



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO.
FACULTAD DE MEDICINA.
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO.

“ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LA
TASA DE RESPUESTA A LA
GLOBULINA ANTITIMOCITO EN
PACIENTES CON ANEMIA APLÁSICA
SEVERA Y MUY SEVERA.”

PRESENTA.

DR. RAÚL IVÁN CASTILLO CASTAÑEDA.

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**ESPECIALISTA EN
MEDICINA INTERNA**

DR. JORGE CRUZ RICO.
ASESOR DE TESIS.

DR. JOSE MANUEL CONDE MERCADO
TITULAR DEL CURSO DE MEDICINA INTERNA

MÉXICO, D.F. AGOSTO DE 2012.





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

HOJA DE FIRMAS

DR. CARLOS VIVEROS CONTRERAS
TITULAR DE ENSEÑANZA

DR. JOSÉ MANUEL CONDE MERCADO
PROFESOR TIRULAR DEL CURSO DE MEDICINA INTERNA

DR. JORGE CRUZ RICO
ASESOR DE TESIS

NUMERO DE REGISTRO DE TESIS

HJM 2072/12-A.

DEDICATORIA.

A mi padre, *Víctor Manuel Castillo González*, porque a pesar que se nos adelantó en el camino, aún continúa cuidándome desde su lugar de descanso.

A mi madre, *Rosa Elena Castañeda Mut*, por su apoyo incondicional, por estar siempre pendiente de mis necesidades, por todo lo que ha tenido que tolerar; para que el día de hoy pueda escribir estas líneas.

A mi hermano, *Víctor Andrée Castillo Castañeda*, por apoyarme y hacerse cargo de mis ocupaciones cuando he estado ausente.

A *toda mi familia*, en especial a aquellos que se adelantaron en el camino, porque a pesar de que físicamente no están conmigo, aún puedo sentir su presencia sobre todo en esos momentos de soledad.

AGRADECIMIENTOS

A *Dios*, por estar siempre conmigo, por todas sus bendiciones, por darme la oportunidad de ser un instrumento de su palabra y por darme el consuelo en aquellos momentos difíciles durante estos 4 años que he estado fuera de casa.

A mis maestros, en especial al *Dr. José Manuel Conde Mercado*, por facilitarme el aprendizaje, ser un guía y ejemplo a seguir, tanto como médico como persona.

A mi asesor de tesis, el *Dr. Jorge Cruz Rico*, por aceptarme bajo su tutela y ayudarme en la consecución de este trabajo.

A mis *compañeros y amigos*, por estar siempre presentes a través del tiempo y la distancia, inquebrantables ante la adversidad.

Contenido

RESUMEN DE LA INVESTIGACIÓN:	8
INTRODUCCIÓN	9
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	21
HIPÓTESIS	21
OBJETIVOS	22
TIPO DE ESTUDIO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	23
CRITERIOS DE SELECCIÓN.	23
METODOLOGÍA.....	25

DEFINICIÓN DE VARIABLES.....	27
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	29
CONSIDERACIONES ÉTICAS	29
RESULTADOS:.....	32
DISCUSIÓN	38
CONCLUSIONES.....	42
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43

ESTUDIO RETROSPECTIVO DE LA TASA DE RESPUESTA A LA GLOBULINA ANTITIMOCITO EN PACIENTES CON ANEMIA APLÁSICA SEVERA Y MUY SEVERA.

Resumen. La anemia aplásica se caracteriza por presentar una médula ósea hipocelular <30% en ausencia de infiltrado anormal. La incidencia varía conforme las zonas geográficas y se ha visto que tiene una distribución bifásica a los 10 y 60 años. La etiología es muy variada, que abarca desde fármacos de uso rutinario como antiinflamatorios no esteroideos, antidiabéticos, antihipertensivos, hasta antimicrobianos, citotóxicos, la radiación ionizante, infecciones virales, trastornos autoinmunes y la exposición a tóxicos como benceno e insecticidas. La sintomatología corresponde a una pancitopenia, predominando el síndrome anémico y hemorrágico. Rara vez se presentará de manera inicial como una infección. El tratamiento está encaminado a suspender la posible causa desencadenante, aunque hasta en un 70% de los casos se considera idiopática. El tratamiento de elección es el trasplante alogénico de médula ósea, pero en casos que no existe donador compatible, la terapia inmunosupresora combinada ha mostrado tasas de respuesta hasta del 85%.

El presente estudio revisó la tasa de respuesta a la globulina antitimocito como tratamiento para la anemia aplásica. A través de un diseño metodológico retrospectivo, observacional y descriptivo se encontró que los pacientes con anemia aplásica severa tuvieron una tasa de respuesta parcial a la globulina antitimocito del 75%, evidenciando que la globulina antitimocito mejora el recuento celular y las cifras de hemoglobina en la biometría hemática en más del 50% de los pacientes tratados a los 3 meses de haber recibido el tratamiento.

INTRODUCCION

La anemia aplásica se define como la pancitopenia con médula ósea hipocelular en ausencia de un infiltrado anormal y sin incremento en la reticulina. Se piensa que es una enfermedad de la médula ósea con trasfondo inmune. [1,2]

La incidencia de anemia aplásica adquirida tanto en Europa como en Norteamérica es alrededor de 2 por millón de población por año. La incidencia es 2 a 3 veces más alta en Asia del este. Hay una distribución bifásica por edad con picos desde los 10 a 25 años y en mayores de 60 años. No hay diferencias significativas en la incidencia entre hombres y mujeres. [1]

Muchas drogas y químicos han sido implicados en la etiología de la anemia aplásica; tales como antibióticos (cloramfenicol, sulfonamidas), antiinflamatorios no esteroideos (fenilbutazona, sales de oro), anticomiciales, antitiroideos, antidepresivos, antidiabéticos, antihipertensivos (nifedipino), antipalúdicos y fármacos citotóxicos entre otros. El tratamiento prolongado con fenilbutazona usualmente causa anemia aplásica. De manera similar, la aplasia inducida por oro ocurre típicamente en pacientes quienes han recibido una dosis total de 200 a 450mg, usualmente es severa y frecuentemente irreversible. También se ha asociado a la radiación ionizante y algunos virus, o ser una rara complicación de un trasplante hepático ortotópico. Se ha visto que puede ocurrir en pacientes con trastornos autoinmunes tales como el lupus eritematoso sistémico y,

ocasionalmente, en el embarazo. Algunos agentes químicos tales como el benceno o los insecticidas, pueden dañar directamente a las células madre y desencadenar anemia aplásica, aunque se desconocen los mecanismos subyacentes. Dos estudios han demostrado que la delección del gen para la glutathion S-transferasa, una enzima involucrada en la detoxificación potencialmente mutagénica de los compuestos electrofílicos, fue significativamente más alta en aquellos pacientes con anemia aplásica adquirida que en los controles sanos.[29] Ciertos virus pueden dañar directamente a las células madre y causar aplasia. El virus mejor documentado es el parvovirus B19. La hepatitis asociada a la enfermedad afecta con mayor frecuencia a niños y hombres adultos, con el desarrollo de aplasia dentro de los 7 meses (muchos dentro del primer mes) después de un episodio de hepatitis aguda. La hepatitis puede explicar del 2 al 5% de los casos de anemia aplásica en los países occidentales. El virus responsable no ha sido identificado. La mayoría de los casos (70-80%) son clasificados como idiopáticos porque se desconoce su etiología primaria. [1]

La mayoría de los pacientes se presentan comúnmente con anemia y hemorragia. La infección es una presentación poco común. No suele haber ictericia, linfadenopatía o esplenomegalia (en ausencia de infección), por lo que su presencia sugiere otro diagnóstico. [1]

Dentro de los estudios de laboratorio iniciales, habitualmente se detecta pancitopenia, usualmente la cuenta linfocitaria se encuentra preservada. Los niveles de hemoglobina, neutrófilos y plaquetas están uniformemente disminuidos, pero en estadios tempranos la citopenia aislada, particularmente trombocitopenia, podría ocurrir. La anemia es arregenerativa y la macrocitosis es común. El examen cuidadoso del frotis de sangre es esencial para excluir la presencia de neutrófilos displásicos, plaquetas anormales, blastos y otras células anormales. En la anemia aplásica, la anisopoiquilocitosis es común y los neutrófilos pueden mostrar granulaciones tóxicas; las plaquetas están disminuidas en número y mayormente de tamaño pequeño. [1]

Se requiere realizar tanto aspirado de médula ósea como biopsia de hueso. Los fragmentos de las muestras son hipocelulares con prominentes espacios grasos y acúmulos variables de células hematopoyéticas. La eritropoyesis está reducida o ausente; y la diseritropoyesis es muy común y frecuentemente marcada. Los megacariocitos y granulocitos están muy reducidos o ausentes; los megacariocitos displásicos y granulocitos no se observan en la anemia aplásica. Los linfocitos, macrófagos, células plasmáticas y mastocitos parecen prominentes. En los estadios tempranos de la enfermedad, también podría verse hemofagocitosis prominente por macrófagos, así como un fondo eosinofílico que representa edema intersticial. [1]

La anemia aplásica severa o muy severa es mortal y compromete la vida. El tratamiento incluye la suspensión de los agentes nocivos (si existen), cuidados de soporte, y alguna forma de terapia definitiva en contra de la aplasia. Las transfusiones de sangre y de plaquetas se deben de utilizar de manera selectiva en pacientes candidatos a trasplante de células hematopoyéticas con el fin de evitar la sensibilización. Cualquiera de los productos sanguíneos debería ser irradiado, leucocito-reducido y libre de citomegalovirus, y no deben ser de miembros de la familia.

Las modalidades mayores de tratamiento para la anemia aplásica adquirida dependerán de la severidad de la enfermedad, siendo que en los casos severos, el trasplante de células hematopoyéticas es el tratamiento de elección en caso de disponer de un donador compatible; y en aquellos casos donde no se disponga del donador, el tratamiento de elección es la terapia inmunosupresora. [1,2,3,4,5,6,7]

La acción inmunosupresora de la globulina antitimocito (GAT) o de la globulina antilinfocito (GAL) se debe aparentemente a sus interacciones con los linfocitos T. La unión de la inmunoglobulina de caballo a las moléculas de la superficie de linfocitos T humanos permite que la IgG interfiera con la acción de estas células. Una consecuencia principal es la depuración de las células, manifestada por la pérdida de los linfocitos CD3+ y CD2+ de la sangre circulante. Los mecanismos para esta depuración probablemente incluyen tanto citotoxicidad del anticuerpo, medida por el complemento, y la depuración en el sistema retículo-

endotelial, debida a la extracción de los macrófagos de los linfocitos T opsonizados. Las células T son muertas aparentemente por la GAT/GAL; la renovación de estas células requiere entonces de una repoblación de la médula ósea y del proceso del timo. [8]

Por muchos años, la globulina antitimocito (GAT) ha sido el estándar para la terapia inmunosupresora de la anemia aplásica. La GAT mejora significativamente la sobrevida comparada con el tratamiento de soporte o la terapia androgénica. Las tasas de respuesta varían entre el 40% y 70% y la sobrevida a largo plazo después del tratamiento inmunosupresor basado en GAT es similar a la de pacientes no seleccionados tratados con trasplante de células madre hematopoyéticas. [2]

En un estudio alemán de la década de los 80's se reportaron tasas de remisión completa del 56% a los 4 meses de tratamiento con GAT, metilprednisolona y ciclosporina, en contraste con una tasa del 41% en pacientes únicamente tratados con GAT y metilprednisolona. [2]. Sin embargo estas tasas son variables, pues hay reportes que muestran tasas de respuesta completa del 60% a los 3 meses de iniciado el tratamiento, del 61% a los 6 meses y del 58% al año. [4]

Los regímenes iniciales frecuentemente consisten de globulina antitimocito (GAT) sola, o ciclosporina sola, con tasas de respuesta cercanas al 50%.

Actualmente, las tasas de respuesta más altas del 75% al 80% se consiguen con el uso de regímenes combinados más intensivos que consisten en GAT, ciclosporina, corticoesteroides, con o sin factores de crecimiento hematopoyético. [1,3,4]. Éste último sin ventaja actual en el tratamiento de la anemia aplásica.

Un número de serie de casos sugiere que las tasas de respuesta y supervivencia podrían ser superiores en pacientes pediátricos comparados con pacientes adultos, aunque este hallazgo no ha sido universal. [6]

Un estudio que incluyó tanto adultos como niños, evaluó 100 pacientes (mediana de 16 años de edad), tratados con un régimen combinado de GAT, ciclosporina, prednisolona y factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF); y encontró que la recuperación de las tres líneas celulares ocurrió en 77 pacientes con una mediana de 3 meses (48 completos), después de uno o más ciclos de terapia. Entre los 23 pacientes no respondedores, 11 murieron en un intervalo medio de 3 meses, 6 pacientes fueron considerados como fracaso a tratamiento y sometidos a trasplante. La supervivencia promedio fue del 87% a cinco años (98% en aquellos con neutrófilos de más de 200 células/microL, contra el 76% en aquellos con neutrófilos de menos de 200/microL al momento de la presentación). A los niños no les fue mejor que a los adultos (88 vs 87%). [30]

El beneficio del uso de los factores de crecimiento hematopoyético en el tratamiento inmunosupresor para la anemia aplásica severa permanece incierto.

[18]. En adición, el uso de ciclofosfamida, con o sin ciclosporina, no ha demostrado proveer un beneficio adicional y se ha asociado con incremento de la mortalidad y morbilidad. [1,13]

Los pacientes tratados con inmunosupresión permanecen en riesgo de recaída o el desarrollo de enfermedad clonal. Las recaídas ocurren en alrededor de un 30% de los casos que tuvieron respuesta y la evolución clonal se ha observado en un 10 a 15% de los casos, lo cual se manifiesta tardíamente como mielodisplasia. [10]. Esto fue ilustrado en una serie de 860 niños y adultos, en el que la incidencia a los 10 años de malignidad después de trasplante fue de 3% (tumores sólidos en su mayoría) en comparación con el 19% después de inmunosupresión (en su mayoría Síndrome Mielodisplásico y Leucemia Mieloide Aguda). Otros estudios han reportado una tasa mayor de malignidad de 10.9%, a 15 años después del trasplante, cuando el régimen de preparación incluye irradiación toracoabdominal.

El régimen actualmente utilizado para el tratamiento inmunosupresor de la anemia aplásica con la globulina antitimocito (GAT) 3.75mg/kg por día durante 5 días más Ciclosporina A (CSA) 5mg/kg dosis por día, iniciando el primer día de la globulina antitimocito o después de haber discontinuado la prednisona, para mantener una concentración sanguínea entre 150 a 250 mcg/L en los adultos. Esta última consideración ayuda a reducir su toxicidad. [1] Sin embargo, existen protocolos que consideran dosis de inducción mayores.

Los efectos adversos de la globulina antitimocito suelen ser inmediatos, de tipo alérgico, que ocurren comúnmente e incluyen: fiebre, calambres, erupción, hipertensión o hipotensión y retención hídrica. Por lo anterior, cada dosis diaria de globulina debe ir precedida por una dosis de esteroide como prednisona o metilprednisolona, paracetamol y clorfeniramina. [1,5,7,8,20,22,23]

Las dosis de prednisona o metilprednisolona, paracetamol y clorfeniramina se deben dar 30 minutos antes de la infusión diaria de la globulina antitimocito. La dosis diaria de esteroide puede ser de 1 a 2mg/Kg/día, y cada quinto día se debe ir reduciendo a la mitad de la dosis, hasta suspenderse, para prevenir la enfermedad del suero. [1,8,28]

La enfermedad del suero usualmente aparece entre el día 7 y 14 después del inicio de la globulina antitimocito y se caracteriza por artralgias, mialgias, erupción, fiebre, proteinuria leve y trombocitopenia. Se recomienda manejarse con 100mg de hidrocortisona cada 6 horas. [1,8]

La globulina antitimocito tiene actividad antiplaquetaria, por lo que durante su administración se deben transfundir concentrados plaquetarios para garantizar un conteo por arriba de 30,000/L. En los casos que se llegue a documentar fiebre, aún cuando se sospeche que sea secundaria a la globulina, se recomienda iniciar tratamiento antimicrobiano de amplio espectro. [1]

La respuesta al tratamiento inmunosupresor se evaluará de 3 a 6 meses después de haberse recibido el tratamiento. Si hay evidencia de recuperación de las líneas celulares, se intenta disminuir paulatinamente la dosis de ciclosporina durante los siguientes 3 a 15 meses en pacientes con respuesta completa o parcialmente buena. Se recomienda que la dosis se mantenga hasta por 12 meses después de haber alcanzado la máxima respuesta antes de empezar a disminuirla. [1, 2, 3, 4, 7]

Algunos pacientes no podrán disminuir exitosamente la dosis de ciclosporina y requerirán mayor tiempo con la terapia. [1, 2, 4]

En caso de utilizar el factor de crecimiento de colonias de granulocitos humano recombinante, puede utilizarse a dosis de 5 mcg/kg por día subcutáneo iniciando al quinto día, tanto como se necesite para mantener una cuenta absoluta de neutrófilos mayor a 1000/microL. Sin embargo, su uso de manera rutinaria no está recomendado, salvo en los casos de estudios prospectivos. [1,18]

La respuesta a la terapia puede ser lenta, con recuperación de granulocitos como primer paso, seguido de una estabilización de la hemoglobina y disminución de los requerimientos de transfusión. La recuperación de las plaquetas puede tomar de meses a años. Los sobrevivientes a largo plazo pueden mostrar trombocitopenia persistente, macrocitosis y concentraciones elevadas de hemoglobina F. [1,6]

Un subconjunto de pacientes puede variar sus respuestas a diferentes componentes de la terapia. En un estudio, los pacientes que expresaron interferón gamma (IFN-gamma) en la superficie de los linfocitos T CD8+ tuvieron una tasa de respuesta más alta que aquellos que no lo expresaron (96 vs 32%). La supervivencia podría esperarse pobre en aquellos pacientes con cuentas absolutas de neutrófilos inferiores. Un estudio italiano de pacientes con anemia aplásica severa tratados con GAT/CSA mostró supervivencias menores en aquellos con cuentas absolutas de neutrófilos menores a 200/microL (76 vs 98%); sin embargo, en un estudio alemán-austriaco se encontró todo lo contrario (93 vs 81%). Las razones de estos hallazgos no están del todo claras, pero se ha asociado a la edad como predictor de respuesta, ya que los jóvenes son quienes tienen las más altas tasas de respuesta.

Los principales hallazgos han sido que la combinación de GAT más ciclosporina es superior que la GAT sola en pacientes con anemia aplásica severa, ya que reduce significativamente todas las causas de mortalidad al 50%, y este efecto inicia temprano a los 3 meses y se mantiene hasta por 5 años; mientras que en los casos no severos no ha demostrado ser superior la combinación a la utilización sola de la GAT. [1,2,3,4,5,6,7]

La GAT mejora los recuentos celulares de la serie roja en alrededor del 50% de los pacientes tratados, sin embargo, un tercio de los pacientes no

responde e inclusive los respondedores frecuentemente tienen recuentos celulares bajos de la serie roja.

Otros estudios han evaluado las tasas de respuesta a GAT+CSP-A con y sin sirolimus, encontrando que la tasa de respuesta total a 3 meses, para el grupo de GAT+CSP-A+Sirolimus fue de 37% mientras que para GAT+CSP-A fue de 50%; mientras que la respuesta observada a 6 meses fue de 51% y 62% respectivamente, evidenciando que la combinación de GAT+CSP-A es mucho más efectiva que otro inmunomodulador.[20]

Para los casos en los que no hay respuesta o recayeron después del primer ciclo de GAT, está recomendado dar un segundo ciclo. Este segundo ciclo puede darse después de 3 meses de haber recibido el primero, ya que como se ha mencionado previamente, toma 3 meses para que se presente la respuesta. Hay un 30-60% de oportunidad de respuesta a un segundo ciclo. [1]

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la anemia aplásica grave o muy grave, y de acuerdo al grupo de edad de los pacientes, el tratamiento ideal es el trasplante alogénico de células madre, pero aquellos pacientes que no pueden ser sometidos al trasplante se benefician de la terapia inmunosupresora; sin embargo, las respuestas varían dependiendo de la edad y la severidad del cuadro; así como por la terapéutica empleada, ya que se ha visto que las respuestas más altas y sostenidas se presentan con el uso de terapia combinada, pero muchas veces el acceso a todos los recursos es limitado, por lo que se traduce en mayor mortalidad. En este caso, en el Hospital Juárez de México no se dispone de un medicamento de primera línea como la globulina antitimocito o la globulina antilinfocito; por lo que se pretende revisar cual ha sido la respuesta en los pocos pacientes que lo han podido recibir, ya sea sola o combinada a cualquier otro manejo.

PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Cuál es la tasa de respuesta de los pacientes con anemia aplásica severa y muy severa que reciben tratamiento con globulina antitimocito?

HIPOTESIS

La globulina antitimocito mejora el recuento celular y las cifras de hemoglobina en la biometría hemática en más del 50% de los pacientes tratados a los 3 meses de recibido el tratamiento.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la tasa de respuesta a la globulina antitimocito en pacientes con anemia aplásica severa y muy severa.

OBJETIVO ESPECIFICO

1. Determinar la tasa de respuesta completa a los 6 meses de tratamiento.
2. Determinar la tasa de respuesta parcial a los 3 meses de tratamiento.
3. Determinar la tasa de respuesta parcial a los 6 meses de tratamiento.
4. Cuantificar el número de ciclos recibidos de globulina antitimocito.
5. Determinar la tasa de fracaso a tratamiento.
6. Determinar efectos adversos al tratamiento.

DISEÑO DE ESTUDIO.

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo y observacional.

LUGAR.

Se llevó a cabo en el Hospital Juárez de México, para el período comprendido entre el 1 de enero de 2007 al 31 de diciembre de 2011.

CRITERIOS DE INCLUSION.

- Hombres y mujeres entre 18 y 65 años con diagnóstico de anemia aplásica.
- Que hayan recibido tratamiento con globulina antitimocito o antilinfocito.

CRITERIOS DE EXCLUSION.

- Pacientes con diagnóstico de anemia aplásica que se encuentren fuera del rango de edad.
- Que no hayan recibido tratamiento con globulina antitimocito o antilinfocito.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.

- Expedientes incompletos o no disponibles.
- Pacientes sin seguimiento.

METODOLOGIA.

1. Se realizó un tipo de muestreo no probabilístico de casos consecutivos.
2. Inicialmente se revisaron las hojas diarias del censo de pacientes hospitalizados, así como las hojas diarias de consulta de donde se obtuvieron los pacientes con diagnóstico de anemia aplásica.
3. Subsecuentemente se revisaron los expedientes de cada uno de ellos. Se incluyeron a todos los pacientes tanto hombres como mujeres entre 18 y 65 años con diagnóstico de anemia aplásica y que hayan recibido tratamiento con globulina antitimocito/antilinfocito.
4. Se descartaron a aquellos pacientes con diagnóstico de anemia aplásica que se encontraban fuera del rango de edad y que no hubieran recibido tratamiento con la globulina antitimocito/antilinfocito.
5. Se eliminaron aquellos pacientes cuyos expedientes se encontraron incompletos, que no estuvieron disponibles y/o que no hubieran tenido seguimiento. Los expedientes que se consideraron adecuados para la información fueron aquellos que contenían la información completa.
6. Los datos se registraron en una base de datos de Excel e incluyeron: edad, grado de severidad, tratamientos previos a la globulina antitimocito, número de ciclos recibidos de globulina antitimocito, biometría hemática antes del

tratamiento y a los 3 y 6 meses después del tratamiento; y estudio de clona para hemoglobinuria paroxística nocturna.

DEFINICION DE VARIABLES.

Variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición	Unidad de medición
Tasa de respuesta completa	Dependiente Cualitativa. Nominal.	Es la cantidad que corresponde proporcionalmente a una parte de cien, tomando en cuenta la mejoría después del tratamiento	Porcentaje de pacientes que lograron respuesta completa.	0 a 100	%
Tasa de respuesta parcial	Dependiente Cualitativa Nominal.	Es la cantidad que corresponde proporcionalmente de un cien, tomando en cuenta mejoría después del tratamiento.	Porcentaje de pacientes que lograron respuesta parcial.	0 a 100	%
Edad.	Cuantitativa Continua. De razón.	(Del lat. <i>Aetas,-ãtis</i>).Tiempo que ha vivido una persona o ciertos animales o vegetales.	El número de años cumplidos, referidos por el paciente desde su nacimiento a la fecha del diagnóstico de anemia aplásica.	0-99	Años.
Número de ciclos de ATG.	Cuantitativa. Continua. De razón.	El número de veces que se administró la globulina antitímocito.	Reporte en el expediente de ciclos completos de globulina antitímocito.	0-99	Número de ciclos.
Respuesta completa[1]	Cualitativa. Nominal.	De acuerdo al reporte de la biometría hemática, recuento celular normal para la edad y sexo: Hb>12g/dL para las mujeres y Hb>13g/dL para los hombres; granulocitos >1,500 y plaquetas > 150,000	Se considerará pacientes con respuesta completa a aquellos que logren todos los siguientes parámetros: Recuento celular periférico normal: 1. Hemoglobina > 12gr/dL. 2. Neutrófilos absolutos >1.5 x 10 (9)/L 3. Plaquetas > 150 x 10(9)/L 4. Médula ósea con celularidad > 50% (por biopsia de Médula ósea). 5. Ausencia de evidencia de evolución clonal (por estudio citogenético o citometría de flujo de médula ósea).	Escala nominal.	Presente. Ausente.
Respuesta Parcial[1]	Cualitativa. Nominal.	Incremento insistentido de al menos una línea celular por encima de los	Los pacientes serán considerados como respondedores parciales	Escala nominal.	Presente. Ausente.

		<p>valores basales.</p> <ul style="list-style-type: none"> Hb al menos de 3gr/dL, granulocitos al menos de 500 si los previos eran menores de 500 plaquetas al menos de 20,000 si las previas eran de menos de 20,000; o por duplicación. O normalización del recuento de al menos una línea celular si los recuentos previos de las líneas celulares respectivas no cumplían los criterios de anemia aplásica muy severa. 	<p>si:</p> <ol style="list-style-type: none"> Ya no cumplen con los criterios para el diagnóstico de Anemia Aplásica Severa. Son independientes de transfusiones. Recuento celular periférico: Hemoglobina > 8gr/dL Neutrófilos absolutos > 0.5 x 10⁹/L. Plaquetas >20 x 10⁹/L 		
Fracaso Terapéutico (FALTA DE RESPUESTA) [1]	<p>Cualitativa.</p> <p>Dicotómica.</p> <p>Nominal.</p>	La ausencia de respuesta hematológica.	<p>Los pacientes serán definidos como no respondedores si:</p> <ol style="list-style-type: none"> Si son dependientes de transfusiones o el recuento celular periférico no cumple con los criterios definidos arriba para la respuesta completa o parcial. Los pacientes que fallezcan por complicaciones de la anemia aplásica serán considerados como no respondedores. 	<p>Presente.</p> <p>Ausente.</p>	<p>Sí.</p> <p>No.</p>
Respuesta Hematológica Tardía (>180 DÍAS) [1]	<p>Cualitativa.</p> <p>Nominal.</p> <p>Dicotómica</p>	Respuesta hematológica después de 180 días de haber iniciado tratamiento.	A partir de los 180 días desde el inicio del tratamiento, las respuestas se clasifican también de acuerdo a la posibilidad de disminuir los fármacos del estudio.	<p>Escala Nominal.</p>	<p>Presente/ausente.</p>
Eventos Adversos.	<p>Cualitativa.</p> <p>Dicotómica</p>			<p>Escala Nominal</p>	<p>Presente.</p> <p>Ausente.</p>

ANALISIS ESTADISTICO

La información se analizó con el software de análisis de datos SPSS versión 20 para Windows, donde se realizaron análisis del porcentaje de respuesta a la globulina antitimocito/antilinfocito a los 3 y 6 meses postratamiento; así como los efectos adversos, el número de transfusiones de hemoderivados y la dependencia a la transfusión de hemoderivados (concentrados eritrocitarios y plaquetarios).

El análisis descriptivo se realizó de acuerdo con la escala de medición de las variables; para las cualitativas fueron frecuencias simples y porcentajes. Para las cuantitativas, medidas de tendencia central y de dispersión, de acuerdo con el tipo de distribución (con o sin distribución normal) tales como mediana o media, y desviación estándar. Los valores de $p < 0.05$ se consideraron significativos.

CONSIDERACIONES ETICAS.

Este protocolo fue diseñado respetando los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos adoptados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial, promulgado en 1964, y enmendada en Tokio en 1975. Además, este protocolo se apegó a la 35ª Asamblea Medica Mundial de Venecia, Italia en 1983, la 41ª Asamblea Médica Mundial de Hong Kong en 1989, la 48ª Asamblea General Somerset West en Sudáfrica 1996, y la 52ª Asamblea General Edimburgo, Escocia en octubre 2000.

El protocolo fue sometido a la aprobación por el comité local de investigación y ética del Hospital Juárez de México.

De acuerdo al reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud se trató de un estudio sin riesgo, dado que únicamente se utilizó la información contenida en los expedientes clínicos. No se hará intervención en el tratamiento de los pacientes ni se modificara éste.

A la letra dicho reglamento dice:

ARTICULO 17.- Se considera como riesgo de la investigación a la probabilidad de que el sujeto de investigación sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio. Para efectos de este Reglamento, las investigaciones se clasifican en las siguientes categorías;

I.- Investigación sin riesgo: Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquéllos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran: cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, en los que no se le identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta;

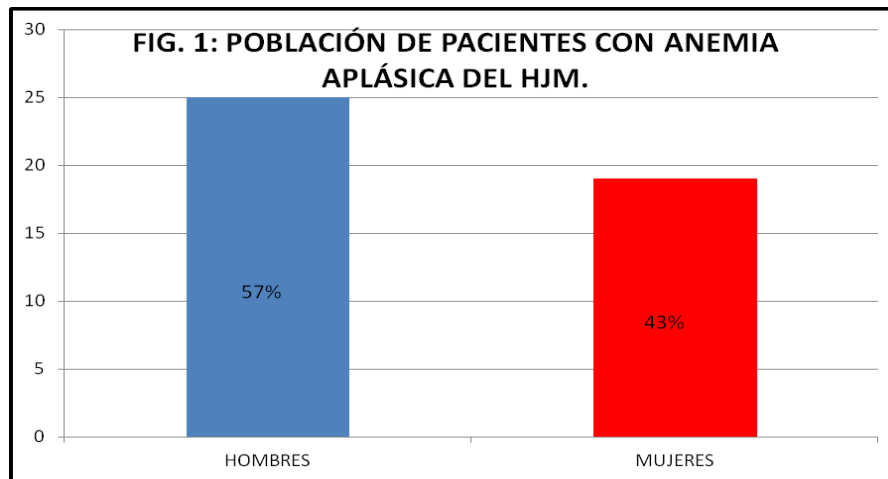
En cuanto a la carta de consentimiento informado basándonos en el mismo reglamento que a la letra dice:

ARTICULO 23.- En caso de investigaciones con riesgo mínimo, la Comisión de Ética, por razones justificadas, podrá autorizar que el consentimiento informado se obtenga sin formularse escrito, y tratándose de investigaciones sin riesgo, podrá dispensar al investigador la obtención del consentimiento informado.

Se solicitará a la exención del mismo ya que al tratarse de una revisión retrospectiva de la información y por la patología que se trate algunos casos pudiesen haber fallecido o no ser localizables para la obtención del mismo.

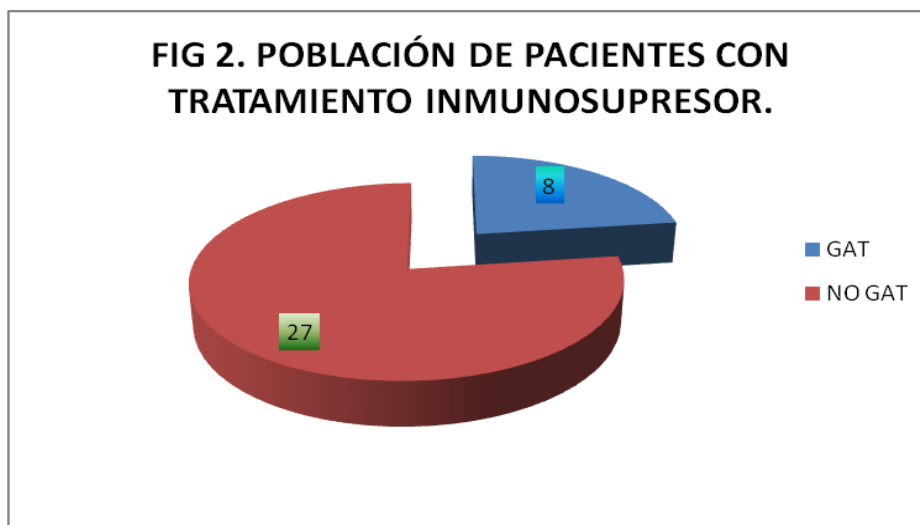
RESULTADOS.

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo, observacional y descriptivo, donde se encontró que para el período comprendido entre el 1 de enero de 2007 al 31 de diciembre de 2011, la población de pacientes del Hospital Juárez de México con anemia aplásica fue de 44 pacientes. De estos 44 pacientes, se excluyeron 7 porque no se encontraron los expedientes (figura 1). De los 37 pacientes restantes, 6 fueron clasificados como anemia aplásica no severa y 31 fueron clasificados como anemia aplásica severa; de los cuales de los cuales únicamente 8 recibieron tratamiento con globulina antitimocito.



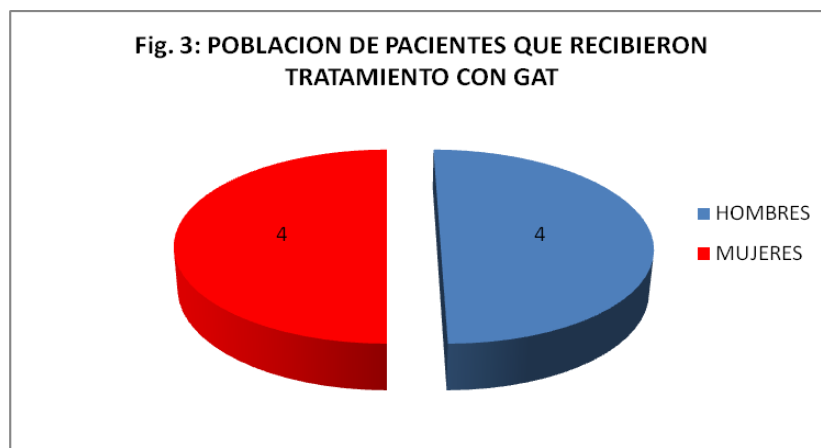
De los 37 pacientes, 2 pacientes no recibieron ningún tratamiento inmunosupresor, únicamente sintomático. De los 35 pacientes con tratamiento inmunosupresor, 34 pacientes recibieron ciclosporina A más danazol como primera línea y sólo 1 recibió ciclosporina A como único tratamiento de primera

línea. De los 35 pacientes, únicamente 8 recibieron tratamiento con globulina antitimocito, de los cuales 7 lo recibieron como segunda línea y 1 como tercera línea, pues había recibido alemtuzumab como segunda línea (Figura 2).



Los 8 pacientes reclutados recibieron como parte del tratamiento globulina antitimocito. De los 8 pacientes, 7 recibieron un ciclo de globulina y únicamente una paciente recibió dos ciclos de globulina. Todos los pacientes se encontraban con tratamiento concomitante con ciclosporina A y danazol.

De las características demográficas de la población, el 50% correspondió al género masculino y el 50% al género femenino, siendo la edad promedio de 34.6 años con una desviación estándar de 13 años y una mediana de 32 años. Asimismo, todos los pacientes contaban con una clasificación de anemia aplásica severa, de acuerdo a los criterios de Camitta. (Figura 3).



De los 8 pacientes que recibieron tratamiento con globulina antitimocito (GAT), los laboratorios antes del tratamiento se encontraban de la siguiente manera: el promedio de la hemoglobina antes del GAT fue de 6.5gr/dL, con una mediana de 5.75 y una desviación estándar de 3.4; el promedio de la cuenta absoluta de neutrofilos fue de 671, con una mediana de 725 y una desviación estándar de 302; el promedio del recuento absoluto de plaquetas fue de 19,250, con una mediana de 17,000 y una desviación estándar de 8,172. (Tabla 1).

De los 8 pacientes que recibieron GAL/GAT, 7 pacientes lo recibieron durante el primer año del diagnóstico, y 1 durante los dos primeros años del diagnóstico.

Tabla 1: CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES		
TOTAL	N(%)	MEDIANA (25-75 IQ)
	8(100)	
EDAD		32 (22-46)
<30	4 (50)	
>30	4 (50)	
SEXO		
Hombres.	4(50)	-
Mujeres.	4(50)	-
CONTEO BASAL ($\times 10^3/\mu\text{L}$)		
CAN	8	0.725 (0.537-0.828)
CAP	8	17 (13.5-22)
Hb	8	5.75(4.4-7.4)
HPN(%)		
<1	8	
>1	0	
CAN: cuenta absoluta de neutrófilos. CAP: cuenta absoluta de plaquetas. Hb: hemoglobina en gr/dL HPN: Hemoglobinuria paroxística nocturna. IQ: rango intercuilítico 25-75.		

Posterior a la aplicación del ciclo de GAT, se encontró que ningún paciente tuvo respuesta completa a los 3 meses de seguimiento, que el 75% (6 pacientes) tuvieron respuesta parcial, y 25% de los pacientes (2 pacientes) estuvo sin respuesta a tratamiento. A los 6 meses de seguimiento, se encontró que el mismo número de pacientes (6 pacientes, 75%) continuaba con la respuesta parcial a tratamiento y que el 25% de pacientes no tuvo respuesta (tabla 2).

Las características de la respuesta hematológica a los 3 y 6 meses de observada tanto en pacientes con respuesta parcial como en pacientes sin respuesta se observa en la tabla 3. Para los pacientes con respuesta hematológica parcial, la hemoglobina promedio fue de 11.98 gr/dL a los 3 meses

de seguimiento; y de 12.56gr/dL a los 6 meses de seguimiento. En el caso del promedio de la cuenta absoluta de neutrofilos, fue de 1607 células/mL a los 3 meses y de 1410 a los 6 meses del tratamiento. En el caso del promedio del recuento plaquetario, se encontró que a los 3 meses fue de 40,330 células y de 51,660 células, a los 6 meses del tratamiento.

Tabla 2: RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON GAT.				
Seguimiento.	Respuesta completa.	Respuesta parcial.	Sin respuesta.	Total de respuesta.
3 meses.	0	6 (75%)	2 (25%)	6 (75%)
6 meses.	0	6 (75%)	2 (25%)	6 (75%)

En el caso de los pacientes que no tuvieron respuesta, se encontró que el promedio de la cifra de hemoglobina a los 3 meses fue de 6.35 gr/dL, y a los 6 meses de 5.8gr/dL. Para la cuenta absoluta de neutrofilos, el promedio a los 3 meses fue de 830 células/mL y de 630 células/mL a los 6 meses; para el caso del recuento plaquetario, el promedio a los 3 meses fue de 16,000 y de 21,000 a los 6 meses de seguimiento.

Tabla 3: CARACTERÍSTICAS DE LA RESPUESTA HEMATOLÓGICA.				
CONTEO EN SEGUIMIENTO ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	3 MESES PROMEDIO	3 MESES MEDIANA (25-75 IQ)	6 MESES PROMEDIO	6 MESES MEDIANA (25-75 IQ)
CAN	1.412	1.53 (1.2-1.79)	1.215	1.07 (0.78-1.39)
CAP	34.25	24 (22.75-32)	44	32.5 (24.5-52.25)
Hb	10.5	11.05 (9.2-12.4)	10.87	12 (7.9-12.8)

CAN: cuenta absoluta de neutrófilos. CAP: cuenta absoluta de plaquetas. Hb: hemoglobina en gr/dL IQ: rango intercuartilico 25-75.

Por otro lado, se encontró que el 87.5% (7 pacientes) presentó al menos un dato de evento adverso de manera aguda, siendo los más comunes el prurito, en el 100% de los pacientes, sangrado de mucosas en el 75% y fiebre en el 25% de los casos.

Todos los pacientes se apoyaron con hemoderivados tanto de concentrados eritrocitarios como de concentrados plaquetarios durante el tiempo que duró la aplicación del ciclo de GAT y hasta antes de su egreso. El promedio de concentrados eritrocitarios fue de 3 y de 20 concentrados de plaquetas durante el internamiento para el ciclo de GAT. El 25% de los pacientes requirió hospitalización posterior al ciclo de GAT para apoyo con hemoderivados, siendo el mismo porcentaje que continuó con dependencia de hemoderivados después de los 6 meses de observación y de administrado el tratamiento.

Posterior al ciclo de GAT, se encontró que el 87.5% (7 pacientes) continuó tratamiento con ciclosporina A más danazol, el 12.5% (1 paciente) únicamente con ciclosporina A. Se encontró que un paciente había recibido tratamiento con alemtuzumab previo al tratamiento con GAT.

DISCUSION.

La anemia aplásica es un padecimiento crónico, donde se ha observado que, dependiendo de la edad, el tratamiento de elección es el trasplante alogénico de médula ósea. Sin embargo, en el mundo, existen muy pocos pacientes que pueden ser llevados a trasplante de médula ósea, ya sea tanto por los costos como por la disponibilidad de un donador compatible. Para aquellos pacientes, que carecen de un donador compatible existe la terapia inmunosupresora, la cual ha disminuido la mortalidad y mejorado la supervivencia de los pacientes con anemia aplásica severa. Se ha observado de manera homogénea tasas de respuesta hematológica sólo con el tratamiento con la globulina antitimocito entre el 40-50% de los pacientes, disminuyendo la necesidad de transfusiones y la susceptibilidad a las infecciones. Esta tasa de respuesta puede incrementarse hasta un 75-80% cuando se asocia con otros inmunosupresores como lo es la ciclosporina A, anabólicos como el danazol y en algunos casos se ha estudiado el uso concomitante con ciclofosfamida y/o micofenolato de mofetilo, como tratamientos combinados de primera línea. En nuestro estudio, dada la poca disponibilidad del recurso de la globulina antitimocito de conejo o antilinfocito de caballo, el llevar a un paciente con tratamiento de primera línea con este fármaco ha sido difícil, tal es el caso de que todos los pacientes que la recibieron únicamente fue posible recibir un ciclo de tratamiento en el 87% de los casos y sólo un 13% de los casos (1 paciente) pudo recibir dos

ciclos de tratamiento y donde se observó que después del segundo ciclo, a pesar de que la respuesta clínica se observó a los 3 meses del tratamiento, la respuesta hematológica se encontró de manera tardía pero sostenida; lo que nos haría pensar en la necesidad de emplear más de un ciclo de tratamiento para lograr respuestas hematológicas sostenidas. A pesar de que la mayoría sólo recibió un ciclo de tratamiento, se observó que el 75% de los pacientes (6 pacientes) logró remisiones parciales de la enfermedad desde los 3 meses de tratamiento y que se mantuvieron hasta los 6 meses en que se documentó el seguimiento, lo que contrasta con la tasa de respuesta reportada para la globulina antitimocito e inclusive mayor, dado que en este estudio la globulina antitimocito se recibió como fármaco único y como una segunda línea terapéutica. Cabe mencionar que todos los pacientes recibieron como primera línea ciclosporina A más danazol, excepto por uno en quien se documentó el uso de alemtuzumab como tratamiento de segunda línea. Por lo que a manera de futuros estudios, de ser posible se podría llevar a cabo uno en el cual se utilicen tanto la ciclosporina A como danazol asociados a globulina antitimocito, de los cuales ya hay reportes en otros países de las tasas de respuesta y remisión completa logradas con esta combinación y que en nuestro medio por cuestiones económicas no ha sido posible, pues no se encontró evidencia en la literatura publicada de ello. Se ha visto que el uso concomitante de otros inmunomoduladores como la ciclosporina A mejora las tasas de respuesta a 3 y 6 meses en alrededor del 70% de los pacientes. En

algunos centros de estudio se ha confirmado que la adición de ciclosporina A a la globulina antitímocito mejora las tasas de respuesta a un 70-80% y una supervivencia a 5 años de seguimiento del 80-90% de los pacientes.

Hay que resaltar que los efectos adversos reportados para este estudio, fueron similares a los reportados en otros estudios, tanto para el sangrado de mucosas, como para las infecciones asociadas a la neutropenia febril. En este caso no se identificaron agentes causales, y los pacientes respondieron favorablemente al tratamiento empírico para la neutropenia febril.

En el caso de los pacientes que se encontraron sin respuesta hematológica, el porcentaje asciende al 25%, que contrastaría con lo reportado en la literatura universal de una falla de respuesta, aunque un sesgo para esto sería la falta de seguimiento por un lado, ya que sólo hubo observaciones hasta 6 meses posteriores al tratamiento y de que un porcentaje menor tiene respuestas hematológicas tardías que se observan hasta 180 días después de administrado el tratamiento, situación que no se documentó en este estudio; y por otro lado, la falta de un segundo ciclo de tratamiento después de 6 meses sin haberse presentado una respuesta hematológica satisfactoria. Por lo que de ese 25% de los pacientes que no tuvo respuesta hematológica se evidenció la dependencia de hemoderivados, documentado por admisiones frecuentes al servicio de

Hematología por sintomatología de alguna citopenia sea por hemorragia o por cuadros clínicos de anemia.

Hay que resaltar que el estudio para hemoglobinuria paroxística nocturna es menester importante, dada la asociación que existe entre estas dos patologías, y de que hasta en un 30% de los casos, la hemoglobinuria paroxística nocturna debuta como un cuadro de aplasia medular.

Por lo anterior, se plantea la necesidad de un estudio prospectivo, doble ciego y comparativo que asocie la a globulina antitímocito como tratamiento de primera línea comparado contra la asociación entre la globulina antitímocito y otro inmunosupresor como la ciclosporina A. asimismo dado que para este estudio la muestra fue demasiado pequeña, valdría la pena realizar un estudio multicéntrico para aumentar el tamaño de la muestra y poder obtener resultados estadísticamente significativos. En este caso por el tipo de estudio sólo se utilizó estadística descriptiva con porcentajes, medidas de tendencia central y dispersión.

CONCLUSIONES.

- 1. Ningún paciente mostró haber tenido una tasa de respuesta completa a los 3 ni a los 6 meses del tratamiento con la globulina antitimocito; quizá se deba a que ninguno lo recibió como tratamiento de primera línea.**
- 2. La globulina antitimocito mostró una tasa de respuesta parcial a los 3 meses del tratamiento hasta en el 75% de los pacientes.**
- 3. La respuesta hematológica observada a los 3 meses del tratamiento con la globulina antitimocito se sostuvo en el mismo porcentaje de pacientes a los 6 meses después del tratamiento.**
- 4. La falta de respuesta hematológica se observó en el 25% de los pacientes.**
- 5. Es necesario ampliar el tamaño de muestra para poder realizar pruebas estadísticas de mayor poder y encontrar posibles causas de la falta de respuesta.**
- 6. Es necesario realizar estudios prospectivos y comparativos a fin de encontrar el tratamiento más efectivo en la población mexicana.**

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Marsh JC, Ball SE, Cavenagh J, Darbyshire P, Dokal I, Gordon-Smith EC, Keidan J, Laurie A, Martin A, Mercieca J, Killick SB, Stewart R, Yin JA; British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anaemia Br J Haematol. 2009 Oct;147(1):43-70. Epub 2009 Aug 10. Review. PubMed PMID: 19673883.
2. Frickhofen N, Heimpel H, Kaltwasser JP, Schrezenmeier H; German Aplastic Anemia Study Group. Antithymocyte globulin with or without cyclosporin A: 11-year follow-up of a randomized trial comparing treatments of aplastic anemia. Blood. 2003 Feb 15;101(4):1236-42. Epub 2002 Oct 10. PubMed PMID: 12393680.
3. Gafter-Gvili A, Ram R, Gurion R, Paul M, Yeshurun M, Raanani P, Shpilberg O. ATG plus cyclosporine reduces all-cause mortality in patients with severe aplastic anemia--systematic review and meta-analysis. Acta Haematol. 2008;120(4):237-43. Epub 2009 Feb 25. Review. PubMed PMID: 19246887.
4. Rosenfeld S, Follmann D, Nunez O, Young NS. Antithymocyte globulin and cyclosporine for severe aplastic anemia: association between hematologic response and long-term outcome. JAMA. 2003 Mar 5;289(9):1130-5. PubMed PMID: 12622583.
5. Marsh J, Schrezenmeier H, Marin P, Ilhan O, Ljungman P, McCann S, Socie G, Tichelli A, Passweg J, Hows J, Raghavachar A, Locasciulli A, Bacigalupo A. Prospective randomized multicenter study comparing cyclosporin alone versus the combination of antithymocyte globulin and cyclosporin for treatment of patients with nonsevere aplastic anemia: a report from the European Blood and Marrow Transplant (EBMT) Severe Aplastic Anaemia Working Party. Blood. 1999 Apr 1;93(7):2191-5. PubMed PMID: 10090926.
6. Scheinberg P, Wu CO, Nunez O, Young NS. Predicting response to immunosuppressive therapy and survival in severe aplastic anaemia. Br J Haematol. 2009 Jan;144(2):206-16. Epub 2008 Nov 19. PubMed PMID: 19036108.
7. Scheinberg P, Nunez O, Wu C, Young NS. Treatment of severe aplastic anaemia with combined immunosuppression: anti-thymocyte globulin, ciclosporin and mycophenolate mofetil. Br J Haematol. 2006 Jun;133(6):606-11. PubMed PMID: 16704434.
8. Kulagin AD, Lisukov IA, Miloserdov IA, Afanas'ev BV. [Polyclonal rabbit antithymocyte globulin (thymoglobulin): immunomodulatory effects and new aspects of its clinical application]. Ter Arkh. 2010;82(7):65-72. Review. Russian. PubMed PMID: 20853613.

9. Meyers G, Maziarz RT. Is it time for a change? The case for early application of unrelated allo-SCT for severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant*. 2010 Oct;45(10):1479-88. Epub 2010 Jul 5. Review. PubMed PMID: 20603622.
10. Scheinberg P, Cooper JN, Sloand EM, Wu CO, Calado RT, Young NS. Association of telomere length of peripheral blood leukocytes with hematopoietic relapse, malignant transformation, and survival in severe aplastic anemia. *JAMA*. 2010 Sep 22;304(12):1358-64. Erratum in: *JAMA*. 2010 Nov 3;304(17):1901. PubMed PMID: 20858879.
11. Kim SY, Lee JW, Lee SE, Cho BS, Kim M, Eom KS, Kim YJ, Kim HJ, Lee S, Min CK, Cho SG, Kim DW, Han K, Min WS. The characteristics and clinical outcome of adult patients with aplastic anemia and abnormal cytogenetics at diagnosis. *Genes Chromosomes Cancer*. 2010 Sep;49(9):844-50. PubMed PMID: 20540166.
12. Atallah E, Abrams J, Ayash L, Bentley G, Abidi M, Ratanatharathorn V, Uberti J. Long term follow-up of allogeneic stem cell transplantation in patients with myelodysplastic syndromes using busulfan, cytosine arabinoside, and cyclophosphamide. *Am J Hematol*. 2010 Aug;85(8):579-83. PubMed PMID: 20578198.
13. Brodsky RA, Chen AR, Dorr D, Fuchs EJ, Huff CA, Luznik L, Smith BD, Matsui WH, Goodman SN, Ambinder RF, Jones RJ. High-dose cyclophosphamide for severe aplastic anemia: long-term follow-up. *Blood*. 2010 Mar 18;115(11):2136-41. Epub 2009 Dec 16. PubMed PMID: 20018919; PubMed Central PMCID: PMC2844020.
14. Gómez-Almaguer D, Jaime-Pérez JC, Garza-Rodríguez V, Chapa-Rodríguez A, Tarín-Arzaga L, Herrera-Garza JL, Ruiz-Argüelles GJ, López-Otero A, González-Llano O, Rodríguez-Romo L. Subcutaneous alemtuzumab plus cyclosporine for the treatment of aplastic anemia. *Ann Hematol*. 2010 Mar;89(3):299-303. Epub 2009 Aug 25. PubMed PMID: 19705116.
15. Cesaro S, Marsh J, Tridello G, Rovò A, Maury S, Montante B, Masszi T, Van Lint MT, Afanasyev B, Iriando Atienza A, Bierings M, Carbone C, Doubek M, Lanino E, Sarhan M, Risitano A, Steinerova K, Wahlin A, Pegoraro A, Passweg J. Retrospective survey on the prevalence and outcome of prior autoimmune diseases in patients with aplastic anemia reported to the registry of the European group for blood and marrow transplantation. *Acta Haematol*. 2010;124(1):19-22. Epub 2010 Jul 6. PubMed PMID: 20606411.
16. Peinemann F, Grouven U, Kröger N, Pittler M, Zschorlich B, Lange S. Unrelated donor stem cell transplantation in acquired severe aplastic anemia: a systematic review. *Haematologica*. 2009 Dec;94(12):1732-42. Epub 2009 Jul 31. Review. PubMed PMID: 19648165; PubMed Central PMCID: PMC2791933.

17. Song MK, Chung JS, Joo YD, Kim YS, Kim SH, Seol YM, Shin HJ, Choi YJ, Cho GJ. Is the early cyclosporine A level predictive of the outcome of immunosuppressive therapy in severe aplastic anemia? *Eur J Haematol.* 2009 Jul;83(1):72-8. Epub 2009 Feb 5. PubMed PMID: 19220415.
18. Gurion R, Gafter-Gvili A, Paul M, Vidal L, Ben-Bassat I, Yeshurun M, Shpilberg O, Raanani P. Hematopoietic growth factors in aplastic anemia patients treated with immunosuppressive therapy-systematic review and meta-analysis. *Haematologica.* 2009 May;94(5):712-9. Epub 2009 Mar 31. Review. PubMed PMID: 19336743; PubMed Central PMCID: PMC2675684.
19. Ommati LV, Rodrigues CA, Silva AR, Silva LP, Chauffaille ML, Oliveira JS. A retrospective comparison of cyclophosphamide plus antithymocyte globulin with cyclophosphamide plus busulfan as the conditioning regimen for severe aplastic anemia. *Braz J Med Biol Res.* 2009 Mar;42(3):244-50. PubMed PMID: 19287903.
20. Scheinberg P, Wu CO, Nunez O, Scheinberg P, Boss C, Sloand EM, Young NS. Treatment of severe aplastic anemia with a combination of horse antithymocyte globulin and cyclosporine, with or without sirolimus: a prospective randomized study. *Haematologica.* 2009 Mar;94(3):348-54. Epub 2009 Jan 30. PubMed PMID: 19181786; PubMed Central PMCID: PMC2649367.
21. Chuhjo T, Yamazaki H, Omine M, Nakao S. Danazol therapy for aplastic anemia refractory to immunosuppressive therapy. *Am J Hematol.* 2008 May;83(5):387-9. PubMed PMID: 18161784.
22. Teramura M, Kimura A, Iwase S, Yonemura Y, Nakao S, Urabe A, Omine M, Mizoguchi H. Treatment of severe aplastic anemia with antithymocyte globulin and cyclosporin A with or without G-CSF in adults: a multicenter randomized study in Japan. *Blood.* 2007 Sep 15;110(6):1756-61. Epub 2007 May 25. PubMed PMID: 17526862.
23. Dinçol G, Aktan M, Diz-Küçükkaya R, Yavuz S, Nalçacı M, Oztürk S, Palanduz S, Doğan O, Ağan M. Treatment of acquired severe aplastic anemia with antilymphocyte globulin, cyclosporin A, methylprednisolone, and granulocyte colony-stimulating factor. *Am J Hematol.* 2007 Sep;82(9):783-6. PubMed PMID: 17506070.
24. Yagasaki H, Takahashi Y, Kudo K, Ohashi H, Hama A, Yamamoto T, Tanaka M, Yoshida N, Hidaka H, Nishio N, Kojima S. Feasibility and results of bone marrow transplantation from an HLA-mismatched unrelated donor for children and young adults with acquired severe aplastic anemia. *Int J Hematol.* 2007 Jun;85(5):437-42. PubMed PMID: 17562622.

25. Killick SB, Cavenagh JD, Davies JK, Marsh JC. Low dose antithymocyte globulin for the treatment of older patients with aplastic anaemia. *Leuk Res.* 2006 Dec;30(12):1517-20. Epub 2006 Mar 10. PubMed PMID: 16530266.
26. Gan GG, Leong CF, Sangkar JV, Teh A, Goh KY, Cheong SK. The use of mycophenolate mofetil in treating patients with non responding aplastic anemia. *Med J Malaysia.* 2005 Aug;60(3):311-3. PubMed PMID: 16379185.
27. Colby C, Stoukides CA, Spitzer TR. Antithymocyte immunoglobulin in severe aplastic anemia and bone marrow transplantation. *Ann Pharmacother.* 1996 Oct;30(10):1164-74. Review. PubMed PMID: 8893124.
28. da Silva PS, Passos RM, Waisberg DR, Park MV. Serum sickness and severe acute renal failure after rabbit antithymocyte globulin treatment in aplastic anemia: a case report. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2011 Jan;33(1):43-6. PubMed PMID: 21063223.
29. Lee, KA, Kim, SH, Woo, HY, et al. Increased frequencies of glutathione S-transferase (GSTM1 and GSTT1) gene deletions in Korean patients with acquired aplastic anemia. *Blood* 2001; 98:3483
30. Bacigalupo A, Bruno B, Saracco P, Di Bona E, Locasciulli A, Locatelli F, Gabbas A, Dufour C, Arcese W, Testi G, Broccia G, Carotenuto M, Coser P, Barbui T, Leoni P, Ferster A. Antilymphocyte globulin, cyclosporine, prednisolone, and granulocyte colony-stimulating factor for severe aplastic anemia: an update of the GITMO/EBMT study on 100 patients. European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) Working Party on Severe Aplastic Anemia and the Gruppo Italiano Trapianti di Midollo Osseo (GITMO). *Blood.* 2000 Mar 15;95(6):1931-4. PubMed PMID: 10706857.