



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
DELEGACIÓN SUR DEL DISTRITO FEDERAL  
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES  
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

**TITULO: " EVALUACIÓN DE LA DENSIDAD DE CÉLULAS ESTROMALES  
MESENQUIMALES Y SU ASOCIACIÓN CON FACTORES PRONÓSTICOS EN  
SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS Y LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA"**

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD DE:  
HEMATOLOGÍA

P R E S E N T A :

DRA. ILSE ARELY REYES RAZO

TUTORES: M. EN C. CARLOS ROBERTO HERNÁNDEZ PÉREZ  
DRA. EN C. EUGENIA FLORES FIGUEROA

MÉXICO, D.F.  
FEBRERO 2017





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.



  
**DOCTORA DIANA GRACIELA MENEZ DIAZ**  
JEFE DE LA DIVISIÓN DE EDUCACIÓN EN SALUD  
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI

  
**M. EN C. LUIS ANTONIO MEILLION GARCIA**  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN HEMATOLOGÍA  
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI

  
**M. EN C. CARLOS ROBERTO HERNÁNDEZ PÉREZ**  
ASESOR DE TESIS  
MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA  
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI



**Dictamen de Autorizado**

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud **3601** con número de registro **13 CI 09 015 184** ante COFEPRIS

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, D.F. SUR

FECHA 17/06/2016

**M.C. CARLOS ROBERTO HERNANDEZ PEREZ**

**P R E S E N T E**

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

**EVALUACIÓN DE LA DENSIDAD DE CÉLULAS ESTROMALES MESENQUIMALES Y SU ASOCIACIÓN CON FACTORES PRONÓSTICOS EN SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS Y LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA**

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

Núm. de Registro
R-2016-3601-113

ATENTAMENTE

**DR.(A) CARLOS FREDY CUEVAS GARCÍA**

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3601

**IMSS**

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

## AGRADECIMIENTOS

A mis padres por todo el amor y el apoyo que me han brindado siempre, por ser mis guías y alentarme a seguir adelante

A mis hermanos, que son un motor importante en mi vida, por estar siempre conmigo y ser pacientes en los momentos de ausencia. Gracias Carlos por traer a mi vida a mi angelito Gael

A mi tío Ignacio, a mi tía María y a mi abuela Guadalupe por ser siempre mis cómplices en todos mis sueños y estar al pendiente de mi bienestar.

Al amor de mi vida, Ricardo, por estar siempre a mi lado, apoyarme, alentarme, tenerme toda la paciencia, soportar mis momentos de estrés y nunca permitirme caer, te amo con toda mi alma.

A mis amigos Queretanos por ser pacientes conmigo, apoyarme, cuidarme, quererme y sobre todo por soportar todas mis locuras.

Al doctor Carlos Hernández por la orientación, el tiempo y el interés genuino que me ha mostrado durante toda mi formación. Le agradezco su apoyo, no solo como maestro, sino como consejero y sobre todo por confiar en mí.

A la doctora Eugenia Flores Figueroa, por todo el apoyo que me brindó para que este proyecto fuera posible, reconociendo su desbordante entusiasmo y conocimiento sobre hematopoyesis.

A la Quim. Monica Reynoso Reybal, M. en C. Asela Berenice Meza Leon, M. en C. Alicia Guadalupe Aguilar Navarro y Dra. Fany Gabriela Juárez Aguilar, que me ofrecieron su tiempo y su experiencia para poder cristalizar este proyecto.

*Reyes Razo Ilse Arely*

Ciudad de México. Febrero 2017.

<b>1. Datos del Alumno</b>	
Apellido paterno	Reyes
Apellido materno	Razo
Nombre (s)	Ilse Arely
Teléfono	55 51 58 96
Universidad	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad o escuela	Facultad de Medicina
Carrera	Hematología
No de Cuenta	304321768
<b>2. Datos de los Asesores</b>	
Apellido paterno	Hernández
Apellido materno	Pérez
Nombre (s)	Carlos Roberto
Apellido paterno	Flores
Apellido materno	Figueroa
Nombre (s)	Eugenia
<b>3. Datos de la Tesis</b>	
Título	" Evaluación de la densidad de células estromales mesenquimales y su asociación con factores pronósticos en síndromes mielodisplásicos y leucemia mieloide aguda"
Subtítulo	
No de páginas	65
Año	2016
Número de registro	R-2016-3601-113

## ÍNDICE

1	Resumen	7
2	Marco teórico	8-21
3	Pregunta de investigación	22
4	Justificación	23-24
6	Objetivos	25
7	Hipótesis	26
8	Pacientes, material y métodos	27-28
10	Estrategia de estudio	29
11	Definición de variables	29-32
12	Análisis estadístico	32
13	Consideraciones éticas	32-33
15	Resultados	34-47
16	Discusión	47-50
17	Conclusiones	50-51
18	Bibliografía	52-55
19	Anexos	56-65

## RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** Los síndromes mielodisplásicos (SMD) y las leucemias mieloides agudas (LMA), en su conjunto ocupan el 13.5% del total de las neoplasias en México. Ambas patologías se caracterizan por falla medular, con un trasfondo de alteraciones citogenéticas y moleculares. Existen clasificaciones pronósticas con el objetivo principal de definir la mejor opción de tratamiento de acuerdo a las características clínicas y biológicas de la enfermedad. En la actualidad ha cobrado interés el papel del nicho hematopoyético en la fisiopatología de estas neoplasias. Uno de sus constituyentes principales de este son las Células Estromales Mesenquimales (MSC), las cuales son morfológica, citogenética y funcionalmente anormales en estas enfermedades, proporcionando señales que permiten la inhibición de la hematopoyesis normal, favoreciendo la leucemogénesis y la quimiorresistencia. En el SMD, el incremento en la densidad de las MSC se ha asociado con progresión de la enfermedad y disminución en la supervivencia global (SG), estando pendiente identificar un efecto similar en la LMA.

**OBJETIVO:** Evaluar la asociación de la densidad de las MSC medidas al diagnóstico, con los factores pronósticos clínicos en pacientes con SMD y LMA.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Estudio de tipo cohorte retrospectiva, que incluyó pacientes con diagnóstico confirmado según la OMS-2008 de SMD y LMA, a quienes se haya realizado biopsia de médula ósea inicial y cuenten con análisis de inmunohistoquímica para NGFR+ MSC, en el periodo de Marzo 2013 a Marzo 2015. Se registraron los datos demográficos y clínicos de cada caso.

**RESULTADOS:** Se realizó el análisis estadístico en 18 pacientes. En el subgrupo de pacientes con SMD la SG fue 14.5 meses y para LMA la SG fue de 12.2 meses. Con respecto a la densidad de células estromales mesenquimales se observó que la la densidad alta (+++) fue más prevalente en los casos con SMD. La mediana de SG para densidad alta fue de 12.3 meses (IC 95% 9,7-15) ( $p=0.36$ ). La mediana de SG de acuerdo a la distribución en parches fue de 11.07 meses ( $p=0.065$ ). Se encontró que la densidad de NGFR+MSC baja se correlaciona con una menor edad ( $\rho=0.7$ ,  $p=0.02$ ) y una menor celularidad en la biopsia de hueso ( $\rho=0.6$ ,  $p=0.05$ ). De manera adicional se analizaron 4 pacientes con SMD que habían desarrollado sobrecarga de hierro transfusional, a quienes se administró terapia quelante del hierro durante 3 meses, sin identificar diferencia en la densidad de NGFR+MSC antes y después de la quelación.

**DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES:** Con este estudio determinamos que la medición de las células estromales mesenquimales (NGFR+MSC) por inmunohistoquímica, en la biopsia de médula ósea de los pacientes con SMD y LMA es una prueba factible. De igual manera se puede evaluar su patrón de distribución y localización. Al analizar la densidad de las NGFR+MSC en comparación con la supervivencia global, se observó una tendencia entre mayor densidad con una menor supervivencia global. De manera significativa la densidad alta (+++) de NGFR+MSC se correlacionó con una mayor edad, en menor grado con un mayor porcentaje de celularidad en la biopsia de médula ósea. También se observó una tendencia en la distribución de las NGFR+MSC en parches con una disminución en la supervivencia global, situación que se presenta con mayor frecuencia en casos de Leucemia Mieloide Aguda



# **EVALUACIÓN DE LA DENSIDAD DE CÉLULAS ESTROMALES MESENQUIMALES Y SU ASOCIACIÓN CON FACTORES PRONÓSTICOS EN SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS Y LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA.**

## **MARCO TEORICO**

### ***SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS***

La organización mundial de la salud (OMS) ha definido a los síndromes mielodisplásicos como un grupo de enfermedades clonales de las células madre hematopoyéticas caracterizadas por citopenias, displasia en uno o más de los linajes celulares mieloides, hematopoyesis inefectiva e incremento en el riesgo de desarrollar leucemia mieloide aguda<sup>1</sup>. Es una patología de adultos mayores, con una edad media al diagnóstico de 65-70 años; menos de 10% de los pacientes son menores de 50 años. El síndrome mielodisplásico (SMD) tiene un ligero predominio en el sexo masculino, a excepción de la variante con delección aislada 5q en la que hay un predominio en mujeres. Su incidencia anual es alrededor de cuatro casos por cada 100 000 personas<sup>2</sup>.

La fisiopatología del SMD consiste en un proceso de múltiples etapas que implica cambios citogenéticos, mutaciones o ambos, así como hipermetilación generalizada de genes en fases avanzadas. El diagnóstico se basa en el examen de sangre y médula ósea, en los que se demuestran citopenias en sangre periférica y una médula hipercelular con displasia, con o sin exceso de blastos. Un cariotipo anormal se presenta en el 40-50% de los casos, caracterizado por la pérdida (parcial o completa) o ganancia de cromosomas, siendo las alteraciones más frecuentemente reportadas: delección 5q, -7 o 7q, +8, delección 20q y 17<sup>2</sup>.

La clasificación morfológica de los SMD se basa en los criterios de la OMS 2008, la cual los agrupa en los siguientes subtipos: Citopenia refractaria con displasia unilínea; Anemia refractaria con sideroblastos en anillo; Citopenia refractaria con displasia multilineal; Anemia refractaria con exceso de blastos (AREB) tipo 1; AREB tipo 2; Síndrome mielodisplásico con delección aislada del brazo largo del cromosoma 5 y Síndrome mielodisplásico no-clasificado <sup>1,2</sup> (ANEXO 1).

### ***Pronóstico del SMD***

De acuerdo al subtipo se tienen características clínicas y pronósticas propias, que incluyen número y profundidad de las citopenias, número de células inmaduras en la médula ósea (blastos) y aberraciones citogenéticas identificadas en las células hematopoyéticas enfermas. De manera adicional se han identificado otros factores que parecen influir en el pronóstico de cada paciente: edad, número de transfusiones requeridas por mes, estado funcional, número de comorbilidades (enfermedad cardíaca, hepática, pulmonar, renal y la asociación con tumores sólidos malignos), fibrosis en biopsia de hueso, algunos indicadores bioquímicos (albúmina sérica, ferritina, DHL) y mutaciones genéticas y moleculares, factores que además de disminuir la posibilidad de supervivencia pueden incrementar el riesgo de progresión a leucemia mieloide aguda <sup>2-4</sup>.

En 1997 se publicó la primera estrategia para conocer el riesgo pronóstico de un paciente con SMD llamada IPSS (por las siglas del inglés, *international prognostic scoring system*). En el año 2012, se realizó un ajuste de este sistema de clasificación pronóstica internacional renombrándolo IPSS-revisado, el cual incluyó los siguientes aspectos a evaluar: estudio citogenético, porcentaje de blastos en la médula ósea, el nivel de hemoglobina, plaquetas y neutrófilos. Cada uno aportando un puntaje para finalmente clasificar al paciente en un grupo de riesgo: Muy bajo, Bajo, Intermedio, Alto y Muy alto, teniendo una posibilidad de supervivencia global que va de 8.8 años para el muy bajo en comparación a 0.8 años para el muy alto <sup>5-7</sup> (ANEXO 2).

La mayoría de los factores pronósticos en los SMD han sido evaluados en pacientes que recibieron sólo manejo de soporte. Pero dado que tratamientos más eficaces están surgiendo, el pronóstico se analiza cada vez más en términos de tales tratamientos. Por ejemplo, la delección del cromosoma 5q está claramente asociada a buena respuesta a lenalidomida; sin embargo, en pacientes con delección 5q asociada a cariotipo complejo, mutación TP53 y un recuento de blastos por encima del 5%, la respuesta a este mismo tratamiento es mala <sup>2</sup>.

El tratamiento de los SMD ha mejorado en fechas recientes, pero sigue siendo un desafío dado que la única opción curativa es el trasplante de médula ósea el cual se realiza en menos del 10% de los casos. La estrategia terapéutica sigue basándose en gran medida en el riesgo otorgado mediante IPSS-R. En los pacientes con IPSS-R de intermedio a muy alto, el objetivo del tratamiento es modificar el curso de la enfermedad, evitar la progresión a leucemia mieloide aguda y prolongar la supervivencia. Por el contrario, en aquellos clasificados como de riesgo muy bajo o bajo, el tratamiento es de soporte con apoyo transfusional, citocinas estimulantes de colonias e inmunosupresores, siendo la supervivencia más larga inclusive con mortalidad distinta a la relacionada directamente al SMD. Por lo tanto, su tratamiento tiene como objetivo principal prevenir las consecuencias de las citopenias y de las transfusiones, así como mejorar la calidad de vida <sup>2</sup>.

### **LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA**

La leucemia mieloide aguda (LMA) es una patología hematológica maligna, caracterizada por expansión clonal de blastos de linaje mieloide, a través de la adquisición de arreglos cromosómicos y múltiples mutaciones genéticas. Es considerada la principal causa de leucemia aguda en adultos, con una edad media de presentación de 67 años (aproximadamente un tercio de los pacientes diagnosticados son >75 años). Su incidencia de estima en 1-5 casos por cada 100 000 habitantes <sup>8</sup>. En México no se cuenta con datos estadísticos que reflejen el comportamiento epidemiológico de

esta patología, sin embargo existen evidencias de que el número de pacientes con esta enfermedad ha incrementado de manera significativa en los últimos años.

En el desarrollo de ésta se produce una pérdida de la respuesta a reguladores normales de la proliferación celular en la médula ósea, que lleva a un incremento acelerado de la población de células hemáticas inmaduras que desplazan a la población celular normal con la consecuente falla medular, además puede producir infiltración extramedular a bazo, hígado, piel, encías y sistema nervioso central.

Los agentes etiológicos relacionados a la LMA son: exposición a radiaciones ionizantes, benceno y tratamiento quimioterápico. Aunque la exposición a estos factores solo producirá leucemia aguda en personas que ya cuenten con alteraciones bioquímicas o genéticas de base.

El diagnóstico se basa en la presencia de  $>20\%$  de blastos en el aspirado o biopsia de médula ósea. El inmunofenotipo multiparamétrico por citometría de flujo se utiliza para la determinación del linaje celular de la clona maligna. La citogenética convencional es obligada en la evaluación del paciente con LMA, ya que las alteraciones cromosómicas se detectan en aproximadamente 55% de los casos. Los estudios de genética molecular por reacción en cadena de polimerasa en tiempo real (PCR) permiten reconocer mutaciones diversas y de esta manera realizar una correcta categorización en grupos de riesgo <sup>9</sup>.

El primer sistema de clasificación de la LMA fue definido por la sociedad Franco-Américo-Británica, la cual se basó en las características morfológicas y citoquímicas, identificando 8 subtipos, del M0-M7, (ANEXO 3). En 1999 la OMS desarrollo un nuevo sistema de clasificación, la cual incorporó información citogenética y la presencia de displasia, refinando los subgrupos pronósticos. En el

2003, el Grupo de Trabajo Internacional incluyó el inmunofenotipo dentro de los criterios diagnósticos de la OMS. Y más recientemente en el 2008 se adicionaron nuevas anomalías genéticas recurrentes como factores pronósticos de alto impacto <sup>8</sup> (ANEXO 4).

### ***Pronóstico de la LMA***

Cada uno de los subtipos de LMA tiene características epidemiológicas y biológicas que se traducen muchas veces, en tratamientos y pronósticos diferentes <sup>10</sup>.

Los factores pronósticos se pueden subdividir en los relacionados con características del paciente y su estado general de salud, y en los relacionados con características particulares de la clona leucémica. El primer subconjunto generalmente predice la mortalidad relacionada con el tratamiento (TRM, treatment related mortality), mientras que el segundo predice la resistencia a la terapia convencional <sup>10</sup>.

Dentro de los factores relacionados con el paciente, la edad avanzada es un factor pronóstico adverso <sup>11</sup>; los pacientes de edad avanzada tienen peores resultados que los pacientes más jóvenes, lo que sugiere el efecto de factores desconocidos relacionados con la edad. No obstante, la edad cronológica por sí sola no es una razón para no ofrecer terapia potencialmente curativa a un paciente mayor de 60 años, ya que la edad no es el factor pronóstico más importante <sup>12</sup>.

En los factores pronósticos relacionados con LMA se incluyen: el recuento de glóbulos blancos al momento del diagnóstico ( $>100,000/\mu\text{L}$ ), la existencia previa de SMD, haber recibido terapia citotóxica previa por otro trastorno, el estudio citogenético y molecular, así como los cambios genéticos en las células leucémicas. Varios otros factores, tales como la presencia de esplenomegalia y la elevación en los niveles de deshidrogenasa láctica en suero (LDH), confieren algún efecto pronóstico pero con consistencia variable entre los estudios <sup>10</sup>.

Entre todos los anteriores el cariotipo de las células leucémicas es el factor pronóstico más fuerte para predecir la respuesta a la terapia de inducción y la supervivencia <sup>13</sup>. De acuerdo al grupo SWOG tradicionalmente se reconocen 4 grupos de riesgo pronóstico: 1. Riesgo bajo o citogenética (CG) favorable (20% de los pacientes con LMA): t(15;17), inv(16), t(16;16), del 16q, ó t(8;21); 2. Riesgo intermedio (46%): +8, -Y, +6, del(12p) ó cariotipo normal; 3. Riesgo alto o CG desfavorable (30%): -5/del(5q), -7/del(7q), inv(3q), anormalidades del 11q, 20q, del (9q), t(6;9), t(9;22), anormalidades del 17p y cariotipo complejo definido por la presencia de > 3 alteraciones CG; 4. Riesgo desconocido (4%): al no reunir los criterios de metafases analizables <sup>14</sup>.

El avance en el campo de la biología molecular, ha permitido identificar varias alteraciones moleculares con impacto en el pronóstico de los pacientes con LMA como son: FLT3, NPM1, CEBPA, TET2, ASXL1, IDH1-2, DNMT3A, PHF6, WT1, TP53, EZH2, RUNX1, PTEN, KIT y la familia RAS. De acuerdo a estos hallazgos se ha re-clasificado a los pacientes dentro de 4 grupos pronósticos (Bajo, Intermedio I, Intermedio II y Alto) (ANEXO 5).

La disección y entendimiento cada vez más profundo de todos los factores pronósticos conocidos hasta hoy, que necesariamente incluyen muchos asociados a la biología de la LMA, han permitido el diseño de estrategias más racionales de tratamiento, incorporando ya sea nuevos agentes de los llamados biológicos o terapias sobre blancos moleculares en los diferentes tipos de LMA <sup>15</sup>.

## ***PAPEL DE LAS CÉLULAS ESTROMALES MESENQUIMALES EN EL NICHO HEMATOPOYÉTICO.***

Los nichos hematopoyéticos son microambientes especializados que apoyan activamente al crecimiento, mantenimiento y maduración de las células madre y sus progenitores celulares. El microambiente medular incluye una compleja red de proteínas de matriz extracelular, factores de crecimiento soluble, citocinas y distintos nichos incluidos el endosteal (osteoblástico) y el vascular. El nicho endosteal está compuesto por osteoblastos, células estromales mesenquimales (MSC), que están dispuestas a lo largo de fibrocitos; mientras que el nicho vascular es definido por las células endoteliales, pericitos capilares y el músculo liso de las arteriolas <sup>16,17</sup>.

El papel del nicho endosteal incluye el mantenimiento de las células madre hematopoyéticas en estado quiescente o de auto-renovación. Mientras que el nicho vascular se encarga de la activación, maduración y diferenciación de las células hematopoyéticas, controlado el tráfico de las mismas dentro y fuera de la médula ósea <sup>18,19</sup>

Cualquier célula dentro de este ambiente puede hacer contacto directo con el resto de los subtipos celulares o recibir información bioquímica indirecta a través de la secreción de compuestos bioactivos.

Las MSC de la médula ósea fueron descubiertas en 1968 por Friedenstein y sus colaboradores <sup>20</sup>, quienes dejaron evidencia de que, en adición a los progenitores hematopoyéticos, existe una población de células reticulares, capaces de formar colonias en cultivo, que semejan pequeños depósitos de hueso o cartílago y que tienen gran capacidad para su autorenovación y multipotencialidad.

Las MSC, son capaces de mantener la hematopoyesis, tanto *in vitro*, como en modelos *in vivo*. Estas pueden diferenciarse en tejido adiposo, cartílago, hueso, tejido fibroso y estroma de mielosoporte <sup>18</sup>. Las MSC fabrican el tejido conectivo y producen varios factores -como interleucinas (IL) 6, 7, 8, 11, 12, 14, 15, IL-1a, CXCL12, citocinas, quimiocinas, fibronectina, colágenas y proteínas de la matriz extracelular, que regulan la producción de células hematopoyéticas <sup>21</sup>.

Ensayos *in vitro* han demostrado que dependiendo del linaje de las células progenitoras, estas tienen distintos requerimientos del estroma. Los progenitores linfoides B, dependen de una subpoblación de MSC que expresa CD10, y requieren adicionalmente de los osteoblastos<sup>22</sup>, mientras que los progenitores mieloides, tienen estrecha relación con otros grupos de MSC que no expresan CD10. Estos hallazgos evidencian la presencia de distintos microambientes en la médula ósea, compuestos por MSC de morfología similar, pero con funciones e inmunofenotipo diferente. Al parecer, son las células inmaduras y progenitoras las que requieren de las MSC, ya que se ha demostrado que los agregados linfoides benignos y malignos no son dependientes del estroma <sup>23</sup>.

La inmunohistoquímica e inmunofluorescencia han sido utilizadas para la identificación de las MSC, permitiendo conocer la relación que existe entre ellas y el resto de los componentes del microambiente medular. El receptor del factor de crecimiento nervioso de baja afinidad (NGFR), se utiliza ampliamente para identificar y aislar las MSC <sup>24</sup>.

El grupo de trabajo de Flores Figueroa, et al, ha sido pionero en analizar la morfología, distribución y el comportamiento de las MSC en la médula ósea humana tanto de personas sanas como de pacientes con neoplasias malignas (SMD y LMA). Dicho grupo ha observado que las MSC se ramifican ampliamente, arborización que permite numerosos contactos entre las MSC creando una



red que se encuentra distribuida en toda la médula hematopoyética, con un predominio a nivel perivascular y peritrabecular. De igual manera han demostrado que las células progenitoras hematopoyéticas CD34+ están en contacto directo con las MSC, reafirmando su papel principal en el mantenimiento de la hematopoyesis <sup>25</sup>.

Desde los años sesenta, es bien reconocido que en adultos mayores existe un remplazo de la médula ósea hematopoyética, por componente graso, observándose que únicamente 40-50% del componente medular total es capaz de inducir hematopoyesis; típicamente estas alteraciones coinciden con la edad de presentación de los SMD y la LMA <sup>26</sup>.

## **CÉLULAS ESTROMALES MESENQUIMALES Y SU RELACIÓN CON EL SÍNDROME MIELODISPLÁSICO Y LA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA.**

En la actualidad, se conoce el papel de las MSC en la regulación de la hematopoyesis normal, inclusive se ha establecido su importancia como parte de la fisiopatología de algunas enfermedades hematológicas, lo cual ha sido explorado tanto en modelos experimentales en ratón, como en las MSC de pacientes con SMD y LMA <sup>27,28</sup>.

Alteraciones en la población de MSC han demostrado ser suficientes para inducir mielodisplasia en modelos murinos. Las MSC de pacientes con SMD son funcional y citogenéticamente anormales, la presencia de estas anomalías se ha correlacionado con peores resultados clínicos <sup>29</sup>.

Funcionalmente, las MSC de pacientes con SMD y LMA presentan deficiencias en su proliferación y secreción de citocinas <sup>30,31</sup>. En SMD se ha documentado un incremento en la secreción de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ),

interleucina 6 (IL-6), interferón gamma (INF- $\gamma$ ) y el factor de crecimiento transformante beta (TGF $\beta$ )

32.

Por otro parte, reportes recientes han demostrado la co-existencia de múltiples clonas en pacientes con leucemias agudas, que han sugerido que el microambiente medular interviene de manera permisiva en la aparición de clonas pre-leucémicas, las cuales proliferan hasta el desarrollo de leucemia franca <sup>33</sup>.

En el estudio realizado por Priya Chandran y cols; se caracterizaron y compararon las MSC de pacientes con LMA y donadores sanos. Reportando morfología heterogénea, capacidad de proliferación variable y una viabilidad disminuida en las MSC-LMA, en comparación con los donadores sanos. De manera importante se observó una reducción en la capacidad de las MSC-LMA para mantener la expansión y diferenciación de los progenitores hematopoyéticos, así como en la expresión de genes asociados con el mantenimiento de las células madre. Concluyendo que alteraciones funcionales en las MSC de pacientes con LMA, pueden atenuar la hematopoyesis normal, dar ventaja a la progresión leucémica e influir en la respuesta terapéutica <sup>34</sup>.

### ***EVALUACIÓN DE LAS MSC COMO FACTORES PRONÓSTICOS***

En el caso de los SMD, se existen estudios que han mostrado que existe correlación entre el comportamiento clínico y el número de MSC o su integridad cromosómica. En este sentido, Flores-Figueroa et al, describió que las MSC de pacientes con MDS albergaban anomalías cromosómicas en 55% de los casos<sup>29</sup>. El grupo del Dr. Blau demostró que los pacientes que presentan alteraciones cromosómicas en las MSC, tienen peores resultados clínicos que aquellos que tienen MSC con cariotipo normal <sup>35</sup>. López-Villar et al, analizó los cambios genómicos de MSC

no cultivadas (CD271+ CD73+ CD45+ CD34+), por matriz de hibridación genómica comparada (CGH) y encontró que las alteraciones estaban presentes antes del cultivo de las células <sup>36</sup>.

En cuanto al número de MSC, actualmente existen tres formas para cuantificarlas: mediante cultivos in vitro<sup>37</sup>; mediante citometría de flujo<sup>38</sup> y mediante inmunohistoquímica en las biopsias de médula ósea<sup>39</sup>; sin embargo, no existen estudios que comparen estos tres métodos.

La correlación entre el número de MSC y la clínica ha sido estudiada únicamente mediante su cuantificación por inmunohistoquímica. El grupo del Dr. Kitagawa demostró que la densidad de MSC, evaluada por este método, se correlacionaba directamente con el número de blastos.

En el estudio realizado por Ryan C. Johnson y col. publicado en diciembre del 2014, se pone a prueba la importancia diagnóstica y pronóstica de la densidad de células mesenquimales CD271+ (receptor del factor de crecimiento nervioso de baja afinidad) en pacientes con citopenias que fueron sometidos a biopsia de médula ósea para el diagnóstico de síndrome mielodisplásico. Se analizaron 125 biopsias de médula ósea, las cuales fueron clasificadas de acuerdo al diagnóstico histopatológico en citopenias benignas (n=61), SMD de bajo grado (<5% de blastos, n=40) y SMD de alto grado (>5% de blastos y los relacionados a tratamiento, n=24). Las características demográficas eran similares entre todo el grupo de pacientes, así como el grado de citopenias al diagnóstico. La densidad se calculó como el porcentaje de la superficie celular cubierto por CD271+ MSCs, usando un analizador de imágenes automatizado, categorizándolas en densidad baja, media y alta. Se comparó la densidad de CD271+MSC presente en cada una de las categorías anteriores, reportándose predominio de densidad alta en pacientes con SMD de alto grado. Se analizó de igual manera la importancia pronóstica de la densidad CD271 + MSC en un modelo de riesgo proporcional de Cox que incorporó variables pronósticas clínicamente relevantes: sistema de clasificación

pronostica internacional revisada (IPSS-R), historia transfusional, historia de quimioterapia/radioterapia y fibrosis medular. La media de seguimiento para SMD fue de 22 meses con 34 muertes reportadas; la media para las citopenias benignas fue de 30 meses con 26 muertes. Los pacientes con alta densidad de CD271+MSC tuvieron tres veces mayor riesgo de muerte comparados con los de densidad baja o moderada (HR 3.4; IC95%, 1.7-6.9, p= 0.001). La transformación a LMA se documentó en 13 pacientes con SMD y en un paciente con citopenias benignas, el cual tenía antecedente de radioterapia por tumor sólido. La supervivencia global fue significativamente menor en los pacientes con SMD y densidad alta, en comparación con los de densidad media y baja (18 vs 71 meses p= 0.01), independientemente de los demás factores pronósticos. De interés clínico fue el hallazgo de que los pacientes con puntuaciones bajas e intermedias en la escala IPSS-R podrían subdividirse sobre la base de alta densidad de CD271 + MSC (mediana de supervivencia, 18 vs 57 meses). En caso de validarse este hallazgo podría conducir a algoritmos de tratamiento altamente personalizados para estos pacientes. Según lo anterior se concluye que la asociación de una alta densidad CD271+ MSC con un grado más alto de SMD puede reflejar una retroalimentación positiva anormal entre el clon mielóide y su nicho mesenquimal disfuncional <sup>40</sup>.

Para el caso de los pacientes con LMA no se han reportado estudios que relacionen la densidad de las células mesenquimales con el riesgo pronóstico.

### ***EL PAPEL DE LA SOBRECARGA DE HIERRO EN LA HOMEOSTASIS DEL NICHOS HEMATOPOYÉTICO.***

La idea de que el metabolismo del hierro está involucrado en la regulación y la alteración del nicho de la médula ósea se basa en varias líneas de evidencia. En primer lugar, la sobrecarga de hierro es

muy común en los SMD -por transfusión sanguínea e eritropoyesis ineficaz-. En segundo lugar, en general la sobrecarga de hierro es ampliamente considerada como un factor de riesgo de osteopenia y osteoporosis, ya que se ha demostrado que inhibe la diferenciación osteoblástica y aumenta la diferenciación osteoclástica, potenciando la resorción ósea <sup>41</sup>.

Los efectos de la sobrecarga de hierro en la homeostasis ósea son: inhibición de la fosfatasa alcalina y supresión en la expresión de genes como osteocalcina, osterix y Runx2, que condicionan disminución en la formación de hueso <sup>42</sup>.

Por otro lado, el exceso de hierro está asociado con el incremento en el estrés oxidativo: acumulación de hierro no unido a transferrina (NTBI) causado por las transfusiones, que genera aumento en el hierro plasmático lábil extracelular (LPI) y en la reserva de hierro lábil intracelular (LIP), los cuales son la fuente principal de producción de especies de oxígeno reactivo (ROS). Esta acumulación de hierro también disminuye los niveles del mayor antioxidante celular, el glutatión reducido (GSH) e incrementa la peroxidación lipídica de la membrana <sup>43</sup>.

En los pacientes con SMD y sobrecarga de hierro, se ha reportado producción alterada de hepcidina. Los niveles de esta última son heterogéneos y depende el subtipo de SMD, detectando el nivel más bajo en la Anemia Refractaria con Sideroblastos en Anillo y el más alto con AREB y Leucemia Mielomonocítica crónica <sup>44</sup>. Estos datos están en concordancia con un estudio in vitro que muestra una variabilidad importante en la capacidad del suero de los pacientes con SMD para suprimir la expresión de hepcidina en los hepatocitos.

Por lo tanto, hay estudios convincentes destacando un papel potencial del hierro en la modulación de varios componentes del nicho osteo-hematopoyético. Sin embargo, si la sobrecarga de hierro o el agotamiento de este son capaces de alterar de forma significativa la armonía de las células

hematopoyéticas con el microambiente en el SMD, aún no ha sido estudiado a detalle. Claramente, se necesita más investigación para evaluar el efecto del hierro sobre las MSC en estudios preclínicos y clínicos <sup>45</sup>.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la asociación de la densidad de las células estromales mesenquimales en el pronóstico de los pacientes con SMD y LMA?

## JUSTIFICACIÓN

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) y las leucemias agudas, forman parte de las neoplasias hematológicas que en su conjunto, ocupan el 13.5% del total de neoplasias en México <sup>46</sup>. La relevancia de estas neoplasias hematológicas radica en que la frecuencia de ambas aumenta con la edad, así para el SMD la incidencia anual después de los 70 años se incrementa a 40-60 casos/100,000 habitantes y para la leucemia mieloide aguda (LMA) a 15-24 casos/100.000 habitantes <sup>47</sup>. Considerando la expectativa de vida en 2015 de 72 a 77 años, se ha incrementado la demanda de atención médica por ambas patologías en el sector salud.

El SMD era una enfermedad de poco interés científico tanto por las diferentes clasificaciones clínicas, la falta de consenso en sus criterios diagnósticos, la aparente baja incidencia de casos, como por su predominio en pacientes de edad avanzada. Sin embargo a partir de 2001 se han descrito con un fundamento fisiopatológico y pronóstico los subtipos clínicos de esta entidad, siendo aceptados por su reproducibilidad en la práctica clínica diaria. Además, la incidencia ha ido a la alza tanto por un mejor registro de los casos ante la estandarización de los criterios de la enfermedad, como por el incremento en la esperanza de vida y por el reporte de casos en grupos etarios más jóvenes con respecto a los descritos previamente.

En el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social, la incidencia anual de SMD en 2015 fue de 25 casos nuevos, con una prevalencia de 130 pacientes. Para el caso de la LMA, no se cuenta con un registro epidemiológico, pero según los registros histopatológicos, la incidencia es de 15 casos nuevos al año.

Estudios tanto *in vitro* como *in vivo*, han mostrado la participación de las células estromales mesenquimales (MSC) en la hematopoyesis normal y en diversas enfermedades hematológicas. En el SMD, el incremento en la densidad de las MSC en la médula ósea se ha asociado con progresión



de la enfermedad y con disminución en la supervivencia global, estando pendiente estudiar un efecto similar en la LMA.

La cuantificación de las MSC (densidad de las MSC) en biopsias de médula ósea por inmunohistoquímica, mediante el marcador NGFR, ya fue validada en el: Estudio sistemático de las células estromales mesenquimales en biopsias de médula ósea de pacientes con SMD y leucemias agudas, realizado en nuestro hospital como trabajo de tesis por la doctora Juárez F.

Establecer la asociación pronóstica de la densidad de las MSC en los pacientes con SMD y sobre todo en los de LMA, demostrará la importancia del nicho hematopoyético en la fisiopatología de estas enfermedades y abrirá un campo terapéutico hasta ahora poco conocido y que se vislumbra prometedor al considerar estrategias de tratamiento a blancos multicelulares.

Dado que a la fecha el estroma medular a través de las MSC no es considerado un factor pronóstico para el SMD y la LMA, con este estudio clínico se tiene el objetivo de conocer la asociación entre la densidad de las MSC y la supervivencia de los pacientes con SMD y LMA, confirmando su valor pronóstico en los casos con SMD, mientras que para los casos con LMA este sería el primer reporte que analiza dicha asociación.

## **OBJETIVOS:**

Evaluar la asociación de la densidad de las células estromales mesenquimales medidas al diagnóstico, con los factores pronósticos clínicos en pacientes con SMD y LMA.

## **OBJETIVO PARTICULARES:**

- Determinar si la densidad incrementada de las células estromales mesenquimales al diagnóstico, está asociada con riesgo alto y muy alto según la escala pronóstica IPSS-R en pacientes con SMD.
- Determinar si la densidad disminuida de las células estromales mesenquimales al diagnóstico, está asociada con riesgo bajo y muy bajo según la escala pronóstica IPSS-R en pacientes con SMD.
- Determinar si la densidad incrementada de las células estromales mesenquimales al diagnóstico, está asociada con la presencia de sobrecarga de hierro al momento del diagnóstico de pacientes con SMD.
- Determinar si la densidad incrementada de las células estromales mesenquimales al diagnóstico, está asociada con riesgo desfavorable según las escalas pronosticas de importancia clínica en pacientes con LMA.
- Determinar la asociación entre la densidad de las células estromales mesenquimales al diagnóstico con la supervivencia global de pacientes con los diagnósticos de SMD y LMA.

## **HIPÓTESIS**

La densidad incrementada de las células estromales mesenquimales al diagnóstico, está asociada con disminución en la supervivencia global, independiente de los factores pronósticos conocidos, en pacientes con síndrome mielodisplásico y leucemia mieloide aguda.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

### ***Diseño del estudio***

Estudio de cohorte retrospectiva.

### ***Población de estudio***

Pacientes con diagnóstico confirmado de Síndrome Mielodisplásico y Leucemia Mieloide Aguda de acuerdo a los criterios de la OMS-2008, en el hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, que cuenten con análisis de inmunohistoquímica para NGFR+MSC en la biopsia de médula ósea, en el periodo de Marzo de 2013 a Marzo de 2015, con un seguimiento adicional hasta Abril de 2016. Este protocolo forma parte del estudio: Evaluación de las células troncales/estromales mesenquimales de la médula ósea de pacientes con Síndrome Mielodisplásico y Leucemias Mieloides con fines pronósticos, con número de registro R-2015-785-056.

#### **A. Criterios de Selección**

##### **1. Criterios de inclusión:**

- a. Edad >18 años
- b. Género: cualquier género.
- c. Diagnóstico de SMD según criterios de la OMS-2008
- d. Diagnóstico de LMA según criterios de la OMS-2008
- e. Que cuenten con una biopsia de médula ósea al momento del diagnóstico del SMD o de la LMA, en la que se haya medido la densidad de NGFR+ MSC.

##### **2. Criterios de exclusión**

- a. Pacientes con diagnóstico confirmado de Leucemia Promielocítica, Leucemia aguda de linaje ambiguo, Sarcoma mieloide, Mieloproliferativo relacionado a síndrome de Down y Neoplasia de células dendríticas.
  - b. Que el caso de SMD o de LMA haya sido clasificado como secundario.
3. Criterios de eliminación
- a. Casos que no cuenten con expediente clínico o con la información del seguimiento clínico.
  - b. Que haya resultado indeterminada la densidad de NGFR+ MSC en la biopsia de médula ósea.

#### **Tamaño de la muestra:**

Hemos considerado un estudio previo en pacientes con SMD en quienes se reportó que la densidad disminuida de las MSC en la biopsia de médula ósea presentaba una mediana de supervivencia en comparación con la densidad incrementada, de 71 versus 18 meses, respectivamente. Entonces teniendo un periodo de recopilación de los casos de 24 meses y un seguimiento adicional desde el último caso incluido de 12 meses, con una probabilidad de tener 2 casos de densidad disminuida versus 1 caso con densidad incrementada, con un  $\alpha$  0.05% y un poder de 80% se requerirán un total de 45 pacientes. Es decir, 30 pacientes con densidad disminuida y 15 pacientes con densidad incrementada para poder rechazar la hipótesis nula referente a que la densidad de MSC no está asociada con la supervivencia global.

Para el caso de los pacientes con LMA no hay reportes previos por lo que se considera un estudio piloto no siendo necesario establecer un tamaño de la muestra.

## **Estrategia de Estudio**

Se incluyeron todos los pacientes con diagnóstico de Síndrome Mielodisplásico y Leucemia Mieloide Aguda, que contaban con biopsias de médula ósea al momento del diagnóstico, con reporte de inmunohistoquímica para NFGR+ MSC, en el periodo de Marzo del 2013 a Marzo del 2015. Se cuenta con una base de datos de pacientes a los que se les realizó el estudio de densidad de las MSC en el protocolo: Estudio Sistemático de las Células Estromales Mesenquimales en biopsias de médula ósea de pacientes con Síndrome Mielodisplásico y Leucemias Agudas, autorizado con el número de registro R-2014-3601-214 por el Comité Local de Investigación y Ética de este hospital. En el presente estudio se pretende realizar el análisis clínico de los pacientes que cuentan con dicha determinación de células estromales mesenquimales y relacionar de manera bivariada y multivariada a la densidad de las MSC con los factores de riesgo pronóstico clínicos ya conocidos y la supervivencia global.

De acuerdo a la lista de pacientes se solicitaron los expedientes en el archivo clínico para obtener los datos, en los casos en que no se contó con el expediente se revisó la base de datos del laboratorio central y de los archivos de hematología. Se registraron los datos demográficos y clínicos de importancia para nuestro estudio.

## **Definición de variables**

VARIABLE	TIPO	ESCALA DE MEDICION	DESCRIPCIÓN CONCEPTUAL	DESCRIPCIÓN OPERACIONAL
Supervivencia Global	Cuantitativa discontinua	Meses	Se entiende como el tiempo que transcurre entre el diagnóstico del padecimiento y el último seguimiento o muerte	Se referirá al número de meses transcurridos a partir de la fecha de diagnóstico con la fecha de último seguimiento o muerte
Síndrome Mielodisplásico	Cualitativa nominal	Citopenia refractaria con displasia	Se define como un grupo de enfermedades clonales de las células	Ver anexo 1

		<p>unilinjaje; Anemia refractaria con sideroblastos en anillo; Citopenia refractaria con displasia multilinjaje; Anemia refractaria con exceso de blastos (AREB) tipo 1; AREB tipo 2; Síndrome mielodisplásico con delección aislada del brazo largo del cromosoma 5 y Síndrome mielodisplásico no-clasificado.</p>	<p>madre hematopoyéticas caracterizadas por citopenias, displasia en uno o más de los linajes celulares mieloides, hematopoyesis inefectiva e incremento en el riesgo de desarrollar leucemia mieloide aguda</p>	
Leucemia Mieloide Aguda	Cualitativa nominal	<p>LMA con anomalías citogenéticas recurrentes. LMA sin otra causa especificada.</p>	<p>Es una patología hematológica maligna, caracterizado por expansión clonal de blastos mieloides en sangre periférica, médula ósea y en otros tejidos</p>	Ver Anexo 4
IPSS-R	Cualitativa ordinal	<p>Grados 1. Riesgo muy bajo. 2. Riesgo bajo. 3. Riesgo intermedio. 4. Riesgo alto. 5. Riesgo muy alto</p>	<p>El sistema de clasificación pronóstico internacional se refiere a una estrategia de riesgo pronóstico que incluye los siguientes aspectos a evaluar: estudio citogenético, porcentaje de blastos en la médula ósea, y el nivel de hemoglobina, plaquetas y neutrófilos. Cada uno aportando un puntaje para finalmente clasificar</p>	Ver Anexo 2

Densidad de células mesenquimales	Cualitativa ordinal	Alta Media Baja	al paciente en un grupo de riesgo  Se entiende como el porcentaje de células mesenquimales en una biopsia de médula ósea tomada al diagnóstico del padecimiento	Se obtendrá por la cuantificación del anticuerpo del receptor de crecimiento neuronal (NFGR) mediante inmunohistoquímica, en las biopsias de médula ósea, evaluando la intensidad del marcaje por positividad de cruces, +++ alta, ++ media, + baja. También se evaluará el patrón de crecimiento en homogéneo y en parches para las biopsias de médula ósea de pacientes con LMA. Siendo homogéneo cuando más o igual de 80% de los blastos estén en relación con las MSC y en parches cuando menos del 80% tengan contacto con las mismas.
Sobrecarga de Hierro	Cualitativa Dicotómica	Sin sobrecarga Con sobrecarga	Es la evidencia de exceso de hierro definida por el nivel sérico de ferritina ( $\geq 1000$ ng/mL; no asociado a inflamación o infección reciente), en conjunto con el antecedente transfusional de $\geq 20$ unidades de concentrado eritrocitario y que puede ser complementado con el estudio de resonancia magnética y/o biopsia de	Definiremos con sobrecarga de hierro al diagnóstico, si la biopsia de hueso reporta un nivel de hemosiderina grado II y III según la escala de Krause.



médula ósea, hepática o miocárdica que reporten hemosiderosis (exceso de hierro).
---

## **Intervención**

No hay intervención

## ***Análisis estadístico***

Se realizó el análisis bivariado para la variable supervivencia global en comparación con la variable densidad de células mesenquimales; con la prueba U-Mann-Whitney, considerando estadísticamente significativo un valor de  $p < 0.05$ . También se realizó análisis bivariado de la supervivencia global con las variables: edad, ECOG, IPSS-R, fibrosis y número de blastos.. Las curvas de supervivencia global se realizaron por Kaplan Meier de acuerdo a la densidad de células mesenquimales. Dicho análisis estadístico se realizó con el paquete SPSS versión 23.

## **ASPECTOS ETICOS**

El presente estudio se apega a las normas éticas vigentes. De acuerdo a la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud se trata de un estudio sin riesgo, ya que se emplearán técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y no se realiza una intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio.

Se cuidará la confidencialidad de la manera siguiente: No se incluirán nombres, ni identificadores de pacientes en este estudio; se emplearán los expedientes clínicos que se encuentran en el archivo del hospital de especialidades, así como una base de datos de biopsias de médula ósea, con reporte de inmunohistoquímica para las células estromales mesenquimales, asignando un número de folio a

cada caso que no esté relacionado con los datos de identificación del paciente. Se incluye una carta de consentimiento para solicitar a los pacientes que se encuentren en la consulta externa, su autorización para la obtención de los datos. El consentimiento será solicitado por un médico diferente al investigador.

### **Consideraciones de la Norma e Instructivos Institucionales**

Este estudio se ajusta a las normas e instructivos institucionales en materia de investigación científica, por lo tanto se realizará una vez haya sido aprobado por el comité local de investigación.

### **RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD**

Recursos humanos: Un médico residente de Hematología, un médico adscrito al servicio de Hematología y un asesor metodológico.

Recursos materiales: Hojas, bolígrafos, expedientes clínicos y equipo de cómputo ya disponible en el servicio de Hematología donde se realizará el estudio.

Recursos financieros: No se requerirán dado que la prueba de medición de la densidad de las células estromales mesenquimales en biopsia de médula ósea, fue previamente realizada en el estudio: Estudio Sistemático de las Células Estromales Mesenquimales en biopsias de médula ósea de pacientes con Síndrome Mielodisplásico y Leucemias Agudas, autorizado por el Comité Local de Investigación y Ética con número de registro R-2014-3601-214

## RESULTADOS

### Descripción de los casos.

Se revisaron los expedientes clínicos de pacientes con diagnóstico confirmado de SMD y LMA de acuerdo a los criterios de la OMS 2008, pertenecientes al servicio de Hematología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, que contaban con el análisis por inmunohistoquímica para NGFR+MSC en biopsias de médula ósea tomadas al diagnóstico, en el periodo comprendido de Marzo de 2013 a Marzo de 2015.

Se obtuvo una cohorte retrospectiva de 55 casos de pacientes que contaban con diagnóstico presuntivo de SMD y LMA en biopsia de médula ósea con determinación para NGFR+MSC, de los cuales 9 cumplieron criterios diagnósticos para SMD primario (4 mujeres, 5 hombres) y 6 para LMA primaria (4 mujeres, 2 hombres). Se obtuvo de la misma cohorte 3 pacientes que fueron designados como controles, al tener patologías que en las que no se espera afección importante al nicho hematopoyético (2 Trombocitopenias Inmunes Primarias y una anemia megaloblástica), de los cuales el 100% correspondió al sexo femenino (Figura 1). El resto de los pacientes no fue analizado, al no cumplir con los criterios de inclusión.

Se agregó un subgrupo de pacientes con diagnóstico de SMD y sobrecarga de hierro transfusional, a quienes se tomó biopsia de hueso antes y después de iniciar la terapia quelante del hierro con deferasirox, fueron 4 pacientes que recibieron la quelación durante 3 meses, con la finalidad de evaluar de manera exploratoria el efecto de la quelación de hierro sobre la densidad de las NGFR+MSC (Figura 1).

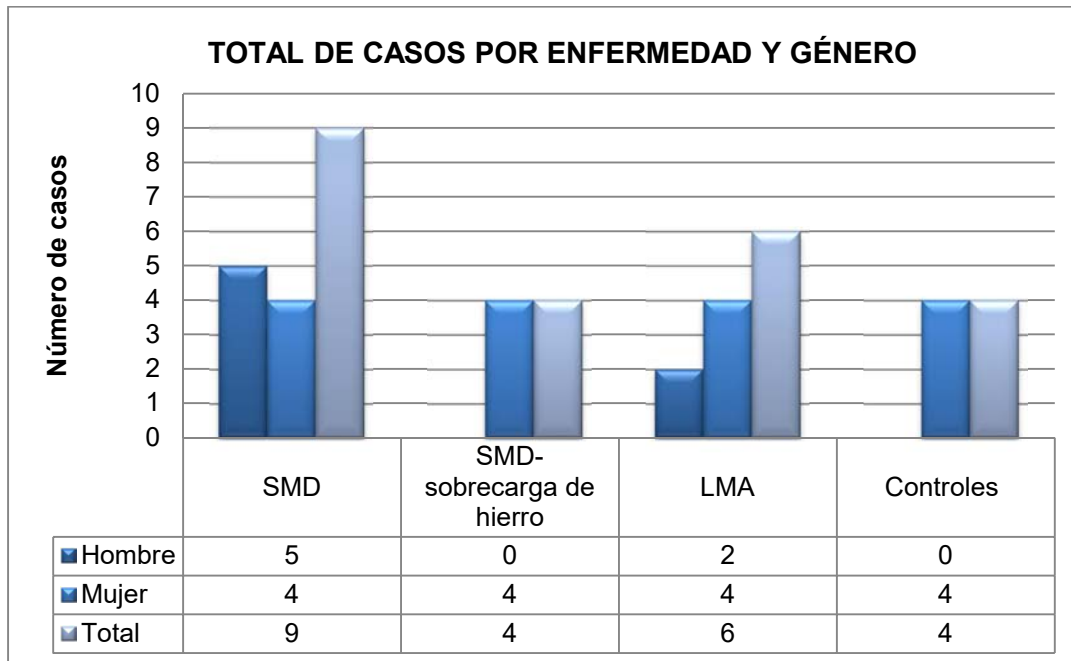


Figura 1. Representación del número de casos incluidos del 2013 a marzo del 2015 de acuerdo a edad.

Se analizaron retrospectivamente 18 pacientes, observando que la mediana de edad fue de 61.5 años (20-87 años), siendo 56% del sexo femenino. Se observó que la mayoría de los pacientes con diagnóstico de SMD se encontraron en el grupo de edad de 71 a 80 años, con un primer pico entre los 51-60 años.

En cuanto a los 4 pacientes con SMD y sobrecarga de hierro, no mostraron una distribución preferente de acuerdo a la edad.

En el caso de los pacientes con diagnóstico de LMA la mayoría se ubicó en el grupo menor a 30 años y por último los controles presentaron un pico de los 61-70 años (Figura 2).

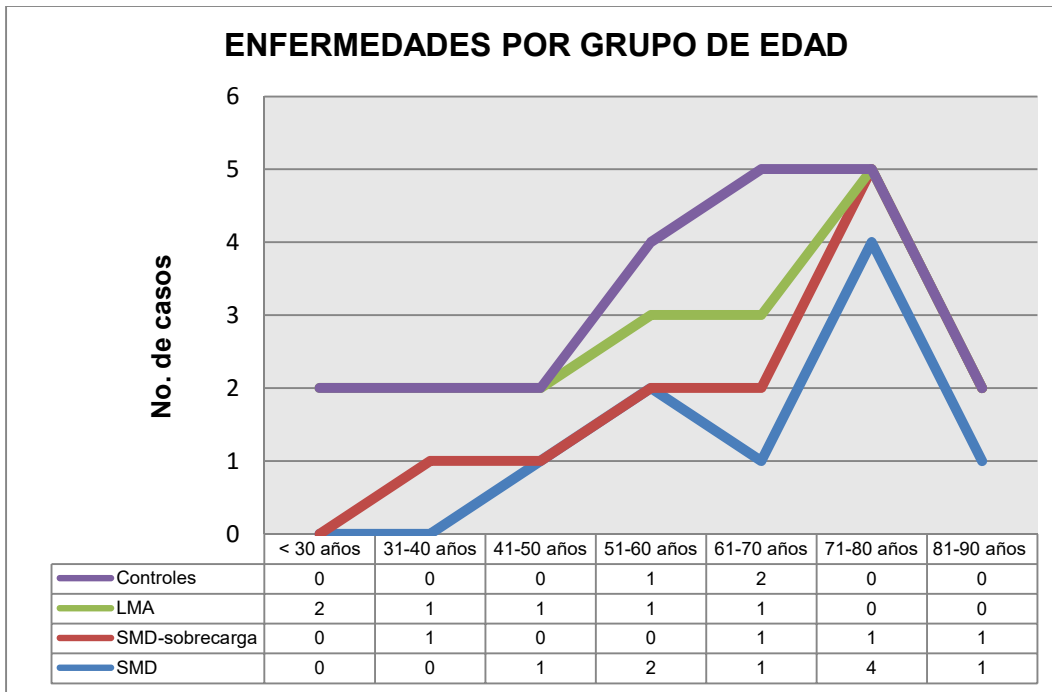


Figura 2. Distribución de los casos según diagnóstico y grupo etario.

De ellos el 55% tuvo al menos una comorbilidad, siendo la más prevalente, Hipertensión Arterial Sistémica, seguida por Diabetes Mellitus tipo 2. La distribución según el ECOG de 2 fue similar entre los grupos.

De acuerdo a los parámetros de la biometría hemática al inicio del estudio las medianas fueron: hemoglobina de 8.1gr/dL, neutrófilos de 1300/ $\mu$ L, linfocitos de 1320/ $\mu$ L, monocitos de 180/ $\mu$ L y plaquetas de 53,000/ $\mu$ L.

La mediana de celularidad en la biopsia de hueso fue de 85% (Imagen 1 y 2), el 56% de los pacientes presentaron ausencia de hemosiderina, únicamente un paciente presentó aumento en la misma. Se evaluó el grado de fibrosis reticulínica con la escala de Baumeister (grado 0 a 4), en donde se detectó ausencia de la misma en un 67% de los pacientes (Imagen 3), únicamente 11% fueron clasificados en grado 2 (Imagen 4)

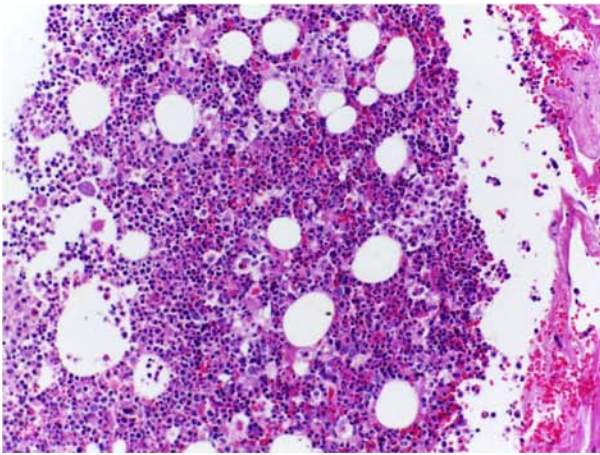


Imagen 1. Microfotografía representativa de un corte histológico de biopsia de médula ósea de un paciente con Síndrome mielodisplásico H&E 10x.

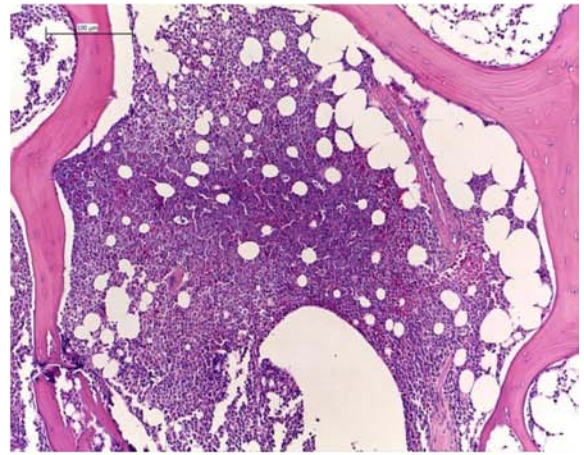


Imagen 2. Microfotografía representativa de un corte histológico de biopsia de médula ósea de un paciente con Leucemia Mieloide Aguda H&E 10x.

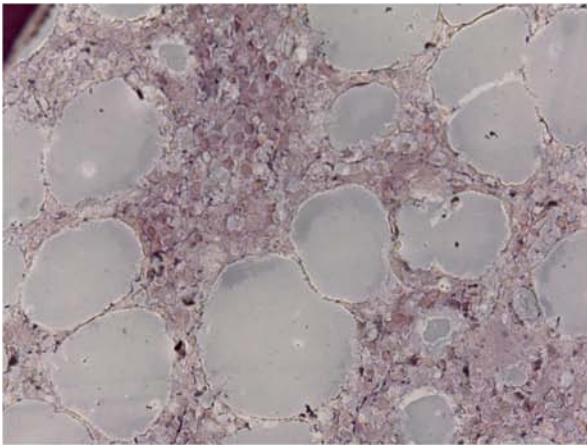


Imagen 3. Microfotografía de biopsia de médula ósea con tinción de retículo (tinción de plata), representativa de un caso sin fibrosis (Grado 0 de Bauermeister)- se observan en el parénquima células hematopoyéticas y adipocitos sin fibras de retículo entre ellas- 40x

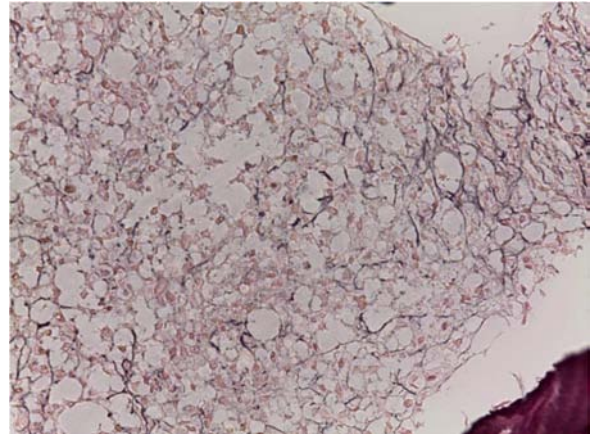


Imagen 4. Microfotografía de biopsia de médula ósea con tinción de retículo (tinción de plata), representativa de un caso con fibrosis Grado 2 de Bauermeister- se observan en el parénquima células hematopoyéticas y adipocitos y moderada cantidad de fibras delgadas de retículo entre ellas, en todas las celdillas- 40x

La mediana de supervivencia para los 18 pacientes fue de 14.5 meses.

Para el grupo de pacientes con SMD, la mediana de edad fue de 74 años (47-87 años), siendo el 56% del sexo masculino. El 78% presentó al menos una comorbilidad, debutando con ECOG de 2 el 67% de los casos. El subtipo prevalente fue la citopenia refractaria con displasia multilineaje (CRDM), 67%, reportándose un caso con 5q-, AREB II y ARSA, respectivamente. (Tabla 1).

Con respecto a la estratificación pronóstica, para IPSS la mediana fue intermedio-1, reportándose únicamente un caso de riesgo alto; para IPSS-R la mediana fue riesgo intermedio.

El 78% fueron tratados con citocinas estimulantes de colonias e inmunosupresores, un caso fue tratado con quimioterapia intensa y otro con globulina antitimocito. La mediana de respuesta al tratamiento fue falla, reportándose 44% de defunciones.

**Tabla 1. Características demográficas y clínicas del grupo de pacientes con SMD (n= 9).**

CARACTERÍSTICA	SMD	CARACTERÍSTICA	SMD
	Mediana, (rango)		Mediana, (rango)
Edad, años	74 (47-87)	Blastos_ SP %	0 (0-1)
ECOG	2 (1-2)	Celularidad_ BO	79 (50-90)
Tipo de SMD	CRDM	Blastos_ BO %	0
Hemoglobina (gr/dl)	7.3 (4.9-12.8)	Hemosiderina_ BO	0 (0-2)
VCM	103.9 (87.7-118)	Fibrosis_ BO	0 (0-2)
Leucocitos (x10 <sup>3</sup> /μL)	4.1 (0.92-9.8)	No citopenias	2 (1-4)
Neutrófilos (x10 <sup>3</sup> /μL)	1.3 (0.30-7)	Citogenética	Buena
Linfocitos (x10 <sup>3</sup> /μL)	1.5 (0.75-2.7)	IPSS	Intermedio 1
Monocitos (x10 <sup>3</sup> /μL)	0.39 (0.04-1.10)	IPSS-R	Intermedio
Plaquetas (x10 <sup>3</sup> )	73 (21-852)	Tratamiento	Citocinas estimulantes Inmunosupresores
CD34_ citometria	4 (1-14)	Respuesta_tx	Falla
Blastos_ MO %	1 (0-15)		

En el grupo de pacientes con LMA, la mediana de edad fue de 42 años (20-67 años), siendo el 67% del sexo femenino. Dos de ellos presentaron al menos una comorbilidad y 83% debutaron con un ECOG de 2, sin tener antecedente de neoplasias previas. Solo se reporto un caso con infiltración extramedular a nivel de miocardio. El 83% de los pacientes debutó con hiperleucocitosis al diagnóstico y trombocitopenia grave, con grados variables de anemia. El subtipo prevalente fue la LMA M4 en el 67%, solo dos casos correspondieron a LMA M5.

Con respecto a la estratificación pronóstica, la mayoría de los pacientes debutaron con hiperleucocitosis al diagnóstico, el 50% de ellos con leucocitosis arriba de 100 ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ), lo que les confiere un pronóstico clínico adverso. De acuerdo al riesgo citogenético, 66% se catalogó dentro del riesgo intermedio, de acuerdo al grupo SWOG, el resto de los pacientes no cuenta con citogenética al diagnóstico.

El 83% de los pacientes recibió quimioterapia intensa, de los cuales 80% logró remisión completa a las 4 semanas, únicamente un paciente recibió reinducción a la remisión, presentando recaída temprana a los 3 meses del diagnóstico y considerándose posteriormente con enfermedad refractaria. Solo un paciente fue manejado con terapia citoreductora, al debutar con más de 400 ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) leucocitos, falleciendo pocos días después del diagnóstico. Con una supervivencia global para este grupo de 12.2 meses y una supervivencia libre de enfermedad de 4.9 meses (2.7 - 7.23 meses).

**Tabla 2. Características demográficas y clínicas del grupo de pacientes con LMA (n= 6)**

CARACTERÍSTICA	LMA Mediana, (rango)	CARACTERÍSTICA	LMA Mediana, (rango)
Edad, años	42 (20-67)	Celularidad_BO	87 (50-100)
ECOG	2 (1-2)	Blastos_BO %	70 (8-100)
Tipo de LMA	LMA M4	Hemosiderina_BO	0 (0-1)
Hemoglobina (gr/dl)	8.8 (5.6-10.3)	Fibrosis_BO	1 (1-2)
Leucocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	99.56 (13.3-385.5)	Citogenética	Normal
Neutrófilos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0 (0-3.2)	Pronóstico clínico	Adverso
Linfocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0	Riesgo citogenético	Intermedio
Monocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	0	Tratamiento	Quimioterapia intensa
Plaquetas ( $\times 10^3$ )	46 (14-193)	Remisión_ 4 sem	Si
CD34_ citometria	30 (20-39)	No_ ciclos	4
Blastos_ MO %	66 (21-82)	Respuesta_tx	Remisión completa
Blastos_ SP %	48 (7-97)	SG, meses	12.2 (3.7-31.1)



Para el subgrupo de pacientes con SMD-sobrecarga de hierro, la mediana de edad fue de 64 años (32.4-76.3). Presentando al menos una comorbilidad y debutando con un ECOG de 1. El 100% de los casos incluidos presentaban una citogenética normal. Con una mediana de evolución del diagnóstico de 17.5 meses. Con respecto a la estratificación pronóstica, para IPSS la mediana fue intermedio-1 en 100% de los pacientes, según IPSS-R riesgo bajo en 75% de los casos. Ningún caso se encontró dentro del grupo pronóstico alto.

Considerando que la terapia transfusional de concentrados eritrocitarios (CE) es el factor condicionante para el desarrollo de sobrecarga de hierro, 100% de los pacientes habían recibido soporte transfusional, con una mediana de 33 unidades de CE (26-54). Los pacientes recibieron tres meses de tratamiento con deferaxirox a 20mg/kg/día, presentando una mediana en la evolución de la sobrecarga de hierro de 4.5 meses.

En relación con los parámetros de laboratorio iniciales la mediana fue de 7gr/dL para hemoglobina, neutrófilos de 882/ $\mu$ L, linfocitos de 1300/ $\mu$ L, monocitos de 100/ $\mu$ L y plaquetas de 112,000/ $\mu$ L. La mediana de ferritina al diagnosticar la sobrecarga de hierro fue de 2059ng/mL (1548-5057ng/mL).

La mediana de celularidad en la biopsia de hueso fue de 22.5%, el 50% no presento fibrosis reticulínica, mientras que la hemosiderina estuvo aumentada en el 75% de las muestras.

**Tabla 3. Características demográficas y clínicas del grupo SMD y sobrecarga de hierro, previo a la terapia quelante. (n= 4)**

CARACTERÍSTICA	SMD – quelación Mediana, (rango)	CARACTERÍSTICA	SMD – quelación Mediana, (rango)
Edad (años)	64.49 (32.48-76.34)	Evolución S. hierro (m)	4.5 (2-12)
ECOG	1 (1-2)	Dosis de deferaxirox (mg/kg)	20 (18-23)
Tipo de SMD	CRDM	Tiempo Tx S. hierro (m)	3
Comorbilidades	Presentes	Celularidad en BO % al dx	22.5 (15-70)l
Citogénica (tipo)	Buena	Hemosiderina	Aumentada
Evolución dx (meses)	17.5 (10-24)	Fibrosis	0 (0-1)
IPSS (riesgo)	Intermedio 1	Blastos %	

<b>IPSS-R (riesgo)</b>	Bajo	<b>AMO blastos %</b>	1 (0-3)
<b>No CE total</b>	33 (26-54)	<b>Celularidad BO prequelación %</b>	50 (15-65)
<b>Ferritina al dx (ng/dl)</b>	2059 (1548-5057)	<b>Celularidad BO Posquelación</b>	32.5 (15-45)
<b>Ferritina pre-protocolo (ng/dl)</b>	3043.5 (1429-3838)		

<b>CARACTERÍSTICA</b>	<b>SMD – quelación al diagnóstico Mediana, (rango)</b>	<b>SMD – quelación seguimiento Mediana, (rango)</b>
Hemoglobina (gr/dl)	7 (5.3-8.6)	8.25 (6.5-10)
Leucocitos (x10 <sup>3</sup> /μL)	2.45 (1.6-3.8)	2.7 (2.1-4.7)
Neutrófilos (x10 <sup>3</sup> /μL)	0.882 (0.400-1200)	1350 (1100-1900)
Linfocitos (x10 <sup>3</sup> /μL)	1300 (1000-2300)	1135 (660-2200)
Monocitos (x10 <sup>3</sup> /μL)	0.100 (0.100-250)	0.260 (0.60-0.270)
Plaquetas (x10 <sup>3</sup> )	112 (11-217)	82.5 (13-248)
Ferritina (ng/dl)	918 (237.7-1928)	1688 (871-2257)
VCM	99 (95-125)	96 (90-104)

### Densidad, distribución y localización de células estromales mesenquimales NGFR +.

En todos los casos se valoró la densidad de células estromales mesenquimales dando un puntaje en cruces (+/++/+++), y se calculó el porcentaje de las mismas en cada enfermedad (Imagen 5).

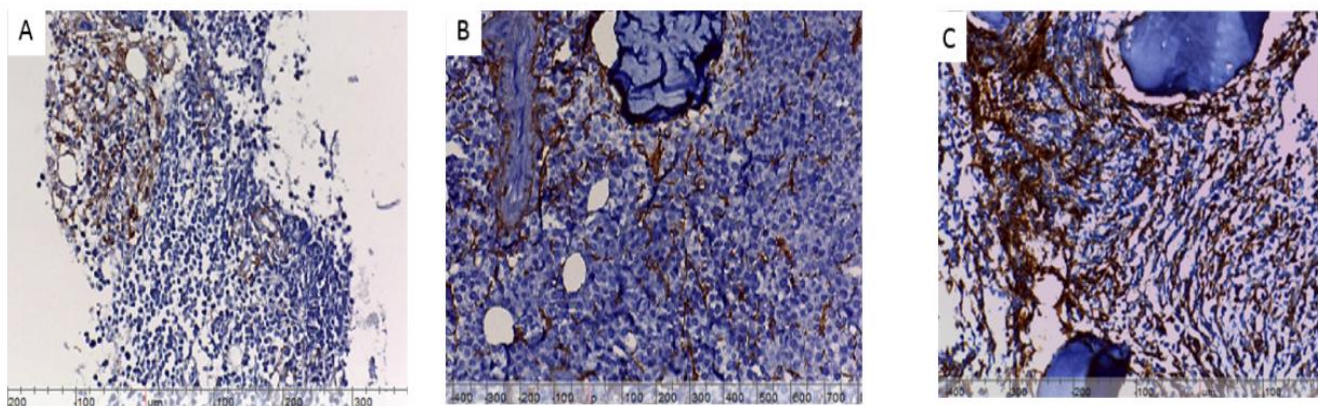


Imagen 5. Microfotografías representativas de biopsias de médula ósea humana en donde se observa la densidad de las células troncales/estromales mesenquimales (MSC) identificadas mediante inmunohistoquímica (precipitado café), A) densidad baja de MSC (una cruz), B) densidad Intermedia (dos cruces), C) densidad alta (tres cruces).

Se observó que la densidad de células estromales baja (+), solo se presentó en el 20% de los pacientes con diagnóstico de LMA, el resto no figuró dentro de esta categoría; la densidad (++) se presentó con mayor frecuencia SMD-sobrecarga de hierro, seguido por el grupo control y finalmente en los pacientes con LMA, y densidad alta (+++) fue mas prevalente en los casos con SMD.

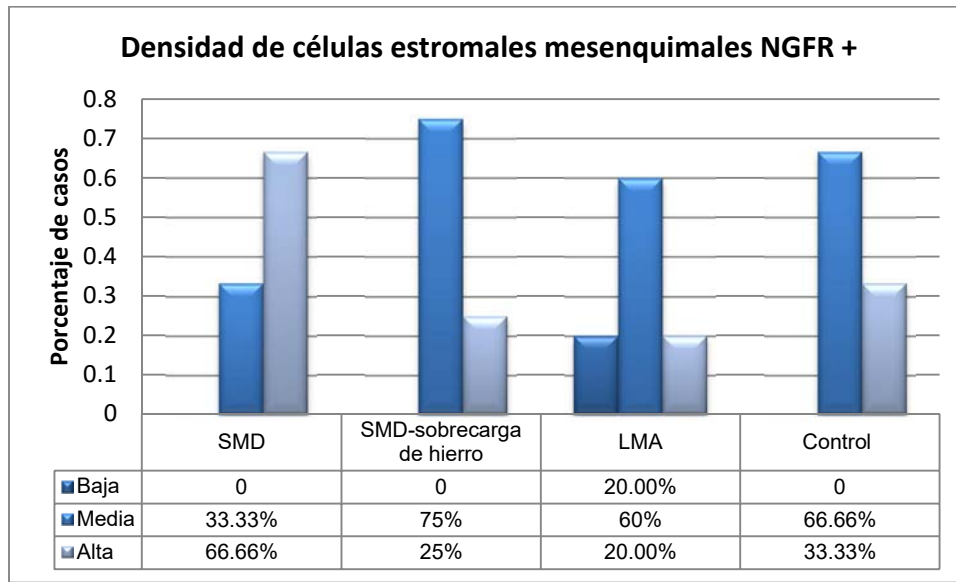


Figura 3. Porcentaje de células estromales mesenquimales presentes en cada enfermedad.

También se valoró en todos los casos el patrón de tinción de las células estromales mesenquimales NGFR positivas, como difuso o en parches. (Imagen 6 y 7).

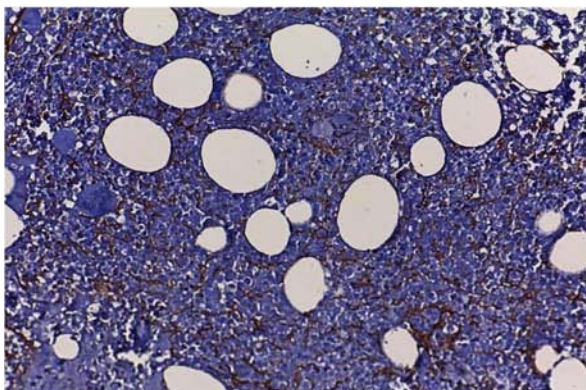


Imagen 6. Microfotografía de inmunohistoquímica de biopsia de médula ósea con patrón de tinción difusa de células estromales NGFR positivas, la distribución es equitativa en toda la celdilla sin espacios a dos hileras de células leucémicas entre ellas. 20x

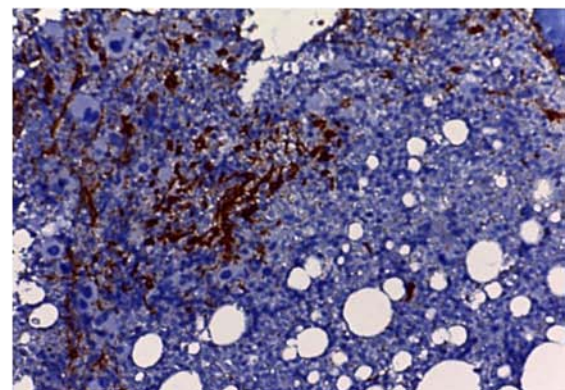


Imagen 7. Microfotografía de inmunohistoquímica de biopsia de médula ósea con patrón de tinción en parches de células estromales NGFR positivas, se observan zonas con abundantes células estromales si espacios mayores a dos hileras de células leucémicas entre ellas y zonas mayores a 10 hileras d células leucémicas sin células estromales entre ellas. 20x

En el 78% de los casos con SMD la distribución fue difusa, es decir se distribuyó por igual en todo el espacio de las celdillas, 60% en el caso de LMA y 67% en los controles respectivamente

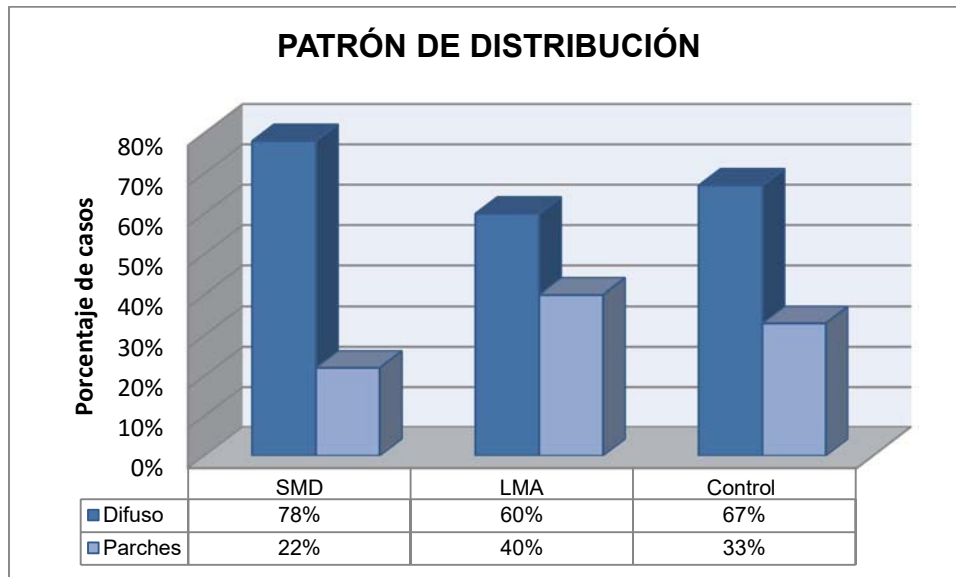


Figura 4. Porcentaje en cada enfermedad del patrón de distribución de células estromales mesenquimales NGFR+.

### **Análisis estadístico**

Se realizó el análisis bivariado para la variable supervivencia global en comparación con la variable densidad de células mesenquimales, y se calcularon las curvas de supervivencia global de acuerdo a Kaplan Meier en donde se agruparon los pacientes de acuerdo a la densidad de células mesenquimales, de la siguiente manera: Grupo 1, densidad baja (+) y densidad media (++); Grupo 2, densidad alta (+++).

La mediana de supervivencia entre los 18 pacientes incluidos en nuestro estudio según la densidad de células mesenquimales fue para el grupo 1 no alcanzada y para el grupo 2: 12,3 meses (IC 95% 9.7-15) (p=0.36). (Figura 5)

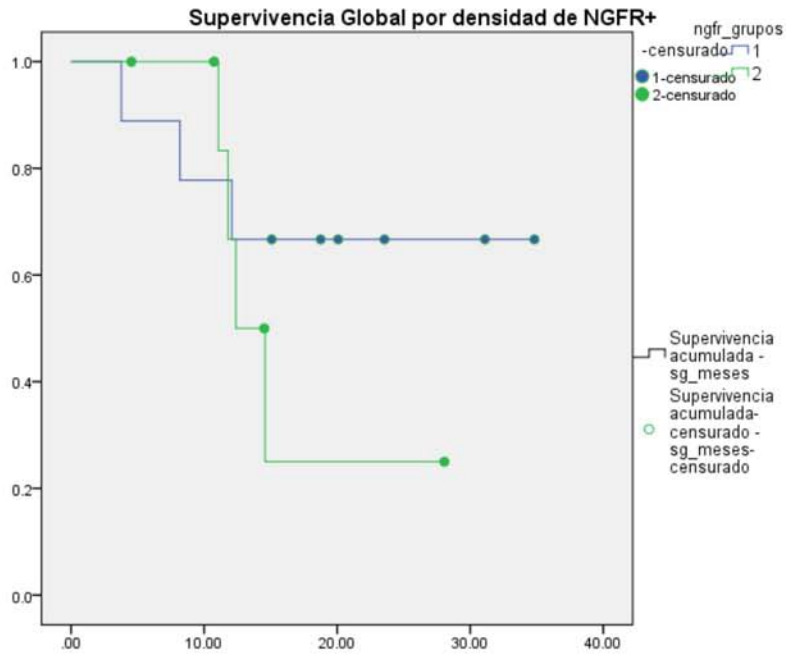


Figura 5: Curva de supervivencia global según la densidad de células mesenquimales

Comparando por tipo de enfermedad, la mediana de supervivencia fue: para los pacientes con SMD, Grupo 1: no alcanzada; Grupo 2: 14.5 meses (IC95% 10.2-18.9). Para los pacientes con LMA, Grupo 1: 12.09 meses; Grupo: 12.38 meses ( $p= 0.58$ ). (Figura 6)

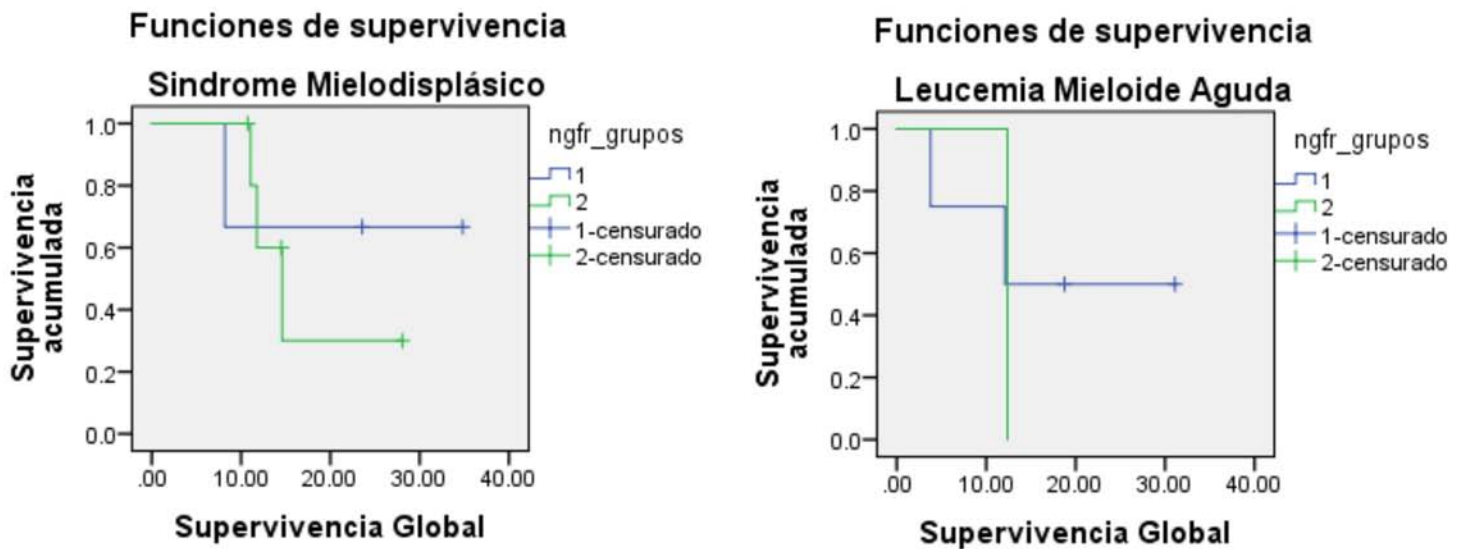


Figura 6: Curvas de supervivencia global según la densidad de células mesenquimales, comparando por tipo de enfermedad

Con respecto a la mediana de supervivencia global en los casos con SMD fue: Grupo 1: no alcanzada; Grupo 2: 14.5 (IC95% 10.2-18.9) (p= 0.63)

Al evaluar la mediana de supervivencia global de acuerdo a la distribución se observó la mayor tendencia estadística, sin ser significativa, siendo en difuso: no alcanzada y en parches: 11.07 meses (p=0.065). ( Figura 7)

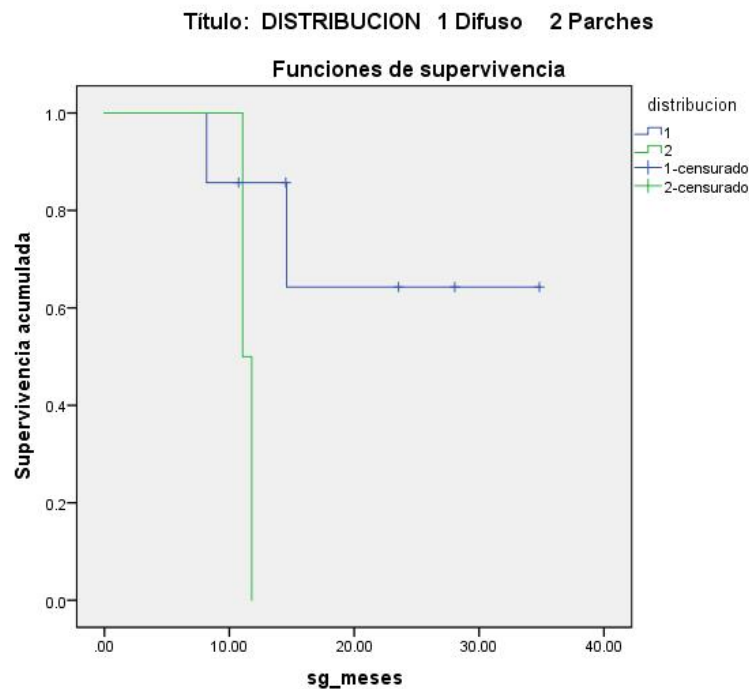


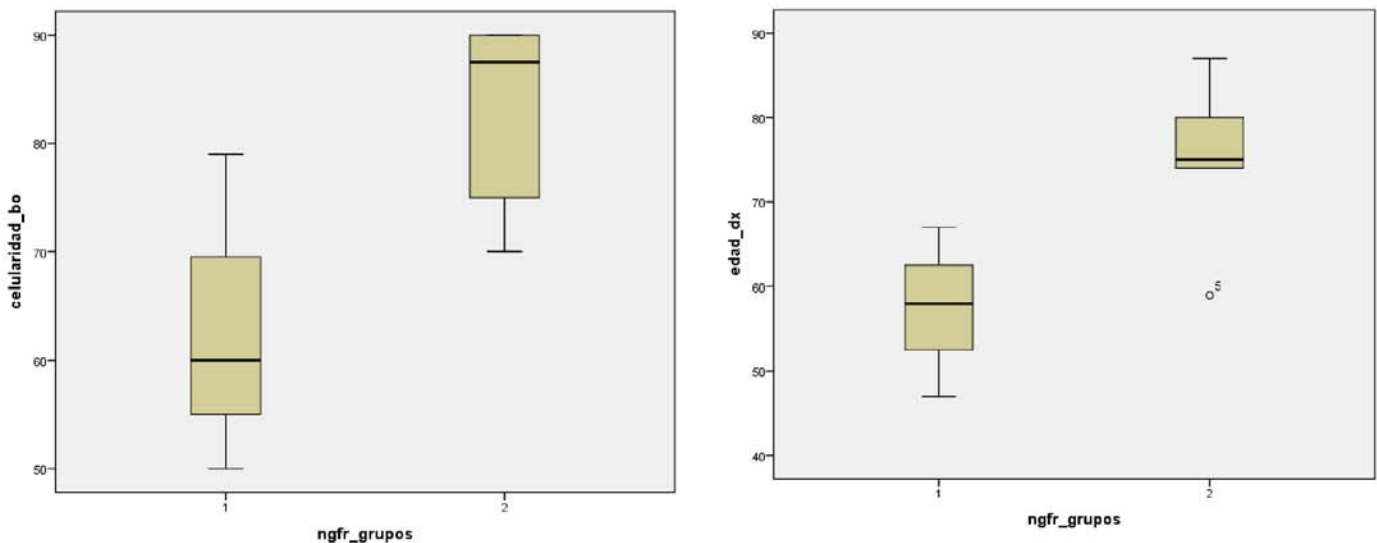
Figura 7: Curva de supervivencia global según distribución de células estromales mesenquimales

En los casos de LMA la mediana de supervivencia global fue para el Grupo 1: 12.09 meses y para el Grupo 2: 12.38 (p=0.77).

Se apreció tendencia a una menor supervivencia global en en relación con la densidad de NGFR+MSC alta, sin poder concluir por falta de significancia estadística.

Se realizó el análisis bivariado entre las variables: edad, celularidad en la biopsia de médula ósea, IPSS-R, hemoglobina y leucocitos al diagnóstico, con la densidad de NGFR+MSC, resultando que la edad se distribuía de manera diferencial entre las diferentes densidades de NGFR+MSC, según la prueba U de Mann-Whitney ( $p= 0.04$ ), diferencia que se mantuvo estadísticamente significativa solo en el grupo de pacientes con SMD ( $p= 0.03$ ).

Se corroboró este hallazgo por medio de un análisis de correlación con la prueba rho de Spearman, resultando que la edad se relacionó positivamente con la densidad de NGFR+MSC con un valor de rho: 0.73 ( $p=0.025$ ): para el Grupo 1 la mediana fue de 58 años y para el grupo 2 la mediana fue de 75 años; con respecto a la celularidad en la biopsia de médula ósea resultó un valor de rho: 0.65 ( $p=0.058$ ), sugiriendo que un aumento en la celularidad de la biopsia de hueso se relaciona a una densidad alta de NGFR+MSC. No hubo correlación estadísticamente significativa con el resto de las variables clínicas.



En los casos de LMA al correlacionar la densidad de NGFR+MSC con otras variables clínicas no se identificó ninguna relación estadísticamente significativa

Para finalizar se realizó una prueba de Wilcoxon para comparar la densidad de NGFR+MSC en pacientes que recibieron quelación de hierro durante tres meses, sin observan significancia estadística, entra la densidad previa a quelación y posterior al tratamiento

## **DISCUSIÓN**

El Síndrome Mielodisplásico y la Leucemia Mieloide Aguda, forman parte de las neoplasias hematológicas, que en conjunto ocupan el 13.5% de las neoplasias en México. Ambas patologías se caracterizan por falla medular, con una base en alteraciones citogenéticas y moleculares que disminuyen la supervivencia global en estos pacientes. Estas patologías afectan predominantemente población adulta, para el caso de síndrome mielodisplásico la edad media al diagnóstico es de 65-70 años; para las leucemias agudas, la edad media de presentación es a los 67 años. Concordando estos datos epidemiológicos con los obtenidos en nuestra población de estudio.

Ambas patologías tienen características clínicas y biológicas diferentes, que requieren un abordaje de estudio estructurado y con base a ello clasificaciones pronósticas de riesgo con el objeto principal de definir la mejor opción de tratamiento.

Para el caso de SMD, el número y profundidad de las citopenias, el número de blastos en la médula ósea y las alteraciones citogenéticas, son hasta ahora en su conjunto los factores de riesgo pronósticos con mayor impacto, agrupados en la clasificación IPSS-R.

Para los pacientes con diagnóstico de LMA, la citogenética es el factor pronóstico más fuerte para predecir la respuesta a la terapia de inducción y la supervivencia.

En nuestro estudio se registro una mediana para IPSS-R de riesgo intermedio, manejados con citocinas estimulantes e inmunosupresores el 78% de los pacientes, presentando en la mayoría falla al tratamiento, reportándose 44% de defunciones. Con una supervivencia global de 14.5 meses



Para la LMA el riesgo citogénético en la mediana de la población fue riesgo intermedio, sin embargo el 50% de los pacientes presentó leucocitosis arriba de 100,000 clasificándose en riesgo clínico alto, el 83% recibió quimioterapia intensa, de los cuales 80% logró remisión completa a las 4 semanas. Con una supervivencia global para este grupo de 12.2 meses.

Evidencia reciente ha demostrado el papel de las MSC, no solo en la hematopoyesis normal, sino también como parte de la fisiopatología de diversas enfermedades hematológicas, particularmente en los síndromes mielodisplásicos y las leucemias agudas. Las MSC de pacientes con SMD y LMA son funcional y citogenéticamente anormales, la presencia de estas anomalías se puede correlacionar con peores resultados clínicos <sup>29-34</sup>

Sin embargo, hasta ahora no se reconoce el papel del nicho hematopoyético dentro de los factores pronósticos, por lo que el presente estudio tuvo como objeto establecer la asociación entre la densidad de las MSC y la SG en los pacientes con SMD y LMA.

En el estudio realizado por Ryan C. Johnson y col, evaluó la densidad de células mesenquimales CD271+, en pacientes con síndrome mielodisplásico, en el cual se demostró disminución en la supervivencia global en relación con densidad alta de células mesenquimales, independiente de los demás factores pronósticos <sup>40</sup>.

Para el caso de los pacientes con LMA no se han reportado estudios que relacionen la densidad de MSC+NGFR+ con el riesgo pronóstico.

Con respecto a nuestro estudio, por el reducido número de pacientes se observó una tendencia sin significancia estadística, en relación a la densidad alta (+++) de MSC+NGFR y la supervivencia global, en comparación con la densidad baja + y media ++ (no alcanzada vs 12.3 meses, IC: 95% 9.7-15, p= 0.36) al incluir a todos nuestros pacientes.

Al analizarlos por grupo de enfermedad se observó para los pacientes con SMD una supervivencia de 14.5 meses (IC 95% 10.2-18.9) en densidad alta y en LMA de 12.38 meses ( $p=0.58$ ).

El grupo de SMD se correlacionó con densidad alta (+++) de NGFR+MSC, sin demostrar significancia estadísticamente significativa al compararla con el IPSS-R. Para este grupo la edad mayor y el incremento en la celularidad en la biopsia de médula ósea mostraron se correlacionaron con la densidad incrementada de células mesenquimales.

Para los pacientes con LMA la densidad que con mayor frecuencia se presentó fue la media (++), sin presentar esto un impacto en la supervivencia global.

El grupo del Dr. Kitagawa demostró que la densidad de MSC evaluada por inmunohistoquímica, se correlacionaba directamente con el número de blastos. Esta relación no la observamos en nuestro estudio.

En artículos antes citados, se ha demostrado tanto *in vitro* como *in vivo*, la importancia de las células mesenquimales en el desarrollo de la leucemogénesis <sup>27,28</sup>.

En el estudio realizado por Priva Chandran y cols, observaron que las MSC presentaban morfología heterogénea, capacidad de proliferación variable, viabilidad disminuida, así como reducción en la capacidad para mantener la expansión y diferenciación de los progenitores hematopoyéticos. Concluyendo que estas alteraciones pueden atenuar la hematopoyesis normal, dando ventaja a la progresión leucémica e influir en la respuesta terapéutica <sup>34</sup>.

Por otra parte reportes recientes han demostrado la co-existencia de múltiples clonas en pacientes con leucemias agudas, que han sugerido que el microambiente interviene de manera permisiva en la aparición de clonas pre-leucémicas, las cuales proliferan hasta el desarrollo de leucemia franca.

En este estudio evaluamos el patrón de distribución (difuso y en parches), se observó que era en parches en 40% de los pacientes con LMA, en comparación con el 22% y el 33% en el grupo SMD y

control, respectivamente. Al evaluar la mediana de supervivencia global de acuerdo a la distribución, fue en difuso: no alcanzada y en parches: 11.07 meses ( $p=0.065$ ), siendo la mayor tendencia estadística, pero sin ser significativa. Y con lo cual se sugiere que este hallazgo puede corresponder diferentes clonas de células leucémicas y que de ellas dependa la localización en parches de las células estromales.

Del estroma medular, no se valoran todos sus componentes; dentro de ellos, la fibrosis –que únicamente valora la cantidad de reticulina- es la única que ofrece un valor pronóstico dentro de las clasificaciones clínicas. La producción de colágeno y/o reticulina es realizada por las MSC de la médula ósea, sin embargo en un estudio reciente, el grupo de la Dra. Gratzinger, de Patología de la Universidad de Stanford <sup>40</sup>, encontraron que el grado de fibrosis, no correlaciona con la cantidad de MSC en las biopsias de médula ósea, en lo cual obtuvimos los mismos resultados en nuestro estudio, ya que demostramos que el grado de fibrosis fue independiente de la densidad de células estromales mesenquimales en todos los casos.

Para los pacientes con sobrecarga de hierro, no se mostro diferencia significativa entre las células mesenquimales previo y posterior al tratamiento quelante del hierro.

## **CONCLUSIONES**

Con este estudio determinamos que la medición de las células estromales mesenquimales (NGFR+MSC) por inmunohistoquímica, en la biopsia de médula ósea de los pacientes con SMD y LMA es una prueba factible. De igual manera puede evaluarse su patrón de distribución y localización.

Al analizar la densidad de las NGFR+MSC en comparación con la supervivencia global, se observó una tendencia entre mayor densidad con una menor supervivencia global. De manera significativa la densidad alta (+++) de NGFR+MSC se correlacionó con una mayor edad, en menor grado con un

mayor porcentaje de celularidad en la biopsia de médula ósea. También se observó una tendencia en la distribución de las NGFR+MSC en parches con una disminución en la supervivencia global, situación que se presenta con mayor frecuencia en casos de Leucemia Mieloide Aguda.

La limitación de este estudio fue el número de pacientes reducido, con el que no fue posible demostrar con significancia estadística las tendencias observadas. Sin embargo, existen estudios previos que han demostrado el papel de estas en el desarrollo de las patologías estudiadas. Por lo que se requiere un estudio multicéntrico, con una muestra mayor de pacientes, para demostrar la relación clínica que existe entre las células mesenquimales y la supervivencia global, para poder ser utilizadas en un futuro como un factor pronóstico e inclusive como un blanco terapéutico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Swerdlow S, Campo E, Lee N, Jaffe E, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC Lyon 2008;4 88-107.
2. Lionel Adès, Raphael Itzykson, Pierre Fenaux. Myelodysplastic syndromes. *Lancet* 2014;383: 2239–52
3. Platzbecker U, Santini V, Mufti G, Haferlach C, Maciejewski J, Park S, et al. Update on developments in the diagnosis and prognostic evaluation of patients with myelodysplastic syndromes (MDS): concensus statements and report from an expert workshop. *Leuk Res* 2012;36:264-270.
4. Eun-Jun L, Noklai P, Steven D, et al. The evolving field of prognostication and risk stratification in MSD: Recent developments and future direction. *Blood Reviews* 2015:1-10.
5. Greenberg P, Cox C, LeBeau M, Fenaux P, Morel P, Sanz G, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997; 89(6): 2079-2088.
6. Greenberg P, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012;120:2454-2465.
7. Shanz J, Tüchler H, Solé F, Mallo M, Luño E, Cervera J, et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international databas emerge. *J Clin Oncol* 2012;30(8):820-829.
8. National Comprehensive Cancer Network: Clinical Practice Guidelines in Oncology. Acute Myeloid Leukemia, V.1.2016.
9. Guía de Práctica Clínica; Diagnóstico y tratamiento de la Leucemia Mieloide Aguda; México: Secretaría de Salud; 2010
10. Döhner H, Estey E, Amadori S, et. al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: Recommendations from an international expert panel, on behalf of the European Leukemia Net. *Blood* 2010;115(3):453-474.
11. Appelbaum FR, Gundacker H, Head DR, et al. Age and Acute Myeloid Leukemia. *Blood* 2006; 107(9):3481-3485.
12. Juliusson G, Antunovic P, Derolf Å, et al. Age and Acute Myeloid Leukemia: Real World data on decision to treat and out comes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood* 2009;113(18):4179-4187.

13. Grimwade D, Hills R, Moorman AV, et al. Refinement of cytogenetic classification in AML: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities amongst 5635 younger adults treated in the UK MRC trials. *Haematologica* 2009;94(2):217.
14. Slovak M, Kopecky KJ, Cassileth PA, et al. Karyotypic analysis predicts outcome of pre-remission and post-remission therapy in adult acute myeloid leukemia: A Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group. *Blood* 2000;96(13):4075-83.
15. Aguayo A. Anormalidades Moleculares y Citogenéticas en la Leucemia Mieloide Aguda (LMA) y sus aplicaciones en las decisiones terapéuticas actuales. *Rev Hematol Mex* 2014;15(Supl.1): S1-S3.
16. Morrison SJ; Spradling AC. Stem cells and niches: mechanisms that promote stem cell maintenance throughout life. *Cell* 2008;132:598-611.
17. Lane SW, Scadden DT, Gilliland DG. The leukemic stem cell niches: current concepts and therapeutic opportunities. *Blood* 2009;114:1150-7.
18. Méndez-Ferrer S, Michurina TV, Ferraro F, Mazloom AR, et al. Mesenchymal and hematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature* 2010; 466: 829-34.
19. Jones DL, Wagers AJ. No place like home: anatomy and function of the stem cell niche. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9:11-21.
20. Bianco P, Gehron P. Marrow stromal stem cells. *Journal of Clinical Investigation* 2000;12: 1663-1668.
21. Koc ON, Lazarus HM. Mesenchymal stem cells: heading into the clinic. *Bone Marrow Transplantation* 2001;27:235-239.
22. Torlakovic E, Tenstad E, Funderud S, Rian E, et al. CD10+ stromal cells form B lymphocyte maturation niches in the human bone marrow. *J Pathol* 2005; 205:311-317.
23. Omatsu Y, Seike M, Sugiyama T, Kume T, Nagasawa T, et al. Foxc1 is a critical regulator of haematopoietic stem/progenitor cell niche formation. *Letter Research* 2014;508:536-541.
24. Quirici, N.; Soligo, D.; Bossolasco, P.; Servida, et al. Isolation of bone marrow mesenchymal stem cells by anti-nerve growth factor receptor antibodies. *Exp. Hematol* 2002;30:783–791.
25. Flores Figueroa, Dita Gratzinger. Beyond the Niche: Myelodysplastic Syndrome Topobiology in the Laboratory and in the Clinic. *Int. J. Mol. Sci.* 2016;17:3-25.
26. Hartsock, R.J.; Smith, E.B.; Petty, C.S. Normal variations with aging of the amount of hematopoietic tissue in bone marrow from the anterior iliac crest. A study made from 177 cases of sudden death examined by necropsy. *Am. J. Clin. Pathol* 1965;43:326–331

27. Walkley CR, Shea JM, Sims NA, et al. Rb regulates interactions between hematopoietic stem cells and their bone marrow microenvironment. *Cell* 2007;129:1081-95.
28. Raaijmakers MHGP, Mukherjee S, Guo S, et al. Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukaemia. *Nature* 2010;464:852-7.
29. Flores-Figueroa E, Arana-Trejo RM, Gutiérrez-Espíndola G, et al. Mesenchymal stem cells in myelodysplastic syndromes: phenotypic and cytogenetic characterization. *Leuk Res* 2005;29:215-24.
30. Geyh S, Oz S, Cadeddu R-P, et al. Insufficient stromal support in MDS results from molecular and functional deficits of mesenchymal stromal cells. *Leukemia* 2013;27:1841-51.
31. Huang JC, Basu SK, Zhao X, et al. Mesenchymal stromal cells derived from acute myeloid leukemia bone marrow exhibit aberrant cytogenetics and cytokine elaboration. *Blood Cancer J*. 2015;5:302.
32. Kitagawa, M.; Saito, I.; Kuwata, T.; et al. Overexpression of tumor necrosis factor (TNF)-alpha and interferon (IFN)-gamma by bone marrow cells from patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk. Off. J. Leuk. Soc. Am. Leuk. Res Fund UK* 1997;11: 2049–2054.
33. Notta F, Mulligan CG, Wang JC, Poepl A, Doulatov S, Phillips LA, et al. Evolution of human BCR-ABL1 lymphoblastic leukemia-initiating cells. *Nature* 2011;469:362–7.
34. Priya C, Yevgeniya L, et al. Mesenchymal stromal cells from patients with acute myeloid leukemia have altered capacity to expand differentiated hematopoietic progenitor. *Leukemia Research* 2015;39:486-193.
35. Blau O, Baldus CD, Hofmann W-K, et al. Mesenchymal stromal cells of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia patients have distinct genetic abnormalities compared with leukemic blasts. *Blood* 2011;118:5583-92.
36. Lopez-Villar, O.; Garcia, J.L.; Sanchez-Guijo, F.M.; Robledo, C.; Villaron, E.M.; Hernandez-Campo, P.; Lopez-Holgado, N.; Diez-Campelo, M.; Barbado, M.V.; Perez-Simon, J.A.; et al. Both expanded and uncultured mesenchymal stem cells from MDS patients are genomically abnormal, showing a specific genetic profile for the 5q- syndrome. *Leuk. Off. J. Leuk. Soc. Am. Leuk. Res. Fund UK* 2009;23:664–672.
37. Castro-Malaspina H, Gay RE, Resnick G, et al. Characterization of human bone marrow fibroblast colony-forming cells (CFU-F) and their progeny. *Blood* 1980;56:289-301.
38. Jones EA, English A, Kinsey SE, et al. Optimization of a flow cytometry based protocol for detection and phenotypic characterization of multipotent mesenchymal stromal cells from human bone marrow. *Cytometry B Clin Cytom* 2006;70:391-9.

39. Flores-Figueroa E, Varma S, Montgomery K, et al. Distinctive contact between CD34+ hematopoietic progenitors and CXCL12+ CD271+ mesenchymal stromal cells in benign and myelodysplastic bonemarrow. *Lab Inves.* 2012;92:1330-41.
40. Johnson RC, Kurzer JH, Greenberg PL, et al Mesenchymal Stromal Cell Density Is Increased in Higher Grade Myelodysplastic Syndromes and Independently Predicts Survival. *PhD Am J Clin Pathol* December 2014;142:795-802
41. Bulycheva E, Rauner M, Medyouf H, et al. Myelodysplasia is in the niche: novel concepts and emerging therapies. *Leukemia* 2015;29:259-68.
42. Yang Q, Jian JL, Abramson SB, Huang X. Inhibitory effects of iron on bone morphogenetic protein 2-induced osteoblastogenesis. *J Bone Miner Res* 2011;26:1188–1196.
43. Tsay J, Yang ZW, Ross FP, Cunningham-Rundles S, Lin H, Coleman R et al. Bone loss caused by iron overload in a murine model: importance of oxidative stress. *Blood* 2010;116: 2582–2589
44. Ambaglio I, Malcovati L, Papaemmanuil E, Laarakkers CM, Della Porta MG, Galli A et al. Inappropriately low hepcidin levels in patients with myelodysplastic syndrome carrying a somatic mutation of SF3B1. *Haematologica* 2013;98:420–423.
45. Breda L, Ghoti H, Rivella S, Rechavi G, Cabantchik I, Rachmilewitz E. Expression of genes regulating iron metabolism in hepatocyte cell-line HepG2 induced by sera from MDS patients. *Blood* 2007;110:225B–226BB.
46. Fernández Cantón, León Álvarez Graciela, Herrera Torres, et al. Perfil epidemiológico de los tumores malignos en México. 2011.
47. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program [Internet]. 2014 <http://seer.cancer.gov/>



## ANEXO 1.

**SÍNDROME MIELODISPLÁSICO:** Es un grupo de enfermedades clonales de las células madre hematopoyéticas caracterizadas por citopenias, displasia en uno o más de los linajes celulares mieloides, hematopoyesis inefectiva e incremento en el riesgo de desarrollar leucemia mieloide aguda. Se puede realizar el diagnóstico de acuerdo a las siguientes características: estudio de biometría hemática (Hemoglobina <10gr/dL; Neutrófilos <1,800/ $\mu$ L y/o Plaquetas <100,000/ $\mu$ L), sin tener causal aparente (sin enfermedad hematológica previa; sin enfermedad autoinmunitaria; sin haber recibido quimioterapia o radioterapia; con panel viral para VIH, Hepatitis B y C negativos; perfil tiroideo normal; sin deficiencia de hierro, ácido fólico o complejo B), y de quien se dispuso de una muestra de médula ósea teñida con Wright, en la que se observaron <20% de blastos del total de células nucleadas, con  $\geq$ 10% de displasia en la serie eritroide, mieloide y/o megacariocítica.

### Clasificación de los SMD según la OMS-2008:

TIPO DE SMD	HALLAZGOS EN SANGRE PERIFÉRICA	HALLAZGOS EN MÉDULA ÓSEA
Citopenia refractaria con displasia unilínea: <b>Anemia refractaria, Neutropenia refractaria, Trombocitopenia refractaria.</b>	Unicitopenia o bicitopenia. Blastos <1%.	Displasia unilínea $\geq$ 10% de las células en un linaje. <5% de blastos. <15% de precursores eritroides de tipo sideroblastos en anillo.
Anemia refractaria con sideroblastos en anillo (ARSA).	Anemia. Sin blastos.	$\geq$ 15% de precursores eritroides de tipo sideroblastos en anillo. Displasia única eritroide. <5% de blastos.
Citopenia refractaria con displasia multilineal (CRDM).	Citopenia(s). Blastos <1%. No cuerpos de Auer. Monocitos <1000/mL.	Displasia $\geq$ 10% de las células en dos o tres linajes. <5% de blastos. No cuerpos de Auer. $\pm$ 15% de sideroblastos en anillo.
Anemia refractaria con exceso de blastos tipo 1 (AREB-1).	Citopenia(s). Blastos 2-4%. No cuerpos de Auer. Monocitos <1000/mL.	Displasia uni o multi-línea. Blastos 5-9%. No cuerpos de Auer.
Anemia refractaria con exceso de blastos tipo 2 (AREB-2).	Citopenia(s). Blastos 5-19%. $\pm$ Cuerpos de Auer. Monocitos <1000/mL.	Displasia uni o multi-línea. Blastos 10-19%. $\pm$ Cuerpos de Auer.

SMD asociado a delección aislada del(5q).	Anemia. Plaquetas normales o aumentadas. Blastos <1%.	Megacariocitos normales o aumentados con núcleo hipolobulado. <5% de blastos. Anormalidad citogenética aislada del(5q). No cuerpos de Auer.
SMD no-clasificado.	Citopenias. Blastos ≤1%.	Displasia inequívoca en menos del 10% de las células en uno o más linajes y anormalidad citogenética presuntiva de SMD. <5% de blastos.

## ANEXO 2.

**IPSS-R:** se refiere al Sistema de Clasificación Pronostica Internacional Revisado en 2012, que identificó a cada caso con el diagnóstico de SMD en una de cinco categorías de acuerdo al número de blastos, estudio citogenético y número de citopenias.

- **NÚMERO DE BLASTOS:** correspondió a la cantidad de células de aspecto inmaduro observadas en el microscopio óptico en una muestra de médula ósea preparada con la tinción de Wright.
- **ESTUDIO CITOGÉNÉTICO:** se refirió al estudio citogenético por bandeo GTG, realizado en una muestra de médula ósea y cuyo resultado fue categorizado según el Sistema de clasificación citogenética del SMD, publicado en el 2012.

Escala: 1. Muy bueno; 2. Bueno; 3. Intermedio; 4. Pobre; y 5. Muy pobre.

- **NÚMERO DE CITOPENIAS:** es cuando en el estudio inicial de un paciente el reporte de la biometría hemática indicó: Hemoglobina <10gr/dL, Neutrófilos <1,800/μL y/o Plaquetas <100,000/μL. Por lo que pueden ser desde 1 hasta 3 citopenias.

Escala: 1. Una citopenia; 2. Dos citopenias; 3. Tres citopenias.

## Clasificación pronóstica del SMD según el IPSS-R, 2012:

### a) Variables pronósticas:

PUNTOS POR VARIABLE	0	0.5	1	1.5	2	3	4
Citogenética	MB		B		I	P	MP
% blastos en médula ósea	≤2		>2 a <5		5 a 10	>10	
Hemoglobina (gr/dL)	≥10		8 a <10	<8			
Neutrófilos (1x10 <sup>3</sup> /μL)	≥0.8	<0.8					
Plaquetas (1x10 <sup>3</sup> /μL)	≥100	50 a <100	<50				
Citogenética. Muy buena ( <b>MB</b> ): -Y, del(11q); Buena ( <b>B</b> ): Normal, del(5q), del(12p), del(20q), doble incluyendo del(5q); Intermedia ( <b>I</b> ): del(7q), +8, +19, i(17q), cualquier otra única ó doble de clona independiente; Pobre ( <b>P</b> ): -7, inv(3)/t(3q)/del(3q), doble incluyendo -7/del(7q), compleja con 3 anormalidades; Muy pobre ( <b>MP</b> ): Compleja con más de 3 anormalidades.							

### b) Clasificación citogenética

Cariotipo	Media de supervivencia (años)	Tiempo de evolución a LMA en 25% (años)	
	<b>Muy bueno</b>	-Y, del(11q)	5.4
<b>Bueno</b>	Normal, del(5q), del(12p), del(20q), doble del(5q)	4.8	9.4
<b>Intermedio</b>	del(7q), +8, +19, i(17q),	2.7	2.5
<b>Pobre</b>	-7, inv(3)/t(3q)/del(3q), doble -7/del(7q); cariotipo complejo 3 anormalidades	1.5	1.7
<b>Muy Pobre</b>	Cariotipo complejo con más de 3 anormalidades	0.7	0.7

c) Estratificación pronóstica del SMD según IPSS-R, 2012:

<b>CATEGORÍA DE RIESGO</b>	<b>PUNTAJE TOTAL</b>	<b>SUPERVIVENCIA GLOBAL (años)</b>	<b>Tiempo de evolución a LMA en 25% (años)</b>
<b>Muy bajo</b>	≤1.5	8.8	NR
<b>Bajo</b>	>1.5 a 3	5.3	10.8
<b>Intermedio</b>	>3 a 4.5	3	3.2
<b>Alto</b>	>4.5 a 6.	1.6	1.4
<b>Muy Alto</b>	>6	0.8	0.73

### ANEXO 3.

#### CLASIFICACIÓN DE LA FAB PARA LMA

FAB	DENOMINACIÓN	FRECUENCIA	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS
<b>M0</b>	Indiferenciada	3%	< 3% de blastos MPO +
<b>M1</b>	Sin maduración	15-20%	>3% blastos MPO+, sin maduración
<b>M2</b>	Con maduración	25-30%	Blastos 30-89%; >3% blastos MPO+, >10% con granulación. Bastones Auer frecuentes
<b>M3</b>	Promielocítica	10-15%	>30% promielocitos atípicos. Fuerte positividad a MPO. Múltiples Bastones Auer. Variedad hipogranular o microgranular (M3v)
<b>M4</b>	Mielomonocítica	25%	>30% de blastos mieloides; >20% de monoblastos y células monocitoides atípicas (esterasas inespecíficas +). Variedad con eosinofilia (M4Eo)
<b>M5</b>	Monoblástica	10%	>80% de infiltración monocitaria: monoblastos (M5a) o promonocitos (M5b). Esterasa +. Mieloblastos <20%
<b>M7</b>	Eritroleucemia	2-5%	Eritroblastos >50%. >30% de blastos
<b>M7</b>	Megacariocítica	3%	>30% de blastos. Megacarioblastos. Mielofibrosis asociada

## ANEXO 4.

### CLASIFICACIÓN DE LA OMS 2008

#### CATEGORÍAS

##### ***Leucemia Mieloide Aguda con anomalías citogenéticas recurrentes.***

LMA con AML with t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1

LMA con inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); CBFB-MYH11

LMA M3 t(15;17)(q22;q12); PML-RARA\*

LMA con t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL

LMA con t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214

LMA con inv(3)(q21q26.2) o t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1

LMA (megacarioblástica) con t(1;22)(p13;q13); RBM15-MKL1

Entidad provisional: LMA con mutación NPM1

Entidad provisional: LMA con mutación CEBP

##### ***Leucemia Mieloide Aguda con cambios relacionados con mielodisplasia***

LMA con displasia multilineal

LMA con síndrome mielodisplásico previo

##### ***Neoplasias Mieloides Relacionadas a Tratamiento***

LMA relacionada a agentes alquilantes

LMA relacionada a epipodofilotoxinas

##### ***Leucemia Mieloide Aguda, sin otra causa especificada***

LMA no diferenciada

LMA con diferenciación mínima

LMA con maduración

Leucemia Mielomonocítica Aguda

Leucemia Monocítica Aguda

Leucemia Eritroide Aguda

Leucemia Megacariocítica Aguda

Leucemia Basofílica Aguda

Mielofibrosis con panmielosis aguda

##### ***Sarcoma Mieloide***

---

**Mieloproliferativo relacionado a Síndrome de Down**

Mielopoyesis anormal transitoria

Leucemia Mieloide asociada a Síndrome de Down

**Neoplasia de células dendríticas; blastos plasmocitoides****Leucemias Agudas de Linaje Ambiguo**

Leucemia Indiferenciada Aguda

Leucemia Aguda con fenotipo mixto con t(9;22)(q34;q11.2); BCR-ABL1

Leucemia Aguda con fenotipo mixto con t(v;11q23); MLL rearranged

Leucemia Aguda Bifenotípica B/mieloide

Leucemia Aguda Bifenotípica T/mieloide

Entidad provisional: Natural Killer (NK)-Leucemia/linfoma de células linfoblásticas

---

**ANEXO 5.****CLASIFICACIÓN PRONÓTICA PARA LMA**

<b>GRUPOS DE RIESGO</b>	<b>SUBCONJUNTOS</b>
<b>Favorable</b>	t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11 Mutación NPM1 sin FLT3-ITD (cariotipo normal) Mutación CEBPA (cariotipo normal)
<b>Intermedio I</b>	Mutación NPM1 y FLT3-ITD (cariotipo normal) Variante agresiva NPM1 y FLT3-ITD (cariotipo normal) Variante agresiva NPM1 sin FLT3 (cariotipo normal)
<b>Intermedio II</b>	t(9;11)(p22;23); MLL T3MLL Anormalidades citogenéticas no clasificadas en favorable o adverso
<b>Adverso</b>	Inv(3)(q21q26.2) y t(3;3)(q26.2); RPN1-EVI1 t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214 t(v;11)(v;q23); rearreglo MLL -5 o del(5q); -7; abl(17q); cariotipo complejo

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES “BERNARDO SEPÚLVEDA”  
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACION  
MEDICA

Título del protocolo: **“Evaluación de la densidad de Células Estromales Mesenquimales y su asociación con factores pronósticos en Síndromes Mielodisplásicos y Leucemia Mieloide Aguda”.**

Investigador principal: Ilse Arely Reyes Razo.

Sede donde realizare el estudio: Hospital de Especialidades CMN SXXI.

Nombre del paciente \_\_\_\_\_

A través de este documento queremos hacerle una invitación a participar voluntariamente en un estudio de investigación clínica. Antes de que usted acepte participar en este estudio, se le presenta este documento de nombre “Consentimiento Informado”, que tiene como objetivo comunicarle de los posibles riesgos y beneficios de su participación para que usted pueda tomar una decisión informada. Su decisión es voluntaria, lo que significa que usted es totalmente libre de ingresar o no en el estudio. Podrá retirar su consentimiento en cualquier momento y sin tener que explicar las razones, sin que esto signifique una disminución en la calidad de la atención médica que se le provea, ni deteriorará la relación con su médico.

El síndrome mielodisplásico (SMD) es una enfermedad hematológica que se presenta porque la médula ósea donde se produce la sangre, deja de funcionar, los pacientes presentan cansancio y palidez de la piel por la baja de glóbulos rojos conocida como anemia, también pueden tener infecciones frecuentes porque bajan los glóbulos blancos que sirven de defensas contra infecciones, en algunos casos pueden presentar sangrado por que bajan las plaquetas que son unas pequeñas células que sirven para la coagulación.

En el caso de la leucemia mieloide aguda (LMA), esta es una enfermedad también originada en la médula ósea que se manifiesta por la baja en los glóbulos rojos, blancos y en las plaquetas, pero a diferencia del SMD en la LMA hay un aumento muy importante en un tipo de célula llamada blasto mieloide, comportándose como un cáncer agresivo ameritando tratamiento intensivo a base de quimioterapia.

Dentro del estudio habitual de los pacientes con sospecha de SMD o LMA, se realiza la toma de una biopsia de médula ósea, que consiste en la extracción de una pequeña porción de hueso de aproximadamente 1 cm, con la finalidad de estudiar las células que forman parte de la médula ósea y se encuentran alteradas en los pacientes con estas enfermedades.

Con la finalidad de mejorar el estudio de estas patologías, se ha realizado una tinción especial por inmunohistoquímica en la biopsia de hueso que ya le tomaron, para medir la cantidad de unas



células especiales llamadas células mesenquimales, que se cree podrán relacionadas con la gravedad de estas enfermedades.

En el presente estudio de investigación se evaluará si la cantidad de las células mesenquimales está relacionada con la posibilidad de que su enfermedad sea más agresiva.

Su participación consiste en permitirnos analizar sus estudios de laboratorio registrados en su expediente clínico, así como de su biopsia de médula ósea y de cariotipo en caso de que se lo hayan realizado.

Es posible que los resultados de este estudio ayuden a otros pacientes a clasificar mejor su enfermedad. Esto no quiere decir que no se haya hecho antes o que su enfermedad está mal clasificada, lo que se busca es mejorar el diagnóstico y el pronóstico con esta prueba de laboratorio.

El estudio no implica riesgo para usted ya que los datos serán obtenidos del expediente mientras usted participa en este estudio, así como los registros de salud relacionados permanecerán estrictamente confidenciales en todo momento.

Al firmar la hoja de consentimiento, usted otorga este acceso para el estudio actual y cualquier investigación posterior que pueda llevarse a cabo utilizando esta información. Sin embargo, el investigador del estudio tomará las medidas necesarias para proteger su información personal, y no incluirá su nombre en ningún formato, publicaciones o divulgación futura, para lo que se asignará un número no relacionado a su nombre para identificarle en nuestra base de datos. Si se retira del estudio, no obtendremos más información personal acerca de usted, pero podremos continuar utilizando la información ya recopilada.

Si tiene dudas sobre su participación, podrá comunicarse al teléfono 55 5627 6900, ext. 21410. En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, colonia Doctores, México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56276900 extensión 21230, correo electrónico: [comisión.etica@imss.gob.mx](mailto:comisión.etica@imss.gob.mx)

## **CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo, \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento. o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

\_\_\_\_\_  
Firma del participante o del padre o tutor

\_\_\_\_\_  
Fecha

Testigo 1 \_\_\_\_\_

Nombre y firma

\_\_\_\_\_

Fecha

Testigo 2 \_\_\_\_\_

Nombre y firma

\_\_\_\_\_

Fecha

He explicado al Sr (a).\_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación; he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación, He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar la investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

\_\_\_\_\_

Firma de investigador

\_\_\_\_\_

Fecha