



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO
“DR. EDUARDO LICEAGA”

“Asociación entre factores pronósticos al diagnóstico, sobre la proporción de respuestas globales al tratamiento con ciclosporina y eltrombopag en pacientes de anemia aplásica.”

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN HEMATOLOGÍA**

**PRESENTA
Carrillo Rocha Diana Laura.**

**ASESOR DE TESIS
Dr. Martínez Murillo Carlos.
COTUTORES**

**Dr. Martínez Tovar Adolfo.
Dra. Olarte Carrillo Irma.
Dr. Christian Ramos Peñafiel.
Médicos Adscritos al servicio de Hematología.**

Facultad de Medicina



Ciudad Universitaria, Ciudad de México, 2024



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.

Ciudad Universitaria, Ciudad de México, 2024

Agradecimientos

A Dios, por ser el motor de vida y por darme fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados en mi vida.

A mi familia, por brindarme paciencia, comprensión, y amor en este viaje académico.

A mis maestros, Dr. Christian, Dr. Murillo, Dr. Adolfo, Dra. Irma, Dr. Adán por brindarme paciencia y por guiarme día a día a ser mejor persona y profesionalista, a todos mis maestros del Hospital General de México mis agradecimientos por ser personas con gran calidad humana, y compartir sus conocimientos día a día.

Abreviaturas.

AA	Anemia Aplásica.
MO	Medula ósea
CF	Citometría de flujo
TCPH	Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.
hTERT	Transcriptasa inversa de la telomerasa humana.
HPN	Hemoglobinuria paroxística nocturna.
MLPA	Amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples
RNA_m	Ácido ribonucleico mensajero.
DNA	Ácido desoxirribonucleico.
RNP	Ribonucleoproteína.
HLA	Antígeno leucocitario humano.
VIH	Virus de la inmunodeficiencia humana.
RT	Transcriptasa inversa.
JAMA	Journal of the American Medical Association.

Oficio No.: DECS/UPO-2390-2024
Num. Ident. Protocolo: (1541-072/24)

Ciudad de México a 21 de junio del 2024

Dra. Diana Laura Carrillo Rocha

Servicio de Hematología
PRESENTE

Hacemos de su conocimiento que con esta fecha el Comité de Evaluación de Protocolos de Investigación de Médicos Residentes dictaminó la última versión de su Protocolo Titulado:
Asociación entre factores pronósticos al diagnóstico, sobre la proporción de respuestas globales al tratamiento con ciclosporina y eltrombopag en pacientes de anemia aplásica.
como:

APROBADO (con cambios sugeridos)

En caso de que su protocolo tenga el dictamen de aprobado cuenta con el siguiente número de registro:

DECS/UPO-CT-2390-2024

En el caso de que su protocolo tenga dictamen de **CONDICIONADO A CORRECCIONES**, éste **NO** cuenta con número de registro y debe realizar las correcciones que se enlistan en los puntos que integran la tabla adjunta a este documento para su consideración y en su caso, aprobación definitiva y asignación de número de registro. Si su protocolo tiene dictamen de **RECHAZADO**, este ya no podrá ser evaluado por este comité y no se le asignará ningún número de registro.

Deberá entregar la respuesta a las **CORRECCIONES** en un tiempo de 15 a 30 días **vía correo electrónico**, a partir de la fecha de este oficio. Cabe mencionar que de no entregarlo como se indica, no será revisado por el **Comité de Evaluación de Protocolos de Investigación de Médicos Residentes** y su protocolo será cancelado.

Si su protocolo tiene dictamen de **APROBADO**, haga caso omiso de las indicaciones anteriores, ya que el mismo cuenta con número de registro. Así mismo deberá entregar por escrito el avance del protocolo cada **3 meses** a partir de la fecha en que fue aprobado y hasta obtener resultado de acuerdo con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, de la Secretaría de Salud. **De no presentar los avances o resultados del proyecto, la Dirección de Educación y Capacitación en Salud se reserva el derecho de cancelar el registro del protocolo hasta la entrega de los mismos.**

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE


Dra. Rocío Natalia Gómez López
Presidenta del Comité

Ccp.- Acuse
ccgr

Índice

Resumen estructurado	Error! Bookmark not defined.
2. Planteamiento del Problema	Error! Bookmark not defined.
3. Justificación	Error! Bookmark not defined.
4. Hipótesis	Error! Bookmark not defined.
5. Objetivo general.....	Error! Bookmark not defined.
5.1 Objetivos específicos.....	Error! Bookmark not defined.
6.1 Diseño de estudio.....	Error! Bookmark not defined.
6.2 Población y tamaño de la muestra.....	Error! Bookmark not defined.
6.3 Criterios de selección	Error! Bookmark not defined.
6.3.1 Criterios de inclusión.....	Error! Bookmark not defined.
6.3.2 Criterios de exclusión.....	Error! Bookmark not defined.
6.4 Operacionalización de las variables a evaluar y forma de medirla	Error! Bookmark not defined.
6.5 Procedimiento	Error! Bookmark not defined.
6.7 Análisis estadístico	Error! Bookmark not defined.
7. Aspectos éticos y de bioseguridad.....	Error! Bookmark not defined.
8. Resultados	Error! Bookmark not defined.
9. Discusión	Error! Bookmark not defined.
10. Referencias Bibliográficas.....	Error! Bookmark not defined.
11. Anexos.....	Error! Bookmark not defined.

Resumen estructurado

Antecedentes: La anemia aplásica es una enfermedad rara, potencialmente mortal, que se debe a un trastorno hematopoyético inmunomeditado caracterizado por pancitopenia y médula ósea hipocelular y característicamente existe un reemplazo por tejido adiposo. El tratamiento de primera línea y si el paciente es candidato está basado en trasplante de células madre hematopoyéticas, y en aquellos no candidatos, el tratamiento se basa en la terapia inmunosupresora y trombopoyética, aunque la respuesta al tratamiento varía considerablemente entre los pacientes se necesita una mejor comprensión de los factores pronósticos al diagnóstico que puedan influir en la respuesta al tratamiento.

Objetivo: Evaluar la asociación entre factores pronósticos al diagnóstico y la proporción de respuestas globales al tratamiento con ciclosporina y eltrombopag en pacientes con anemia aplásica.

Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo, observacional y analítico, en donde se analizaron 22 registros clínicos de pacientes con diagnóstico confirmado por biopsia de hueso de anemia aplásica, se evaluó la asociación que existe entre todas las variables (demográficas, bioquímicas, moleculares, y marcadores por citometría de flujo) como factores pronósticos y su impacto en las respuestas al tratamiento.

Resultados: Los resultados mostraron que de los 22 pacientes con A.A. el 27.2% (n=6) presentaron una clasificación no grave, el 54.5% (n=12) presentó una clasificación grave y solo el 18.3% (n=4) presentó una clasificación muy grave. Solo en 13.6% (n=3) de los casos, presentaban clonas de HPN por citometría de flujo. Los parámetros bioquímicos no impactaron antes o después del tratamiento. Los resultados de la expresión del RNAm del gen hTERT en los 22 fue ausente. Al evaluar la ganancia o pérdida del DNA de los 16 exones por medio de la técnica molecular de MLPA los resultados mostraron que el 46% (6/13) tuvieron alguna deleción en algún exón. La respuesta al tratamiento fue nula en el 40.9% (n=9), el 22.7% (n=5) fue parcial y el 36.4% (n=8) fue completa. La mediana de seguimiento fue de 12 meses (rango

6 – 30 meses). Finalmente, se realizó un análisis de correlación y de Odds Ratio para comprobar el efecto de diferentes variables clínicas sobre la respuesta en los pacientes con anemia aplásica, sin embargo, ninguna variable mostró un efecto significativo sobre la respuesta al tratamiento.

CONCLUSIONES: En nuestro estudio no se encontró asociación estadística de todos los parámetros en conjunto, si encontramos información valiosa al fusionar dos parámetros como citometría de flujo y la expresión del gen hTERT asociados en la respuesta nula o parcial, se deberán evaluar en futuros estudios los factores que pudieran condicionar la efectividad del tratamiento con mayor número de pacientes. Sin embargo, en la medicina personalizada es necesario evaluar cada alteración de manera individual lo que se podría tener resultados más precisos en la toma de decisiones terapéuticas.

PALABRAS CLAVE: anemia aplásica, factores pronósticos, respuesta al tratamiento, MLPA, hTERT, expresión del RNAm.

Introducción.

La anemia aplásica es una enfermedad rara, potencialmente mortal, que se debe a un trastorno hematopoyético inmunomeditado caracterizado por pancitopenia y médula ósea hipocelular y característicamente existe un reemplazo por tejido adiposo. El tratamiento de primera línea y si el paciente es candidato está basado en trasplante de células madre hematopoyéticas, y en aquellos no candidatos, el tratamiento se basa en la terapia inmunosupresora y trombopoyética, aunque la respuesta al tratamiento varía considerablemente entre los pacientes se necesita una mejor comprensión de los factores pronósticos al diagnóstico que puedan influir en la respuesta al tratamiento.

1.1 Definición.

La anemia aplásica es una enfermedad una enfermedad poco frecuente caracterizada por presentar pancitopenia asociada a una médula ósea hipocelular persistente en ausencia de signos displásicos y fibrosis medular. Se requiere la participación de al menos dos linajes en células de sangre periférica para confirmar diagnóstico. Los valores deben ser inferiores a <10 gr/dl para hemoglobina, inferiores a $1,5 \times 10^9/L$ para neutrófilos e inferiores a $50 \times 10^9/L$ para plaquetas¹.

1.2 Epidemiología

La anemia aplásica es una enfermedad rara con una incidencia de aproximadamente dos a tres casos por millón por año a nivel mundial, pero puede ser tres veces mayor en las poblaciones asiáticas.^{2,3}

Presenta un predominio en el sexo masculino en una relación 1:1.5, es una enfermedad de los jóvenes y típicamente ocurre en las primeras tres décadas de la vida con una edad promedio de alrededor de 20 años, aunque un segundo pico ocurre alrededor de los 60 años⁴.

1.3 Etiología

La mayoría de los pacientes no tienen una causa subyacente identificada y se clasifican como idiopáticos, pero la mayoría de los pacientes con Anemia aplásica parecen tener un componente de destrucción autoinmune de las células madre hematopoyéticas. Se describen las diferentes etiologías relacionadas con anemia aplásica^{5,6}. Tabla 1.

TABLA 1 ETIOLOGIA DE LA ANEMIA APLASICA.

Drogas citotóxicas y radiación	Químicos
Tratamiento de cáncer	Benceno
Medicamentos	Solventes
Anticomociales:	Vapores del pegamento
Carbamazepina, fenitoína	Infecciones virales
Antibióticos:	Virus de Epstein-Barr
Sulfonamidas, cloranfenicol	Virus hepatotropos
AINE's: Indometacina, fenilbutazona	VIH
Antitiroideos: Propiltiuracilo, Tiamazol	Otros Herpes virus
Oro, Derivados del arsénico	
Quimioterapéuticos	

1.4 Fisiopatología

Se han propuesto varias vías fisiopatológicas para explicar la naturaleza patológica de la enfermedad, pero se supone que la mayor proporción de casos es resultado de autoinmunidad uniforme mediada por células T y destrucción de la médula que conduce a una hematopoyesis defectuosa y casi ausente. El interferón gamma, otras citoquinas (por ejemplo, IL-17), células

asesinas naturales y autoanticuerpos también han sido implicados en la destrucción inmune de las células madre hematopoyéticas^{7,8}. Figura 1.

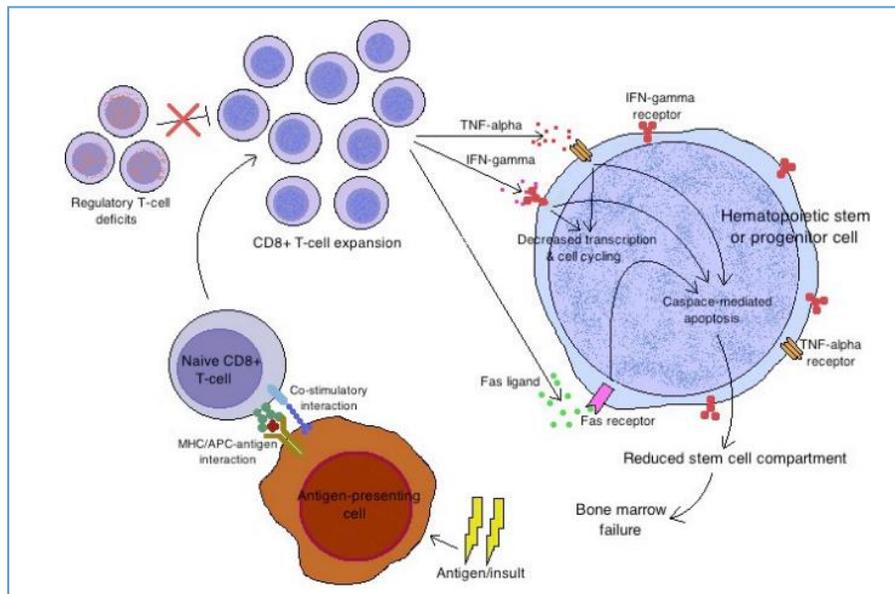


FIGURA 1. MECANISMO INMUNOPATOGENICO DE LA APOPTOSIS DE CÉLULAS MADRE O PROGENITORAS HEMATOPOYÉTICAS EN LA MÉDULA ÓSEA DE ANEMIA APLÁSICA. IMAGEN TOMADA EUR J HAEMATOL. 2018;101(6):711–20.

1.5 Cuadro clínico.

El paciente con Anemia aplásica presenta con mayor frecuencia infecciones recurrentes debido a neutropenia, hemorragia mucosa o menorragia debido a trombocitopenia, o fatiga y hallazgos cardiopulmonares asociados con anemia progresiva. Las infecciones suelen ser bacterianas e incluyen sepsis, neumonía, infecciones de la piel (celulitis, abscesos) e infecciones del tracto urinario; La infección fúngica invasiva es una causa común de muerte, especialmente en sujetos con neutropenia prolongada y grave⁹.

Otros pacientes (en su mayoría niños) tienen manifestaciones somáticas asociadas con síndromes hereditarios específicos (p. ej., baja estatura, microcefalia, retraso en el desarrollo,

lesiones en la piel y las uñas). Sin embargo, algunos adultos con anemia aplásica también pueden manifestar anomalías somáticas características (p. ej., distrofia ungueal asociada con disqueratosis congénita) debido a un trastorno hereditario no reconocido previamente⁹.

1.6 Diagnóstico.

El diagnóstico de Anemia aplásica se basa en la exclusión de otros trastornos que pueden causar pancitopenia, es obligatoria una biopsia de médula ósea con hallazgo de ser hipocelular (<25%), con células grasas y el estroma fibrótico reemplazan el tejido normal de la médula ósea. Deben descartarse causas secundarias^{9,10}. Figura 2.

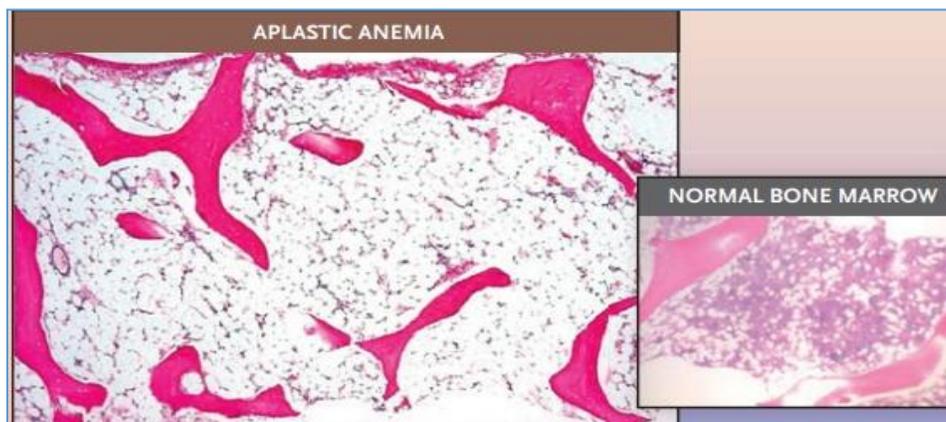


FIGURA 2. LA SUSTITUCIÓN DE LAS CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS POR GRASA ES LA CARACTERÍSTICA PATOLÓGICA DISTINTIVA DE LA ANEMIA APLÁSICA. IMAGEN TOMADA DEL N ENGL J MED. 2018;379(17):1643–56

1.7 Clasificación

Camitta en 1982 hizo la descripción de los criterios de severidad, los cuales se encuentran vigentes hasta la actualidad dividiéndolo en tres grupos de acuerdo con la profundidad de las citopenias, cumpliendo todos con el criterio de una celularidad en médula ósea menor al 25%. Tabla 2. Los criterios de Camitta correlacionan con la supervivencia de los pacientes, aquellos

pacientes clasificados como anemia aplásica no grave tienen una supervivencia a los 24 meses superior al 80%, aquellos con anemia aplásica es superior al 60% y por otra parte los clasificados como muy grave su supervivencia de alrededor del 50%¹⁰.

Tabla 2. Criterios de Camitta

Anemia aplásica grave

- Celularidad de la médula ósea <25%
- Al menos dos de los siguientes
 - Recuento absoluto de neutrófilos (ANC) en sangre periférica (SP) <500/microL
 - Recuento de plaquetas en SP <20,000/microL

Anemia aplásica muy grave

- Recuento de reticulocitos en SP <20,000/microL
- Criterios de AA grave

Anemia aplásica no grave

- ANC menor a 200/microL
- Médula ósea <25%
- No cumple criterios de grave o muy grave

1.8 Factores pronósticos involucrado en la respuesta al tratamiento.

Se ha informado sobre los esfuerzos para identificar marcadores prácticos y sólidos capaces de predecir los resultados después de la terapia inmunosupresora y la adición de agentes trombopoyéticos, estos marcadores pueden proporcionar potencialmente información adicional para la toma de decisiones clínicas¹¹.

1.8.1 Factores socio-demográficos.

La edad es un predictor de los resultados de la terapia inmunosupresora y agonista trombopoyético, en general la tasa de respuesta es mayor en niños que en pacientes mayores, según se informa los pacientes pediátricos tienen una tasa de respuesta de aproximadamente 70 a 80%, pacientes adultos jóvenes entre 60-70% y pacientes adultos de 40-50 años de edad entre 50-60% (10). Se ha identificado que los hombres muestran mejores tasas de respuesta que las mujeres, esta relación se ha observado en estudios Europeos, en la que una cohorte de pacientes mujeres demostró un retraso en la recuperación de la función de la médula ósea después de la terapia inmunosupresora¹¹.

1.8.2 Factores bioquímicos.

Varios estudios han demostrado que las variables bioquímicas previas al tratamiento se correlacionan con una buena respuesta a la terapia inmunosupresora, se ha observado que el recuento absoluto de reticulocitos y el recuento absoluto de linfocitos predicen la respuesta y la supervivencia en pacientes con anemia aplásica severa tratados con inmunosupresión, cuando se combinaron los dos parámetros predictivos de recuentos absoluto de reticulocitos, el recuento absoluto de linfocitos, los pacientes con recuentos absolutos de neutrófilos y recuentos absoluto de reticulocitos iniciales más altos tuvieron una tasa de respuesta un 40% mayor que aquellos con conteos más bajos. Un recuento absoluto de neutrófilos más alto parece estar correlacionado con una mejor respuesta a la terapia inmunosupresora y trombopoyética¹².

Así mismo se ha reportado sobre el valor pronóstico del ancho de distribución de los glóbulos rojos, como factor pronóstico en pacientes con anemia aplásica tratados con ciclosporina más andrógenos, ya que el ancho de distribución eritrocitaria elevado en el momento del diagnóstico estaba estrechamente asociado con el pronóstico en pacientes con anemia aplásica. La supervivencia global a 5 años en la supervivencia libre de progresión 5 años con niveles altos del ancho de distribución eritrocitaria fueron superiores a las del grupo con niveles

normales del ancho de distribución eritrocitaria en pacientes con anemia aplásica tratados con terapia inmunosupresora^{13,14}.

1.8.3 Factores moleculares.

Los telómeros son estructuras de nucleoproteínas compuestas de repeticiones de DNA en tándem (TTAGGG)ⁿ, de longitud promedio de ~10 kb en humanos y un complejo proteico Shelterin de seis miembros conocido como de protección. Los telómeros son elementos estructurales que sellan los extremos de los cromosomas, protegiéndolos de la recombinación, la fusión de un extremo a otro y el reconocimiento como ADN dañado¹⁵. Figura 3.

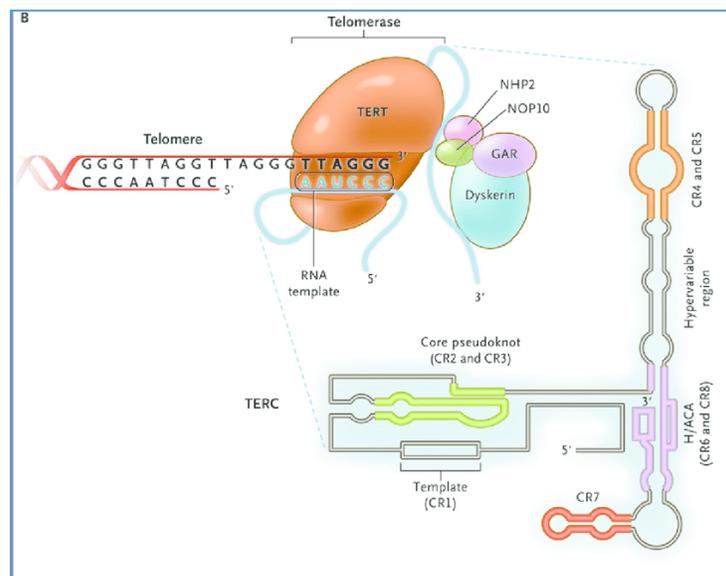


FIGURA 3. SE MUESTRA LA HOLOENZIMA hTERT Y LA RNA TERC Y COMO SE UNE A LA REGIÓN DEL TELÓMERO CON EL COMPLEJO DE PROTEÍNAS QUE PROTEGEN ESTA REGIÓN. IMAGEN TOMADA BIOMEDICINES. 2021 MAY;9(5):526.

La telomerasa es una ribonucleoproteína (RNP) formada por un dímero central que consta de un componente proteico de transcriptasa inversa (RT) (hTERT) y un componente de RNA (TERC) que sirve como plantilla para la síntesis de DNA dependiente de RNA. generalmente una reducción del 50% en la expresión de dicha enzima está relacionada con una reducción parcial de su actividad y es suficiente para alterar el mantenimiento de los telómeros¹⁶.

Existen varios estudios donde se correlaciona alteraciones moleculares con el pronóstico en pacientes portadores de anemia aplásica, se ha observado que una expresión reducida de la enzima hTERT se correlaciona con mayor gravedad de la anemia aplásica, mayor riesgo de recaída, y menor supervivencia general, así como riesgo de evolución clonal (mediante la adquisición de nuevas aberraciones citogenéticas)¹⁷.

1.8.4 Marcadores por citometría de flujo.

En un estudio reciente, se encontró una correlación entre un aumento en la proporción de células tipo HPN y una respuesta favorable a la terapia inmunosupresora en pacientes con Anemia Aplásica, se demostró que una población menor de células tipo HPN predice una buena respuesta a la terapia inmunosupresora, así como un buen pronóstico para los pacientes con anemia aplásica después de la terapia inmunosupresora.^{18,19}.

1.9 Tipos de tratamiento

Existen dos opciones de tratamiento, el Trasplante de células progenitoras (TCPH), y la terapia inmunosupresora (globulina antilinfocito y ciclosporina).^{20,21}.

Se ha documentado que solo el 30% de los pacientes con anemia aplásica contarán con donador compatible, por tal motivo se estudió la eficacia de tratamiento inmunosupresor el cual cuenta con una tasa de respuesta del 71% y una probabilidad de sobrevivida a 4 años de 90%. Se ha encontrado altas tasas de sobrevivida a largo tiempo en pacientes con TCPH HLA idéntico

de donador familiar hasta 90% en niños y 80% en adolescentes, disminuye a 50% en pacientes mayores, especialmente mayores de 40 años^{22,23}.

La adición de agentes trombomiméticos como eltrombopag a la terapia inmunosupresora, descrita como terapia triple inmunosupresora, ha mostrado un incremento en las tasas de respuestas tanto completas como parciales en un 88% a seis meses y un 40% a dos años de seguimiento, en algunos pacientes representando una terapia puente al TCPH^{24,25}.

1.9.1 Ciclosporina

La ciclosporina ejerce efecto inhibitorio sobre linfocitos T e inhibe la transcripción de interleucina 2 e interferón²⁶. En un estudio europeo en 1989 se encontró que la ciclosporina presentó efectividad como tratamiento para pacientes con falla medular grave previamente tratados con terapia inmunosupresora (timoglobulina y altas dosis de metilprednisolona). En estudio se otorgó ciclosporina vía oral manteniendo niveles de 200 a 300ng/ml, se observó una disminución en la tasa de recaídas con mejoría de las tasas de supervivencia, se encontró que la ciclosporina era una opción para pacientes que no eran candidatos a inmunosupresión vigorosa o a trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.^{26,27}

1.9.2 Eltrombopag

Es un agonista del receptor de trombopoyetina, inicialmente mostró eficacia en pacientes con anemia aplásica que mostraban refractariedad a la terapia inmunosupresora habitual, Peffault de Latour, R y colaboradores en su estudio publicado en la revista NEJM, mostró que eltrombopag en combinación con timoglobulina de caballo en conjunto con ciclosporina presentaba mayor eficacia en pacientes con anemia aplásica grave o muy grave utilizado como terapia inicial.^{28,29}

1.9.3. Descripción de los fármacos de la terapia inmunosupresora Inmunoglobulina.

En las décadas de 1980 y 1990 la mayoría de los estudios formales sobre la eficacia del tratamiento en pacientes con anemia aplásica grave con globulina antilinfocito de caballo, observaron respuestas hematológicas tanto parciales y completas, en aproximadamente dos tercios de los casos, produjo una tasa de respuesta del 60-65%³⁰.

La globulina antilinfocito tiene efecto depletor sobre los linfocitos T, tanto en el injerto como en el huésped en TCPH, tiene varias indicaciones como la prevención o tratamiento de rescate en el rechazo agudo en trasplante de órganos sólidos, acondicionamiento para trasplante alogénico de células hematopoyéticas, enfermedad injerta contra huésped, tratamiento de anemia aplásica y otros padecimientos autoinmunes.

Como mecanismos de acción se incluyen la modulación de moléculas de superficie de adhesión y la expresión de receptores de citocinas, así mismo puede interferir con la función de linfocitos B, linfocitos T reguladores, linfocitos T citotóxicos y células dendríticas.³¹

1.8 Respuesta a tratamiento

En un estudio europeo de publicado en la revista de la Asociación Americana de Medicina (JAMA) en 2003 la respuesta se definió en aquel paciente que no presente citopenias, la ausencia de transfusiones y ausencia de administración de factor estimulante de colonias de granulocitos.¹⁹ Esto se relacionó de manera importante a la supervivencia a un año y la recaída se consideró como la restitución de terapia inmunosupresora.³²

En Japón en un estudio multicéntrico en 2011 donde participaron 79 hospitales, se analizó el tipo de respuesta de pacientes con anemia aplásica que recibieron terapia inmunosupresora con ciclosporina. En aquellos pacientes con anemia aplásica grave o muy grave se definió como respuesta completa, un recuento de neutrófilos mayor a $1.5 \times 10^9/L$, recuento plaquetario mayor a $100 \times 10^9/L$, niveles de hemoglobina mayores a 8 g/dL y que el paciente no requiriera transfusión de hemocomponentes. Una respuesta parcial se considera el recuento de neutrófilos mayor a $0.5 \times 10^9/L$, recuento plaquetario mayor $20 \times 10^9/L$ y niveles de hemoglobina

mayor a 8.0 g/dL, y sin requerimientos transfusionales. En la clasificación de anemia aplásica no grave, se considera una respuesta ~~parcial~~ cuando los neutrófilos son mayores a $1.0 \times 10^10/L$, recuento plaquetario mayor a $30 \times 10^9/L$, niveles de hemoglobina mayor a 8.0g/dL, y que el paciente no requiera transfusiones³³. Tabla 3.

TABLA 3 TIPO DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO EN PACIENTES CON ANEMIA APLÁSICA.

Respuesta completa (CR)
<ul style="list-style-type: none"> • Recuento absoluto de neutrófilos $>1.500/\mu L$ • Recuento de plaquetas $>150,000/\mu L$ • Hemoglobina arriba de 12g/dL • Independencia de la transfusión de glóbulos rojos y plaquetas
Respuesta parcial (PR)
<ul style="list-style-type: none"> • Mejora de la citopenia con recuento absoluto de neutrófilos $\geq 500/\mu L$ y plaquetas $\geq 20,000/\mu L$ • Hemoglobina arriba de 8g/dL <input type="checkbox"/> +/- Transfusión dependiente
Ninguna respuesta
<ul style="list-style-type: none"> • Sigue cumpliendo con los criterios de anemia aplásica • Dependencia transfusional continua

2. Planteamiento del Problema

La Anemia Aplásica grave es una enfermedad hematológica poco frecuente pero potencialmente mortal, se engloba dentro de los síndromes de falla medular, el tratamiento curativo es el trasplante alogénico de células hematopoyéticas, sin embargo, en pacientes no

candidatos el tratamiento inmunosupresor y trombopoyético se convierte en la opción inicial predominante.

A pesar de los avances en la identificación de variables predictoras de la respuesta al tratamiento, estas se han incorporado previamente al inicio de las terapias, generando un conocimiento limitado sobre el pronóstico a largo plazo y la eficacia terapéutica. La carencia de información precisa en este aspecto es crucial, ya que el tratamiento prolongado conlleva el riesgo de evolución clonal y el aumento subsiguiente del riesgo de neoplasias, por otra parte, esta limitante impide personalizar las intervenciones terapéuticas, lo que podría impactar negativamente en la calidad de vida de los pacientes.

Con base a lo anterior nos formulamos la siguiente pregunta:

¿Cuál es la asociación que existe entre los factores pronósticos al momento del diagnóstico y la proporción de respuestas globales al tratamiento con ciclosporina y eltrombopag en pacientes diagnosticados con anemia aplásica?

3. Justificación

A pesar de los avances en medicina, el tratamiento de la anemia aplásica grave continúa enfrentándose a desafíos sustanciales, y la variabilidad significativa en la respuesta de los pacientes a diversas modalidades terapéuticas resalta la complejidad inherente a esta condición. La heterogeneidad en las respuestas al tratamiento sugiere la imperante necesidad de estrategias terapéuticas personalizadas que consideren las singulares características de cada paciente. En la literatura existente, se reconocen variables clave, como la edad, el sexo, los recuentos de sangre periférica y las mutaciones genéticas, así como marcadores identificados mediante citometría de flujo, como factores que influyen en la respuesta terapéutica. Sin embargo, se ha observado una carencia en la investigación que evalúe integralmente estas variables en conjunto. Los estudios publicados hasta la fecha han

abordado estas variables de manera aislada, sin ofrecer una visión comprensiva de su interrelación y su impacto combinado en la respuesta al tratamiento.

En este contexto, al identificar factores pronósticos y comprender cómo interactúan entre sí, se podrán desarrollar estrategias terapéuticas más precisas y eficientes, mejorando así la atención clínica y los resultados para aquellos pacientes con anemia aplásica que no responden a las terapias convencionales.

4. Hipótesis

Si existe una asociación entre los factores pronósticos al diagnóstico y la proporción de respuestas globales al tratamiento con ciclosporina y eltrombopag mayor a 0.8 entonces, se podrán identificar aquellos factores de mal pronóstico para la proporción de respuestas globales, adaptando las terapias a las necesidades individuales de cada paciente.

5. Objetivo general

Asociar factores pronósticos al diagnóstico y la proporción de respuestas globales al tratamiento con ciclosporina y eltrombopag en pacientes con anemia aplásica.

5.1 Objetivos específicos

- Identificar los factores demográficos, bioquímicos, moleculares y marcadores por citometría de flujo involucrados en la respuesta al tratamiento con ciclosporina y eltrombopag.
- Conocer la proporción de respuestas globales con tratamiento ciclosporina y eltrombopag.

6. Metodología

6.1 Diseño de estudio

Tipo de estudio	Descripción
-----------------	-------------

Retrospectivo	Se realizó la captura de datos de los registros clínicos y moleculares obtenidos mediante expedientes de pacientes con diagnóstico de anemia aplásica atendidos en el servicio de Hematología.
Observacional	No se realizó ninguna maniobra ya que se obtuvieron los datos de registros clínicos.
Longitudinal.	Se realizó un seguimiento longitudinal para identificar el pronóstico a través del tiempo de seguimiento.
Analítico	Se realizó el análisis de los registros clínicos y moleculares para identificar la asociación que existe sobre la proporción de respuestas globales al tratamiento.

6.2 Población y tamaño de la muestra

6.2.1. Población

Registros clínicos obtenidos a partir de los expedientes de pacientes atendidos en el departamento de hematología del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, con el diagnóstico de anemia aplásica desde el año 2019 al 2024.

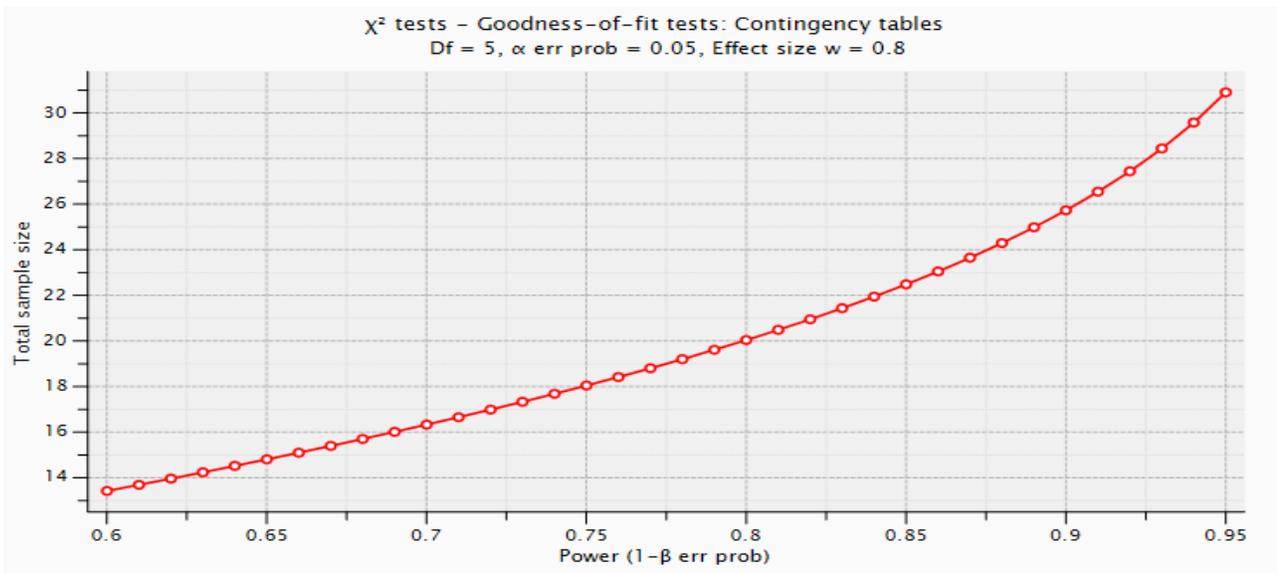
6.2.2 Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra se estimó utilizando la fórmula de Bondad de Ajuste, basada en el tamaño del efecto esperado en comparación con el tamaño del efecto reportado en otros estudios similares. Se realizó el cálculo de tamaño de la muestra mediante la herramienta G-Power 3.1.9.2.

A continuación, se enlistan los valores asignados para el cálculo del tamaño de la muestra.

Input Parameters		Output Parameters		
Determine =>	Effect size w	0.60	Noncentrality parameter λ	7.9200000
	α err prob	0.05	Critical χ^2	3.8414588
	Power (1- β err prob)	0.8	Total sample size	22
	Df	1	Actual power	0.8035275

A partir de un tamaño del efecto esperado de 0.60, se obtuvo una muestra total de 22 pacientes.



6.3 Criterios de selección

6.3.1 Criterios de inclusión

- Expedientes de pacientes de ambos géneros y mayores de 18 años.

- Expedientes de pacientes con diagnóstico de anemia aplásica confirmada por biopsia de hueso.
- Expedientes de pacientes con anemia aplásica que hayan recibido tratamiento en combinación con ciclosporina y eltrombopag.

6.3.2 Criterios de exclusión

- Expedientes de pacientes con registros incompletos.
- Registros de pacientes que fueran atendidos en otra institución o que pidieran cambio a otra institución.
- Expedientes de pacientes en quienes durante el seguimiento se detectó alguna otra enfermedad hematológica.
- Expedientes de pacientes quienes hayan recibido algún otro tratamiento inmunosupresor.

6.4 Operacionalización de las variables a evaluar y forma de medirla

TABLA 4. TIPO DE VARIABLES UTILIZADAS EN PACIENTES CON ANEMIA APLÁSICA.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	UNIDAD DE MEDICIÓN	TIPO DE VARIABLE	CODIFICACIÓN
EDAD.	Lapso que transcurre desde el nacimiento hasta el momento de referencia.	Años	Cuantitativa	N/A
SEXO.	Rango de características físicas mentales o del comportamiento que distinguen entre masculinidad y feminidad	Masculino/ Femenino	Cualitativa Dicotómica.	0 masculino. 1 femenino.
TRATAMIENTO CON CICLOSPORINA Y ELTROMBOPAG	Tratamiento inmunosupresor con inhibidor de la calcineurina y agonista del receptor de trombopoyetina	Presencia/ ausencia	Cualitativa	0 ausencia 1 presencia
INDEPENDENCIA TRANSFUSIONAL	Pacientes que no requieren transfusión de ningún hemocomponente como tratamiento	Presencia/ Ausencia	Cualitativa	0 ausencia 1 presencia

HEMOGLOBINA	Conteo absoluto de gramos de hemoglobina en muestra de sangre periférica	g/dl	Cuantitativa Continua.	N/A
NEUTRÓFILOS	Conteo automatizado de número absoluto de neutrófilos en muestra de sangre periférica	103/ μ l	Cuantitativa	N/A
PLAQUETAS	Conteo automatizado de número absoluto de plaquetas en muestra de sangre periférica	103/ μ l	Cuantitativa	N/A
RETICULOCITOS	Conteo automatizado de número absoluto de plaquetas en muestra de sangre periférica		Cuantitativa	N/A
ANCHO DE DISTRIBUCIÓN DE LOS GLÓBULOS ROJOS	Variabilidad del tamaño de los eritrocitos	Normal/Disminuida.	Cualitativa	0 normal 1 disminuida.
GRAVEDAD DE ACUERDO CON CAMITTA	Estadificación de acuerdo con niveles de plaquetas, reticulocitos y neutrófilos.	No grave/ grave/ muy grave	Cualitativa Nominal	0 no grave 1 grave 2 muy grave
RESPUESTA AL TRATAMIENTO DE ANEMIA APLÁSICA	Pacientes que aumentan cifras de plaquetas, neutrófilos y hemoglobina a valores normales, logran independencia transfusional y ausencia de criterios de severidad de acuerdo con Camitta	Nula/ Parcial/ Completa	Cualitativa	0 nula 1 parcial 2 completa
EXPRESIÓN DEL RNAM DEL GEN HTERT.	Enzima responsable del mantenimiento de la longitud de los telómeros	Presencia/Ausencia.	Cualitativa	0 presencia 1 ausencia.
DELECIÓN DE ALGÚN EXÓN DEL GEN HTERT	Enzima responsable del mantenimiento de la longitud de los telómeros	Presencia/Ausencia	Cualitativa	0 normal 1 delección
MARCADORES POR CITOMETRÍA DE FLUJO (CD 55, CD59.)	Cantidad de células que tienen deficiencia de proteínas de membrana ancladas a glicosilfosfatidilinositol	presencia/ ausencia	cualitativa	0 presencia. 1 ausencia.

6.5 Procedimiento

Se revisó los registros de los pacientes atendidos en la clínica de fallos medulares del servicio de Hematología del Hospital General de México “ Dr, Eduardo Liceaga”.

Se solicitó a archivo clínico los expedientes para obtener la información de interés incluyendo: edad, sexo, recuentos de biometría hemática al diagnóstico, tales como niveles de hemoglobina, plaquetas, neutrófilos, reticulocitos, ancho de distribución eritrocitaria, marcadores genéticos como expresión a nivel de RNAm por Rq-PCR de la del gen hTERT, deleciones de los exones del gen hTERT y finalmente marcadores por citometría de flujo con la finalidad de identificar células sanguíneas de CD55 y CD59 compatibles con clonas de Hemoglobinuria Paroxística Nocturna, y de esta manera asociar todas las variables en su conjunto para evaluar respuesta a la terapia con ciclosporina y eltrombopag. Se obtuvieron los datos y posteriormente se capturaron en una base de datos.

6.7 Análisis estadístico

Se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 25 (NY, IBM) para el análisis de datos y el programa Graph Pad Prism Versión 7.0 para realizar las gráficas.

- a. Se midió la heterogeneidad de las varianzas por medio de una prueba de Levine.
- b. Para el análisis de las variables demográficas se realizó la estimación de medias, se empleará desviaciones estándar para las variables paramétricas y medianas, así como rangos para las variables cuantitativas no paramétricas.
- c. Se analizó la interacción de las principales variables cualitativas con los desenlaces clínicos en la población a partir de un análisis de Chi cuadrada, mientras que para la comprobación de la hipótesis se utilizará un análisis de correlación de Pearson.
- d. Como un apartado extra se realizó un análisis de OddsRatio de diferentes variables dicotómicas que puedan influir con la respuesta a tratamiento.
- e. La respuesta o el efecto de todas las variables se estimó a través del análisis de regresión de cox.

7. Aspectos éticos y de bioseguridad

La realización de este estudio no se contraviene la “Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial” de 1964, que establece los principios éticos para las investigaciones médicas en los seres humanos. Esta investigación de acuerdo con la “Ley General de Salud” de México y con su “reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud”, en su Título 2ª, Capítulo 1ª, Artículo 17, Fracción II, se considera como “investigación de riesgo menor a mínimo”, ya que se revisarán datos del expediente clínico, sin poner en riesgo la salud de los pacientes, por lo que con ello se solicita omisión de uso de consentimiento informado.

Los autores damos testimonio que, al manejar información retrospectiva, se cumple con los aspectos éticos de privacidad y confidencialidad, además que la información se utilizará exclusivamente para fines académicos y de investigación. Los autores no contamos con ningún tipo de interés económico, farmacéutico, político, o social de dicha investigación. Este estudio tiene el siguiente registro: DECS/UPO-CT-2390-2024.

8. Resultados

Características demográficas de la población.

En este estudio se incluyeron un total de 22 registros clínicos de pacientes que han sido atendidos en nuestro servicio en el periodo 2019-2023. De los 22 pacientes incluidos, el 59% (n=13) fueron hombres, mientras el porcentaje restante fueron mujeres. Figura 4. La mediana de edad fue de 44 años (rango 21–74 años).

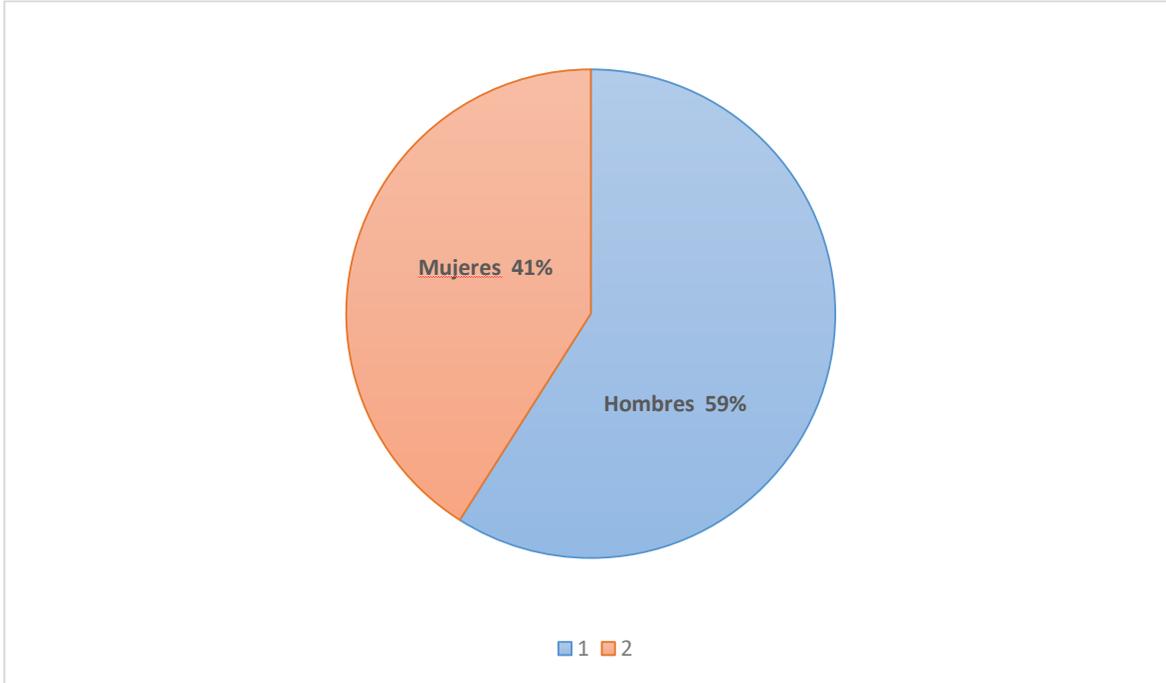


FIGURA 4. DISTRIBUCIÓN POR SEXO EN ANEMIA APLÁSICA.

Clasificación criterios CAMITTA.

En el 100% (n=22) de los pacientes se realizó una biopsia al diagnóstico. Los resultados de la biopsia se clasificaron de acuerdo con los criterios de Camitta, en donde el 27.2% (n=6) presentaron una clasificación no grave, 54.5% (n=12) presentó una clasificación grave y solo el 18.3% (n=4) presentó una clasificación muy grave figura 5.

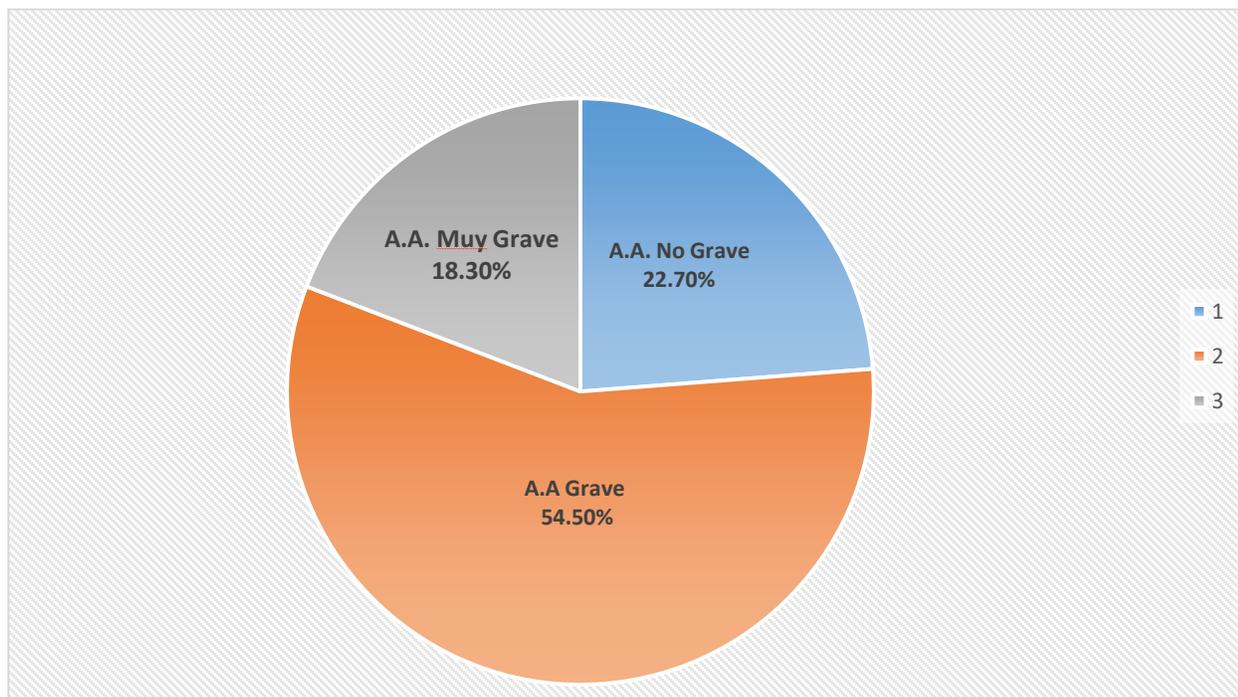


FIGURA 5. DISTRIBUCIÓN DE ACUERDO CON LA CLASIFICACIÓN DE CAMITTA.

Estado clínico al diagnóstico

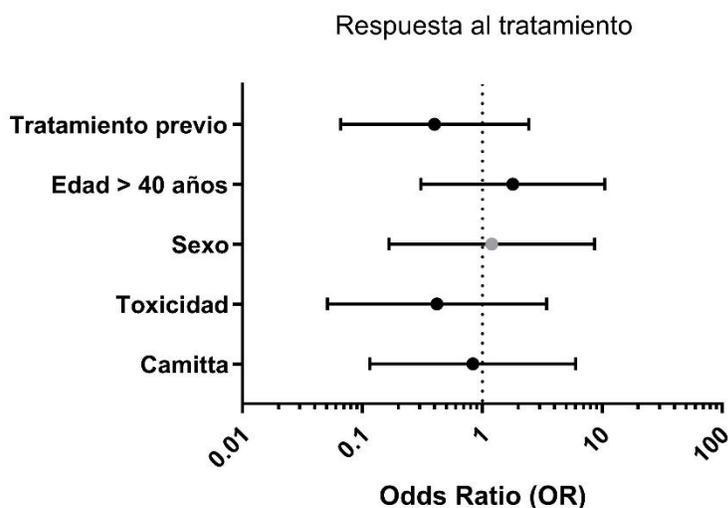
Al diagnóstico, al 100% de los pacientes se les realizó una Citometría de Flujo con el fin de detectar las clonas de HPN, sin embargo, solo en 13.6% (n=3) de los casos, este resultado fue positivo. Mientras que en los pacientes restantes se mostró un resultado negativo.

Por otra parte, se examinó si los pacientes habían recibido tratamiento previo al diagnóstico, 36.3% (n=8) recibieron terapia basado en Ciclosporina + Danazol. Al buscar si algún paciente había tenido una comorbilidad previa, solo un paciente reportó haber tenido Miomas previo al diagnóstico de anemia aplásica.

Para responder la hipótesis del estudio, se realizó un análisis de correlación y de Odds Ratio para comprobar el efecto de diferentes variables clínicas sobre la respuesta en los pacientes con anemia aplásica. Se analizaron las variables de sexo (p=0.631), edad >60 años (p=0.416), la clasificación por Camitta (p=0.631), tratamiento previo (p=0.291) y toxicidad (p=0.382), sin

embargo, ninguna variable mostró un efecto significativo sobre la respuesta al tratamiento. Variables como la presencia de exones, el diagnóstico por citometría y la independencia transfusional, no se pudieron analizar debido a la limitada muestra que se presentó en el estudio. En la Figura 6 podemos observar el diagrama de bosque que muestra gráficamente el comportamiento de las variables.

FIGURA 6. FOREST PLOT SOBRE LA RELACIÓN ENTRE LAS DIFERENTES VARIABLES Y LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO.



Parámetros bioquímicos.

Como parte del estudio, se recopilaron los valores iniciales y finales de parámetros bioquímicos que se piden con regularidad en nuestro servicio a los pacientes con anemia aplásica. En la Tabla 5 se muestran los valores de cada una de las variables. Al comparar las medianas solo la bilirrubina total tuvo una diferencia significativa en comparación con su valor final ($p=0.012$). Aunado a esto, se recopilaron los valores de Ferritina inicial en siete pacientes, de los cuales

tres mostraron niveles elevados (ferritina > 100 ng/d) en comparación con el final del estudio donde solo se pudieron recabar cinco y todos mostraron niveles muy elevados de ferritina.

TABLA 5. VALORES BIOQUÍMICOS INICIALES Y FINALES DE LA POBLACIÓN CON ANEMIA APLÁSICA

	VALOR INICIAL (N=22)	VALOR FINAL (N=22)	VALOR P
HEMOGLOBINA (MG)	6.85 (2.60 – 10.70)	8.25 (06.00 – 15.00)	0.115
LEUCOCITOS (X10³/μL)	2.20 (0.20 – 4.70)	2.80 (0.50 – 4.80)	0.134
NEUTRÓFILOS (X10³/μL)	0.67 (0.10 – 200.00)	0.90 (0.20 – 2.20)	0.286
PLAQUETAS (X10³/μL)	12.00 (02.00 – 42.00)	29.50 (03.00 – 110.00)	0.078
CREATININA (MG/DL)	0.66 (0.40 – 1.00)	0.70 (0.45 – 3.20)	0.875
BILIRRUBINA TOTAL (MG/DL)	0.50 (0.29 – 0.94)	1.14 (0.39 – 5.60)	0.012
AST (MG/DL)	16.00 (12.00 – 33.00)	28.00 (10.00 – 400.00)	0.039
ALT (MG/DL)	16.00 (11.00 – 62.00)	24.50 (3.00 – 400.00)	0.930

AST: Aspartato Aminotransferasa; ALT Alanino Aminotransferasa. Los datos se expresan en medianas (rango). Se realizó un análisis de Wilcoxon de muestras relacionadas para la comparación de las medianas. Se tomo un valor de $p < 0.05$ como significancia estadística.

Parámetros moleculares

Cuando se evaluó los resultados de la expresión del RNAm del gen hTERT en los 22 pacientes con anemia aplásica obtenidos del laboratorio de investigación del servicio de hematología, lo resultados demostraron que hay ausencia de la expresión, esto podría provocar inactividad de la enzima y por lo tanto el acortamiento de los telómeros. Figura 7

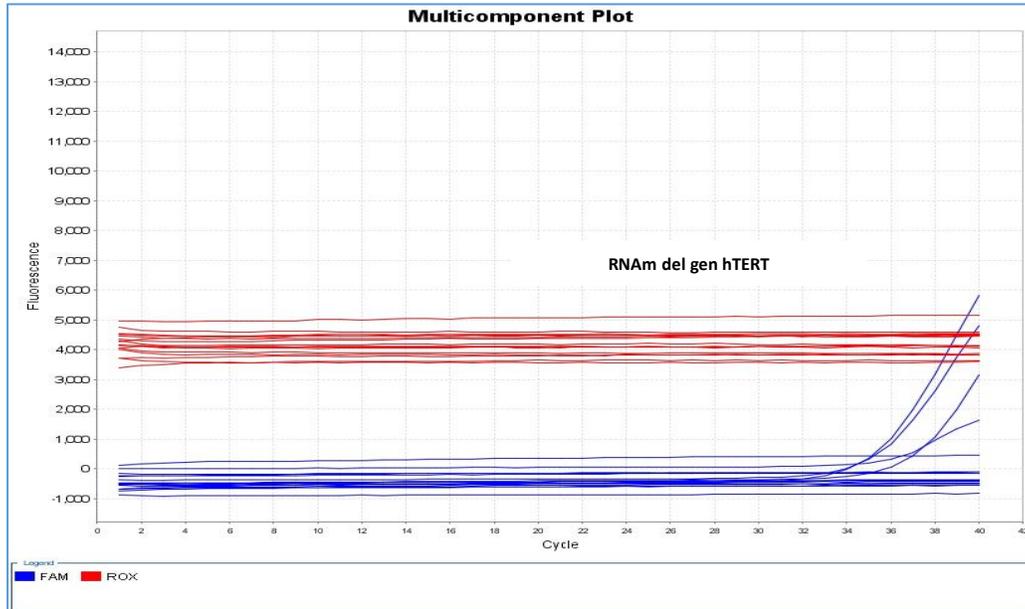


FIGURA 7. SE MUESTRA EL PLOT DE LA qRT-PCR PARA LA EXPRESIÓN DEL RNAm DEL GEN hTERT EN LOS 22 PACIENTES CON A.A.

La expresión del gen endógeno GUSB se muestra en la figura 8, en donde se puede apreciar expresión por medio de qRT-PCR, que representa el control interno que valida el estudio de expres

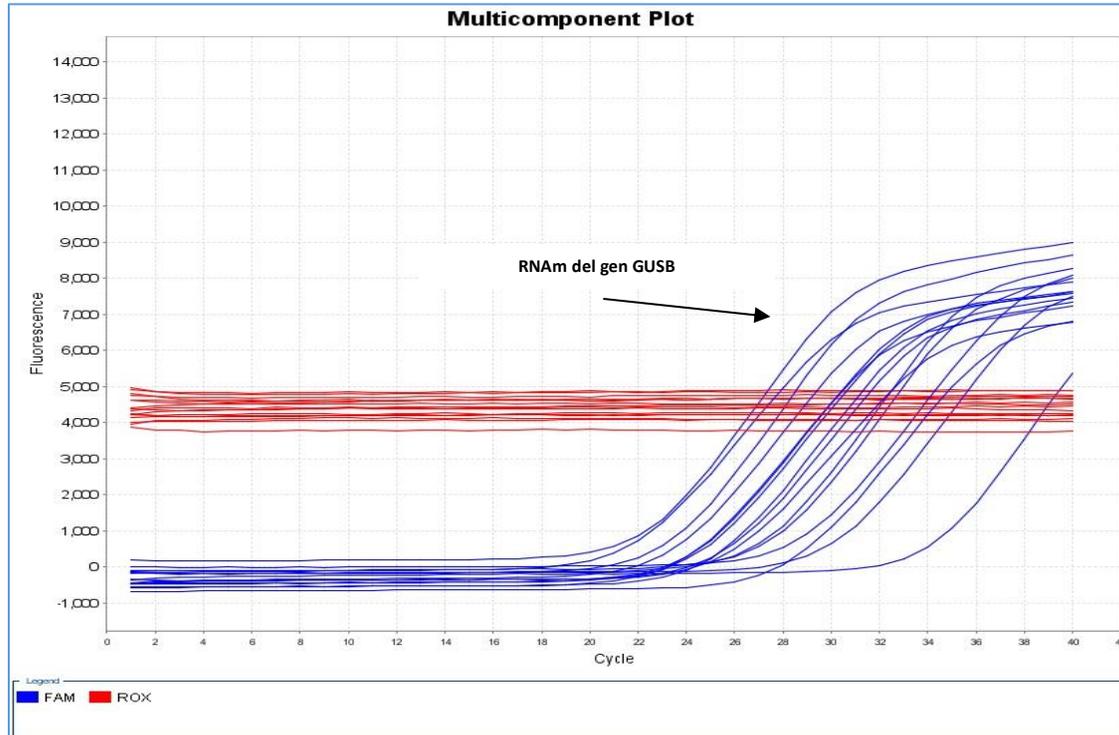


FIGURA 8 SE MUESTRA EL PLOT DEL LA QRT-PCR PARA LA EXPRESION DEL RNAm DEL GEN ENDOGENO GUSB EN LOS 22 PACIENTES CON ANEMIA APLASICA.

Al evaluar la ganancia o pérdida del DNA de los 16 exones por medio de la técnica molecular de MLPA (ligación de sondas de múltiples fragmentos), realizado también en el laboratorio de Investigación del servicio de Hematología del gen hTERT, se lograron realizar en 13 pacientes de 22, por la falta de material genético, los resultados mostraron que el 46% (6/13) tuvieron alguna deleción en algún exón de los 16 que conforman el gen. Tabla 6.

Al identificar las principales deleciones (del), se demostró que hay perdida en el exón 1 en los pacientes T7, T8, T15 y T22, esto podría provocar alteraciones funcionales a nivel de la proteína, en particular en el domino TEN de la enzima, este dominio interactúa con el DNA como el RNA. La unión al DNA facilita la carga de la enzima telomerasa en los cromosomas. En conclusión, esto provocaría un defecto en el mantenimiento de los telómeros.

Otras alteraciones que encontramos es en los exones que codifican al dominio RT (reverso transcriptasa) con actividad catalítica en los pacientes T7, T8 y T18 (de los exones 4-13), esto podría provocar un acortamiento de los telómeros y como consecuencia senescencia celular. Además de lo anterior en estos mismos pacientes se identificó del en los exones 14-16, región que codifica al dominio CTE, responsable de las diferentes interacciones proteína-proteína, así como la regulación de la localización celular de la proteína. Este dominio en condiciones normales le confiere protección de la región telomérica por lo que su deficiencia provocaría que los telómeros queden expuestos y acortamiento en la longitud telomérica. Figura 8.

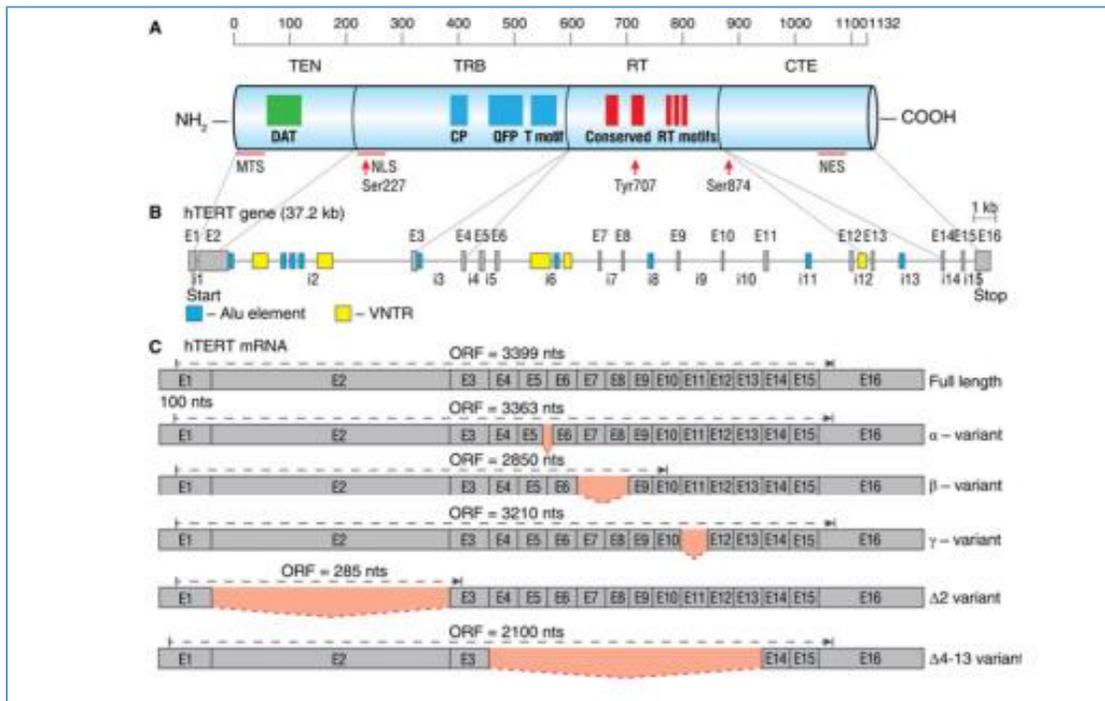


FIGURA 9. SE MUESTRAN LAS VARIANTES DEL RNAM DEL HTERT Y LOS EXONES QUE CODIFICAN A LOS DOMINIOS DE LA PROTEÍNA.

Al evaluar de manera individual el impacto que tienen las deleciones del gen hTERT en cada uno de los pacientes con AA, el paciente T7 de 61 años, femenino con ausencia de expresión del RNAm del gen hTERT pero con deleción en el exón 1,6 se encontraba en la clasificación de Camitta como A.A muy grave sin clonas para HPN, ausencia en la respuesta al tratamiento y a un año de seguimiento.

En el caso del paciente T8 femenino con 21 años con ausencia de la expresión del RNAm del gen hTERT y deleción en el exón 1,2,5,14,16 con tratamiento previo de ciclosporina y danazol, al asociarlo con la clasificación de Camitta se ubicó como no grave, pero con clonas presentes de HPN por criometría de flujo con respuesta parcial, a un año de seguimiento.

En el caso del paciente T13, masculino de 53 años con ausencia de expresión del gen hTERT y deleciones en el exón 1,6 mostro de acuerdo con la clasificación como A.A no grave sin presencia de clonas de HPN con respuesta parcial.

El paciente T15, masculino de 41 años con ausencia de clonas de HPN, sin toxicidad sin tratamiento previo y con A.A no grave, pero con respuesta parcial se reportó que tiene solo una deleción en el exón 6 del gen hTERT. El otro paciente T18 masculino de 46 años sin presencia de clonas de HPN, con respuesta al tratamiento parcial y clasificado como A.A grave con evolución de 5 años presento deleciones en los exones 4,5,13,14,16 del gen hTERT.

Finalmente, el paciente T22, femenino de 56 años, con A.A grave sin clonas de HPN, sin tx previo sin repuesta al tratamiento o nula con deleciones en los exones 1,2,14,16 del gen hTERT. Es importante notar que ninguna alteración fue relacionada con aquellos pacientes con respuesta completa al tratamiento.

TABLA 6. SE MUESTRAN LOS RESULTADOS OBTENIDOS DEL ANÁLISIS DE MPLA EN 13 PACIENTES CON ANEMIA APLÁSICA EN EL DNA DE LOS 16 EXONES ANALIZADOS DEL GEN hTERT.

No 1	ID	Severidad	Resultados de MPLA hTERT	Respuesta al Tx
1	T1		Normal	
2	T5		Normal	
3	T6		Normal	
4	T7	A,A muy grave	Ex 1,6, del	Respuesta nula
5	T8	A,A no grave	Ex 1,2,5,14,16 del	Respuesta parcial
6	T9		Normal	
7	T12		Normal	
8	T13	A.A no grave	Ex 1,16 del	Respuesta Parcial
9	T14		Normal	
10	T15	A.A no grave	Ex 6 del	Respuesta Parcial
11	T18	A.A grave	Ex 4,5,6,13,14,16 del	Respuesta Parcial
12	T19		Normal	
13	T22	A.A. grave	Ex 1,2,14,16 del	Respuesta nula

Parametros por citometría de flujo para clonas de Hemoglobinuria Paroxística Nocturna.

Debido a que se realizó esta prueba únicamente en 22 pacientes diagnosticados con anemia aplásica, y en 3 pacientes se reportaron con clonas para hemoglobinuria paroxística nocturna, por lo que no se pudo correlacionar esta variable con los desenlaces clínico, por lo anterior se propuso la unificación de esta variable con alteraciones del gen de la telomerasa para aumentar la muestra y poderla correlacionar con los desenlaces clínicos, obteniendo ($p=0.009$) con significancia estadística para algún tipo de respuesta al tratamiento.

Por ultimo se muestra en la figura 4 la respuesta y la no respuesta relacionado con las diferentes variables como: criterios de camitta, alteraciones del gen de la telomerasa, citometría de flujo y edad.

9. Discusión.

La anemia aplásica es una patología poco descrita en nuestra población, el tratamiento de la anemia aplásica grave continúa enfrentándose a desafíos sustanciales, y la heterogeneidad en las respuestas al tratamiento sugiere la imperante necesidad de conocer e identificar variables predictoras de respuesta al tratamiento.

Se realizó un estudio retrospectivo, unicéntrico, para determinar la asociación que existe entre factores pronósticos al diagnóstico sobre la proporción de respuestas globales al tratamiento. Los resultados que se obtuvieron en cuanto a los parámetros sociodemográficos no mostraron asociación con la respuesta global. Los parámetros bioquímicos como hemoglobina, neutrófilos, plaquetas, no tuvieron relevancia estadística sobre la respuesta al tratamiento, únicamente el parámetro de funcionalidad hepática presentó significancia estadística, sin embargo esta elevación puede estar relacionada con el tratamiento inmunosupresor y/o trombotimético.

En el estudio de Narita y colaboradores, publicado en el 2016 en donde se identificaron en pacientes diagnosticados con anemia aplásica, se identificaron marcadores bioquímicos al diagnóstico en pacientes pediátricos y adultos concluyeron que en cerca del 60% de los pacientes con recuentos iniciales de biometría hemática (Hemoglobina, Plaquetas, Neutrófilos)

más altos tienen una tasa de respuesta un 40% mayor que aquellos con conteos más bajos¹².

Por otra parte se identificó como parte de las variables moleculares la presencia de alteraciones del gen de la telomerasa (hTERT) por medio de MLPA (amplificación de sonda dependiente de ligación múltiple), en la población de 22 pacientes diagnosticados con anemia aplásica, en todos de ellos hubo ausencia de la expresión del RNAm del gen hTERT, por lo anterior se decidió analizar alteraciones del gen de la telomerasa, se lograron realizar en 13 pacientes de 22, por la falta de material genético.

Los resultados mostraron que el 46% (6/13) tuvieron alguna deleción en algún exón de los 16 que conforman el gen, todas las alteraciones identificadas se corroboraron como heterocigotas en el 100% de los pacientes, este parámetro molecular no fue estadísticamente significativo, sin embargo al evaluar de manera individual a cada paciente las alteraciones encontradas en el gen de la telomerasa correspondían a pacientes con respuesta hematología parcial o nula, ninguno de los pacientes se correlacionó con una respuesta hematológica completa.

En un estudio publicado por Scheinberg y colaboradores en el año 2020 en donde el objetivo fue evaluar la asociación de la longitud de los telómeros de los leucocitos de sangre periférica y su asociación con la respuesta al tratamiento, supervivencia y recaída de la enfermedad, fue un análisis de una sola institución de 183 pacientes con anemia aplásica grave y se midió la longitud de los telómeros ajustados por edad, no hubo correlación entre la respuesta hematológica y la longitud de los telómeros, pero si fue significativa para alto riesgo de recaída de la enfermedad, y la evolución clonal³⁴.

Históricamente desde 1996 se han mostrado evidencia de que se han encontrado una disminución de la longitud de los telómeros en pacientes con anemia aplásica comparado con pacientes sanos y se ha relacionado con poca respuesta al tratamiento, así mismo se han asociado que esta disminución en la longitud telomérica puede tener alguna relación con otras

neoplasias hematológicas como neoplasias mielodisplásicas³⁵.

En cuanto a los parámetros por citometría de flujo en este estudio, resultaron 3 pacientes positivos para clonas pequeñas de Hemoglobinuria Paroxística Nocturna, debido al tamaño de la muestra no permitió correlacionar con la respuesta al tratamiento, se propuso la unificación de esta variable con adición de los parámetros moleculares para poderla correlacionar estadísticamente, se encontró en nuestra población que la fusión de estos parámetros fue estadísticamente significativo ($p=0.009\%$) para una respuesta parcial o nula.

En un estudio publicado por Sugimori y colaboradores en donde incluyeron a 122 pacientes diagnosticados con anemia aplásica se investigaron por citometría de flujo para clonas para HPN CD55 Y CD59 positivas, como factor pronóstico de respuesta a tratamiento, encontraron que existe una relación entre una respuesta al tratamiento y el hallazgo de las clonas para HPN, (20) lo anterior concuerda con nuestros hallazgos encontrados en este estudio ya que de los 3 pacientes con clonas positivas para HPN tuvieron una respuesta parcial al tratamiento inmunosupresor y trombomimético.

En nuestra población no se encontró una relación entre los factores pronósticos evaluados en su (sociodemográficas, bioquímicas, moleculares y marcadores por citometría de flujo) conjunto con la respuesta al tratamiento, probablemente explicado por heterogeneidad de los resultados y por el tamaño limitado de la muestra, sin embargo se encontró una relación entre la fusión de dos marcadores (citometría de flujo y la expresión del gen hTERT) que al encontrarse positivos se puede correlacionar con respuestas nulas o parciales al tratamiento inmunosupresor y trombomimético.

Este estudio es el primero en asociar diferentes variables en conjunto como pronóstico de respuesta a tratamiento en pacientes con anemia aplásica, sin embargo, se deberán evaluar en futuros estudios los factores que pudieran condicionar la efectividad del tratamiento con

mayor numero de pacientes y con variables homogéneas para poder emitir recomendaciones al respecto.

11.Conclusiones

La anemia aplásica representa una patología hematológica que si bien en poco frecuente en nuestro país, el conocimiento de los factores de riesgo que predicen respuesta a tratamiento es limitado, en nuestro estudio no se encontró asociación estadística de todos los parámetros en conjunto, pero si encontramos información valiosa al fusionar dos parámetros como citometría de flujo y la expresión del gen hTERT, se deberán evaluar en futuros estudios los factores que pudieran condicionar la efectividad del tratamiento con mayor número de pacientes. Sin embargo, en la medicina personalizada es necesario evaluar cada alteración de manera individual lo que se podría tener resultados más precisos en la toma de decisiones terapéuticas

12. Referencias bibliográficas

1.- Diagnosis, Pathophysiology and Management of Aplastic Anemia. TESS Res Med Clin. 1(1).

2. Issaragrisil S, Kaufman DW, Anderson T, Chansung K, Leaverton PE, Shapiro S, et al. The epidemiology of aplastic anemia in Thailand. *Blood* [Internet]. 2006;107(4):1299–307. Available from: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2005-01-0161>
- 3.-Shallis RM, Ahmad R, Zeidan AM. Aplastic anemia: Etiology, molecular pathogenesis, and emerging concepts. *Eur J Haematol*. 2018;101(6):711–20. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/ejh.13153>
4. Shallis RM, Ahmad R, Zeidan AM. Anemia aplásica: etiología, patogénesis molecular y conceptos emergentes. *Eur J Haematol*. 2018;101:711–20.
5. Lu J, Basu A, Melenhorst JJ, Young NS, Brown KE. Analysis of T-cell repertoire in hepatitis-associated aplastic anemia. *Blood* [Internet]. 2004;103(12):4588–93. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2003-11-3959>
6. Muir KR, Chilvers CED, Harriss C, Coulson L, Grainge M, Darbyshire P, et al. The role of occupational and environmental exposures in the aetiology of acquired severe aplastic anaemia: a case control investigation: Aplastic Anaemia: Occupational and Environmental Exposures. *Br J Haematol* [Internet]. 2003;123(5):906–14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2141.2003.04718.x>
- 7.-Zeng W, Kajigaya S, Chen G, Risitano AM, Nunez O, Young NS. Transcript profile of CD4+ and CD8+ T cells from the bone marrow of acquired aplastic anemia patients. *ExpHematol*. 2004;32(9):806–14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.exphem.2004.06.004>
- 8.-Muir KR, Chilvers CED, Harriss C, Coulson L, Grainge M, Darbyshire P, et al. The role of occupational and environmental exposures in the aetiology of acquired severe aplastic anaemia: a case control investigation. *Br J Haematol*. 2003;123(5):906–14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2141.2003.04718.x>
- 9.-Hunt AA, Khan AB, Potter VT, McLornan D, Raj K, de Lavallade H, et al. Hypoplastic MDS is a distinct clinico-pathological entity with somatic mutations frequent in patients with prior aplastic anaemia with favorable clinical outcome. *Blood*. 2014;124(21):3269–3269. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/blood.v124.21.3269.3269>
- 10- Killick, S. B., Bown, N., Cavenagh, J., et al. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia. *British Journal of Haematology*, 2016; 172(2), 187–207.
- 11.-Yoshida N, Yagasaki H, Hama A, Takahashi Y, Kosaka Y, Kobayashi R, et al. Predicting response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia. *Haematol*. 2011;96(5):771–4.

- 12.-Narita A, Kojima S. Biomarkers for predicting clinical response to immunosuppressive therapy in aplastic anemia. *Int J Hematol*. 2016;104(2):153–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12185-016-2009-z>
- 13.-Zhang X, Zhang Y, Liu F, Zhu J, Liang X, Shi X, et al. Red blood cell distribution width as a prognostic factor in patients with aplastic anemia treated with cyclosporin A plus androgen or cyclosporine A alone: a retrospective study. *Hematology*. 2023;28(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/16078454.2023.2240665>.
- 14.- Zaimoku Y, Patel BA, Shalhoub R, Groarke EM, Feng X, Wu CO, et al. Predicting response of severe aplastic anemia to immunosuppression combined with eltrombopag. *Haematol*. 2021;107(1):126–33. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3324/haematol.2021.278413>.
- 15.-Han B, Liu B, Cui W, Wang X, Lin J, Zhao Y. Telomerase gene mutation screening in Chinese patients with aplastic anemia. *LeukRes* .2010;34(2):258–60. Disponible en:<http://dx.doi.org/10.1016/j.leukres.2009.11.001>
- 16.-Chebel A, Ffrench M. Transcriptional regulation of the human telomerase reverse transcriptase: New insights. *Transcription*. 2010;1(1):27–31. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4161/trns.1.1.12062>
- 17.-Yamaguchi H, Calado RT, Ly H, Kajigaya S, Baerlocher GM, Chanock SJ, et al. Mutations inTERT,the gene for telomerase reverse transcriptase, in aplastic anemia. *N Engl J Med*. 2005;352(14):1413–24. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa042980>.
- 18.-Sachdeva MUS, Varma N, Chandra D, Bose P, Malhotra P, Varma S. Multiparameter FLAER-based flow cytometry for screening of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria enhances detection rates in patients with aplastic anemia. *Ann Hematol*. 2015;94(5):721–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00277-014-2267-x>
- 19.-Sugimori C, Chuhjo T, Feng X, Yamazaki H, Takami A, Teramura M, et al. Minor population of CD55-CD59- blood cells predicts response to immunosuppressive therapy and prognosis in patients with aplastic anemia. *Blood*. 2006;107(4):1308–14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2005-06-2485>.
- 20.-Bacigalupo A. How I treat acquired aplastic anemia. *Blood [Internet]*. 2017;129(11):1428–36. Disponible en:<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2016-08-693481>
- 21.-Peffault De Latour R, Kulasekararaj A, Iacobelli S, Terwel SR, Cook R, Griffin M. 180 Eltrombopag Added to Immunosuppression in SevereAplasticAnemia. *N Engl J Med*. 2022;181(1):11–23.

- 22.- Brodsky, A. Síndromes de falla medular. Guías de diagnóstico y tratamiento. 2017.
- 23.- Rosenfeld, S., Follmann, D., et al. Antithymocyte globulin and cyclosporine for severe aplastic anemia: Association between hematologic response and long-term outcome. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 2003, 289(9), 1130. <https://doi.org/10.1001/jama.289.9.1130>.
- 24.- Moore, C. A., & Krishnan, K. Aplastic Anemia. StatPearls 2021.
- 25.- Drexler, B., & Passweg, J. (2021). Current evidence and the emerging role of eltrombopag in severe aplastic anemia. *Therapeutic Advances in Hematology*, 2021 12, 2040620721998126.
- 26.- Townsley, D. M., Scheinberg, P., et al. Eltrombopag added to standard immunosuppression for aplastic anemia. *The New England Journal of Medicine*, 2017; 376(16), 1540–1550.
- 27.- Montaña-Figueroa, Efreem H., & Gómez-Almaguer, David. Anemia aplásica. *Gaceta médica de México*, 2021; 157(Supl. 3), S52-S54. Epub 25 de abril de 2022.
- 28.- Ghanima, W., Cooper, N., Rodeghiero, F., et al. Thrombopoietin receptor agonists: ten years later. *Haematologica*, 2019; 104(6), 1112–1123. <https://doi.org/10.3324/haematol.2018.212845>
- 29.- Olnes, M. J., Scheinberg, P., Calvo, K. R., et al. Eltrombopag and improved hematopoiesis in refractory aplastic anemia. *The New England Journal of Medicine*, 2012; 367(1), 11–19.
- 30.- Scheinberg, P., Nunez, O., Weinstein, B., et al. Horse versus rabbit antithymocyte globulin in acquired aplastic anemia. *The New England Journal of Medicine*, 2011; 365(5), 430–438.
- 31.- Hinterberger, Fischer, M., Höcker, P., et al. Oral cyclosporin-A is effective treatment for untreated and also for previously immunosuppressed patients with severe bone marrow failure. *European Journal of Haematology*, 1989; 43(2), 136– 142.
- 32.- Grupo Español de trasplante hematopoyético y terapia celular. Guía para el Diagnóstico y Tratamiento de Insuficiencias Medulares. Treelogy Medical Marketing S.L. 2019.
- 33.- Bacigalupo, Andrea. Bone marrow transplantation for acquired severe aplastic anemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 2014; 28(6), 1145–1155.
34. Scheinberg P, Cooper JN, Sloand EM, Wu CO, Calado RT, Young NS. Association of telomere length of peripheral blood leukocytes with hematopoietic relapse, malignant

transformation, and survival in severe aplastic anemia. *JAMA*. 2010 Sep 22;304(12):1358-64. doi: 10.1001/jama.2010.1376. PMID: 20858879; PMCID: PMC3721502.

35. Ball SE, Gibson FM, Rizzo S, Tooze JA, Marsh JC, Gordon-Smith EC. Progressive telomere shortening in aplastic anemia. *Blood*. 1998 May 15;91(10):3582-92. PMID: 9572992.

13. Anexos Hoja de recolección de datos

Nombre completo.	
Edad	
Género.	
ECU:	
Fecha de diagnóstico.	
Inicio de tratamiento.	
Nivel de hemoglobina al diagnóstico.	
Niveles de neutrófilos al diagnóstico.	
Niveles de reticulocitos al diagnóstico	
Niveles de plaquetas al diagnóstico.	
Niveles de ancho de distribución eritrocitaria.	
Gravedad de acuerdo criterios de camitta al diagnóstico.	
Respuesta al tratamiento.	
Independencia transfusional.	
Deleción de algún exón del gen hTERT	
Marcadores por citometría de flujo (CD55, CD59) al diagnóstico.	