



**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 DR. BERNARDO SEPÚLVEDA**

**CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI**

**UTILIDAD DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO SEGÚN LAS ESCALAS OGATA Y RED EN EL  
DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME MIELODISPLÁSICO EN EL HOSPITAL DE  
ESPECIALIDADES DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI**

**TESIS QUE PRESENTA**

**DR. DIEGO ALBERTO LOZANO JARAMILLO**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD EN:**

**HEMATOLOGÍA**

**TUTORES**

**DR. CARLOS ROBERTO HERNÁNDEZ PÉREZ**

**M. EN C. LAURA RABELO CARRASCO**

**CIUDAD DE MÉXICO**

**FEBRERO 2021**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

MAESTRA

**VICTORIA MENDOZA ZUBIETA**

JEFE DE LA DIVISIÓN DE EDUCACIÓN EN SALUD  
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI

MAESTRA

**MARÍA MARGARITA CONTRERAS SERRATOS**

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE HEMATOLOGÍA

MAESTRO

**CARLOS ROBERTO HERNÁNDEZ PEREZ**

ASESOR CLÍNICO

MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE HEMATOLOGÍA

MAESTRA EN CIENCIAS

**LAURA RABELO CARRASCO**

ASESOR CLÍNICO

MAESTRA ADSCRITA AL LABORATORIO DE HEMATOLOGÍA ESPECIAL



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



**Dictamen de Aprobado**

Comité Local de Investigación en Salud **3601**.  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES Dr. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

Registro COFEPRIS **17 CI 09 015 034**  
Registro CONBIOÉTICA **CONBIOETICA 09 CEI 023 2017082**

FECHA **Lunes, 06 de julio de 2020**

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

**PRESENTE**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **Utilidad de la citometría de flujo según las escalas OGATA y RED en el diagnóstico del síndrome mielodisplásico en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional siglo XXI**, que sometió a consideración para evaluación de este Comité, 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 P R O B A D O**:

Número de Registro Institucional  
R-2020-3601-145

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

**Dr. Carlos Roberto Cuevas Garcia**  
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3601

[Imprimir](#)

**IMSS**  
SECRETARÍA DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL

## **INDICE**

Abreviaturas	5
Resumen	6
Identificación de los investigadores	7
<b>Protocolo de Investigación</b>	
Marco Teórico	9
Pregunta de investigación	17
Planteamiento del Problema	17
Justificación	17
Objetivos	18
Hipótesis	19
Material y métodos	20
Resultados	29
Discusión	36
Conclusiones	40
<b>Anexos</b>	41
<b>Bibliografía</b>	46

## ABREVIATURAS

FAB	Franco-Americano-Británico
FISH	Hibridación fluorescente in situ
CF	Citometría de flujo
IPSS-R	Índice Pronóstico Internacional Estandarizado Revisado
OMS	Organización Mundial de la Salud
SMD	Síndrome Mielodisplásico
SMD-DU	Síndrome Mielodisplásico con displasia unilinaje
SMD-DM	Síndrome Mielodisplásico con displasia multilinaje
SMD-EB 1	Síndrome Mielodisplásico con exceso de blastos tipo 1
SMD-EB 2	Síndrome Mielodisplásico con exceso de blastos tipo 2
SMD-SA	Síndrome Mielodisplásico con sideroblastos en anillo
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México

## **INVESTIGADORES**

### **Tutor:**

#### **Dr. Carlos Roberto Hernández Pérez**

Hematólogo adscrito al servicio de hematología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México.

Tel: 56276900 Ext. 21406

Correo: [drcarloshdz@hotmail.com](mailto:drcarloshdz@hotmail.com)

### **Tutor**

#### **M. en C. Laura Rabelo Carrasco**

Maestra en ciencias adscrita al laboratorio de hematología especial del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México.

Tel: 56276900 Ext. 21406

Correo: [rabelocl7@gmail.com](mailto:rabelocl7@gmail.com)

### **Alumno:**

#### **Dr. Diego Alberto Lozano Jaramillo**

Médico residente del servicio de hematología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México.

Tel: 56276900 Ext. 21406

Correo: [diego\\_loz@hotmail.com](mailto:diego_loz@hotmail.com)

## RESUMEN

### **Utilidad de la citometría de flujo según las escalas OGATA y RED en el diagnóstico del síndrome mielodisplásico en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional siglo XXI.**

Antecedentes: El síndrome mielodisplásico (SMD) es un trastorno hematopoyético que se caracteriza por la presencia de citopenias persistentes, alteraciones citogenéticas recurrentes y un riesgo incrementado de leucemia mieloide aguda. Actualmente para la citometría de flujo (CF) un estudio complementario. Para facilitar la interpretación de la CF se han realizado múltiples escalas diagnósticas basadas únicamente en el inmunofenotipo, como es la escala RED y Ogata. El uso de estas escalas a nivel mundial no se ha extendido del todo, ya que hay pocos estudios que las validen. Estas fueron implementadas por nuestro servicio en el pasado reciente, sin embargo, no se ha determinado la sensibilidad y especificidad de estas. Debido a que contamos con la prueba de CF de forma rutinaria, si la hipótesis del estudio se cumple pudiera valorarse aplicarlas en un futuro en todo paciente con sospecha de SMD primario.

Objetivo: Evaluar la sensibilidad y la especificidad de la citometría de flujo utilizando las escalas Ogata y RED, en los pacientes enviados con sospecha de síndrome mielodisplásico primario.

Material y métodos: Se revisaron de manera retrospectiva los casos enviados al laboratorio de hematología especial con sospecha de síndrome mielodisplásico, de enero 2017 a diciembre 2018, en quienes se realizó la determinación del inmunofenotipo en la muestra de médula ósea, y se haya establecido el puntaje de las escalas Ogata y RED. Se compararon los resultados entre los que pacientes con el diagnóstico final de SMD (Casos; según los criterios OMS-2016), con los que resultaron con una enfermedad distinta (Controles), determinando entonces la sensibilidad y especificidad de esta prueba para el diagnóstico de SMD. Se empleó estadística descriptiva para las variables clínicas de los pacientes en estudio y se determinó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de las dos escalas, realizando el análisis estadístico con el software SPSS 25.



Recursos e infraestructura: Recurso humano a cargo del asesor metodológico y el médico residente. Físicos en base a los datos obtenidos del expediente clínico físico o electrónico, papel y computadora. El financiamiento corrió a cargo del investigador.

Resultados y discusiones: Se incluyeron 117 pacientes en los que se realizó el análisis para las escalas Ogata y RED. La mediana de edad fue de 64 años y la de seguimiento fue de 21 meses. Se identificaron 57 casos (con SMD primario) y 60 controles (sin SMD), con una mediana de edad para los casos de 65 años y de 63 años para los controles, sin mostrar diferencia estadísticamente significativa. Con respecto a los casos, la mayoría acorde a la clasificación de la OMS era del subtipo SMD-DM con un 55% (n: 32). En cuanto a la clasificación IPSS-R, el grueso se encontraba en el tipo de riesgo bueno e intermedio con un 33% (n: 17) y 31% (n: 16), respectivamente. Obtuvimos un 49.2% de falsos positivos y 22.4% falsos negativos. Encontramos que la sensibilidad para dicha prueba fue de 77.6%, la especificidad de 50.8%, con un VPP y un VPPN de 60.8% y 69.8% respectivamente. En relación con la escala RED, se analizaron un total 57 pacientes y el 100% resultaron negativos, por lo que no fu posible determinar la utilidad diagnóstica de esta prueba.

Conclusiones: La principal utilidad diagnóstica observada del puntaje Ogata obtenido por citometría de flujo es cuando resulta negativa, con valor predictivo negativo de 70%. En los casos con pocos blastos y menor displasia es donde tiene un rendimiento diagnóstico pobre. Por lo anterior, la escala Ogata mostró una baja utilidad diagnóstica en pacientes con sospecha de síndrome mielodisplásico. La escala RED no fue útil para identificar a los pacientes con SMD primario en esta cohorte de pacientes.

## MARCO TEÓRICO

### Introducción

El síndrome mielodisplásico (SMD) se define como un trastorno clonal hematopoyético heterogéneo caracterizado por la presencia de citopenias en sangre periférica, displasia en una o más de las líneas mieloides mayores, hematopoyesis ineficaz, anormalidades genéticas recurrentes y un riesgo incrementado de desarrollar leucemia mieloide aguda<sup>1</sup>.

Las citopenias que suelen ser de moderadas a graves y el riesgo de desarrollar leucemia mieloide aguda es el problema clínico característico que lleva a los pacientes a requerir de tratamiento.

La etiología parte de la presencia de una clona (definido como un grupo de células madre hematopoyéticas que son iguales genéticamente) aberrante en la médula ósea. La clona aberrante se genera tras la presencia de un evento generalmente no identificado, que como consecuencia le genera a la célula hematopoyética previamente sana cambios genéticos y/o epigenéticos. Estos cambios le confieren ventajas en la supervivencia, expansión y además que impiden la diferenciación final hacia células sanguíneas maduras que normalmente están circulando en nuestros vasos sanguíneos<sup>2,3</sup>.

La incidencia varía acorde al grupo etario, siendo más elevada en pacientes entre 70 a 79 años y prácticamente inexistente en niños. La incidencia se estima en el primer grupo va de casi 30 por 100,000 personas e incrementa con la edad<sup>4</sup>.

En el registro mexicano de enfermedades hematológicas (REMEDEH) el cual nos proporciona el registro de enfermedades hematológicas que incluyen SMD, se realizó un estudio multicéntrico en México en 2012 en la Ciudad de México con participación de múltiples hospitales de tercer nivel donde se identificaron 329 casos, se encontró una incidencia elevada en menores de 60 años (41.9%), trombocitopenia como citopenia debutante, y presencia de Síndrome Mielodisplásico con displasia multilineaje (SMD-DM) y un mayor proporción de mujeres, todo esto distinto a lo registrado en la literatura extranjera<sup>5</sup>.

## Diagnóstico y abordaje de un paciente con Síndrome Mielodisplásico

El abordaje inicial debe realizarse para el descarte de cualquier citopenia identificada por una biometría hemática completa. Se recomienda la realización de una adecuada historia clínica, interrogando específicamente causas que orienten a alguna causa específica hematológico o no. Las pruebas iniciales incluyen biometría hemática completa, frotis de sangre periférica, perfil hepático, y aspirado de médula ósea. Algunos otros estudios que pueden resultar útiles dependiendo del contexto son Coombs directo, TSH, T3, T4, serología viral, TORCH. Por otro lado, en el aspirado de médula ósea se debe buscar intencionadamente la presencia o ausencia de displasia, porcentaje de blastos, celularidad estimada, tinción de hierro en búsqueda de sideroblastos en anillo <sup>6</sup>.

Una vez descartadas otras etiologías, la sospecha continúa con la presencia de citopenias en sangre periférica persistente por lo menos durante 4 meses <sup>7</sup>.

Para su confirmación se necesita cualquiera de la siguientes: Displasia en por lo menos 10% de las células en la línea eritroide, neutrofílica o megacariocítica en el aspirado de medula ósea,  $\geq 15\%$  de sideroblastos en anillo o  $\geq 5\%$  en presencia de la mutación *SF3B1* ambos en presencia de tinción de hierro, mieloblastos en medula ósea del 5 al 19% y anomalías típicas por cariotipo convencional o por hibridación fluorescente in situ (FISH). Sin embargo, en ocasiones el diagnóstico puede ser difícil y pese a no contar los criterios definitivos mencionados previamente la sospecha puede persistir. En dichos casos, se acepta que se puede utilizar herramientas alternativas para llegar al diagnóstico definitivo como la citometría de flujo (CF), anomalías en la biopsia de hueso o inmunohistoquímica o secuencias moleculares que determinan clonalidad <sup>6,7</sup>.

### Clasificación

Una vez confirmado el diagnóstico, es necesario determinar el pronóstico en base a los hallazgos encontrados. Se han instaurado a lo largo del tiempo múltiples clasificaciones, la primera de ellas en la década de los 70's por el grupo internacional Franco-Americano-Británico (FAB), quienes acuñaron por primera el término de síndrome mielodisplásico <sup>8</sup>. Este grupo de expertos a través del tiempo realizó varias revisiones donde se añadieron y modificaron algunos subgrupos <sup>9</sup>. La organización mundial de la salud (OMS) en su 4ta

edición propuso cambios de la clasificación previa de la FAB <sup>10</sup>, y finalmente en el 2016 lanza la clasificación que hoy día es la más ampliamente utilizada <sup>1</sup>.

La OMS actualmente clasifica de acuerdo a las características morfológicas, de laboratorio incluyendo algunas pruebas moleculares los siguientes subtipos: Síndrome Mielodisplásico con displasia unilinjaje (SMD-DU); Síndrome Mielodisplásico con sideroblastos en anillo (SMD-SA); Síndrome Mielodisplásico con displasia multilineaje (SMD-DM); Síndrome Mielodisplásico con exceso de blastos tipos 1 o 2 (SMD-EB 1, SMD-EB 2); SMD asociado a delección aislada del brazo largo del cromosoma 5 (SMD con del5q) y el SMD no-clasificado <sup>1, 11</sup>. **(Anexo 1)**

### **Citometría de flujo**

La citometría de flujo (CF) es una herramienta que ha sido implementada en múltiples padecimientos hematológicos, principalmente en el diagnóstico de leucemias agudas y crónicas <sup>12</sup>. El principio básico de la prueba es la capacidad de analizar múltiples características de una sola célula dentro de una población heterogénea en un periodo de tiempo corto. El citómetro de flujo tiene como objetivo contar y analizar la forma, tamaño y propiedades de cada una de las células que se encuentra en el fluido a estudiar, para por medio de un software y personal capacitado determinar si se trata de una enfermedad hematológica primaria (u cualquiera que sea la sospecha de envió)<sup>5</sup>. Un citómetro convencional se compone de 3 elementos básicos: Un sistema óptico, de computación y de fluidos, cada uno de ellos con funciones específicas. El proceso para análisis de manera general es el siguiente: Una vez que se realiza la preparación del líquido a estudiar (que en nuestro caso puede ser medula ósea o sangre periférica), esta se coloca en el citómetro de flujo. La máquina succiona el contenido a estudiar, lo mezcla con una solución salina que se encuentra dentro del citómetro y esto le permite llevar a la solución hacia un canal lo suficientemente estrecho de tal forma que se alinean las células, forma una fila única, donde permitirá que cada una de las células dentro del aparato pueda ser analizada individualmente. Este canal estrecho además guía a las células hacia el punto de interrogación, donde pasa perpendicularmente un láser que es aquel que nos permitirá realizar el análisis **(Imagen 1)**. Conforme cada célula pasa a través del láser se genera una dispersión en múltiples direcciones. El citómetro de flujo tiene la capacidad

de detectar la dispersión de la luz en un sentido frontal (forward scatter), que es proporcional al tamaño celular y una dispersión en sentido ortogonal (forward scatter) **(Imagen 2)**, que es proporcional a la cantidad de estructuras granulares o complejidad de la célula. Estos dos tipos de dispersiones, es identificada por un sensor ubicado a distancia de la célula, a una distancia aun mayor del láser. El sensor convierte la dispersión de la luz en un voltaje, que es directamente proporcional a la dispersión frontal. La computadora convierte esta información a un histograma, representado de manera gráfica para su mayor comprensión. La dispersión de luz ortogonal, es detectada por un sensor que se ubica perpendicular al laser. De igual forma el citómetro convierte esta dispersión de luz a voltaje y posteriormente se grafica en un histograma por el software. Al analizar la dispersión de luz frontal y ortogonal, el investigador puede determinar el tamaño, forma y complejidad de las células. Además de la dispersión, un citómetro de flujo puede detectar la luz emitida de células excitadas fluorescentes, como son anticuerpos fluorescentes. Una vez que se añade el anticuerpo unido a un fluorocromo que al ser excitado emite fluorescencia a determinada longitud de onda las cual es detectada por los diferentes filtros y detectores. Existen diferentes tipos de estos últimos de acuerdo con la longitud de onda emitida. Puede además detectar la luz de múltiples fluorocromos en la misma muestra. Un citómetro de flujo puede detectar hasta 18 colores distintos el mismo tiempo. La información recabada se muestra nuevamente en un histograma y permite al investigador analizar cada población celular de manera individualizada<sup>13, 14</sup>.

### **La citometría de flujo en el síndrome mielodisplásico**

La citometría de flujo para el diagnóstico de SMD puede ser utilizada como un co-criterio en casos que tengan citopenias periféricas persistentes, pero no exista evidencia de displasia en el frotis de medula ósea y/o alteraciones citogenéticas características <sup>15</sup>.

El fundamento detrás de la utilización de esta prueba recae en la búsqueda de displasia que no es visible al microscopio, que se define en términos de CF como la presencia de alteraciones fenotípicas <sup>16</sup>. Sin embargo, el análisis de esta prueba debe basarse en parámetros con suficiente sensibilidad y especificidad para poder ser aplicable de forma clínica <sup>17-19</sup>.

Sin embargo, la interpretación adecuada de la prueba para la identificación de estas alteraciones fenotípicas en SMD puede representar todo un reto. Algunos de los retos que detienen su uso de manera extendida como criterio mayor para el diagnóstico en SMD incluyen la necesidad de personal capacitado y con experiencia para su interpretación, disponibilidad de un citómetro de flujo de múltiples colores adecuado acorde a estándares internacionales, así como los fluorocromos necesarios (éstos últimos dos representan un gran reto para países vías de desarrollo), la ausencia de un único marcador por CF específico para SMD y la falta de homogeneidad a la hora de reportar los resultados por los distintos laboratorios.

En víspera del reto presente, en los últimos años la European LeukemiaNet y con actualizaciones recientes, ha creado un consenso que intenta plantear directrices para precisar el rol de la CF en el diagnóstico y pronóstico del síndrome mielodisplásico<sup>7</sup>. Por primera vez lo hizo en 2009<sup>20</sup>, y más recientemente 2014 nuevamente realizó una revisión del trabajo previo que incluye la descripción para estudio del linaje eritroide y mielomonocítico<sup>21</sup>.

Se concluyó entonces cuales marcadores aberrantes de acuerdo a cada comportamiento hematopoyético es necesario investigar en caso de SMD. Por ejemplo, las células CD34+ alteran sus características fenotípicas con frecuencia en el SMD, es en esta una población útil para el diagnóstico de esta enfermedad<sup>22</sup>. Las aberraciones en la línea de CD34+ que son compatibles con la sospecha de SMD incluyen: una disminución de los progenitores de células B, la co-expresión de antígenos mieloides tempranos y tardíos, un incremento de la población CD34 comprometida al linaje mielóide, la expresión anormal de CD45 y la expresión de antígenos linfoides. Además de estas alteraciones, la dispersión lateral (SSC) en la línea mielóide (concretamente granulocítica) provee una forma de evaluar la mielodisplasia en múltiples laboratorios que le permiten constancia al reportarse y al combinarse estos permite diferenciar adecuadamente de aquellos que no tienen SMD<sup>23-24</sup>.

Respecto a la evaluación de la línea eritroide, históricamente ha sido difícil de utilizarse debido a que no había sido universalmente validada. Actualmente se utilizan marcadores como CD45, CD71, CD235a, CD36, CD117 y CD105 para la identificación de

aberraciones<sup>25-27</sup>. Algunas de las aberraciones más frecuentemente encontradas en este linaje es el aumento de la cantidad de progenitores eritroides asociado con un aumento en la proporción de células eritroides inmaduras (CD117+), expresión asincrónica de CD71+ versus CD235a y una disminución de la reactividad para CD36 puede encontrarse hasta en un 70% de los pacientes<sup>28, 29</sup>. Otro marcador que promete a futuro es la detección de sideroblastos en anillo, sin embargo el anticuerpo no está comercialmente disponible<sup>30</sup>.

El análisis de la línea megacariocítica por CF representa un reto ya que en una muestra promedio existen escasas cantidades de células de este linaje para su interpretación. El consorcio actual de la European Leukemianet para la utilización de CF en SMD no recomienda el análisis de este linaje<sup>21</sup>.

### **Sistema de puntuaciones para el diagnóstico por CF del SMD**

Se han ideado a través del tiempo múltiples sistemas de puntuaciones validadas internacionalmente para facilitar el diagnóstico de SMD por la CF. Pese a que existen una gran cantidad de sistemas de puntuación la mayoría toma parámetros similares para el puntaje entre los que incluyen alteraciones en el porcentaje de células progenitoras mieloides y cuantificación de aberraciones en el linaje mielomonocítico. A su vez, en estas dos poblaciones se busca determinar la expresión de marcadores específicos de linaje y los no específicos del linaje, así como la presencia de marcadores asincrónicos. Hay sistemas de puntuación como la escala de Wells, que utiliza una gran cantidad de parámetros y otros que utilizan una menor cantidad. Independientemente de la escala a utilizar se estima que su sensibilidad y especificidad va desde 69 a 98% y 78 a 93% respectivamente<sup>31-33</sup>.

### **Puntuación OGATA**

La puntuación OGATA fue publicada por primera vez en el 2006 y tenía como objetivo examinar 13 parámetros de la CF en población de células CD34+ en aquellos pacientes con SMD del subtipo bajo grado sin sideroblastos en anillo comparado con un grupo control. Se determinaron 4 parámetros para el cálculo de la puntuación: Porcentaje de células progenitoras mieloides CD34+ entre el total de células nucleadas; porcentaje de

células progenitoras B dentro del grupo de CD34+, expresión CD45+ en progenitores mieloides comparado con su expresión en linfocitos; y la comparativa del SSC en granulocitos vs linfocitos (**Anexo 2**). Cada uno de éstos tiene valor de un punto y se concluye positivo para SMD si la puntuación final es mayor o igual a 2 <sup>31-32</sup>.

Esta escala de puntuación de originó de un estudio multicéntrico en 6 instituciones. Se estudiaron 797 pacientes con diagnóstico de SMD de bajo riesgo acorde a la clasificación del índice pronóstico internacional (IPSS). Observaron que los pacientes con SMD tenían aumentado el tamaño del clúster relacionado a mieloblastos, disminución del tamaño del clúster relacionado con células progenitoras B, expresión aberrante de CD45 y reducción de la dispersión lateral de granulocitos en comparación con el grupo de pacientes con citopenias no clonales. Por último, se identificó una sensibilidad del 69% y especificidad del 92% en la cohorte <sup>32</sup>.

Sin embargo, su uso extendido en situaciones de la vida real se limita a algunos estudios. Un grupo de estudio en Dinamarca se dio a la tarea de aplicar esta puntuación en 35 pacientes. De estos, 91% de los pacientes fueron correctamente identificados con diagnóstico de SMD por la puntuación OGATA <sup>34</sup>.

La experiencia reportada en México con la puntuación OGATA es limitada. Sin embargo, existe un estudio multicéntrico en Latinoamérica realizado por *Montauban y cols* donde validaron este sistema de puntaje en 146 pacientes y 57 controles. Los resultados fueron similares a la literatura internacional, con una sensibilidad del 75.6%, especificidad del 91.2%, valor predictivo positivo (VPP) 95.6% y valor predictivo negativo del 65.4% (VPN). Por otro lado, observaron que la sensibilidad de la prueba se elevaba en el subgrupo de pacientes con clasificación de bajo riesgo <sup>35</sup>.

En conclusión, parece ser que el score OGATA es una buena herramienta de cribaje sobre todo por su alto VPP. En base a esto, hoy día el puntaje OGATA actualmente recomendado por la European Leukemia Net Working Group para cribaje por CF en SMD <sup>21</sup>.

## **Escala RED en la detección de diseritropoyesis por citometría de flujo**



Si bien la puntuación OGATA es adecuada para la identificación de aberraciones en linaje mieloide, pero no es útil en la identificación de las alteraciones en la línea eritroide. Históricamente y hasta recientemente no existía consenso respecto a los marcadores a utilizarse para la identificación de la diseritropoyesis. Alteraciones en la expresión de CD71 (receptor de transferrina), CD36 (receptor de trombospodina) o CD235a (glicoforina-A) son algunas de las alteraciones frecuentemente encontradas y específicamente, se han enfatizado en la especificidad y consistencia de la disminución de la expresión de CD71 como marcador principal <sup>36-38</sup>.

La puntuación RED surgió como una necesidad de crear una herramienta diagnóstica sencilla que permita identificar las alteraciones en la línea eritroide por CF, de una manera consistente y reproducible. Se comparó 53 pacientes con SMD y 46 controles, resultando la escala capaz de identificar correctamente a un 80% de los pacientes. Los parámetros utilizados (**Anexo 3**) incluyen la combinación de los parámetros CD71 y CD36 y el grado de anemia, siendo positiva si es mayor o igual a 3. Al final del estudio se le combinó con la escala OGATA alcanzando una sensibilidad del 88% <sup>39</sup>.

*Serrano y cols* condujo un estudio de casos y controles con 32 pacientes con SMD y 28 controles para estimar la sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de las puntuaciones combinadas RED y OGATA. Resultó que la sensibilidad de las puntuaciones combinadas era del 62% vs 38% y 90%, para RED y OGATA respectivamente. Por otro lado, la especificidad era del 90% para las puntuaciones combinadas vs 85% para RED y 90% para OGATA. Concluyeron entonces que las puntuaciones combinadas ayudaron a incrementar la sensibilidad de la prueba <sup>40</sup>.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿Cuál es la sensibilidad y especificidad de las escalas OGATA y RED obtenidas por citometría de flujo, en el diagnóstico de síndrome mielodisplásico primario?

## **JUSTIFICACION**

El síndrome mielodisplásico (SMD) es un trastorno hematopoyético que se caracteriza por la presencia de citopenias en sangre periférica, alteraciones citogenéticas recurrentes y un riesgo incrementado de leucemia mieloide aguda. Actualmente para llegar a su diagnóstico la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que se identifique morfológicamente mielodisplasia, se tenga citopenias en sangre periférica y/o se acompañe de algún estudio citogenético alterado. La citometría de flujo (CF) es una herramienta diagnóstica ampliamente utilizada en diversas neoplasias hematológicas y se ha vuelto en algunas de ellas el estándar de oro para su diagnóstico, sin embargo en el SMD está relegada como un estudio complementario. La correcta interpretación de la CF en esta enfermedad es un reto, alcanzando una sensibilidad de hasta el 80% en manos expertas. Para facilitar su interpretación se construido múltiples escalas basadas únicamente en el inmunofenotipo de la muestra de médula ósea. Dentro de las más utilizadas se encuentra por ejemplo las puntuaciones OGATA y RED, que han sido validadas internacionalmente reportando una sensibilidad del 62% de forma combinada y por si solas de 38% y 90%, para RED y OGATA, respectivamente. A diferencia de algunas pruebas para el diagnóstico de SMD (por ejemplo cariotipo convencional) con las que no contamos de manera constante en nuestro hospital, la CF se realiza de manera rutinaria en todos los pacientes con sospecha de SMD y se encuentra estandarizada acorde al sistema EURO FLOW, por lo que es posible calcular las puntuaciones diagnósticas de forma efectiva y determinar si existen aberraciones fenotípicas.

El objetivo del estudio es evaluar la sensibilidad y especificidad de las escalas de puntuación RED y OGATA en los pacientes que fueron enviados de manera inicial con sospecha de SMD. Se propone que estas escalas tienen alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de SMD en nuestro hospital.

## **OBJETIVOS**

### General

Evaluar la sensibilidad y la especificidad de la citometría de flujo utilizando las escalas OGATA y RED, en los pacientes enviados con sospecha de síndrome mielodisplásico primario.

### Específicos

- Determinar la sensibilidad de las puntuaciones OGATA y RED en los pacientes con sospecha de síndrome mielodisplásico primario.
- Determinar la especificidad de las puntuaciones OGATA y RED en los pacientes con sospecha de síndrome mielodisplásico primario.
- Determinar el valor predictivo positivo de las puntuaciones OGATA y RED en los pacientes con síndrome mielodisplásico primario.
- Determinar el valor predictivo negativo de las puntuaciones OGATA y RED en los pacientes con un diagnóstico final diferente a síndrome mielodisplásico primario.

## **HIPÓTESIS**

### Hipótesis Principal

Los puntajes obtenidos mediante las escalas OGATA y RED por citometría de flujo pueden diagnosticar con una sensibilidad elevada a los pacientes en los que finalmente se concluyó el diagnóstico de síndrome mielodisplásico primario.

### Hipótesis secundarias

- La escala OGATA igual o mayor a 2 puntos tiene una sensibilidad para el diagnóstico de SMD primario del 75%.
- La escala OGATA igual o mayor a 2 puntos tiene una especificidad para el diagnóstico de SMD primario del 80%
- La escala RED igual o mayor a 3 puntos tiene una sensibilidad para el diagnóstico de SMD primario del 70%
- La escala RED igual o mayor a 3 puntos tiene una especificidad para el diagnóstico de SMD primario del 90%

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **Diseño del estudio**

Estudio retrospectivo de casos y controles.

### **Población de estudio**

Pacientes cuya muestra de médula ósea fue enviada al laboratorio de hematología especial del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional siglo XXI, por la sospecha de síndrome mielodisplásico primario y en la que se realizó la citometría de flujo con determinación de las escalas OGATA y RED en el periodo de enero del 2017 a diciembre del 2018.

#### **A. Criterios de Selección**

##### **1. Criterios de Inclusión**

Pacientes mayores de 18 años sin límite superior.

De cualquier género.

Con sospecha clínica de síndrome mielodisplásico primario.

Pacientes que cuenten con su expediente clínico (físico o electrónico) completo.

Que se hayan determinado por citometría de flujo de la muestra de médula ósea, los puntajes de las escalas OGATA y RED.

Se consideró CASO a un paciente en quien se concluyó el diagnóstico de síndrome mielodisplásico primario según los criterios OMS-2016 (citopenias persistentes e inexplicables, displasia significativa en la médula ósea en 1 a 3 linajes celulares y/o citogenética de la médula ósea con alteraciones cromosómicas definitorias de SMD).

Se consideró CONTROL a un paciente con sospecha inicial de síndrome mielodisplásico primario, pero que no cumplió los criterios OMS-2016 y en quien se concluyó un diagnóstico diferente a SMD.

## 2. Criterios de Exclusión

Pacientes sin expediente clínico (físico o electrónico).

Pacientes en quienes no se realizó la prueba de citometría de flujo de la médula ósea o en quienes no se determinó el puntaje de las escalas OGATA y RED.

Pacientes que no aceptaron participar en el estudio de investigación.

## 3. Criterios de Eliminación

Pacientes sin diagnóstico de certeza.

### **Tamaño de la muestra**

Considerando que la sensibilidad de la prueba para el diagnóstico de SMD primario esta reportada alrededor del 75% y que se ha reportado que hasta 20% de los controles tienen una prueba falsamente positiva, se tuvo una relación de 1 caso por cada control, con un valor de alfa de 5% y un poder del 80%, requiriendo un mínimo de 20 casos y 20 controles para obtener la validez científica de confirmar nuestra hipótesis.

### **Estrategia de Estudio**

Previa autorización por el comité local de investigación en salud y previa firma del consentimiento informado, incluimos a todo paciente que cumplió los criterios de selección, realizando la revisión de su expediente clínico y del resultado de la prueba de citometría de flujo en la médula ósea, registrando los datos demográficos y los criterios en los que se basó el diagnóstico final, así como los valores de los puntajes de las escalas OGATA y RED.

El estándar de oro para el diagnóstico de SMD primario fueron los criterios diagnósticos OMS-2016. Se analizaron los datos de los pacientes que en el expediente clínico tuvieron establecido un diagnóstico final.

Las muestras enviadas al laboratorio de Hematología especial fueron obtenidas del aspirado de médula ósea esternal y/o de la cresta iliaca posterior y enviadas para su análisis por citometría de flujo en un lapso menor a 24 horas de la toma de la muestra, con el formato de solicitud adecuado.

El estudio de las alteraciones inmunofenotípicas se realizó en el laboratorio de Hematología especial de la Unidad Médica de Alta Especialidad del Hospital de Especialidades, del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social, de la siguiente manera:

Basados en la estandarización internacional EURO FLOW, se estudiaron las alteraciones inmunofenotípicas de las poblaciones celulares de la médula ósea que incluyen la línea mieloide, eritroide y monocitode, utilizando un panel de 8 colores estandarizados. Las muestras se colocaron en tubos rotulados de manera progresiva, añadiendo 100  $\mu$ L (concentración de células de  $10^7/\mu$ L) de muestra de médula ósea, adicionando los distintos fluorocromos de acuerdo a las recomendaciones del fabricante. Posteriormente se agitaron los tubos por 10 segundos y se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente, siempre en la obscuridad total. Seguido de esto se indujo lisis de los eritrocitos con 1mL de solución de lisis diluida 1/10 en agua destilada del producto "FACSlising solution" (BDB, San Jose CA USA), y se incubó durante 10 minutos con las mismas características que la previa incubación. Posteriormente se centrifugó a 2000rpm durante 5 minutos, decantándose el sobrenadante y lavando con 2mL de PBS pH 7.4, para luego centrifugar nuevamente a 2000rpm por 5 minutos, con nueva decantación y resuspensión con 350  $\mu$ L de PBS con pH 7.5.

Para el correcto marcaje de los antígenos intracelulares, una vez se incubó el anticuerpo para el antígeno de superficie, se añadieron 100  $\mu$ L de reactivo A de la solución Intrasure (solución fijadora de formaldehído), y se incubó con la técnica previamente descrita, con posterior lisis de hematíes con 2ml de solución de lisis durante 10 minutos a temperatura ambiente, con nueva centrifugación a 2000 rpm por 5 minutos, decantándose el sobrenadante y adicionándose 50  $\mu$ L de reactivo B (solución permeabilizándote) y 10  $\mu$ L de anticuerpos para marcaje de antígeno intracelular. Se realizó una nueva incubación

durante 15 minutos a temperatura ambiente, se adicionaron 2mL de PBS pH 7.4, nueva centrifugación a 2000 rpm 5 min, nueva decantación y resuspensión con 350  $\mu$ L de PBS pH 7.4.

Una vez listas las muestras se procedió al análisis por la metodología recomendada por el grupo europeo de estudio de CF para SMD del 2016 (EuroFlow) con el equipo FACSCANTO II de 8 colores y con el Software de análisis de datos Infinicyt. Se realizó el análisis de la siguiente forma: 1) Se obtiene de manera inicial la distribución celular comparando el FSC vs SCC. 2) Una vez depurados los detritus y obteniéndose la distribución celular a estudiar, se utiliza la comparativa SCC vs CD45, que ayuda a diferenciar en grupos cada linaje de acuerdo a su grado de madurez. 3) Se utilizaron combinaciones de marcadores para analizar los distintos compartimentos (eritroide, monocitoide, granulocitos, blastos) acorde al grupo EuroFlow 2012. Las combinaciones utilizadas de anticuerpos son las siguientes:

HLADR	CD45	CD16
CD13	CD34	CD117
CD11b	CD10	CD35
CD64	IREM 2	CD14

#### OBTENCION DE LAS ESCALAS OGATA Y RED

Para la obtención de la puntuación OGATA se consideraron cuatro parámetros y cada uno de estos equivale a un punto: 1) Porcentaje total de mieloblastos en todas las células nucleadas. 2) Porcentaje total de células progenitoras linfoides B en todas las células CD34+, 3) Relación CD45 linfocito/mieloblasto y 4) La relación del canal máximo en SSC de granulocitos a linfocitos.

Para la escala RED se obtuvo el coeficiente de variación en la población de hematíes con los marcadores CD71 FITC y CD36 FITC en dos histogramas. Se realiza una



correlación entre el coeficiente de variación y la hemoglobina para determinar si cumple los criterios de displasia.

### CUADRO VARIABLES

Variable	Descripción conceptual	Descripción operacional	Tipo	Escala de medición
Caso de SMD	Trastorno clonal hematopoyético heterogéneo caracterizado por la presencia de citopenias en sangre periférica, displasia en una o más de las líneas mieloides mayores, hematopoyesis ineficaz, anomalías genéticas recurrentes y un riesgo incrementado de desarrollar leucemia mieloide aguda	Pacientes con citopenias de duración más de 3 meses en biometría hemática, con muestra de medula ósea sospechosa para SMD con presencia de más de 10% de displasia en cualquier linaje, porcentaje de blastos menor al 20% y citogenética compatible o definitiva acorde a la definición de la OMS 2016	Cualitativa dicotómica	1. Si 2. No
Control de SMD	Trastorno hematopoyético que se manifiesta con citopenias periféricas, requiere estudio de aspirado de médula ósea y citometría de flujo	Paciente con sospecha inicial de síndrome mielodisplásico primario, pero que no cumplió los criterios OMS-2016 y en quien se concluyó un diagnóstico diferente a SMD.	Cualitativa dicotómica	1. Si 2. No
Escala OGATA	Definido como el puntaje obtenido en relación al grado de displasia en la línea mieloide en un	Se obtiene el puntaje a partir de: 1) Porcentaje total de mieloblastos en	Cualitativa dicotómica	1. <2 puntos 2. ≥2 puntos

	paciente con sospecha de SMD primario analizado de una muestra de médula ósea	<p>todas las células nucleadas.</p> <p>2) Porcentaje total de células progenitoras linfoides B en todas las células CD34+</p> <p>3) Relación CD45 linfocito/mieloblasto</p> <p>4) La relación del canal máximo en SSC de granulocitos a linfocitos.</p>		
Escala RED	Puntaje que nos ayuda a definir la existencia de displasia en la línea eritroide en pacientes con sospecha de SMD primario en una muestra de médula ósea	Se obtiene el puntaje a partir de la obtención del coeficiente de variación de CD71 y CD36 con el nivel de hemoglobina	Cualitativa dicotómica	<p>1. &lt; 3 puntos</p> <p>2. ≥ 3 puntos</p>

## **ANALISIS ESTADISTICO**

Se realizó por medio de estadística descriptiva para las variables demográficas del grupo de pacientes, se describieron para los datos con distribución normal: media y desviación estándar; y para los datos con libre distribución: mediana y mínimo-máximo.

Se construyó la tabla de 2 x 2, entre los CASOS y CONTROLES en comparación con la escala OGATA < 2 puntos (NEGATIVO PARA SMD) ó ≥ 2 puntos (POSITIVO PARA SMD), para obtener la proporción de pacientes con SMD primario que tuvieron la prueba positiva (sensibilidad) y para obtener la proporción de pacientes sin SMD primario que tuvieron la prueba negativa (especificidad).

Después se calculó la proporción de pacientes con la prueba positiva que finalmente tuvieron SMD primario (valor predictivo positivo) y la proporción de pacientes con la prueba negativa que finalmente no tuvieron SMD primario (valor predictivo negativo).

Esta misma secuencia de análisis se realizó para la escala RED < 3 puntos (NEGATIVO PARA SMD) ó ≥ 3 puntos (POSITIVO PARA SMD). Se consideró estadísticamente significativo un valor de  $p < 0.05$ .

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS versión 25.

## **ASPECTOS ETICOS**

Nos apegamos a los principios definidos en la declaración de Helsinki adoptada en 1964 y validada en 2008, así como en el código de Nuremberg y en los códigos de Buenas Prácticas para la Investigación Clínica.

Este estudio de investigación se apega a la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud, considerando el presente un estudio sin riesgo, dado que únicamente se realizó la revisión del expediente clínico de cada paciente, sin tener alguna intervención directa con los individuos involucrados. Por otro lado, el manejo de la información registrada fue 100% confidencial ya que no se incluyeron nombres, ni formas de identificar al paciente en estudio, asignando un número de folio consecutivo.

Se solicitó el consentimiento informado a cada uno de los pacientes incluidos al estudio por una persona diferente al investigador principal.

La presente investigación tiene el objetivo de validar en nuestro medio una herramienta diagnóstica que en el caso de la enfermedad SMD, no ha podido ser establecida como recomendada dentro del protocolo diagnóstico, ya que en diferentes hospitales del país o extranjeros su realización no sigue un proceso de estandarización, además de considerar que en nuestro hospital no contamos con el estudio citogenético de manera regular y si es habitual disponer de la citometría de flujo.

## RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD

Se efectuó con los recursos que la institución nos provee, el centro hospitalario tiene la facilidad de realizar citometría de flujo de manera rutinaria.

Humanos
a) Médico residente b) Asesor Metodológico
Físicos
a) Computadora b) Papel c) Paquete estadístico: SPSS 25 d) Citómetro de flujo FASCANTO II de BD e) Expedientes clínicos
Financieros
a) Los gastos generados estuvieron a cargo del investigador

## RESULTADOS

Del 02 enero del 2017 al 31 diciembre del 2018 identificamos un total de 177 pacientes con la sospecha de síndrome mielodisplásico. Fueron descartados 60 pacientes por no contar con diagnóstico definitivo, tener estudios paraclínicos incompletos o si el diagnóstico final resultó otra enfermedad hematopoyética o clonal.

Finalmente se incluyeron 117 pacientes en los que se realizó el análisis para las escalas Ogata y RED. La mediana de edad fue de 64 años y la de seguimiento fue de 21 meses. Al final del seguimiento un 63% se encontraba con vida (n: 74). Respecto al aspirado de médula ósea, la mediana de celularidad fue de 40% mientras que en la biopsia de hueso esta fue del 50%. La fibrosis reticulínica detectada en la biopsia de hueso fue en la mayoría de los casos grado 0, distribuidos de la siguiente manera: grado 0 de 74% (n: 40), grado 1 en 17% (n: 9) y grado 2 en 9% (n: 5) según la escala de Thiel. Por otro lado, también hubo diferencia en el porcentaje de blastos con una mediana de 0% y 3% para el aspirado de medula ósea y citometría de flujo respectivamente. En la tabla 1 se muestran las características demográficas y clínicas de toda la cohorte.

Se identificaron 57 casos (con SMD primario) y 60 controles (sin SMD) (48% y 52% respectivamente). Las características demográficas y clínicas de los casos y controles se muestran en la tabla 2. Al analizar al grupo de controles encontramos que la mayoría de ellos correspondían a enfermedades autoinmunitarias en un 54% (n: 32), causas infecciosas en un 7% (n: 4), deficiencias de hematínicos 24% (n: 14) que incluían deficiencia de folatos, vitamina B12 o deficiencia de hierro y el resto correspondió a citopenias secundarias a enfermedades no hematológicas con un 15% (n: 9).

Respecto a los casos, la mayoría acorde a la clasificación de la OMS era del subtipo SMD-DM con un 55% (n: 32). En cuanto a la clasificación IPSS-R, el grueso se encontraba en el tipo de riesgo bueno e intermedio con un 33% (n: 17) y 31% (n: 16), respectivamente. La mediana de edad para los casos fue de 65 años y de 63 años para los controles, sin mostrar diferencia estadísticamente significativa.

La mortalidad resultó diferente siendo del 65% vs 35% para casos y controles, respectivamente ( $p= 0.007$ ). Con respecto a los hallazgos iniciales de laboratorio la mediana de hemoglobina fue de 8.3g/dl para los casos y 10.9g/dl para los controles ( $p= 0.0001$ ). El VCM de 99.7fl para casos y 89fl controles ( $p= 0.0001$ ). Otros parámetros incluyeron, reticulocitos corregidos al hematocrito 1.1% y 2.0% ( $p= 0.001$ ), leucocitos  $3.1 \times 10^9/L$  y  $4.9 \times 10^9/L$  ( $p= 0.009$ ) y neutrófilos  $1.3 \times mm^3$  y  $2.6 \times mm^3$  ( $p= 0.002$ ) para casos y controles, respectivamente. La cifra de plaquetas y lactato deshidrogenasa no mostraron diferencia entre los grupos.

<b>Tabla 1 – Características demográficas y clínicas de los pacientes con sospecha de SMD</b>	
<b>Características</b>	<b>n= 117</b>
Edad – (años)	64
Genero – (%)	
• Masculino	50
• Femenino	50
Estado actual – (%)	
• Vivo	63
• Muerto	36
Controles (sin SMD) - %	
• Autoinmunidad	54
• Infeccioso	7
• Deficiencia de hematínicos	24
• Citopenias secundarias	15
Alteraciones de laboratorio al diagnóstico – (mediana)	
• Hemoglobina – (g/dl)	9.8
• Hematocrito – (%)	29.9
• VCM – (fL)	93
• RDW – (%)	16
• Reticulocitos corregidos al hematocrito	2.0
• Leucocitos – ( $\times 10^9/L$ )	3.5
• Neutrófilos – ( $\times mm^3$ )	1.85
• Plaquetas –( $\times 10^9/L$ )	46
• Lactato deshidrogenasa – (U/l)	382
Celularidad – (%)	
• Aspirado medula ósea	40
• Biopsia	50
Blastos – (%)	
• Aspirado de medula ósea	0
• Citometría de flujo	3

Respecto a la celularidad en el aspirado de medula ósea en ambos grupos la mediana fue del 50%, mientras que en la biopsia esta fue de 40% para los casos y 50% para los controles. Se observó un aumento evidente en la displasia apreciable por el clínico en los casos en comparación con los controles para las 3 líneas: eritroide 85% vs 15% ( $p=0.0001$ ), mieloide 84% vs 16% ( $p=0.0001$ ) y megacariocítica 88% vs 12% ( $p=0.0001$ ). Respecto al porcentaje de blastos, no hubo diferencia estadística en el conteo por citometría de flujo ( $p=0.23$ ), pero si en el aspirado de medula ósea con 1.0% para los casos vs 0.0% para los controles ( $p=0.0001$ ).

El análisis por la citometría de flujo se realizó en muestras tomadas en medula ósea en un lapso menor a 24 horas de la punción, todas anticoaguladas con heparina de 5 000 U y aquellas que resultaron hemodiluidas en el momento de iniciar el análisis en el citómetro fueron descartadas. Los puntajes de las escalas por citometría de flujo fueron determinados por la citometrista Laura Rabelo Carrasco del laboratorio de hematología especial en todas las muestras del estudio, es decir, en los 117 pacientes estudiados.

La mediana del puntaje de OGATA fue de 2 puntos para toda la cohorte. En las tablas 3 y 4 se muestra la distribución de los casos y controles en relación con el puntaje obtenido con la escala de la citometría de flujo Ogata (mayor o igual de 2 puntos Positivo, menor de 2 puntos Negativo). Obtuvimos un 49.2% de falsos positivos y 22.4% falsos negativos. Encontramos que la sensibilidad para dicha prueba fue de 77.6%, la especificidad de 50.8%.

Si bien la sensibilidad y la especificidad nos dan a conocer el poder de la prueba en su uso cotidiano en el laboratorio, no reflejan su utilidad en la práctica clínica diaria. Para los clínicos a la hora de interpretar un resultado de laboratorio los valores predictivos positivos y negativos resultan de mayor utilidad. El valor predictivo positivo (VPP) nos da a conocer la probabilidad que una persona resulte si tener la enfermedad estudiada si el resultado es positivo, mientras que el valor predictivo negativo (VPN), es lo contrario, la probabilidad de no tener la enfermedad si el resultado es negativo. No podemos dejar a un lado la prevalencia de la enfermedad en relación con estos últimos valores, de tal forma que evidentemente si esta es alta, la probabilidad de que la prueba resulte positiva será también más alta, por lo contrario, si la prevalencia es baja la



**Tabla 2 – Características demográficas y clínicas en los casos con SMD y en los controles n=117**

<b>Características</b>	<b>Casos (n= 57)</b>	<b>Controles (n=60)</b>	<b>p</b>
Edad – ( <i>mediana años</i> )	65	63	0.22
Mortalidad – (%)	65	35	0.007
Alteraciones de laboratorio al diagnóstico			
• Hemoglobina – ( <i>g/dl</i> )	8.3	10.9	0.0001
• Hematocrito – (%)	26.4	36.6	0.0001
• VCM - ( <i>fL</i> )	99.7	89	0.0001
• RDW – (%)	16	15	0.16
• Reticulocitos corregidos	1.1	2.0	0.001
• Leucocitos – ( $\times 10^9/L$ )	3.1	4.9	0.009
• Neutrófilos – ( $\times mm^3$ )	1.3	2.6	0.002
• Plaquetas – ( $\times 10^9/L$ )	46	47	0.64
• Lactato deshidrogenasa –( <i>UI/l</i> )	406	356	0.038
Celularidad – (%)			
• Aspirado de médula ósea (n=86)	50	50	0.41
• Biopsia (n= 56)	40	50	0.46
Displasia en AMO – (%)			
• Eritroide	85	15	0.0001
• Mieloide	84	16	0.0001
• Megacariocítica	88	12	0.0001
Blastos			
• AMO	1.0	0.0	0.0001
• Citometría de flujo	3.5	1.0	0.23
SMD OMS 2016 – (%)			
• SMD-DU	14		
• SMD-DM	55		
• SMD-EB I	17		
• SMD-EB II	12		
• 5q menos	2		
IPSS-R – (%)			
• Muy bueno	12		
• Bueno	33		
• Intermedio	31		
• Malo	12		
• Muy malo	12		

SMD-DU: Síndrome Mielodisplásico con displasia unilínea; SMD-DM: Síndrome Mielodisplásico con displasia multilineal; SMD-EB 1: Síndrome Mielodisplásico con exceso de blastos I; SMD-EB 2: Síndrome Mielodisplásico con exceso de blastos 2; IPSS-R: Índice pronóstico internacional revisado

probabilidad que la prueba resulte negativa también será alta. A este concepto se le conoce como razón de verosimilitud o “likelihood ratio” (LR) en inglés. Cuando una prueba diagnóstica tiene un LR positivo mayor o igual 10 y el negativo es menor o igual a 0.1 su utilidad es altamente relevante, mientras que si es menor a 2 o mayor a 0.5 resulta de una mala utilidad diagnóstica. En esta cohorte de pacientes el VPP y VPN calculado fue de 60.8% y 69.8% respectivamente. Tomando en cuenta una prevalencia del 49.6%, la razón de verosimilitud positiva fue de 1.59 y la negativa de 0.43.

<b>Tabla 3 – Distribución de los casos y controles según la escala por citometría de flujo Ogata (n= 117)</b>		
OGATA	Casos	Controles
Positivo	77.6%	49.2%
Negativo	22.4%	50.8%

<b>Tabla 4 – Prueba diagnóstica escala Ogata (n= 117)</b>	
Sensibilidad	77.6%
Especificidad	50.8%
VPP	60.8%
VPN	69.8%
LR+	1.59
LR-	0.43

Se realizó el análisis de esta prueba diagnóstica, seleccionando únicamente a los casos con SMD del subtipo SMD con exceso de blastos tipo 1 y tipo 2, acorde a la clasificación OMS 2016, encontrando una sensibilidad del 88.2%, especificidad del 50.8%, VPP 34.1%, VPN 93.8%, LR positiva 1.8 y LR negativa 0.24, con una prevalencia del 22.4%. (Tabla 5).

<b>Tabla 5 – OGATA en SMD-EB 1y SMD-EB2 (n=41)</b>	
Sensibilidad	88.2%
Especificidad	50.8%
VPP	34.1%
VPN	93.8%
LR+	1.8
LR-	0.24
Prevalencia: 22.4%	

Si tomamos solo al subgrupo de pacientes clasificados acorde a la OMS como SMD-DU, SMD-DM y 5q menos encontramos una sensibilidad del 73.2%, especificidad del 50.8%, VPP 50.8%, VPN 73.2%. Con base en una prevalencia del 41% obtuvimos un LR positivo 1.49, LR negativo 0.53. (Tabla 6).

<b>Tabla 6 – OGATA en SDM-DU, SDM-DM y 5q menos (n= 17)</b>	
Sensibilidad	73.2%
Especificidad	50.8%
VPP	50.8%
VPN	73.2%
LR+	1.49
LR-	0.53
Prevalencia: 41%	

Respecto al subgrupo de casos clasificados según la escala pronóstica IPSS-R, seleccionamos a los de los grupos de riesgo muy-alto, alto e intermedio, obteniendo una sensibilidad del 82.9%, especificidad del 50.8%, VPP 50%, VPN 83.3%, LR positiva 1.69, LR negativa 0.33 y prevalencia del 37.2%. (Tabla 7).

Por último, en aquellos pacientes con IPSS-R bajo y muy bajo, la sensibilidad fue del 69%, especificidad 50.8%, VPP 40.8%, VPN 76.9%, LR positivo 1.41, LR negativo 0.61 y una prevalencia del 33%. (Tabla 8).

<b>Tabla 7 – OGATA en IPSS-R Muy alto, alto e intermedio (n=29)</b>	
Sensibilidad	82.9%
Especificidad	50.8%
VPP	50%
VPN	83.3%
LR+	1.69
LR-	0.33
Prevalencia: 37.2%	

<b>Tabla 8 – OGATA en IPSS-R bajo y muy bajo (n=23)</b>	
Sensibilidad	69%
Especificidad	50.8%
VPP	40.8%
VPN	76.9%
LR+	1.41
LR-	0.61
Prevalencia: 33%	

En relación con la escala RED, se capturaron y analizaron un total 57 pacientes. De éstos el 100% resultaron como negativos (puntaje menor a 3 puntos). Se concluyó que las muestras enviadas durante el periodo del estudio no eran óptimas para su análisis, debido a la obtención de un porcentaje considerablemente bajo de la serie eritroide, por tanto, el cálculo de dicha escala arrojó resultados poco fidedignos. Por tal motivo fue posible realizar un análisis de la utilidad diagnóstica de la escala RED en estos pacientes. Lo obtenido y analizado se muestra en la tabla 9.

<b>Tabla 9 – Distribución de los casos y controles según la escala por citometría de flujo RED (n= 57)</b>		
RED	Casos	Controles
Positivo	0	0
Negativo	100%	100%

Además del cálculo de la escala Ogata, en nuestro laboratorio se nos reporta la presencia de displasia de forma cualitativa, basados en las recomendaciones de la European Leukemia Net. Esta modalidad cualitativa analiza varios parámetros entre los que se incluyen el aumento o disminución de la estirpe celular, la presencia de aberrancias en los progenitores mieloides y monocitoides, neutrófilos maduros, monocitos, progenitores B y del compartimento eritroide. Realizamos el análisis de esta escala cualitativa para determinar su poder diagnóstico. Encontramos una sensibilidad del 87.7%, especificidad del 20.3%, VPP 51.5%, VPN 63.2%, LR positiva 1.1 y LR negativa 0.6. Los resultados se muestran en la tabla 10.

<b>Tabla 10 – Prueba diagnóstica escala cualitativa (n= 117)</b>	
Sensibilidad	87.7%
Especificidad	20.3%
VPP	51.5%
VPN	63.2%
LR+	1.1
LR-	0.6

## DISCUSION

La citometría de flujo en una muestra de médula ósea, aplicada en el diagnóstico correcto del síndrome mielodisplásico primario (SMD), sigue siendo un reto, de tal forma que en las recomendaciones de la OMS permanece solo como un co-criterio, es decir, que no es indispensable realizar este estudio para diagnosticar SMD<sup>15</sup>. La utilización de distintas escalas diagnósticas basadas en la citometría de flujo, han demostrado a lo largo del tiempo y por múltiples estudios, su valor en discriminar aquellos pacientes con citopenias distintas al Síndrome Mielodisplásico. Una de las desventajas o fallas principales de estas escalas es que no han demostrado ser muy efectivas en la correcta identificación de aquellos subgrupos de riesgo pronóstico bajo o favorable, siendo muy eficaces en aquellos pacientes de riesgo alto o desfavorable o con un elevado porcentaje de blastos<sup>23</sup>.

En nuestro estudio, presentamos la utilidad y eficacia para el diagnóstico del SMD primario de la escalas Ogata y RED, determinada en una muestra de médula ósea al momento del diagnóstico. En el laboratorio de nuestro hospital se cuenta con un citómetro de flujo de 8 colores FASCANTO II, donde se emplean los paneles recomendados y estandarizados según Euroflow, aspectos que indican la calidad de nuestra prueba de laboratorio y que no encontramos reportados en otros estudios multicéntricos donde se han utilizado metodologías distintas en cada uno de ellos. En todo momento la determinación de los puntajes fueron llevados a cabo por citometristas expertos, con amplia experiencia en la interpretación de la citometría de flujo en casos con SMD.

A pesar de lo anterior, los resultados que obtuvimos no fueron similares a los reportados previamente por otros grupos de estudio. En un estudio multicéntrico hecho en Latino América por Montauban et al, encontraron una sensibilidad del 75.6%, especificidad 91.2%, VPP 95.6%, VPN 65.4% y LHR+ 8.3 para todos los pacientes con SMD independientemente del subgrupo. Sin embargo, para el subgrupo de IPSS/R alto y muy alto el poder de la prueba aumento considerablemente con una sensibilidad cercana al 100%, esto posiblemente por el aumento de la cantidad de progenitores mieloides<sup>35</sup>. En otro estudio por Della Porta et al, los valores encontrados fueron de sensibilidad 70.1%,

especificidad 91.2%, VPP 94.2%, VPN 62.1% y LHR+ 7.9, en pacientes con IPSS de bajo riesgo y de igual forma incrementaron su capacidad diagnóstica conforme el subgrupo de riesgo aumentaba<sup>32</sup>.

Considerando las características de la población estudiada por nosotros y la reportada en esos estudios, no hay diferencias importantes, ya que en general se trató de pacientes con citopenias, con edades que rondan los 60 años y en nuestro caso, con un seguimiento adecuado con una mediana de 21 meses. Una diferencia notable, es que en el artículo original de la prueba diagnóstica reportada por Ogata et-al<sup>31</sup>, incluyeron como controles a pacientes con anemia aplásica, y en nuestro estudio se decidió excluirlos pese a contar con una buena cantidad de ellos (aproximadamente 15), siendo el motivo que al tratarse de una enfermedad clonal se pueden encontrar aberraciones que resultaría en falsos positivos. Analizando los controles de otros estudios, tenemos por ejemplo a Della porta et-al<sup>32</sup>, donde en la cohorte de estudio y validación la mediana de edad fue de 62 años, y las enfermedades más frecuentes fueron anemia asociada a la enfermedad crónica en un 18%, citopenias inmunes 22% y trombocitopenia inmune primaria en un 16%. Por otro lado, Davydova et-al<sup>41</sup>, analizo en el grupo control pacientes más jóvenes (mediana 42 años), pero las enfermedades no distaron mucho de otros estudios, siendo la más frecuente anemia aplásica y citopenias inmunes, seguido por linfomas.

La mayoría de los pacientes que utilizamos como control eran portadores de enfermedades autoinmunes y solo una minoría eran pacientes con infecciones. En estos últimos se han reportado alteraciones fenotípicas por citometría de flujo, resultando en falsos positivos, sin embargo, el número de casos empleados no fue elevado y se asemeja a otras cohortes. No hay literatura actual que confirme que los pacientes con citopenias autoinmunes o autoinmunidad tengan mayor prevalencia de aberrancias identificadas por CF.

Analizando las variables pre-analíticas como posible causa de nuestros resultados encontramos que todas las muestras de médula ósea fueron procesadas y analizadas con menos de 24 horas de haber sido obtenidas del paciente y fueron diluidas correctamente en heparina de 5000UI en una relación 3 a 1, siendo solo unas pocas de

ellas fueron consideradas hemodiluidas y no valorables, que es un factor ya conocido como causa de aberraciones. Por lo anterior, decidimos hacer un análisis en el subgrupo de pacientes en los que la muestra se esperaba hipocelular, (lo cual definimos como una celularidad menor a 30% en menores de 70 años y menor del 20% en mayores de 70 años, según el aspirado de médula ósea y la biopsia de hueso) y encontramos resultados similares. La sensibilidad fue de 79.6%, especificidad del 45.5% con el VPP y el VPN de 64.2% y 64.5%, respectivamente. Por tal motivo, y pese a que hubo discreto aumento en el VPP no podemos concluir que incluir muestras hipocelulares alteró nuestros resultados globales.

Pese a lo descrito previamente y que al final del día no encontramos grandes diferencias en las poblaciones reportadas en artículos previos, comparado con nuestros resultados, encontramos una sensibilidad, especificidad, VPP, VPN y LR tanto positivo como negativo, bajos en general, es decir, con pobre utilidad diagnóstica. En los pacientes con IPSS-R de riesgo intermedio, alto o muy alto el poder diagnóstico de la prueba se incrementó, pero no de una forma significativa.

La utilización de la escala Ogata está reportada como una forma objetiva y relativamente fácil de realizar para el citometrista, que debería permitir la correcta clasificación de pacientes con citopenias aun sin diagnóstico establecido, indicando de una forma cuantitativa la posibilidad de que se trate de un SMD primario, sin embargo, como vimos en nuestra población en un contexto de práctica clínica habitual, su utilidad diagnóstica resultó marginal. En el presente estudio, también comparamos la prueba Ogata con un análisis cualitativo, (basado en la experiencia del citometrista, que reporta la presencia o ausencia de alteraciones compatibles con mielodisplasia), encontrando que la escala cuantitativa (Escala Ogata) tuvo un mejor rendimiento diagnóstico, ya que los VPP y VPN fueron superiores considerablemente, sin embargo, la sensibilidad fue superior en la cualitativa. Por lo anterior, a la hora de tomar una decisión diagnóstica por parte del clínico, la escala Ogata es superior a la escala cualitativa de nuestro centro.

La principal limitante de nuestro estudio es sin lugar a duda que se trata de un estudio retrospectivo. Para concluir de forma definitiva la utilidad marginal de esta prueba diagnóstica, tendría que realizarse un estudio prospectivo de casos y controles donde se

realicen las mismas pruebas de exclusión de SMD en ambos grupos, por ejemplo, en nuestro estudio no todos los controles tuvieron cariotipo (pese a que el periodo de seguimiento fue adecuado para descartar SMD sobre otras causas de las citopenias). Por otro lado, no fue posible calcular la escala RED en la citometría de flujo al diagnóstico, por la baja cantidad de serie eritroide inmadura identificada en la muestra de médula ósea, resultados que hubieran reforzado nuestro análisis, ya que esta escala ha mostrado una sensibilidad y especificidad muy alta cuando se le combina con Ogata.



## **CONCLUSIONES**

La principal utilidad diagnóstica del puntaje Ogata obtenido por citometría de flujo en una muestra de médula ósea de un paciente con sospecha de síndrome mielodisplásico primario es cuando resulta negativa, es decir, que descarta con alta probabilidad el diagnóstico de SMD primario.

En los casos con citopenias moderadas, con médula ósea con pocos blastos y menor displasia, así como con un cariotipo normal, es donde la escala Ogata tiene un rendimiento diagnóstico pobre.

Por lo anterior, la escala Ogata mostró una baja utilidad diagnóstica en pacientes con sospecha de síndrome mielodisplásico primario.

La escala RED no fue útil para identificar a los pacientes con SMD primario en esta cohorte de pacientes, indicando que esta prueba se afecta en mayor medida por variables pre-analíticas y que tiene una mayor complejidad en la interpretación por el citometrista.

## ANEXO 1 - CLASIFICACION DEL SMD SEGÚN LA OMS 2016

Tipo de SMD	Número de líneas células displásicas	Numero de citopenias	Porcentaje de sideroblastos en anillo	Blastos en sangre periférica	Blastos en médula ósea	Citogenética por cariotipo convencional
SMD con displasia unilínaje	1	1-2	<15%	<1% sin bastones de Auer	<5%	Cualquiera, excepto del(5q)
SMD con displasia multilínaje	2-3	1-3	<15%	<1% sin bastones de Auer	<5%	Cualquiera, excepto del(5q)
SMD con sideroblastos en anillo						
a) Con displasia unilínaje	1	1-2	≥ 15%	<1% sin bastones de Auer	<5%	Cualquiera, excepto del(5q)
b) Con displasia multilínaje	2-3	1-3	≥ 15%	<1% sin bastones de Auer	<5%	Cualquiera, excepto del(5q)
SMD asociado a deleción aislada del(5q).	1-3	1- 2	<15%	<1% sin bastones de Auer	<5%	del(5q) por si sola o 1 anomalía adicional, excepto pérdida del cromosoma 7 o del(7q)
SMD con exceso de blastos						
• Tipo 1	1-3	1-3	Ninguno o alguno	2-4% sin bastos de Auer	5%-9%	Cualquiera
• Tipo 2	1-3	1-3	Ninguno o alguno	5-19% o bastones de Auer	10-19%	
SMD no-clasificado						
• Con 1% de blastos	1-3	1-3	Ninguno o alguno	<1% sin bastones de Auer	<5%	Cualquiera
• Con displasia unilínaje y pancitopenia	1	3	Ninguno o alguno	<1% sin bastones de Auer	<5%	Cualquiera
• Definido por anomalía citogenética	0	1-3	<15%	<1% sin bastones de Auer	<5%	Anomalía definitiva de SMD

## ANEXO 2

### ESCALA OGATA

Parámetro de citometría	Valores de referencia	Coefficiente de regresión	Puntos
Tamaño del clúster relacionado a mieloblastos (%)	$\geq 2$	2.59	1
Tamaño del clúster relacionado a progenitores B (%)	$\leq 5$	1.87	1
Relación CD45 linfocitos/Mieloblastos	$\leq 4$ o $\geq 7.5$	1.76	1
Relación SCC Granulocitos/linfocito	$\leq 6$	2.31	1

## ANEXO 3

### ESCALA RED

Parámetro RED Score	
CD71CV (%)	<80: 0 puntos $\geq 80$ : 3 puntos
CD36CV (%)	<65: 0 puntos $\geq 65$ : 2 puntos
Nivel de Hemoglobina (g/dl)	>10.5 (M) o >11.5 (H): 0 puntos $\leq 10.5$ (M) o $\leq 11.5$ (H): 2 puntos

# ANEXO 4. CONSENTIMIENTO INFORMADO



## INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLITICAS DE SALUD COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

#### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN

Nombre del estudio:

*Utilidad de la citometría de flujo según las escalas OGATA y RED en el diagnóstico del síndrome mielodisplásico en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional siglo XXI.*

Patrocinador externo (si aplica):

No aplica

Lugar y fecha:

Ciudad de México. a

Número de registro:

Justificación y objetivo del estudio:

Usted ha sido seleccionado para este estudio de investigación porque tuvo el diagnóstico de sospecha de Síndrome Mielodisplásico, enfermedad que se presenta con disminución en las células de la sangre, es decir anemia, baja de defensas (neutrófilos) y baja de plaquetas. Se le tomó previamente un aspirado de médula ósea para analizarse en el microscopio y enviar una muestra al laboratorio de hematología especial para realizar un estudio por computadora de las células llamado citometría de flujo.

El objetivo de nuestro estudio es conocer que tanto la citometría de flujo pudo decir que si tenía la enfermedad síndrome mielodisplásico de manera correcta o que tanto falló en hacerlo. Para esto utilizaremos dos mediciones, una llamada OGATA y otra RED, para saber cuál es la que mejor hace el diagnóstico de esta enfermedad.

Procedimientos:

Su participación consistirá en autorizar que hagamos la revisión de su expediente clínico y registrar las características de su caso, incluyendo el resultado de la prueba de citometría de flujo realizada a su diagnóstico. No le tomaremos muestras de sangre adicionales.

Posibles riesgos y molestias:

No hay riesgos implicados para su salud, debido a que solo revisaremos la información ya contenida en su expediente clínico.

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:

Debido a que la información analizada será de periodos anteriores, no recibirá un beneficio directo. La información obtenida durante el estudio será útil para valorar la utilidad de la prueba a futuro en otros pacientes atendidos en éste hospital.

Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:

Cuando se dé por termina la investigación y una vez analizados los resultados, es posible que se difunda la información en foros o reuniones medicas con fines estrictamente científicos, siempre manteniendo los datos de usted en confidencialidad total.

Participación o retiro:

Su participación es voluntaria en su totalidad. Usted tiene la libertad en todo momento de decidir no participar o retirarse del estudio sin repercusión alguna en las consultas médicas o tratamientos que se le ofrecen en este hospital.

Privacidad y confidencialidad:	Su información será resguardada por los investigadores, asignando un numero consecutivo a su caso, en lugar de cualquier otro dato que permita identificarle (por ejemplo su nombre o número de seguridad social). Es prioritario para los investigadores mantener la privacidad de la información que obtengamos de su expediente clínico.						
En caso de colección de material biológico (si aplica): NO APLICA							
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<p>No autoriza que se tome la muestra.</p> <p>Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.</p> <p>Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.</p>						
Disponibilidad de tratamiento médico en derechohabientes (si aplica):	NO APLICA						
Beneficios al término del estudio:	Con los resultados obtenidos, podremos determinar si la prueba de citometria de flujo es util para el diagnóstico de pacientes con síndrome mielodisplasico en el futuro.						
En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:							
Tutor:	Dr. Carlos Roberto Hernández Pérez. Tel: (55) 56276900 ext 21406, Hospital de Especialidades CMN SXXI, Servicio de Hematología, Av. Cuauhtémoc 330, 4to piso, México D.F., CP. 06700, con dirección de correo electrónico: <a href="mailto:drcarloshdz@hotmail.com">drcarloshdz@hotmail.com</a> .						
Alumno:	Dr. Diego Alberto Lozano Jaramillo Tel: (55) 56276900 ext 21406, Hospital de Especialidades CMN SXXI, Servicio de Hematología, Av. Cuauhtémoc 330, 4to piso, México D.F., CP. 06700, con dirección de correo electrónico: <a href="mailto:diego_loz@hotmail.com">diego_loz@hotmail.com</a> .						
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) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: <a href="mailto:comision.etica@imss.gob.mx">comision.etica@imss.gob.mx</a>							
<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; text-align: center;"> <hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Nombre y firma del sujeto</p> </td> <td style="width: 50%; text-align: center;"> <hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento</p> </td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding-top: 20px;">Testigo 1</td> <td style="text-align: center; padding-top: 20px;">Testigo 2</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"> <hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Nombre, dirección, relación y firma</p> </td> <td style="text-align: center;"> <hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Nombre, dirección, relación y firma</p> </td> </tr> </table>		<hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Nombre y firma del sujeto</p>	<hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento</p>	Testigo 1	Testigo 2	<hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Nombre, dirección, relación y firma</p>	<hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Nombre, dirección, relación y firma</p>
<hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Nombre y firma del sujeto</p>	<hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento</p>						
Testigo 1	Testigo 2						
<hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Nombre, dirección, relación y firma</p>	<hr style="width: 80%; margin: 0 auto;"/> <p>Nombre, dirección, relación y firma</p>						
<b>Clave: 2810-009-013</b>							

Imagen 1

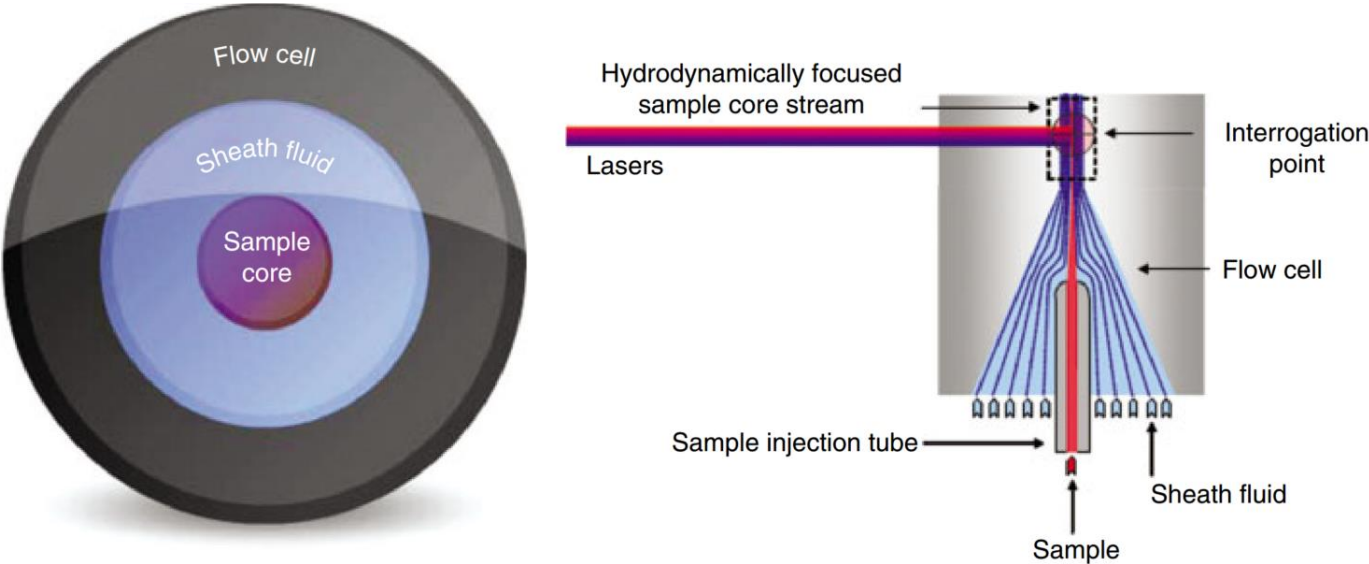
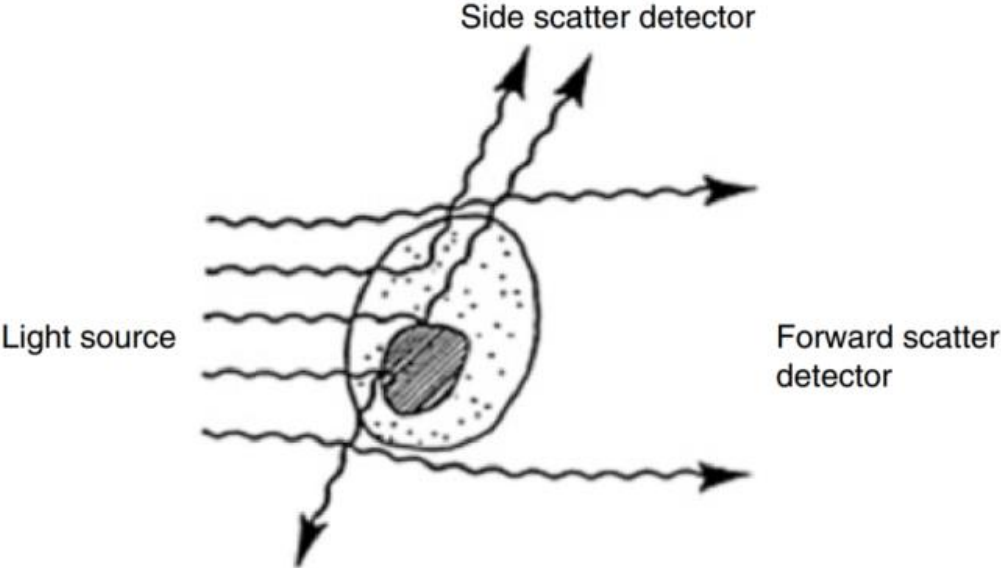


Imagen 2



## Bibliografía

1. Swerdlow SH, et al. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2017.
2. Bejar R, Levine y Ebert B. Unraveling the molecular pathophysiology of myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2011; 29(5): 504-515.
3. Greenberg P. Molecular and genetic features of myelodysplastic syndromes. *Int J Lab Hematol* 2012; 34: 215-222.
4. National Cancer Institute. SEER Cancer Statistics Review 1975-2010: Section 30- Myelodysplastic Syndromes (MDS), Chronic Myeloproliferative Disorders (CMD) and Chronic Myelomonocytiv Leukemia (CMML). 2012.
5. Registro Mexicano de enfermedad hematológicas (REMEDEH): un estudio de casos multicéntrico de casos con Síndromes mielodisplásicos (SMD) en adultos. *Rev Hematol Mex* 2014; 15: Suplemento 1.
6. National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines in Oncology. Myelodysplastic Syndromes. 2019.
7. Valent P, Orazi A, Steensma DP, et al. Proposed minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes (MDS) and potential pre-MDS conditions priority review. *Oncotarget*. 2017;8(43):73483-73500.
8. Rami S. et al. MD. Myelodysplastic Syndromes Classification and Risk Stratification. *Hematol Oncol Clin North Am* 2010; 24: 443-457.
9. Mufti J G et al. Diagnosis and classification of myelodysplastic síndrome: international Working Group on Morphology of myelodysplastic síndrome. *Haematologica* 2008; 93 (11).
10. WHO classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Introduction and overview of the classification of the myeloid neoplasm 2008; 4th Edition.
11. Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D, Adès L, Cermak J, Del-Cañizo C, et al. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European leukemianet. *Blood* 2013; 122(17): 2943-2964.

12. Gajendra S. Flowcytometry in Acute Leukemia. *Clinics in Oncology*. 2016;1.
13. Leach RM, Drummond M, Doig A. Practical flow cytometry in haematology diagnosis. Chichester, West Sussex, UK: Wiley-Blackwell; 2013.
14. Becton Dickinson Biosciences. Introduction to Flow Cytometry: A Learning Guide. 2000. San Jose: Becton Dickinson Biosciences.
15. Bento LC, Correia RP, Pitangueiras Manguiera CL, et al. The use of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: a review. *Front Oncol*. 2017;7:270
16. Thiede C, Buccisano F, Schuurhuis GJ, et al. Diagnostic utility of flow cytometry in myelodysplastic syndromes. *Front Oncol*. 2016;6(6):1613389-1614161
17. Vardiman JW. Hematopathological concepts and controversies in the diagnosis and classification of myelodysplastic syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006:199-204.
18. Westers T, Ireland R, Kern W, et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: a report from an international consortium and the European LeukemiaNet working group. *Leukemia*. 2012;26:1741.
19. Maecker HT, McCoy JP Jr, Amos M, Elliott J, Gaigalas A, Wang L, et al. A model for harmonizing flow cytometry in clinical trials. *Nat Immunol*. 2010; 11(11):975-8.
20. Van de Loosdrecht AA, Alhan C, Bene MC, Della Porta MG, Drager AM, Feuillard J, et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: report from the first European LeukemiaNet working conference on flow cytometry in myelodysplastic syndromes. *Haematologica*. 2009; 94(8): 1124-34.
21. Porwit A, Van De Loosdrecht AA, Bettelheim P, et al. Revisiting guidelines for integration of flow cytometry results in the WHO classification of myelodysplastic syndromes - proposal from the International/European LeukemiaNet working group for flow cytometry in MDS. *Leukemia*. 2014;1793-1798
22. Pellagatti A, Cazzola M, Giagounidis AA, Malcovati L, Della Porta MG, Killick S, et al. Gene expression profiles of CD34+ cells in myelodysplastic syndromes: involvement of interferon-stimulated genes and correlation to FAB subtype and karyotype. *Blood*. 2006;108(1):337-45.
23. Ogata K, Della Porta MG, Malcovati L, Picone C, Yokose N, Matsuda A, Yamashita T, Tamura H, Tsukada J, and Dan K. Diagnostic utility of flow cytometry



- in low-grade myelodysplastic syndromes: a prospective validation study. *Haematologica* 2009; 94:1066-1074.
24. Ogata K, Kishikawa Y, Satoh C, Tamura H, Dan K, Hayashi A. Diagnostic application of flow cytometric characteristics of CD34+ cells in low-grade myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2006; 108(3):1037-44.
  25. Fajtova M, Kovarikova A, Svec P, et al. Immunophenotypic profile of nucleated erythroid progenitors during maturation in regenerating bone marrow. *Leuk Lymphoma* 2013; 54:2523-30.
  26. Xu F, Wu L, He Q, et al. Immunophenotypic analysis of erythroid dysplasia and its diagnostic application in myelodysplastic syndromes. *Intern Med J* 2012; 42:401-11.
  27. Wangen JR, Eidenschink Brodersen L, Stolk TT, et al. Assessment of normal erythropoiesis by flow cytometry: important considerations for specimen preparation. *Int J Lab Hematol* 2014; 36:184-96.
  28. Malcovati L, Della Porta MG, Lunghi M, Pascutto C, Vanelli L, Travaglino E et al. Flow cytometry evaluation of erythroid and myeloid dysplasia in patients with myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 2005; 19: 776 -- 783.
  29. Lorand-Metze I, Ribeiro E, Lima CS, Batista LS, Metze K. Detection of hematopoietic maturation abnormalities by flow cytometry in myelodysplastic syndromes and its utility for the differential diagnosis with non-clonal disorders. *Leuk Res* 2007; 31: 147 – 15
  30. Moulding DA, Hart CA, Edwards SW. Regulation of neutrophil FcγRIIIb (CD16) surface expression following delayed apoptosis in response to GM-CSF and sodium butyrate. *J Leukoc Biol* 1999; 65: 875 – 882
  31. Ogata K, Kishikawa Y, Satoh C, Tamura H, Dan K, Hayashi A. Diagnostic application of flow cytometric characteristics of CD34 + cells in low-grade myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2006;108(3):1037-1044.
  32. Della Porta MG, Picone C, Pascutto C, et al. Multicenter validation of a reproducible flow cytometric score for the diagnosis of low-grade myelodysplastic syndromes: results of a European LeukemiaNET study. *Haematologica*. 2012;97(8):1209-2117\

33. Van de Loosdrecht AA, Ireland R, Kern W, et al. Rationale for the clinical application of flow cytometry in patients with myelodysplastic syndromes: position paper of an international consortium and the European LeukemiaNet working group. *Leuk Lymphoma* 2013; 54:472-5.
34. Matzen SMH, Raaschou-Jensen KK, Kallenbach K. Implementation of the Ogata flow cytometric scoring system in routine diagnostics of myelodysplastic syndrome. *Health Science Reports*. 2018;1(11).
35. Montauban SG, Hernandez-Perez CR, Velloso EDRP. Flow cytometry “Ogata score” for the diagnosis of myelodysplastic syndromes in a real-life setting. A Latin American experience. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2019Apr;41:536–41.
36. Della Porta MG, Malcovati L, Invernizzi R, Travaglino E, Pascutto C, Maffioli M et al. Flow cytometry evaluation of erythroid dysplasia in patients with myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 2006; 20: 549–555.
37. Xu F, Wu L, He Q, Zhang Z, Chang C, Li X. Immunophenotypic analysis of erythroid dysplasia and its diagnostic application in myelodysplastic syndromes. *Intern Med J* 2012; 42: 401–411.
38. Chopra A, Pati H, Mahapatra M, Mishra P, Seth T, Kumar S et al. Flow cytometry in myelodysplastic syndrome: analysis of diagnostic utility using maturation pattern-based and quantitative approaches. *Ann Hematol* 2012; 91: 1351–1362.
39. Mathis S, Chapuis N, Debord C, et al. Flow cytometric detection of dyserythropoiesis: a sensitive and powerful diagnostic tool for myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 2013;27:1981-7
40. Serrano JCC, Velez G, Varon CR. Evaluation of Ogata, Red and Combined Score of Flow Cytometry in the Study of Myelodysplastic Syndrome. *Blood*. 2019;134(Supplement\_1):5435–.
41. Davydova YO, Parovichnikova EN, Galtseva IV, Kokhno AV, Dvirnyk VN, Kovrigina AM, et al. Diagnostic significance of flow cytometry scales in diagnostics of myelodysplastic syndromes. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. 2020;