando que éstos últimos exhiben aberraciones en la expresión de dichos antígenos, es decir, las células tienen antígenos anormales o bien carecen de algunos antígenos observados normalmente en las células hematopoyéticas.

Inicialmente, el estudio inmunofenotípico de la mielodisplasia se utilizó para determinar la progresión a leucemia aguda, con base en la cuenta de blastos, es decir células CD34+^{6,7}. Aunque fue útil en demostrar correlación entre la citomorfología con la cuenta de blastos, no se recomienda usar de forma rutinaria la cuenta el conteo aislado de blastos en la práctica clínica, principalmente por el costo y la información que esta única determinación puede aportar tanto al diagnóstico, como para evaluar la respuesta al tratamiento y el pronóstico de la enfermedad.

Actualmente se busca correlacionar esta herramienta diagnóstica con criterios ya validados y aceptados como los subtipos de la OMS, el IPSS o el WPSS o con características clínicas como la dependencia de transfusiones, progresión a leucemia aguda y la evolución pos-trasplante; sin embargo, no existen estudios con el número suficiente de casos para realizar una adecuada validación de los resultados ^{6,7}.

Lo anterior se convierte en un gran campo de oportunidad para los diferentes grupos que estudian los SMD y que pretenden adicionar a la CF como método para el diagnóstico y pronóstico de esta enfermedad.

1.3 Métodos de análisis de la mielodisplasia por Citometría de Flujo y su aplicación en la clínica.

La citometría de flujo determina de manera cuantitativa y cualitativa las aberrancias que presentan cada una de las células que compone los compartimentos hematopoyéticos ⁸ dichas alteraciones o aberrancias se califican como displasia.

La definición de la displasia identificada por CF ha resultado de estudios comparativos entre pacientes con mielodisplasia conocida y definida por medios citomorfológicos y citogenéticos que confrontan o comparan la expresión de antígenos con sujetos sanos (expresión normal de antígenos en sus células) y también con otras patologías causantes de citopenias periféricas como deficiencias nutricionales o padecimientos sistémicos de causa no hematológica que provocan procesos reactivos que son los responsables de las citopenias que se presentan, esto último permite que la CF sea útil dentro del diagnóstico diferencial de la mielodisplasia.

Del Cañizo y col. estudiaron 101 pacientes con SMD definida por los criterios de la OMS, analizaron 5 compartimentos hematopoyéticos: 1) células progenitoras CD34⁺, 2) neutrófilos (CD 45⁺/SSC^{Cint/hi}), 3) monocitos (CD45^{+/++}/SSC^{lo/int}), 4) precursores eritroides (CD45^{-/+}SSC^{lo/int}) y 5) linfocitos (CD45⁺/SSC^{lo}). Ellos encontraron mayor proporción de células CD34⁺ con una tendencia a la diferenciación mielomonocítica en los pacientes con mielodisplasia y en el análisis de los blastos comprometidos a un linaje mieloide lo asociaron a un IPSS de alto riesgo por una mayor cuenta de blastos⁸.

Wells y col. realizaron un análisis multiparamétrico del compartimiento mielóide y monocitoide por CF de 115 pacientes con SMD (en un periodo de 5 años de un hospital de referencia oncohematológica) comparando con 114 pacientes con otros desórdenes y 25 donadores de sangre sanos, con la intención de proponer un sistema de puntuación por CF (FCMSS Flow Citometry Myelodisplasic Scoring System) que correlacionara con el IPSS y el resultado pos-trasplante de los pacientes candidatos a ello; incluyendo dentro de esta puntuación características como⁹:

- a) Granularidad anormal de los neutrófilos en el análisis de complejidad: SSC (side scatter gating) ^{9,13,15}.
- b) Expresión anormal del CD45 para identificar arresto en la maduración.
- c) Relación de expresión del CD11b y la expresión de HLA-DR en células mieloides maduras, monocitos o ambos.
- d) Expresión anormal del CD13 y CD16 en el compartimiento mielóide y monocitoide.
- e) Expresión aberrante del CD56 en células mieloides maduras y monocitos.
- f) Expresión homogénea del CD33 en células mieloides maduras o monocitos.
- g) Cambio a la izquierda de forma asincrónica durante la maduración de la serie mielóide.
- h) Presencia de CD34 en células mieloides maduras o monocitos.
- i) Presencia de antígenos linfoides en células mieloides maduras o monocitos.
- j) Ausencia de CD13, CD33 o CD14 en monocitos, presencia de mieloblastos anormales y finalmente alteración en la proporción mielóide/linfóide a nivel de la médula ósea.

El estudio anterior presenta un enfoque en el que la CF es una herramienta de diagnóstico para el clínico la cual ofrece una apreciación de la displasia como “la distancia que existe de lo normal” es decir, cuántas y cuales aberraciones presenta la mielodisplasia de cada paciente en particular y comparado con lo normal, esto representado en relación a la suma de aberraciones a nivel global obtenidas por medio de “un panel estándar” de antígenos . ^{9,11,12}.

Es importante mencionar que este sistema de puntuación por CF agrupa a los pacientes en tres categorías: 1) displasia leve, 2) displasia moderada y 3) displasia grave, de acuerdo al número de puntos que se les asignan por aberraciones antigénicas, documentando así una estimación de riesgo útil en el diagnóstico, pronóstico e incluso con los alcances esperados en la respuesta a la terapéutica empleada.^{9,10,11}

Posteriormente otros grupos utilizaron este análisis por sistema de puntuación por CF en 56 pacientes con mielodisplasia conocida y 27 sujetos control, encontrando una especificidad del 100% con una sensibilidad del 75% en el diagnóstico del síndrome mielodisplásico, correlacionando también con pronóstico.^{12,18,19}

Cherian y col. intentaron definir una puntuación por análisis con CF en los neutrófilos de la sangre periférica de pacientes con mielodisplasia encontrando que estos neutrófilos presentaban hipogranularidad^{10,17}, con mayor expresión de CD66 y CD 11a, así como el hallazgo de que algunos pacientes presentaban muy baja expresión de CD10 y CD 116 éste último marcador cobra relevancia al ser la cadena alfa del receptor del factor estimulante de colonias macrófago granulocíticas y con potencial valor en la predicción de respuesta a citocina estimulante de colonias granulocíticas, siendo este estudio además uno de los primeros en considerar la estandarización de la CF para encontrar marcadores con relevancia clínica.¹⁰

Existen revisiones acerca de la utilidad de la CF para el uso rutinario dentro de los SMD encontrando que el análisis de la displasia comparado con el estudio citomorfológico y citogenético de la enfermedad ofrece mejor sensibilidad especialmente en casos con cariotipo normal¹⁴.

Dentro de estas consideraciones se enfatiza la utilidad de la CF en los casos que no tienen características displásicas típicas por morfología como blastos o sideroblastos en anillo y que no tienen alteraciones citogenéticas particulares; pero que al analizar las aberraciones antigénicas como marcador de displasia se pueden encontrar que existen

dichas aberraciones en algunos casos no concluyentes; otra ventaja que presenta la CF es que no tiene lo subjetivo que el estudio morfológico supone, y que la calidad del espécimen es menos relevante al realizar el análisis a diferencia de la citogenética que tiene mayor sensibilidad al estudiar casos tempranos de mielodisplasia.^{13,14}

Cada vez mas grupos a nivel mundial realizan estudios de validación para considerar la CF como herramienta diagnóstica y pronóstico dentro del síndrome mielodisplásico como por ejemplo Ogata y col., en un estudio hecho en conjunto con el grupo italiano de Della Porta²⁰; realizan su propio esquema de análisis semejante al sistema de puntuación antes mencionado e incluyendo la relación linfoide/mieloide así como con la introducción del análisis más específico de la relación de mieloblastos CD34⁺/células B CD34⁺. Encontrando en dicho grupo que los pacientes presentaron mayor incidencia de aberraciones a nivel de CD15, CD11b y CD56 que los casos control. Llama la atención de este estudio que se resalta el hecho de que muchas veces el grupo de riesgo bajo de mielodisplasia es de análisis complicado ya que de ordinario carece de características como blastos o alteraciones citogenéticas y que la CF permite discernir si existe o no displasia.

Debido a la importancia que se reconoce para el estudio de los SMD por CF, en Amsterdam (2008); se aprobó su uso como herramienta diagnóstica en estos padecimientos, así como la creación de un grupo de expertos para dar apoyo en la clasificación, evaluación del tratamiento y pronóstico de la enfermedad para los grupos afiliados al grupo The European Leukemia Net.^{22,27}

Es en este punto se hace evidente la necesidad de estandarizar el análisis por CF, ya que a pesar de que el sistema de puntuación (FCMSS) correlaciona bien con el IPSS este no discrimina entre los grupos de clasificación de la OMS como AREB, AR o CRDM y por ello se dirigió el enfoque de la CF de forma inicial a elucidar la biología de la mielodisplasia de acuerdo a su agresividad, por ejemplo existen antígenos aberrantes de importancia como CD117 el cual es el proto oncogen (KIT) y que tiene mayor expresión en los blastos de la leucemia mieloide aguda y los SMD de alto riesgo con gran tasa de progresión^{2,23,25} al respecto Falco y reporta diferencias en la supervivencia

de los pacientes que expresan mas de 5% de CD117 o una expresión mayor de 3% en el caso del CD34²⁵. A lo anterior se han agregado otros antígenos de la estirpe linfoide como el CD7/TdT/CD56 en la valoración de co-expresión en los SMD al respecto de su biología ya que se traducen en mayor agresividad debido a infidelidad de linaje en el compartimento mieloide.²²

En los estudios mencionados previamente el análisis se realizó primordialmente en el compartimento de células CD34⁺ de linaje mieloide, granulocitos y monocitos; sin embargo desde que se publicaron los primeros estudios, la serie eritroide, la serie megacariocítica y otros compartimentos también fueron estudiados. Sin embargo hasta el momento la caracterización de la displasia en la megacariopoyesis se excluye en todos los estudios revisados ya que el conocimiento de la expresión de marcadores aberrantes en estos, aún es limitada y de difícil análisis ya que requiere incluso de una forma de preparación celular diferente. Sucede lo mismo para basófilos, eosinófilos, células dendríticas y mastocitos, aunque algunos grupos ya se encuentran analizando basófilos (CD123⁺/HLA-DR⁻) y células dendríticas (CD123⁺/HLA-DR⁺) basados en su cantidad expresada en porcentaje y los niveles de expresión de CD123 esto con probables implicaciones pronósticas.^{8,,20,22, 23.}

Con respecto al compartimento eritroide, un enfoque de análisis que resulta prometedor es el estudio de las proteínas involucradas en el metabolismo celular del hierro, las cuales son de gran especificidad para la línea eritroide y que se encuentran peculiarmente alteradas en los SMD con características de “sobrecarga de hierro”, presentandose en los progenitores eritroides desde su ausencia hasta un incremento en el contenido de ferritina y una expresión reducida del receptor de transferrina en la membrana (CD71).¹⁷ Por ello hasta ahora la displasia eritroide se ha determinado en la disminución de la expresión de CD71. Hay estudios que analizan la serie eritroide ubicando a los eritroblastos con CD235a y posteriormente sobre ellos analizando la relación de la expresión de antígenos CD71 y CD105, encontrando, relación con los niveles de hemoglobina de los pacientes, pero que requiere de más estudios ²¹.

Dentro del rubro de pronóstico, la CF tiene la gran ventaja sobre la morfología en cuanto que es capaz de valorar pequeñas alteraciones como la expresión de marcadores linfoides aberrantes en células de linaje mieloide o en monocitos, lo que como mencionado arriba se traduce en agresividad, y el cual no es posible determinar durante el análisis citomorfológico.

El definir estas alteraciones de forma temprana puede marcar la diferencia en cuanto a curso de la enfermedad y definir por ejemplo cuando una anemia refractaria con o sin sideroblastos en anillo presenta a su vez marcadores de infidelidad de linaje con o sin incremento en células CD34⁺ reflejando así un ejemplo de “fenotipo leucémico”; y con ello hacer consideraciones acerca del riesgo y agresividad que de otra forma no serían factibles. Es posible además, tomar decisiones terapéuticas o bien cambios en las tratamientos ya iniciados; como lo sería el empleo de agentes nuevos como inmunomoduladores o hipometilantes en los síndromes mielodisplásicos de bajo riesgo o intermedio 1.^{22,24,25,26}

En el análisis del pronóstico de los Síndromes Mielodisplásicos por medio de la CF hay estudios con gran relevancia como el de Matarraz y col. donde analizan múltiples compartimentos hematopoyéticos con 83 variables inmunofenotípicas, encontrando que tienen relevancia para el pronóstico las siguientes alteraciones:

- a) El número de células CD34⁺.²⁷
- b) La presencia de precursores con aberrancia CD34⁺/CD117⁺ (mayor riesgo de progresión a leucemia)^{22,23,24}.
- c) El decremento en el número de neutrófilos maduros y precursores eritroides CD34.⁻
- d) Disminución en el número de células eritroides nucleadas CD36.⁻²².

Resumiendo lo anterior encontramos que la CF aporta información relevante y objetiva de la biología de cada síndrome mielodisplásico en particular; por lo que tiene la calidad y utilidad para ser incluida en la valoración pronóstica de los síndromes mielodisplásicos sin embargo la gran limitante continúa siendo el hecho de que no hay estudios suficientes de validación, incluyendo nuestro país.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Existe correlación entre los inmunofenotipos celulares en médula ósea por CF y el tipo de SMD de acuerdo a la clasificación de la Organización Mundial de la Salud ?

IV. JUSTIFICACIÓN

Los SMD representan un problema hematológico frecuente, y posiblemente se incremente aún más, con el incremento en la esperanza de vida; en el Servicio de Hematología se tiene un amplio grupo de pacientes con este diagnóstico, incluyendo pacientes menores de 60 años, que son referidos para confirmar su diagnóstico y ofrecer algún tratamiento curativo.

Aunque el diagnóstico de los SMD se ha facilitado, gracias a criterios bien definidos por grupos de expertos, en algunos casos, el diagnóstico es difícil, por este motivo se han intentado pruebas diagnósticas que no tengan las bases subjetivas de la morfología, que puedan ser reproducibles, y accesibles a los centros de estudio. Lo anterior se ha intentado mejorar con la CF. Sin embargo, aún existen controversias, el campo de investigación en esta área puede ser fuente de importantes aportaciones, tanto a nivel internacional y como nacional, donde la experiencia es prácticamente nula, por tal motivo consideramos de sumo interés realizar un estudio de pacientes mexicanos con SMD y correlacionar nuestros resultados con la literatura internacional y con los subtipos de SMD de acuerdo a la clasificación de la OMS y del WPSS.

Se han realizado importantes avances para estandarizar el análisis por CF en mielodisplasia, para que este método sea una herramienta diagnóstica de uso cotidiano en la práctica clínica, así como posible marcador pronóstico de utilidad en la toma de decisiones durante el manejo de estos pacientes. En algunos grupos de trabajo como el European Leukemia Net se están estandarizando las bases técnicas de esta herramienta. Finalmente mencionar que en el Hospital de Especialidades se tiene experiencia en el manejo y procesamiento de estas por CF.^{23,24.}

V. HIPOTESIS

Los inmunofenotipos celulares en médula ósea determinados por CF correlacionan con los tipos de SMD de acuerdo a la clasificación de la Organización Mundial de la Salud.

VI. OBJETIVOS

6.1. General.

1. Determinar los inmunofenotipos celulares por CF de los pacientes mexicanos con SMD comparado con pacientes con otros padecimientos hematológicos benignos y pancitopenias de otro origen.

6.2 Específicos.

1. Definir el panel de anticuerpos y fluorocromos utilizado para definir aberrancias inmunofenotípicas en el servicio para diagnóstico de Síndrome Mielodisplásico y si dicho panel corrobora lo establecido en la literatura y si es útil para determinar displasia.
2. Describir como se analizan las muestras de médula ósea por CF y como se expresan en forma gráfica posterior a ser procesadas y validadas por el personal del servicio de hematología especial.
3. Determinar si existe correlación entre las aberraciones inmunofenotípicas y otras características de cada paciente como IPSS, WPSS, Cariotipo y Progresión a leucemia.
4. Determinar si hay relación entre la sobrevida de los pacientes y la displasia definida por CF.
5. Determinar cuáles son las aberraciones más importantes si las hay, en relación a la sobrevida de los pacientes incluidos en esta cohorte.

VII. METODOLOGÍA

Estudio de una cohorte retro-proyectiva realizado Servicio de Hematología de la UMAE Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS, centro de referencia de pacientes con enfermedades hematológicas incluyendo los SMD, tanto para el diagnóstico como para el tratamiento. En el laboratorio de Hematología especial parte del mismo Servicio se cuenta con un citómetro de flujo y personal especializado que cumple con los estándares de calidad internacional.

7. 1. Universo de trabajo

Fueron incluidos pacientes mayores de 18 años de edad, de cualquier género, derechohabientes, con diagnóstico de SMD que cuenten con estudio morfológico de médula ósea, biopsia de hueso y cariotipo de médula ósea para determinar el tipo de SMD de acuerdo a la OMS y al WPSS, que cuenten con estudio de inmunofenotipo para estudio de Mielodisplasia, realizado en el laboratorio de hematología especial del Servicio de Hematología. En una base de datos recopilada a partir de 2009 Se cuenta con aproximadamente 50 pacientes que cumplen esos criterios de inclusión.

7. 2 Criterios de Inclusión:

1. Mayores de 18 años sin límite superior
2. Cualquier género
3. Con SMD tanto de *novo* como secundario
4. Que cuenten con estudio de cariotipo
5. Que cuente con estudios de inmunofenotipo por CF con el panel completo.
6. Sin tratamiento previo para el SMD.
7. Biometría completa al diagnóstico.

7.3 Criterios de exclusión:

1. Pacientes con estudio incompleto.
2. No crecimiento en el cariotipo o algún problema técnico para realizarlo.

Se utilizó una base de datos de los pacientes con síndrome mielodisplásico que cuentan con cariotipo, estudio citomorfológico para su adecuada clasificación como determina la OMS, de los cuales se les realizó tinción de hierro así como muestra de médula ósea por aspirado para realizar estudio de inmunofenotipo dentro de un periodo máximo de 48 horas posterior a la toma de la muestra y con una solicitud requisitada previamente.

El panel del inmunofenotipo que se utilizó fue el aceptado a nivel internacional con el estándar de 4 colores para el estudio de displasia por poblaciones celulares: serie eritroide, mieloide (granulocitos y blastos) y monocitoide.

7.4 Método de Tinción para análisis por CF.

7.4.1 Marcaje de antígenos de membrana.

Rotulamos los tubos con un número progresivo y añadir 100 μ l de muestra (concentración de células de $10^7/\mu$ l) a cada tubo. En aquellas en donde no se disponga de suficiente número de células (p/e Leucopenia) se podrá añadir a los tubos cantidades inferiores de muestras, quedando registrado en el informe.

Añadimos cantidades saturantes de anticuerpo entre 5 y 20 μ l. La cantidad es la recomendada por el fabricante o bien tras las pruebas de titulación, las fijadas en el Laboratorio.

Se Agitan los tubos 10 seg. e Incubar 15 min a temperatura ambiente y en oscuridad.

Posteriormente se realizamos la lisis de los hematies y la fijación de los leucocitos con 2 μ L de solución de lisis diluída 1/10 en agua destilada del producto "FACSlising solution" (BDB, San José CA USA). E Incubamos 10 min a temperatura ambiente en oscuridad.

Al término de la incubación, se centrifuga 5 min a 2000 rpm, se decanta el sobrenadante una vez centrifugado, invirtiendo el tubo una sola vez en el contenedor habilitado para ello y se resuspende el botón celular en 2 μ L de FACSflow. Y Se realiza una nueva centrifugación de 15 min a 2000 rpm.

Tras decantar el sobrenadante invirtiendo el tubo una sola vez en el contenedor habilitado para ello, se resuspende el botón celular en 0.3 mL de FACSFlow.

Se procede a la lectura en el citómetro de flujo FACSCANTO II.

7.4.2 Marcaje simultáneo de antígenos de membrana e intracelulares.

Rotulamos los tubos con un número progresivo y añadir 100 μ l de muestra (concentración de células de $10^7/\mu$ l) a cada tubo. En aquellas en donde no se disponga de suficiente número de células (p/e Leucopenia) se podrá añadir a los tubos cantidades inferiores de muestras, quedando registrado en el informe.

Se añaden cantidades saturantes de anticuerpo entre 5 y 20 μ l. La cantidad es la recomendada por el fabricante o bien tras las pruebas de titulación, las fijadas en el Laboratorio.

Agitar los tubos 10 seg. Incubar 15 min a temperatura ambiente y en oscuridad.

Posteriormente se procede a realizar la lisis de los hematíes y la fijación de los leucocitos con 2 μ L de solución de lisis diluida 1/10 en agua destilada del producto "FACSlising solution" (BDB, San José CA USA). E Incubamos 10 min a temperatura ambiente en oscuridad.

Al término de la incubación, se centrifuga 5 min a 2000 rpm, se decanta el sobrenadante una vez centrifugado, invirtiendo el tubo una sola vez en el contenedor habilitado para ello y se re-suspende el botón celular en 2 mL de FACSflow. Y se realiza una nueva centrifugación de 15 min a 2000 rpm.

Decantamos sobrenadante y añadir 500 μ l de solución permeabilizante e incubar 10 minutos. Lavamos con PBS y centrifugar 5 min a 2000 rpm.

Decantamos nuevamente el sobrenadante y adicionar anticuerpo monoclonal intracelular. (Incubar a temperatura ambiente durante 15 min en oscuridad. Añadir a cada tubo 2 μ L de FACSDFlow. Centrifugar durante 5 minutos a 2000 rpm y decantar sobrenadante y resuspender en 300 ml de FACSDFlow. Se procede a la lectura en el citómetro de flujo FACSCANTO II.

7.5 Método de lectura y análisis con el citómetro de flujo FACSCanto II.

Se utilizó el método empleado por el grupo EuroFlow el con equipo FACSCANTO II de 4 colores y con el software de adquisición y análisis de datos BD Diva.

El análisis de los compartimentos hematopoyeticos en las muestras de médula ósea con CF se evaluó y analizó bajo una visión de teoría de conjuntos en la siguiente forma:

- a) Se identifica de forma inicial la distribución celular por medio de análisis de tamaño FSC (forward light scatter) contra complejidad SSC (Sideward light Scatter) que tiene dos propósitos el primero es obtener el un primer conjunto de acuerdo a la distribución celular sobre el cual se realizará el análisis (células nucleadas) y el segundo es que se depura las poblaciones de detritus celulares que pudieran interferir con el análisis.
- b) Posteriormente se utilizó CD45 contra complejidad (SSC) lo que nos agrupa cada compartimento de acuerdo a su desarrollo o madurez en compartimientos. Serie eritroide, granulocitos, monocitos, linfocitos y el área de progenitores.
- c) Se realizaron combinaciones de marcadores para analizar cada uno de los compartimentos. En este apartado en donde surgen las posibilidades de estandarizar un panel de para análisis de mielodisplasia como se ha mencionado en la literatura para leucemias^{1,2,27}.
- d) El panel que se ocupó en el estudio se apega a los estándares de grupos internacionales de citometria de flujo como el grupo europeo, dicho panel es muy semejante al empleado en el análisis de la leucemia mieloide aguda ya que los estudios que identificaron patrones de expresión aberrante (displasia) fueron estudios dirigidos a evaluar enfermedad mínima residual en leucemia mieloide aguda.

e) Las combinaciones de anticuerpos para cada tubo fueron:

1. CD45+/PE, CD45/PerCP.
2. CD19/CD2/CD45.
3. CD7/CD5/CD45.
4. CD15/CD16/CD45.
5. CD33/CD13/CD45/.
6. CD117/PE.
7. CD64/CD14/CD45/.
8. CD38/CD34/CD45/.
9. CD16/CD56CD45/.
10. CD71/CDGpA/CD45.
11. CD123/CD45.
12. MPO/CD45.

f) Finalmente se realiza el análisis de cada uno de los compartimentos de acuerdo a las ventanas o dot plots en donde se identificaron, cuantificaron y caracterizaron cada una de las poblaciones que presentaban displasia. Y se realiza un reporte (Anexo 5) que fue la fuente de los datos.

Los resultados se reportaron en un formato ya utilizado en el servicio de hematología especial el cual incluye: identificación del paciente, porcentaje de expresión de antígenos y comentarios de acuerdo a la población o compartimento celular en donde se encontró la displasia.

VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se compararon las medias utilizando ANOVA de 1 factor y se consideró una $p < 0.05$. Posteriormente se hizo una estratificación de los grupos de acuerdo a los estrados de expresión mencionados en la literatura^{23,25}, CD34 > 5% y CD117 > 5% y se hicieron curvas de supervivencia con Kaplan y Meier.

Las comparaciones se realizaron con el panel de anticuerpos de acuerdo al tipo de mielodisplasia de acuerdo a la OMS, categoría en el IPSS y WPSS respectivamente, el cariotipo definido por su riesgo, la edad, la progresión a leucemia, la población afectada con displasia y el número de compartimentos con displasia y finalmente la presencia de progenitores definidos por CF.

Se utilizó el programa de análisis estadístico SPSS y la paquetería de software de Microsoft office 2011.

ASPECTOS ÉTICOS

Los estudios que se realizaron a los pacientes son los necesarios aceptados mundialmente para el diagnóstico de los SMD, la médula ósea se realizó previa anestesia local y con el consentimiento del paciente. En esta punción se obtuvieron muestras para el estudio de cariotipo y para el estudio por CF, se requiere de 5-10 ml como máximo. El paciente fue sometido a un riesgo extra que el habitual considerando el tipo de enfermedad y el tipo de estudio. Las muestras sólo se utilizaron para determinar el panel de anticuerpos recomendados por los grupos de estudio. No se utilizaron para otro tipo de estudios genéticos y las muestras no fueron almacenadas. No obstante se solicitó carta de consentimiento informado por escrito para realizar el presente estudio.

Se apegó a los códigos internacionales para la investigación en seres humanos. Este proyecto fue sometido al Comité Local de Investigación en Salud (CLIS) aprobado con un número de registro R- 2012-3601-127(Anexo)

X. RESULTADOS

Se analizaron 31 pacientes en un periodo de agosto del 2010 a junio del 2012 los cuales cumplían con los criterios de inclusión. Los rangos de edad de 18 - 86 años con una media de 58.2 y una mediana de 59, agrupados por género fueron 17 (55%) mujeres y 14 (45%) hombres. Se catalogaron 29 casos con mielodisplasia de acuerdo a la OMS con los siguientes tipos: CRDU 2 (6%), CRDM 18 (58%), AREB-1 4 (13%) y AREB-2 5 (16%). (Tabla 1).

De acuerdo al cariotipo clasificado con los criterios del IPSS 22 pacientes (70%) eran de buen pronóstico, intermedio 3 (10%) y con cariotipo de pobre pronóstico 4 (13%). (Tabla 1)

Clasificando por grupo de riesgo según el IPSS: de bajo riesgo 6 (19%) casos, riesgo intermedio-1 fueron 15 (48%) casos, riesgo intermedio-2 fueron 3 (10%) casos y alto riesgo 5 (16%) casos. (Tabla 1)

Para WPSS: 3 (10%) de muy bajo riesgo, 10 (32%) de bajo riesgo, de riesgo intermedio 5 (16%), de alto riesgo 5 (16%) y 6 (19%) de muy alto riesgo (Tabla 1).

Se analizaron dos pacientes que no presentaban Mielodisplasia, 1 sano y 1 paciente con mielofibrosis primaria, lo anterior con fines comparativos.

Finalmente se documentó la progresión a leucemia aguda, con una frecuencia de progresión a leucemia aguda de 4 (13%) casos. (Tabla 1)

La sobrevida en meses para los 31 casos se documentó con una media de sobrevida de 16.1 meses con un seguimiento de 2 a 60 meses.

Tabla 1. Resumen de las características demográficas de los pacientes. n=31

Edad.	
Rango (media)	18- 86 (58)
Género. n (%)	
Femenino.	19 (55)
Masculino.	12 (45)
OMS 2008 n (%)	
CRDU	2 (6)
CRDM	18 (58)
AREB-1	4 (13)
AREB-2	5 (16)
NO SMD	2 (6)
IPSS n (%)	
Bajo	6 (19)
Intermedio-1	15 (48)
Intermedio-2	2 (10)
Alto	5 (16)
WPSS n (%)	
Muy Bajo	3 (10)
Bajo	10 (32)
Intermedio	5 (16)
Alto	5 (16)
Muy Alto	6 (19)
Cariotipo * n (%)	
Bueno	22 (70)
Intermedio	3 (10)
Pobre	4 (13)
Progresión a Leucemia Aguda n (%)	
Progresaron	4 (13)
No progresaron	27(87)

OMS: Organización Mundial de la Salud, CRDU: Citopenia(s) Refractaria con displasia multilinaje, CRDM Citopenia(s) refractaria con displasia multilinaje, AREB Anemia refractaria con exceso de blastos. SMD: Síndrome mielodisplásico. IPSS; International Prognostic score system. WPSS: WHO Casification based Pronostic System Score. *se agruparon de acuerdo al IPSS.

De las 31 pacientes estudiados en 28 (90%) se observó displasia por citometría de flujo; uno de estos pacientes presentó mielofibrosis importante y esplenomegalias, por tal motivo se excluyó. En la figura 1ª se muestra la gráfica de la citometría de flujo de uno de los pacientes con SMD. En uno de los 3 pacientes que no se observó displasia se observó recuperación de las citopenias por tanto se descartó la mielodisplasia y se consideró daño tóxico medular. Los otros 2 pacientes continuaron con las citopenias.

La citometría de flujo mostro displasia en diferentes grupos de poblaciones celulares en los 29 pacientes; se observó displasia en una población ya sea mieloide, monocitoide o eritroide en 11 (36%) casos, en 2 poblaciones fueron 8 (26%) casos, y en las 3 poblaciones o compartimentos celulares fueron 9 (29%) de los casos (Tabla 2).

La población celular que mas características displasicas presentó fue el compartimiento mieloide dentro de 22 de los casos. En contraste con menos casos de presentación, el compartimiento eritroide fue el menos frecuente dentro de 11 de los casos; ya fuera aislado o asociado a displasia en otras poblaciones. (Tabla 2).

Tabla 2. Resumen de hallazgos obtenidos por CF.	
Con características de displasia. n (%)	
Presente con MDS	27 (87)
Ausente con MDS	2 (6)
Presente sin MDS [§]	1 (3)
Ausente sin MDS	1 (3)
Compartimentos con displasia**.	
Mieloide	22
Monocitoide	19
Eritroide	11
compartimentos con displasia por paciente. n (%)	
1	11(36)
2	8(26)
3	9(29)

§: Mielofibrosis primaria.

* Algunos pacientes tienen mas de un compartimento afectado. †sin diferencia estadística significativa al comparar IPSS y WPSS en este estudio.

En la tabla 3 se muestran a media y el rango de los niveles de hemoglobina, leucocitos, neutrófilos y plaquetas.

Tabla 3. Hemoglobina, leucocitos, neutrófilos y plaquetas al diagnóstico.

Hemoglobina. mg/dL.	
Rango	2.9 – 13.0
Media	8.7
Leucocitos. $1 \cdot 10^6/\mu\text{L}$.	
Rango	0.1- 15.1
Media	3.8
Neutrófilos absolutos. $1 \cdot 10^6/\mu\text{L}$.	
Rango	0.1- 7.8
Media	1.7
Plaquetas. $1 \cdot 10^3/\mu\text{L}$.	
Rango	3 – 411
Media	75.7

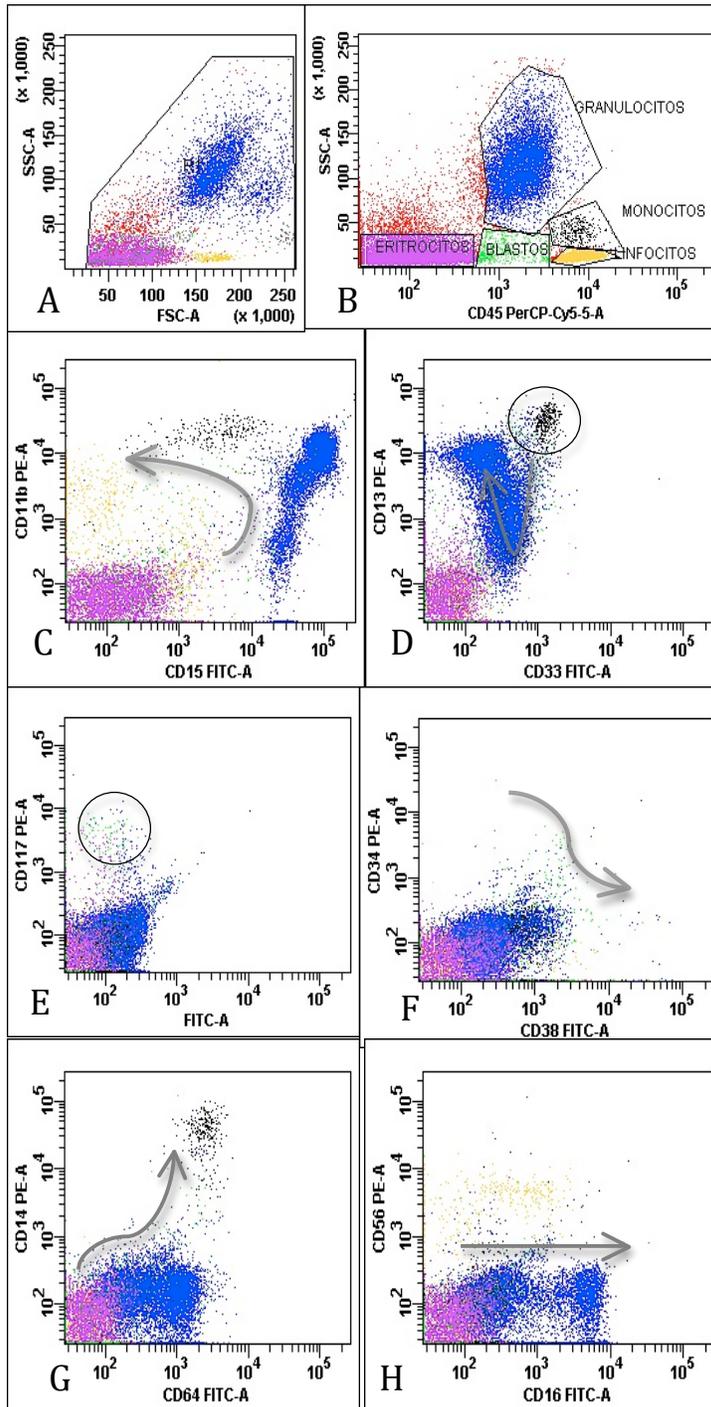


Figura 1. Análisis por CF de médula ósea normal. A) SCC/FSC (complejidad/tamaño) Distribución celular y obtención de poblaciones además sin detritus celular. B) SSC/CD45 (complejidad/CD45) separación de los diferentes compartimentos eritroide (magenta), progenitores (verde), linfocitos (amarillo), Granulocitos o serie mieloide (azul) y monocitos (negro). Se muestran los Dot Plot que evalúan el desarrollo de los granulocitos (azul) y monocitos (negro): C) CD15/CD11b. Expresión heterogénea de CD11b en los granulocitos y constante de CD15 durante su desarrollo, en el caso de monocitos expresión CD11b homogénea y heterogénea en CD15 durante su desarrollo (flecha). D) CD33/CD13 expresión de CD33 en los granulocitos la cual es homogénea y CD13 heterogénea (flecha); en monocitos tanto CD13 como CD33 tiene expresión homogénea. E) CD117/FITC expresión de CD117 en progenitores (verde) dentro del círculo. F) CD38/CD34 muestra la maduración de las células progenitoras con disminución en la expresión CD34 e incremento en CD38 (flecha). G) Expresión CD14/CD64 en granulocitos heterogénea para CD64 siendo mayor en monocitos los cuales expresan CD14 (flecha) H) Ausencia de expresión de CD56 en los monocitos y granulocitos los cuales expresan en forma heterogénea el CD16.

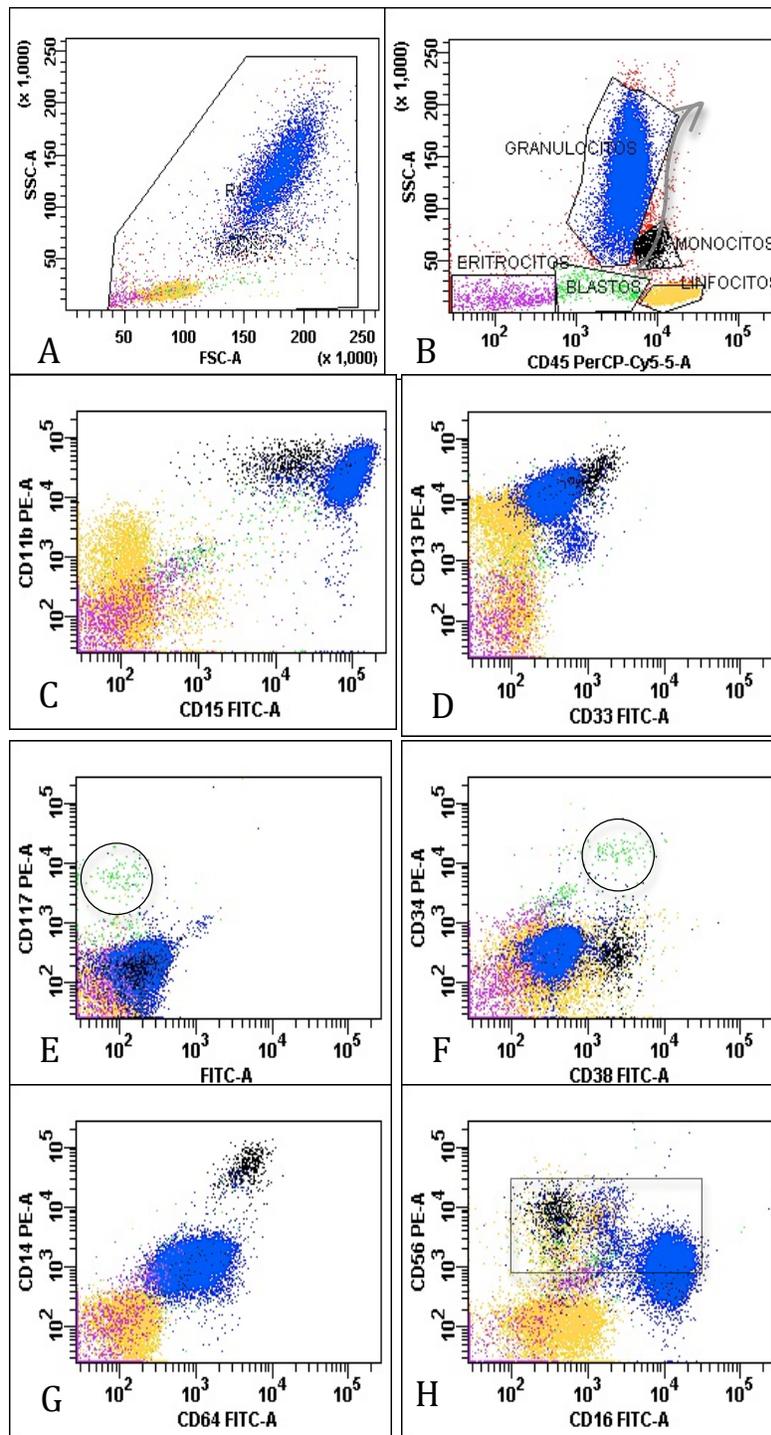


Figura 2. Análisis por CF de paciente con AREB-1. A) SSC/FSC (complejidad/tamaño) en donde se aprecia disminución de la población eritroide (magenta). B) SSC/CD45 (complejidad/CD45) expresión homogénea de CD45 en la población granulocítica (azul) con la flecha se indica la expresión normal. C) CD15/CD11b expresión homogénea de CD15 en granulocitos y CD11b en los monocitos; D) CD33/CD13 expresión homogénea de CD33 y CD13 en los granulocitos. E) Células progenitoras (verde) con patrón de expresión de CD117 homogéneo de forma aberrante (círculo). F) en el panel CD38/CD34 se observa la expresión homogénea y restringida de CD34 (círculo). G) CD64/CD14 expresión aberrante de CD14 en población granulocítica (azul). H) CD16/CD56 expresión aberrante de CD56 en monocitos y granulocitos.(recuadro).

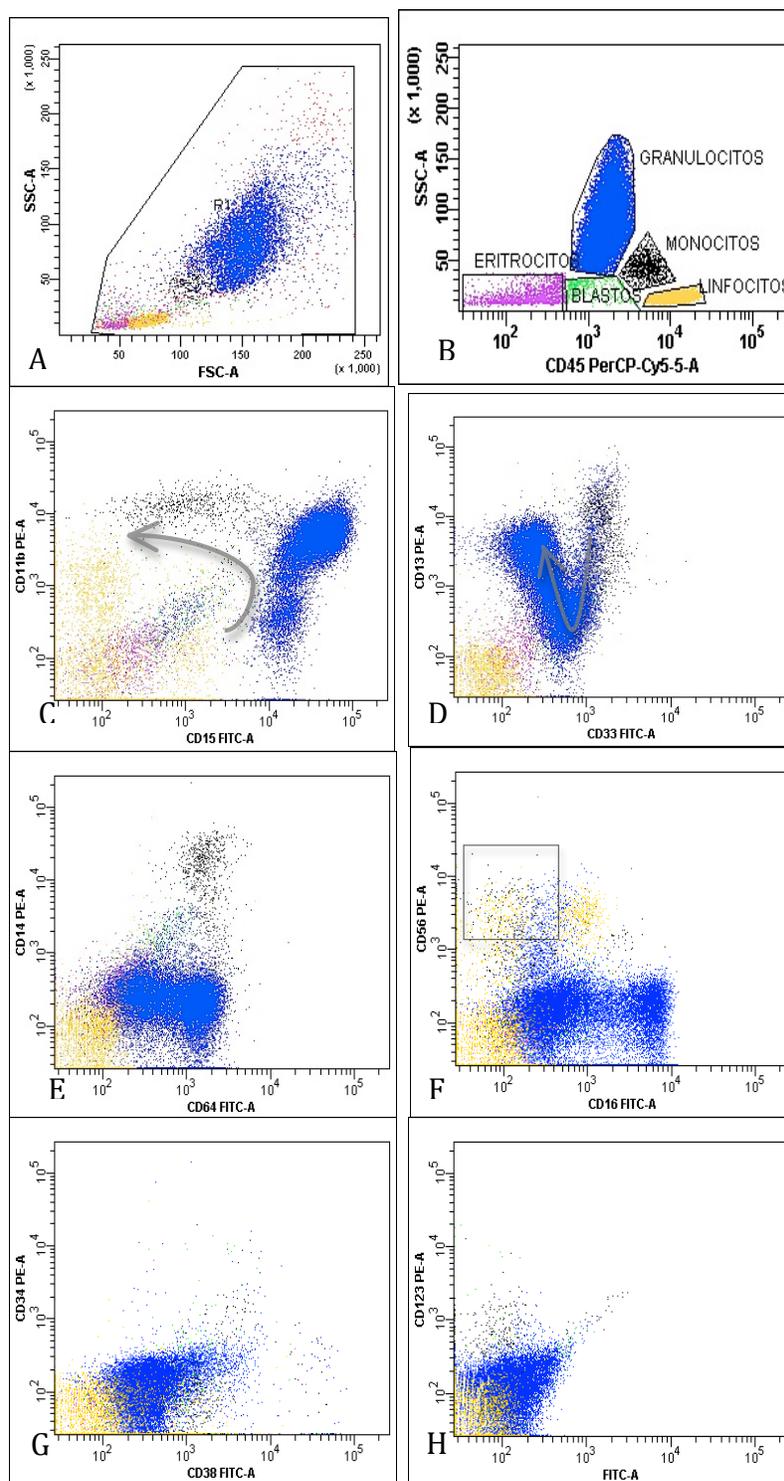


Figura 3. Análisis por citometría de flujo de un paciente con CRDM. A) FSC/SSC (complejidad/tamaño para determinar la distribución celular sin alteraciones en la distribución de las poblaciones. B) CD45/SSC las poblaciones se agruparon en compartimentos sin datos de aberrancia en complejidad y expresión de CD45. C) CD15/CD11b expresión homogénea de CD15 en granulocitos y heterogénea para CD11b, en los monocitos, el compartimento es a la inversa CD15 heterogéneo y CD11b homogéneo. D) CD33/CD13 expresión normal. E) CD64/CD14 población de monocitos (negro) y granulocitos (azul) adecuada maduración de ambas poblaciones. F) se aprecia expresión de CD56 en los monocitos de forma aberrante. G y H) se muestra marcada disminución en las células progenitoras (verde).

En la tabla 4 se muestran los resultados de los dos antígenos aberrantes que presentaron mayores diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) con los factores comparados, que fueron: tipos de la OMS, Grupos de riesgo de acuerdo a IPSS y WPSS, Cariotipos agrupados por riesgo y progresión a leucemia.

Se observaron diferencias en la expresión de CD34 en los pacientes con CRDM con respecto a los pacientes con AREB-2 ($p < 0.05$) por consiguiente la expresión de CD34 divide al grupo de pacientes con AREB-2 del resto de los grupos incluyendo los que no tienen mielodisplasia.

Algo muy similar ocurre con la expresión de CD117 al no correlacionar su grado de expresión con cada uno de los tipos de la OMS sin embargo queda dividido el tipo AREB-2 del resto.

Los resultados encontrados para la comparación de las medias de expresión entre CD34 y CD117 tomando como factor el grupo de pacientes de acuerdo al riesgo clasificado por el IPSS. En esta no se encuentra diferencia significativa para cada riesgo, sin embargo existe diferencia estadística para el grupo de riesgo alto contrastando con el riesgo bajo e intermedio-1. El grado de expresión tanto de CD34 como CD117 divide a los pacientes en dos conjuntos: el primer conjunto compuesto por riesgo bajo e intermedio-1 y el otro intermedio-2 y alto riesgo, lo que también se presenta cuando se analizan por separado los cariotipos de cada paciente agrupados de acuerdo al pronóstico definido por el IPSS.

La correlación entre la expresión de CD34 y CD117 persiste al comparar medias con el WPSS en donde los dos grupos surgen entre el grupo de muy alto riesgo y el resto de los grupos de riesgo definidos por esta puntuación.

Finalmente al comparar la progresión con CD34 y CD117 hay diferencia significativa entre los dos grupos.

Tabla 4. Comparación de CD34 y CD117 y los diferentes grupos obtenidos en el estudio.

Expresión de CD34 y CD117 de AREB-2 entre los otros tipos de la OMS.
(CD34= 12.4) (CD117=19.6)*

	CD34	p	CD117	p
CRDU	0.50	0.001	1.50	0.016
CRDM	1.94	<0.001	1.72	<0.001
AREB-1	4.00	0.002	5.75	0.023
NO SMD	0.50	0.001	1.00	0.013

Expresión de CD34 y CD117 de entre el grupo de riesgo Alto del IPSS y los otros.
(CD34= 12.4) (CD117=19.6)*

	CD34	p	CD117	p
Bajo	1.33	<0.001	1.50	<0.001
Intermedio -1	1.67	<0.001	1.67	<0.001
Intermedio -2	8.00	0.231	7.67	0.92

Media de expresión de CD34 y CD117 de entre el grupo de riesgo muy alto del WPSS y los demás. (CD34=11.67) (CD117=19.6)*

	CD34	p	CD117	p
Muy Bajo	1.67	0.003	2.00	0.040
Bajo	1.70	<0.001	1.80	0.002
Intermedio	1.20	<0.001	1.40	0.008
Alto	4.20	0.010	1.67	0.032

Media de expresión de CD34 y CD117 entre Cariotipos de pobre pronóstico+ con los cariotipos de pronóstico bueno e intermedio (CD34=13.25) (CD117=21.75)*

	CD34	p	CD117	p
Bueno ⁺	2.04	<0.001	2.43	<0.001
Intermedio ⁺	6.00	0.021	6.33	0.007

Media de expresión de CD34 y CD117 entre los pacientes que progresaron a leucemia y los que no progresaron (CD34=13.25) (CD117=21.75)*

	CD34	p	CD117	p
Sin Progresión	2.48	<0.001	2.59	<0.001

Media de expresión de CD34 y CD117 entre los pacientes que progresaron a leucemia y los que no progresaron (CD34=13.25) (CD117=21.75)*

	CD34	p	CD117	p
Sin Progresión	2.48	<0.001	2.59	<0.001

OMS: Organización Mundial de la Salud, CRDU: Citopenia(s) Refractaria con displasia multilínea, CRDM Citopenia(s) refractaria con displasia multilínea, AREB Anemia refractaria con exceso de blastos. SMD: Síndrome mielodisplásico. IPSS; International Prognostic score system. WPSS: WHO Casification based Pronostic System Score. +Se agruparon de acuerdo al IPSS. * diferencias para cada tipo obtenidas en los datos post hoc con método de tukey.

En relación a la sobrevida de los pacientes, se estratificaron a los pacientes con expresión mayor de 5% y menor de 5% para CD34 y CD117. Se realizaron curvas de kaplan meier con estas variables en donde se distinguen dos curvas en las cuales tanto para CD34 con expresión mayor a 5% y CD117 mayor a 5% la supervivencia es menor en este grupo de pacientes.

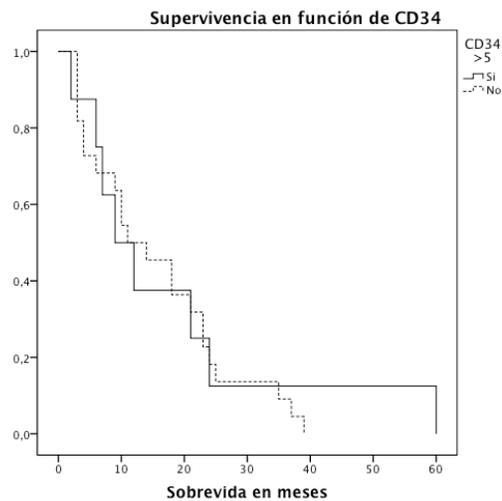


Gráfico 1. Impacto de la expresión mayor a 5% de CD34 en la sobrevida de los pacientes con diagnóstico de síndrome mielodisplásico.

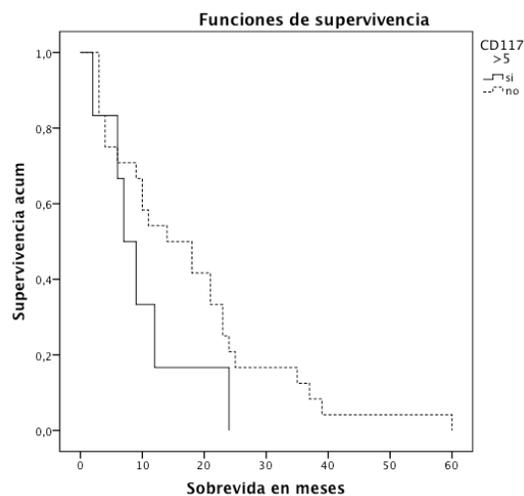


Gráfico 2. Impacto de la expresión mayor a 5% de CD 117 en la sobrevida de los pacientes con diagnóstico de síndrome mielodisplásico.

XI. DISCUSIÓN

Aunque la utilidad de la CF esta bien establecido para enfermedades como la leucemia aguda, su utilidad aun no se encuentra bien definida y documentada en los síndromes mielodisplásicos.

En nuestro país no hay trabajos que evalúen la utilidad de la CF en el campo de los síndromes mielodisplásicos, por ello nuestro estudio valoró las características inmunofenotípicas de los pacientes con síndrome mielodisplásico que se presentan en nuestra población. Es por ello que esta cohorte se integró por un grupo de pacientes cuyo diagnóstico se encontraba establecido de acuerdo a los criterios de la OMS basados en características citomorfológicas y de acuerdo al estudio de citogenética. Además de incluir el estudio de un sujeto con médula osea normal, ya que al igual que en los estudios internacionales se documentó la displasia de acuerdo a la comparación con la ontogenia normal de cada población celular en particular.

A pesar de criterios bien establecidos para su diagnóstico. En la práctica clínica cotidiana se presentan casos en los el diagnóstico de mielodisplasia resulta en un proceso complicado por falta de elementos como las características de displasia francas o la ausencia de alteraciones cromosómicas, por ejemplo aquellos con una celularidad baja o escaso material para análisis.

Esta dificultad para diagnosticar la enfermedad fue la causa primordial por la que surgieron estudios a nivel internacional que examinaron el valor diagnóstico de la CF aplicada en la mielodisplasia. Se reconoce al estudio de *Setler-Stevenson*⁶ en 2001 como el primero en reportar la utilidad de la CF para el diagnóstico de síndromes mielodisplásicos basándose en anormalidades en el inmunofenotipo de las diferentes poblaciones celulares por medio del panel de complejidad y expresión de CD45 (SSC/CD45) siendo el primero en utilizarlo¹⁴, siguiendo su uso en casos de difícil diagnóstico por su alta sensibilidad para demostrar la displasia^{9,14}. En nuestro estudio el panel utilizado cumplió con el estándar utilizado por los grupos de CF a nivel internacional, esta fue la razón por la cual sólo se incluyeron en la cohorte los análisis

realizados desde la segunda mitad del 2010 ya que fue la fecha en que se implemento por completo el panel de anticuerpos.

La definición de las aberraciones que presentan las poblaciones celulares de los pacientes con mielodisplasia fueron resultado de una comparación y correlación con la expresión de esos mismos antígenos en la ontogenia normal de los progenitores dentro de la médula ósea sana. *Del Cañizo y Col⁸* en un trabajo comparativo encontraron diferencias entre la distribución de las poblaciones celulares así como la expresión de CD34 de pacientes con mielodisplasia y lo sujetos sanos, nuestro estudio documentó y reprodujo estas características como se reportan en la literatura.^{9,10, 11, 12, 28.} Las aberraciones inmunofenotípicas que discriminan la displasia se analizaron de acuerdo a cada población celular como progenitores, población mieloide y población monocitoide y eritroide tal como se describen en las revisiones de *Wells, Elghetany y Pagnucco y Della Porta*^{9,10,11,12,20}, las cuales determinamos en su mayoría en el estudio y reportamos de acuerdo a la población o compartimento afectados (progenitores, mieloide, monocitoide y eritroide) sin encontrar correlación con los tipos de la OMS entre el tipo de población afectada o su número y tampoco con las clasificaciones pronósticas como IPSS o WPSS.

El objetivo general de nuestro estudio fue evaluar si existe una correlación con la displasia estudiada por CF con los tipos de la OMS para síndromes mielodisplásicos. Al respecto *Mayandié y Cols⁷*; en 2002 comparó los tipos de mielodisplasia de acuerdo a la FAB con los hallazgos por CF, concluyendo que la CF es capaz de diferenciar las anemias refractarias con o sin sideroblastos de la anemia refractaria con exceso de blastos y la LMMC, basando el análisis sobre el hallazgo de una mayor población de células progenitoras definidas en la selección de poblaciones de acuerdo a complejidad y expresión de CD45 (SSC/CD45)^{6,7,8,9,10,11,12}. A pesar de que nuestro estudio no es comparable con el trabajo mencionado debido a que son diferentes las clasificaciones utilizadas. Sin embargo conciden los dos estudios en determinar que la expresión incrementada de CD34 se asoció a un pronóstico pobre de acuerdo a IPSS, WPSS⁹ además de un cariotipo de pobre pronóstico.

En nuestro estudio la correlación entre los tipos de síndromes mielodisplásicos definidos por la OMS y la displasia evaluada por CF tuvo utilidad en diferenciar AREB-2 del resto de los demás tipos, sin embargo al igual que otros autores como *Matarraz y CoIs*²³ consideran que la CF correlaciona con la biología de la enfermedad ya que la disregulación clonal de la hematopoyesis se traduce en patrones aberrantes de expresión de marcadores en las células hematopoyéticas de todas las poblaciones entre ellos CD34 y CD117. En nuestro estudio se corrobora que no hay relación con los tipos de la OMS pero que sí existe con las categorías pronósticas validadas para los síndromes mielodisplásicos tales como el IPSS o WPSS así como la progresión a leucemia y sobrevida.

En este estudio se corrobora que es útil determinar el grado de expresión de CD34 y CD117 como marcadores que reflejan la biología de cada mielodisplasia en particular y así valorar la agresividad, el riesgo y la sobrevida de los pacientes con mielodisplasia^{9,23,24,25}; también se muestra la utilidad de la CF en la valoración del riesgo y pronóstico de los síndromes mielodisplásicos.

La importancia de conocer la agresividad de cada síndrome mielodisplásico es que esto permite realizar intervenciones tempranas que se traducen en mayor eficacia de la medida terapéutica para un paciente en particular, en nuestro estudio se corrobora que uno de los grupos más importantes para su evaluación por CF como herramienta útil en el pronóstico es el de aquellos pacientes ubicados el riesgo intermedio-1 del IPSS. Ya que una expresión aberrante de CD34 o CD117 mayor a 5% puede hacer la diferencia entre tomar o no la decisión por un trasplante o no^{9,17}.

La CF representa un método altamente sensible y reproducible para la evaluación tanto cualitativa como cuantitativa de las células hematopoyéticas^{14,15}, por ello el grupo europeo Leukemia Net en 2009²⁶ subrayó la importancia de la estandarización de paneles y de métodos de obtención de datos así como de análisis para lograr difundir y ampliar su aplicación en el campo de los síndromes mielodisplásicos.

Con el panel de anticuerpos utilizado en este estudio fue posible analizar y describir las aberraciones documentadas a nivel internacional por los distintos grupos de trabajo²⁸,

por lo que es posible aplicar los principios de la CF y realizar comparaciones entre los diferentes hallazgos que observamos.

Nuestro estudio incluyó solamente pacientes con síndrome mielodisplásico y un control sano así como un paciente con aberración en la expresión de antígenos pero sin síndrome mielodisplásico, por ello no fue útil para determinar la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo de la CF como método diagnóstico.

Finalmente cabe mencionar que la CF se aplica al diagnóstico y evaluación de enfermedades causantes de citopenias periféricas como lo son los síndromes mielodisplásicos, tiene una alta sensibilidad para discriminar cuando las citopenias que presenta un paciente representan el reflejo de la displasia en la médula ósea o si son secundarias a otros procesos reactivos que cursan sin displasia.^{6,7,8,9,10,11,12,15,17}

Sin embargo es necesario destacar que hay otros procesos patológicos que afectan la hematopoyesis y que pueden causar displasia tales como otros trastornos hematológicos de origen clonal²⁰. Por ello la CF es una herramienta útil en el diagnóstico y pronóstico de los síndromes mielodisplásicos junto con la integración del abordaje y manejo que el clínico debe tener al momento evaluar a un paciente con Síndrome mielodisplásico.

XII. CONCLUSIONES

1. El panel de anticuerpos y fluorocromos utilizado para el análisis en el estudio cumple con el estándar para evaluación de los síndromes mielodisplásicos por citometría de flujo.
2. La CF es útil en la detección de patrones anormales de expresión en los diferentes compartimentos hematopoyéticos de la médula ósea.
3. La CF es útil puede diferenciar AREB-2 del resto de los tipos de la OMS para síndromes mielodisplásicos.
4. Las medias de expresión de CD34 y CD117 permiten diferenciar AREB-2 del resto de los tipos de la OMS.
5. La expresión de CD34 y CD117 son un factor que pueden afectar la supervivencia de los pacientes.
6. El número de compartimentos que se presentan con displasia no correlaciona con el tipo de síndrome mielodisplásico de acuerdo a la OMS, el IPSS, WPSS o progresión a leucemia y el cariotipo.
7. La CF permite conocer la agresividad de cada síndrome mielodisplásico sin embargo se requieren más estudios ya que hay más antígenos aberrantes pendientes de análisis.

XIII.BIBLIOGRAFÍA

1. Vardiman J.W ,Swedlow S. H., Campo E. Harris N.L., Jaffe E.S. Pileri S.A.. (eds) WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. *IARC Lyon 2008*.
2. Lichtman M, Kipps T, Slegishon U. Williams Hematology 8e, Chap 88. 2010.
3. Cazzola M, Malcovati L, Prognostic Classification and Risk Assessment in myelodysplastic Syndromes. *Hematol Clin N Am* 2010, **24**. 459-468.
4. Cogle C., Craig B, Rollison D, Incidence of the myelodysplastic syndromes using a novel claims-based algorithm; high number of uncaptured cases by cancer registries. *Blood* 2011, **117**:26.
5. Craig F., Foon K., Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood* 2008, 111 (**8**): 3941- 3967.
6. Stetler-Stevenson, Arthur D., Jabbour N, Diagnostic utility of flow cytometric immunophenotyping in myelodysplastic syndrome. *Blood* 2001,**98**: 979-987.
7. Mayandié M, Picard F, Husson B, Immunophenotypic clustering of myelodysplastic syndromes. *Blood* 2002, **100**(7).
8. Del Cañizo M, Fernández E, López A. Immunophenotypic analysis of myelodysplastic síndromes. *Haematologica* 2003,88(04).
9. Wells D., Benesch M., Loken M., Myeloid and Monocytic dyspoiesis as determined by flow cytometric scoring in myelodysplastic syndrome correlates with the IPSS and with outcome after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2003; **102**:394-403.
10. Cherian S, Moore J, Bantly A, Peripheral Blood MDS Score: A new flow Cytometric Tool for the diagnosis of Myelodisplastic Syndromes. *Cytometry Part B (clinical Cytometry)* 2005, **64B**: 9-17.

11. Moon H, Won J, Lee M, Immunophenotypic Features of Granulocytes, Monocytes, and Blast in myelodysplastic syndromes. *Korean J Lab Med* 2010, **30**: 97-104.
12. Elghetany M. Surface marker abnormalities in myelodysplastic syndromes. *Hematologica* 1998, **83**:1104-1115.
13. Chu S.,Wang T., Li C. Flow Cytometric scoring system as a diagnostic and prognostic tool in myelodysplastic syndromes. *Leukemia Research* 2011, **35**: 868-873.
14. Pagnucco G, Giambanco C. Gervasi F; The Role of Flow Cytometric immunophenotyping in myelodisplastyc Syndromes. *Ann N.Y. Acad of Sciences. (2006)* **1089**; 383-394.
15. Truong F., Smith B., Stachurski D., The utility of flow cytometric immunophenotyping in cytopenic patients with non-diagnostic bone marrow: a prospective study. *Leukemia Research* 2009, 22:1039-1046.
16. Rashidi H, Xiangdong X. Utility of peripheral blood flow cytometry in differentiating low grade versus high grade myelodysplastic syndromes (MDS) and in the evaluation of cytopenias. *Int J Clin Exp Pathol* 2012; 5 (**3**): 224-230.
17. Ogata K, Della Porta M, Picone C. Diagnostic utility of flow cytometry in low-grade myelodysplastic syndromes: a prospective validation study. *Haematologica* 2009; 94(**8**).
18. Xu F., Li X, Wu L., Flow cytometric scoring system (FCMSS) assisted diagnosis of myelodysplastic syndromes (MDS) and the biological significance of FCMSS-Based immunophenotypes. *British Journal of haematology* 2010, **149**: 587-597.
19. Finn W., Harrington A., Carter K. Immunophenotypic Signatures of Benign and dysplasic granulopoiesis by cytomic profiling. *Cytometry part B (clinical cytometry)*2011, **80B**: 282-290.

20. Della Porta M., Lanza F., Del Vecchio L., Flow cytometry immunophenotyping for the evaluation of bone marrow dysplasia. *Cytometry Part B (clinical cytometry)* 2011, **80B**: 201-211.
21. Xu. F, Wu. L, Zhang Z. Immunophenotypic analysis of erythroid dysplasia and its diagnostic application in myelodysplastic syndromes, *Internal Medicine Journal*, "accepted Article" 2012; 10,**111**: 1445-5994.
22. Van de Loosdericht A, Westers T., westra A., Identification of distinct prognosis subgroups in low and intermediate 1 risk myelodysplastic syndromes by flow cytometry. *Blood* 2008, 111(**3**):1067- 1077.
23. Matarraz S, López A, Barrena S, Bone Marrow Cells from myelodysplastic syndromes show altered immunophenotypic profiles that may contribute to de diagnosis and prognostic stratification of the disease: a pilot study on a series of 56 patientes. *Cytometry Part B (clinical Cytometry)* 2010, **78b**:154-168.
24. S. Reis-Alves, Traina E, Saad S. The impact of several phenotypic features at diagnosis on survival of patients with myelodysplastic syndromes; *Neoplasma* 2010, **57**(6).
25. Falco P., Levis A., Stacchini A.; Prognostic Relevance of cytometric quantitative assessment in patients with myelodysplastic syndromes. *European journal of haematology*. 2011; 1600-0609.
26. Van de Loosdrecht A, Alhan C, A Orfao, A Wells, T Westers. Standarization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes, Report from the first European LeukemiaNet working conference on flow cytometry in myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2009; **94**(8).
27. Westers T, Van der Velden, Alhan C. Implementation of flow cytometry in the diagnostic work-up of myelodysplastic syndromes in a multicenter approach: Report from the Dutch working Party on Flow Cytometry in MDS. *Leukemia Research* 2012, 36: 422-430.

XIV. ANEXOS.

Anexo 1.

Clasificación OMS de síndromes mielodisplásicos. 2008.		
Enfermedad	Hallazgos en sangre.	Hallazgos en médula ósea.
Citopenias refractarias con displasia de unilinaje (CRDU). <ul style="list-style-type: none"> • Anemia refractaria. • Neutropenia refractaria. • Trombocitopenia refractaria. 	Citopenia o bicitopenia. Sin o <1% de blastos.	Displasia (>10% de las células) única. Blastos <5%. Sideroblastos en anillo.
Anemia refractaria con sideroblastos en anillo (ARSA).	Anemia sin blastos.	Sideroblastos en anillo >15% Sólo displasia eritroide. Blastos <5%.
Citopenia refractaria con displasia de multilinaje (CRDM).	Citopenia(S) Sin o <1% blastos. Sin cuerpos de Auer. Monocitos <1x10 ⁹ .	Displasia en >2 líneas mieloides. Blastos <5%. Sin cuerpos de Auer. Sideroblastos en anillo +- 15%.
Anemia refractaria con exceso de blastos -1.	Citopenia(S). Blastos <5%. Sin cuerpos de Auer. Monocitos <1x10 ⁹ .	Displasia única o múltiple. Blastos 5-9%. Sin cuerpos de Auer.
Anemia refractaria con exceso de blastos -2.	Citopenia(S). Blastos 5-19%. Cuerpos de Auer. Monocitos <1x10 ⁹ .	Displasia única o múltiple. Blastos 10-19%. Sin cuerpos de Auer.
Síndrome mielodisplásico inclasificable (SMD-In).	Citopenias. Blastos <1%	Displasia en <10% de las células mieloides. Anormalidades citogenéticas. Blastos <5%.
SMD asociado con delección aislada 5q; del(5q).	Anemia. Cuenta plaquetaria normal o aumentada. Sin o <1% de blastos.	Displasia megacariocítica. Displasia eritroide +- del(5q) Sin cuerpos de Auer.

Anexo 2.

Clasificación IPSS.					
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
% de blastos en médula ósea.	<5.	5-10.	-	11-20.	21-30
Cariotipo.	Bueno.	Intermedio.	Pobre.		
Citopenias.	0/1.	2/3.			
RIESGOS:	Bajo 0	Intermedio-1 0.5-1	Intermedio-2 1.5-2	Alto >2.5	
Bueno: normal, -y, del(5q), del(20q); pobre= complejo >3 anormalidades, anormalidades del cromosoma 7; intermedio= cualquier otra anormalidad.					

Anexo 3.

Clasificación WPSS (tabla2).				
Variable.	Puntuación.			
	0	1	2	3
Clasificación OMS.	AR, ARSA, 5q-.	CRDM, CRDM-SA.	AREB-1.	AREB-2.
Cariotipo.	Favorable.	Intermedio.	Pobre.	-
Requerimientos trasfusionales.	No.	Regular.	-	-
0	Muy bajo	141 meses	3% prog.	
1	Bajo	66 meses	6% prog.	
2	Intermedio	48 meses	21% prog.	
3-4	Alto	22 meses	38% prog.	
5-6	Muy alto	9 meses	80% prog.	

Anexo 4.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN
PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLINICA

México D.F. Hospital de Especialidades IMSS Siglo XXI

Fecha: _____

Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado:
“Diagnóstico de los síndromes mielodisplásicos por CF y correlación con los tipos de
acuerdo a la clasificación de la Organización Mundial de la Salud”.

Registrado ante el Comité Local de Investigación con el número: R- 2012-3601-127.

El objetivo del estudio es: Analizar por CF médula ósea

Se me ha explicado que mi participación consistirá en proporcionar fuente de análisis.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes: dolor en sitio de punción o infección.

El Investigador Responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto.

El Investigador Responsable me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

Nombre y firma del paciente _____

Nombre, firma y matrícula del Investigador Responsable: _____

Números telefónicos a los cuales puede comunicarse en caso de emergencia, dudas o preguntas relacionadas con el estudio: 56275900 ext. 21410.

Testigos _____



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES C.M.N SIGLO XXI
Servicio de Hematología
Laboratorio de Hematología Especial

Paciente:

Número de afiliación:

Edad:

Médula ósea: 1080/10

Sangre periférica:

Probable Diagnóstico: Probable SMD

Médico solicitante: Dra. Guerrero

INMUNOFENOTIPO

Tipo de muestra: *Médula ósea*

DESCRIPCIÓN INMUNOFENOTÍPICA.

CD3	23%	CD4	19%	CD5	23%	CD7	14%	CD11b	40%	CD13	41%
CD14	7%	CD15	36%	CD16	15%	CD33	2%	CD34	2%	CD38	8%
CD41	NR	CD42a	2%	CD56	1%	CD64	26%	CD71	3%	CD117	2%
HLA-DR	%	MPO	63%								

RESULTADO:

Médula ósea con distribución de las células heterogénea, con la siguiente diferencial por citometría de flujo: Linfocitos 26%, Monocitos 3.2%, Granulocitos 46%, Componente eritroide 11.8%, CD34/CD38+ 12%.
 Población de Linfocitos T CD3+++/CD5+++/CD7+++ , sin presencia de linfocitos B
 Serie granulocítica:
 CD11b++het/CD13+++/CD15+++/CD16+++/CD64++/CD14+low/CD16+++/MPO+++.
 Componente monocitoide: CD4++het/CD14+++/CD38++/CD64++/HLA-DR++/MPO++
 Presencia de precursores CD34++/CD38++het
 Precursores mieloides CD117++

De acuerdo al análisis inmunofenotípico la sospecha diagnóstica es de un SMD con afectación en la línea eritroide

M en C Laura Rabel Carrasco
 Laboratorio de Hematología Especial

M en C Rocío Godínez Quezada
 Laboratorio de Hematología Especial



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES C.M.N SIGLO XXI
Servicio de Hematología
Laboratorio de Hematología Especial

Paciente:

Número de afiliación:

Edad: 56 años

Médula ósea: 1700/11

Sangre periférica:

Probable Diagnóstico: Pb.SMD

Médico solicitante: Dra. Guerrero

DESCRIPCIÓN INMUNOFENOTÍPICA.

CD3	23%	CD4	14%	CD5	21%	CD7	9%	CD11b	42%	CD13	75%
CD14	31%	CD15	38%	CD16	57%	CD19	2%	CD33	1%	CD34	2%
CD36	8%	CD38	3%	CD56	30%	CD64	9%	CD117	1%	CD123	1%
HLA-DR	13%	CD71	1%	MPO	63%						

COMENTARIO:

El análisis por citometría de flujo de la médula ósea mostro en base a las poblaciones celulares y fenotipo características reactivas.

a) Componente granulocítico :

CD11b+++ / CD13+++ / CD15+++ / CD33+het / CD56++ / CD64++ / MPO++

b) Componente monocitoide :

CD4+ / CD11b++ / CD13++ / CD14++ / CD15++het / CD33+ / CD36++ / CD38++ / CD56++

c) Componente linfoide

Predominio de linfocitos T CD3++ / CD5*+ / CD7++het

Células NK CD16++ / CD56+

d) Componente eritroide

CD36++ / CD71+++

De acuerdo al análisis inmunofenotípico se muestra la presencia de displasia en serie mieloide y monocitoide.

ATENTAMENTE

M en C Laura Rabelo Carrasco
Laboratorio de Hematología Especial



XV aniversario

GENETICA Y ESTUDIOS PRE Y POST NATAL, SC

CARIOTIPO EN MEDULA OSEA

Clave Interna: 0244-280212-CMO-SX-DUDE

Fecha: 14/03/12

Nombre del paciente. HERNANDEZ BARCENAS GISELA Edad 38 años
Solicitado por. RIVERA
Tipo de muestra. OSEA
Fecha de obtención 28/02/12 Fecha de recepción 28/02/12

RESULTADO

Se recibió muestra de médula ósea, se trabajó en condiciones habituales con cultivo de 19 Y 24 hrs. sin estímulo mitogénico. Se analizaron 20 metafases con patrón de bandas "GTG", observando en el 100%, un complemento cromosómico 46,XX. Sin alteración numérica ni estructural.

INTERPRETACIÓN CITOGÉNICA

CARIOTIPO DEL SEXO FEMENINO.

ELABORO

RESPONSABLE

Biol. Erika Ruíz Arteaga.

Biol. Guadalupe Cárdenas.

Dante 36 Depto.402
Col. Nueva Anzures
11590, México DF

Tel. 52553275
Fax. 52553293
geneticapreypostnatal@yahoo.com.mx