



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

“Metaplasia mieloide esplénica en anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes”

T E S I S

QUE PARA OBTENER TÍTULO DE SUBESPECIALIDAD EN

HEMATOLOGÍA

PRESENTA:

DR. VICTOR MANUEL ANGUIANO ALVAREZ

TUTOR

DRA. ELENA JUVENTINA TUNA AGUILAR

CIUDAD DE MÉXICO, JULIO 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.

DEDICATORIA

A LA VIDA, A MIS PADRES, A TODOS AQUELLOS QUE DIRECTA E INDIRECTAMENTE HACEN POSIBLE NUESTRA LABOR, A LOS QUE CREYERON EN LA IDEA DE ESTE TRABAJO Y A MI TUTORA, AI FUTURO SIEMPRE INCIERTO.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	4
II.	MARCO TEÓRICO	5
III.	JUSTIFICACIÓN	7
IV.	PREGUNTA A RESPONDER	8
V.	HIPÓTESIS	8
VI.	OBJETIVOS	9
VII.	VARIABLES	10
VIII.	TIPO DE ESTUDIO	11
IX.	DEFINICIONES CONCEPTUALES	12
X.	MATERIAL Y MÉTODOS	13
XI.	RESULTADOS	17
XII.	DISCUSIÓN	24
XIII.	CONCLUSIONES	29
XIV.	ABREVIATURAS	30
XV.	REFERENCIAS	32
XVI.	ANEXOS	35

I. INTRODUCCIÓN

Se conoce como anemia hemolítica autoinmune (AHAI) a la destrucción acelerada de eritrocitos por la presencia de anticuerpos que pueden provocar hemólisis a temperatura de 37°C (anticuerpos calientes, generalmente tipo IgG que pueden o no fijar complemento C3d) o a temperatura entre 0 y 4°C (anticuerpos fríos, usualmente tipo IgM); la discriminación entre el tipo de anticuerpos involucrados se realiza con la prueba de Coombs.¹

La metaplasia mieloide (MM) también conocida como hematopoyesis extramedular se refiere al proceso fisiopatológico en el cual células progenitoras hematopoyéticas migran desde la médula ósea hacia otros órganos y tejidos (con mayor frecuencia a bazo e hígado, de forma excepcional en regiones paraespinales del tórax y abdomen), donde contribuyen a la formación de elementos sanguíneos; lo anterior implica una regresión visceral a las funciones fetales hematopoyéticas en sitios no hematopoyéticos durante la vida adulta. Bajo ciertas condiciones se llega a presentar metaplasia mieloide esplénica (MME) en el adulto, como se ha descrito en casos de AHAI y otras enfermedades hematológicas (benignas y malignas) que cursan con hemólisis aguda o crónica, sin embargo la MME o su ausencia (congestión esplénica) hasta el momento tienen un significado clínico incierto como consecuencia de enfermedad sistémica y se desconocen sus implicaciones en la práctica médica.²⁻⁴

II. MARCO TEÓRICO

Se ha demostrado la presencia de MME en enfermedades hematológicas benignas, con mayor frecuencia en el contexto de anemia hemolítica congénita y adquirida, trombocitopenia inmune primaria (TIP), púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) y síndrome hemolítico urémico (SHU). Las patologías hematológicas malignas más frecuentes asociadas a MME son mielofibrosis primaria (MP), leucemia mieloide crónica (LMC), policitemia vera (PV) y otros trastornos mielo-proliferativos. **(Tabla 1).**^{5,6}

Tabla 1.- Enfermedades hematológicas benignas y malignas asociadas con MME

Causas benignas	Causas malignas
Talasemia.	Mielofibrosis primaria.
Anemia hemolítica autoinmune.	Leucemia mieloide crónica.
Trombocitopenia inmune primaria.	Policitemia vera.
Púrpura trombótica trombocitopénica.	Leucemia mieloide aguda.
Síndrome hemolítico urémico.	Síndrome mielodisplásico.

Se muestran las enfermedades hematológicas (incluidos trastornos mielo-proliferativos) comúnmente asociadas a MME.

Las características histopatológicas de MME en el contexto de enfermedad hematológica benigna o maligna son las siguientes:

- A) Presencia de precursores hematopoyéticos y proliferación de un solo linaje celular en la pulpa roja (más frecuentemente línea eritroide).
- B) Presencia de precursores hematopoyéticos y proliferación de múltiples linajes celulares de forma concomitante (con todos los estadios de maduración), con predominio de formas celulares maduras.

El estudio de inmunohistoquímica (IHQ) en los sitios donde existe hematopoyesis extramedular demuestra la ausencia de expresión para los marcadores CD34, CD117 o TdT y las pruebas moleculares o citogenéticas (que puedan estar disponibles en cada centro hospitalario) no deben mostrar alteraciones de clonalidad.⁷

La presencia de MME en el contexto de anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes (AHA_{IAC}), tiene un significado clínico incierto al igual que en otras patologías y se desconoce su frecuencia en México y en el mundo, así como sus implicaciones en la práctica clínica con respecto al tratamiento, impacto en la evolución o pronóstico de los pacientes; de igual forma no hay estudios previos en la literatura que describan la presencia de MME en el contexto de enfermedades reumatológicas como lupus eritematoso sistémico (LES) o síndrome de anticuerpos antifosfolípidos (SAAF) que cursan con AHA_{IAC}.

En un estudio retrospectivo de la clínica Mayo se analizaron los cambios histológicos en 36 bazo de pacientes esplenectomizados por AHAI sin trastorno linfoproliferativo asociado, se documentó MME en 26 (72%) de los casos; a decir de los autores su presencia pudo representar un fenómeno asociado con la gravedad de la enfermedad, sin embargo en dicho estudio no se especifica si fueron casos de anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes (AHAI_{AC}) o anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos fríos (AHAI_{Af}) y no se describen otras implicaciones de MME en la práctica clínica.⁸

III. JUSTIFICACIÓN

- En México se desconoce la frecuencia de MME en los pacientes con anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes (AHAI_{AC}) y sus características clínicas.
- No se ha establecido si las características de los pacientes con AHAI_{AC} con MME son diferentes, en relación a pacientes con AHAI_{AC} sin MME.
- No se ha demostrado que los resultados histopatológicos del bazo en pacientes con AHAI_{AC} tengan relevancia clínica (excluyendo los trastornos linfoproliferativos) para determinar algún impacto en el tratamiento, pronóstico o seguimiento de los casos posterior a esplenectomía.

IV. PREGUNTA A REPONDER

- ¿Cuál es la frecuencia de MME en pacientes con AHAI_{AC} en un hospital de tercer nivel de atención en México?
- ¿Las características basales de los pacientes con MME y AHAI_{AC} son diferentes a los pacientes sin MME con AHAI_{AC}?
- ¿Qué significado clínico tiene la presencia de MME en pacientes con AHAI_{AC} atendidos en un hospital de tercer nivel de atención en México?

V. HIPÓTESIS

En el contexto de AHAI_{AC} las características de los pacientes con MME son diferentes, respecto a los casos sin MME que solo muestran congestión esplénica en el análisis histopatológico.

VI. OBJETIVOS

Objetivo primario

- Reportar la frecuencia de MME en pacientes con AHAI_{AC}, sus características clínicas, bioquímicas y posibles diferencias con los casos sin MME con AHAI_{AC} (congestión esplénica).

Objetivos secundarios

- Comparar respuestas a tratamiento y tiempo libre de recaída entre los casos con MME versus congestión esplénica, en el contexto de pacientes con AHAI_{AC} que requieren esplenectomía como segunda línea de tratamiento.

VII. VARIABLES

Tabla 2. Variables

Variables dependientes

Variable	Tipo de variable
1. Metaplasia mieloide esplénica	Categórica
2. Congestión esplénica	Categórica

Variables independientes

1. Sexo	Categórica
2. Edad	Continua
3. Síndrome anémico	Categórica
4. Esplenomegalia	Categórica
5. Coluria	Categórica
6. Ictericia	Categórica
7. Transfusiones	Categórica
8. Síndrome de Evans	Categórica
9. LES/SAAF	Categórica
10. Hemoglobina	Continua
11. Cuenta de leucocitos	Continua
12. Neutrófilos	Continua
13. Bilirrubina total	Continua
14. Bilirrubina indirecta	Continua

15. DHL	Continua
16. Reticulocitos corregidos	Continua
17. Plaquetas	Continua
18. Coombs IgG +/-	Categórica
19. Coombs IgG+++ /++++	Categórica
20. Coombs mixto IgG+C3d	Categórica
21. ANA's	Categórica
22. ACL IgG	Categórica
23. ACL IgM	Categórica
24. AGLP1 IgG	Categórica
25. AGLP1 IgM	Categórica
26. AL	Categórica
27. Anti-DNA _{dc}	Categórica

Abreviaciones: LES (lupus eritematoso sistémico); SAAF (síndrome anticuerpos anti-fosfolípidos); DHL (deshidrogenasa láctica); ANA'S (anticuerpos anti-nucleares); ACL (anticuerpos anticardiolopina); AGLP1 (anticuerpos anti-beta-2 glicoproteína 1); AL (anticoagulante lúpico), Anti-DNA_{dc} (anticuerpos anti-DNA doble cadena).

VIII. TIPO DE ESTUDIO

- Cohorte retrospectivo

IX. DEFINICIONES CONCEPTUALES

Las líneas de tratamiento se especifican en relación a la forma en que son utilizadas en el INCMNSZ. Los criterios de respuesta a cada línea de tratamiento fueron evaluados acorde a lo establecido por el grupo de estudio GIMEMA (Gruppo Italiano Malattie EMatologiche dell'Adulto):⁹

1.- Primera línea de tratamiento

Esteroides, tres dosis de metilprednisolona IV (1gr/día), seguido de prednisona VO (1mg/Kg/día) por 30 días, con evaluación de respuesta a las 3 semanas de tratamiento.

2.- Segunda línea de tratamiento

Esplenectomía abierta o laparoscópica (a criterio del cirujano) como manejo estándar de segunda línea en el INCMNSZ.

3.- Tercera línea de tratamiento

Uso de inmunosupresores orales como azatioprina, micofenolato de mofetilo y ciclofosfamida.

4.- Respuesta completa (RC)

Niveles de hemoglobina mayores a 12g/dL y normalización de todos los marcadores de hemólisis.

5.- Respuesta parcial (RP)

Niveles de hemoglobina mayores de 10g/dL o incremento de hemoglobina en al menos 2g/dL, sin requerimientos transfusionales.

6.- Sin respuesta (SR)

Aquellos casos que no cumplieran ninguno de los criterios de RC o RP, como resultado de alguna línea de tratamiento.

7.- Recaída

Entiéndase como el descenso del nivel de hemoglobina y la presencia nuevamente de hemólisis con prueba de Coombs directa positiva, después de que el paciente tuvo RC o RP.

8.- AHAI primaria

Se consideró AHAI primaria (AHAI_p) en aquellos casos en los que no fue posible identificar presencia de autoinmunidad o malignidad.

9.- AHAI secundaria

Se consideró AHAI secundaria (AHAI_s) en aquellos casos relacionados con la presencia de autoinmunidad o malignidad.

X. MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron retrospectivamente 140 expedientes con diagnóstico de AHAI entre Enero 1992 y Diciembre 2015 en el departamento de hematología y oncología del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ).

Todos los pacientes incluidos fueron evaluados para lupus eritematoso sistémico (LES) y síndrome antifosfolípidos (SAAF) con el siguiente panel de anticuerpos: anticuerpos antinucleares (ANA'S) >1:80 UI/mL, anticuerpos anti-DNA de doble cadena (anti-DNA_{dc}) >9.6UI/mL, anti-cardiolipinas (ACL) IgG >5.4 GPL e IgM >4.4 MPL, beta-2 glicoproteína 1 (AGLP1) IgG >2.5 UI/mL e IgM >3.4 UI/mL, anticoagulante lúpico (AL), realizado con ensayo del veneno de víbora de Russel, considerándose el resultado positivo o negativo.

Todos tuvieron determinaciones de serologías para virus de hepatitis B (VHB), virus de hepatitis C (VHC) y virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

Los bazos extirpados fueron revisados por dos patólogos especialistas del INCMNSZ. De cada bazo se analizaron las preparaciones teñidas con hematoxilina y eosina. En cada caso se evaluó la ausencia de MME (congestión esplénica) o la presencia de MME, la cual se consideró positiva cuando se identificaron más de un foco o grupos de 10 células (serie eritroide, granulocítica y megacariocitos).

Las reacciones de IHQ fueron realizadas con sistema automatizado Biocare y una técnica de complejo estándar de estreptavidina-biotina-peroxidasa. Se utilizaron los siguientes marcadores TdT (DakoCytomation policlonal con dilución 1:10). Anti-mieloperoxidasa (Anti-MPO) (DakoCytomation policlonal pre-diluido). Glicoforina (DakoCytomation policlonal con dilución 1: 200), CD34 (DakoCytomation, clona QBEND10 pre-diluido). CD117 (Bio&SB, C-kit con dilución 1:50). La actividad de la peroxidasa endógena se bloqueó con peróxido de hidrógeno al 3% en metanol y se bloqueó la actividad de la biotina endógena utilizando avidina y biotina. La actividad de la peroxidasa se desarrolló con 3,3-diamino-bencideno y se tiñó con hematoxilina. En cada lamilla se colocaron controles positivos adecuados.

Se establecieron los siguientes criterios:

- **Criterios de Inclusión**

- Hombres y mujeres mayores de 16 años.
- Nivel de hemoglobina igual o menor de 11g/dL.
- Presencia de hemólisis activa (con niveles elevados de DHL y bilirrubinas, nivel bajo o indetectable de haptoglobinas séricas y reticulocitosis).
- Prueba de Coombs directo positiva para IgG (cualquier título) o prueba de Coombs con resultado mixto es decir IgG y C3d positivos.
- Se seleccionaron pacientes que cumplieran con el diagnóstico de AHAI por anticuerpos calientes (corroborado con prueba de Coombs directo positiva).
- Pacientes con esplenectomía como segunda línea de tratamiento.

- **Criterios de exclusión**

- Perfil hemolítico incompleto al diagnóstico.
- Datos del expediente clínico incompletos.
- Anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos fríos.
- Pacientes con diagnóstico previo de enfermedad autoinmune o trastorno linfoproliferativo.

Análisis estadístico

- En el análisis exploratorio y descriptivo se muestran frecuencias y porcentajes para variables categóricas, así como medianas con valores mínimos y máximos para las variables cuantitativas.
- Se analizó la distribución de las variables mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov.
- Para el análisis bivariado se utilizaron las pruebas U de Mann-Whitney y prueba exacta de Fisher de acuerdo al tipo de variables.
- El análisis de supervivencia se realizó mediante el método de Kaplan-Meier con la prueba de Log-Rank.
- Se tomó como significativo un valor de $p < 0.05$.
- Utilizamos el programa estadístico StataCorp. 2015. Stata Statistical Software: Release 14. College Station, TX: StataCorp LP.

XI. RESULTADOS

A) Características basales de la población

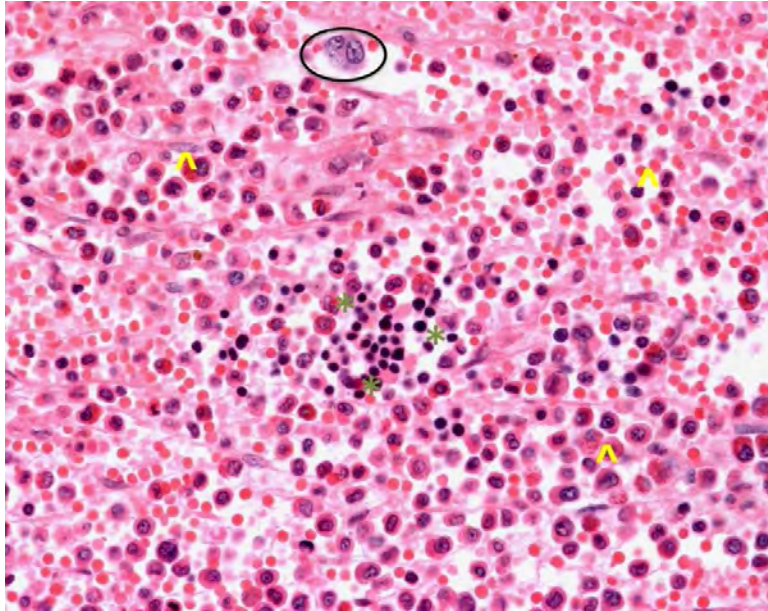
Se revisaron 140 expedientes, fueron incluidos para el análisis un total de 36 casos, de los cuales 25 (69.5%) correspondieron con AHAI primaria (AHAI_p) y 11 (30.5%) a causas de AHAI secundaria (AHAI_s). Se documentó MME en 15 casos (41.6%) de los cuales 9 (60%) correspondieron con AHAI_p y 6 (40%) con AHAI_s. En 21 casos se observó congestión esplénica sin MME de los cuales 15 (71.4%) fueron compatibles con AHAI_p y 5 (28.6%) con AHAI_s. Las indicaciones de esplenectomía fueron: recaída en 25 casos (69.5%), refractariedad a esteroides en 11 casos (30.5%).

En ambos grupos predominó el sexo femenino que representó el 73.3% de los casos en el grupo con MME (mediana de edad 29 años) y 62% en el grupo con congestión esplénica (mediana de edad 32 años).

En la tabla 3 se comparan las características basales entre los grupos. En la figura 1 se presenta un caso ilustrativo de nuestra serie de casos con MME.

Figura 1.- Caso de MME, presentación histopatológica representativa en esta revisión.

A



B

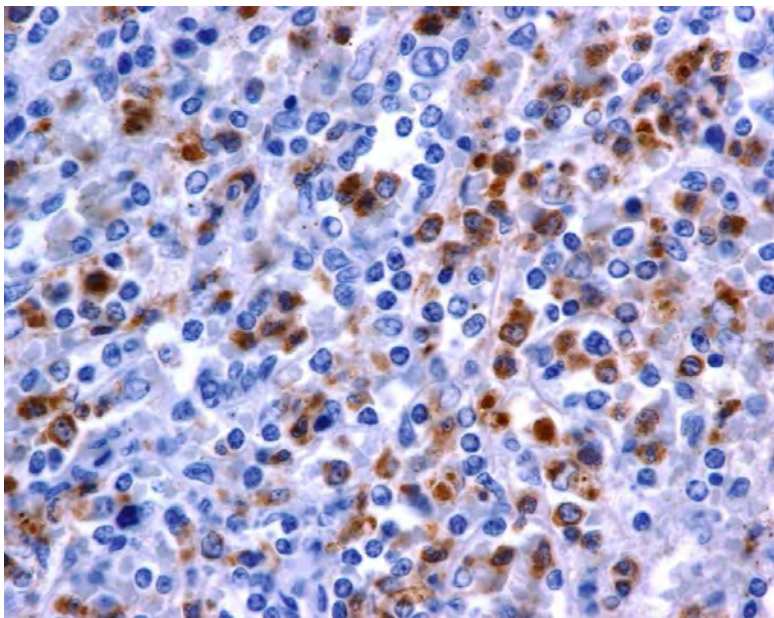


Figura 1.- A) H&E 40x. Se identifica foco de hematopoyesis extramedular constituido por serie eritroblastos (*), precusores de serie granulocítica (^) y megacariocitos (O). B) Inmunohistoquímica con Mieloperoxidasa (MPO) que muestra positividad en precusores mieloides.

B) Perfil bioquímico

Las características de perfil hemolítico al diagnóstico de pacientes con MME fueron: Hemoglobina (Hb) 6.4 g/dL (2.1-13.7), hematocrito (Hto) 18.3% (6-40.2), bilirrubina total (BT) 2.4 mg/dL (0.91-12.2), bilirrubina indirecta (BI) 1.87 mg/dL (0.16-8.1), deshidrogenasa láctica (DHL) 519 UI/L (172-1112), cuenta corregida de reticulocitos (CCR) 4.03% (2-18.6), esplenomegalia en 40% de los casos y 33.3% tuvieron síndrome de Evans. En el grupo con congestión esplénica (CE): Hb 7.3g/dL (2.3-12.5), Hto 21.2% (6.2-39.6), BT 3.18 mg/dL (1.24-10.1), BI 2.5 mg/dL (1.0-9.7), DHL 422 UI/L (140-1088), cuenta corregida de reticulocitos 6.3% (0.52-19.8), esplenomegalia en 28.5% de los casos y 9.5% con síndrome de Evans. La comparación entre ambos grupos solo mostró diferencias significativas en cifra de plaquetas (Tabla 3).

Tabla 3. Características clínicas y perfil bioquímico de pacientes con AHAI_{Ac}.

	Total (n=36) No. pacientes (%)	MME (n=15) No. pacientes (%)	CE (n=21) No. pacientes (%)	p*
Género femenino	24 (66.6)	11 (73.3)	13 (61.9)	0.72
Edad, años				
Mediana (rango)	32 (17 – 69)	29 (17 – 52)	32 (21 – 69)	0.42
Datos clínicos				
Síndrome anémico	28 (77.7)	12 (80)	16 (76.1)	1.00
Esplenomegalia	12 (33.3)	6 (40)	6 (28.5)	0.49
Coluria	8 (22.2)	3 (20)	5 (23.8)	1.00
Ictericia	31 (86.1)	13 (86.6)	18 (85.7)	1.00
Pacientes transfundidos	11 (30.5)	6 (40)	5 (23.8)	0.46

Síndrome de Evans	7 (19.4)	5 (33.3)	2 (9.5)	0.08
LES/SAAF	11 (30.5)	6 (40)	5 (23.8)	0.46
Laboratorios, mediana (rango)				
Hemoglobina, g/dL	6.6 (2.1 – 13.7)	6.4 (2.1 – 13.7)	7.3 (2.3 – 12.5)	0.98
Bilirrubina total, mg/dL	2.92 (0.9 – 12.2)	2.4 (0.9 – 12.2)	3.18 (1.24 – 10.1)	0.28
Bilirrubina indirecta, mg/dL	2.13 (0.16 – 9.7)	1.87 (0.16 – 8.1)	2.5 (1.0 – 9.7)	0.31
DHL, UI/L	447 (140 – 1112)	519 (172 – 1112)	422 (140 – 1088)	0.19
CCR, %	5.1 (0.52 – 19.8)	4.03 (2.0 – 18.6)	6.3 (0.52 – 19.8)	0.81
Plaquetas, x10 ⁹ /L	217 (30 – 625)	147 (30 – 388)	240 (47 – 625)	0.02
Prueba de Coombs (distribución)				
IgG +/+++	8 (22.2)	3 (20)	5 (23.8)	1.0
IgG +++/++++	18 (50)	8 (53.3)	10 (47.6)	1.0
Mixto (IgG + C3d+)	10 (27.7)	4 (26.6)	6 (28.5)	1.0
*Prueba exacta de Fisher's, prueba de Chi ² y prueba U de Mann-Whitney, fueron utilizadas para comparación entre los grupos. LES (lupus eritematoso sistémico); SAAF (síndrome de anticuerpos antifosfolípidos); CCR (cuenta corregida de reticulocitos); MME (metaplasia mieloide esplénica); CE (Congestión esplénica)				

C) Respuestas a tratamiento

En la tabla 4 se muestran las respuestas alcanzadas en cada uno de los grupos de estudio para cada línea de tratamiento, como puede observarse solo hubo diferencia en respuesta completa con primera línea de tratamiento que fue 13.3% para MME y 47.6% en pacientes con CE (P= 0.04). No hubo diferencias en las respuestas obtenidas con segunda línea de tratamiento.

La mediana de tiempo a esplenectomía desde el diagnóstico fue de 3.9 meses en el grupo de MME y 4.6 meses en el grupo de congestión esplénica (P= 0.97). Con esplenectomía se obtuvo respuesta global (RG) de 93.3% en pacientes con MME y 95.2% en pacientes con congestión esplénica (tabla 3). La mediana de tiempo libre de recaída posterior a esplenectomía fue de

16.2 meses en pacientes con MME versus 5.1 meses en el grupo de congestión esplénica (P=0.19) (figura 2), sin diferencias al comparar los casos de AHAI_{AC} primaria versus AHAI_{AC} secundaria. El requerimiento de una tercera línea de tratamiento fue de 8 casos (53.3%) en el grupo de MME versus 10 casos (47.6%) en el grupo de congestión esplénica (CE), sin diferencia estadística en el número de casos o en las respuestas obtenidas (tabla 4).

Tabla 4.- Respuestas hematológicas entre los grupos (por línea de tratamiento).

	MME (n=15) No. pacientes (%)	CE (n=21) No. pacientes (%)	p*
Primera línea de tratamiento			
RC	2 (13.33)	10 (47.61)	0.04
RP	8 (53.33)	6 (28.57)	0.17
SR	5 (33.33)	5 (23.80)	0.70
Segunda línea de tratamiento (esplenectomía)			
RC	9 (60.00)	13 (61.90)	1.00
RP	5 (33.33)	7 (33.33)	1.00
SR	1 (6.66)	1 (4.76)	1.00
Tercera línea de tratamiento			
RC	6 (40.00)	5 (23.80)	0.46
RP	1 (6.66)	4 (19.04)	0.37
SR	1 (6.66)	1 (4.76)	1.00
* Se utilizó prueba exacta de Fisher para la comparación entre los grupos			

Figura 2.- Supervivencia libre de evento (tiempo sin recaída).

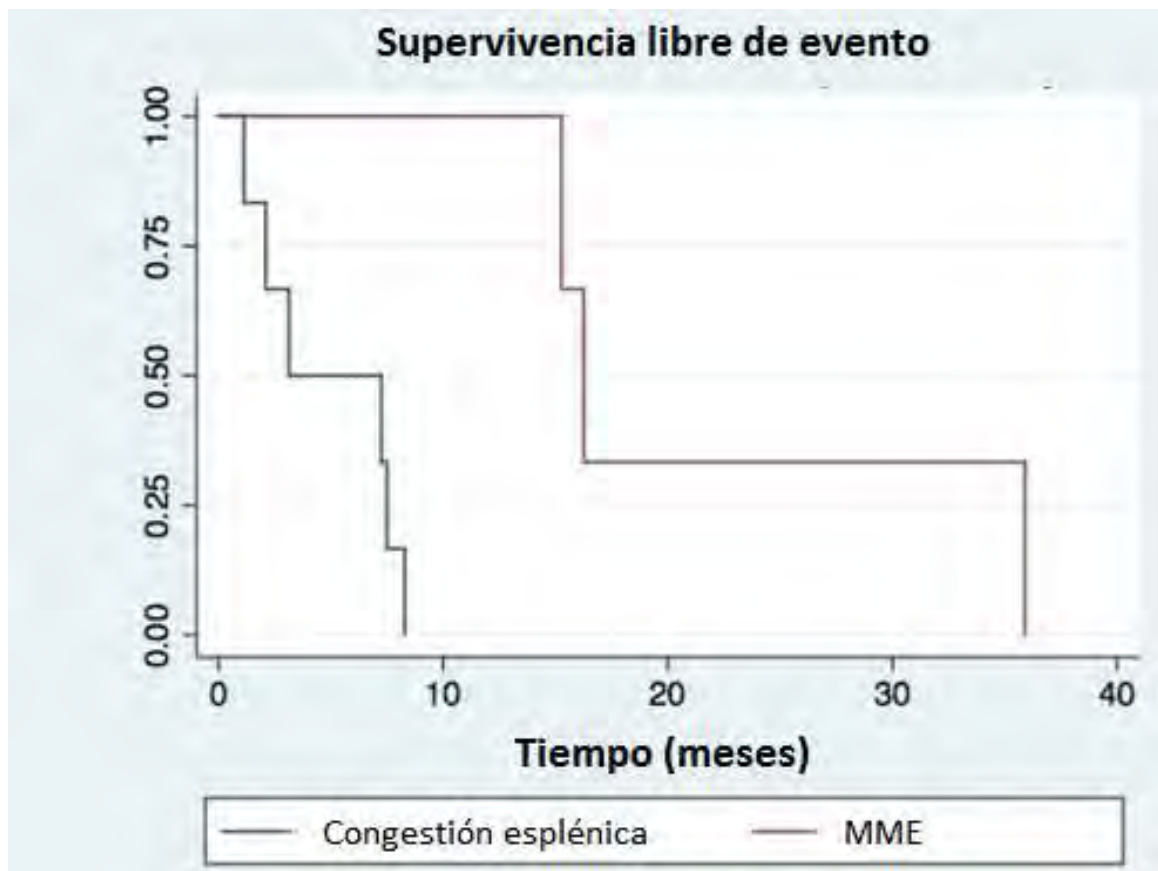


Figura 2.- Curva de Kaplan-Meier donde se muestra la supervivencia libre de evento (sin recaída) posterior a esplenectomía, siendo de 16.2 meses en pacientes con MME versus 5.1 meses en el grupo de congestión esplénica (P=0.19).

D) Perfil reumatológico

En la tabla 5 se muestran los títulos de anticuerpos para ambos grupos, así como sus valores de corte para determinar positividad (puntos de corte validados en el laboratorio de reumatología del INCMNSZ); la presencia de anticuerpos anti-DNA_{dc} estuvo presente en el 40% de los casos con MME versus 4.7% de los casos con congestión esplénica (P=0.01), el resto del perfil reumatológico no mostró diferencias.

Tabla 5.- Perfil reumatológico en pacientes con AHAI_{Ac}

	MME (n=15) No. pacientes (%)	CE (n=21) No. pacientes (%)	p*
ANAs > 1:80 UI/ml			0.18
Patrón			
Nuclear	3 (20)	5 (23.8)	
Citoplasmático	2 (13.3)	0	
Patrón mixto	4 (26.6)	2 (9.5)	
IgG ACL			
> 5.4 GPL	5 (33.3)	7 (33.3)	1.00
> 40 GPL	1 (6.6)	2 (9.5)	1.00
IgM ACL			
> 4.1 MPL	8 (53.3)	10 (47.6)	1.00
> 40 MPL	3 (20)	3 (14.2)	0.67
IgG AGLP1 > 2.5 UI/ml	5 (33.3)	5 (23.8)	0.70
IgM AGLP1 > 3.4 UI/ml	7 (46.6)	7 (33.3)	0.49
AL Positivo	1 (6.6)	2 (9.5)	1.00
Anti-DNA _{dc} > 9.6 UI/mL	6 (40)	1 (4.7)	0.01
*Se utilizó prueba exacta de Fisher y Chi ² para la comparación entre los grupos			

Abreviaciones: ANA'S (anticuerpos anti-nucleares); ACL (anticuerpos anticardiolopina); AGLP1 (anticuerpos anti-beta-2 glicoproteína 1); AL (anticoagulante lúpico), Anti-DNA_{dc} (anticuerpos anti-DNA doble cadena).

E) Análisis univariado y multivariado

En los análisis univariado y multivariado la presencia de respuesta completa a primera línea de tratamiento confirió un riesgo relativo (RR) para MME de 0.30 (IC 95%, 0.08-1.14; p=0.03),

mientras que una cuenta plaquetaria baja tuvo RR 0.99 (IC 95%, 0.98- 0.99; p=0.03) y la presencia de anticuerpos anti-DNA_{dc} con títulos mayores a 9.6 UI/dL tuvieron RR 2.76 (IC 95%, 1.48- 5.14; p= <0.01). Ninguna otra variable confirió riesgo de presentar MME.

XII. DISCUSIÓN

Se desconoce la prevalencia de MME en AHAI_{AC} y los datos difieren entre las series reportadas, existen pocos estudios sobre el tema con los cuales comparar nuestros resultados.

En un estudio multicéntrico se reportaron 80 casos de MME en pacientes con diversas enfermedades hematológicas, se incluyeron 37 casos de MME en el contexto de enfermedad hematológica benigna de los cuales únicamente 4 casos estuvieron relacionados con AHAI,⁷ en el presente estudio encontramos una frecuencia de MME del 41.6% en AHAI por anticuerpos calientes (en la figura 1, se muestra un caso representativo de nuestra serie). En los pacientes con MME reportados por la clínica mayo, hubo predominio del sexo femenino (69.4%) con mediana de edad para ambos sexos de 54.9 años (rango 2-84 años),⁸ en nuestro estudio las mujeres representaron el 73.3% de los casos y la mediana de edad para ambos sexos fue de 29 años (rango 17-52 años); a pesar de que incluimos solo pacientes mayores de 16 años de forma global nuestra población es comparativamente más joven, pero sin diferencias en características clínicas al compararse con los casos de AHAI por anticuerpos calientes sin la presencia de MME. A nuestro conocimiento esta es la primera serie de casos que describe

también la presencia de MME en pacientes con síndrome de Evans y enfermedades reumatológicas asociadas como con LES y SAAF.

Respecto al perfil hemolítico y la intensidad de la prueba de Coombs directo no encontramos diferencias entre los dos grupos de estudio, al igual que en el apoyo de transfusiones. Destaca que en los resultados de citometría hemática y perfil bioquímico solo encontramos diferencia significativa respecto a una menor cuenta plaquetaria en el grupo de MME, lo cual es un hallazgo no descrito previamente y de forma interesante no estuvo en relación a mayor número de casos de anemia hemolítica y trombocitopenia inmunes o LES/SAAF; como se describe más adelante encontramos que este fenómeno estuvo en relación a mayor presencia de anticuerpos anti-DNA_{dc}.

La esplenectomía ha sido propuesta clásicamente como el tratamiento de segunda línea (en ausencia de contraindicación) para pacientes con AHAI_{AC} en recaída, primariamente refractarios o intolerantes a esteroides. Son pocos los estudios que evalúan el uso de esplenectomía como tratamiento de segunda línea y a nuestro conocimiento este trabajo presenta la mayor casuística de pacientes esplenectomizados como procedimiento estándar de segunda línea en AHAI_{AC} para pacientes adultos. De la totalidad de los casos revisados el 25.7% fue llevado a esplenectomía, porcentaje superior al reportado por el estudio del grupo GIMEMA que fue de 10% y en el estudio CEREVANCE (el estudio más grande en población pediátrica) fue del 13.9%.^{8, 10-12}

En el estudio del grupo GIMEMA también se utilizaron otras segundas líneas de tratamiento como rituximab e inmunosupresores ahorradores de esteroides (azatioprina, ciclofosfamida y ciclosporina A); en el estudio mencionado la mediana de tiempo a la esplenectomía fue de 92 semanas en contraste a los datos presentados en este estudio donde se llevó a los pacientes a esplenectomía tras documentar recaída o refractariedad. En el estudio CEREVANCE se evaluó el uso de esplenectomía en población pediátrica con AHAI en recaída o refractarios a esteroides, lamentablemente los resultados no pueden extrapolarse a la población adulta ya que las etiologías así como las respuestas a tratamiento son diferentes en esa población. En el presente estudio las respuestas globales con esplenectomía fueron mayores al 90% en pacientes con o sin MME, lo cual es superior a lo reportado en la literatura donde se informa que menos del 50% de los pacientes responden inicialmente a esplenectomía y en la experiencia del grupo GIMEMA se reportó 75% de respuesta global.^{8,10-13}

Estos resultados indican una mayor probabilidad de RC con tratamiento de primera línea (esteroides) en pacientes con presencia de congestión esplénica versus los pacientes con MME ($P= 0.04$), se considera que esta circunstancia podría estar en relación a una mayor hemólisis crónica en el grupo de MME la cual condiciona una pobre respuesta a esteroides y podría relacionarse a mayor severidad de la enfermedad ya que la presencia de hematopoyesis extramedular refleja depósitos de hemosiderina por destrucción incrementada de los eritrocitos, sin embargo estas observaciones se basan en la experiencia obtenida en otros escenarios clínicos. No se encontró diferencia en las respuestas obtenidas acorde a la histología del bazo respecto a los tratamientos de segunda y tercera línea, en la literatura no existen reportes previos donde

se relacione la MME o la congestión esplénica con respuestas a tratamiento en AHAI_{AC}.^{5, 7, 9, 14, 15}

A pesar de que los pacientes con presencia de congestión esplénica respondieron mejor al uso de esteroides alcanzando significativamente mayor tasa de RC, no hubo diferencias en el tiempo a la esplenectomía (desde el diagnóstico) ni en la respuesta global (RG) obtenida; por el contrario los pacientes con MME pasan mayor tiempo sin recaída con mediana de 16.2 meses en comparación a 5.1 meses en el grupo de congestión esplénica (P=0.19) (figura 2); los resultados indican que posterior a esplenectomía ambos grupos se comportan igual y en el presente estudio ni la esplenectomía ni los hallazgos histológicos fueron factores que influyeron significativamente en la RG y tampoco con la necesidad de tercera línea de tratamiento, estos resultados no son comparables ya que no existen reportes similares al respecto.

En esta revisión la presencia de MME en AHAI por anticuerpos calientes estuvo relacionada con títulos positivos de anticuerpos anti-DNA_{dc} y con presencia de trombocitopenia, no hay estudios previos que describan dicha asociación, las similitudes que se encontraron respecto al perfil inmunológico están en relación a estudios previos con enfermedades autoinmunes. En un análisis de 132 pacientes con LES se documentaron 19 casos de AHAI; los anticuerpos anticardiolipina y anticuerpos anti-DNA_{dc} estuvieron presentes en 89.4% de los casos.¹⁶ Los resultados de este análisis indican que los anticuerpos anti-DNA_{dc} se encontraron positivos en 19.4% (7 casos) de toda la población, de los cuales el 85.7% correspondieron al grupo de MME vs 14.3% con presencia de congestión esplénica (p=0.01); en el grupo de MME se documentó

que tres pacientes tuvieron diagnóstico clínico de LES/SAAF con anticuerpos anti-DNA_{dc} positivos durante su evolución y en el grupo de congestión esplénica no hubo casos de LES/SAAF con anticuerpos anti-DNA_{dc} ($p=0.053$, resultado no mostrado en tablas).

En un estudio retrospectivo se analizaron 44 pacientes con LES y AHAI que fueron comparados con 318 pacientes diagnosticados con LES sin presencia de AHAI, se reportó mayor prevalencia de trombocitopenia (34.1% vs 14.8% $p=0.0001$) y anti-DNA_{dc} positivos (52.3% vs 35.9% $p=0.034$) en pacientes con LES y AHAI versus pacientes con LES sin AHAI, similar a lo encontrado en este trabajo respecto al perfil inmunológico en los casos con MME.¹⁷ Observaciones similares se han descrito con la asociación de LES y síndrome de Evans en relación a la presencia de anticuerpos anti-DNA_{dc} y anticuerpos anti-cardiolipina.¹⁸

Por otra parte la presencia de anticuerpos de anti-DNA_{dc} tuvo significancia estadística siendo más frecuentes en el grupo de MME, lo cual no se había reportado previamente; varios autores han descrito la asociación de otros anticuerpos (ACL IgG/IgM, AL, inmunoglobulina IgG) como predictores de severidad en AHAI y trombocitopenia en pacientes con LES/SAAF pero no con la presencia de MME.¹⁹⁻²¹

Aún queda por definir el papel del sistema inmune en el desarrollo de MME, podemos sugerir que la presencia de anticuerpos anti-DNA_{dc} es de especial importancia en la fisiopatología de MME en pacientes con AHAI_{AC} y su asociación con trombocitopenia sin que esto afecte la severidad de hemólisis o que confiera mayor riesgo para tener LES o SAAF. Se requieren más

estudios con seguimiento a largo plazo para definir las implicaciones clínicas de MME con el desarrollo de enfermedades reumatológicas y sus manifestaciones hematológicas.

XIII. CONCLUSIONES

- Los datos reportados en este trabajo sugieren que los pacientes con presencia de MME y AHAI por anticuerpos calientes tienen un comportamiento biológico diferente a los casos sin MME; este es el primer estudio que describe las implicaciones clínicas de los hallazgos histopatológicos del bazo y su relación con autoinmunidad (específicamente anticuerpos anti-DNAc).
- Estos resultados revelan la importancia de la búsqueda intencionada de MME en pacientes con AHAI que sean sometidos a esplenectomía como segunda línea de tratamiento. La MME debe ser de interés para el clínico y no solo para el patólogo ya que su presencia confiere mayor supervivencia libre de recaída y posiblemente mayor riesgo de presentar enfermedades reumatológicas.
- Son necesarios reportes más extensos para conocer datos exactos respecto a la frecuencia de MME en AHAI_{AC} y sus implicaciones en la práctica clínica.

XIV. ABREVIATURAS

AHAI	Anemia hemolítica autoinmune
AHAI_{AC}	Anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes
AHAI_{Af}	Anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos fríos
AHAI_p	Anemia hemolítica autoinmune primaria
AHAI_s	Anemia hemolítica autoinmune secundaria
ACL	Anticuerpos anticardiopina
AGLP1	Anticuerpos anti-beta-2 glicoproteína 1
AL	Anticoagulante lúpico
ANA´S	Anticuerpos anti-nucleares
BI	Bilirrubina indirecta
BT	Bilirrubina total
CE	Congestión esplénica
DHL	Deshidrogenasa láctica
DNAdc	DNA doble cadena
GIMEMA	Gruppo Italiano Malattie EMatologiche dell´Adulto
Hb	Hemoglobina
Hto	Hematocrito
IHQ	Inmunohistoquímica
INCMNSZ	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
LES	Lupus eritematoso sistémico

LMC	Leucemia mieloide crónica
MM	Metaplasia mieloide
MME	Metaplasia mieloide esplénica
MP	Mielofibrosis primaria
No.	Número
PTT	Púrpura trombótica trombocitopénica
PV	Policitemia vera
RC	Respuesta completa
RG	Respuesta global
RP	Respuesta parcial
RR	Riesgo relativo
SR	Sin respuesta
SAAF	Síndrome anticuerpos antifosfolípidos
SHU	Síndrome hemolítico urémico
TIP	Trombocitopenia inmune primaria
VO	Vía oral
VHB	Virus de hepatitis B
VHC	Virus de hepatitis C
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana

XV. REFERENCIAS

- 1.- Kalfa TA. Warm antibody autoimmune hemolytic anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2016; 1:690-697.
- 2.- Yam LT, McMillian R, Tavassoli M, Crosby WH. Splenic hemopoiesis in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Am J Clin Pathol* 1974; 62(6): 830-7.
- 3.- Breitfeld V, Lee RE. Pathology of the spleen in hematologic disease. *Surg Clin North Am* 1975; 55(2): 233-51.
- 4.- Wolf BC, Neiman RS. Hypothesis: splenic filtration and the pathogenesis of extramedullary hematopoiesis in agnogenic myeloid metaplasia. *Hematol Pathol* 1987; 1(1): 77-80.
- 5.- O'Malley DP. Benign extramedullary myeloid proliferations. *Modern Pathology* 2007; 20: 405-15.
- 6.- World health organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC Press, 2008. pp 44–47.
- 7.- O'Malley DP, Kim YS, Perkins SL, Baldrige L, Juliar BE, Orazi A. Morphologic and immunohistochemical evaluation of splenic hematopoietic proliferations in neoplastic and benign disorders. *Modern Pathology* 2005; 18: 1550-61.
- 8.- Chang CS, Li CY, Liang YH, Cha SS. Clinical features and splenic pathologic changes in patients with autoimmune hemolytic anemia and congenital hemolytic anemia. *Mayo Clin Proc* 1993; 68(8): 757-62.

- 9.- Barcellini W, Fattizzo B, Zaninoni A, et al. Clinical heterogeneity and predictors of outcome in primary autoimmune hemolytic anemia: a GIMEMA study of 308 patients. *Blood* 2014; 124(19): 2930-36.
- 10.- Barros MM, Blajchman MA, Bordin, JO. Warm autoimmune hemolytic anemia: recent progress in understanding the immunobiology and the treatment. *Transfus Med Rev* 2010; 24(3):195-210.
- 11.- Akpek G, McAneny D, Weintraub L. Comparative response to splenectomy in Coombs-positive autoimmune hemolytic anemia with or without associated disease. *Am J Hematol* 1999; 61(2): 98-102.
- 12.- Aladjidi N, Leverger G, Leblanc T, et al. New insights into childhood autoimmune hemolytic anemia: a French national observational study of 265 children. *Haematologica* 2011; 96(5): 655-63.
- 13.- Roumier M, Loustau V, Guillaud C, et al. Characteristics and outcome of warm autoimmune hemolytic anemia in adults: new insights based on a single-center experience with 60 patients. *Am J Hematol* 2014; 89(9): E150-5.
- 14.- Crosby WH, Rappaport H. Autoimmune hemolytic anemia. Analysis of hematologic observations with particular reference to their prognostic value; a survey of 57 cases. *Blood* 1957; 12(1): 42-55.
- 15.- Rappaport H, Crosby WH. Autoimmune hemolytic anemia. Morphologic observations and clinicopathologic correlations. *Am J Pathol* 1957; 33(3): 429-57.

- 16.- Voulgarelis M, Kokori SI, Ioannidis JP, Tzioufas AG, Kyriaki D, Moutsopoulos HM. Anaemia in systemic lupus erythematosus: aetiological profile and the role of erythropoietin. *Ann Rheum Dis* 2000; 59(3): 217-22.
- 17.- Domiciano DS, Shinjo SK. Autoimmune hemolytic anemia in systemic lupus erythematosus: association with thrombocytopenia. *Clin Rheumatol* 2010; 29(12): 1427-31.
- 18.- Zhang L, Wu X, Wang L. Clinical features of systemic lupus erythematosus patients complicated with Evans syndrome: a case-control, single center study. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(15): e3279.
- 19.- Skare T, Damin R, Hofius R. Prevalence of the american college of rheumatology hematological classification criteria and associations with serological and clinical variables in 460 systemic lupus erythematosus patients. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2015; 37: 115-9.
- 20.- Sultan SM, Begum S, Isenberg DA. Prevalence, patterns of disease and outcome in patients with systemic lupus erythematosus who develop severe haematological problems. *Rheumatology (Oxford)* 2003; 42(2): 230-4.
- 21.- González-Naranjo LA, Betancur OM, Alarcón GS. Features associated with hematologic abnormalities and their impact in patients with systemic lupus erythematosus: data from a multiethnic Latin American cohort. *Semin Arthritis Rheum* 2016; 45(6): 675-83.

XVI. ANEXOS

Lista de tablas y figuras

Numero	Titulo	Página
TABLA 1	Enfermedades hematológicas benignas y malignas asociadas con MME.	5
TABLA 2	Variables.	10
FIGURA 1	Caso de MME, presentación histopatológica representativa de nuestra serie.	18
TABLA 3	Características clínicas y perfil bioquímico de pacientes con AHAI _{AC} .	19
TABLA 4	Respuestas hematológicas entre los grupos (por línea de tratamiento).	21
FIGURA 2	Supervivencia libre de evento (tiempo sin recaída).	22
TABLA 5	Perfil reumatológico en pacientes con AHAI _{AC} .	23