



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

ACTUALIZACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DE
LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS Y DE LAS
PRUEBAS DE LABORATORIO PARA SU
DIAGNÓSTICO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

PRESENTA:

RUBÉN FLORES VÁZQUEZ

ASESOR: M. en C. IDALIA C. ÁVILA MIYAZAWA.

CUAUTITLÁN, EDO. DE MÉXICO, 2014





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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Actualización de las características de los síndromes mielodisplásicos y de las pruebas de laboratorio para su diagnóstico

Que presenta el pasante: Rubén Flores Vázquez

Con número de cuenta: 306078619 para obtener el Título de: Licenciado en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 20 de mayo de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Idalia Carmen Avila Miyazawa	
VOCAL	QFB. René Damián Santos	
SECRETARIO	M. en C. Gloria Leticia Arellano Martínez	
1er. SUPLENTE	QFB. Betsabé Rodríguez Pérez	
2do. SUPLENTE	M. en C. Heidi Johanna Amezcua Hempel	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

HMI/iac

AGRADECIMIENTOS

A mis papas....

Por estar conmigo siempre a pesar de estar lejos de mí. Gracias mama por darme tu confianza y escucharme en cada proyecto que hago en mi vida. Gracias papa por darme tus consejos sabios, a enseñarme que todo en la vida se gana con esfuerzo, determinación y confianza en uno mismo. En verdad, gracias a los dos por aguantarme y darme su amor cada día; los amo!!!!.

A mi hermana....

Por apoyarme en todos los aspectos, en las buenas y en las malas, y por ser como eres conmigo. Te quiero mucho hermanita!!!!!!

A mis tíos y primos....

Vicente, Berna, Noé, Raúl, Maty, Ausencio y Ofelia; porque a pesar de que no tenían la necesidad de tenerme a mí en su casa, me recibieron con buena cara y me trataron como si fuera un hijo más; mil gracias. Gracias también para el Chato, Tania, Kati, Viri, Liz, Axel y Aris, por convivir conmigo y tratarme como su hermano durante mis estancias en sus casas.

A mis amigos....

A mis amigos Daniel, Brian, Fer, Martin, Gigio, Marilú, Julieta, Gustavo, Giovanni y Antonio, que siempre han estado ahí (a pesar de no vernos tan seguido), siempre me han apoyado en todo y me han escuchado en momentos muy duros para mí; a Corina, Cesar, Paula, Dafne y Freddy, porque también en la universidad encontré personas en quien confiar, con quien reírme, con quien estudiar y con quien apoyarme. Gracias a todos ustedes.

A mi asesora....

A la maestra Idalia por darme la oportunidad de trabajar con ella y creer en mí al realizar este proyecto.

A las familias Flores y Vázquez....

Son muchos y por eso no los nombre individualmente, pero por estar pendientes de toda mi carrera y estar conmigo siempre, muchas gracias!!!!!!

ÍNDICE

ABREVIATURAS	ix
OBJETIVOS.	xiii
INTRODUCCIÓN	xiv
CAPITULO 1. HISTORIA DE LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS.....	1
1.1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS.	1
CAPITULO 2. ETIOLOGÍA Y PATOGÉNESIS.....	6
2.1. GENERALIDADES DE LA ETIOLOGÍA.	6
2.1.1. Drogas citotóxicas y radiación.	7
2.1.2. Solventes.	7
2.1.3. Hábito de fumar.....	8
2.1.4. Radiación.....	8
2.1.5. Tintes para cabello.	9
2.1.6. Consumo de etanol.....	9
2.1.7. SMD familiares.	9
2.1.8. Anemia aplásica y Hemoglobinuria Paroxística Nocturna (HPN).	10
2.2. PATOGÉNESIS.....	10
2.2.1. Apoptosis y ataque inmune.	10
2.2.2. Citogenética de los SMD.....	12
2.2.2.1. Anormalidades del cromosoma 5.	12
2.2.2.2. Anormalidades del cromosoma 7.	13
2.2.2.3. Anormalidades del cromosoma 3.	13
2.2.2.4. Anormalidades del cromosoma 11.	13
2.2.2.5. Otras deleciones.	13
2.2.3. Daños epigenéticos.....	14
2.2.3.1. Metilación aberrante del ADN.	15
2.2.3.2. Modificación de las histonas.....	17
2.2.4. Mutaciones puntuales en SMD.....	17
2.2.4.1. Mutación en gen RAS.	17
2.2.4.2. Mutaciones en P53.	18
2.2.4.3. Mutaciones por JAK2.	19
2.2.4.4. Mutaciones en el gen AML1 o RUNX1.	19
2.2.4.5. Mutaciones en genes HOX.	20

2.2.4.6. Mutación en CBL	20
2.2.4.7. Mutación en ASXL1.....	20
2.2.4.8. Mutación en TET2.....	20
2.2.5. Microambiente.....	21
2.2.6. Angiogénesis.....	21
CAPITULO 3: CLASIFICACIÓN Y PRONÓSTICO DE LOS SINDROMES	
MIELODISPLASICOS.....	22
3.1. CLASIFICACIONES.....	22
3.1.1. Clasificación FAB.....	22
3.1.2. Clasificación de la OMS.....	24
3.1.3.2. Anemia Refractaria con Sideroblastos Anillados (ARSA).....	27
3.1.3.3. Citopenia Refractaria con Displasia Multilineaje (CRDM).....	28
3.1.3.4. Anemia Refractaria con Exceso de Blastos (AREB).....	29
3.1.3.5. SMD asociado a delección 5q [del (5q)].....	29
3.1.3.6. SMD Inclasificables (SMD-I).....	29
3.1.3.7. Desordenes SMD/SMP.....	30
3.1.4. Clasificación de SMD en niños.....	31
3.2. CRITERIO DEL PRONÓSTICO DE LOS SMD.....	32
CAPITULO 4: INCIDENCIA DE LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS.....	37
4.1. INCIDENCIA Y PREVALENCIA EN E.U.A.....	37
4.2. INCIDENCIA EN EUROPA Y OTRAS PARTES DEL MUNDO.....	37
4.3. DISTRIBUCIÓN DE ACUERDO A LA EDAD.....	38
4.4. PROPORCIÓN DE SMD DE ACUERDO AL SEXO.....	38
4.5. INCIDENCIA DE LOS SMD EN RELACIÓN CON OTRAS ENFERMEDADES	
HEMATOPOYÉTICAS.....	39
4.6. AVANCES EN LA INCIDENCIA.....	39
CAPITULO 5. DIAGNÓSTICO DE LOS SÍNDROMES MIELODÍSPASICOS.....	41
5.1. INTRODUCCIÓN AL DIAGNÓSTICO DE LOS SMD.....	41
5.2. HISTORIA CLÍNICA, SIGNOS Y SINTOMAS.....	41
5.3. CRITERIOS MÍNIMOS DE DIAGNÓSTICO PARA SMD.....	42
5.3.1. Citopenia Idiopática de Significado Incierto (ICUS).....	44
5.4. PRUEBAS DE EXCLUSIÓN.....	45
5.5. PRUEBAS HEMATOLÓGICAS PARA EL DIAGNÓSTICO.....	46
5.5.1. Biometría hemática (Hemograma).....	46



5.5.1.1. Hematócrito.....	46
5.5.1.2. Hemoglobina (Hb).....	47
5.5.1.3. Conteo de eritrocitos.....	47
5.5.1.4. Índices de Wintrobe: VCM, HCM y CMHC.....	47
5.5.1.5. Ancho de distribución de eritrocitos (ADE).....	48
5.5.1.6. Reticulocitos.....	48
5.5.1.7. Conteo de leucocitos.....	49
5.5.1.8. Conteo de plaquetas.....	50
5.5.1.9. El frotis de la sangre periférica y tinción de May Grünwald-Giemsa.....	51
5.5.1.10. Análisis de la morfología de eritrocitos en los SMD.....	52
5.5.1.11. Análisis morfológico de los leucocitos en SMD y conteo diferencial.....	56
5.5.1.12. Análisis morfológico de las plaquetas en SMD.....	64
5.5.2. Aspirado de médula ósea o mielograma.....	65
5.5.3. Biopsia de médula ósea.....	68
5.5.4. Evaluación celular en la médula ósea.....	69
5.5.4.1. Serie eritroide y sus alteraciones morfológicas.....	69
5.5.4.2. Serie leucocitaria y sus alteraciones morfológicas.....	74
5.5.4.3. Serie megacariocítica y sus alteraciones morfológicas.....	81
5.5.5. Citoquímicas.....	83
5.5.5.1. Introducción.....	83
5.5.5.2. Citoquímicas usadas en SMD.....	85
5.6. PRUEBAS INMUNOLOGICAS DE DIAGNÓSTICO.....	88
5.6.1. Citometría de flujo (CF).....	88
5.6.1.1. Aplicación del citómetro de flujo en los SMD.....	88
5.6.1.2. Métodos de análisis de la mielodisplasia por Citometría de Flujo y su aplicación en la clínica.....	89
5.7. PRUEBAS GENÉTICAS, MOLECULARES Y CITOGENÉTICAS PARA EL DIAGNÓSTICO.....	91
5.7.1. Introducción.....	91
5.7.2. Citogenética metafásica.....	91
5.7.3. Hibridación in situ fluorescente (FISH).....	93
5.7.4. Hibridación genómica comparativa (CGH).....	95
5.7.5. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	96
5.7.5. Pruebas de polimorfismos de nucleótidos sencillos (SNP).....	96

CAPITULO 6. COMPLICACIONES DE LOS SINDROMES MIELODISPLÁSICOS.	98
6.1. INTRODUCCIÓN.	98
6.2. ANEMIA.....	98
6.3. INFECCIONES.....	99
6.4. PROBLEMAS ASOCIADOS A LA PLAQUETAS.....	100
6.5. PROGRESIÓN A LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA (LMA).	101
6.5.1. Clasificación según criterios de la FAB y la OMS.....	101
CAPITULO 7. TRATAMIENTO PARA LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS.	103
7.1. INTRODUCCIÓN.	103
7.2. TRATAMIENTO DE SOPORTE.....	103
7.2.1. Tratamientos para la anemia.	104
7.2.1.1. <i>Soporte transfusional.</i>	104
7.2.1.2. <i>Agentes estimulantes de la eritropoyesis (AEE).</i>	105
7.2.2. Tratamiento de la neutropenia.....	107
7.2.2.1. <i>Profilaxis antibiótica y empleo de G-CSF.</i>	107
7.2.3. Tratamiento para la trombocitopenia.	107
7.2.3.1. <i>Transfusión de concentrado de plaquetas.</i>	107
7.2.3.2. <i>Análogos de la trombopoyetina.</i>	107
7.2.4. Tratamiento de la sobrecarga de hierro.	108
7.2.4.1. <i>Tratamiento quelante.</i>	108
7.3. TRATAMIENTO PARA PACIENTES CON SMD DE BAJO RIESGO.	109
7.3.1. Objetivo del tratamiento.....	109
7.3.2. Lenalidomida.....	109
7.3.3. Tratamiento inmunosupresor (TIS).....	110
7.3.4. Azacitidina (AZA).....	110
7.3.5. Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo- TPH).	110
7.4. TRATAMIENTO PARA PACIENTES CON SMD DE ALTO PRONÓSTICO.....	111
7.4.1. Objetivos del tratamiento.	111
7.4.2. Agentes hipometilantes.	112
7.4.3. Quimioterapia (QT) tipo LMA.....	112
7.4.4. Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.....	113
CONCLUSIONES.	114
APÉNDICE.....	115

Médula ósea	115
Anatomía del sistema hematopoyético.....	116
GLOSARIO.....	117
REFERENCIAS	126

ABREVIATURAS

ADN: Ácido Desoxirribonucleico.

AEE: Agentes Estimulantes de la Eritropoyesis.

AR: Anemia Refractaria.

ARN: Ácido Ribonucleico.

AREB: Anemia Refractaria con Exceso de Blastos.

AREB-1: Anemia Refractaria con Exceso de Blastos-1.

AREB-2: Anemia refractaria con exceso de blastos-2.

AREB-T: Anemia Refractaria con Exceso de Blastos en Transformación.

ARS: Anemia Refractaria Simple.

ARSA: Anemia Refractaria con Sideroblastos en Anillo.

ASIA: Anemia Sideroblástica Idiopática Adquirida.

ASXL1: Additional Sex Comb-Like 1.

CBL: Gen ubiquitin-ligasa (Ubiquitin Ligase Gene).

CD: Cluster of Differentiation.

Cels / μ L: Células por Microlitro.

CF: Citometría de Flujo.

CRDM: Citopenia Refractaria con Displasia Multilinaje.

CRDM-SA: Citopenia Refractaria con Displasia Multilinaje con Sideroblastos en Anillo.

CRDU: Citopenia Refractaria con Displasia Unilínea.

CRI: Citopenia Refractaria de la Infancia.

Del (5q): Deleción del Brazo Largo del Cromosoma 5.

Del (7q-): Deleción del Brazo Largo del Cromosoma 7.

Del (20q): Deleción del Brazo Largo del Cromosoma 20.

DR: Receptores de la Muerte (Death Receptors).

EPO: Eritropoyetina.

FAB: Grupo Cooperativo Franco-Americano-Británico.

FADD: Dominio de Muerte Relacionado con Fas.

Fas: Nombre equivalente a CD95.

FAS-L: Fas Ligando.

FISH: Hibridación in Situ Fluorescente.

G-CSF: Factor Estimulante de Colonia- Granulocitaria.

GP: Glicoproteína.

Gr/dL: Gramos por Decilitro.

Hb: Hemoglobina.

HLA: Antígeno Leucocitario Humano (Human Leukocyte Antigen).

HOX: Gen Homeobox.

ICUS: Citopenia Idiopática de Significado Incierto.

IFN: Interferón.

IL: Interleucina.

IMRAW: International MDS Risk Analysis Workshop.

Int-1: Intermedio-1.

Int-2: Intermedio-2.

IPSS: Internacional Sistema Internacional de Puntuación Pronóstica.

JAK: Cinasas de Janus.

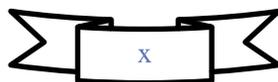
L: Litro.

LDH: Lactato Deshidrogenasa.

LLC: Leucemia Linfocítica Crónica.

LMA: Leucemia Mieloblástica Aguda.

LMC: Leucemia Mieloide Crónica.



LMCa: Leucemia Mieloide Crónica atípica.

LMMC: Leucemia Mielomonocítica Crónica.

LMMJ: Leucemia Mielomonocítica Juvenil.

MAPK: Protein-cinasa Activada por Mitógenos.

ML: Mililitros.

No.: Número.

NR: Neutropenia Refractaria.

OMS: Organización Mundial de la Salud (WHO: World Health Organization).

Plaq: Plaquetas.

RUNX1: Factor de Transcripción Relacionado a Runt (Runt-related Transcription Factor 1)

SDF-1: Factor Derivado de las Células Troncales (Stem Cell Derived Factor 1).

SD-LM: Síndrome de Down asociado con Leucemia Mieloide.

SMD: Síndrome Mielodisplásico.

SMD/SMP: Síndrome Mielodisplásico/Síndrome Mieloproliferativo.

SNP: Single Nucleotide Polymorphism (Polimorfismo Sencillo de un Nucleótido).

SMD-I: Síndrome Mielodisplásico Inclasificable.

SMD-t: Síndromes Mielodisplásicos relacionados a Terapia.

STAT: Transductores de Señal(es) y Activadores de la Transcripción.

t(1q): Translocación del Brazo Largo del Cromosoma 1 q.

t(7q): Translocación del Brazo Largo del Cromosoma 7q.

TET 2: Oncogenes de la Familia Tet Tipo 2 (Tet Oncogene Family Member 2).

TNF- α : Factor de Necrosis Tumoral- alfa (Tumoral Necrosis Factor).

TP 53: Proteína Tumoral p53 (Tumor Protein p53).

TPH: Transplante de Progenitores Hematológicos.

TR: Trombocitopenia Refractaria.

TRAIL: Ligando Inducido por Apoptosis Relacionada con TNF (TNF-Related Apoptosis Inducing Ligand).

U/L: Unidades por litro.

WNT: Wiggless-type MMTV Integration Site Family.

WPSS: Sistema de Puntaje Pronóstico Basado en la Clasificación de la OMS (WHO Classification–Based Prognostic Scoring System).

OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL

- Realizar una investigación bibliográfica actualizada de los síndromes mielodisplásicos, mediante los reportes más recientes respecto a su clasificación, su etiología, su incidencia, sus métodos diagnósticos por el laboratorio, sus complicaciones y sus tratamientos, para destacar al personal de la salud, la importancia de este grupo de hematopatías.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Realizar una actualización de los métodos de diagnóstico, revisando fuentes bibliográficas, para tomarse como referencia en el estudio de los síndromes mielodisplásicos, con la finalidad de informar al profesional del laboratorio clínico sobre la importancia de su atención y compromiso permanente durante el desarrollo de su trabajo cotidiano.

- Recolectar información sobre el diagnóstico de los SMD, con el fin de que sirva de apoyo para estudiantes y profesionales, y tener claro el cómo poder diagnosticar tempranamente estas entidades, y clasificarlas conforme a los resultados de dichas pruebas y en consecuencia que el médico proceda al mejor tratamiento.

INTRODUCCIÓN

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son un grupo heterogéneo de trastornos clonales caracterizados por una hematopoyesis ineficaz y descontrolada, una disfunción en las tres líneas celulares de la sangre y su destrucción rápida en plena circulación, además de progresar a una leucemia mieloide aguda (LMA) (Tkatchuk y Hirschmann, 2007). Otras características van desde una bicitopenia hasta una pancitopenia, así como una anemia que en su mayoría es normocrómica y normocítica. Esta anemia no presenta una deficiencia de vitamina B₁₂, ni de ácido fólico, y no hay una regeneración de células, es decir es una deficiencia de la respuesta de la médula ósea. En ella, se pueden encontrar una hiper celularidad y a las células sanguíneas con alteraciones morfológicas (lobulaciones anormales, citoplasma agranulado, y/o tamaño diferente al normal) (Turgeon, 2006).

Se reporta que este grupo de hematopatías, son de las enfermedades hematológicas clonales con más incidencia en el mundo, e incluso, es la enfermedad hematológica más frecuente en los adultos mayores de 60 años y su incidencia es de 24 a 30 personas por cada 100 000 de la población general. La aparición de estas enfermedades en pacientes pediátricos y en edades jóvenes es muy rara (Palomo, Pereira y Palma, 2009).

Se han reportado casos de SMD desde 1913, y se le llamaban anemias refractarias, debido a que no se encontraba una causa a la que se le atribuyera dichas enfermedades. Hoy en día a estas anemias se les llama así, debido a que no hay una mejoría del paciente con los tratamientos (Vélez, Rojas y Borrero, 2004). Fue en 1976, que la FAB (Grupo Cooperativo Franco – Americano-Británico), le llamó a estas entidades anemias refractarias con excesos de blastos y preleucemias (Jaime y Gómez, 2009). Con el paso del tiempo han tenido otros nombres, como por ejemplo leucemias oligoblásticas, hasta que en 1982 fueron denominadas como mielodisplasias (Hall y Malia, 1991).

La clasificación de este grupo de enfermedades se conforma por 6 entidades clínicas que son: anemia refractaria, anemia refractaria con sideroblastos anillados, anemia refractaria con exceso de blastos, anemia refractaria con exceso de blastos en transformación, leucemia mielomonocítica crónica, y síndromes asociados a la anormalidad del cromosoma 5q. También se han encontrado pacientes con SMD inclasificables (Shinton, 2008).

Estos padecimientos pueden considerarse como premalignos, en tanto que algunos de ellos evolucionan a leucemias agudas. Mientras más alteraciones cromosómicas y más blastos existan en la médula ósea, el riesgo de evolucionar a leucemia aguda es mayor; esto puede estar asociado a algún tratamiento quimioterapéutico o de radioterapia, ya que puede agravar la pancitopenia en sangre periférica y el pronóstico puede ser más grave (Ruiz, 2009).

El diagnóstico es de suma importancia, ya que con este podemos clasificar a la entidad y con ello dar un tratamiento efectivo al paciente. Son muchas las técnicas que se usan para identificar y clasificar a estas entidades, ya sean pruebas inmunológicas, citogenéticas, hematológicas y citoquímicas (Mckenzie, 2000). Sin embargo y pese a que hay mayores alternativas para estos pacientes, no hay un claro consenso para el pronóstico y la clasificación de estas entidades, y un ejemplo son los pacientes pediátricos, que aún no se tiene una incidencia clara, ni tampoco un diagnóstico oportuno (Rodak, 2004). Por ello es importante crear conciencia en médicos y profesionales del área clínica, para detectar, pronosticar y además tratar a tiempo a los pacientes con SMD.

CAPITULO 1. HISTORIA DE LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS.

1.1.ANTECEDENTES HISTÓRICOS.

A lo largo del tiempo, la falta de técnicas y de un marco teórico preciso ha provocado que no se puedan diferenciar éstas enfermedades de otras, ocasionando que no se diagnosticaran adecuadamente. Haciendo una revisión histórica en 1986, los patólogos D. Marcos Layton y Ghulam Mufti de Londres, especularon que el primer caso reportado se dio en 1900 por el patólogo e internista Wilhelm Olivier von Leube; este caso también se mencionó en otra revisión de la entonces llamada “leucemia eritroblástica” en 1940, y por otros varios autores entre las décadas de 1930 y 1940. El caso descrito por von Leube incluye ciertas características que podrían encajar dentro de los SMD, como la insuficiencia de la médula ósea, el conteo de glóbulos rojos era de sólo 250,000 / mm³, un nivel de hemoglobina <1 g / dl, la maduración celular megaloblastoide y la muerte causada por enfermedad febril. Pero también hay otras características que no concuerdan, como: la edad del paciente, pues tenía 10 años (que podría ser SMD infantil pero es muy raro), marcada esplenomegalia e ictericia sin presencia de hemólisis; el recuento de leucocitos y neutrófilos eran normales, la enfermedad fue rápidamente progresiva y la muerte sucedió a las pocas semanas de sufrir los síntomas. (Steensma, 2012). Se podría también considerar que pueda ser un caso de hipoplasia medular, ya que coincide con varios datos como el recuento bajo de eritrocitos y hemoglobina baja, aunque no se menciona la presencia de algún otro defecto congénito (como huesos cortos), o una hipocelularidad marcada. (Palomo, 2009)

En la década de 1920 se identificaron varias anemias como la talasemia, descubierta por el pediatra Thomas Cooley y la patóloga Perla Lee en Detroit, la anemia perniciosa, así como las anemias que respondían a tratamientos como hígado crudo (que contienen hierro y vitamina B12,); a pesar de esto hubo varios tipos de anemia que eran inexplicables en esa época; la mayoría no respondían a tratamientos como la levadura de cerveza (que contiene ácido fólico). (Steensma, 2012)

En 1926 en Nápoles, un médico de nombre Giovanni di Guglielmo describió a un grupo de pacientes con hallazgos en común a los que integró en una entidad clínica llamada eritremia

aguda. En 1938 el médico Cornelio Packard Rhoads y su colega William Halsey Barker estudiaron en Nueva York 100 casos de los que consideraban en aquella época como anemia refractaria; ambos investigadores destacaron la frecuencia de macrocitosis, trombocitopenia, leucopenia, fiebre, “una tendencia al desarrollo de lesiones necróticas de las mucosas”, y todos estos casos no respondían al tratamiento de hierro, de folatos, ni de vitamina B12 y se reportaban que eran adquiridas todas. Sin embargo, aunque no hubo respuesta a dichos tratamientos, se cree que al menos 40 casos eran anemias derivadas de enfermedades que no eran tratables en aquellos tiempos, como la enfermedad de Hodgkin, tuberculosis, cirrosis, leucemia aguda y tumores malignos. Entre los otros 60 casos que denominaron "anemia refractaria primaria", 3 tuvieron esclerosis ósea (probablemente lo que hoy llamaríamos mielofibrosis), 18 tenían médulas hipercelulares con células uniformemente inmaduras que probablemente era Leucemia Mieloide Aguda (LMA), 27 tenían médulas óseas que eran hipoplásicas "con una aplasia casi total" (anemia aplásica probablemente), y en los 12 casos restantes se observó "una médula activa con maduración normal". Curiosamente, Rhoads y Barker señalaron que el 45% de estos 60 casos "primarios" tuvieron una exposición previa a agentes tóxicos como los hidrocarburos.

Posteriormente en 1950 el norteamericano William Dameshek, en Boston, calificó de "Síndrome de Guglielmo" a esta serie de pacientes que estaban afectados por la eritroleucemia y otros trastornos mieloides clonales. (Steensma, 2012). El Síndrome de Guglielmo se consideraba como un desorden mieloproliferativo raro caracterizado por una hiperplasia eritroide maligna; se consideraban que tenían tres fases: la primera era una proliferación eritroide excesiva en la médula ósea; la segunda fase era la transformación a eritroleucemia, que envolvía a la línea eritroide y a los leucocitos; por último la tercera fase era la transformación a LMA. (Steensma, 2012)

Entre los años 1940 a 1950 se hizo clara una conexión entre la insuficiencia de la médula ósea y su progresión a leucemia por el hematólogo francés Paul Chevallier, en 1942, proponiendo el término de “odoleucosis” para describir a los síndromes con insuficiencia medular y progresión a leucemia, por eso utiliza el prefijo o –que significa camino- lo que indica una “progresión” o “camino a”.

En 1949, James L. Hamilton-Paterson, un patólogo en el Hospital del Condado de Edgware (norte de Londres), propuso el nombre de “anemia preleucémica” como una manifestación que antecede a la leucemia. Ese mismo año un médico joven llamado Sven-Erik Fredrik Björkman, de origen sueco, descubre cuatro pacientes con anemia sideroblástica idiopática adquirida (ASIA), una entidad que se caracteriza por tener depósitos de hierro alrededor del núcleo de los eritroblastos en forma anillada. El no considera el término de “anillo” en sus reportes, sin embargo en sus informes declara que “hay aproximadamente de 40 a 50 gránulos de hierro en la zona perinuclear de los eritroblastos”, observados en médula ósea.

En 1969, el norteamericano William Dameshek, sugirió que los SMD se clasificaran dentro de los trastornos mieloproliferativos en conjunto con la hemoglobinuria paroxística nocturna, debido al hallazgo común de hiperplasia eritroide y mieloide en todos los casos. Sin embargo, el hematólogo neoyorquino Harriet Gilbert señaló que en los casos de preleucemia se distinguía, por la falta de maduración de las células que era diferente de los trastornos mieloproliferativos, por lo que sugirió el término de “enfermedad mielodisplásica”. (Steensma, 2012)

En 1970, otro hematólogo parisino, Bernard Dreyfus, observó que los casos de preleucemia que habían sido diagnosticados con una médula ósea anormal eran más frecuentes a terminar en leucemia aguda, pero no progresaban más rápido que los pacientes que tenían una médula ósea normal.

En 1973, un grupo de investigadores de la Universidad de Cleveland señalaron que varios casos de preleucemia no progresaron a una LMA, por lo que el término de “mielodisplasia” se toma en cuenta; esa misma década se descubre la Leucemia Mielomonocítica Crónica (LMMC).

De 1974 a 1975 se reúne el grupo cooperativo Franco-Americano-Británico (FAB), que comienza a trabajar con una serie de reuniones, para revisar los casos de leucemia aguda y, refinar la nomenclatura y clasificaciones. Este grupo constaba de 7 científicos de varias universidades:

-John M. Bennett, originario de Boston que hizo su carrera en Rochester, Nueva York.

- Daniel Catovsky,originario de Buenos Aires que trabajaba en Londres.
- Marie-Thérèse Daniel de París.
- Georges Flandrin de París
- Harvey R. Galnick,quien pasó la mayor parte de su carrera en Bethesda, Maryland
- David AG Galton de Londres
- Claude S. Sultan de París.

En 1976 el FAB publicó dos variedades de SMD que se podían confundir con la LMA: la anemia refractaria con exceso de blastos (AREB) y la Leucemia Mielomonocítica Crónica (LMMC) y fue hasta 1982 que publicaron la clasificación de los SMD y también optó por usar el término de SMD (Steensma, 2009). Con el fin de tener una guía de pronóstico del riesgo de las diferentes enfermedades que estaban englobadas dentro de los SMD, el Índice Pronóstico Internacional (IPSS) sugirió un sistema de pronóstico del riesgo de los SMD.

Hasta el 2001 la OMS decidió revisar nuevamente la clasificación de la FAB quedando de la siguiente manera:

Tabla 1.1. Clasificación de los SMD según la OMS en el 2001 (Giralt, 2005)

Clasificación de los SMD de la OMS (2001)
Anemia Refractaria (unilineal)
Síndrome 5q-
Citopenia Refractaria con Displasia Multilineal (CRDM)
Anemia Refractaria con Sideroblastos Anillados
Citopenia Refractaria con Displasia Multilineal con sideroblastos anillados (CRDM-SA)
Anemia Refractaria con Exceso de Blastos tipo 1 (AREB-I)
Leucemia Mieloblástica Aguda (con displasia en medula ósea)
SMD no clasificables

En el 2008 la OMS hizo la revisión de esta clasificación, y modificó algunas entidades, quedando de la siguiente manera:

Tabla 1.2. Clasificación de los SMD según la OMS en el 2008. (Giralt, 2005)

Clasificación de los SMD de la OMS (2008)
Citopenia Refractaria con Displasia Unilinaje (CRDU) (Anemia refractaria (AR), Neutropenia refractaria (NR) y Trombocitopenia refractaria (TR))
Anemia Refractaria con Sideroblastos Anillados (ARSA)
Citopenia Refractaria Con Displasia Multilinaje (CDRM)
Anemia Refractaria con Exceso de Blastos (AREB I y AREB II)
SMD asociado con delección aislada 5q Del(5q)
SMD no clasificable

Personajes de la ciencia como Marie Curie y su hija Irene Curie pudieron haber padecido SMD debido a su exposición a materiales radiactivos; a Marie Curie se le diagnosticó “anemia aplásica perniciosa de rápido desarrollo, con fiebre”, lo que puede ser un indicio de un SMD. (Steensma, 2012)

CAPITULO 2. ETIOLOGÍA Y PATOGÉNESIS.

2.1. GENERALIDADES DE LA ETIOLOGÍA.

La etiología aún permanece elusiva en muchos pacientes, no obstante, el incremento de la incidencia de los SMD en gente adulta y anciana sugiere una exposición crónica a un ambiente arriesgado para la médula ósea, y por lo cual, hay un daño genético. Entre los factores de riesgo ambientales incluyen la exposición a algunos solventes orgánicos como el benceno, combustibles, químicos para la agricultura, radiación, el hábito de fumar, la ingesta de alcohol excesivo, infecciones, e inmunosupresores (Imagen 2.1)(Zhou, Orazi y Czader, 2011); la quimioterapia y la radiación para tratamiento en contra del cáncer están asociadas a los SMD-t, y también hay enfermedades congénitas como la Anemia de Fanconi que pueden incrementar el riesgo a sufrir este padecimiento. De aquí vienen una clasificación de acuerdo a la etiología con que se adquirió la enfermedad; se denominan SMD primarios o “*in novo*” a aquellos pacientes que no han sido expuestos a agentes tóxicos u otros factores de riesgo ambientales, y en ocasiones es idiopático el problema, mientras que los SMD secundarios son aquellos que se adquieren por la exposición a varios factores anteriormente mencionados (Sekeres, 2010). Algunos autores hacen hincapié en que los SMD secundarios y los SMD-t son diferentes, pues aunque tienen similitudes genéticas, hay diferencias morfológicas y los SMD-t son de un pronóstico más pobre (Strom, Gu y Gruschkus, 2005).



Imagen 2.1. Factores que provocan la displasia en células hematopoyéticas (Entre estas se encuentran el alcohol, insecticida, radiación, tabaco, solventes, quimioterapia, etc).

2.1.1. Drogas citotóxicas y radiación.

El uso extensivo de la quimioterapia y/o radioterapia tienen la función de favorecer la sobrevivencia en pacientes con cáncer, pero estos tratamientos también pueden inducir un SMD-t (Komrokji, Matacia-Murphy y Ali, 2009). Estos pacientes suelen ser más jóvenes que los pacientes con SMD “in novo”, además de que tienen citopenias más severas y su displasia en la médula ósea es más pronunciada, es decir, una celularidad reducida y la médula más fibrosa; también hay una alta incidencia en anomalías cariotípicas clonales, y tienen un curso clínico no muy favorable (Sekeres, Schoonen y Kantarjian, 2008). Por lo general todos estos pacientes recibieron tratamientos para linfoma de Hodgkin y linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple, cáncer de testículo, mama, próstata y de ovario.

Numerosos agentes quimioterapéuticos han sido asociados al riesgo de contraer SMD, especialmente los agentes alquilantes e inhibidores de la topoisomerasa de tipo II. Los pacientes con SMD-t que se tratan con agentes alquilantes tienen un periodo de latencia de 5 a 7 años, mientras que los que siguen un tratamiento con inhibidores de topoisomerasa II tiende a ser de 3 a 5 años. Para ambos agentes, tanto alquilantes como inhibidores, incrementan el riesgo a sufrir SMD-t aunado a las dosis acumulativas que se dan para tratar; los agentes alquilantes están más asociados a deleciones fuertes en los cromosomas 5 y/o 7, mientras que los inhibidores han sido vinculados con las translocaciones de 11q23. Los pacientes tratados con radioterapia para tratar varios cánceres como de próstata, de mama y de útero, así como linfoma de Hodgkin, y sarcoma de Ewing, tienen de dos a tres veces más riesgo de tener LMA asociada a terapia (LMA-t) (Smith, Bryant y DeCillis, 2003).

2.1.2. Solventes.

Los solventes son probablemente de la clase de químicos más reportados a menudo que se vinculan con SMD-t, y en este grupo está el benceno; éste es el cancerígeno de origen químico más importante y ha sido sujeto de diferentes estudios de incidencia. Muchos de los datos iniciales en factores asociados con SMD resultaron de inspecciones ocupacionales entre empleados expuestos al benceno y otros solventes similares (Schnatter, Glas, Irons y Rushton, 2012). Un estudio en Turquía de trabajadores de zapatos fue el primero en relacionar la exposición al benceno y condiciones de preleucemia; en un subsecuente análisis de alteraciones citogenéticas de linfocitos en sangre periférica, hace notar que estos

trabajadores que se exponían al benceno tienen más alteraciones cromosomas que las personas que no están expuestas al benceno (Miller, Fransman, et.al., 2010). En otro estudio que se hizo con empleados expuestos al benceno en China, se encontró que los que estaban más expuestos habían padecido más de un SMD. Las aberraciones cromosomales en linfocitos se encuentran por general 30 años después de haberse expuesto al benceno y las anomalías citogenéticas son similares a las que se encuentran en pacientes con SMD-t relacionados a agentes alquilantes. La asociación con la exposición a solventes incrementa con gran intensidad dependiendo de los años en que se estuvo expuesto, pues algunos estudios han reportado asociaciones entre pesticidas, herbicidas ó fertilizantes, y SMD.

2.1.3. Hábito de fumar.

La relación entre fumar y los SMD está bien establecida, considerando que fumar un cigarro representa una fuente grande de exposición al benceno, pues los fumadores pueden inhalar cantidades grandes de hasta 10 veces más de benceno en comparación de los que no fuman. Los cigarros cuentan con otros carcinógenos para los humanos como el etilbenceno, octano, isómeros de xileno, y plomo radioactivo (Tong, 2013), y estos relacionados con la intensidad y la duración del hábito de fumar en la persona, puede ocasionar un riesgo que puede perdurar por arriba de 15 años aún después de haber dejado de fumar. Aunado a esto, el efecto de unión de fumar y la exposición a varios solventes o productos de agricultura incrementan hasta 3 veces el riesgo; se ha encontrado que fumar puede causar aberraciones cromosómicas como las deleciones -5 y -7. (Bjork, Johansson, Brober y Albin, 2009).



Imagen 2.2. Sustancias nocivas del tabaco.

2.1.4. Radiación.

Los efectos cancerígenos de radiación iónica han sido demostrados en los estudios que se efectuaron a los sobrevivientes de las bombas atómicas y en otros estudios

epidemiológicos, resaltando los daños al tejido hematopoyético que dependen de la dosis total de la irradiación, del índice de la dosis y el tipo de radiación. Después de que la clasificación FAB fue introducida, el diagnóstico de la leucemia por exposición a la radiación fueron reclasificadas, en los que 20 de 190 casos de leucemia de los sobrevivientes de la bomba atómica y 7 de los 35 casos de leucemia debido a una radiación espinal fueron reclasificados a SMD. Estudios de un caso control han encontrado una débil asociación entre la exposición a la radiación y el riesgo de contraer SMD, pues se ha encontrado que la exposición a la radiación no ionizante (por ejemplo, la de campos magnéticos) no juego un rol significativo en el desarrollo de los SMD (Iganawa, 2011).

2.1.5. Tintes para cabello.

Los tintes para cabello parece no ser promotores en el desarrollo de SMD, pues muestran una débil o nula relación con esta enfermedad. De cualquier forma, hay un pequeño estudio en Japón que reporta una asociación significativa con el uso de tinte de cabello y un substancial incremento en el riesgo en mujeres. (Nagata et. al., 2002).

2.1.6. Consumo de etanol.

Muchos reportes han sugerido que el consumo del etanol está asociado a un incremento de riesgo de contraer leucemia en adultos, pero el rol del consumo de alcohol total en SMD estimado en solo unos cuantos estudios, con resultados conflictivos. Uno de los primeros estudios publicados no encontró asociación entre el consumo de alcohol total y el desarrollo de SMD (Du et.al., 2010); en cambio en otro reciente estudio muestra que el consumo moderado de vino fue asociada a un significativo decremento de 48 % de contraer SMD. Este efecto protector fue consistentemente presente en ambos sexos y en todos los subtipos de la clasificación FAB, y sugieren que el resveratrol, un antioxidante encontrado en la piel de las uvas rojas, pueden inhibir el ambiente para la progresión de diferentes canceres, entre ellos las leucemias (Tsan et.al, 2002).

2.1.7. SMD familiares.

Numéricamente estos casos representan un bajo porcentaje de todos los pacientes, y están asociados con una enfermedad heredada con predisposición a enfermedad mieloide. Hay enfermedades que tienen defectos del ADN como en la anemia de Fanconi y el síndrome de Bloom, y también hay defectos en los cromosomas como en el caso del síndrome de

Shwachman-Diamond y el síndrome de Down. Aun no se sabe cómo es el mecanismo que pasa de una enfermedad a otra, pero lo que si se ha podido comprobar es como la alteraciones de cromosomas, ADN, enzimas, entre otros, ayuda a la mielodisplasia celular (Mufti, 2004).

2.1.8. Anemia aplásica y Hemoglobinuria Paroxística Nocturna (HPN).

La evolución de la anemia aplasica y la HPN pueden tener un componente modulador inmunológico/genético que ayude a la evolución inicial de anemia aplasica a HPN y luego a SMD, de modo que el microambiente puede alterarse y provocar la apoptosis temprana de muchas células. Se sabe que en un 30 % de los casos con HPN ha evolucionado a anemia aplasica y un 5 % de estos casos evolucionan a SMD (Aul, Bowen y Yoshida, 2003).

2.2. PATOGÉNESIS.

La patogénesis de los SMD abarca anomalías citogenéticas en las células de la médula ósea y un microambiente anormal de la médula ósea que permiten una predominante mielodisplasia clonal que puede ser estable (Fenaux, 2004). Además se cree que un sistema inmune deficiente puede ser clave para el desarrollo de los SMD, considerando que este está relacionado con la apoptosis incrementada.

2.2.1. Apoptosis y ataque inmune.

Una paradoja de los SMD es que se pueden producir citopenias en sangre periférica en pacientes con médula ósea normocelular o hiper celular, debido a la hematopoyesis inefectiva, que se atribuye en parte a una interacción compleja entre células progenitoras y el microambiente que da como resultado en una prematura apoptosis de los precursores de las células sanguíneas y su descendencia. La apoptosis ha sido documentada en más del 75 % de muestras de estas células y se demuestran en todas las células hematopoyéticas en sus diferentes etapas de maduración, desde blastos hasta células maduras terminales y en todas las tres líneas (mieloide, eritroide y megacariocítica). La importancia clínica de la apoptosis anormal en SMD es que se han encontrado pacientes con una alta actividad apoptótica en médula ósea que tiene una pobre respuesta a los tratamientos. La apoptosis incrementada también parece ser una característica biológica que distingue a los SMD de la LMA

(Platzbecker, Meredith y Ehninger, 2007).

Mientras tanto, los mecanismos inmunes juega un rol en la hematopoyesis ineficaz asociada con un estado preleucémico en SMD, pues ha sido demostrado que algunos pacientes tratados con inmunoglobulinas antitimocitos han presentado una mejoría favorable; ésto ha sugerido que las fallas de la médula ósea pueden ser consecuencia de una mielosupresión autoinmune mediada por linfocitos T. Una posible asociación entre enfermedades autoinmunes, como la vasculitis, artritis seronegativa, etc., y los SMD, además de una documentación de anormalidades en células B en ciertos pacientes con LMMC, ha aportado información sobre el estado del sistema inmune de la médula ósea en SMD. (Amin, Jilany y Estey, 2003).

El incremento de la apoptosis, es una de las señales tempranas para diagnosticar SMD, que además envuelve a las células troncales CD34⁺. En sí, aunque los linfocitos precursores tienen problemas clonales en los SMD, se ha reportado que hay una apoptosis incrementada para precursores de linfocitos B pero no T (Stemberg y Littlewood, 2005). Una reducción de precursores de células B puede ser un marcador importante en el diagnóstico de SMD en una edad temprana; en general, la apoptosis varía dependiendo de la categoría citogenética, sin embargo, la apoptosis se ve disminuida en los pacientes con AREB (Fenaux 2004).

Hay varios mecanismos asociados con el incremento de la apoptosis, que deben explicar la “hematopoyesis ineficaz” y demostrar la hiperplasia de la médula ósea con citopenia periférica. Una explicación puede ser la alta regulación de los receptores de la muerte FAS ligando (CD95), con FAS y TRAIL, pues la hipersensibilidad de las células medulares de los SMD hacia TRAIL puede ser una nueva explicación para los reducidos niveles de antígeno de diferenciación nuclear mieloide en SMD de bajo riesgo. TRAIL por sí misma es capaz de inhibir la diferenciación eritropoyética, pero lo curioso es, que la apoptosis puede ser modulada por interferencia por algunos factores como FADD y FLIP, que después empiezan a expresarse en células con SMD. El TNF- α sobrerregula a FAS en las células con CD34, ya que, los elevados niveles de TNF- α , presumiblemente derivados de monocitos y macrófagos, ha sido detectado en médula ósea y suero con SMD, y estos niveles de TNF- α son inversamente correlacionados con la concentración de hemoglobina. El TNF- α puede interferir con la señalización de la EPO, aunque ésta no puede ser útil en pacientes con altos niveles de TNF- α . Esta trabaja para la inducción de la fosforilación de

la MAPK, pues una alta expresión de TNF- α es encontrado en la médula ósea con SMD y esta correlacionada con la apoptosis. La inhibición selectiva de TNF- α parece revertir el fenotipo de los SMD por la disminución de la apoptosis y estimula el crecimiento celular.

Una disminución de la concentración de las integrinas VLA-4 y VLA-5 en células troncales progenitoras fue identificada como otro mecanismo apoptótico en SMD, implicando adhesión celular anormal sin el microambiente estromal. Las mitocondrias, que son críticas en uno de las principales vías apoptóticas, muestra a menudo anormalidades en los SMD, incluyendo la acumulación de hierro en eritroblastos, sugiriendo que la disfunción mitocondrial puede contribuir al desarrollo de SMD; las mutaciones del ADN mitocondrial pueden ser detectadas en aproximadamente 50% de los pacientes con SMD, y puede ser la causa principal de la disfunción de la cadena respiratoria. (Platzbecker, Meredith, y Ehninger, 2005).

Estudios previos han mostrado que las células T autólogas pueden mediar efectos inhibidores en colonias de células en crecimiento *in vitro* de pacientes con SMD. Esto nos puede decir que las fallas medulares son resultado de un ataque inmune hacia células progenitoras hematopoyéticas y células diferenciadas. Entre las células que pueden atacar a células hematopoyéticas están las células dendríticas y linfocitos T, pues se han observado la producción de interferón γ de forma descontrolada que puede ser controlada por la ciclosporina A *in vitro*, y estas observaciones han tenido aplicaciones de terapia inmunosupresoras en SMD (Nishino y Chang, 2005).

2.2.2. Citogenética de los SMD.

Cada vez más se han encontrado anormalidades citogenéticas relacionadas a este tipo de enfermedades, que pueden afectar en las funciones de ciertos genes que codifican para algunas características de las células sanguíneas. Varios estudios moleculares han encontrado muchas anormalidades cromosómicas recurrentes como deleciones, regiones pérdidas o adicionadas a algún cromosoma (Nimer,2005).

2.2.2.1. Anormalidades del cromosoma 5.

La anormalidad más común es la deleción del cromosoma 5 (del (-5)), e incluso, ya es una entidad aparte en la clasificación de la OMS. Tres tipos de deleciones han sido encontradas: del(5)(q12-13q31-33), del(5)(q12q23) y del(5)(q23q32), que estan relacionadas con el

brazo largo del cromosoma 5; éste ha sido de particular interés porque codifica muchos productos hematopoyéticos como factores de crecimiento y sus receptores. Entre los más importantes están las interleucinas IL-4, IL-5, IL-9, IL-3, el factor regulador del interferón-1 (IRF₁), el factor estimulador de colonias granulocítica- monocítica, etc. Una región crítica es la pérdida de 5q31, que se ha presentado en más del 90 % de los pacientes con deleciones y es probable que ahí se encuentre un regulador negativo clave para el desarrollo de los leucocitos (Boultonwood, 2010).

2.2.2.2. Anormalidades del cromosoma 7.

La monosomía 7 es un hallazgo frecuente en los pacientes con SMD, y por lo general, tienen una enfermedad muy agresiva con corto tiempo de vida. La deleción 7 o del(7q) es la más encontrada y frecuentemente está asociada a otra anomalía cromosómica como del(5q). Entre los genes que se encuentran en el cromosoma 7q está el receptor β de las células T (TCR- β), la eritropoyetina (EPO), e incluso se puede encontrar un gen supresor de tumores (Cheng y Sangberg, 2002).

2.2.2.3. Anormalidades del cromosoma 3.

Hay cinco anormalidades en el cromosoma 3 que pueden ser consideradas como causantes de SMD que son del(3p), inv(3)(q21q26), t(3;3)(q21;q26), t(3;12)(q26;p13), t(3;5)(q25;q34) y suelen estar acompañadas de otras anomalías que tienen un pronóstico pobre.

2.2.2.4. Anormalidades del cromosoma 11.

Estas anormalidades son las más frecuentes en las malignidades mieloides y la región más frecuente a sufrir un daño es la 11q23, una importante región porque al sufrir una aberración puede contener el gen MLL (mixed-lineage leukemia) que potencia al riesgo de sufrir leucemia.

2.2.2.5. Otras deleciones.

a) Del (20q).

Esta puede ocurrir sola o acompañada de otra anomalía, y las deleciones más comunes son la 20q11 y la 20q 13; se reporta con un pronóstico pobre.

b) Del (12) (p13).

Las deleciones o translocaciones envueltas en la región 12p13 pueden afectar al gen TEL, un regulador de la transcripción negativo y es también un gen supresor de tumores, favoreciendo así el desarrollo de los SMD. También se ha encontrado en este cromosoma al gen KIP1 que codifica la proteína p27, un inhibidor de la proliferación celular, y su ausencia puede contribuir a la progresión del cáncer.

c) Pérdida de 17p.

Estas abarcan el 4 % de los pacientes con SMD e incluyen simples deleciones, translocaciones no balanceadas, como Del (17p) es la más frecuente y es muy agresiva clínicamente hablando. En esta región se encuentra P53 que es un supresor de genes activando la apoptosis en caso de que el ADN este dañado.

d) Trisomía 8.

La trisomía 8 es una anomalía que ocurre en forma solitaria y aún no se ha establecido su factor de riesgo, aunque algunos investigadores la clasifican en un riesgo medio.

e) Perdida de Y.

Ocurre en aproximadamente el 10 % de los casos de SMD, y se presenta en ancianos sanos de 7 a 8 % de estos. El significado clínico y biológico aún no está bien establecido, pero normalmente tienen un buen pronóstico.

2.2.3. Daños epigenéticos.

Los mecanismos epigenéticos son de fundamental importancia para la modulación de procesos biológicos críticos, como la embriogénesis, proliferación y diferenciación celular; hay que agregar que son esenciales para capacidad de las células troncales de formar tejidos complejos y organizarlos, manteniendo la población de estas mismas. Las modificaciones epigenéticas incluyen la metilación e hidroximetilación de las bases de citosina del DNA, y cambios de estructurales en la cromatina por metilación, acetilación, fosforilación, entre otras (Jones y Baylin, 2007).

2.2.3.1. Metilación aberrante del ADN.

El estado de metilación del ADN está controlado por una familia de metiltransferasas de ADN (DNMTs); DNMT3a y DNMT3b generalmente llevan a cabo la metilación *in novo* (Imagen 2.3), y DNMT1 mantiene el estado de metilación durante la división celular. Cabe señalar que recientemente se descubrió el DNMT3a y tiene un rol muy importante en la diferenciación de las células troncales hematopoyéticas (Walter, Ding y Shen, 2011).

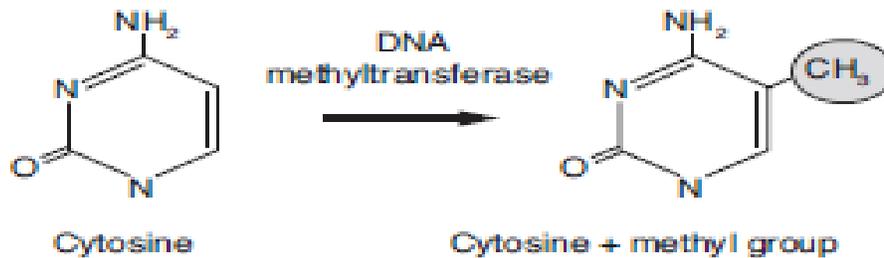


Imagen 2.3. Metilación del ADN (Metilación de la base citosina).

Una de las consecuencias principales de la hipermetilación es la inactivación de los inhibidores de la ciclina dependientes de la cinasa p15 (INK4B) y p16 (INK4A), que son reguladores del ciclo celular negativos, por lo que la pérdida de alguno de éstos puede causar una progresión del ciclo celular inapropiada (Tabla 2.1). La metilación es una de las vías por la que estos genes pueden ser inactivados, y entre estos genes está el gen p15, hipermetilandose en el caso de los SMD; la presencia de la hipermetilación en pacientes con SMD da un pronóstico de alto riesgo, y su progreso a LMA es alto. (Hirai, 2003)

Tabla No. 4.1: Ejemplos de los genes hipermetilados mas importantes en SMD (Santini y Meldick, 2013)

Gen	Función Normal	Frecuencia aprox. en pacientes con SMD/LMA (%)	Consecuencias de la hipermetilación.
p15^{ink4b}	Regulador del ciclo celular.(Inhibidor de la fase G1)	38	Sobrevivencia corta.
Inhibidores de Wnt	Regulación del ciclo celular por Wnt.	62	Proliferación de leucocitos.
Calcitonina	Metabolismo del calcio y fosforo.	65-92	Puede predecir la progresión a LMA.
DAPK-1	Apoptosis.	63	No tiene efecto en el pronóstico hasta la fecha.
Cadherina-E(CDH1)	Adhesión celular.	27	Sobrevivencia corta.
SOCS-1	Supresor de tumores.	47	Riesgo incrementado de progresión a LMA.
PI-PLCβ1	Control de crecimiento y diferenciación celular.	44	Riesgo incrementado de progresión a LMA.
HIC-1	Supresor de tumores.	32	Sobrevivencia corta.
ER	Receptor de hormonas.	19	Sobrevivencia corta.
RIZ1	Regulación del ciclo celular.	31-50	Incierto.

2.2.3.2: *Modificación de las histonas.*

Los nucleosomas son proteínas complejas que abarcan 8 subunidades de histonas (2 de cada una de las siguientes: H2A, H2B, H3 y H4), que se enrollan alrededor del ADN. Una modificación covalente de histonas es importante para la regulación de la dinámica de la cromatina y puede influenciar la actividad asociada al ADN. Las modificaciones a las histonas, que incluyen metilación, fosforilación, ubiquitinación, acetilación, entre otras, regulan la expresión de los genes por la condensación o relajación de la estructura de la cromatina, que pueden reprimir o activar la transcripción respectivamente. Proteínas complejas como la PcG regulan la estructura cromática; en cambio hay otras proteínas importantes que juegan un papel importante en muchos procesos celulares como diferenciación, proliferación, etc. (Santini y Meldick, 2013).

2.2.4. Mutaciones puntuales en SMD.

2.2.4.1. *Mutación en gen RAS.*

RAS es un señalizador importante para la proliferación de las células y es activada por el receptor tirosin-cinasa estimulado por algunas proteínas que sirven como ligando extracelulares. RAS está localizado por debajo del receptor de tirosin-cinasa y por arriba de una cascada de cinasas del citoplasma incluyendo a las MAPKs (Cinasa de proteína activada por mitógeno); las proteínas RAS están unidas a GDP y tienen la propiedad de hidrolizarla a GTP. RAS/GDP es una forma inactiva y es convertida a una forma activa RAS/GTP por un factor de intercambio de guanina (GEP); RAS/GTP va a activar a varias cinasas hasta activar a MAPK (Imagen 2.4). Cuando activa MAPK se activa la proteína activadora de GTPasa, que controla la vía de señalización hidrolizando el GTP a GDP y deja a RAS/GDP inactivo (Murphy, Travers y Walport, 2008). En las células hematopoyéticas, la vía de señalización RAS esta mediada por citosinas para varios tipos de células que contiene receptores para eritropoyetina, trombopoyetina, interleucinas, factores estimuladores de colonias, entre otros, por lo cual si se estimula de manera excesiva esta vía va a descontrolar varios procesos hematopoyéticos como la maduración de dichas células (Hirai, 2003).

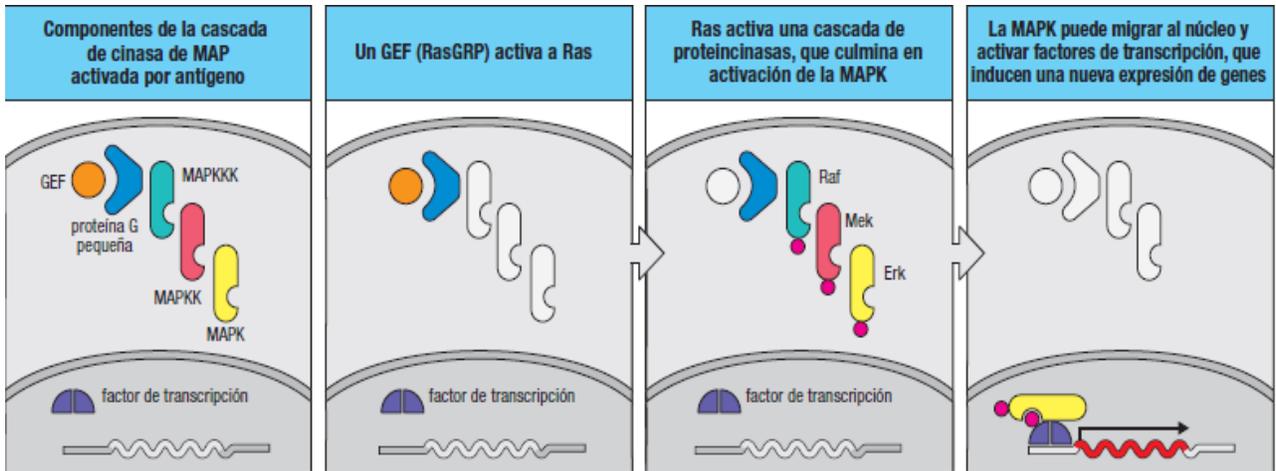


Imagen 2.4. Señalización por la vía de Ras.

2.2.4.2. Mutaciones en P53.

Las mutaciones de los checkpoints críticos del ciclo celular P53 son una de las anomalías genéticas más comunes en SMD, en varios tipos de cáncer, etc. La función de p53 es particularmente importante en la respuesta a un estrés genotóxico, pues al verse el ADN dañado va a inducir la apoptosis de la célula, y por lo tanto, la destrucción del ADN dañado (Fridman y Lowe, 2003)(Imagen 2.5). En SMD ocurren en aproximadamente 15 % de los pacientes, pero esta frecuencia puede ser más alta con exposición a agentes alquilantes o radiación (BejaryEbert,2010).

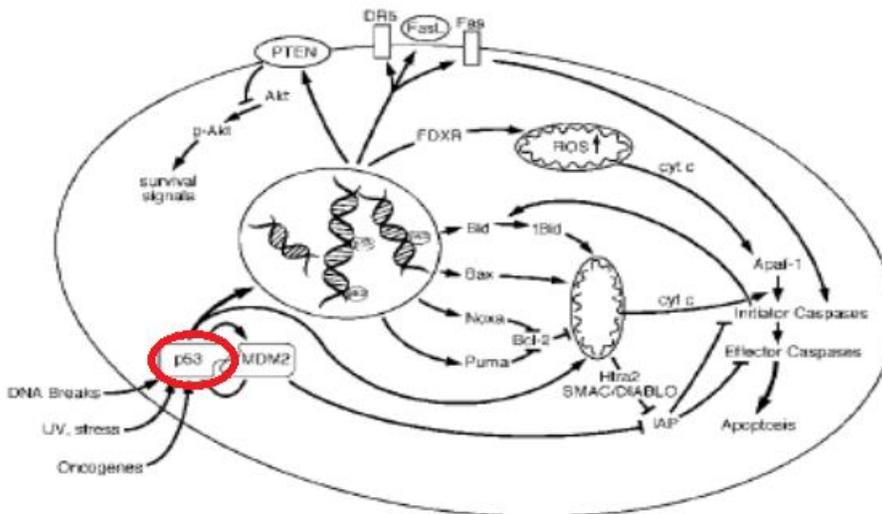


Imagen 2.5. Apoptosis por p53.

2.2.4.3. Mutaciones por JAK2.

La familia JAK está asociada a las cadenas de señalización de la familia hemopoyetina de receptores de citosina; este grupo consta de 4 miembros, Jak1, Jak2, Jak3 y Tyk2. Esta vía de señalización se activa a través de la dimerización de varias moléculas que funcionan como cadenas que fosforila a Jak de modo cruzado, lo que estimula su actividad de cinasa. A continuación Jak fosforila a sus receptores asociados sobre residuos de tirosina específicos para generar sitios de unión para proteínas con dominios SH2. Algunos de los sitios fosforilados en residuos de tirosina reclutan factores de transcripción latentes que contienen SH2 conocidos como transductores de señales y activadores de la transcripción (STAT)(Imagen 2.6) (Murphy, Travers y Walport, 2008). Con este tipo de señalización, algunas células regulan su producción de citosinas y de otros inmunomoduladores, que al aumentar su producción de forma elevada va a aumentar procesos como la apoptosis(Look, 2005).

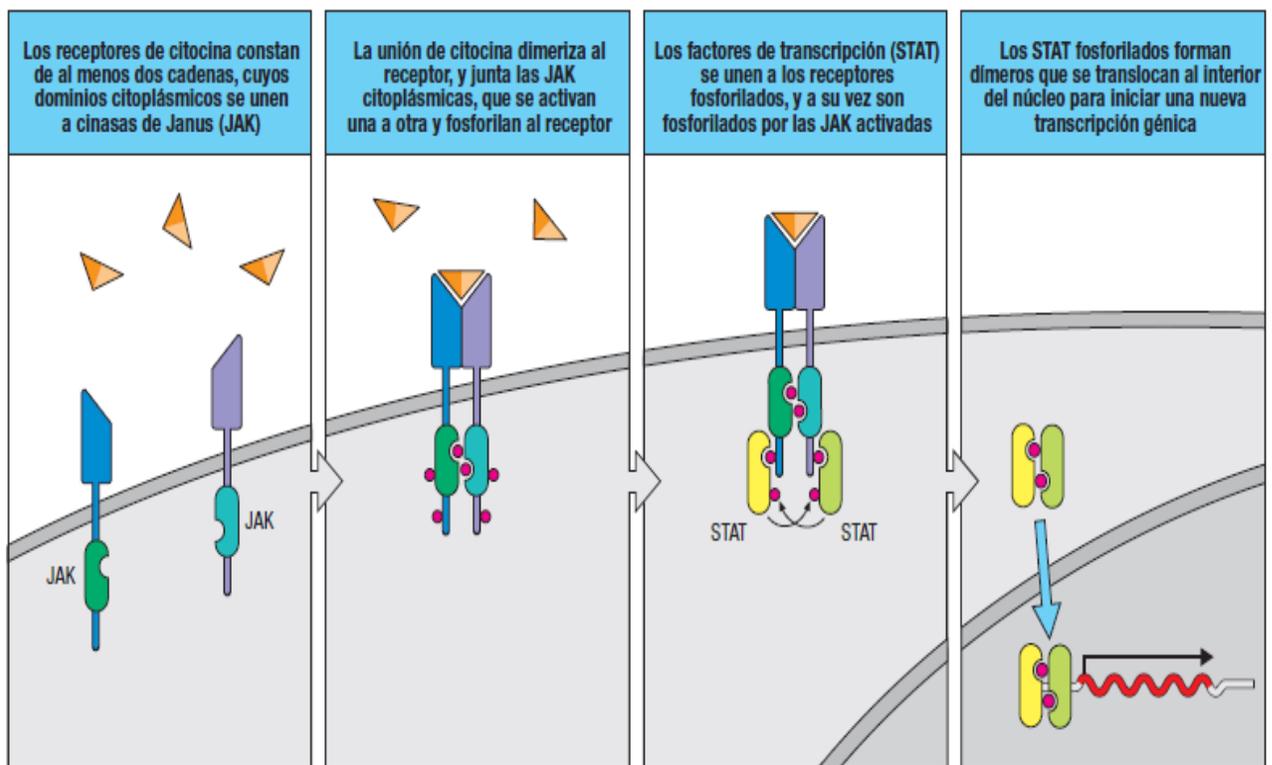


Imagen 2.6. Vía de señalización por medio de Jak.

2.2.4.4. Mutaciones en el gen AML1 o RUNX1.

Este gen codifica para un factor de transcripción heterodimérico que contiene el dominio Runt; se le ha relacionado con el SMD-t pues se han encontrado con pacientes de un pronóstico pobre y también se sabe que es un buen regulador de la hematopoyesis. La

mutación de AML1 puede desarrollar el desorden familiar de plaquetas con predisposición a LMA (Bejar y Ebert, 2010).

2.2.4.5. *Mutaciones en genes HOX.*

Los Homeobox son genes que pueden ser encontrados en varias especies, desde levaduras hasta humanos. De estos la clase 1 son denominados HOX y controlan varios procesos como la morfogénesis en edades tempranas del embrión; un ejemplo de esta regulación son la formación de varios órganos vitales para el humano. Dentro de este rol en el que participan estos genes se encuentra el control de la hematopoyesis, y entre los que destacan están HOXA9, HOXA7 y HOXA10. Hay evidencias de que los genes HOX pueden ser activados como oncogenes potenciales y esto puede ser a la translocación del cromosoma 7 (Look, 2005).

2.2.4.6. *Mutación en CBL.*

CBL codifica una ligasa de ubiquitina E3 y cuenta con un dominio de unión a tirosin-cinasa que regula de forma negativa la actividad de tirosin-cinasa ubiquitinandola para su posterior degradación. La mutaciones de este gen se puede expresar como perdida de su función e incluso funcionando como un oncogén, ocasionando la proliferación incontrolada y vida corta de las células hematopoyéticas; se han encontrado mutaciones de este gen en varios pacientes con LMMC y AREB (Loh, Sakai y Flotho, 2009).

2.2.4.7. *Mutación en ASXL1.*

El gen ASXL1 está localizado en el cromosoma 20q11, relacionándose con el Del (20) y codifica para una proteína de unión a la cromatina que funciona como un coactivador del receptor del ácido retinoico; que regula la metilación o acetilación de histonas, sin embargo en los SMD no se conoce el mecanismo de acción por el que actúan en las células hematopoyéticas. Estas mutaciones son encontradas en cerca del 11 % de pacientes con SMD y entre 40 al 50 % de pacientes con LMMC (Bejar y Ebert, 2010).

2.2.4.8. *Mutación en TET2.*

Estas mutaciones ocurren entre el 22 al 42 % de los pacientes con LMMC y del 10-26 % de pacientes con SMD. La enzima TET2 está implicada en la metilación del ADN en los residuos de citosina convirtiendo la metilcitosina a hidroximetilcitosina, y se ha sugerido

que esta conversión puede ayudar a la diferenciación celular hematopoyética (Delhommeau, Dupont, Valle, et.al, 2009).

2.2.5. Microambiente.

Hay todavía una incertidumbre con respecto al probable desequilibrio en la relación del microambiente y la interacción con los precursores hematopoyéticos en los SMD. Se ha estudiado muy poco sobre como las células hematopoyéticas y no hematopoyéticas interactúan entre ellas; algunos investigadores aseguran que pueden causar daños entre si llevándolas a tener aberraciones de tipo citogenético. En un estudio se demuestra que aunque las células progenitoras CD34⁺ de pacientes con SMD expresan concentraciones normales de CXCR4 hay una disminución importante en la respuesta de SDF-1 *in vitro*. SDF-1 es el factor derivado de las células troncales tipo 1 y CXCR4 es su receptor y esta elevado en médulas con SMD y esta positivamente correlacionado con la apoptosis por lo cual podría estar implicado con esta enfermedad (Platzbecker, Meredyth y Ehninger, 2007).

2.2.6. Angiogénesis.

La angiogénesis es fundamental en la patofisiología de los tumores sólidos; uno de los muchos mediadores para la proliferación y sobrevivencia de las células endoteliales es el factor de crecimiento del endotelio vascular tipo A (VEGF-A), un miembro de la familia VEGF, que promueven el crecimiento del tumor y la metástasis. El efecto de esta familia de factores esta mediado principalmente por tres receptores tirosin-cinasa (RTKs): VEGFR/Flt-1, VEGFR/KDR/Flk-1 y VEGFR-3/Flt-4. VEGFR-2 es importante para la transmisión de señales importantes en la proliferación y diferenciación de células endoteliales. En pacientes con SMD se muestra un incremento en la densidad de los capilares de la médula ósea y en la expresión de VEGF-A, que están correlacionados con el incremento de porcentaje de blastos en médula y adicionalmente, VEGFR-1 y VEGFR-2 están más altamente expresados por precursores mielomonocíticos, sobre todo en pacientes con LMMC. *In vitro* la neutralización de VEGF-A puede suprimir la capacidad formadora de colonias de leucemia en SMD y LMA (Estey, 2004).

CAPITULO 3: CLASIFICACIÓN Y PRONÓSTICO DE LOS SINDROMES MIELODISPLASICOS

3.1. CLASIFICACIONES.

Las clasificaciones y taxonomías son por naturaleza construcciones mentales impuestas sobre una realidad mucha veces compleja y ambigua. A pesar de esto, clasificar las enfermedades es de suma importancia ya que nos permite estandarizar nomenclaturas, facilitar la comunicación entre los especialistas e investigadores, con el fin de mejorar el diagnóstico y tratamiento para el paciente. (Pintos y Cabrejo, 2010)

Para el caso de los SMD han surgido dos clasificaciones importantes: la del grupo Franco-Americano- Británico (FAB) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

3.1.1. Clasificación FAB.

Inicialmente la FAB reconoció a dos sub-entidades que estaban agrupados en los SMD, la Anemia Refractaria con Exceso de Blastos (AREB) y la Leucemia Mielomonocítica Crónica (LMMC); poco después con el estudio de un grupo de pacientes heterogéneo con SMD, fueron incluidas tres sub-entidades: Anemia Refractaria (AR), Anemia Refractaria con Sideroblastos Anillados(ARSA) y la Anemia Refractaria con Exceso de Blastos Transformada (AREB-T).

El sistema FAB está basado en el porcentaje de blastos y, en la morfología displásica en sangre y médula ósea. Acordes a este sistema, los pacientes son diagnosticados con SMD cuando hay una hematopoyesis displásica en médula ósea y si hay un porcentaje de blastos de entre 5-30 % en las células de médula ósea (Tabla 3.1) (Muffin, 2008)

Tabla 3.1. Clasificación de los Síndromes Mielodisplásicos según la FAB. (Komrokji, 2008)

Clasificación FAB		
Síndrome Mielodisplásico	Sangre Periférica	Médula Ósea
Anemia Refractaria	Citopenia(s) < 1 % blastos < 1 x 10 ⁹ monocitos/ µL	Displasia < 5 % blastos < 15 % sideroblastos anillados
ARSA	Citopenia(s) < 1 % blastos < 1 x 10 ⁹ monocitos/ µL	Displasia < 5 % blastos > 15 % sideroblastos anillados
AREB	Citopenia(s) < 1 % blastos	Displasia 5-20 % blastos
AREB-t	Citopenia(s) > o = a 5 % blastos	Displasia 21-30 % de blastos Presencia de bastones de Auer
LMMC	< 5 % blastos > 1 x 10 ⁹ monocitos/ µL	Displasia 0-20 %

Sin embargo, algunos científicos y médicos especialistas no estaban conformes con esta clasificación, y pusieron varios puntos en discusión:

1) Acorde con el criterio de la FAB, la AR y ARSA tienen en particular la presencia de diseritropoyesis y menos de 5 % de blastos en médula ósea, además la morfología megacariocítica y granulocítica son “casi siempre normales”. Pero algunos pacientes con SMD que tienen menos del 5 % de blastos tienen displasia multilineaje y no solo son difíciles de clasificar sino también tienen una sobrevivencia menor a los que tienen solo diseritropoyesis.

2) El porcentaje de blastos en médula ósea fueron mostrados como un factor pronóstico importante en varios estudios, en la AREB el rango de blastos es de 5-20 % según la FAB,

la cual algunos especialistas consideraban como muy grande el intervalo para definir un pronóstico sobre un subgrupo.

3) Algunos estudios encontraron que la media estadística de supervivencia de pacientes con AREB-T fue similar a comparación de la LMA. Estos descubrimientos sugirieron que la AREB-T debía de ser reclasificada como una LMA y no como un SMD. (Lorand, Ribeiro y Pinheiro, 2004)

4) Aunque los SMD relacionados con alguna terapia (SMD-t) y los SMD de novo tienen muchos rasgos citomorfológicos y citogenéticos, difieren a menudo en la incidencia de anomalías citogenéticas, en la supervivencia global, y en el pronóstico de los subtipos de la FAB, llevando a muchos especialistas a considerar que el SMD-t debían de ser separados categóricamente.

5) La LMMC es clínicamente y morfológicamente heterogénea. Algunos pacientes con esta enfermedad han tenido rasgos predominantes de mieloproliferación, con una marcada leucocitosis y esplenomegalia pero con una mínima displasia hematopoyética, mientras que otras solo tienen una modesta leucocitosis, sin esplenomegalia y una marcada displasia (rasgos más acordes a un SMD). De esta manera, esto fue causa de debate ya que se consideró que formara parte de un neoplasma mieloproliferativo.

6) En vista de que el diagnóstico citogenético tomaba más fuerza en el ámbito de la medicina, algunos especialistas sugirieron que se incorporara como un algoritmo diagnóstico para los SMD.

7) La mayor duda por algunos clínicos y patólogos era ¿cómo se podría llegar a un diagnóstico para los pacientes que tenían resultados clínicos y de laboratorios sugestivos para un SMD pero con características morfológicas inconclusas? ¿Cuál era el criterio mínimo de diagnóstico? (Vardiman, 2012)

3.1.2. Clasificación de la OMS

A pesar de que el sistema de clasificación del grupo FAB, fue usado por casi dos décadas, muchos científicos no estuvieron de acuerdo con éste sistema y pensaron que había muchas limitaciones. Por eso la OMS en 1997 se tomó la tarea de revisar y actualizar las clasificaciones de las malignidades hematológicas entre las que están los SMD y las

LMA_(Komrokji y Bennet, 2008). Los médicos y científicos estuvieron de acuerdo en varios puntos que cambiaron el sistema de la FAB:

1) Reconocen la importancia de la displasia multilineaje en enfermedad de bajo riesgo (< 5 % de blastos) con 2 nuevas categorías: la Citopenia Refractaria con Displasia Multilineaje (CRDM) y la Citopenia Refractaria con Displasia Multilineaje con Sideroblastos Anillados (CRDM- SA). Las categorías AR y ARSA son restringidas en la displasia eritroide con < 10 % de displasia en las líneas mieloide y megacariocítica.

2) Se crea el grupo AREB que están incluidos los subtipos AREB tipo 1, con un intervalo de mieloblastos de 5-9 %, y el AREB tipo 2 con rango de 10-19 %. Se define que entre más alto es el porcentaje de mieloblastos más alto es el riesgo de esta enfermedad. La presencia de bastones de Auer con < 20 % de blastos no tienen algún significado adicional.

3) El umbral máximo de mieloblastos para diagnosticar LMA cambia de 30 % a 20 %, por lo tanto AREB-t es omitida. Este cambio fue basado en las observaciones de pacientes con AREB-t que tenían resultados similares a otros pacientes con LMA, sin embargo, reconocen anomalías citogenéticas como t (8; 21), t (15; 17) e inversión de cromosoma 16 en leucemia, aun cuando hay menos de 20 % de blastos en médula ósea.

4) Reconocen la importancia del diagnóstico citogenético con la adición del Síndrome de deleción del cromosoma 5q (del [5q]) como un grupo por separado.

5) La LMMC es clasificada a una nueva categoría: Desordenes mielodisplásicos/ mieloproliferativos (SMD/ SMP), resultado de que el comportamiento clínico de la LMMC está más inclinado a un Síndrome Mieloproliferativo (SMP).

6) Añaden otra nueva categoría llamada SMD inclasificables (SMD-I) para incluir a los pacientes (que son menos comunes) con displasia neutrofílica y/o megacariocítica pero sin displasia eritroide.

7) Los SMD-t quedan fuera del grupo de los SMD in novo, ya que los pacientes con esta enfermedad tienen un pronóstico más pobre y anomalías genéticas más recurrentes._(Swerdlow, 2008)

Tabla No. 3.2. Clasificación de los Síndromes Mielodisplásicos según la OMS. (Komrokji y Bennet, 2008)

Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS)		
Síndrome Mielodisplásico	Sangre Periférica	Médula Ósea
Citopenia Refractaria con Displasia Unilínea. (CRDU)	Unicitopenia Blastos < 1 %	Displasia unilínea: en > 10 % de las células de una línea mieloide. Blastos: < 5 % Sideroblastos < 15 %
Anemia Refractaria con Sideroblastos Anillados (ARSA)	Anemia No blastos	Diseritropoyesis. Blastos: < 5 %. Sideroblastos > o = 15 %
Citopenia Refractaria con Displasia Multilínea (CRDM)	Citopenia(s) Blastos: < 1 % Monocitos: < 1 x 10 ⁹	Displasia en >10 % de las células en > 2 líneas mieloides Blastos: < 5 % Sideroblastos en anillo +/- 15 %
Anemia Refractaria con Exceso de Blastos tipo1(AREB-1)	Citopenias Blastos: < 5- 19 %	Displasia en una o más líneas. Blastos: 10-19 %
Anemia Refractaria con Excesos de Blastos Tipo 2 (AREB-2)	Citopenias Blastos: < 1 % Con o sin bastones de Auer	Displasia en una sola línea Blastos: 10-19 % Con o sin bastones de Auer
Síndrome 5q-	Anemia Plaquetas: normales o aumentadas Blastos: < 5 %.	5q- (única anomalía) Megacariocitos con núcleo hipolobulado Blastos: < 5 %
Síndromes Mielodisplásicos Inclasificables.(SMD-I)	Citopenias Blastos: < 1 %	Displasia en una sola línea Blastos < 5 %

3.1.3.1. Citopenia Refractaria con Displasia Unilinaje (CRDU).

Los SMD son clasificados como CRDU cuando hay casos con citopenias o bicitopenias aisladas acompañadas de una displasia unilinaje. Este subgrupo incluye a la anemia refractaria (AR) y los casos raros de neutropenia refractaria (NR) y trombocitopenia refractaria (TR), estas en conjunto forman del 10 al 20 % de los diagnósticos de SMD. Los pacientes con pancitopenia y displasia morfológica en una sola línea celular deben ser considerados como SMD-I. En general, las CRDU tienen un curso prolongado y el índice de progresión a LMA es de menos del 5 % en 5 años.

Hay más casos de pacientes que presentan AR, con anemia ya sea normocrómica/normocítica o macrocítica, y los eritrocitos muestran poiquilocitosis y anisocromia; los blastos representan menos del 1 % del conteo de células en sangre periférica y representan menos del 5 % en médula ósea, y los sideroblastos no son prominentes. En la médula ósea puede ser hipercelular (por la displasia eritroide) o normocelular (Goasguen, 2003).

Los diagnósticos de NR y TR son raros, pues representan solo el 1 al 2 % de todos los casos con SMD y se presentan con neutropenia o trombocitopenia acompañado por una displasia morfológica de su respectiva línea celular.

Aunque el diagnóstico citogenético es importante, pueden haber ausencias de anomalías de este tipo, por lo que hay que tener al paciente en periodo de observación de al menos 6 meses para confirmar el diagnóstico; también es crítico descartar otro tipo de enfermedades que puedan estar causando la citopenias. (Breccia, et.al., 2010)

3.1.3.2. Anemia Refractaria con Sideroblastos Anillados (ARSA).

La ARSA es explicada por una anemia inexplicable, por displasia morfológica eritroide, y por sideroblastos anillados en cantidad del menos del 15 % en médula ósea. Los sideroblastos anillados son definidos como los precursores eritroides (eritroblastos) con al menos 5 partículas de hierro alrededor del núcleo. Este subgrupo de SMD comprende aproximadamente del 5 al 10 % de todos los casos de SMD y es considerado de bajo riesgo, ya que solo el 2 % de los pacientes tienen progresión a LMA. (Tefferi, 2009)

Estos pacientes pueden tener neutropenia o trombocitopenia, además de tener eritrocitos que presentan un patrón dimórfico con células hipocrómicas y normocíticas. La macrocitosis es observada con frecuencia, pero los blastos no se ven en sangre periférica y solo hay cerca de 5 % en médula ósea. Hay una hiperplasia eritroide significativa con diseritropoyesis y un incremento de sideroblastos anillados del 15 % de los precursores eritroides; en los casos clásicos de ARSA, no hay una displasia significativa granulocítica o megacariocítica.

Es importante recordar que los sideroblastos anillados en sí, no son un rasgo de la displasia, son causados debido a varios estados reactivos del individuo y en asociación de factores como medicamentos y toxinas. Por ello se deben de descartar otras causas que puedan estar asociadas a los sideroblastos, por lo que hay que hacer una revisión a su historia clínica (Cazzola, 2003).

3.1.3.3. Citopenia Refractaria con Displasia Multilinaje (CRDM).

La CRDM está definida como la aparición de una o más citopenias acompañada de la displasia de más de 1 línea celular hematopoyética sin incremento de blastos. Esta categoría fue creada en el 2001 por la OMS, debido a que ellos confirmaron que había diferentes resultados entre pacientes que tenían displasia unilinaje a aquellos que tenían displasia multilinaje. La CRDM y la ARSA son los subtipos más comunes de los SMD, pues representan en conjunto del 30 al 40 % de los casos y el pronóstico de los pacientes con CRDM depende y varía del grado de la displasia, y de las anormalidades citogenéticas encontradas. Aproximadamente el 10 % de los pacientes con esta enfermedad progresan a LMA dentro de los 2 años que empieza la enfermedad.

En la CRDM, las citopenias están acompañadas por una significativa displasia vista en muestras de sangre y médula ósea; ésta es hipercelular y muestra varios grados de diseritropoyesis, disgranulopoyesis y dismegacariopoyesis. El número de sideroblastos anillados pueden exceder más del 15 % de los precursores eritroides. (Cermak, 2003)

Hay cerca de 1 % de blastos en sangre, un poco más de 5 % en médula ósea y no hay presencia de bastones de Auer. Casos de displasia multilinaje, con más de 5 % de blastos en médula ósea, con una combinación de la presencia de más de 1 % de blastos en sangre, deben ser considerados en la categoría de SMD-I. Si el número de blastos en sangre

periférica están dentro del rango de 2 al 4 %, o hay presencia de bastones de Auer, debe de ser diagnosticado como anemia refractaria con exceso de blastos. (Cermak, 2003)

3.1.3.4. Anemia Refractaria con Exceso de Blastos (AREB).

La AREB muestra rasgos de displasia hematopoyéticos y blastos en un rango del 5 al 19 % en médula ósea y del 2 al 19 % en sangre periférica. Aquí hay dos subcategorías reconocidas: AREB-1, la cual comprende de 5 al 9 % de blastos en médula ósea y del 2 al 4 % en sangre periférica, y la AREB-2, que va de 10 a 19 % de blastos en medula ósea y hay más del 5 % de blastos en sangre, y/o también se presentan los bastones de Auer (Boulwood, 2008). Los pacientes con AREB tienen un pronóstico sombrío y una alta probabilidad de progresar a LMA, a diferencia de los otros subtipos de SMD. Hay una correlación de sobrevivencia con el porcentaje de blastos en médula ósea y sangre periférica; aproximadamente el 25 % de la AREB-1 y del 35 al 50 % de la AREB-2 progresa a LMA.

Los pacientes con esta enfermedad presentan citopenias severas y muestran displasias hematopoyéticas en todas las líneas celulares, además, la médula ósea es hipercelular con un incremento en los precursores hematopoyéticos. (Papaemmanuil, 2011)

3.1.3.5. SMD asociado a delección 5q [del (5q)].

Este subtipo está caracterizado por la presencia de la delección 5q en pacientes con anemia macrocítica y se puede presentar una trombocitosis, combinado con megacariopoyesis marcada. Esto se debe a una delección del brazo largo del cromosoma 5, por lo tanto es importante distinguirla como una entidad clinicopatológica única; se pueden presentar varias citopenias, pero los mieloblastos se presentan en un porcentaje cerca del 5 % en médula ósea y en sangre se presenta aproximadamente 1 % de los leucocitos de la sangre (Boulwood, 2010).

Esta enfermedad predomina en mujeres ancianas, y su pronóstico es muy favorable con una media de sobrevivencia de 145 meses, ya que hay pacientes con una respuesta positiva al tratamiento con el inmunomodulador lenalidomida. (Boulwood, 2010)

3.1.3.6. SMD Inclasificables (SMD-I).

Este subtipo de SMD incluye casos que no encajan dentro del criterio de los otros grupos y hay tres escenarios justifican la inclusión de estos casos en la categoría:

- a) Pacientes que entran dentro del diagnóstico de CRDU o CRDM, pero que se hayan encontrado en al menos dos chequeos consecutivos un porcentaje de blastos del 1 % en sangre.
- b) SMD con pancitopenia y displasia morfológica limitada a 1 línea celular hematopoyética.
- c) Pacientes con citopenias persistentes, sin incrementos de blastos, y con carencia de rasgos morfológicos para el diagnóstico, pero con anormalidades citogenéticas clonales consideradas evidencia presuntiva de SMD.

De acuerdo a la clasificación de la OMS del 2008, si las características de un subtipo en específico de SMD se desarrollaran durante el curso de la enfermedad, en un caso de SMDU se debe de reclasificar de acuerdo a los rasgos que se tienen (Zhou, 2011).

3.1.3.7. Desordenes SMD/SMP.

El diagnóstico del grupo de SMD/SMP requiere necesariamente de la existencia de displasia y proliferación excesiva, pero también la exclusión de ciertas aberraciones citogenéticas, específicamente t (9; 22) y la fusión de BCR-ABL, la delección 5q, inv (3) y t (3;3), además son necesarias las consideraciones hematológicas, citogenéticas, inmunológicas, etc.

a) Leucemia Mielomonocítica Crónica (LMMC).

Se mueve esta entidad a SMD/SMP debido a que había una coexistencia de displasia y proliferación llamativa; la monocitosis siempre está presente (conteo de monocitos $> 1 \times 10^3 / \mu\text{L}$), sin embargo es más marcada en sangre periférica que en médula ósea, también en algunas ocasiones hay neutropenia, neutrofilia o eosinofilia, y puede haber displasia en cualquier línea mieloide. En algunos casos el conteo de eosinofilia puede ser mayor a $1.5 \times 10^3 / \mu\text{L}$ y éstos deben de ser especificados como LMMC con eosinofilia; otra cosa importante es que existe un aumento de precursores de monocitos en médula ósea.

b) Leucemia Mieloide Crónica atípica (LMCa).

Es una enfermedad caracterizada por una leucocitosis resultado de un incremento de neutrófilos y sus precursores. Los precursores (del promielocito a metamielocito) constituyen un 10 % de los leucocitos en sangre periférica y hay hiper celularidad con displasia de la serie granulocítica.

c) Leucemia Mielomonocítica Juvenil (LMMJ).

El diagnóstico de la LMMJ se desarrolla a partir de una monocitosis con valores de $1 \times 10^9 / \mu\text{L}$ y hay cerca del 20 % de promonocitos en sangre periférica y médula ósea. Se presenta hemoglobina F incrementada, con granulocitos inmaduros en sangre y anomalía del cromosoma 7. (Bain, 2004)

3.1.4. Clasificación de SMD en niños.

El criterio de clasificación para SMD en niños ha sido simplificado a través de los años, en la clasificación inicial de la FAB no tomó en cuenta a los niños, ya que esta clasificación se realizó con estudios de pacientes adultos, además de que se creía que era un problema que existía solamente en éstos.

En el 2001 con la clasificación de la OMS no se dio algún cambio notorio, salvo que dieron a conocer que podía haber Síndrome de Down asociado con Leucemia Mieloide (SD-LM). En el 2003 fue cuando se dio la modificación pediátrica y el grupo de desórdenes mieloproliferativos se separó en 3 grupos: SMD, LMMJ y enfermedades asociadas con el Síndrome de Down. Los SMD se subdividieron a su vez en Citopenia Refractaria, AREB y la AREB-T y hasta en la revisión del 2008 de la OMS, fue separada la sección de SMD infantiles, separando a los LMMJ en los SMD/SMP y reconociendo al SD-LM en un distinto grupo de desórdenes. En éste mismo año actualizan el criterio para definir exactamente a la Citopenia Refractaria de la Infancia (CRI), que son pacientes pediátricos con menos del 2 % de blastos en sangre, menos del 5 % de blastos en médula ósea, y citopenias persistentes asociadas con displasia en al menos dos líneas celulares. La médula ósea de estos niños es a menudo hipocelular y no tienen anomalías citogenéticas presentes. Se ha comprobado que esta clasificación es más efectiva para diagnosticar a éstas

enfermedades en niños, sin embargo el pronóstico en estos pacientes es muy pobre y tienen más probabilidad de progresar a LMA. (Rau, Shreedhara y Kumar, 2012)

3.2.CRITERIO DEL PRONÓSTICO DE LOS SMD.

Aunque los SMD con exceso de blastos en el sistema de clasificación FAB tenían claramente peor pronóstico con una mayor probabilidad y un intervalo más corto en la progresión a leucemia aguda, muchos especialistas pensaron que el sistema de clasificación de la FAB era un esquema diagnóstico que no incluía otras variables que podían tener impacto pronóstico. En 1997, Greenberg y colaboradores, desarrollaron el Sistema Internacional de Puntuación Pronóstica (IPSS), que utiliza una combinación de parámetros de laboratorio fáciles de obtener (Malcovati, 2007). Así, en su análisis de datos de casi 1000 pacientes con SMD, demostraron que los pacientes con SMD podían estratificarse en cuatro categorías de riesgo de acuerdo a la suma de los resultados: porcentaje de blastos en la médula ósea, anomalías citogenéticas, y citopenias.

Un paciente con SMD con una puntuación sumada IPSS de 2.5 a 3.5 estaría en la categoría de alto riesgo y tendría una mediana de supervivencia estimada de menos de 1 año, los pacientes en las categorías de riesgo intermedio-1 (puntuación IPSS 0.5-1.0) o intermedio-2 (puntuación IPSS 1.5-2.0) tendrían una mediana de supervivencia estimada de aproximadamente 2.5 a 5 años y 1 a 2 años, respectivamente. Finalmente los pacientes con una puntuación del IPSS de menos de 0.5 estarían en la categoría de bajo riesgo con una mediana de supervivencia estimada superior a 10 años si es menor de 60 años, o aproximadamente de 4 a 5 años en caso de mayores de 60 años. (Kantarjian, 2008)

Tabla No. 3.3. Sistema Internacional de Puntuación Pronóstica. (Córdoba, 2011)

Sistema Internacional de Puntuación Pronóstica (IPSS)					
PUNTUACIÓN	0	0.5	1	1.5	2
% de blastos en médula ósea.	< 5 %	5-10 %	5-10 %	11-19 %	20-30 %*
Cariotipo**	Bueno	Intermedio	Malo		
Citopenia***	0-1	2-3			

*Este grupo se clasifica como LMA según la clasificación WHO

**Cariotipo: Bueno: normal, -Y,del(5q),del(20q).

Malo: complejo (>3 anormalidades) o anormalidades en el cromosoma 7.

Intermedio: otras anormalidades.

***Citopenias: Hb<10 g/ dL.

Neutrófilos: < 1.8 x 10⁹/L.

Plaquetas: < 100 x 10⁹/L.

A pesar de su utilidad, se han encontrado varias limitaciones importantes, una de ellas es que no tiene en cuenta la gravedad de las citopenias. Un ejemplo que presenta un estudio es la puntuación IPSS en un paciente con un recuento de plaquetas de 90 x 10⁹/L, es igual al de un paciente con trombocitopenia grave (a pesar de que a priori la historia natural de estos pacientes es diferente) (Kantarjian, 2009). Otra limitación que encontró en éste sistema de puntuación pronóstica, es que no identifica pacientes con las puntuaciones de riesgo más bajo (IPSS bajo e intermedio-1) y mal pronóstico, que pueden ser candidatos a tratamientos agresivos de forma precoz.

Se han realizado análisis retrospectivos en los que se evidencia que la severidad de la anemia al diagnóstico añade valor pronóstico al IPSS en términos de supervivencia global en los grupos de riesgo intermedio; además, el grado de neutropenia ha demostrado ser un factor de riesgo para infección y muerte en pacientes con SMD, pero sin un claro peso pronóstico y en cuanto al grado de trombocitopenia, se ha asociado con un mayor riesgo de transformación a LMA y menor supervivencia con o sin complicaciones hemorrágicas, no quedando claro si añade o no valor pronóstico. (Germing, 2005)

Teniendo en cuenta lo anterior el MD Anderson Cancer Center ha propuesto un score pronóstico para pacientes con SMD de bajo riesgo. Según su score, la citogenética, edad,

hemoglobina, plaquetas y blastos, permite dividir a los pacientes en 3 grupos de riesgo: categoría 1 con una supervivencia de 80.3 meses (puntuación 0-2), categoría 2 con 26.6 meses (puntuación 3-4) y categoría 3 con 14.2 meses de supervivencia (puntuación 5-7). (Haase, 2007)

Tabla No. 3.4. Tabla de puntuación pronóstica para SMD según MD Anderson Cancer Center. (Córdoba, 2011)

Puntaje pronóstico del MD Anderson Cancer Center para pacientes con SMD de bajo riesgo

FACTOR ADVERSO	PUNTUACIÓN
*Citogenética desfavorable	1
Edad > 60 años.	2
Hb < 10 g/ dL	1
Plaq. < 50 x 10 ⁹ /L.	2
Plaq. 50-200 x 10 ⁹ /L.	1
Blastos > 4 %	1

* Citogenética favorable: cariotipo normal, 5q;

* Citogenética desfavorable: resto de las alteraciones.

Por otra parte, el IPSS incluye sólo un número limitado de anormalidades citogenéticas, cuando cientos de anomalías citogenéticas recurrentes han sido descritos en SMD y se revisan continuamente (Haase y Schanz, 2009); en 2007 un consorcio alemán-austriaco publicó los datos de 2072 pacientes con SMD con 684 cariotipos diferentes, encontrándose 13 anomalías poco frecuentes con diferente impacto pronóstico [bueno: +1/+1, t(1q), t(7q), del(9q), del(12p), anormalidades en cromosoma 15, t(17q), -21, +21 y -x; intermedio: del(11q), anormalidades en cromosoma 19 y malo: t(5q)] (Bernasconi y Klersly, 2009). Estos resultados fueron posteriormente validados en más de 1700 pacientes tratados en el MD Anderson Cancer Center y recientemente han sido combinados con un grupo español y el grupo IPSS-IMRAW, para crear una agrupación de cuatro niveles citogenéticos de riesgo pronóstico. (Kao, McMillan y Greenberg, 2008)

Tabla No. 3.5. Sistema pronóstico citogenético para SMD.(Córdoba, 2011)

Sistema de estratificación pronóstica citogenética		
GRUPO	CARIOTIPO	SUPERVIVENCIA (meses)
Favorable	5q-, 12p-, 20q-, +21,-Y, 11q-, t(11(q23)), normal, cualquier anormalidad doble que incluya 5q-.	51
Intermedio-1	+1q, 3q21/q26, +8, t (7q), +19, -21, cualquier otra anormalidad, cualquier otra anormalidad doble sin incluir anormalidades en 5q o 7.	29
Intermedio-2	-X, -7 o 7q-, cualquier anormalidad doble que incluya -7 o 7q-, complejo con tres anormalidades.	15.6
Desfavorable	Complejo con más de tres anormalidades.	5.9

También, han propuesto que la dependencia transfusional tiene un efecto adverso significativo en la supervivencia de los pacientes con SMD, por lo tanto, se ha incluido como nuevo factor pronóstico en el Sistema de Puntuación Pronostica basado en la clasificación WHO (WPSS). (García y Shan, 2008)

Tabla No. 3.6. Sistema de pronóstico para los SMD según la OMS. (Córdoba, 2011)

Sistema de Score Pronóstico basado en la clasificación OMS (WPSS)				
FACTOR	0	1	2	3
PRONÓSTICO				
Subtipo WHO	AR, ARSA, 5q-	CRDM,CRDM-SA	AREB-1	AREB-2
Cariotipo*	Bueno	Intermedio	Malo	
Requerimiento Transfusional**	No	Regular		
*Según está definido en el IPSS				
** Al menos 1 concentrado de hematíes cada 8 semanas.				

Otras variables pronosticas que han sido propuestas por diferentes grupos incluyen la edad, estado general, fibrosis medular, niveles séricos de lactato deshidrogenasa y beta 2 microglobulina, así como el inmunofenotipo de las células progenitoras mieloides.(Germin, 2005)

CAPITULO 4: INCIDENCIA DE LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS.

4.1. INCIDENCIA Y PREVALENCIA EN E.U.A.

La incidencia se define como la tasa de nuevos casos de una enfermedad o alguna otra situación de gravedad que pueda ocurrir. En 1995, el número de incidentes de SMD en Estados Unidos fue un estimado de alrededor de 1,500 casos anualmente. Basada en la base de datos del Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER), que data del periodo 2012-2003, la tasa de incidencia en E.U.A fue de 3.4 por cada 100,000 personas, y que hay cada 10,000 casos nuevos anualmente (Rollison, Howlader y Smith, 2008). En un periodo de 3 años este índice fue incrementando de 3.3 por cada 100,00 personas en el 2001 a 3.4 en el 2002 y luego a 3.6 en el 2003, sin embargo esto no significa que sea una epidemia pues en esos años aún faltaba afinar detalles de clasificación y diagnóstico en los registros de cáncer. En una reciente encuesta basada en Medicare reporta que se dieron aproximadamente 45,000 casos diagnosticados con SMD en personas mayores a 65 años en el 2003. Esto pudo haber sido una sobreestimación porque la International Classification of Diseases usó pacientes con SMD de Medicare, recalando que efectivamente algunos pacientes podían tener otras condiciones hematopoyéticas y no SMD. En otra reciente publicación basada en la base de datos de SEER-Medicare sugirieron que la incidencia de SMD es de 75 por cada 100,000 personas mayores a 65 años. (Goldberg, Chen y Corral, 2010)

4.2. INCIDENCIA EN EUROPA Y OTRAS PARTES DEL MUNDO.

En Europa los resultados son muy similares a los de E.U.A hay varias encuestas que coinciden con éstos. En Inglaterra, Gales y Suecia es de 3.6 por cada 100,000 personas, Alemania 4.1 por cada 100,000, y Francia es de 3.2 por cada 100,000. (Germing, Neukirchen y Haas, 2008). Los datos preliminares de Alemania revelan que la prevalencia es de 20,7 por cada 100,000 personas y ésta es similar al de los E.U.A, lo cual se traduciría a que aproximadamente 60,000 personas viven con SMD

En Asia se han hecho estudios en Japón y su resultado fue de 1 por cada 100,000 personas, sin embargo esto puede cambiar debido a los recientes accidentes que han ocurrido en varias plantas nucleares (considerando desastres naturales y el ataque de las bombas

atómicas), los cuales aumentan el riesgo de contraer SMD. Tanto en México como en Latinoamérica no hay estudios ni registro alguno; en el 2012, México comenzó un registro de pacientes con SMD esperando dar una incidencia sobre este problema en nuestro país. (Germing, Neukirchen y Haas, 2008)

4.3. DISTRIBUCIÓN DE ACUERDO A LA EDAD.

En el caso de los SMD son un problema geriátrico, con más del 80 % de los pacientes mayores a 60 años al momento del diagnóstico. Esta distribución de edad característica posiblemente refleja la acumulación gradual de daño del genoma al azar por la exposición de los carcinógenos endógenos y exógenos durante el tiempo de vida. No obstante, se debe hacer énfasis que el número pequeño de pacientes menores de 60 años, adolescentes y eventualmente niños han ido apareciendo de manera más frecuente en los últimos años. La incidencia estimada de SMD en niños de E.U.A y Canadá varía de 1 a 4 casos por 1, 000,000 de personas (Ma, 2012). En el registro de médulas óseas de Düsseldorf incluye 1200 casos de SMD, de los cuales el 9 % de estos pacientes son más jóvenes de 50 años. Goasguen y Bennet estimaron que el 1- 3 % de todas las malignidades en niños son SMD. Una revisión de registros de Dinamarca halló que los SMD constituían el 9 % de todas las neoplasias hematológicas en niños menores de 15 años. Acorde a un reciente estudio francés, los pacientes más jóvenes con SMD tienden a tener más avanzada la enfermedad, ya que su pronóstico no es favorable tanto morfológicamente como citogenéticamente, y el riesgo a transformarse a LMA es más alto. A pesar de esto, paradójicamente hay un significativo mejoramiento del pronóstico en estos pacientes y también tienen 33 % de probabilidades de vivir 5 años, comparado con el 24 % de pacientes con más de 60 años. También se ha informado que los SMD son más graves cuando se asocian con desordenes congénitos y síndromes genéticos (Aul, Bowen y Yoshida, 2003). Entre estos incluye la Anemia de Fanconi, neutropenia congénita (síndrome de Kostmann), anemia de Blackfan Diamond, disqueratosis congénita, neurofibromatosis tipo 1, y anemia aplásica adquirida con terapia mielosupresora previa. (Rau, Sheedhara y Kumar, 2012)

4.4. PROPORCIÓN DE SMD DE ACUERDO AL SEXO.

Los hombres tienen ligeramente más riesgo de tener SMD que las mujeres. Un meta-análisis de 13 estudios incluidos un total de 2579 pacientes, de los cuales por cada 5 mujeres con SMD hay 6 hombres. Esta puede ser explicada a que hay más hombres

expuestos a sustancias cancerígenas debido a los tipos de empleos que desempeña. (Aul, Bowen y Yoshida, 2003).

4.5. INCIDENCIA DE LOS SMD EN RELACIÓN CON OTRAS ENFERMEDADES HEMATOPOYÉTICAS.

Cuando comparamos la incidencia de los SMD con otras enfermedades de la médula ósea, es evidente que los SMD son una de las malignidades hematopoyéticas más prevalentes. En ancianos son menos frecuentes que la Leucemia Linfocítica Crónica (LLC) y mieloma, pero son más diagnosticados que la LMA. De acuerdo a un estudio del epidemiólogo Düsseldorf hay varios subtipos de SMD como la AREB y la CRDM son poco menos frecuentes que la Leucemia Mieloide Crónica (LMC), sin embargo el síndrome de delección 5q ya no es raro al menos en Europa. Este estudio fue hecho en pacientes de la Unión Europea, el cual revela que hay 20,000 casos nuevos por año. Esto es interesante y un poco preocupante, debido a que el 20 % de los europeos tienen una edad mayor a 65 años. (Germin, Neukirchény Haas, 2008)

4.6. AVANCES EN LA INCIDENCIA.

A pesar de que muchos especialistas realizaron estudios muy serios y confiables sobre la incidencia en SMD, aún hay mucho por avanzar en éste aspecto (Steensma y Tefferi, 2003).

La incidencia de los SMD a nivel mundial aún no se sabe, y esto ha sido atribuido a muchas razones.

1) Ha sido muy difícil el diagnóstico, debido a la falta de información en algunos países, y se pueden confundir con otras enfermedades como la anemia aplásica, anemia de la inflamación, neoplasmas mieloproliferativos, y la leucemia mielogénica aguda.

2) Hay una dificultad ocasional en hacer el diagnóstico correcto, especialmente cuando las características morfológicas son sutiles o inadecuados. En efecto, la displasia en sangre periférica o en médula ósea puede ser acompañada por un gran número de enfermedades crónicas o condiciones (particularmente en los ancianos), como pueden ser enfermedades endócrinas, autoinmunes, etiologías inflamatorias o neoplásicas, y estos pueden ser consecuencia de una edad avanzada. (Avgerinou, Alammanos y Zikos, 2013)

3) El diagnóstico de SMD en pacientes con edad avanzada pueden no ser confirmado, debido a la poca disponibilidad de éstos para ejecutar una biopsia de médula ósea. Otra razón de la carencia de datos es que el registro sistemático de los SMD a nivel mundial ha empezado recientemente en países con fundaciones y registros de cáncer activos.(Germing, Neurkirchen y Haas, 2008)

CAPITULO 5. DIAGNÓSTICO DE LOS SÍNDROMES MIELODÍPLASICOS.

5.1. INTRODUCCIÓN AL DIAGNÓSTICO DE LOS SMD.

El diagnóstico de los SMD no es fácil y requiere siempre poner en marcha un procedimiento diagnóstico amplio que permita excluir la existencia de otras enfermedades que presentan algunas características comunes. En este sentido, siempre hay que tener presente que mielodisplasia no es sinónimo de SMD y que, en todos los casos, se debe excluir cualquier causa de displasia transitoria. Por otro lado, la ausencia de criterios diagnósticos mínimos esenciales y la presencia de datos de displasia morfológica en otras enfermedades hacen que el diagnóstico requiera disponer de diferentes datos biológicos que lo apoyen y confirmen. Así, el diagnóstico de SMD requiere datos clínicos, analíticos, citomorfológicos, inmunofenotípicos, histológicos, citogenéticos y moleculares (Valent et. al., 2007).

5.2. HISTORIA CLÍNICA, SIGNOS Y SINTOMAS.

Hay que resaltar que el diagnóstico se basa en exclusión de otras patología que cursan con citopenia y dispoiesis en la médula ósea, como las ocasionadas por infecciones virales (VIH, Hepatitis, Parvovirus), fármacos (antineoplásicos, inmunosupresores), deficiencias de vitamina B12 y folatos, alcoholismo, así como neoplasias no hematológicas. La sospecha de un SMD se inicia con el diagnóstico de una o varias citopenia(s) inexplicables, pues se debe de descartar cualquier otra enfermedad que desarrolle estos problemas; una vez realizado se tendrá que consultar la historia clínica (Killick, 2009). Este recurso es una evaluación acerca de la persona en cuestión sobre varios elementos de su vida; esto incluye hábitos personales como alimenticios, sociales, laborales, consumo de drogas y alcohol, tratamientos agresivos (quimioterapia), enfermedades que se han sufrido con anterioridad, enfermedades hereditarias, y algunos otros datos personales como edad, sexo, etc. Esta información nos puede dar una sospecha acerca del desarrollo de cualquier subtipo de SMD, pues recordemos que el riesgo incrementa cuando hay la presencia de ciertos factores como tabaquismo, trabajos con exposición a agentes tóxicos, edad avanzada, tratamiento de quimioterapia, enfermedades como síndrome de Down, etc. (Foran y Shammo, 2012).

Las manifestaciones clínicas nos son específicas y varían considerablemente dependiendo del subtipo y la severidad de las citopenias. Un diagnóstico desarrollado para SMD es a menudo, pero no siempre, desencadenado por signos o síntomas que nos sugieren la presencia de las citopenias, incluyendo fatiga y una baja de las actividades cotidianas que nos pueden indicar anemia, infecciones indicativas de neutropenia, y una frecuente o inexplicable hemorragia indicativa de una trombocitopenia (Nguyen, 2009). Muchos pacientes son asintomáticos y por lo tanto son diagnosticados durante la evaluación de otras patologías, como una falla del corazón o enfermedad renal, es ahí en donde de forma accidental suelen encontrarse indicios de SMD en sangre periférica. Se ha visto que la falta de síntomas en pacientes puede darnos un pronóstico del paciente, pues entre halla más síntomas como hemorragias severas inexplicables o anemias frecuentes puede que sea de un pronóstico de alto riesgo. El síntoma que más se encuentra en los laboratorios en casi todos los pacientes adultos es la anemia con una inadecuada respuesta de reticulocitos. Esta anemia es comúnmente macrocítica pero puede ser normocítica, y en el caso de la macrocítica es muy rara; éstas pueden estar acompañadas por una neutropenia y/o trombocitopenia. En algunos casos de alto riesgo suele presentarse la hepatoesplenomegalia, o bien, solo la esplenomegalia aunque esta puede ser confundido por varias infecciones virales (Sekeres, Schoonen y Kantarjian, 2008).

5.3. CRITERIOS MÍNIMOS DE DIAGNÓSTICO PARA SMD.

El primer criterio de diagnóstico fue originalmente establecido por el grupo de estudio FAB y después estas medidas fueron adoptadas con ciertas modificaciones por la OMS (Swerdlow, 2008). La mayoría de los pacientes se diagnostican con el criterio de la OMS, sin embargo, en muchos casos con citopenias se puede dificultar el diagnóstico. Estos pueden ser pacientes sin una anormalidad citogenética y con solo una citopenia muy pobre, pacientes con citopenia y un cariotipo normal pero solo con una ligera o ausente displasia, o pacientes con anemia macrocítica dependientes de transfusiones sin anormalidades cariotípicas y sin displasia.

Para asistir este tipo de situaciones, hubo dos reuniones de investigadores de los SMD (2006 y 2010) en las que los asistentes opinaron al cómo tratar estos casos y que datos se debían de considerar ya como un SMD (Valent, Orazi, et. al., 2010)(Tabla 5.1). En caso de que una

entidad cumpla con los criterios mínimos, se clasificara a qué tipo de SMD corresponde de acuerdo a la revisión de la OMS del 2008. Aún y con todos estos criterios hay una proporción de pacientes que no siguen estos patrones de diagnóstico para SMD y por lo tanto se les diagnostica con Citopenia Idiopática de Significado Incierto (ICUS) y se le da un seguimiento con un diagnóstico repetido (Mufti, Bennet y Goasguen, 2008).

Tabla 5.1. Criterios mínimos para los SMD. (Zhou et. al., 2011).

Criterios mínimos para el diagnóstico de los SMD*

A) Criterios previos.

- Una o más citopenia(s) marcadas y constantes: hemoglobina < 11 g/ dL, neutrófilos granulados < 1 500 μ l, y/o conteo plaquetario < 100 000 μ L.
- Exclusión de todos los desórdenes hematopoyéticos y no hematopoyéticos como primera razón para la citopenia y/o displasia.

B) Criterio relacionado (o decisivo) para un SMD.

- Displasia morfológica en al menos el 10 % de todas las células en una de las siguientes líneas celulares en un frotis de médula ósea: eritroide, neutrofílica y megacariocítica, con el probable hallazgo de más del 15 % de sideroblastos anillados.
- Conteo de blastos del 5 al 19 % en frotis de médula ósea.
- Anormalidades citogenéticas (halladas por estudios citogenéticos como el FISH).

C) Co-criterios (para pacientes que cumplen con el inciso A pero no el B y que no muestren rasgos clínicos típicos).

- Fenotipo anormal de células de la médula ósea de una población monoclonal de eritrocitos y/o células mieloides determinado por la citometría de flujo.
- Signos de mutaciones moleculares claro de una población celular monoclonal por un ensayo HUMARA, perfil genético o análisis de mutaciones puntuales. (Ejemplo: mutaciones de Ras).
- Formación de colonias celulares muy reducidas marcada y persistente en médula ósea y/o circulación de células progenitoras en sangre periférica.

* El diagnóstico de los SMD puede ser establecido cuando ambos criterios previos y al menos 1 de los criterios decisivos son cumplidos.

5.3.1. Citopenia Idiopática de Significado Incierto (ICUS).

La citopenia en una o más líneas celulares hematopoyéticas (eritroide, leucocitos y plaquetaria) son: 1) constantes (que llevan más de 6 meses de persistir), 2) no tienen los criterios mínimos para considerarlos como SMD y 3) no pueden ser explicados por alguna enfermedad hematológica o no hematológica es calificado como un ICUS (Tabla 5.2), un término que fue propuesto por el Dr. G. Mufti en el 2005. Estos pacientes deben de ser monitoreados cuidadosamente y repetir las pruebas para que se pueda excluir o confirmar la presencia de un SMD. Si se llega a sospechar nuevamente de un SMD este se tiene que confirmar con una biopsia de médula ósea.

Tabla 5.2. Puntos a tomar en cuenta para diagnosticar ICUS (Valent, et. al., 2007).

Citopenia Idiopática de Significado Incierto (ICUS)

A) Definición.

- **Citopenia en una o más líneas celulares hematopoyéticas: eritroide (< Hb 11 g/ dL), neutrofilica (conteo menor a <1500 cels/ µL), plaquetas (conteo <100 000 cels/ µL).**
- **Excluir los SMD y alguna otra enfermedades que causen citopenias. (Ver puntos B y C).**

B) Investigaciones iniciales requeridas para confirmar un ICUS.

- **Detallar historia clinica (Exposición a tóxicos, alcohol, tabaco, radiación, etc.).**
- **Incluir rayos X del bazo.**
- **Hacer pruebas de laboratorio como conteo diferencial en sangre, biopsia de médula ósea, química sanguínea, inmunohistoquímica, estudios citogenéticos, citometría de flujo y descartar microorganismos.**

C) Investigaciones recomendadas para dar seguimiento al caso.

- **Conteo diferencial en sangre y hacer químicas sanguíneas en intervalos de 1 a 6 meses.**
- **En caso de que se sospeche de un SMD: Hacer una biopsia de médula ósea.**

5.4. PRUEBAS DE EXCLUSIÓN.

Las pruebas de exclusión se realizan a los pacientes con el fin de descartar otros factores que provoquen los problemas presentes en los SMD como las citopenias, hemoglobina baja, alteraciones en células hematopoyéticas, displasia medular, etc. Esto es parte de los criterios previos que se debe tomar en cuenta, pues se debe descartar cualquier otro tipo de enfermedad que hematopoyética o no hematopoyética para proseguir con el diagnóstico.

a) Prueba de antiglobulina directa (test de Coombs). Su función es observar si hay una anemia hemolítica autoinmune por IgG's, aunque su positividad no excluye el diagnóstico de SMD.

b) Nivel de lactato deshidrogenasa (LDH). Enzima que está en el eritrocito, pero también en hígado, corazón, cerebro, entre otros órganos. Su función es catalizar varias rutas metabólicas que le ayudan a mantener sus funciones y al sufrir una hemólisis puede haber un aumento de LDH en sangre periférica; la baja actividad y cantidad de LDH no excluyen el diagnóstico de SMD.

c) Niveles séricos de vitamina B12 y ácido fólico. Se revisan para saber si hay una anemia megaloblástica a causa de la deficiencia de estas dos. Los SMD y la anemia megaloblástica tienen en común varios rasgos como la macrocitosis y los neutrófilos pseudo Pelget-Huet.

d) Sideremia, ferritina, transferrina, índice de saturación de la transferrina (IST), receptor soluble de la transferrina y capacidad total de fijación del hierro. Estos analitos nos van a confirmar o excluir la presencia de una anemia ferropénica.

e) Niveles séricos de eritropoyetina. La eritropoyetina es una hormona que estimula a las células troncales hematopoyéticas a producir eritrocitos; con éste estudio se revisa si hay una deficiencia, y por lo tanto, una anemia.

f) Parámetros de función hepática, renal y tiroidea. Se realizan con el fin de ver si hay fallas en el hígado, riñón y tiroides. Estos tres órganos tienen una función endocrina que va a producir varios factores de crecimiento, proliferación y diferenciación celular hematopoyético como la misma eritropoyetina.

g) Serologías de virus de la hepatitis B (VHB), de la hepatitis C (VHC) y de la inmunodeficiencia humana (VIH). Hay varios virus como el VIH que son capaces de destruir a las células sanguíneas y por lo tanto causar citopenias.

h) Perfil básico de autoinmunidad: factor reumatoide y anticuerpos antinucleares; se realiza para ver si hay citopenias autoinmunes (Sanz, 2012).

5.5. PRUEBAS HEMATOLÓGICAS PARA EL DIAGNÓSTICO.

5.5.1. Biometría hemática (Hemograma).

La biometría hemática es un examen hematológico fundamental en el que abarca los estudios cuantitativos y citológicos de las células sanguíneas, y permite obtener observaciones como en que los glóbulos rojos, leucocitos y/o plaquetas se ven afectados, ya sea por la falta de producción en la médula ósea o por destrucción periférica. Es uno de los estudios que con más frecuencia se solicitan al laboratorio, tanto en los pacientes ambulatorios como en los hospitalizados; asimismo, es el primer examen al que se enfrenta el clínico en la valoración diagnóstica de un paciente y a partir de este estudio se comienza la sospecha de un problema mielodisplásico debido al hallazgo de una anemia (que normalmente en pacientes con SMD es macrocítica o normocítica). Se puede realizar de forma manual y automática; la manual requiere de varios instrumentos como la cámara de Neubauer (para el conteo de células), pipetas graduadas, tubo de Wintrobe para la prueba de velocidad de sedimentación globular (VSG), entre otros; en cambio la forma automática es a través de un contador celular. La biometría hemática es útil para el diagnóstico y vigilancia de diversos trastornos, pero se utiliza con mayor frecuencia para el seguimiento de pacientes con quimioterapia o radioterapia, y para establecer los diagnósticos de síndrome anémico, síndrome febril o trombocitopenia. Este estudio se divide en varias pruebas que evalúan a las células de manera cualitativa como cuantitativa (Rocco et.al, 2011).

5.5.1.1. Hematócrito.

El hematócrito corresponde al volumen de glóbulos rojos expresado porcentualmente respecto a un volumen de sangre; de esta forma provee un valor estimativo del grado de anemia. Los valores de referencia promedio para esta prueba son: 1) Hombres 42-52 %, 2) Mujeres 38-45 % y éstos valores pueden variar dependiendo de varios factores como el clima, altura de la ciudad en que se habita, hábitos alimenticios, embarazo, etc. (Carmel 2002).

5.5.1.2. Hemoglobina (Hb).

La función primordial de la hemoglobina, principal proteína de los glóbulos rojos, es transportar el oxígeno y el dióxido de carbono hacia y desde los tejidos, respectivamente. Su determinación ayuda a establecer el grado de la anemia; los valores de referencia para el hombre y la mujer son de 14-18 g/ dL y 12-16 g/dL respectivamente, tomando en cuenta que según los criterios para diagnosticar SMD, un valor de hemoglobina menor a 11 g/ dL es tomado como un valor previo de sospecha.

5.5.1.3. Conteo de eritrocitos.

Esta prueba se puede hacer por medio de la cámara de Neubauer y con un microscopio, sin embargo, ya hay contadores automáticos que nos ahorran tiempo en hacer esta tarea. Los valores de referencia promedio para el hombre y la mujer son de 3.8 a 5.6×10^6 cels/ μL y de 4.5 a 6.3×10^6 cels/ μL respectivamente. El conteo de eritrocitos en SMD nos puede dar normal o bajo que nos indicaría la presencia de la citopenia.

5.5.1.4. Índices de Wintrobe: VCM, HCM y CMHC.

La relación entre hematocrito y hemoglobina o recuento de glóbulos rojos permite obtener índices que ayudan a clasificar las anemias según el tamaño y la coloración de los eritrocitos: normocíticas- normocrómicas, macrocíticas y microcíticas- hipocrómicas. Las constantes más usadas son Volumen Corpuscular Medio (VCM), la Hemoglobina Corpuscular Media (HCM) y Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM).

La VCM es el volumen de los glóbulos rojos expresado en femtolitros (fL), su fórmula es:

$$VCM = \frac{\text{Hematocrito (\%)} \times 10}{\text{Recuento de eritrocitos} \left(\frac{\times 10^6}{\text{microlitro}} \right)}$$

Los glóbulos rojos son considerados normocíticos cuando el VCM fluctúa entre 80-100 fL, microcíticos cuando el valor es inferior a 80 fL y macrocíticos cuando el valor es superior a 100 fL.

El HCM es la concentración de hemoglobina promedio contenida en cada eritrocito expresado en pg/ eritrocito, y su fórmula es:

$$HCM = \frac{Hb \times 10}{\text{Recuento de eritrocitos} \left(\frac{\times 10^6}{\text{microlitro}} \right)}$$

El HCM presenta una correlación muy estrecha con el VCM, y por lo general las anemias microcíticas se acompañan siempre de una disminución de la HCM, la cual corresponde al criterio morfológico de hipocromía.

La CHCM se expresa en gramos por decilitros, pero formalmente expresada en porcentaje:

$$CHCM = \frac{Hb \left(\frac{g}{dL} \right) \times 100}{\text{Hematócrito} (\%)}$$

El valor de referencia normal de la CHCM es de 32 a 36%; valores inferiores a 32% pueden presentar eritrocitos hipocrómicos (Buttarelli, 2004).

5.5.1.5. Ancho de distribución de eritrocitos (ADE).

El ancho de distribución de los eritrocitos, también denominado RDW por red cell distribution width o índice de anisocitosis, es un parámetro exclusivo del hemograma electrónico y representa el coeficiente de variación, expresado en porcentaje, del tamaño de los eritrocitos. El valor de referencia para el coeficiente de variación del ancho de distribución de los eritrocitos es de 11,5% a 15,1% (Buttarrello, 2003).

5.5.1.6. Reticulocitos.

Los reticulocitos son eritrocitos jóvenes que contienen remanentes de ácido ribonucleico (ARN), mitocondrias y ribosomas. Son teñidos con azul cresil brillante, el cual hace precipitar los elementos antes mencionados; se debe evitar confundir los reticulocitos con cuerpos de Heinz o cuerpos de Howell Jolly (Imagen 5.2).

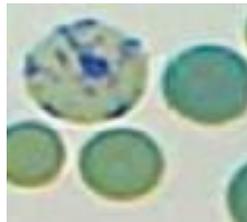


Imagen 5.2. Reticulocito. Se observa material de ARN en color azul.

El porcentaje de reticulocitos, por método microscópico se obtiene con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de reticulocitos} = \frac{\text{Número de reticulocitos contados} \times 100}{\text{Número de eritrocitos contados} + \text{reticulocitos}}$$

Actualmente el recuento de reticulocitos se puede determinar por citometría de flujo; el RNA es marcado con naranja de tiazol. El resultado se puede informar en porcentaje y como número absoluto de reticulocitos; este método es estadísticamente más significativo puesto que permite analizar un número mucho mayor de células. En los adultos el 0.2 a 2% de las células eritroides circulantes corresponden a reticulocitos; en recién nacidos la cifra es superior (2 a 6%). Cuando aumenta la eritropoyesis, como por ejemplo en las anemias hemolíticas se presenta reticulocitosis, en cambio, cuando la eritropoyesis no es adecuada, se presenta una disminución del recuento reticulocitario como es en el caso de los SMD. Los reticulocitos, además de expresarse como porcentaje también se pueden expresar como recuento absoluto; para esto último se necesita el recuento de glóbulos rojos. El porcentaje de reticulocitos se debe corregir según el grado de anemia que presente el paciente; en casos de anemia, el porcentaje de reticulocitos puede verse falsamente elevado porque hay menos glóbulos rojos; la corrección se hace considerando un hematocrito normal:

$$\% \text{ de reticulocitos corregido} = \frac{\% \text{ reticulocitos} \times \text{Hto del paciente}}{\text{Hto normal (Hombre: 45 \%, Mujer 40\%)}}$$

El índice reticulocitario es fundamental al momento de clasificar la anemia en estudio como regenerativa o arregenerativa, y en éste caso se puede ver si hay una sospecha de displasia en la médula ósea, la cual suele ser de carácter regenerativo.

5.5.1.7. *Conteo de leucocitos.*

El recuento normal de leucocitos fluctúa entre 5.000–10.000/ μL y en recién nacidos entre 15.000–20.000/ μL . En el conteo por método manual se utiliza una cámara de Neubauer (también se puede usar en el conteo de eritrocitos y plaquetas) (Imagen 5.3) la que consta de dos áreas cuadradas de 3x3 mm (9 mm²), está dividido en nueve cuadrados de 1x1 mm; el cuadrado central está dividido en 25 cuadrados. Al instalar el cubreobjetos se produce una distancia de 0.1 mm, con lo cual el volumen total de la cámara es de 9 mm³. El

recuento de los glóbulos blancos encontrados en los 4 cuadrantes externos de la cámara, el cálculo final se obtiene por la siguiente fórmula:

$$\text{Recuento de leucocitos} = \frac{\text{Número promedio de células contadas} \times \text{factor de dilución}}{\text{Area contada (mm}^2\text{)} \times \text{la profundidad de la cámara}}$$

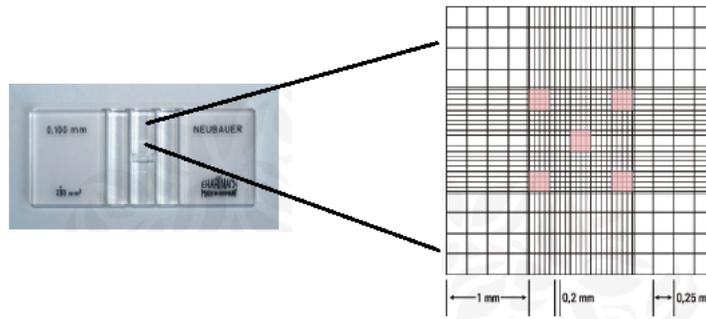


Imagen 5.3. Cámara de Neubauer. El cuadro central contiene 5 cuadros primarios, 4 en el extremo y uno en el centro.

5.5.1.8. Conteo de plaquetas.

El recuento de plaquetas se puede realizar con microscopio de contraste de fase y con contadores hematológicos. En el primer caso el recuento se realiza en una cámara de Neubauer, específicamente en el cuadro primario central, se cuentan 10 cuadros secundarios de acuerdo a la siguiente imagen (Imagen 5.4). El rango de referencia normal es $150 - 350 \times 10^3/\mu\text{L}$ y se utiliza muestra de sangre anticoagulada con EDTA, que es diluida (1:100) con oxalato de amonio, que lisa las otras células. Después de 20 minutos de “cargada” la cámara se hace el recuento de plaquetas con objetivo 40x (Zandecy, et.al., 2007), obteniéndose el número de plaquetas se obtiene con la siguiente fórmula:

$$\text{Recuento de plaquetas} = \text{No. de plaquetas contadas} \times 1000$$

Nota: la formula puede cambiar por el factor de dilución y el número de cuadros contados.

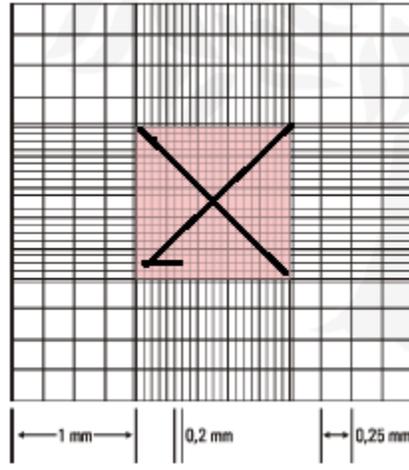


Imagen 5.4. Cuadro primario central. Se divide en 25 cuadros secundarios pero se cuentan 10.

5.5.1.9. El frotis de la sangre periférica y tinción de May Grünwald-Giemsa.

El frotis de sangre periférica es un examen que proporciona información acerca del número y forma de las células sanguíneas a través de una inspección visual con la ayuda del microscopio. Es útil como complemento de la biometría hemática que nos ayuda en el diagnóstico de gran parte de las enfermedades hematológicas. La sangre se obtiene por punción venosa; se coloca y extiende en un portaobjetos, teñida con un colorante especial y examinada al microscopio (Imagen 5.5). Para una valoración adecuada de la sangre periférica, son importantes algunos aspectos, como la técnica del extendido, la tinción y el sitio del frotis donde se realizará la valoración. Es posible obtener información sobre la morfología de todos los tipos de células sanguíneas, un estimado aproximado del número de leucocitos y plaquetas, y el recuento relativo por tipo de leucocitos, obtenido al contar 100 de estas células.

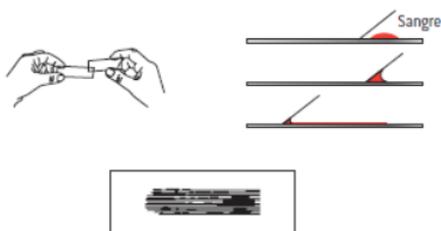


Imagen 5.5. Técnica para la extensión del frotis de sangre periférica. Se coloca una gota de sangre en el tercio proximal de un portaobjetos, se extiende hasta el tercio distal después de tocarla con el borde de otro portaobjetos. Posteriormente se tiñe con una tinción como la de Wright.

Desde hace muchos años la tinción de May Grünwald-Giemsa ha sido usada para teñir tanto los frotis de sangre periférica como de médula ósea. Es considerada una tinción

policromática porque posee eosina y azul de metileno, el Giemsa contiene además, azul de eosina; ésta tinción permite reconocer las diferentes células sanguíneas y sus diferentes estadios madurativos, tanto en células normales como patológicas. El frotis sanguíneo se deja secar a temperatura ambiente y se identifica con el nombre del paciente en el sector de la cabeza del frotis. El metanol fija las células al portaobjeto; el tampón cambia el pH del medio y los reactivos se fijan a sus estructuras celulares, proceso pH dependiente. La oxidación del azul de metileno y la eosina forman el complejo tiazin-eosinato, que tiñe los componentes neutros, de color azul. El azul de metileno (básico) tiñe además a las sustancias ácidas (o basófilas), como el RNA y ciertas proteínas citoplasmáticas. Por su parte, la eosina (ácida) tiñe sustancias básicas (o eosinófilas) como la hemoglobina o los gránulos de los eosinófilos.

El examen del frotis sanguíneo debe incluir observación con al menos dos aumentos diferentes del microscopio. La primera observación debe hacerse con objetivo de 40x (o 10x según experiencia y costumbre del profesional) para observar la distribución de los eritrocitos y leucocitos. Luego se hace la observación en inmersión para realizar la fórmula leucocitaria y estudiar la citología de los glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas.

Así, a modo de ejemplo: (a) en los glóbulos rojos se analiza la eventual presencia de alteraciones del tamaño (anisocitosis; microcitosis y macrocitosis), de la forma (poiquilocitosis: codocitos, esferocitos, esquistocitos, etc.), presencia de inclusiones (cuerpos de Howell-Jolly, etc.) y alteraciones en el color (hipocromía), (b) en los leucocitos (granulaciones tóxicas de los neutrófilos, linfocitos reactivos, blastos, etc.) y (c) en las plaquetas (trombocitopenia, trombocitosis, macroplaquetas).

5.5.1.10. Análisis de la morfología de eritrocitos en los SMD.

El análisis morfológico de los eritrocitos abarca tres características que son tamaño, color y forma. El eritrocito mide aproximadamente 8 μm de diámetro (Imagen 5.6); debido a su forma bicóncava, se aprecia una palidez central que corresponde a una tercera parte de su diámetro (Imagen 5.5). Una forma sencilla de valorar su tamaño es compararlo con el núcleo del linfocito, que en condiciones normales es casi de la misma dimensión.

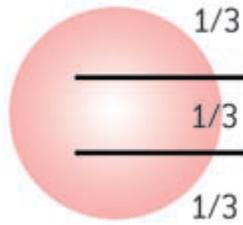


Imagen No. 5.5. Visión de la palidez del eritrocito.

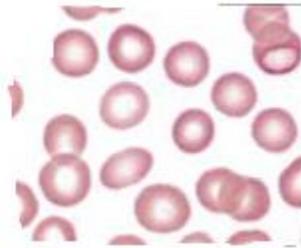


Imagen No. 5.6. Eritrocitos normales.

a) Alteraciones del tamaño: Las alteraciones del tamaño del glóbulo rojo (anisocitosis) son de dos tipos: macrocitosis (eritrocitos de mayor tamaño que lo normal: >100 fL) y microcitosis (eritrocitos de menor tamaño). La macrocitosis es característica de la anemia megaloblástica (déficit de vitamina B12 y/o ácido fólico), también se puede observar cierto grado de macrocitosis en algunos pacientes con displasia medular (en su caso SMD) (Imagen 5.7); otro ejemplo de macrocitosis no megaloblástica se puede observar en algunas hepatopatías, además, los hematíes de los recién nacidos son de mayor tamaño que en el adulto. Los glóbulos rojos microcíticos se observan en la anemia ferropénica, talasemias y en algunos pacientes con anemias secundarias a enfermedades crónicas (Palomo, Pereira y Palma, 2009).

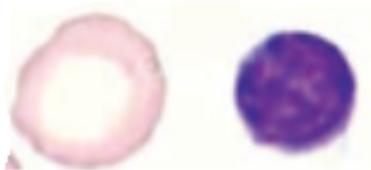


Imagen 5.7. Eritrocito macrocítico en comparación del núcleo de un linfocito.

b) Alteraciones del color: Las alteraciones del color se refieren al contenido hemoglobínico; la hipocromía es una consecuencia de la baja concentración de hemoglobina en el eritrocito

(Imagen 5.8). La anisocromía se refiere a la coexistencia de eritrocitos hipocrómicos y normocrómicos.



Imagen 5.8. Eritrocito hipocrómico. La palidez de la célula supera el tercio del diámetro.

c) Alteraciones en la forma eritrocitaria: Las alteraciones de la forma de los eritrocitos (poiquilocitosis) corresponden a varias causas que las pueden desarrollar, pues, aparte de los SMD, puede ser por exposición a agentes tóxicos, anemias megaloblástica, etc. La forma de esta célula está dada por la membrana alta en proteínas y se pueden alterar si se desnaturalizan estas. En este examen no solo se debe ver la forma de la membrana, sino también hay que ver si hay inclusiones en el citoplasma como puntos, el tamaño de la palidez céntrica, etc. La displasia puede afectar la maduración de los eritrocitos, dejando restos de material genético (ADN y ARN) y que aun así no hay una apoptosis que regule este tipo de situaciones, por lo cual, migran de la médula ósea a sangre periférica pero puede que sean no funcionales:

i) Punteado basófilo: Presencia de puntos azules distribuidos de modo regular en el eritrocito, que indican residuos de RNA (Imagen 5.9). Se observan también en talasemia, anemia megaloblástica, intoxicación por plomo, ingesta crónica de alcohol, anemia sideroblástica y deficiencia de pirimidina 5-nucleotidasa.

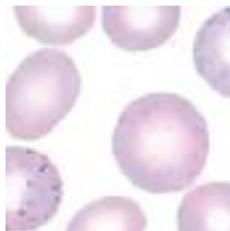


Imagen 5.9. Punteado basófilo en eritrocitos (parte izquierda inferior de la imagen).

ii) Cuerpos de Howell- Jolly: Inclusión azul o violeta, por lo general única, en la periferia del eritrocito, usualmentemenor de $0.5 \mu\text{m}$; representan restosnucleares (Imagen 5.10).

Están asociados a defectos en la maduración nuclear, como en la anemia megaloblástica, eritropoyesis acelerada como en la anemia hemolítica y drepanocitosis.



Imagen 5.10. Cuerpo de Howell-Jolly en la periferia del eritrocito.

iii) Anillos de Cabot: Inclusiones ovales o en forma de ocho en el eritrocito, color rojo-violáceas, generalmente únicas, formadas por restos del núcleo (Imagen 5.11). Se observan en anemias graves y diseritropoyesis como en la anemia megaloblástica.

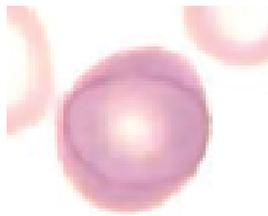


Imagen 5.11. Anillos de Cabot en forma elíptica.

iv) Eliptocitos: Eritrocito que ha adoptado una forma elíptica. La eliptocitosis es un tipo de anemia hemolítica poco frecuente; se encuentra también en la anemia por deficiencia de hierro (anemia ferropénica), anemia megaloblástica, talasemia, mieloptosis y anemia sideroblástica.



Imagen 5.12. Eliptocito.

v) Esquistocitos: Fragmentos de eritrocito pequeños e irregulares producidos por acción mecánica al pasar por vasos sanguíneos pequeños y dañados, como ocurre en la anemia hemolítica microangiopática, PTT, CID, vasculitis, glomerulonefritis, quemaduras o por válvulas cardíacas anormales o artificiales.



Imagen 5.13. Esquistocitos.

vi) Cuerpos de Pappenheimer y siderocitos: Inclusiones finas con contenido de hemosiderina observadas en grupos en la periferia de eritrocito con la tinción de Wright. El contenido de hierro puede ser demostrado con tinciones especiales, como la tinción de Perls; la coloración de Perls pone de manifiesto la presencia de hemosiderina en el citoplasma tipo de célula pudiendo ser aplicada a las células presentes en un frotis o extensión de sangre o médula ósea. La hemosiderina es un derivado insoluble de la ferritina, que se considera el resultado de la precipitación de varias moléculas desnaturalizadas de apoferritina. Normalmente, constituye el hierro no hemínico de los eritroblastos y puede hallarse abundantemente en las células del sistema mononuclear fagocítico; los eritrocitos con estas inclusiones se llaman siderocitos. Aparte de estar presentes en los SMD, se observan en anemia sideroblástica, talasemia, anemia diseritropoyética y otras anemias graves (Palomo, Pereira y Palma, 2009).

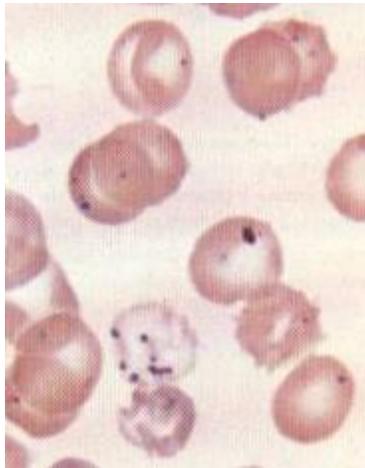


Imagen 5.14. Siderocitos (Cuerpos de Pappenheimer). Se notan los gránulos de color azul que pueden medir hasta 2 μm .

5.5.1.11. Análisis morfológico de los leucocitos en SMD y conteo diferencial.

Los leucocitos forman parte del sistema inmune, el que se incluye entre los mecanismos biológicos destinados a mantener la organización estructural y funcional de los individuos; está genéticamente programado para la neutralización y eliminación, tanto de agentes

infecciosos, células y moléculas extrañas, como de células propias envejecidas, alteradas o transformadas. En la sangre se suele encontrar 5 tipos de leucocitos que son los neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos.

i) Neutrófilos: Los neutrófilos pueden ser, según las características de su núcleo, bandas o segmentados (Imagen 5.15, 5.16); cuando el núcleo está separado por filamentos, es un neutrófilo segmentado. Un neutrófilo maduro tiene un diámetro de 12 a 14 μm y un núcleo multilobulado, es el leucocito más abundante en sangre periférica; comprende del 35 al 70% del total. Se llama neutrofilia al aumento del número de neutrófilos en sangre, para la cual existen múltiples causas: movilización de la reserva marginal, frecuente en situaciones de estrés; condiciones fisiológicas como ejercicio, tensión emocional, trabajo de parto, menstruación; en infecciones agudas generalizadas y localizadas; procesos inflamatorios; trastornos mieloproliferativos, como en la leucemia granulocítica crónica, o administración de esteroides, como la prednisona. La neutropenia corresponde a una producción reducida o consumo aumentado de neutrófilos y las causas de neutropenia absoluta incluyen medicamentos (inmunosupresores, antineoplásicos, analgésicos antiinflamatorios, antibióticos, antitiroideos, sulfamidas), infecciones (parvovirus, fiebre tifoidea, paludismo, tuberculosis miliar, hepatitis), enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso diseminado, artritis reumatoide). La neutropenia acompañada de anemia, trombocitopenia, o de ambas, ocurre en la hipoplasia medular, las leucemias agudas, la anemia megaloblástica, el hiperesplenismo y la administración de quimioterapia.

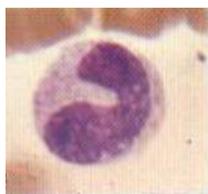


Imagen 5.15. Neutrófilos segmentado.



Imagen 5.16. Neutrófilo en banda.

ii) Linfocitos: Los linfocitos son células de 6 a 9 μm de diámetro, con núcleo ovoide o redondo que ocupa casi el 90% de la célula; el citoplasma se observa ligeramente basófilo.

Es la segunda célula más abundante de los leucocitos, de 20 a 50%, observándose linfocitosis en infecciones virales (mononucleosis infecciosa, hepatitis, parotiditis, rubéola, hepatitis, varicela); por micobacterias, sífilis, toxoplasma, brucelosis; infecciones crónicas, leucemia linfocítica crónica. La linfopenia se advierte en infecciones virales como la debida al VIH, enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso diseminado, uso de quimioterapia, ingesta de esteroides, etcétera.

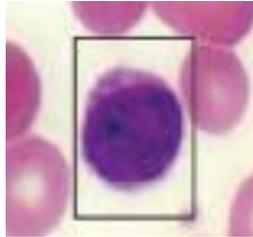


Imagen 5.16. Linfocito en SP.

iii) Monocitos: Los monocitos son células grandes de 15 a 20 μm de diámetro; tienen un citoplasma pálido y vacuolado, el núcleo es irregular a veces en forma arriñonada o de cerebro y con frecuencia presenta una muesca en uno de sus lados (Imagen 5.17). Para muchas personas suele ser muy difícil de identificar por su similitud con el linfocito, sin embargo el tamaño y color del citoplasma son característicos de esta célula; forman parte del 1 a 5% de los leucocitos. La monocitosis sugiere la presencia de una infección crónica (tuberculosis, brucelosis, endocarditis, paludismo, rickettsiosis), proceso inflamatorio crónico (colitis ulcerosa, enteritis regional, sarcoidosis), una neoplasia maligna (enfermedad de Hodgkin, leucemia aguda) y por supuesto sugiere un síndrome mieloproliferativo como el LMMC. La monocitopenia ocurre en la aplasia de la médula ósea, leucemia de células peludas o tricoleucemia, y en la terapia con esteroides.

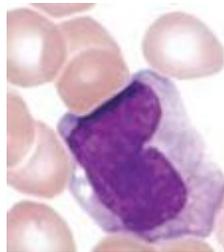


Imagen 5.17. Monocito en SP.

iv) Eosinófilos: Los eosinófilos tienen un diámetro de 12 a 17 μm ; se les reconoce de manera fácil por sus grandes gránulos densamente concentrados, que se tiñen de color naranja o rojo brillante; tienen un núcleo único y generalmente bilobulado (Imagen 5.18).

Los eosinófilos varían de 0 a 5% de los leucocitos, por lo que en algunas ocasiones no es fácil observarlos. La eosinofilia es el aumento de eosinófilos en sangre; las causas más frecuentes son enfermedades parasitarias, medicamentos, reacciones alérgicas, neoplasias como el linfoma, o idiopática, cuando no se determina la causa. Puede ser normal no encontrar eosinófilos en el frotis de sangre periférica.



Imagen 5.18. Eosinófilo.

v) Basófilos: Los basófilos tienen un diámetro de 10 a 14 μm ; se caracterizan por sus grandes gránulos citoplasmáticos color azul intensamente oscuro que con frecuencia ocultan el núcleo bilobulado y comprenden del 0 al 2% de los leucocitos en la sangre; es posible encontrar basofilia en procesos alérgicos, como hipersensibilidad a alimentos o medicamentos; procesos inflamatorios, como la colitis ulcerosa; endocrinopatías, como el hipotiroidismo; infecciones, como gripe, sarampión y tuberculosis, y en enfermedades mieloproliferativas, como leucemia granulocítica crónica, policitemia vera, mielofibrosis y trombocitosis (Tkachuk y Hirschmann, 2007).



Imagen 5.19. Basófilo.

Ya que se conocen los 5 tipos de células existentes de la fórmula blanca, se continúa con la realización del conteo diferencial. El conteo diferencial de los leucocitos es el porcentaje de cada subpoblación leucocitaria en la muestra de sangre; el aumento o disminución del porcentaje de un tipo de leucocitos en particular puede ser solo relativa (porcentual) o bien absoluta (verdadera) (Tabla 5.3); para obtener este último valor se debe considerar el recuento total de leucocitos. Así por ejemplo, 70% de linfocitos, en el contexto de un hemograma que tiene 2.000 leucocitos/ μL corresponde a una linfocitosis relativa (1.400 linfocitos/ μL), pero en un hemograma con 50.000 leucocitos/ μL se trata de una linfocitosis absoluta (35.000 linfocitos/ μL).

Tabla 5.3. Valores absolutos y relativos de las subpoblaciones de los leucocitos (Palomo, Pereira y Palma, 2010).

	%	Número absoluto (x10 ³ /μL)
Basófilos	0 – 1	0 – 0.1
Eosinófilos	0 – 4	0 – 0.3
Neutrófilos	46 – 73	1.3 – 6.7
Linfocitos	18 – 44	0.9 – 3.2
Monocitos	3 – 9	0.12 – 0.6

Del conteo diferencial de leucocitos hay dos subpoblaciones que interesan más en SMD que son los neutrófilos y los monocitos. Esto es porque los neutrófilos están implicados en la citopenia leucocitaria, además de que es la que mayor sufre displasia de toda la fórmula blanca; en cambio los monocitos están implicados con la LMMC, pues un conteo mayor a 1000 células por μL nos puede indicar una sospecha sobre esta enfermedad.

Se define como neutropenia a un valor absoluto de neutrófilos en sangre periférica menor a $1.5 \times 10^3/\mu\text{L}$; neutropenia leve se define como $1 - 1.5 \times 10^3/\mu\text{L}$, y de neutropenia marcada o agranulocitosis cuando el recuento es inferior a $0.5 \times 10^3/\mu\text{L}$. En los niños menores de 1 año de edad, se define como neutropenia cuando la cifra es inferior a $1.0 \times 10^3/\mu\text{L}$.

La neutropenia puede producirse por diversas causas, que pueden ser de origen central o periférico:

- De origen central:

- i) Por defectos de la producción, neutropenias hipoplásicas: congénitas e inducidas por fármacos.

- ii) Por granulocitopoyesis ineficaz, déficit de vitamina B12 y/o ácido fólico.

- iii) Por liberación disminuida de neutrófilos desde la médula ósea.

- De origen periférico:

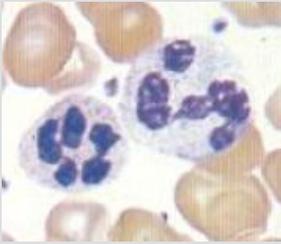
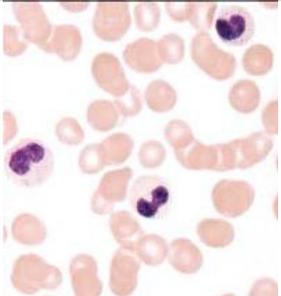
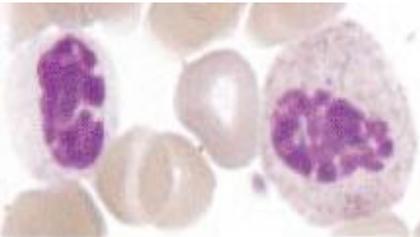
- i) Por destrucción excesiva o de salida a los tejidos (inmunológicas, idiopática, neonatal, inducida por fármacos).

ii) Pseudoneutropenias, hay un aumento del compartimiento marginal con respecto al circulante.

La monocitosis es cuando el recuento de monocitos es $>1000/\mu\text{L}$; se presenta en recuperación de enfermedades agudas, infecciones bacterianas, enfermedades reumáticas y enfermedades autoinmunes (LES, artritis), en enfermedades hematológicas, tales como LMA, LMMC (SMD), Leucemia aguda mielomonocítica (FAB- M4) y monocítica (FAB- M5), y en tipo de destrucción de tejidos tales como accidentes y cirugías muy extensas. En situaciones que pueden presentar una fase de recuperación medular, como por ejemplo, postquimioterapia, post-trasplante de médula ósea, recuperación de aplasia medular, y de agranulocitosis, suele observarse como primer signo de generación mieloide un incremento transitorio de monocitos; esto se explica porque el período de maduración de los monocitos en la médula ósea es más corto que en los neutrófilos (Jaime y Gómez, 2009).

Una vez hecho los conteos diferenciales relativos y absolutos se va a proceder a tomar nota del análisis morfológico de los leucocitos de acuerdo a las características normales de cada célula (Tabla 5.4).

Tabla 5.4. Diferentes alteraciones en los leucocitos durante los SMD (Jaime y Gómez, 2009)

Alteración morfológica.	Imagen	Información
<p>Neutrófilo polisegmentado.</p>	 <p>Imagen 5.20</p>	<p>Neutrófilo con más de cinco lóbulos, también llamados macropolicitos. Se observan en la anemia megaloblástica, sea causada por deficiencia de vitamina B12 o de ácido fólico, síndromes mielodisplásicos y en infecciones crónicas. El número máximo normal de segmentos es de 3 al contar 100 células segmentadas</p>
<p>Hipolobulación (Pseudo Pelgert-Huet)</p>	 <p>Imagen 5.21</p>	<p>Son neutrófilos con núcleos bilobulados y cromatina muy condensada. A veces suele en estar hipogranulados. Estas células se encuentran muy abundantes en SMD</p>
<p>Hipogranulación</p>	 <p>Imagen 5.22</p>	<p>Los neutrófilos que sufren esta anomalía no tienen gránulos. Usualmente son neutrófilos pero también hay eosinófilos y basófilos. Estas células no sirven como defensa contra antígenos</p>

**Gránulos gigantes
(Granulación Pseudo
Chediak- Higashi)**

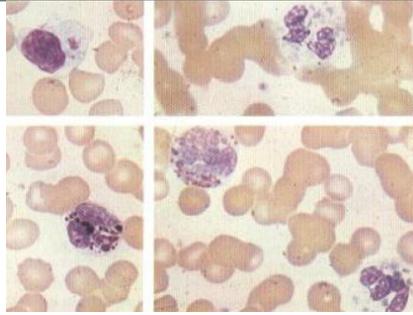


Imagen 5.23

Granulaciones muy grandes en las células. Se presentan en todas las células granulocíticas

**Cuerpos o bastones de
Auer**

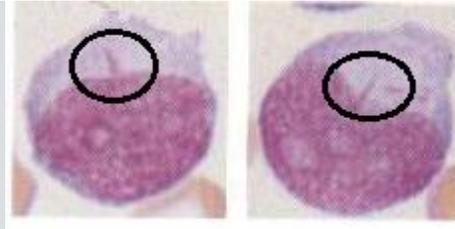


Imagen 5.24

Prolongaciones del núcleo en forma de bastones de color azul en citoplasma presentes en los linfocitos. Rasgo característico de la AREB- 2 y en la LMA-2

5.5.1.12. Análisis morfológico de las plaquetas en SMD.

Las plaquetas son fragmentos del citoplasma de los megacariocitos; su diámetro varía de 1 a 4 μm y adquieren un tinte basófilo. Después de una hemorragia o en casos de anemia ferropénica, el tamaño de las plaquetas puede ser variable y su número puede aumentar, y en ciertas hemopatías pueden observarse plaquetas gigantes o con signos de displasia. Se ha observado que la sangre anticoagulada con EDTA- Na_2 presenta aglutinación plaquetaria lo que podría ser informado como trombocitopenia al realizar un recuento de plaquetas en contadores celulares, situación que debe ser tomada en cuenta al observar el frotis sanguíneo(Ortega, 2002).



Imagen 5.25. Plaquetas en SP.

Solo hay dos anomalías de las plaquetas características de los SMD:

i) Plaquetas gigantes: En plaquetas de más de 5 μm de diámetro no es posible definir los límites celulares; poseen abundantes gránulos finos basófilos (Imagen 5.26). Indican aumento en la megacariopoyesis (PTI, trombocitosis esencial); también características del síndrome de Bernard-Soulier(Campuzano, 2007).



Imagen 5.26. Plaqueta gigante.

ii) Hipogranulación: La plaquetas contienen sustancias como la trombospondina, el factor III de la coagulación y fibronectina. Sin éstas la adhesión plaquetaria para la coagulación

sería imposible y por lo tanto no hay coagulación; todas éstas están en los gránulos plaquetarios que se rompen al estar activada la plaqueta. Sin gránulos, la plaqueta no se puede adherir al endotelio vascular, por lo que es frecuente que los pacientes con SMD tengan hemorragias de leves a moderadas (Palomo, Pereira y Palma, 2009).

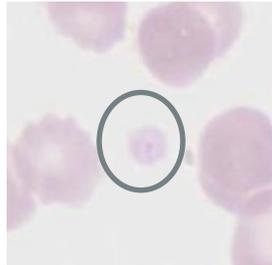


Imagen 5.27. Plaqueta sin gránulos.

5.5.2. Aspirado de médula ósea o mielograma.

Además de la biometría hemática, el mielograma es un examen fundamental para realizar diagnóstico de varias patologías hematológicas. En el nacimiento, la mayoría de los huesos tienen células hematopoyéticas, luego las células adiposas comienzan a poblar la médula ósea y en los adultos solo el esqueleto axial y la parte proximal de los huesos largos mantienen capacidad hematopoyética; la obtención de la muestra de médula ósea y su estudio microscópico, requiere preparación especializada. El mielograma corresponde a un estudio citológico cuantitativo y cualitativo de la médula ósea, la que es obtenida por aspiración y debe ser precedido por el informe de uno o más hemograma(s) que justifiquen su realización (Estey, 2007).

Se consideran dos lugares importantes para la toma de muestra, según edad son los siguientes: en niños menores de 2 años se utiliza preferentemente el tercio superior de la cara interna de la tibia y la espina iliaca pósterosuperior; en niños mayores de 2 años, jóvenes y adultos se prefiere el esternón a la altura del segundo espacio intercostal y alternativamente las espinas iliacas antero y pósterosuperior, o apófisis espinosa de las vértebras lumbares 1era a 4ta. En la punción se usa material estéril; se desinfecta la zona a puncionar, luego se infiltra la piel y el periostio con un anestésico local (Ej.: lidocaína al 2%). Posteriormente se inserta el trocar para mielograma; se retira el estilete y con una jeringa se aspira aproximadamente 0.5 mL, el contenido se vierte en un reservorio con solución de EDTA con el fin de evitar la agregación de las plaquetas y coagulación

sanguínea; también puede colocarse directamente en varios portaobjetos. Luego se procede a preparar los frotis y teñirlos como se describió para sangre periférica y de ser necesario se separa una fracción de la muestra para análisis por citometría de flujo y/o estudio citogenético(Thiele, Kvasnicka y Facchetti, et al, 2005).

El informe del mielograma incluye aspectos cuantitativos y citológicos; el estudio cuantitativo incluye una estimación de la celularidad, cantidad de megacariocitos, recuento diferencial de la serie granulocítica, recuento total de serie eritroblástica y serie agranulocítica; el estudio citológico del mielograma se realiza con aumento menor (10x) e inmersión (100x). En el primer caso, el propósito es estimar la densidad celular (celularidad) y observar la cantidad de megacariocitos, y eventual presencia de grupos de células metastásicas; la celularidad se debe estimar en base a la proporción de células hematopoyéticas versus las células adiposas. Un aspecto importante a observar con aumento menor es determinar si la celularidad es heterogénea (diversidad de líneas celulares y estadios madurativos) u homogénea (predominio de un solo tipo de células, Ej.: leucemias agudas)(Orazi, 2007). La celularidad es diferente según la edad del paciente, así en niños la médula contiene pequeñas cantidades de grasa y en adultos mayores puede llegar a un 50-70%. La observación con aumento de inmersión permite realizar el recuento diferencial de células y el estudio citológico de las diferentes líneas celulares (serie granulocítica, con estadios madurativos; serie agranulocítica y serie eritroblástica). El recuento diferencial se realiza en > 300 células nucleadas (Palomo, Pereira y Palma, 2009); en adultos la proporción mieloide: eritroide (M: E) es de 1.5- 3.3.

Tabla 5.5. Valores normales en médula ósea (Jaime y Gómez, 2009).

	Rango (%)
Neutrófilos totales	49.2 – 65
Mieloblastos	0.2 – 1.5
Promielocitos	2.1 – 4.1
Mielocitos	8.2 – 15.7
Juveniles	9.6 – 27.6
Baciliformes	9.5 – 15.3
Segmentados	6.0 – 12
Eosinófilos totales	1.2 – 5.3
Mielocitos	0.2 – 1.3
Metamielocitos	0.4 – 2.2
En banda	0.2 – 2.4
Segmentados	0 – 1.3
Basófilos y mastocitos	0 – 0.2
Serie Eritrocitaria total	18.4 – 33.8
Proeritroblastos	0.2 – 1.3
Eritroblasto Basófilo	0.5 – 2.4
Eritroblasto Policromático	17.9 – 29.2
Eritroblasto Ortocromático	0.4 – 4.6
Linfocitos	11.1 – 23.2
Células plasmáticas	0.4 – 3.9
Monocitos	0 – 0.8
Megacariocitos	0 – 0.4
Células reticulares	0 – 0.9
Relación mieloide: eritroide	1.5 - 3.3

El informe del mielograma debe incluir: celularidad, megacariocitos, recuento diferencial (mieloblastos, promielocitos, mielocitos, juveniles, baciliformes y segmentados neutrófilos, eosinófilos, linfocitos, células plasmáticas y eritroblastos), indicar el sitio de punción y cantidad de material medular obtenido, breve comentario sobre los hallazgos cuantitativos y

citológicos de cada serie celular (serie granulocítica, serie agranulocítica, serie eritroblástica y serie megacariocítica); y conclusión.

5.5.3. Biopsia de médula ósea.

La biopsia de médula ósea corresponde al estudio histológico del tejido medular hematopoyético obtenido mediante punción ósea dirigida, donde se analiza cuantitativa y cualitativamente las series celulares mieloeritroide, linfoide y megacariocítica, las características generales del estroma, la estructura del hueso que lo contiene y, eventualmente, se identifican fenómenos inflamatorios específicos e inespecíficos y procesos infiltrativos exógenos o metastásicos. En general, se recurre a la biopsia de médula ósea cuando el cuadro clínico y los hallazgos del hemograma justifican el procedimiento, como complemento o certificación diagnóstica; cuando, habiendo realizado dos o más punciones para mielograma, no se obtuvo muestra o ésta fue insuficiente para poder realizar un informe adecuado; y para la tipificación de neoplasias hematológicas. También se usa para cuando hay sospecha de ICUS y descartar SMD, cuando esta hipoplásica la médula ósea; cuando no hay muestra de megacariocitos en el aspirado medular y cuando hay fibrosis medular (Aul, Giagounidis y Germing, 2007).

La biopsia de médula ósea transcutánea se realiza, bajo anestesia local, con trócar de Jamshidi desde la cresta ilíaca pósterio-superior o, dependiendo de la edad del paciente, se elige el hueso a puncionar considerando la mayor actividad hematopoyética esperable y/o el sitio específico de localización de alguna lesión “blanco” a estudiar. La muestra (cilindro de médula ósea), en su procesamiento de rutina, se fija en Bouin o formalina al 10% y luego sedecalcifica con ácido nítrico al 7%. Al cabo de esto (aproximadamente 24-48 hrs.), se efectúa el procesamiento histológico, el cual requiere 12-24 hrs. y consiste en deshidratación del tejido, inclusión en parafina, corte, tinción con hematoxilina-eosina y montaje. De esta manera, la biopsia por punción de médula ósea permite una completa evaluación histológica de las células hematopoyéticas y del estroma.

La biopsia medular proporciona información respecto a la densidad, topografía y constitución celular del tejido hematopoyético. La tinción histológica de rutina, en el procesamiento habitual de la muestra de médula ósea, es la hematoxilina-eosina (tinción corriente), aunque, en caso necesario, se pueden efectuar tinciones histoquímica especiales,

tales como: Van Gieson (fibras de colágeno), Gomori (fibras de reticulina), Azul de Prusia (hemosiderina), Rojo Congo (amiloide), Grocott (hongos), Zielhl Neelsen (bacilos ácido alcohol resistentes), PAS (mucosustancias) y Giemsa (como complemento de la tinción Hematoxilina-eosina). De una muestra incluida en parafina se pueden obtener cortes para realizar técnicas inmunohistoquímicas con anticuerpos monoclonales, particularmente útiles para: definir estirpes celulares y tipificación de neoplasias (citoqueratinas, vimentina, antígeno leucocitario común, etc.), determinar clonalidad de infiltrados linfoides (CD3, CD/20, kappa, lambda, etc.), identificar marcadores tumorales, oncoproteínas y factores de proliferación celular (CEA, alfafetoproteína, p- 53, Ki-67, etc.), entre otros.

Para optimizar el rendimiento del examen de la biopsia e incrementar la certeza diagnóstica del patólogo, los hallazgos histológicos siempre deben correlacionarse con el cuadro clínico del paciente y los resultados del hemograma y mielograma.

Cuando se estudia la médula ósea mediante biopsia por punción con aguja, se deben evaluar los siguientes parámetros: celularidad, relación Mieloide/Eritroide, maduración de series mieloide y eritroide, número de megacariocitos, linfopoyesis, porcentaje de eosinófilos, células plasmáticas y mastocitos, presencia de otras células como histiocitos, células metastásicas, contenido de hemosiderina, alteraciones del estroma como la fibrosis, necrosis, granulomas, y anomalías óseas (Palomo, Pereira y Palma, 2009).

5.5.4. Evaluación celular en la médula ósea.

5.5.4.1. Serie eritroide y sus alteraciones morfológicas.

a) Proeritroblasto: Esta es la primera célula reconocible de la línea eritroide; mide de 12 a 20 μm de diámetro y se distingue del mieloblasto por su citoplasma muy azulado, que suele ser solo una orilla en torno del núcleo relativamente grande; muchas veces se tiñe en forma dispareja y puede presentar un halo perinuclear. El núcleo consiste en una red de filamentos de cromatina distribuidas con uniformidad, que le imparten un aspecto finamente reticular. Se tiñe de un color púrpura rojizo y contiene varios nucléolos más oscuros (Imagen 5.28).

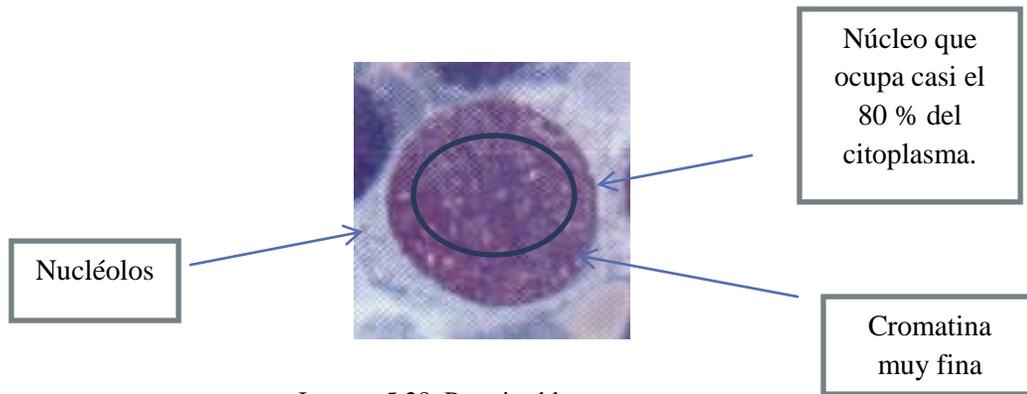


Imagen 5.28. Proeritroblasto en m.o.

b) Eritroblasto basófilo: Existe una gran semejanza entre esta célula y el proeritroblasto; su diámetro varía entre 10 y 16 μm , el núcleo es relativamente grande y los filamentos de cromatina son más gruesas, de modo que le confieren un aspecto más grueso; no suelen ver nucléolos (Imagen 5.29).

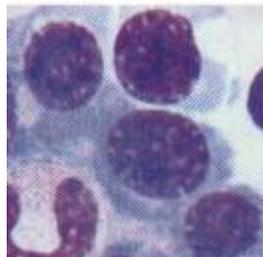


Imagen 5.29. Eritroblastos basófilos en m.o.

c) Eritroblasto policromático: En esta célula, que mide 8 a 14 μm de diámetro, el citoplasma presenta una reacción tintorial policromática, es decir, tendencia a tomar los colorantes básicos y ácidos, de modo que le imparte un tinte purpuro que se torna más acidófilo a medida de que la célula madura porque empieza a aparecer hemoglobina. El núcleo ocupa una parte relativamente más pequeña del total y disminuye el tamaño a medida que la célula envejece; ahora se tiñe intensamente y la cromatina está dispuesta en grumos.



Imagen 5.30. Eritroblasto policromático. Una de las características de esta célula a comparación de otra es su núcleo céntrico

d) Eritroblasto ortocromático: El citoplasma de esta célula, aunque es acidófilo, puede exhibir un ligero tinte policromático. El diámetro de esta célula varía de 8 a 10 μm y su núcleo es pequeño y todavía puede presentar una cromatina aglomerada muy gruesa que desaparece a medida que el núcleo disminuye de tamaño y eventualmente queda como una masa negra azulada homogénea sin estructura. Al madurar la célula el núcleo suele ser excéntrico y finalmente desaparece por expulsión, fragmentación o disolución. Esta célula se encuentra frecuentemente en sangre periférica cuando hay SMD (Ortega, 2002).

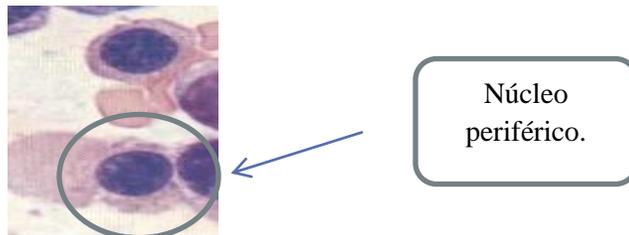
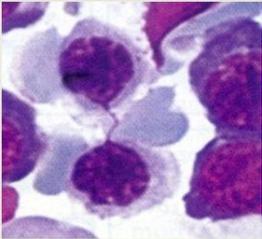
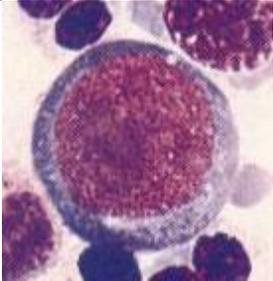
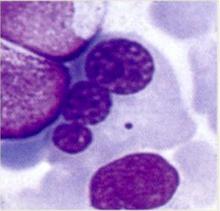
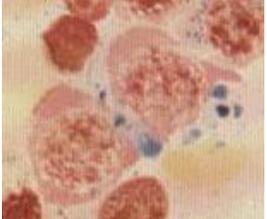
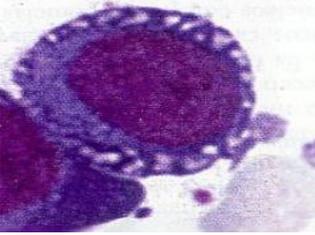


Imagen 5.31. Eritroblasto ortocromático. El núcleo estas células está más a la periferia debido a la expulsión de este.

Hay varias alteraciones morfológicas de eritrocitos que están en los SMD y algunas se pueden presentar en otras enfermedades (Tabla 5.6).

Tabla 5.6. Alteraciones morfológicas de eritrocitos en SMD_(Ortega, 2002).

Alteración	Imagen	Información
Puentes internucleares	 <p data-bbox="604 483 753 513">Imagen 5.32.</p>	Filamentos nucleares de cromatina entre dos eritroblastos, producto de una mala mitosis
Megaloblastosis	 <p data-bbox="531 834 825 906">Imagen 5.33. Megaloblasto basófilo.</p>	El tamaño de las células es más grande. Muchas veces se nota un núcleo normal con un citoplasma muy grande y más maduro de lo normal
Multinucleación	 <p data-bbox="512 1159 846 1188">Imagen 5.34. Multinucleación.</p>	Presencia de 2 o más núcleos en un eritroblasto. La cromatina de estos núcleos es muy fina y esta dispersada
Sideroblastos en anillo	 <p data-bbox="495 1446 861 1476">Imagen 5.35. Sideroblasto en m.o.</p>	Gránulos de hierro de color azul gracias a la tinción de Perls. Están alrededor del núcleo y se encuentran 10 como mínimo

<p>Vacuolas citoplasmáticas.</p>	 <p>Imagen 5.36. Eritroblasto basófilo vacuolado.</p>	<p>Son vacuolas que por lo general contienen líquido medular, agua, etc.</p>
<p>Fragmentación nuclear.</p>	 <p>Imagen 5.37. Eritroblasto ortocromático con núcleo fragmentado.</p>	<p>Es un solo núcleo pero puede estar fragmentado en 2 y hasta en 5 partes</p>
<p>Cariorrexis</p>	 <p>Imagen 5.38. Cariorrexis en un eritroblasto basófilo en m.o.</p>	<p>Condensación anormal del núcleo. Se pueden ver como palillos interpuestos entre sí</p>
<p>PAS positivo</p>	 <p>Imagen 5.39. PAS positivo.</p>	<p>Estas células suelen arrojar una intensa positividad difusa y granular de color rojo</p>

5.5.4.2. Serie leucocitaria y sus alteraciones morfológicas.

a) Serie granulocítica.

La maduración de esta línea celular se caracteriza por el desarrollo de unos gránulos citoplasmáticos específicos y por un cambio de la reacción tintorial del citoplasma de basófila a eosinófila, en cuya etapa los gránulos adoptan una mezcla de ambos elementos tintoriales. A medida que el núcleo madura, se torna lobulado, pero pueden estar en sangre periférica en un SMD, aun y sin estar maduras para salir; se desarrollan la motilidad y la fagocitosis. Las siguientes etapas de maduración son las que siguen los neutrófilos, eosinófilos y basófilos.

i) Mieloblasto: El tamaño de esta célula varía entre 15 y 20 μm de diámetro, el citoplasma puede ser agranular o exhibir unos pocos gránulos azurófilos según la etapa de desarrollo. Es moderadamente azul intenso en una reacción tintorial que puede ser dispareja, que a menudo es más clara en la región perinuclear. El núcleo es redondo u oval y ocupa cerca de las cuatro quintas partes del área total de la célula; la cromatina está en filamentos finos que se colorean de un intenso púrpura y tienen un aspecto reticular uniforme. Puede haber hasta seis nucléolos, pero lo usual es de dos a cinco; estos nucléolos son de tamaño mediano y suelen estar bien definidos, con un borde de cromatina bien marcado (Imagen 5.40).



Imagen 5.40. Mieloblasto en m.o.

ii) Promielocito: Esta célula, que mide de 22 a 25 μm de diámetro, es semejante al mieloblasto, salvo que el citoplasma contiene gránulos azurófilos que se tiñen de azul a púrpura rojizo. La cromatina nuclear es más gruesa que el mieloblasto y, si bien todavía hay nucléolos, no están bien definidos (Imagen 5.41; 5.42).

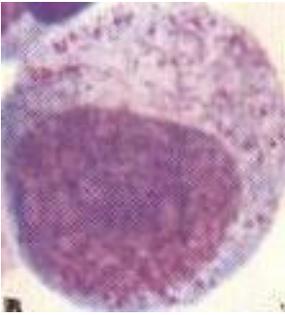


Imagen 5.41. Promielocito en m.o.

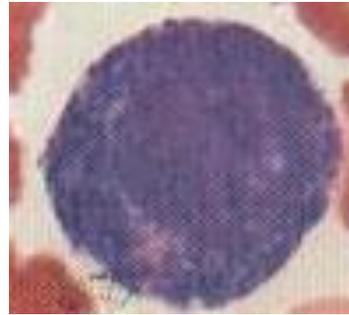


Imagen 5.42. Promielocito basófilo.

iii) Mielocito: Las diferencias entre esta célula y el promielocito radican en que los gránulos citoplasmáticos han adquirido su forma conforme a la célula que las contiene (neutrófilos, eosinófilos, basófilos), y los nucléolos desaparecen. Mide de 18 a 20 μm de diámetro, pero en su etapa inicial puede medir hasta 25 μm . El citoplasma adquiere el tono más rosado o más celeste de acuerdo a la célula. El núcleo es redondo u oval y la cromatina nuclear está más compacta y gruesa (Imagen 5.43).



Imagen 5.43. Mielocito en m.o

iv) Metamielocito: En esta etapa del desarrollo el citoplasma es rosado por completo (neutrófilos y eosinófilos) o más celeste (basófilo) y contiene gránulos semejantes al mielocito. El núcleo es más pequeño y un tanto hendido (aspecto reniforme); puede haber una considerable variación en el tamaño de la célula, desde 14 hasta 20 μm de diámetro (Imagen 5.44).



Imagen 5.44. Metamielocito en m.o.

v) Célula en banda: Por lo general, más pequeña que el metamielocito, ésta célula posee un núcleo en forma de U cuya cromatina es gruesa y aglomerada. A veces se le describe como forma “en cayado” (Imagen 5.45).



Imagen 5.45. Célula en banda en m.o.

b) Serie linfoide.

En la médula ósea hay varios folículos linfoides primarios que van a dar origen a los linfocitos; su evolución varía con las células granulocíticas y los monocitos.

i) Linfoblasto: La célula primitiva de esta serie es el linfoblasto, a partir del cual se desarrollan los linfocitos grandes y pequeños. Esta célula, que semeja a un mieloblasto en cuanto a su estructura general, mide de unos 15 a 20 μm de diámetro, posee un citoplasma no granular que se tiñe de azul oscuro en la periferia y más claro en el centro. El núcleo es grande, pues suele ocupar las cuatro quintas partes del área celular, y la cromatina está dispuesta en forma reticular y tiende a ser punteada; por lo general posee uno o dos nucléolos (Imagen 5.46).



Imagen 5.46. Linfoblasto en m.o.

ii) Prolinfocito: Esta célula es más pequeña que su precursora y presenta una banda ancha de citoplasma azul, la cromatina nuclear tiende a aglomerarse y no se detecta un nucléolo definido. Como la transición de linfoblasto a linfocito es breve, el término “prolinfocito” no reviste mucha significación (Imagen 5.47).



Imagen 5.47. Prolinfocito en m.o.

c) Serie monocítica.

Este tipo de células se forman principalmente en el bazo, tejidos linfoides, y en poca proporción la médula ósea.

i) Monoblasto: Esta célula primitiva que mide de 18 a 22 μm de diámetro, tiene un aspecto muy similar al mieloblasto, excepto que su citoplasma suele ser más claro y que la cromatina nuclear es menos definida; pueden observarse varios nucléolos (Imagen 5.48).



Imagen 5.48. Monoblasto en m.o.

ii) Promonocito: El tamaño de la célula es variable, por lo general de unos 20 μm de diámetro, su citoplasma es azul grisáceo y puede contener uno finos gránulos azurófilos. El núcleo es grande y por lo general contorneado, de modo que tiene un aspecto plegado; la cromatina suele ser laxa, semejando una red, y no se ven nucléolos definidos (Imagen 5.49)

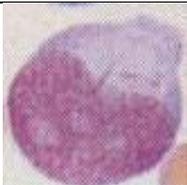
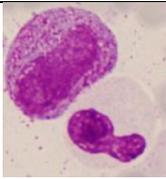
(Ortega, 2002).

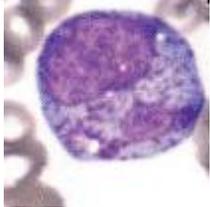
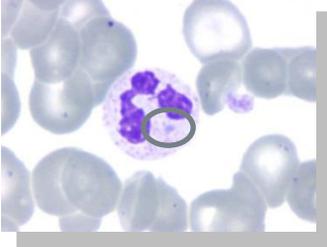
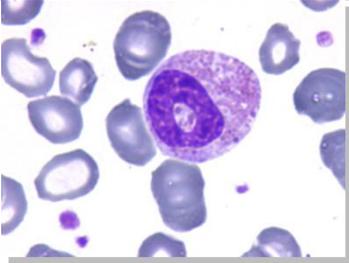


Imagen 5.49. Promonocito en m.o.

Las anomalías de la línea leucocitaria más frecuentes en los SMD son los bastones de Auer y los cuerpos de Döhle, no obstante, éstas pueden aparecer en otras enfermedades (Tabla 5.7).

Tabla 5.7. Anormalidades de granulocitos en m.o (Ortega, 2002).

Alteración	Imagen	Información
Agranulación o hipogranulación	 <p data-bbox="506 488 846 565">Imagen 5.50. Metamielocito sin gránulos.</p>	No se producen gránulos que contienen varios elementos para su función de defensa
Células gigantes	 <p data-bbox="516 820 833 896">Imagen 5.51. Metamielocitos gigantes</p>	Aumento del tamaño promedio de las células. El núcleo puede estar aumentado de tamaño o normal
Cuerpos o Bastones de Auer	 <p data-bbox="510 1112 840 1188">Imagen 5.52. Mielocito con un Bastón de Auer.</p>	Prolongaciones del núcleo en forma de bastones de color azul en citoplasma presentes en los linfocitos. Rasgo característico de la AREB- 2 y en la LMA-2
Desgranulación	 <p data-bbox="548 1388 802 1464">Imagen 5.53. Mielocito desgranulado en m.o.</p>	La desgranulación ocurre en medula osea, aun y sin que haya antígenos que den la señal para desgranularse. Esto puede ser toxico para la medula osea y matar otras células

<p>Displasia nuclear</p>	 <p>Imagen 5.54. Promielocito con displasia nuclear en m.o.</p>	<p>Estas displasias pueden ser lobulación del núcleo, cromatina muy dispersa, nucléolos más de la cuenta etc.</p>
<p>Cuerpos de Döhle</p>	 <p>Imagen 5.55. Cuerpo de Döhle en un neutrófilo en m.o.</p>	<p>Son vestigios de R.E.R en etapas tempranas de su maduración. La mayoría están en la periferia de la célula</p>
<p>Anillos en el núcleo</p>	 <p>Imagen 5.56. Precursor del eosinofilo con un anillo en el nucleo.</p>	<p>Son huecos que se producen en el núcleo a causa de una mala condensación de la cromatina</p>

5.5.4.3. *Serie megacariocítica y sus alteraciones morfológicas.*

a) Megacarioblasto: La célula primitiva de esta serie tiene un diámetro de 25 a 30 μm ; su citoplasma, que se tiñe de color azul intenso, suele consistir solo en una orilla irregular en torno del núcleo grande, que suele ser oval o reniforme, aparte, la cromatina nuclear está mal definida y contiene varios nucléolos muy azules que suelen ser indefinidos. En la médula ósea normal esta célula representa menos del 1 % de toda la estirpe megacariocítica y, por ende, es difícil encontrarla. Pueden observarse megacarioblastos con dos, tres o cuatro núcleos por causa de la división mitótica del núcleo sin las respectivas divisiones del citoplasma; ésto es normal en esta célula (Imagen 5.57).

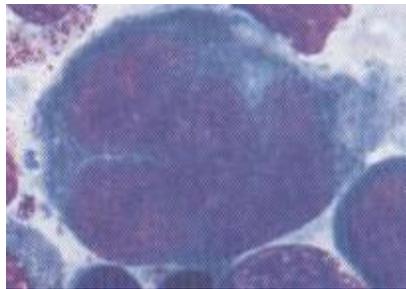


Imagen 5.57. Megacarioblasto en m.o.

b) Promegacariocito: Es mucho más grande que el megacarioblasto, su citoplasma puede tener un aspecto finamente granular y tiene una reacción tintorial basófila con la tinción de Giemsa. El núcleo es grande y su cromatina consiste en filamentos gruesos y entrelazados sobre un fondo con mayor claridad (Imagen 5.58).

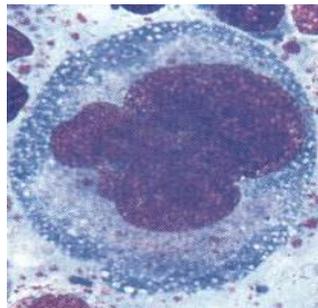


Imagen 5.58. Promegacariocito en m.o.

c) Megacariocito: Esta es la célula más grande de la médula ósea y puede medir desde 40 hasta 100 μm de diámetro, el citoplasma es voluminoso y contiene muchos gránulos

azurófilos que están bien delimitados. El margen de esta célula es irregular y en las etapas avanzadas de la maduración exhibe diferenciación de plaquetas granulares en estructuras a modo de pseudopodos. El núcleo de esta célula es pequeño en comparación con el volumen del citoplasma, suele ser multilobulado, con una cromatina gruesa intensamente teñida (Imagen 5.59) (Ortega, 2002).

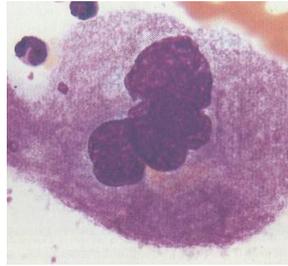
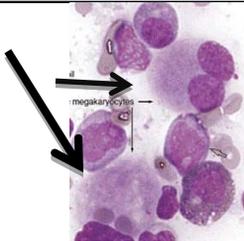
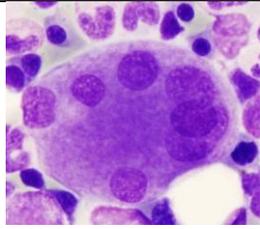
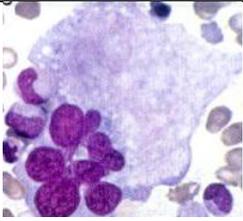
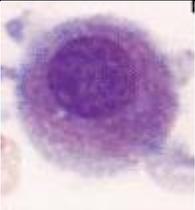


Imagen 5.59. Megacariocito en m.o.

Las alteraciones en SMD siempre van a estar presentes en los megacariocitos (Tabla 5.8), pero deben de ser revisados varios frotis para observar éstas células, debido a la pobre existencia de megacariocitos en médula ósea.

Tabla 5.8. Alteraciones de megacariocitos.

Alteración	Imagen	Información
Micromegacariocitos	 <p>Imagen 5.60. Micromegacariocitos en m.o.</p>	<p>Son megacariocitos que miden aproximadamente 25 μm de diámetro. Sus núcleos no están maduros como deberían.</p>
Núcleos dispersos	 <p>Imagen 5.61. Núcleos dispersos en megacariocito en m.o.</p>	<p>Suelen haber más de un núcleo en un megacariocito, y están dispersos por varias zonas del citoplasma.</p>
Hipersegmentación del núcleo	 <p>5.62. Hipersegmentación del núcleo en m.o.</p>	<p>Hay varias segmentaciones del núcleo. La cromatina suele estar dispersa como el megacarioblasto</p>
Megacariocitos monolobulados	 <p>Imagen 5.63. Megacariocito unilobulado en m.o.</p>	<p>Estas células contienen un núcleo parecido al de un linfocito. Es redondo u ovalado, y es pequeño en relación al citoplasma.</p>

5.5.5. Citoquímicas.

5.5.5.1. Introducción.

Tradicionalmente, además de los aspectos clínicos (signos y síntomas), el diagnóstico de patologías oncohematológicas como las leucemias, los linfomas y las gammopatías malignas

(ej. mieloma múltiple) y SMD, se radicaba fundamentalmente en el estudio citológico de sangre periférica y de médula ósea (hemograma y mielograma, respectivamente) y/o biopsia de médula ósea y/ o ganglios linfáticos, según la enfermedad.

Actualmente, debido al avance en el conocimiento fisiopatológico de estas patologías, como también por los nuevos esquemas terapéuticos, se requiere, sin dejar de lado la citología y el estudio morfológico, varias metodologías como son: histoquímica, el estudio citogenético, la biología molecular, la citometría de flujo, etc.

En el campo de la hematología, el diagnóstico citológico de las leucemias y otras neoplasias se ha basado en la aplicación de técnicas de tinción de tipo Romanowsky, que utilizan eosina y azul de metileno en solución para resaltar las estructuras celulares; una de ellas es la tinción May Grünwald – Giemsa (MGG), desarrollada por Ehrlich en 1891. A pesar de los avances en otras técnicas para precisar el diagnóstico de las neoplasias hematológicas como la citogenética, citometría de flujo y biología molecular, el examen microscópico detallado del frotis de sangre periférica y médula ósea teñidos con el método habitual de MGG siguen siendo fundamentales (BUAP, 2007).

La microscopía sola puede dar un diagnóstico definitivo de leucemia mieloide aguda (LMA) o de los síndromes mielodisplásicos (SMD) y un diagnóstico provisorio de leucemia linfoblástica aguda (LLA) que requiere confirmación inmunofenotípica. La microscopía también es crucial en el diagnóstico de la leucemia mieloide crónica y es necesaria en el diagnóstico de otros síndromes mieloproliferativos (SMP). También es importante en los síndromes linfoproliferativos (SLP) pero puede ser insuficiente si no se complementa con el inmunofenotipo.

Actualmente existe un amplio número de tests citoquímico enzimáticos e histoquímicos aplicados a la hematología y esto impide, a veces, comparar resultados obtenidos en diferentes laboratorios. El empleo de varios métodos citoquímicos en la caracterización de las neoplasias hematológicas es laborioso y en ocasiones no resulta útil; por esta razón el Comité de Estandarización en Hematología recomienda un número limitado de procedimientos esenciales.

Las técnicas recomendadas incluyen la reacción de peroxidasas, fosfatasas alcalinas, fosfatasas ácidas, estearasas no específicas y cloroacetato estearasas, además de la tinción de Perls para estudiar las reservas de hierro(Laboratorio Clínico, 2007).

En los laboratorios que disponen de citometría de flujo para el estudio inmunofenotípico, la citoquímica se emplea como complemento ocasional en los casos difíciles de clasificar.

Existen varios tipos de citoquímicas que nos pueden ayudar al diagnóstico del SMD:

- a) Citoquímica clásica: Se fundamenta en reacciones coloreadas que pueden observarse e interpretarse con el microscopio óptico común.
- b) Citoquímica electrónica: Se caracteriza por ser una metodología de elevada sensibilidad.
- c) Citoquímica fluorescente: puede o no ser inmunocitoquímica, se fijan sobre distintas estructuras de las células y al ser excitadas por luz UV producen fluorescencias de distintos colores
- d) Inmunocitoquímica no fluorescente: Se basa en la marcación de anticuerpos con sustancias que son capaces de dar reacciones citoquímicas intensamente coloreadas que permiten su revelación.

Su estandarización incluye varios pasos que se deben de seguir con mucha precaución si se quiere obtener un resultado confiable y entre los pasos a seguir están la preparación estricta de los reactivos, prácticas permanentes de las reacciones con preparados testigos, realización, la fijación y conservación adecuada de los preparados y reactivos, determinación de tiempos exactos para cada uno de los pasos, determinación de la temperatura (especial para enzimas), tiempo y condiciones de la inmersión para la lectura y, diámetros y conservación idóneos de los elementos sobre los cuales se lleva a cabo la determinación(Zakarija, 2005).

5.5.5.2. Citoquímicas usadas en SMD.

- a) Tinción de PAS (Peryodic Schiff Acid): Se basa en la rotura de los enlaces -C-C- presentes en los carbohidratos por la acción del ácido peryódico, potente agente oxidante, liberándose grupos aldehído que al combinarse con el reactivo de Schiff dan un compuesto de color rojo púrpura intenso.

Los resultados son células positivas (+) con patrón difuso fucsia intenso, lacunar y granular de acuerdo a la progenie.

i) Serie granulocítica normal: (+) difusa en toda la seriemieloide

ii) Basófilos: (+) con patrón lacunar o (-) hasta un 50%

ii) Serie eritroide normal: negativa.

iv) Serie megacariocítica normal: (+) en plaquetas con un patrón difuso más granular o bloques.

v) Precursores linfoides: (-), hasta llegar a linfocito en el que un 30% es (+) en corona de gránulos.

Esta citoquímica se usa en eritrocitos que se sospechan ser PAS (+), siendo su resultado negativo normalmente (Imagen 5.64).

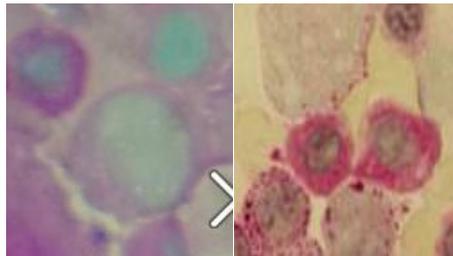


Imagen 5.64. A la izquierda se muestra varios eritroblastos normales PAS (-) con un núcleo verde azulado y el citoplasma de rosa a violeta. A la derecha se muestra varios eritroblastos PAS (+) con gránulos difusos color rojo y un núcleo gris azulado.

b) Fosfatasa alcalina granulocitaria (FAG): Esta citoquímica se realiza en caso de que haya citopenia y con ausencia de displasia significativa; se evalúa si hay alteración granulocitaria en neutrófilos, basófilos y eosinófilos. La FAG es una fosfomonoesterasa que es activa francamente a pH alcalino y actúa sobre grupos ésteres fosforados liberando el ion fosfato. Se encuentran actividad FA en algunas células maduras y semimaduras de la granulopoyesis neutrofílica (segmentados y bandas). La actividad granulocítica de la FA se manifiesta en forma de un precipitado de color pardo negruzco localizado en el citoplasma (Imagen 5.65).

La actividad de la FA granulocítica es marcadora de la granulación específica de los neutrófilos; inicialmente se pensó que la FA estaba localizada en gránulos específicos (secundarios), pero se demostró que está asociada con un componente membranoso del citoplasma identificado como una estructura tubular de forma irregular distinta de los gránulos 1 o 2 y de otros organelos citoplasmáticos.

Para evaluar la actividad de la FAG se deben contar 100 células del frotis y, observar el color y número de gránulos en el citoplasma. El criterio de lectura se basa en punto y de acuerdo a la puntuación la FAG reacciona de diferentes formas.

- i) Grado (0 puntos): sin reacción.
- ii) Grado I (1 punto): coloración difusa o con pequeños puntos coloreados.
- iii) Grado II (2 puntos): difuso con un número moderado de gránulos.
- iv) Grado III (3 puntos): mayor granulación oscura, tiñe todo el citoplasma.
- v) Grado IV (4 puntos): gránulos completamente oscuros y abundantes.

A partir de ahí se multiplicará el número de células contadas por el valor de puntuación de las células para posteriormente hacer la suma total de estas puntuaciones. El valor de referencia depende de la marca comercial del kit para realizar la FAG, pero normalmente esta entre los 30 hasta 190 puntos (Laboratorio clínico, 2007).

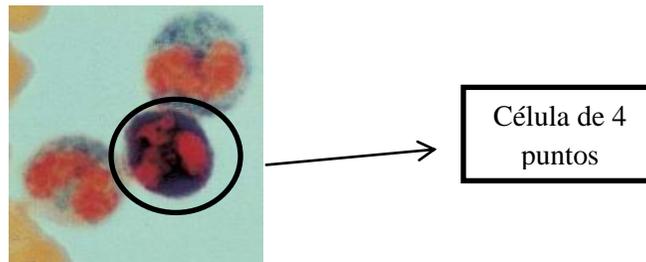


Imagen 5.65. Neutrófilos que muestran distintas reacciones en intensidad. La célula central es de 4 puntos, mientras que las otras dos están entre los 2 y 3 puntos.

5.6. PRUEBAS INMUNOLOGICAS DE DIAGNÓSTICO.

5.6.1. Citometría de flujo (CF).

5.6.1.1. Aplicación del citómetro 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 acuerdo debido a lo heterogéneo de los padecimientos y la escasa información que se tiene al respecto (Malcovati, 2009). Las técnicas para su evaluación deben de ser estandarizadas para su correcta interpretación y que exista concordancia entre los diferentes laboratorios que realicen el estudio de los SMD con esta tecnología.

Un estudio en el 2001 demostró la utilidad de la citometría de flujo para el diagnóstico de los SMD sentando las bases y abrió el campo de la citometría de flujo para la evaluación de la displasia en la médula ósea. Dicho análisis demostró que exhiben aberraciones algunos antígenos expresados en pacientes con displasia en médula ósea, es decir, las células tienen antígenos anormales o bien carecen de algunos antígenos observados normalmente en las células hematopoyéticas (Stetler et. al., 2001).

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 en células CD34+. Aunque fue útil en demostrar correlación entre la citomorfología con la cuenta de blastos, no se recomienda usar de forma rutinaria la cuenta del conteo aislado de blastos en la práctica, 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 (Orfao, 2004).

Hoy en día 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 post-trasplante; sin embargo, no existen estudios con el número suficiente de casos para realizar una adecuada validación de resultados (Wells, 2003).

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

La citometría de flujo determina de manera cualitativa y cuantitativa las aberraciones que se presentan en cada una de las células que componen el sistema hematopoyético y estas alteraciones o aberraciones son la displasia.

En un estudio se realizó un análisis multiparamétrico de las células mieloides y monocíticas por CF de 115 pacientes con SMD, comparando con 114 pacientes con otros desordenes y 25 donadores de sangre sanos, con la intención de proponer un sistema de puntuación por CF (FCMSS Flow Citometry Myelodysplastic Scoring System) que correlacionara con el IPSS y el resultado post-trasplante de los pacientes candidatos a ello; incluyendo dentro de esta puntuación características como estos:

- a) Granularidad anormal de los neutrófilos en el análisis de complejidad: SSC.
- b) Expresión anormal del CD45 para identificar problemas en la maduración.
- c) Relación de expresión del CD11b y la expresión de HLA-DR en células mieloides, monocíticas o ambas.
- d) Expresión anormal del CD13 y CD16 en las células mieloides y monocíticas.
- e) Expresión aberrante del CD56 en células mieloides y monocíticas.
- f) Expresión homogénea del CD33 en células mieloides y monocitos.
- g) Presencia de CD34 en células mieloides maduras o monocitos.
- h) Presencia de antígenos linfoides en células mieloides maduras o monocitos.
- i) Ausencia de CD13, CD33 o CD14 en monocitos, presencia de mieloblastos anormales y finalmente alteración en la proporción mieloides/ linfoides a nivel de la médula ósea.

Este estudio presenta un enfoque en el que la CF es una herramienta de diagnóstico para el clínico que ofrece una apreciación de la displasia, como “la distancia que existe de los normal”, es decir, cuantas y cuales aberraciones presenta la mielodisplasia de cada paciente en particular y comparado con lo normal, esto representado en relación a la suma de las

aberraciones a nivel global obtenidas por medio de un panel estándar de antígenos (Del Cañizo, Fernandez, Lopez, et. al., 2003).

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 normal. Se enfatiza también en los casos que no tienen características displásicas típicas por morfologías como blastos o sideroblastos en anillo y que no tiene 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 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.

En otro estudio se han encontrado mayor incidencia de aberraciones a nivel de CD15, CD11b y CD56. 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 carece de características como blastos o alteraciones citogenéticas y que la CF permite discernir si existe displasia o no.

Debido a la importancia que se reconoce para el estudio de los SMD por CF, se aprobó su uso como herramienta diagnóstica en estos padecimientos. Es por eso que muchos investigadores se han dado la tarea de estandarizar el análisis, 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 además se debe de descubrir CD para varias células como lo megacariocitos, pues la información que se tiene es demasiado pobre (Ribeiro, 2006).

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

El definir algunas alteraciones de forma temprana puede marcar la diferencia en cuanto al curso de la enfermedad y definir, por ejemplo, cuando una anemia refractaria con o sin sideroblastos en anillo presentan a su vez marcadores ajenos a la línea eritroide, no sería factible de otra forma. Es posible además, tomar decisiones terapéuticas o bien cambios en los tratamientos ya iniciados, como el empleo o cambio de agentes inmunomoduladores o hipometilantes en los SMD de bajo riesgo o intermedio 1 (Wells, 2003).

En el análisis del pronóstico para los SMD por medio de la CF se han encontrado múltiples alteraciones que tienen gran relevancia: el número de células CD34+, la presencia de precursores con aberraciones CD34+/CD117+ (mayor riesgo de progresión a leucemia), el decremento en el número de neutrófilos maduros y precursores eritroides CD34- y, disminución en el número de células eritroides nucleadas CD36-. Resumiendo lo anterior encontramos que la CF aporta información relevante y objetiva de la biología de cada SMD en particular, por lo que tiene la calidad y utilidad para ser incluida en la valoración pronóstica de los SMD, sin embargo, la gran limitante continua siendo el hecho de que no hay estudios suficientes de validación (Ribeiro, Matarraz, Santiago, Lima, et al, 2006).

5.7. PRUEBAS GENÉTICAS, MOLECULARES Y CITOGENÉTICAS PARA EL DIAGNÓSTICO.

5.7.1. Introducción.

La base molecular que se ha descubierto en los SMD ha sido solo el comienzo para comenzar a elucidar y unificar temas que anteriormente se eludían; se ha avanzado con pruebas que podrían detectar varios mecanismos que influyan al ambiente de la displasia y se han encontrado varios tratamientos relacionados con la genética de los SMD. A pesar de eso, aun no se han encontrado todas las alteraciones genéticas que influyen en los precursores hematopoyéticos para provocar la proliferación excesiva en la médula ósea (Palomo, Pereira y Palma, 2009).

5.7.2. Citogenética metafásica.

El cariotipo convencional se realiza en células metafásicas (generalmente con tinción de Giemsa, por bandeado G), que permite un vasto pero muy útil reconocimiento grande del genoma. Típicamente, la evaluación del bandeado G de 20 células metafásicas revela muchas translocaciones grandes, deleciones y aumento de cromosomas; cuando se interpreta en el

contexto de la historia clínica, hallazgos hematológicos, y rasgos histopatológicos, el cariotipo convencional es central en el diagnóstico y clasificación exacta de los SMD; hoy en día, el cariotipo es uno de los estudios más importantes para el pronóstico (Tabla 5.9).

La descripción del cariotipo y sus alteraciones deben seguir las normas del ISCN; éste sistema contiene representaciones esquemáticas de los cromosomas con numeración de las bandas a lo largo de cada brazo cromosómico desde el centrómero hacia fuera. El brazo corto se designa p y el brazo largo q; en el núcleo de una célula humana existen 46 cromosomas, 22 pares de autosomas y dos cromosomas sexuales, X e Y; el cariotipo de una célula normal femenina es 46, XX y el de una normal masculina 46, XY.

Con entrenamiento se puede reconocer cada par cromosómico por su tamaño, ubicación del centrómero, forma y patrón de bandeado, identificando cada par cromosómico y comparar ambos homólogos para detectar diferencia en tamaño y bandas. Tales diferencias pueden indicar pérdida, ganancia o intercambio de material cromosómico, en definitiva de DNA (Olney y Le Baeu, 2007).

Las anomalías cariotípicas son detectadas por el análisis de las células metafásicas en aproximadamente el 50 % de los casos con SMD de novo, y son más frecuentes con los pacientes con SMD secundarios (aproximadamente el 80 % de los casos). Entre estas anomalías que se pueden encontrar en el cariotipo las más comunes son la trisomía 8, del (5q) (Imagen 5.69), y monosomía 7.

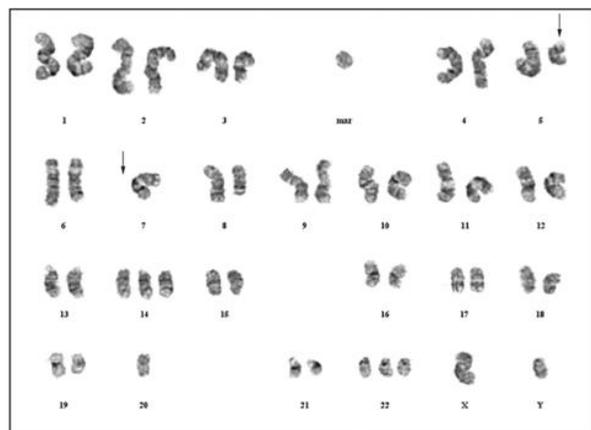


Imagen 5. 69. Cariotipo que nos muestra la deleción de 5q.

Tabla 5.9. Pronóstico citogenético (Odenike, 2011).

CITOGENÉTICA
<p>Citogenética favorable</p> <p>Normal</p> <p>del(11 q)</p> <p>del(5q) sólo</p> <p>del(20q) sólo</p> <p>-Y</p>
<p>Citogenética intermedia</p> <p>del(7q)</p> <p>+8</p> <p>+19</p>
<p>Citogenética desfavorable</p> <p>-5</p> <p>-7/del(7q)</p> <p>inv(3)(q21q26)</p> <p>t(6;9)(p23;q34)</p> <p>Más de 3 anormalidades juntas.</p>

5.7.3. Hibridación in situ fluorescente (FISH).

El FISH es un método molecular para determinar alteraciones citogenéticas, incluyendo trisomías, pérdidas y translocaciones cromosómicas. Las sondas específicas para alguna secuencia del ADN necesita tener células en metafase; la muestra que contenga estas células deben estar fijadas con parafina o formalina. Este estudio permite ver la detección de aberraciones que son pequeñas o que están escondidas y que son invisibles para el cariotipo.

Algunos clínicos han especulado que esta prueba debería de ser el remplazo del cariotipo convencional como primer método para la clasificación y pronóstico de los SMD. Sin embargo, otros han rechazado esta propuesta pues se ha encontrado que solo se centra un 70 % de anormalidades citogenéticas; otros estudiosos han propuesto que se deben de

complementar una técnica con la otra, pues el FISH puede encontrar rasgos diminutos que el cariotipo no puede (Grant y Bagg, 2014).

El método se basa en la unión, en forma complementaria, de una secuencia de nucleótidos denominada sonda, a una secuencia blanco específica de DNA o RNA en la célula; la sonda está marcada con un fluorocromo y los sitios donde se une, se visualizan en la observación al microscopio de fluorescencia. Se utilizan células fijadas, que han tenido un procedimiento de cosecha como para un estudio citogenético convencional y son goteadas sobre un portaobjetos; se someten a desnaturalización del DNA con formamida y luego se dejan en contacto con la sonda específica (hibridación); después de unas horas se observan las señales de fluorescencia esperadas (Imagen 5.70)

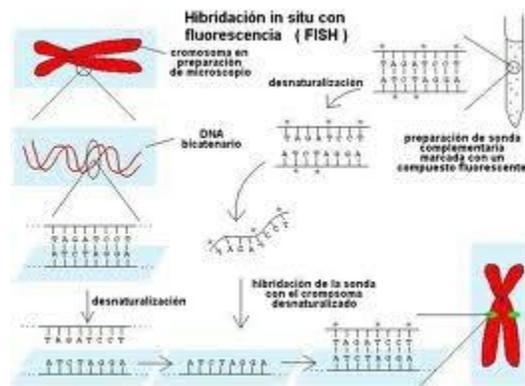


Imagen 5.70: Procedimiento del FISH.

Existen distintos tipos de sondas que se pueden adquirir comercialmente y varias se pueden utilizar en el diagnóstico hematológico.

a) Centroméricas específicas para cada cromosoma. Detectan secuencias repetitivas tipo alfa o beta satélite, ubicadas en el centrómero del cromosoma; se usan para detectar anomalías cromosómicas numéricas.

b) Sondas cromosómicas: Son mezclas complejas de secuencias que cubren un cromosoma completo; su utilidad se restringe al análisis metafásico. Se usan para aclarar mejor las alteraciones complejas encontradas con el estudio citogenético convencional.

c) Sondas locus específicas. Detectan alteraciones estructurales como translocaciones, inversiones y deleciones específicas.

El FISH convencional sólo puede dar respuestas a preguntas precisas a investigar y generalmente requiere algún conocimiento previo del cariotipo. Con el advenimiento reciente del FISH multicolor que permite visualizar los 23 pares cromosómicos en diferentes colores, la citogenética alcanza una mejor definición del cariotipo; el beneficio mayor de este desarrollo será la identificación de nuevas alteraciones y su correlación con la clínica.

Muchas de las innovaciones recientes están relacionadas a la automatización, pues los equipos de microscopio con cámaras y programas para captura, y manipulación de imágenes harán disminuir los aspectos más laboriosos del análisis citogenético (Romeo, 2002).

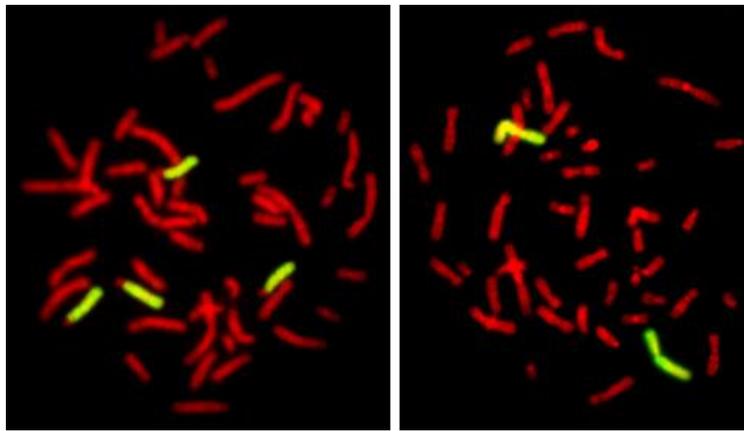


Imagen 5.71. Resultados de una FISH marcando la parte que se desea visualizar.

5.7.4. Hibridación genómica comparativa (CGH).

La CGH, otro avance molecular, es una herramienta útil para la variación del ADN en varias copias en una muestra, además de que es analíticamente es más sensible que el cariotipo. Este estudio también es utilizado como un complemento del análisis de células metafásicas, ya que puede encontrar anomalías escondidas, pérdida y duplicación de cromosomas en cariotipos que aparentemente son normales (Kolckist, 2011).

Cada región incluida en los microarrays está representada por 3 o 4 clones, y es estudiada en duplicado; las muestras de los pacientes estudiados son procesadas para extracción de DNA y luego mezcladas con una muestra control de DNA de un individuo normal. La combinación de ambas muestras en cantidades iguales es previamente marcada con fluorocromos que permiten su detección posterior; la muestra es luego hibridada en el

microarray. El microarray utilizado contiene los clones de interés que han sido adheridos a la superficie del vidrio mediante un proceso de siliconización, luego de la hibridación y lavado, la detección de la señal fluorescente es efectuada por una escaneadora automática; los datos obtenidos son analizados con un programa que permite la normalización de los clones con respecto a la muestra del paciente y el control. Se establecieron rangos de variación para facilitar el análisis y determinar la presencia de deleciones, duplicaciones o variantes polimórficas^(Thiel, Beie, 2011).

Una ventaja que se podría considerar en el diagnóstico de los SMD es la identificación de anomalías que difícilmente son detectadas con técnicas de análisis convencional, como en el caso de las microduplicaciones, que son raramente visibles aún con FISH en células en metafase y que requieren estudios de FISH en células de interfase.

5.7.5. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

PCR son las siglas en inglés de Polymerase Chain Reaction o Reacción en Cadena de la Polimerasa. La idea de la técnica es sintetizar muchas veces un pedazo o fragmento de ADN utilizando una polimerasa que pueda trabajar a temperaturas muy elevadas, que proviene de la bacteria *Thermus aquaticus* (vive a altas temperaturas de 79°C a 85°C), de ahí su nombre comercial más conocido: taq polimerasa. Esta técnica tiene muchísimas aplicaciones distintas y se ha convertido en una herramienta muy importante en la biología molecular; sus aplicaciones van desde la genética de poblaciones, evolución molecular y genómica hasta la medicina forense. En el campo de los SMD puede descubrir mutaciones genéticas puntuales en JAK2 (cuando hay pacientes con trombocitopenia), alteraciones de PDGFRA, PDGFRB y FGFR1 en casos con eosinofilia, estudio del gen HUMARA en mujeres con ICUS, TP53 y reconocer translocaciones cromosomales. La PCR no solo se puede aplicar en esto sino también en leucemias, linfomas síndromes linfoproliferativos, entre otras cosas ^(Palomo, Pereira, y Palma, 2009).

5.7.5. Pruebas de polimorfismos de nucleótidos sencillos (SNP).

La exploración del genoma por SNP arrays puede detectar una pérdida o una ganancia del número de copias de un gen y la pérdida de heterocigosidad en regiones cromosómicas citogenéticamente normales; por ejemplo, un estudio demostró que las supresiones o ampliaciones homocigóticas son poco frecuentes en los Síndromes Mielodisplásicos,

mientras que las supresiones heterocigóticas ó regiones con disomía uniparental (ambos alelos de un gen derivado del mismo progenitor), se podían detectar en varios cromosomas, incluyendo por ejemplo una región en el cromosoma 3, que contiene la enzima 5-aminolevulinato sintetasa, implicada en la síntesis del hem (Odenike, 2011).

CAPITULO 6. COMPLICACIONES DE LOS SINDROMES MIELODISPLÁSICOS.

6.1.INTRODUCCIÓN.

Las complicaciones que se presentan en pacientes con SMD por lo general tienen que ver con las consecuencias relacionadas con la displasia, y para entender mejor, con la producción anormal de células hematopoyéticas. Los eritrocitos, leucocitos y plaquetas, tienen una función en específico que ayuda a mantener la homeostasis (equilibrio) del cuerpo y otra célula no podría hacer lo mismo que pueden hacer las células hematopoyéticas, por lo que en el momento que llegan a fallar puede haber alteraciones funcionales muy graves. La displasia también nos puede llevar a un LMA en donde el problema sería más serio, y por lo tanto, el paciente requerirá de más cuidados intensivos.

6.2. ANEMIA.

Es la disminución de la concentración de hemoglobina, el hematócrito, y/o el número de glóbulos rojos, por debajo de los valores considerados normales para la edad, el género y la altura a la que se habita. En sí la anemia o el cuadro anemia es un conjunto de síntomas y no una enfermedad definida, por ello al sospechar de anemia, ya sea por un examen de laboratorio o por la clínica, se debe de avanzar en el diagnóstico y determinar la causa, ya que el tratamiento es diferente en cada caso (Roberts y Vassiliou, 2002). Los pacientes con SMD por lo general tienen anemia normocrómica y normocítica o macrocítica y también de carácter regenerativo.

En la aparición de los síntomas influyen varios factores, entre ellos es importante el tiempo en que se desarrolla la anemia; una anemia que se instala en forma lenta puede que no presente síntomas o éstos sean muy leves; en cambio frecuentemente los provoca aquella de instalación brusca. Otros factores que influyen en la aparición de síntomas son la edad y el estado previo de salud.

Los signos que suelen apreciarse en la exploración física de los pacientes con anemia son:

- Palidez: secundaria a la disminución de aporte de sangre a la piel para aumentarla en otros órganos más vitales.

- Taquicardia: mecanismo compensador del corazón; a veces también soplo cardíaco funcional.
- Taquipnea: aumento de la frecuencia respiratoria, astenia.
- Hipotensión: manifestación de la pérdida de volumen sanguíneo en casos de anemia aguda.
- Manifestaciones neurológicas: Cefalea, mareo, vértigo, somnolencia, confusión, irritabilidad, ruidos en los oídos (tinnitus)

Hay diversos mecanismos compensadores que se ponen en marcha en el paciente anémico, entre ellos una disminución del consumo de oxígeno por cambios metabólicos; el incremento en el riego tisular por cambios en la actividad vasomotora y la angiogénesis; un aumento en el gasto cardíaco, el cual en una persona previamente sana no se incrementa hasta que la hemoglobina cae por debajo de los 7 g/dl (Glader, 2004).

Las anemias de los SMD son refractarias, es decir, que su origen es desconocido hasta que se practica el aspirado y la médula ósea; son muy persistentes, pues pueden durar hasta años aun con varios tratamientos y transfusiones.

6.3. INFECCIONES.

Por lo general los defectos funcionales de los granulocitos suelen pasar por las anormalidades morfológicas de los SMD como la hipogranulación, fagocitosis ineficaz, una producción deficientes de intermediarios de oxígeno, y por lo tanto, actividad baja bactericida y fungicida. Además, la baja de producción de granulocitos y linfocitos pueden contribuir a tener infecciones recurrentes virales, fúngicas y bacterianas (Marisavljevic, Kraguljac, Rolovic, 2006).

Otra de las causas que puede intervenir favorablemente en las infecciones puede ser la sobrecarga de hierro libre y puede intervenir en dos formas:

- 1) Algunas bacterias como *Yersinia enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*, y *Legionella pneumophila*, usan al hierro en el metabolismo para crecer, por lo cual pueden ser peligrosas cuando hay cargas excesivas de este mineral.

2) El exceso de hierro libre perjudica la resistencia a una infección, inhibiendo los complejos sistemas de protección como el de IFN-gamma, TNF-alpha, IL-12, formación de óxido nítrico, y altera las funciones de los linfocitos T, neutrófilos y macrófagos.

No hay una incidencia clara sobre las infecciones en SMD a la largo de la enfermedad y su tratamiento, pero existen estudios que demuestran otras causas que pueden contribuir a las infecciones como la quimioterapia, trasplante alogénico, linfocitos disfuncionales, etc.; entre los microorganismos más frecuentes están las enterobacterias, *Staphylococcus aureus*, micobacterias, *Aspergillus. spp.*, *Pneumocystis*, Influenza, VIH y Parvovirus B19 (Toma, Fenaux, et al, 2012).

6.4. PROBLEMAS ASOCIADOS A LA PLAQUETAS.

La trombocitopenia y las plaquetas disfuncionales pueden contribuir a complicaciones hemorrágicas observadas en SMD. Los estudios serios sobre las consecuencias clínicas de la trombocitopenia aún son muy escasos, sin embargo, se han presentado casos que se presentan con sangrados inexplicables y duraderos que tienen una trombocitopenia seria. Los pacientes pueden tener petequias, sangrados en las encías, y muchos hematomas; incluso puede haber complicaciones más serias como hemorragias gastrointestinales, intracraneales, pulmonares, entre otras. La hemostasia normal requiere que las plaquetas estén presentes en un número adecuado y que sean capaces de llevar a cabo todas sus funciones; anomalías en el número o función pueden terminar en fenómenos hemorrágicos, trombocitos, o ambos (Kantarjian, Giles y List, 2007). Las plaquetas cuando menos interviene en dos situaciones diferentes en el mecanismo hemostático:

- Forma un trombo hemostático en el sitio de la lesión vascular.
- Provee una actividad procoagulante que incluye fosfolípidos para la formación de la fibrina.

Si bien es cierto que hay otras células o tejidos que pueden sintetizar algunas sustancias de las plaquetas, en la formación del trombo es indispensable, pues sin estas no puede formarse el coagulo (no hay un tampón primario que pueda contener a la sangre), además que sus gránulos vierten sustancias procoagulantes para la fibrina (Parise, Smyth, 2004).

6.5. PROGRESIÓN A LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA (LMA).

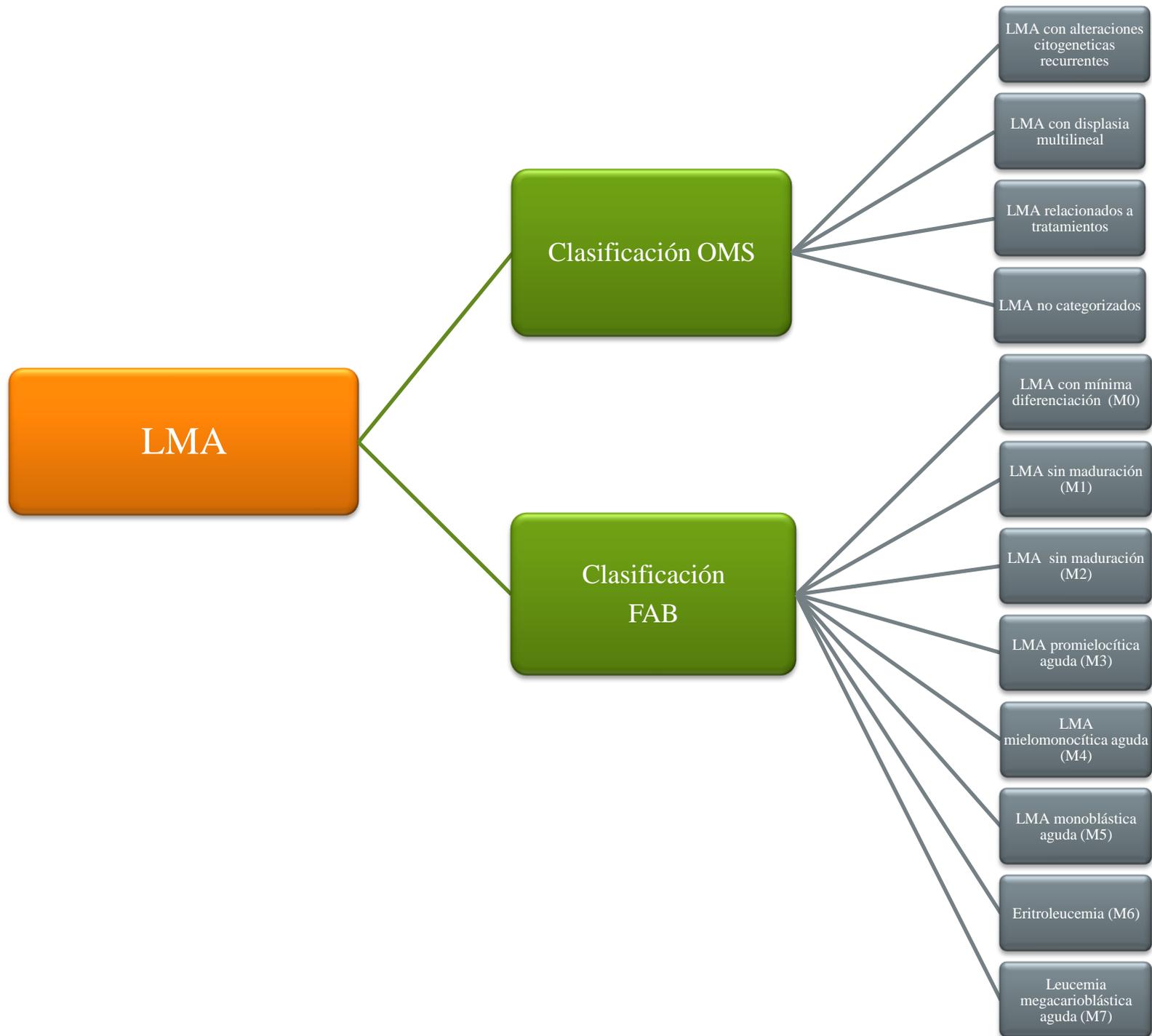
Se denomina leucemia mieloblástica aguda (LMA) a un conjunto de enfermedades neoplásicas, caracterizadas por la proliferación de células malignas, denominada blastos, que se acumulan en médula ósea y sangre periférica. El diagnóstico según la OMS, requiere de la presencia de 20% o más de blastos en médula ósea, sin embargo, lo estipulado por la clasificación FAB establece un 30% como criterio diagnóstico (Imagen 7.1) (Okuyama, 2013).

Las aberraciones citogenéticas, moleculares y cromosomales, se pueden traducir a una displasia que va afectar a la población celular de la médula ósea, pues dependiendo de las anomalías que haya, las células van a tomar un rumbo equivocado y se va a alterar el equilibrio del microambiente. Una de las señales más claras es la apoptosis y la proliferación excesiva de células, además de las anomalías disfuncionales que ocurren en las células.

Dependiendo de las aberraciones que tengan los pacientes se pueden pronosticar el riesgo y la probabilidad de que progrese a LMA, debido a que puede dañar el ADN y por lo tanto inhibir varios genes que controlan la apoptosis, haciendo que incrementen de manera incontrolada la estirpe granulocítica. La progresión de LMA es más común en algunos subtipos como la AREB-1 y AREB-2 y en SMD infantiles.

6.5.1. Clasificación según criterios de la FAB y la OMS.

La clasificación más usada para las LMA es la FAB, diseñada en 1976 y, sujeta a varias modificaciones hasta quedar más o menos establecida en 1978. En el caso de la OMS principio básico de esta clasificación es utilizar, no solamente los elementos morfológicos, sino toda la información disponible, incluida la genética, inmunofenotipo, y elementos clínicos y biológicos que definan, de ser posible, enfermedades específicas. El recuento de blastos se realiza en 200 células en frotis de sangre periférica y 500 células en los aspirados de médula ósea.; la OMS recomienda análisis de cariotipo, FISH y PCR con transcriptasa reversa (RT-PCR), para definir genéticamente algunas entidades. El umbral para una LMA se reduce a un 20% de blastos en médula o sangre y, en los casos de LMA con alteraciones citogenéticas recurrentes, se considera LMA independientemente del porcentaje de blastos (Imagen 7.1).



CAPITULO 7. TRATAMIENTO PARA LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS.

7.1. INTRODUCCIÓN.

La heterogeneidad clínico biológica de los SMD y la diversidad de tratamientos disponibles con diferente intensidad y toxicidad, reflejan la ausencia de un tratamiento efectivo para la mayoría de los casos. Ello obliga a individualizar el tratamiento de estas enfermedades según la edad, estado general del paciente y la severidad del SMD; en cada caso, un diagnóstico preciso y la determinación del IPSS son esenciales para trazar un plan terapéutico.

La modalidad de tratamiento a emplear en el paciente individual no es fácil de elegir por diversos motivos: en primer lugar, el curso evolutivo de los SMD, como corresponde a un grupo de enfermedades tremendamente heterogéneas, es muy variable. Además, la única alternativa terapéutica con capacidad curativa demostrada, el alo-TPH, es aplicable únicamente en una minoría de pacientes y presenta una elevada morbimortalidad; por otro lado, la comparación apropiada de los resultados obtenidos con distintos fármacos no ha sido posible hasta disponer de unos criterios de respuesta de consenso uniformes.; finalmente, la probabilidad de éxito de una modalidad terapéutica varía notablemente en función de las características del paciente y de la enfermedad. Afortunadamente, la reciente disponibilidad de fármacos capaces de modificar la historia natural de los SMD, la aparición de nuevas modalidades de trasplante que aumentan notablemente su aplicabilidad, el desarrollo de mejores índices pronósticos y los evidentes progresos en nuestro conocimiento de la base molecular de los SMD están modificando de forma sustancial el esquema de tratamiento clásico de este grupo de enfermedades hematológicas

(Cheson, 2002).

7.2. TRATAMIENTO DE SOPORTE.

Se considera tratamiento de soporte a la mejora global de las complicaciones provocadas por la enfermedad de forma inespecífica. El tratamiento de soporte debe contemplar el tratamiento de la anemia (AEE y transfusiones), neutropenia, trombocitopenia, sobrecarga de hierro transfusional y otras medidas de apoyo.

7.2.1. Tratamientos para la anemia.

7.2.1.1. Soporte transfusional.

La cifra de Hb en el momento del diagnóstico de SMD suele estar por debajo del rango normal en el 90% de los pacientes, aproximadamente un 60% presentan una Hb por debajo de 10 g/dL, y un 27%, inferior a 8 g/dL. La anemia crónica se asocia con un deterioro significativo del estado funcional de los pacientes con SMD de edad avanzada y con un peor pronóstico en aquellos que además asocian a alteraciones cardíacas, ya que la anemia incrementa el gasto cardíaco, conduce a una hipertrofia ventricular y exacerba los síndromes coronarios (Hellström y Malcovati, 2008). El adaptamiento cardíaco parece iniciarse cuando la concentración de Hb cae por debajo de 10,7 g/dL, que puede estar aunado a la coexistencia de insuficiencia renal y niveles disminuidos de EPO que pueden empeorar la anemia. Varios estudios han evaluado la calidad de vida en SMD y han concluido que los pacientes con anemia significativa presentan también una reducción global en la calidad de vida en comparación con controles sanos de la misma edad y sexo. La principal causa de muerte no leucémica de los pacientes con SMD de bajo riesgo es la insuficiencia cardíaca. Todavía no está claro si, en los pacientes con SMD, un mejor control de la anemia revertiría el adaptamiento cardíaco (Oliva, et al, 2005).

El pilar del tratamiento de los SMD es el soporte transfusional con concentrado de hematíes (CH); la transfusión de CH debería ser considerada en cualquier paciente con sintomatología derivada de la anemia. Las sociedades científicas recomiendan sólo de forma orientativa las cifras de Hb que indican la transfusión. En los pacientes con SMD y anemia crónica, probablemente sea inadecuada la transfusión con concentraciones de Hb pretransfusionales superiores a 10 g/dL, y probablemente esté indicada la transfusión con concentraciones menores de 7 g/dL. La “zona gris”, situada entre ambos límites, es demasiado amplia y parece recomendable mantener una Hb pretransfusional entre 8 y 10 g/dL. Este umbral se debe modular en función del estilo de vida del paciente y de la existencia o no de comorbilidad cardíaca, respiratoria, vascular periférica o neurológica, que podría hacer necesario mantener una concentración de Hb pretransfusional próxima a 10 g/dL (Sociedad Española de Transfusión Sanguínea, 2006).

Una de las complicaciones de las transfusiones de CH crónicas es la alo sensibilización eritrocitaria, que puede dificultar la selección de unidades compatibles. Por ello es interesante realizar una selección de unidades de CH con la mayor compatibilidad posible en los antígenos eritrocitarios más inmunogénicos (D, C, E, c, e, Kell). Otras medidas que pueden ser consideradas desde el inicio del soporte transfusional son la leucodepleción y la prevención de la hemosiderosis

Los objetivos clave del soporte hemoterápico con CH en los pacientes con SMD son, por orden de importancia:

- a) Evitar las manifestaciones agudas de hipoxia tisular.
- b) Aumentar la reserva funcional para mejorar la calidad de vida.
- c) Suprimir en lo posible la eritropoyesis ineficaz para evitar el estímulo inadecuado para la absorción de hierro.
- d) Reducir la mortalidad de origen cardiaco. La transfusión de CH de forma crónica debe mantener una cifra de Hb suficiente (por arriba de los 10 g/ dL) para tolerar adecuadamente la anemia.

La indicación de CH se debe hacer de forma individualizada, según datos del paciente (Hb previa, edad, etc.) y utilizando la cantidad mínima para la corrección de los síntomas. Parece aconsejable realizar transfusiones de CH en cada acto transfusional para evitar grandes sobrecargas de volumen; en cuanto al intervalo entre transfusiones, debe encontrarse un periodo regular que permita un efecto clínico constante.

La transfusión de sangre es actualmente una terapia muy segura, debido a las medidas de selección de donantes y procesamiento, pero por ser un producto humano mantiene una posibilidad de transmisión de enfermedades y no está exenta de riesgos y efectos secundarios adicionales (Sociedad Española de Transfusiones Sanguíneas, 2006).

7.2.1.2. Agentes estimulantes de la eritropoyesis (AEE).

El tratamiento con AEE puede mejorar los niveles de Hb y reducir las necesidades transfusionales en los pacientes con SMD que presentan anemia, mejorando su calidad de vida. El efecto de los AEE puede verse favorecido por la asociación con factor estimulante

de colonias de granulocitos (G-CSF); la sinergia entre AEE y G-CSF, dos potentes inhibidores de la apoptosis, mejora la supervivencia, la proliferación y la diferenciación de los progenitores hematopoyéticos. Estudios recientes sugieren, además, una mejora en la supervivencia de los pacientes tratados con EPO o EPO+ G-CSF frente a tratamiento de soporte.

El tratamiento debe iniciarse con dosis altas. En el caso de la EPO, se recomiendan 60.000-80.000 UI/semana (administrada una vez por semana o bien repartida en 2 o 3 dosis). En los pacientes con anemia refractaria con sideroblastos en anillo se suele recomendar el uso simultáneo de G-CSF desde el inicio del tratamiento a dosis de 300 ug/semana administrados en 1 a 3 dosis por semana. En los pacientes mayores con anemia estable (que no han recibido transfusión) y en los pacientes con insuficiencia renal, se debe reducir la dosis semanal inicial en un 50%. En los pacientes con ferritina sérica inferior a 100 ng/mL y/o IST < 20% se recomienda administrar tratamiento con sales de hierro por vía oral y/o hierro intravenoso; en caso de administrar dosis altas, se recomienda un control preliminar a las 4 semanas. La valoración de la respuesta se hará a las 8-12 semanas de tratamiento, pero se puede realizar un control intermedio a las 4-8 semanas.

El objetivo del tratamiento es conseguir una Hb estable que no debe sobrepasar los 12 g/dL; si se supera este límite, se debe interrumpir la administración de AEE, y reiniciar a dosis menores cuando se sitúe en 11 g/dL. Este ajuste de dosis puede realizarse reduciendo progresivamente la dosis o espaciando su administración, no habiendo evidencia de cuál de las alternativas es mejor.

Durante el tratamiento con AEE un número importante de pacientes pueden perder la respuesta. Existen diferentes causas de pérdida de respuesta, entre las que se cuentan la depleción de los depósitos de hierro (por lo que se recomienda tratamiento con hierro para restaurar los niveles incluso en casos de ferritina normal), progresión, infección grave concomitante (producción de citocinas supresoras de eritropoyesis) y desarrollo de autoanticuerpos^(Rizzo, Matarraz, Santiago, et al, 2002).

7.2.2. Tratamiento de la neutropenia.

7.2.2.1. Profilaxis antibiótica y empleo de G-CSF.

No hay estudios que apoyen el uso de factores de crecimiento ni de antibióticos profilácticos en los SMD de bajo riesgo, por lo que su uso no está recomendado de manera generalizada. La profilaxis antibiótica podría tener indicación en pacientes bajo tratamiento mielotóxico e infecciones graves o antecedentes de las mismas. El uso de G-CSF está recomendado de manera ocasional en pacientes con SMD que presentan neutropeniaprofunda e infecciones graves. En el caso de pacientes en tratamiento activo, puede plantearse su uso cuando presentan infecciones atribuibles a la neutropenia.

7.2.3. Tratamiento para la trombocitopenia.

7.2.3.1. Transfusión de concentrado de plaquetas.

El objetivo principal de la transfusión de concentrados de plaquetas es evitar o tratar hemorragias mayores o con riesgo vital. En pacientes politransfundidos la aloinmunización puede ocurrir hasta en un 85% de los mismos; por éste motivo, la política transfusional debe ser restrictiva y emplear concentrados de leucocitos reducidos y, en lo posible, ABO compatible. En caso de estar indicada la transfusión de plaquetas, para pacientes adultos es suficiente un pool de 4-6 unidades de plaquetas de donante múltiple o el procedente de una aféresis de donante único. La elección entre ambos tipos de productos se debe basar en la disponibilidad y el costo.

En los pacientes que sólo reciben tratamiento de soporte, los criterios deben ser muy restrictivos; en ellos, la transfusión de concentrados de plaquetas está indicada si hay sangrado evidente, o de manera profiláctica, si concurren factores de riesgo hemorrágico adicionales (Slichter, 2007).

7.2.3.2. Análogos de la trombopoyetina.

De los dos agonistas de la trombopoyetina, en el área de los SMD sólo existe información del romiplostim; el romiplostim aumenta el número de plaquetas en un 46% de los pacientes con SMD en un estudio teniendo una respuesta duradera y además disminuye las transfusiones de plaquetas para los pacientes en un 43 % (Kantarjian, Fenaux, et al, 2010).

7.2.4. Tratamiento de la sobrecarga de hierro.

7.2.4.1. Tratamiento quelante.

El objetivo no puede ser eliminar la sobrecarga, sino mantenerla en unos niveles que no causen daño visceral (corazón, hígado, páncreas, hipófisis, etc.). La dosis del fármaco quelante se ha de adaptar al nivel de sobrecarga, que viene determinado fundamentalmente por la frecuencia transfusional.

Deferasirox es el fármaco de primera elección, la dosis recomendada es de 20-30 mg/kg/día, dependiendo del nivel de sobrecarga; una dosis de 20 mg/kg/día quela o elimina aproximadamente el hierro contenido en 2 CH que se recibe cada 4 semanas. Se puede proponer con intención de evitar las molestias digestivas la toma del fármaco media hora antes de la cena (en lugar del desayuno) y también comenzar con dosis menores (10 mg/kg/día), e incrementar según tolerancia.

La toma del fármaco con alimentos hace imprevisible su nivel de absorción. Si no se consigue una quelación eficaz y no hay efectos adversos, se considerarán dosis hasta 35 mg/kg/día.

Los efectos adversos más habituales son el aumento de la cifra de creatinina, los trastornos digestivos y la elevación de transaminasas. Se recomienda la realización de estudio de creatinina y aclaramiento de creatinina cada 15 días el primer mes y después de forma mensual junto a estudio de proteinuria, al tiempo que un perfil hepático mensual; también es recomendable la valoración clínica de trastornos digestivos (náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea) y la vigilancia de interacciones farmacológicas con fármacos nefrotóxicos, y fármacos que afecten a la glucoronización.

El control de estos efectos adversos está basado generalmente en la suspensión temporal del tratamiento, con lo que suelen mejorar, y un reinicio a dosis menores con escalado posterior. En caso de diarrea, se pueden usar medidas de soporte adicionales, como una adecuada hidratación, evitar laxantes, una dieta astringente y loperamida, y se puede administrar el deferasirox por la noche y disolverlo en agua en vez de en zumo. Con estas medidas suele controlarse la diarrea sin necesidad de ajuste de dosis. Los comprimidos de

deferasirox contienen lactosa, por lo que siempre hay que recordar valorar la posibilidad de intolerancia a la lactosa (Arribazalaga, 2008).

7.3. TRATAMIENTO PARA PACIENTES CON SMD DE BAJO RIESGO.

7.3.1. Objetivo del tratamiento.

A diferencia de los pacientes con SMD de alto riesgo, en los que el tratamiento en general está destinado a modificar la historia natural de la enfermedad y a prolongar la supervivencia que de otra forma estaría claramente reducida en relación con la esperanza de vida, en los pacientes con SMD de bajo riesgo el objetivo terapéutico es mejorar las citopenias y la sintomatología de los pacientes, en especial la anemia. Sin embargo, el hecho de mejorar la anemia parece tener una especial relevancia en la calidad de vida de los pacientes, lo que ya en sí mismo sería un objetivo bastante ambicioso. Además, la anemia se ha asociado a mayor mortalidad, de modo que su corrección podría suponer una mejoría de la supervivencia, como indican datos recientes.

7.3.2. Lenalidomida.

La lenalidomida es un análogo de la talidomida, con una potente capacidad inmunomoduladora (IMiD) y antiangiogénica; además, posee efectos antiadhesión celular, inhibe la liberación de ciertas citocinas y puede producir directamente una parada en el crecimiento celular e inducir apoptosis en algunos tipos de cáncer.

Está aprobada en Estados Unidos para el tratamiento de los pacientes con SMD de bajo riesgo (IPSS bajo e intermedio-1) con delección 5q (como única anomalía o con otras asociadas) y anemia dependiente de transfusión. En la actualidad, no está aprobada en Europa para el tratamiento de los SMD (Gohring, 2010).

El uso de lenalidomida produce excelentes resultados en términos de respuesta eritroide y citogenética en pacientes con SMD de bajo riesgo, y delección 5q con requerimiento transfusional. Aunque inicialmente algunos estudios sugirieron un mayor riesgo de transformación leucémica en pacientes tratados con lenalidomida, especialmente en pacientes sin respuesta hematológica o citogenética, muchos estudios muestran que esto es falso. De hecho, la probabilidad de evolución a LMA en los pacientes tratados con lenalidomida es inferior en aquellos pacientes que presentan independencia transfusional con el tratamiento (Ades, et al, 2012).

7.3.3. Tratamiento inmunosupresor (TIS).

La disfunción inmune es la base fisiopatológica para la consideración de tratamiento inmunosupresor en los SMD, consistente en el uso de gammaglobulina antitimocítica (ATG) combinada o no con ciclosporina A (CsA). Si bien se han usado ambos agentes por separado, la combinación se ha asociado con mejores resultados. Aunque controvertidos, los factores descritos asociados a una mejor probabilidad de respuesta al TIS son la edad inferior a 60 años, HLA DR15, un IPSS intermedio-1 (el número de IPSS bajo en la serie era muy pequeño), menor duración del requerimiento transfusional, no exceso medular de blastos, MO hipoplásica y cariotipo sin alteraciones o presencia de trisomía 8 (Sloand, Wu, Greenber, et al,2008) ·

7.3.4. Azacitidina (AZA).

La AZA es un fármaco hipometilante que está aprobado en casi todo el mundo para el tratamiento de pacientes con SMD de alto riesgo pero no para los pacientes con SMD de bajo riesgo. Sin embargo, su uso en SMD de bajo riesgo se puede justificar por varios motivos; en primer lugar, desde un punto de vista conceptual, el resultado del tratamiento no debería diferir en función del tipo de SMD; en segundo lugar, los factores asociados a peor respuesta en pacientes con SMD de alto riesgo (tratamiento previo con citarabina a dosis bajas, presencia de más del 15% de blastos y cariotipo anormal) son menos frecuentes en SMD de bajo riesgo, lo que permite suponer que pueden responder mejor; en tercer lugar, los datos disponibles sugieren que las respuestas en pacientes con SMD de bajo riesgo son al menos iguales (si no superiores) a las observadas en pacientes de alto riesgo.

La toxicidad de AZA es básicamente hematológica (neutropenia o trombocitopenia en 2/3 de los pacientes), gastrointestinal en un 60% de los casos (generalmente leve o moderada), y local en el punto de inyección en forma de eritema o hematoma. La toxicidad hematológica tiende a reducirse con el número de ciclos, a la vez que se observa la respuesta hematológica (Itzykson, 2011)·

7.3.5. Trasplante alogénico de progenitorshematopoyéticos (alo- TPH).

El alo-TPH es la única alternativa terapéutica curativa en pacientes con SMD, y en los últimos 10 años, gracias a los avances a esta técnica, se ha podido aplicar hasta en pacientes que eran no candidatos a alo-TPH. A pesar esto, la edad superior a 70 años (que es la

mediana al diagnóstico) y la presencia de comorbilidades hacen que sólo una minoría de pacientes sean candidatos a esta estrategia.

Entre el grupo de pacientes de bajo riesgo, un estudio de decisión de tratamiento mostró que este grupo de pacientes no se beneficia del TPH en primera línea, sino de retrasar el procedimiento hasta la progresión de la enfermedad. Aunque este trabajo se basó en trasplantes de acondicionamiento mieloablativo de hermano HLA idéntico, algunos de los pacientes con SMD de bajo riesgo no son candidatos a tratamiento en el momento del diagnóstico, y se recomienda esperar a la evolución de la enfermedad, con el fin de maximizar la supervivencia (y probablemente la calidad de vida)^(Estey, 2007).

Algunas excepciones a esta regla que se podrían tener en consideración serían los pacientes jóvenes con anemia con requerimiento transfusional y que no responden a otras terapias, y los pacientes de teórico bajo riesgo con características que los hacen ser considerados como de alto riesgo (fibrosis de médula ósea, cariotipo de mal pronóstico y neutropenia o trombocitopenia graves).

El alo-TPH es más eficaz en los pacientes con formas menos agresivas de la enfermedad, por este motivo, es importante reconocer cuándo el paciente está progresando a formas más agresivas de la enfermedad. El empeoramiento o la aparición de nuevas citopenias de forma significativa, la aparición de nuevas anomalías citogenéticas (no necesariamente de mal pronóstico) y el incremento del porcentaje de blastos deben ser considerados como factores de progresión, y en esos casos el paciente debe ser evaluado para trasplante sin demora^(Cutler, et al, 2004).

7.4. TRATAMIENTO PARA PACIENTES CON SMD DE ALTO PRONÓSTICO.

7.4.1. Objetivos del tratamiento.

Siempre que sea posible, el objetivo del tratamiento de los pacientes con SMD de alto riesgo debe ir dirigido a tratar de modificar la historia natural de la enfermedad, prolongando la supervivencia y reduciendo el riesgo de evolución a LMA. En todos los casos debe, además, ofrecerse el mejor tratamiento de soporte disponible, tratando de

superar las complicaciones derivadas del fallo medular y de mantener la mayor calidad de vida posible.

7.4.2. Agentes hipometilantes.

La inactivación de la transcripción de genes supresores de tumor por metilación de su región promotora parece desempeñar un importante papel en la patogénesis de los SMD. La AZA y la decitabina (DEC) son agentes hipometilantes que inhiben la ADN metiltransferasa a dosis inferiores a la que produce citotoxicidad, siendo capaces de revertir el silencio transcripcional de genes supresores de tumores y restaurar el funcionamiento normal de las células alteradas. Los agentes hipometilantes han demostrado una gran eficacia en SMD, especialmente en pacientes de alto riesgo.

Un estudio demostró que el riesgo de transformación a LMA fue 2,8 veces superior en el grupo de cuidados de soporte, y el tiempo hasta el desarrollo de LMA o hasta la muerte fue claramente más prolongado en el grupo tratado con AZA. La supervivencia fue mayor en los pacientes que recibieron AZA, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa debido al diseño de entrecruzamiento del estudio. Además, los pacientes tratados con AZA mostraron una clara ventaja en diversos parámetros de calidad de vida respecto a los que recibieron cuidados de soporte. La toxicidad más frecuente de la AZA fue la hematológica, con neutropenia en el 58% y trombocitopenia en el 52% de los casos_(Fenaux, 2009).

En comparación con lo observado con AZA, el DEC ha mostrado una tasa de respuesta hematológica global similar, mayor incidencia de fiebre neutropénica y mortalidad del tratamiento. En los dos ensayos clínicos que han aleatorizado los pacientes a recibir ese esquema de dosis de DEC o el mejor tratamiento de soporte disponible, DEC produjo una mayor tasa de respuesta y menor riesgo de progresión a LMA, pero no prolongó la supervivencia de forma significativa y aumentó la frecuencia de ingreso hospitalario por neutropenia febril. El efecto adverso más frecuente de DEC fue la mielosupresión, con neutropenia y trombocitopenia en la inmensa mayoría de los casos, y la toxicidad extrahematológica fue muy infrecuente _(Kantarjian, et al, 2006).

7.4.3. Quimioterapia (QT) tipo LMA.

El uso de QT intensiva de tipo LMA puede ser apropiado como tratamiento de primera línea en pacientes con SMD de alto riesgo que, siendo candidatos a tratamiento intensivo,

no dispongan de donante apropiado para alo-TPH y tengan una edad inferior a 65 años, no tengan comorbilidades graves y presenten una citogenética de riesgo favorable, aunque hay que estar en precaución para los efectos adversos de la quimioterapia, e incluso a observar una posible progresión a LMA (Lubert, et al, 2011).

7.4.4. Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.

El alo-TPH es la única modalidad con capacidad curativa demostrada en SMD; los factores que más influyen en sus resultados son la edad, el índice de comorbilidad, el estadio de la enfermedad (subtipo de la FAB o de la OMS o proporción de blastos al trasplante), el grupo de riesgo citogenético según el IPSS, la dependencia transfusional, la sobrecarga de hierro y el tiempo desde el diagnóstico al trasplante.

Varias preguntas respecto al alo-TPH continúan sin tener una respuesta clara; una de ellas, quizás la de mayor importancia, es el momento óptimo de proceder al trasplante. El Center for International Bone Marrow Transplant Research (CIBMTR), concluyó que la mayor ganancia de vida se lograba demorando el trasplante hasta la progresión en los pacientes con IPSS de riesgo bajo o intermedio-1, y trasplantando de entrada en los casos con IPSS de riesgo intermedio-2 o alto (Saure, et al, 2012). El Gruppo Italiano di Trapianto di Midollo Osseo (GITMO) ha confirmado el beneficio de trasplantar al inicio, una vez confirmado el diagnóstico, a los pacientes de mayor riesgo, pero ha sugerido que la demora puede ser perjudicial en pacientes con IPSS de riesgo intermedio-1 o WPSS de riesgo intermedio, especialmente cuanto menor sea su edad. Aunque algunas series retrospectivas muestran mejores resultados con SP movilizada, probablemente por el efecto antitumoral de la enfermedad injerto contra huésped (EICH), la fuente preferible de progenitores hematopoyéticos no ha sido determinada. El régimen ideal de acondicionamiento mieloablativo, desafortunadamente, tampoco está establecido. Los regímenes más empleados en la actualidad asocian busulfán y ciclofosfamida o, más recientemente, busulfán y fludarabina, con el que se reduce la toxicidad (Deeg, 2005) (Del Canizo, et al, 2003).

CONCLUSIONES.

- Se realizó una investigación actualizada de los SMD, que destaca la información más importante sobre éstas enfermedades, con el fin de tener una referencia que consultar para los especialistas de la salud.
- La información con respecto a la clasificación, etiología e incidencia mundial de los SMD se actualizó y comprendió la importancia del estudio sobre éstas enfermedades para el futuro.
- Se revisó y estudió los métodos de diagnóstico que son útiles para los SMD, y gracias a ésta información, analice la importancia de concretar un sistema de clasificación y de pronóstico para tener una evaluación confiable del paciente, y así, mejorar las técnicas del diagnóstico.

APÉNDICE

Médula ósea.

La médula ósea es una estructura mesenquimática compleja, constituida por precursores hematopoyéticos y elementos estromales heterogéneos. Las células hematopoyéticas, incluyendo granulocitos, monocitos, eritrocitos, linfocitos, plaquetas e histiocitos, son derivadas de células troncales multipotenciales (“Stem-cells”). Los elementos de sostén están representados por células estromales (adipocitos, fibroblastos y células reticulares), vasos sanguíneos, fibras nerviosas, pequeñas cantidades de reticulina, matriz extracelular y citoquinas de regulación. Así constituida, la médula hematopoyética se encuentra ocupando los espacios interóseos o intertrabeculares del hueso. El tejido óseo que la contiene, con su estructura de matriz calcificada y revestimiento osteoblástico y osteoclástico se organiza en hueso compacto y esponjoso.

La médula ósea puede ser “médula roja” conteniendo células hematopoyéticas o “médula amarilla” representada predominantemente por tejido adiposo. La distribución de la médula hematopoyética es dependiente de la edad. En el neonato, las cavidades medulares de la mayoría de los huesos están casi completamente ocupadas por células hematopoyéticas proliferantes y, a medida que el individuo crece, la médula roja se contrae, siendo reemplazada por médula adiposa. En la vida adulta, la médula hematopoyética está confinada principalmente al esqueleto axial, esternón y pelvis. Además, en repuesta a las demandas, el volumen medular ocupado por tejido hematopoyético se expande.

Uno de los conceptos claves en los estudios de médula ósea es la celularidad medular, que se define como el porcentaje de médula ósea ocupado por células hematopoyéticas. La celularidad de la médula ósea depende de la edad del paciente, localización en el esqueleto (sitio de toma de la muestra), tamaño del espécimen tisular obtenido y, en menor medida, de factores técnicos en el procesamiento histológico. La estimación y determinación de la celularidad en la biopsia de médula ósea puede realizarse subjetivamente, o bien mediante métodos más objetivos como histomorfometría o análisis computarizado. En relación a la edad, la médula ósea de los recién nacidos es extremadamente celular (90-100%, con escasas células adiposas) y disminuye aproximadamente 10% por cada década de vida. Los

individuos menores de diez años tienen una celularidad alrededor de un 80%; esta cifra baja al 50% hacia los treinta años, manteniéndose relativamente estable hasta los setenta años, en que disminuye a un 30%. El descenso del porcentaje de cavidad medular ocupado por células hematopoyéticas es consecuencia tanto de una disminución verdadera en la cantidad de tejido hematopoyético como también de una pérdida de sustancia ósea y su reemplazo por tejido adiposo en los espacios medulares.

En cuanto a la localización en el esqueleto, la cresta ilíaca contiene menos tejido hematopoyético que el esternón, pero más que las costillas. La celularidad de las vértebras lumbares es aproximadamente 10% mayor que la celularidad de la cresta ilíaca. Las vértebras son también más celulares que el esternón. El tamaño de la muestra es importante ya que muchas veces en un mismo espécimen de biopsia hay áreas hipocelulares y áreas de celularidad conservada, por lo cual se requiere una muestra representativa (óptimamente 1,5 cm de longitud y sin alteraciones dependientes de la mantención y del traslado de la muestra).

Anatomía del sistema hematopoyético.

Para una mejor interpretación de la biometría hemática y también del mielograma, es necesario conocer algunos principios del desarrollo y de la fisiología del sistema hematopoyético. La hematopoyesis es el proceso o la suma de subprocesos que regulan el sistema hematopoyético como un órgano, que a pesar de ser líquido, no hay duda de que es uno de los órganos más grandes del organismo con un peso promedio de 2,6 kilos (Albert, 2002). En estado de equilibrio (homeostasis) los eritrocitos viven 120 días, los neutrófilos, eosinófilos y los basófilos de 8 a 10 horas, los monocitos de 16 a 18 horas, los linfocitos, dependiendo de los subtipos, pueden vivir días, semanas, meses o años y las plaquetas de 9 a 10 días (Palomo, Pereira y Palma, 2009).

A partir de una célula troncal, tronco o stem cell, mediante factores de crecimiento, usualmente citocinas, las células madre se diferencian en células pluripotenciales: las CMP (células mieloide pluripotencial) para la línea mieloide, de donde se derivan los polimorfonucleares neutrófilos, los polimorfonucleares eosinófilos y los polimorfonucleares basófilos, y las CLP (células linfoide pluripotencial) para las líneas linfoides de donde se derivan los linfocitos que forman parte del timo, bazo y ganglios linfáticos, entre otros

órganos. A su vez, cada una de éstas dan origen a unidades formadoras de colonias (CFU) unipotenciales o bipotenciales que a su vez dan origen a células precursoras de eritrocitos, granulocitos, monocitos, linfocitos y plaquetas. Una vez definidas como células precursoras, mediante procesos de maduración, adquieren las características morfológicas y funcionales y son «liberadas» a la circulación sanguínea (Bounurant y Koury, 2004).

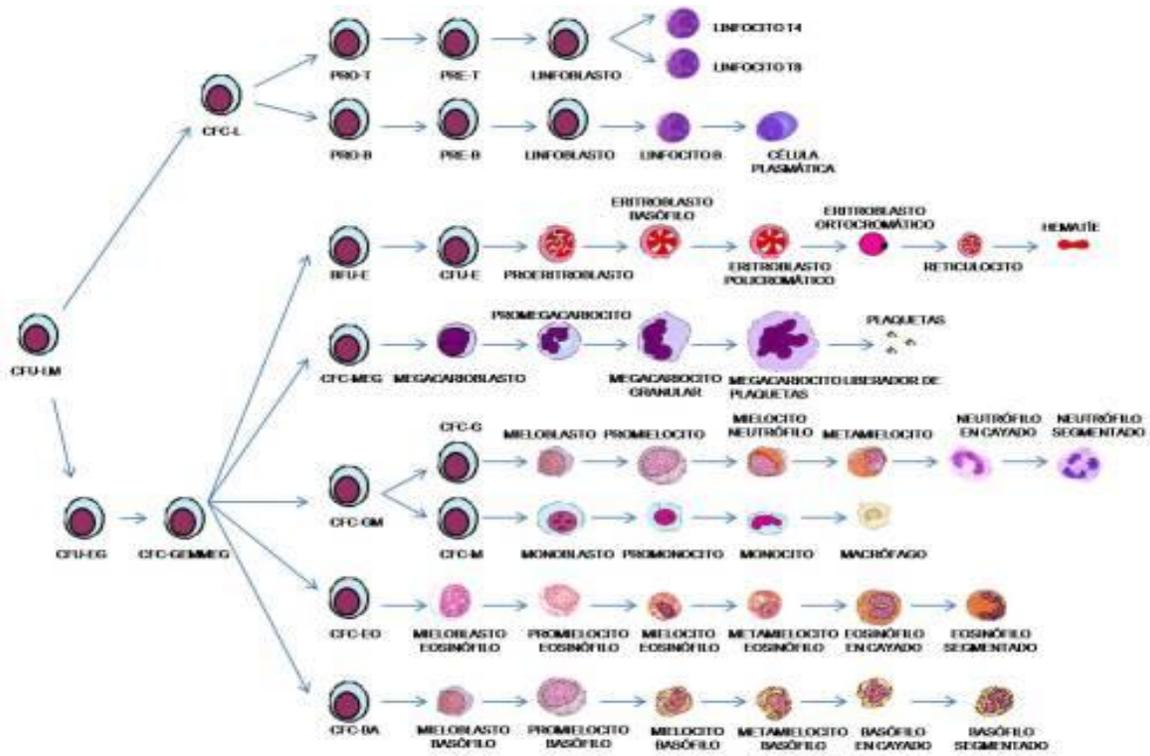


Imagen. A.1: Hematopoyesis.

GLOSARIO

Agranulocitosis: Disminución o ausencia de leucocitos granulados en sangre.

Aloanticuerpo: Anticuerpo que reconoce como extraño a antígenos de células de un individuo genéticamente diferente.

Alloimmune: Específicamente inmune a un antígeno alógeno.

Alotrasplante de células madre: Tratamiento que emplea células madre de un donante para restablecer la médula ósea y las células sanguíneas de un paciente. En primer lugar, el paciente recibe una “terapia de acondicionamiento” (quimioterapia de alta dosis o quimioterapia de alta dosis con radioterapia en todo el cuerpo) para tratar la leucemia y para “apagar” el sistema inmunitario del paciente, para que no rechace las células madre del donante. Se está estudiando un tipo de trasplante llamado trasplante “no mieloablativo” (también llamado trasplante de “intensidad reducida”). Para un trasplante de intensidad reducida, se usan dosis menores de terapia de acondicionamiento, lo cual quizás sea más seguro, en especial para los pacientes de más edad.

Alquilante: El término alquilante se refiere a la manera en la que estos agentes enlazan el ADN de las células mielomatosas y bloquean la división celular.

Anemia: Una disminución de la cantidad de glóbulos rojos y, por lo tanto, de la concentración de hemoglobina en la sangre. Esto reduce la capacidad de la sangre para transportar oxígeno. Si es grave, la anemia puede causar palidez, debilidad, fatiga y dificultades para respirar al hacer esfuerzos.

Anisocitosis: Aparición en la sangre de eritrocitos de diferentes dimensiones.

Anticuerpo: Una proteína producida por determinados glóbulos blancos (células plasmáticas) que combaten las infecciones y las enfermedades en forma de antígenos como bacterias, virus, toxinas o tumores. Cada anticuerpo puede enlazarse únicamente con un tipo determinado de antígeno. El propósito de éste enlace es precisamente el de la destrucción del antígeno. Los anticuerpos funcionan de varias maneras, dependiendo de la naturaleza del antígeno. Algunos anticuerpos desactivan directamente a los antígenos contra los que combaten, mientras que otros convierten al antígeno en vulnerable a los ataques de otros glóbulos blancos.

Antígeno: Una sustancia que inmunológicamente es extraña, usualmente una proteína, que estimula una respuesta inmunitaria cuando se ingiere, se inhala o entra en contacto con la

piel o las membranas mucosas. Ejemplos de antígenos son bacterias, virus o alérgenos. Los antígenos estimulan las células plasmáticas para producir anticuerpos.

Antígeno leucocitario humano (HLA por sus siglas en inglés): Estas proteínas están en la superficie de la mayoría de los tejidos celulares y proporcionan a una persona su tipo de tejido característico. Los factores de HLA se heredan de la madre y del padre, y la mayor probabilidad de tener el mismo tipo de HLA es entre hermanos/as.

Aplasia: Sin tendencia a desarrollar nuevo tejido. En anemia cuando la médula ósea no produce células sanguíneas.

Apoptosis: O muerte celular programada, es una forma de expiración celular en la cual la célula activa un programa de muerte interno.

Auer, cuerpo de: Estructura en forma de varilla, presente en el citoplasma de las células granulocíticas, derivada de los gránulos primarios que se observa en la Leucemia Mieloblástica Aguda.

Autólogo: Relacionado con uno mismo; que se origina del propio organismo.

Blasto: Es un precursor inmaduro de la estirpe hematopoyética. Normalmente está presente en la médula ósea, pero no en la sangre.

Cabot, Anillos o Cuerpos: Cuerpos observados en los hematíes, de forma anular, que se tiñen de rojo con el colorante de Wright y de azul con el azul de metileno.

Cariotipo: El arreglo sistemático, mediante imágenes, de los 46 cromosomas humanos de una célula en 22 pares complementarios (un cromosoma materno y uno paterno en cada par) según su longitud, del más largo al más corto, y otras características. Estos 22 pares se llaman “autosomas”. Los cromosomas sexuales se muestran como un par separado, ya sea XX o XY.

Cbl: Es una ligasa de ubiquitina que reconoce proteínas fosforiladas en sus residuos de tirosina y las establece como diana para su destrucción.

CD (*Cluster of differentiation*): Marcadores de diferenciación; un sistema para clasificación de anticuerpos monoclonales de acuerdo con su especificidad antigénica.

Células madre: Son células multipotenciales en la médula ósea, necesarias para la producción de glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas. En general, las células madre se encuentran en gran parte en la médula ósea, pero algunas salen de ella y circulan en la sangre.

Células progenitoras (Stem cells): Cualquiera de las células del cuerpo que se puede convertir en otro tipo de célula. Las células progenitoras sanguíneas se transforman en glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas. En un trasplante de células progenitoras sanguíneas se administran estas células a los pacientes después de que son tratados para una enfermedad de la sangre.

Citocinas: Son sustancias químicas derivadas de las células (citoderivadas) secretadas por varios tipos de células y que actúan sobre otras células para estimular o inhibir su función.

Citogenética: Ciencia que estudia los cromosomas.

Citopenia: Reducción en el número de células en la sangre periférica. Ejemplo: neutropenia, trombocitopenia.

Citotóxico: Que destruye las células.

Coombs Prueba de: Prueba empleada para descubrir eritrocitos cubiertos con inmunoproteínas (IgG y/o C3d del complemento), como en la anemia hemolítica autoinmune (prueba de Coombs directa), o anticuerpos libres en el suero, como en la enfermedad hemolítica del recién nacido (prueba de Coombs indirecta). Es también llamada prueba de la antiglobulina humana.

Cromosoma: Una cadena de ADN y proteínas en el núcleo de una célula. Los cromosomas pueden transportar genes y tienen su función en el contexto de la transmisión de información genética. Habitualmente las células humanas contienen 46 cromosomas.

Delección: Una anomalía cromosómica en la que se perdió parte o la totalidad de un cromosoma único.

Diferenciación celular: Convertirse en una característica o función más madura y especializada que la original.

Disgranulopoyesis: Granulopoyesis morfológicamente anormal.

Dismegacariopoyesis: Displasia que afecta megacariocitos y plaquetas.

Döhle, Cuerpo de: Inclusión ligeramente basofílica en el citoplasma de un neutrófilo compuesta por ribosomas.

EDTA(Ácido etilendiaminotetracético): Quelante de cationes divalentes utilizado como sal de sodio o de potasio como anticoagulante para determinación de hemoglobina y cuentas celulares.

Eliptocitosis: Trastorno hereditario en el cual la mayor parte de los eritrocitos tienen forma elíptica. Se caracteriza por grado variable de hemólisis y anemia.

Enfermedad del injerto contra el huésped (EICH): Enfermedad en la que la médula ósea o las células sanguíneas trasplantadas atacan los tejidos del paciente. Ocurre cuando los linfocitos T del donante atacan los órganos del receptor

Eritrocito: Uno de los elementos de la sangre periférica, anucleado y bicóncavo en su forma madura, contiene hemoglobina para el transporte de oxígeno.

Eritrocitosis: Aumento en la cuenta de células rojas, hemoglobina y hematócrito, utilizado como sinónimo de policitemia.

Eritropoyetina: Hormona glucoproteínica secretada principalmente por los riñones en el adulto y el hígado en el feto, que actúa sobre las células en la médula ósea y estimula la producción de eritrocitos

FISH: Técnica utilizada para elongación del DNA y análisis de translocaciones y deleciones.

Gen: Unidad hereditaria básica, o de características que se transmiten de los padres, formado por ADN.

Giemsa, tinción: Variante de la tinción de Romanowsky utilizada para colorear células de la sangre y médula ósea.

Globina: Proteína constitutiva de la hemoglobina, soluble en agua, en soluciones ácidas y alcalinas, coagulable por el calor.

Hem, hemo: Sustancia amorfa, $C_{34}H_{32}O_4FeOH$, insoluble, constituida por un anillo de protoporfirina unido a un átomo de hierro bivalente, que constituye el grupo prostético de la hemoglobina.

Hemoglobina: Proteína conjugada transportadora de oxígeno en el eritrocito, contiene cuatro grupos hem y globina que tiene la propiedad de oxigenación reversible. La hemoglobina A es normal en los adultos; fetal: forma de hemoglobina que normalmente comprende más de la mitad de la hemoglobina en el feto, y en cantidades mínimas en el adulto, anormalmente elevada en ciertos tipos de anemia hemolítica y aplásica.

Hemólisis: Interrupción de la membrana eritrocitaria que causa liberación de la hemoglobina.

Hiperesplenismo: Aumento de la acción hemolítica del bazo, con o sin esplenomegalia.

Howell Jolly, cuerpos de: Remanentes redondos y lisos de cromatina nuclear, vistos en eritrocitos de anemia megaloblástica, anemia hemolítica y posesplenectomía.

Idiopático: De causa no conocida.

Inmunofenotipo: Características antigénicas de una población de células.

Inmunofenotipificación: Método que utiliza la reacción de anticuerpos con antígenos celulares para determinar un tipo específico de célula en una muestra de células sanguíneas, células de la médula ósea o células de los ganglios linfáticos. Los anticuerpos reaccionan con antígenos específicos en la célula. Se pone una marca a un anticuerpo para poder detectarlo. La marca puede ser identificada con los equipos de laboratorio que se usan para la prueba.

Inmunoglobulina: Glicoproteína con actividad de anticuerpo, existen cinco clases, G, M, A, E y D. Cada molécula contiene una estructura básica con dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas.

Inmunosupresión: Disminución de la respuesta inmunitaria, por radiaciones, fármacos o enfermedades.

Inmunosupresor: Agente que impide que se produzca la respuesta inmunitaria. Que produce inmunosupresión.

Interferón: Una hormona producida naturalmente (citoquina) y liberada en el organismo como respuesta a una infección o enfermedad y que estimula el crecimiento de ciertas células inmunitarias sanguíneas.

Macrófago: Cualquiera de las formas de fagocitos mononucleares encontradas en los tejidos. Entre sus funciones está la presentación de antígenos a los linfocitos.

Macropolicitos: Leucocito polimorfonuclear grande, con núcleo de seis o más lóbulos que se encuentra a menudo en la sangre periférica en la anemia perniciosa.

Megaloblasto: Hematíe nucleado gigante, se encuentra en la sangre en la anemia megaloblástica.

Microesferocito: Eritrocito de tamaño menor del normal y de forma esférica.

Mielodisplasia: Desarrollo defectuoso de cualquier componente de la médula ósea. Este término también aplica para defectos del desarrollo de la médula espinal.

Mielofibrosis: Restitución de la médula ósea por tejido fibroso.

Morfología: Es el estudio de la estructura y forma de un organismo.

Pancitopenia: Deficiencia las tres líneas celulares sanguíneas.

Petequias: Mancha roja purpúrea de 2 a 3 mm, redondeada, no elevada, producida por una hemorragia intradérmica o submucosa.

Poiquilocitos: Célula irregular; dícese del eritrocito deformado y de tamaño anormal de las anemias.

Poiquilocitosis: Presencia de poiquilocitos en la sangre.

Proliferación: Reproducción de células similares.

Quelador de hierro: Sustancia que atrapa el hierro y lo elimina del cuerpo a través de la orina y materia fecal.

Quimioterapia: El uso de sustancias químicas (fármacos o medicamentos) para destruir las células malignas. A estos efectos se han desarrollado varias sustancias químicas, y la mayoría actúa dañando el ADN de las células. Cuando se daña el ADN, las células no pueden crecer ni sobrevivir.

Refractario: Término que designa una enfermedad que no entra en remisión ni mejora sustancialmente luego del tratamiento inicial con terapia estándar para la enfermedad.

Reticulocito: Eritrocito joven que muestra por coloración vital una red de granulaciones y fibrillas considerado como elemento de formación apresurada.

Supravital, tinción: Tinción realizada en células vivas no fijadas.

Transferrina: Beta globulina sérica que fija y transporta el hierro.

Transfusión: Introducción de sangre total o un componente sanguíneo directamente en la sangre de un individuo.

Translocación: Anomalía de los cromosomas en las células de la médula ósea o los ganglios linfáticos que ocurre cuando se rompe una parte de un cromosoma y se adhiere al extremo de otro cromosoma.

Trastornos mieloproliferativos: Un grupo de enfermedades en las que el cuerpo produce un exceso de determinados tipos específicos de células sanguíneas.

Tratamiento de acondicionamiento: Terapia intensiva de un paciente con fármacos citotóxicos o fármacos y radioterapia en todo el cuerpo justo antes de someterse a un

trasplante de células madre. La terapia sirve para tres propósitos. En primer lugar, deprime en gran medida los linfocitos, para prevenir el rechazo del injerto. En segundo lugar, disminuye notoriamente las células de la médula ósea, lo que quizás sea importante para abrir los nichos especiales donde deben alojarse las células madre trasplantadas a fin de injertarse. En tercer lugar, si el paciente recibe un trasplante por una malignidad, esta terapia intensiva sirve para disminuir en gran medida cualquier cantidad de células tumorales que quede.

Trombocitopenia: Disminución de plaquetas en sangre.

Trombocitosis: Aumento exagerado de las plaquetas en la sangre.

Trombopoyetina: Hormona que estimula la producción de megacariocitos.

REFERENCIAS

- Ades L, Le Bras F, Sebert M, Kelaidi C, Lamy T, Dreyfus F, et al. (2012). Treatment with lenalidomide does not appear to increase the risk of progression in lower risk myelodysplastic syndromes with 5q deletion. A comparative analysis by the Groupe Francophone des Myelodysplasies. *Haematologica*.97 (2): 213-8.
- Alberts B. (2002). In Molecular biology of the cell. USA: *Academic Press*.
- Amin HM, Jilani I, Estey EH. (2003). Increased apoptosis in bone marrow B lymphocytes but not T lymphocytes in myelodysplastic syndrome. *Blood*; 102:1866–8.
- Arrizabalaga B, del Cañizo C, Remacha AF, Sanz G, Villegas A. (2008). Guía clínica de quelación del paciente con síndrome mielodisplásico. *Haematologica*.93 (Suppl. 1): 3-10.
- Aul. C, Bowen D., Yoshida Y.,(2003). Pathogenesis, etiology and epidemiology of myelodysplastic syndromes. *Haematologica*. 83:71-86,
- Aul C, Giagounidis A, Germing U. (2007). Bone marrow morphology and classification systems in myelodysplastic syndromes. *Cancer Treatment Reviews*. 33: S2– S5.
- Avgerinou C., Alammanos Y., Zikos P. (2013). The incidence of myelodysplastic syndromes in Western Greece is increasing. *Ann Hematol*. 92:877–887.
- Bain J.(2004). The World Health Organization classification of myeloproliferative and myelodysplastic syndromes. *Leukemia research*. 10: 394-403.
- Bene MC, Feuillard J, Bernard H, Maynadie M, The GEIL. (2005). Immunophenotyping of myelodysplasia. *Clin Appl Immunol Rev*.5:133–48.
- Bejar R., Ebert B. (2010). The Genetic Basis of Myelodysplastic Syndromes. *Hematol Oncol Clin N Am*. 24: 295–315.
- Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. (2007). Manual de prácticas de laboratorio. Puebla.
- Bennett, J., Catovsky, D., Daniel, M., Flandrin, G., Galton, D., Gralnick, H., Sultan, C. (1976). Proposal for the classification of acute leukemias. *Br J Haematol*.33: 451-459.

- Bennett, J., Catovsky, D., Daniel, M., Flandrin, G., Galton, D., Gralnick, H., Sultan, C. (1991). Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukemia (AML-M0). *Br J Haematol.*78, 325-329.
- Bernasconi P, Klersy C, Boni M, et al. (2007). World Health Organization classification in combination with cytogenetic markers improves the prognostic stratification of patients with de novo primary myelodysplastic syndromes. *British Journal Haematology*; 137:193-205.
- Bjork J, Johansson B, Broberg K, Albin M (2009) Smoking as a risk factor for myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia and its relation to cytogenetic findings: A case–control study. *Leukemia Research.*33: 788–791.
- Boulwood J, Pellagatti A., McKenzie A., Wainscoat J. (2010). Advances in the 5q-syndrome. *Blood Journal.* 116: 5803-13.
- Boulwood J, Pellagatti A, Nikpour M, Pushkaran B, Fidler C, Cattan H, et al.(2008). The role of iron transporter ABCB7 in refractory anemia with ring sideroblasts. *Oncology Journal.*23: 291-6.
- Bounurant MC, Koury MJ (2004). Origin and development of blood cells. In Wintrobe's clinical hematology. USA: *Lipincott Williams & Wilkins.*
- Breccia M, Latagliata R, Cannella L, Carosino I, Santopietro M, Loglisci G, et al. (2010). Refractory cytopenia with unilineage dysplasia: analyses of prognostic factors and survival in 126 patients. *Leukemia Lymphoma*; 51:783–8.
- Buttarello M. (2003) Variabilita` biologica dei parametri ematologici. *Riv Med Lab*: 4(Suppl. 1):88– 91.
- Buttarello M. (2004). Quality specification in haematology: the automated blood cell count. *Clinica Chimica Acta.* 346:45–54.
- Cammita B., Jean R.(2012). Optimizing Use of the Complete Blood Count. *Pediatr Pol.* 87(1): 72–77.

- Campuzano-Maya G. (2007). Trombocitopenia: más importante que encontrarla es saber porqué se presenta. *Medicina & Laboratorio*. 13: 111-125.
- Carmel R.(2002).Anemia and aging: an overview of clinical, diagnostic and biological issues. *Blood Rev*.15 (1):9–13.
- Cazzola M, Invernizzi R, Bergamaschi G, Levi S, Corsi B, Travaglini E, et al. (2003). Mitochondrial ferritin expression in erythroid cells from patients with sideroblastic anemia. *Blood*; 101:1996–2000.
- Cermak J, Michalova K, Brezinova J, Zemanova Z.(2003) A prognostic impact of separation of refractory cytopenia with multilineage dysplasia and 5q-syndrome from refractory anemia in primary myelodysplastic syndrome.*Leukemia Research*; 27(3):221–9.
- Challen GA, Sun D, Jeong M, et al. (2011). Dnmt3a is essential for hematopoietic stem cell differentiation. *Nature Genetics*.44:23–31.
- Chen Z., Sandberg A.A.(2002). Molecular cytogenetics aspects of hematological malignancies: clinical implications.*Am. J. Med. Genet. (Semin. Med. Genet.)*. 115: 130–141.
- Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, Lowenberg B, Wijermans PW, Nimer SD, et al. (2002). Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia.*Blood*. 108 (2): 419-25.
- Córdoba I. (2011). Datos clínico-biológicos que permiten subclasificar a los pacientes con síndrome mielodisplásico en nuevos grupos de riesgo. España: Universidad de Salamanca.
- Craig F., Foon K. (2008). Flow Cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms.*Blood*. 111(8): 3941-3967.
- Current Protocols in Immunology 5.0.1-5.0.3, Published online November 2009 in Wiley Interscience (www.interscience.wiley.com). DOI: 10.1002/0471142735.im0500s87.
- Cutler CS, Lee SJ, Greenberg P, Deeg HJ, Pérez WS, Anasetti C, et al.(2004). A decision analysis of allogeneic bone marrow transplantation for the myelodysplastic syndromes:

delayed transplantation for low-risk myelodysplasia is associated with improved outcome. *Blood*.104 (2): 579-85.

- Deeg HJ. Optimization of transplant regimens for patients with myelodysplastic syndrome (MDS).*Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2005: 167-73.

- Del Cañizo MC, Fernandez E, López A, Vidriales B, Villaron E, Arroyo JL, et al.(2003). Immunophenotypic analysis of myelodysplastic syndromes. *Haematologica* .88:402–7.

- Del Canizo MC, Martínez C, Conde E, Vallejo C, Brunet S, Sanz G, et al. (2003). Peripheral blood is safer than bone marrow as a source of hematopoietic progenitors in patients with myelodysplastic syndromes who receive an allogeneic transplantation. Results from the Spanish registry.*Bone Marrow Transplant*. 32 (10): 987-92.

- Du Y., Fryzek J., Sekeres M., Taioli E. (2010). Smoking and alcohol intake as risk factors for myelodysplastic syndromes.*Leu Research*.34: 1-5.

- Delhommeau F, Dupont S, Valle VD, et al.(2009). Mutation in TET2 in myeloid cancers.*N Engl J Med*. 360(22):2289–301.

- Espinosa L. (2010). Guía práctica sobre la técnica de PCR. México: UNAM.

- Estey EH. (2004). Modulation of angiogenesis in patients with myelodysplastic syndrome. *Best Pract Res Clin Haematol*. 17: 623–39.

-Estey E. (2007). Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes in older patients.*J Clin Oncol*.25 (14): 1908-15.

-Garcia-Manero G, Shan J, Faderl S, et al.(2008). A prognostic score for patients with lower risk myelodysplastic syndrome. *Leukemia Research*; 22:538-543.

-Fenaux P. (2004). Myelodysplastic Syndromes: From Pathogenesis and Prognosis to Treatment.*Semin Hematol* 41(4):6-12.

- Fenaux P, Mufti GJ, Hellström-Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagounidis A, et al. (2009). Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study.*Lancet Oncol*.10 (3): 223-32.

- Fridman J., Lowe S. (2003). Control of apoptosis by p53.*Nature*. 22: 9030-940.

- Grant E., Bagg A. (2013). The Genetic Basis and Expanding Role of Molecular Analysis in the Diagnosis, Prognosis, and Therapeutic Design for Myelodysplastic Syndromes. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 67: 291-312.
- Germing U, Neukirchen J, Haas R (2008) The epidemiology of myelodysplastic syndromes. *Clin Leukemia* 2(Feb):34–38.
- Foran J., Shammoo J. (2012). Clinical Presentation, Diagnosis and Prognosis of Myelodysplastic Syndromes. *The American Journal of Medicine*. 125: S6- S13.
- Germing U, Hildebrandt B, Pfeilstöcker M, et al.(2005). Refinement of the International Prognostic Scoring System (IPSS) by including LDH as an additional prognostic variable to improve risk assessment in patients with primary myelodysplastic syndromes (MDS). *Leukemia Research*; 19:2223-2231.
- Giralt S.(2005).Bone marrow transplant in myelodysplastic syndromes: new technologies, same questions. *Curr Hematol Rep*.4:200–207.
- Glader B. (2004). Anemia: general considerations. New York: *Lippincott Williams and Wilkins*,
- Goasguen Jean e. (2003). Is it still possible to ameliorate the diagnosis of refractory anemia?. *Leukemia Research*.27:201-203.
- Goldberg SL, Chen E, Corral M, et al.(2010). Incidence and clinical complications of myelodysplastic syndromes among United States Medicare beneficiaries. *J Clin Oncol*. 28:2847-2852.
- Gohring G, Giagounidis A, Busche G, Kreipe HH, Zimmermann M, Hellström-Lindberg E, et al. (2010). Patients with del(5q) MDS who fail to achieve sustained erythroid or cytogenetic remission after treatment with lenalidomide have an increased risk for clonal evolution and AML progression. *Ann Hematol*. 89 (4): 365-74.
- Haase D, Estey EH, Steidl C, et al. Multivariate evaluation of the prognostic and therapeutic relevance of cytogenetics in a merged European-American cohort of 3860 patients with MDS. *Blood*;110:247.

- Haase D, Schanz J, Tuechler H, et al. (2009). Updated cytogenetic risk features in MDS present state. *Leukemia Research*.33:S9–S10.
- Hellström-Lindberg E, Malcovati L. (2008). Supportive care, growth factors, and new therapies in myelodysplastic syndromes.*Blood Rev*. 22 (2): 75-91.
- Hirai H. (2003). Molecular Mechanisms of Myelodysplastic Syndrome.*Jpn J Clin Oncol*. 33(4)153–160
- Iganawa M.(2011). Risk of Myelodysplastic Syndrome in People Exposed to Ionizing Radiation: A Retrospective Cohort Study of Nagasaki Atomic Bomb Survivors. *J Clin Oncol* .29:428-434.
- Itzykson R, Thepot S, Quesnel B, Dreyfus F, Beyne-Rauzy O, Turlure P, et al. (2011). Prognostic factors for response and overall survival in 282 patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated with azacitidine. *Blood*. 117 (2): 403-11.
- Jaime J., Gómez D. (2009). Hematología: La sangre y sus enfermedades. México: *MC Graw Hill*.
- Jones PA, Baylin SB. (2007). The epigenomics of cancer.*Cell*.128:683–92.
- Kantarjian H, Fenaux P, Sekeres MA, Becker PS, Boruchov A, Bowen D, et al. (2010).Safety and efficacy of romiplostim in patients with lower-risk myelodysplastic syndrome and thrombocytopenia.*J Clin Oncol*.28 (3): 437-44.
- Kantarjian H, Giles F, List A, et al. (2006). The incidence and impact of thrombocytopenia inmyelodysplastic syndromes.*Cancer*; 09(9):1705-14.
- Kantarjian H, Issa JP, Rosenfeld CS, Bennett JM, Albitar M, DiPersio J, et al. (2006). Decitabine improves patient outcomes in myelodysplastic syndromes: results of a phase III randomized study. *Cancer*.106 (8): 1794-803.
- Kantarjian H, O'Brien S, Ravandi F, et al. (2008). Proposal for a new risk model in myelodysplastic syndrome that accounts for events not considered in the original International Prognostic Scoring System. *Cancer*; 113:1351-1361.

- Kao JM, McMillan A, Greenberg PL. (2008). International MDS risk analysis workshop (IMRAW)/IPSS reanalyzed: Impact of cytopenias on clinical outcomes in myelodysplastic syndromes. *American Journal of Hematology*; 83:765-70.
- Killick S. (2009). Myelodysplastic Disorders. *MEDICINE*.37 (4): 186-189.
- Komrokji R., Bennett J. (2008). What is WHO? Myelodysplastic Syndromes Classification. *Leukemia Clinical*.2:20-27.
- Kolquist KA, Schultz RA, Furrow A, Brown TC, Han JY, Campbell LJ, Wall M, Slovak ML, Shaffer LG, Ballif BC. (2011). Microarray- based comparative genomic hybridization of cancer targets reveals novel, recurrent genetic aberrations in the myelodysplastic syndromes. *Cancer Genet*. 204:603-628.
- Komrokji R, Matacia-Murphy GM, Ali NH. (2009). Outcome of patients with myelodysplastic syndromes in the Veterans Administration population. *Leuk Res*; 13:13-16.
- Kussick SJ, Fromm JR, Rossini A, Ying L, Chang A, Norwood TH, et al. (2005). Four color flowcytometry shows strong concordance with bone marrow morphology and cytogenetics in the evaluation for myelodysplasia. *Am J Clin Pathol*. 124:170–81.
- Laboratorio Clínico Hematológico. (2007). Manual de procedimientos. Medellín, Colombia.
- Leone G, Pagano L, Ben-Yehuda D, Voso MT.(2007). Therapy-related leukemia and myelodysplasia: susceptibility and incidence. *Haematologica*.92:1389-1398.
- Loh ML, Sakai DS, Flotho C, et al. (2009).Mutations in CBL occur frequently in juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood*.114(9):1859–63.
- Look A. (2005). Molecular Pathogenesis of Myelodysplastic Syndromes. *American Society of Hematology*. 198: 156-161.
- Lorand I., Pinheiro M., Ribeiro E. (2004). Factors influencing survival in myelodysplastic syndromes in a Brazilian population: comparison of FAB and WHO classifications. *Leukemia Research*.28: 587-594.

- Lubbert M, Suci S, Baila L, Ruter BH, Platzbecker U, Giagounidis A, et al. (2011). Low-dose decitabine versus best supportive care in elderly patients with intermediate or high-risk myelodysplastic syndrome (MDS) ineligible for intensive chemotherapy: final results of the randomized phase III study of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer Leukemia Group and the German MDS Study Group. *J Clin Oncol*; 29 (15): 1987-96.
- Ma X.(2012). Epidemiology of Myelodysplastic Syndromes.*The American Journal of Medicine*. 125: S1-S5.
- Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *Journal Clinical Oncology* 2007; 25:3503-3510.
- Malcovati L, Porta DMG, Lunghi M, Pascutto C, Vanelli L, Travaglino E, et al. (2009). Flow cytometry evaluation of erythroid and myeloid dysplasia in patients with myelodysplasia syndrome. *Leukemia*. 19: 776–83.
- Mayandie M., Picard F., Husson B.(2002). Immunophenotypic clustering of myelodysplastic syndromes.*Blood*.100(2).
- Marisavljevic' D, Kraguljac N, Rolovic' Z. (2006).Immunologic abnormalities in myelodysplastic syndromes: clinical features and characteristics of the lymphoid population. *Med Oncol*.23(3):385-91.
- Miller BG, Fransman W, Heederik D, Hurley JF, Kromhout H, Fitzsimons E.(2010). A review of the data quality and comparability of case-control studies of low-level exposure to benzene in the petroleum industry.*Int Arch Occup Environ Health*.83(1):69–76.
- Mufti G., Bennet J., Goasguen J. (2008). Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndromes (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblastos.*Haematology*.93: 1712-1718.

- Murphy K., Travers P., Walport M. (2008). *Inmunobiología de Janeway*. México: *Mc Graw Hill*.
- Nagata C, Shimizu H, Hirashima K, Kakishita E, Fujimura K, Niho Y.(2002). Hair dye use and occupational exposure to organic solvents as risk factors for myelodysplastic syndrome.*Leuk Res*; 23: 57–62.
- Nimer S. (2011). An Update on the molecular Pathogenesis of Myelodysplastic Syndromes.*Biol Blood Marrow Transplant*. 17:S11-S14.
- Nishino H., Chang C. (2005). Myelodysplastic Syndromes: Clinicopathologic Features, Pathobiology, and Molecular Pathogenesis. *Arch Pathol*.129: 1299- 1310.
- Nguyen PL. (2009). The myelodysplastic syndromes.*Hematol Oncol Clin North Am*. 23:675-691.
- Odenike O., Anastasi O. (2011). Myelodysplastic Syndromes.*Clin Lab Med*. 31: 763–784.
- Okuyama N., Wolfgang F, Katalin K, et al. (2013). Prognosis of acute myeloid leukemia transformed from myelodysplastic syndromes: A multicenter retrospective study. *Leukemia Research*. 37:862– 867.
- Oliva EN, Dimitrov BD, Benedetto F, D’Angelo A, Nobile F. (2005). Hemoglobin level threshold for cardiac remodeling and quality of life in myelodysplastic syndrome. *Leuk Res*. 29 (10): 1217-9.
- Olney HJ, Le Beau MM. (2007). Evaluation of recurring cytogenetic abnormalities in the treatment of myelodysplastic syndromes.*Leuk Res*. 31(4):427–34.
- Orazi A. (2007). Histopathology in the diagnosis and classification of acute myeloid leukemia, myelodysplastic syndromes, and myelodysplastic/myeloproliferative diseases.*Pathobiology*. 74:97-114.
- Orfao A, Ortuño F, De Santiago M, Lopez A, San Miguel JF. (2004). Immunophenotyping of acute leukemias and myelodysplastic syndromes.*Cytometry*;58:62– 71.

- Ortega A. (2002). Atlas de Hematología: Con interpretación de histogramas y esteogramas. México: *Abbot Laboratorio*.
- Palomo I., Pereira J.,Palma J. (2009). Hematología: Fisiopatología y Diagnóstico.Chile: *Universidad de Talca*.
- Panani A., Rousos C.(2006). Cytogenetics aspects of adult primary myelodysplastic syndroes: Clinical Implications.*Cancer Letters*. 235: 177–190.
- Papaemmanuil E, Cazzola M, Boulwood J, Malcovati L, Vyas P, Bowen D, et al.(2011). Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med*;365:1384–95.
- Pintos E. y Cabrejo M.(2010).Clasificación de los síndromes mielodisplásicos.*Hematología*.14:86-90.
- Parise LV, Smyth SS, Shet AS, Collier BS. Platelet morphology, biochemistry and function. En: Beutler E, Lichtman MA, Kipps TL (eds.). *Williams' Hematology*. 7a. ed. New York: McGraw-Hill, 2006;1587- 1663.
- Platzbecker U., Meredyth-Stewart M., Ehninger G. (2007).The pathogenesis of myelodysplastic syndromes.*Cancer Treatments Review*: 33, S53– S58.
- Pollock A. y Stankler L.(1963).Di Guglielmo's Syndrome with low serum vitamin B12.*Postgrade Meddical Journal*. 39: 354-357.
- Rau A.T., Sheedhara A.K., Kumar S.(2012). Myelodysplastic Syndromes in Children: Where Are We Today?.*The Ochsner Journal*. 12:216–220.
- Ribeiro E, Lima CSP, Metze K, Lorand-Metze I.(2004).Flow cytometry analysis of the expression of Fas/Fas-L in bone marrow CD34+ cells in myelodysplastic syndromes. Relation to disease progression. *LeukLymphoma*. 45:309–13.
- Ribeiro E, Matarraz Sudon S, Santiago M, Lima CSP, Metze K, Giralt M, et al. (2006). Maturation-associated immunophenotypic abnormalities in bone marrow B-lymphocytes in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res*.30:9–16.

- Rizzo JD, Lichtin AE, Woolf SH, Seidenfeld J, Bennett CL, Cella D, et al.(2002). Use of epoetin in patients with cancer: evidence- based clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology and the American Society of Hematology. *Blood*. 100 (7): 2303-20.
- Roberts I, Vassiliou G. (2002). Anaemia. London: *Essential paediatric haematology*.
- Rocco V., Maconi M., Giogia M.,et.al. (2011). Possibility of myelodysplastic syndromes screening using a complete blood automated cell count. *Leukemia Research*.35:1623–1627.
- Rollison D., Howlader N., Smith M., et al.(2008).Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001–2004, using data from the NAACCR and SEER programs. *Blood*.;112:45-52.
- Romeo M, Chauffaille Mde L, Silva MR, Bahia DM, Kerbauy J. (2002). Comparison of cytogenetics with FISH in 40 myelodysplastic syndrome patients. *Leuk Res*. 26:993e996.
- Sandhaus LM, Ebenezer SO, Agrawal NN, Dillman CA, Meyerson HJ.(2002).Platelet counting by the coulter LH 750, Sysmex XE 2100 and ADVIA 120. A comparative analysis using the RBC/platelet ratio reference method. *Am J Clin Pathol*;118:235– 41.
- Sandhaus LM, Meyer P. (2002). How useful are CBC and reticulocyte reports to clinicians? *Am J Clin Pathol*;118:787–93.
- Santini V., Melnick A., et.al. (2013). Epigenetic in focus: Pathogenesis of myelodysplastic syndromes and the role of hypomethylating agentes. *Rev Oncol/Hematol*. 123: 1299-1314.
- Saure C, Schroeder T, Zohren F, Groten A, Bruns I, Czibere A, et al. (2012). Upfront allogeneic blood stem cell transplantation for patients with high-risk myelodysplastic syndrome or secondary acute myeloid leukemia using a FLAMSA-based high-dose sequential conditioning regimen. *Biol Blood Marrow Transplant*.18 (3): 466-72.

- Schnatter R., Glass D., Tang G., Irons R., Rushton L. (2012). Myelodysplastic Syndrome and Benzene Exposure Among Petroleum Workers: An International Pooled Analysis. *Oxford University Press.*; 104(22):1724-1738.
- Schroeder T, Ruf L, Bernhardt A, et al(2010): Distinguishing myelodysplastic syndromes (MDS) from idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS): HUMARA unravels clonality in a subgroup of patients. *Ann Oncol.* 21:2267-2271.
- Sekeres M. (2010). The Epidemiology of Myelodysplastic Syndromes. *Hematol Oncol Clin N Am.* 24:287–294.
- Sekeres MA, Schoonen WM, Kantarjian H.(2008) Characteristics of US patients with myelodysplastic syndromes: results of six cross-sectional physician surveys. *J Natl Cancer Inst*;100:1542.
- Slichter SJ. Evidence-based platelet transfusion guidelines. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2007: 172-8.
- Sloan EM, Wu CO, Greenberg P, Young N, Barrett J. (2008). Factors affecting response and survival in patients with myelodysplasia treated with immunosuppressive therapy. *J Clin Oncol.* 26 (15): 2505-11.
- Smith RE, Bryant J, DeCillis A.(2003).Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome after doxorubicin-cyclophosphamide adjuvant therapy for operable breast cancer: the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Experience. *J Clin Oncol*; 21:1195.
- Sociedad Española de Transfusión Sanguínea. (2006).Guía sobre la transfusión de componentes sanguíneos y derivados plasmáticos. 3ª. ed.
- Sternberg A, Killick S, Littlewood T, et al.(2005). Evidence for reduced B-cell progenitors in early (low-risk) myelodysplastic syndrome. *Blood*;106:2982–91.
- Stetler- Stevenson, Arthur D., Jabbour N. (2001). Diagnostic utility of flow cytometric immunophenotyping in myelodysplastic syndromes. *Blood.* 98: 979- 987.

- Strom SS, Gu Y, Gruschkus SK.(2005). Risk factors of myelodysplastic syndromes:a case-control study. *Leukemia*.191:2019-2028.
- Swerdlow, S.H., Campo, E., Harris, N.L., Jaffe, E.S., Pileri, S.A., Stein, H., Thiele, J.,Vardiman, J.W.(2008).World Health Organization classification of tumours: tumours of the haematopoietic and lymphoid tissues. Fourth Edition.WHO, WHO Press, 1211 Geneva 27, Switzerland.
- Steensma DP y Tefferi A.(2003).The myelodysplastic syndrome(s): a perspective and review highlighting current controversies. *Leukemia Research*.27:95-120.
- Steensma DP. (2009).The changing classification of myelodysplastic syndromes: what's in a name? *Hematology*; 2009:645–55.
- Steensma DP. (2012). Historical perspectives on myelodysplastic syndromes.*Leukemia Research*.36:1441-1452.
- Tefferi A, Vardiman JW. (2009).Myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med*: 361:1872–85.
- Thiel A, Beier M, Ingenhag D, Servan K, Hein M, Moeller V, Betz B, Hildebrandt B, Evers C, Germing U, Royer-Pokora B. (2011). Comprehensive array CGH of normal karyotype myelodysplastic syndromes reveals hidden recurrent and individual genomic copy number alterations with prognostic relevance. *Leukemia*. 25:387-399.
- Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, et al (2005). European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica*.90:1128-1132.
- Tkachuk D., Hirschmann J. (2007). Wintrobe's Atlas of Clinical Hematology. USA: *Lippincott Williams & Wilkins*.
- Toma A., Fenaux P., Dreyfius D., Cordonnier C. (2012). Infections in syndromes myelodysplastic. *Haematologica*.97(10): 1459- 1510.

- Tong H., Hu C., Yin X., Yu M., Yang J., Jin J.(2013). A Meta-Analysis of the relationship between Cigarette Smoking and Incidence of Myelodysplastic Syndromes. *Plos One.* 8(6):6.
- Tsan MF,White JE, Maheshwari JG, Chikkappa G. (2002). Anti-leukemia effect of resveratrol. *Leuk Lymphoma*;43:983–7.
- Valent P, Orazi A, Büsche G, et al. (2010): Standards and impact of hematopathology in myelodysplastic syndromes (MDS). *Oncotarget.* 1:483-496.
- Valent P., Peter H., Bennett J., Fonatsch C., et. al. (2007). Deefinition and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes: Consensus statements and report from a working conference. *Leukemia Research.* 31: 727–736.
- Vardiman J. (2012). The classification of MDS: From FAB to WHO and beyond. *Leukemia Research.*36: 1453-1458.
- Vardiman, J., Harris, L., Brunning, R. (2002). “The world Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasm”.*Blood.* 100 (7): 2292-2302.
- Walter MJ, Ding L, Shen D, et al. (2011). Recurrent DNMT3A mutations in patients with myelodysplastic syndromes.*Leukemia.*25:1153–8.
- Wells DA, Benesch M, Loken MR, Vallejo C, Myerson D, Leisernring WM, et al. (2003). Myeloid and monocytic dispoiesis as determinated by flow cytometry scoring in myelodysplastic syndromes correlates with the IPSS and with outcome after hemopoietic stem cell transplantation. *Blood.*102:394–405.
- Zakarija A, Peterson LC, Tallman MS. Hairy cell leukemia. (2005). In Hematology. Basic principles and practice,.Philadelphia, Pennsylvania: *Elseiver, Inc.*
- Zandecky M., Genevieve F., Gerard J, Gordon A. (2007)Spurious counts and spurious results on haematology analyzers:a review. Part II: white blood cells, red blood cels, haemoglobin red cell indicies and reticulocytes. *Inj J Lab Hematol.* 29: 21-41.

- Zhou Jiehao, Orazi Attilio, Czader Magdalena.(2011). Myelodysplastic Syndromes.
Seminars in Diagnostic Pathology. 28: 258-272.