



11218 4
31

**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**CARACTERIZACION CITOGENETICA DE LOS
SINDROMES MIELODISPLASICOS**

TESIS DE POSGRADO

**PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALIDAD EN HEMATOLOGIA**

P R E S E N T A

DR. JOSE RENE NAVARRETE HERRERA

**CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
SERVICIO DE HEMATOLOGIA**



IMSS

MEXICO, D. F.

ABRIL, 1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1997



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.

HOSP. DE ESPECIALIDADES
DEL C. M. N. SIGLO XXI
★ ABR. 29 1994 ★
JEFATURA DE ENSEÑANZA
E INVESTIGACION

W
Dr. Niels Watcher Rodarte
Jefe del Departamento de Enseñanza e Investigación
Hospital de Especialidades C.M.N. Siglo XXI
IMSS

J. Pizzuto

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
DEL C. M. N. SIGLO XXI
★ MAR 18 1997 ★
SECCIÓN DE INVESTIGACION
DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGIA
IMSS

Dr. Javier Pizzuto Chávez
Jefe de Servicio de Hematología
Hospital de Especialidades C.M.N. Siglo XXI
IMSS

E. Gómez Morales

Dr. Enrique Gómez Morales
Médico Hematólogo
Hospital de Especialidades C.M.N. Siglo XXI
IMSS
Asesor de trabajo de tesis

Gracias a Dios, por existir

a mis padres, por la vida

a los que me rodean por su presencia.

CONTENIDO

- I RESUMEN**
- II ANTECEDENTES**
- III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**
- IV OBJETIVO**
- V MATERIAL Y METODOS**
- VI RECURSOS**
- VII RESULTADOS**
- VIII DISCUSION**
- IX ANEXOS**
- X BIBLIOGRAFIA**

I. Resumen:

Objetivo:

Describir las alteraciones citogenéticas en el estudio inicial de portadores de un síndrome mielodisplásico (SMD).

Material y Métodos:

A todos los pacientes con el diagnóstico de síndrome mielodisplásico de primera vez en el servicio de hematología, Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI, se tomó frotis de sangre periférica, aspirado de médula ósea, biopsia de hueso y estudio de citogenética por cultivo de células tiempo acortado.

Resultados:

De marzo de 1991 a junio de 1993, se analizaron un total de 41 enfermos (17 varones y 24 mujeres; límites de edad de 20 a 85 años [media 57 años]) con diagnóstico de SMD y estudios citogenéticos positivos. Los SMD se clasificaron según los criterios establecidos por el grupo Franco Americano Británico (FAB); correspondieron a: anemia refractaria simple (AR), 22; anemia refractaria con sideroblastos anillados (ARS), 7; anemia refractaria con exceso de blastos (AREB), 7; anemia refractaria con exceso de blastos en transformación (AREB-T), 3, y leucemia mielomonocítica crónica (LMMC), 2. En 9/41 el estudio citogenético fue normal, y en 32 se encontraron diferentes anomalías, entre ellas: numéricas en 7, estructurales simples en 10 y estructurales complejas en 15, las alteraciones simples fueron -5, del (6), +6, -7, 8q-, 12q+ y t(4;17), y las complejas comprendieron a los cromosomas 2, 6, 7, 8, 16 y 17, como deleciones o translocaciones con hiperdiploidia e hipodiploidia, un 50% de los casos con alteraciones simples correspondió al grupo de pacientes de menos de 60 años de edad con SMD tipo AR y ARS. Los cromosomas afectados con mayor frecuencia fueron el 2, 5, 6 y 7. Se concluye que el estudio de citogenética debe utilizarse como un método de diagnóstico en los enfermos de menos de 60 años con citopenias refractarias. Se requieren estudios posteriores para determinar su valor como factor pronóstico independiente en la población mexicana.

II. Antecedentes:

Los Síndromes mielodisplásicos (SMD), representan un grupo heterogéneo de enfermedades hematológicas de origen desconocido, caracterizado por hematopoyesis ineficaz e inhibición de la hematopoyesis residual normal, que se manifiestan clínicamente como síndrome de insuficiencia de la médula ósea de grado variable (1 y 2).

Su presentación es más frecuente en el séptimo decenio de la vida; se identifican citopenias periféricas unilineales o trilineales, y la médula ósea muestra hiperplasia celular, con displasia trilineal. Su morbi-mortalidad es temprana y consecutiva a anemia, infección o hemorragia, y suele evolucionar a leucemia aguda (2).

A partir de 1982, como producto de la Reunión Franco Americana Británica (FAB), se clasificaron en: Anemia refractaria simple (AR), Anemia refractaria con siderocitos (ARS), Anemia refractaria con exceso de blastos (AREB), Anemia refractaria con exceso de blastos en transformación (AREBT) y leucemia mielomonocítica crónica (LMMC) (1 y 2).

Su frecuencia es seis veces mayor que la de leucemia mieloide aguda (LMA); se estima una incidencia de 0.75 por 1,000/año en sujetos mayores de 60 años de edad (4 y 5).

Los SMD se originan a partir de un defecto clonal adquirido en el ácido desoxirribonucleico (ADN) o por alteraciones cromosómicas en las células tallo hematopoyéticas (3). Por análisis de inactivación del cromosoma X en cultivo de células se ha documentado que las alteraciones son a nivel de las propias células tallo hematopoyéticas, aunque también pueden incluir las series mieloide/antioide megacariocítica y linfóide (7, 8 y 9). Otros estudios incluyen detección de la proteína M 278 en estados heterocigotos para la Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la reacción de amplificación por cadena polimerasa (6 y 7).

Aunque de origen desconocido, los datos epidemiológicos han revelado mayor frecuencia en sujetos con exposición a factores mielotóxicos, en especial radiaciones ionizantes y quimioterapia; cuando así aparecen se les ha denominado SMD secundarios (8, 9, 10).

En la anemia de Fanconi, se encuentra una alteración a nivel del ADN, y se acompaña de alto riesgo de presentar SMD y leucemia aguda secundaria, como una prueba de inestabilidad cromosómica (11).

Con base en observaciones como ésta, se postula que las alteraciones cromosómicas tienen gran importancia en la patogenia de los SMD, aunque los diferentes subtipos podrían estar en relación a alteraciones citogenéticas específicas, esto no se ha comprobado (12).

La frecuencia de alteraciones cromosómicas encontradas en los SMD varía de 38 a 80 %; para AR y ARS es de 20 %; para la AREB y AREB-T es de 60 a 80 %, y en la LMMC de 40 % (11-12). En cuadro morfológico de tipo AR las alteraciones estructurales como: -5, 8q+ y 20q- se observan con mayor frecuencia. (12).

Las alteraciones desclitas han sido de tipo numérico, como estructural; predominando las pérdidas del material cromosómico: monosomías, defecciones y translocaciones no balanceadas, entre ellas: -5, -5q-, 7-, 7q-, 8+, 9q-, 20q- (13).

La alteración 5q- ha caracterizado a un síndrome de evolución crónica, que predomina en mujeres, con anemia macrocítica, cuenta de plaquetas normal o aumento de megacariocitos hiperlobulados con ARS, que presenta una evolución estable y buen pronóstico (13,14 y 15).

En los arreglos del cromosoma 3: inv(3), t(3,5)(q25,q34), t(3,3)(q21,q26) se observan alteraciones disoyéticas importantes de los megacariocitos, con displasia en 83%, megacariocitos normales o aumentados en 58% y trombocitosis absoluta de $>500 \times 10^9/L$ (15-16).

Alteraciones del cromosoma 7 (-7, 7q-, del 7), se relacionan con cuadros morfológicos de AREB-T, con supervivencia breve (13). En niños se ha identificado que las alteraciones específicas del cromosoma 7, presentan un cuadro clínico con rápida evolución hacia leucemia aguda (17-18).

La adquisición de otras alteraciones citogenéticas durante la evolución se ha implicado en especial con cuadros morfológicos compatibles con LMA M4/M5 consecutiva a la translocación 11(q23) (19-20).

La identificación de los oncogenes híbridos cHas-ras y cEts-1, presentes en la inv(11), inv(1;3) (p36;q22) y t(12), aparecen en cuadros de evolución temprana hacia leucemia aguda de comportamiento agresivo, y constituyen un signo indirecto de enfermedad clonal adquirida (17-20).

Cuadros citogenéticos como los mencionados parecen definir la evolución de la enfermedad y ser un factor pronóstico independiente (19, 22 y 23).

La clasificación de la FAB es útil dado que permite identificar enfermos que podrían evolucionar hacia leucemia aguda, y los distribuye en dos grandes grupos: de riesgo alto (AREB, AREB-T y LMMC) y de riesgo bajo (AR y ARS) (21).

Yunis y colaboradores han intentado definir la supervivencia total (SVT) de los enfermos con SMD con base en las alteraciones cromosómicas: 5q- con más de 2 años de SVT; del (7) y complejos múltiples con uno a dos años de SVT; -7, +8 con menos de un año de SVT; y SVT indeterminada para otras alteraciones (12).

Los SMD se diagnostican por exclusión, una vez excluidas enfermedades que generan citopenias periféricas y disoyéisis secundaria en los precursores

hematopoyéticos de la médula ósea, como se observa en las neoplasias, infecciones y enfermedades crónicas (1).

Aunque SMD, son más frecuentes en mayores de 60 años, no son exclusivos de este grupo de edad (17-18), se manifiestan en clínica con: anemia que no corresponde a deficiencia de aporte nutricional de hematinicos ni se corrige con la administración de estos; infecciones por diversos agentes debido a leucopenia específica o defectos de la función leucocitaria, y síndrome purpúrico-hemorrágico grave que pone peligro la vida. En la médula ósea se observan cuadros morfológicos diversos, desde hiperplasia celular trilineal, hasta hipocelularidad que puede confundirse con anemia aplásica. Se acompañan de displasia de la maduración de los precursores hematopoyéticos, manifestada como desproporción en la maduración núcleo/citoplasma, cambios megaloblásticos, disgranulopoyesis y formas de seudo Pelger-Huet (1-2).

Todo ello hace que la metodología para diagnosticar SMD sea laboriosa, repetitiva, lenta y tardía en la evolución natural de la enfermedad.

Lo anterior orilla a buscar recursos de apoyo diagnóstico, para caracterizar mejor un grupo de enfermedades tan heterogéneas.

III. Planteamiento del Problema:

Hasta ahora los SMD, se han definido con base en citopenias refractarias y a los criterios morfológicos establecidos por el grupo FAB cuando se han excluido otras enfermedades.

Para intentar establecer un método diagnóstico específico y temprano nos proponemos caacterizar las alteraciones citogenéticas presentes en los enfermos con el diagnóstico de SMD en la población mexicana.

IV. Objetivo:

Conocer las alteraciones citogenéticas en los pacientes con citopenias periféricas y cuadros morfológicos de SMD primarios, en la población mestiza mexicana.

V Material y métodos:

a) Procedimientos

Se incluyeron en el estudio a todos los enfermos con citopenias periféricas refractarias (unilineal, bilineal o trilineal) en quienes se haya excluido otras patologías responsables de éstas y estableciéndose el diagnóstico de SMD primario.

Se realizaron estudios de citogenética por cultivo de células de sangre periférica, aspirado de médula ósea, o ambos a todos los pacientes de cuadro clínico, citopenias periféricas y anomalías de maduración en la médula ósea compatibles con SMD (Anexo 1). Por técnica modificada de cultivo de tiempo corto de Hozier y Linquist, por bandas G y bandas Q (Anexo 3).

Los pacientes contaron con estudio clínico, de laboratorio y gabinete completos, para excluir enfermedades o factores causales de alteraciones disoyéticas secundarias, en las células precursoras hematopoyéticas de la médula ósea, los cuales consistieron en biometría hemática completa, química sanguínea, pruebas de funcionamiento hepático completa, electrolitos séricos, depuración de creatinina, cuantificación de inmunoglobulinas, electroforesis de proteínas hierro, sérico, capacidad de captación de transferrina y saturación de transferrina, cuantificación de ácido fólico y vitamina B12, pruebas de coagulación, estudio serológico para hepatitis B, C, y en caso necesario, perfil viral (CMV, EBV, HV toxoplasmosis), alfa-fetoproteína y antígeno carcinoembrionario, tórax de tórax, placa simple de abdomen, ultrasonografía abdominal y pélvica, y estudio contrastado de tubo digestivo y estudio citológico de Papanicolaou.

Los estudios morfológicos de aspirado de médula ósea se realizaron con tinción de Wright y de Peers (Anexos 4-5)

Las laminillas fueron revisadas por dos especialistas en hematología y se interpretaron según los criterios de la FAB, con correlación de sus observaciones (Anexo 1).

Se correlacionaron los cuadros clínicos, los subtipos de la FAB y las alteraciones citogenéticas identificadas en cada caso.

Los resultados se interpretaron según los criterios establecidos y vigentes del grupo FAB(2) para los subtipos de SMD, los cariotipos se interpretaron según la nomenclatura del Comité Internacional de Citogenética Humana, 1978 (25).

Los datos se compilaron en hojas de colección de datos (Anexo 6), y se realizó análisis estadístico del tipo descriptivo.

b). Universo:

Pacientes del Servicio de Hematología, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Los enfermos son referidos del Sur de la Ciudad de México o de los estados de Chiapas, Guerrero y Morelos.

c). Diseño:

Se realizó un estudio de casos.

d). Criterios de selección:

- **Criterios de inclusión:**
Adultos > 16 años.
Ambos sexos.
Pacientes con cuadros clínicos y morfológicos de síndrome mielodisplásico que cumpla con los criterios de la FAB (anexo 1).
Pacientes con estudio de citogenética positivo.
- **Criterios de no inclusión:**
Pacientes con cuadros de Síndromes mielodisplásicos relacionados a enfermedad sistémica (enfermedades de la colágena, enfermedades degenerativas, neoplasias e infecciones).
- Pacientes con diagnóstico de SMD pero sin estudio de citogenética o sin crecimiento en el cultivo de células.

e). Descripción de variables:

Síndrome mielodisplásico:

Síndrome clínico caracterizado por anemia, púrpura con o sin infección de origen primario, acompañado de citopenias de sangre periférica en número e intensidad variables y displasia de la maduración de los precursores hematopoyéticos en la médula ósea (1).

En el anexo 1 se presenta la clasificación del grupo FAB.

Alteraciones Citogenéticas:

Anormalidades de la morfología microscópica y estructura molecular de los cromosomas de las células humanas. Interpretadas según la nomenclatura del Comité Internacional de Citogenética Humana ISCN (anexo 2).

Los estudios citogenéticos en los pacientes con hemopatías, se realiza en cultivo de células con sincronización del ciclo celular lo que aumenta el número de metafases y la calidad de los cromosomas. Se ha utilizado en el presente trabajo técnico de bandas Q y bandas G, las que brindan cromosomas largos e íntegros; obtienen entre 600 y 1000 bandas por complemento cromosómico haploide. Es recomendable analizar 30 metafases de cada paciente, pero si ésto no se lograra se exige un mínimo de cinco. Se acepta como la presencia de una clona anormal, en el caso de células hiperdiploides o pseudodiploides, cuando dos o más células por lo menos tengan la misma alteración. En el caso de células hipodiploides se requiere que al menos se encuentre que en tres células este ausente el (las) mismo(s) cromosomas (7).

f). Variables:

- Independientes:
Alteraciones citogenéticas.
- Dependientes:
Subtipo de los síndromes mielodisplásicos (ver anexo 1).

VI. Recursos para el Estudio:

Recursos, instalaciones y personal del servicio de Hematología, Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI IMSS.

Recursos, instalaciones y personal del Laboratorio de Hematología Especial, Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI IMSS.

Recursos, instalaciones y personal del Laboratorio de Genética, Hospital General de México SS.

VII. Resultados:

Se analizaron un total de 41 pacientes, 24 mujeres (58%) y 17 varones (42%), con límites de edad de 20 a 85 años, media de 57 años, distribuidos en dos grupos de edad: menores de 60 años, 23 (56%); y mayores de 60 años, 18 (44%).

La variedad de los síndromes mielodisplásicos por grupo de edad y riesgo de evolución a leucemia aguda se distribuyó como se muestra a continuación:

TABLA I

SMD POR GRUPOS DE EDAD Y RIESGO		
Edad	AR/ARS	AREB/AREB-T/LMMC
<60 años	17 (58.6%)	6 (50%)
>60 años	12 (41.4%)	6 (50%)

Las manifestaciones clínicas por grupo de riesgo se presentan en la Tabla II, predominan citopenias aisladas en el grupo de bajo riesgo y pancitopenias en el grupo de alto riesgo.

TABLA II

SMD, MANIFESTACIONES CLINICAS POR GRUPOS DE RIESGO		
	AR/ARS	AREB/AREB-T/LMMC
Anemia	8	0
Leucopenia	0	1
Trombocitopenia	12	1
Bicitopenia	8	3
Pancitopenia	1	5
Leucocitosis	0	2

Los subtipos de SMD y los reareglos citogenéticos encontrados fueron: en nueve enfermos cariotipo normal (21.9%) y 32 con cariotipo anormal (78.1%), distribuidos como lo muestra la Tabla III.

TABLA III

ESTUDIO CITOGENETICO EN SMD						
FAB	(n)	(%)	normal	alt. simples	alt. complejas	numéricas
AR	22	53.6	5	6	6	5
ARS	7	17.1	2	-	3	2
AREB	7	17.1	1	3	3	-
AREB-T	3	7.4	1	-	2	-
LMMC	2	4.8	-	1	1	-
TOTAL	41	100	9	10	15	7

En la Tabla IV se presentan las alteraciones encontradas para los tipos de SMD y grupos de edad en alteraciones simples y complejas.

TABLA IV

	EDAD < 60 AÑOS		EDAD > 60 AÑOS	
	ALTERACIONES		ALTERACIONES	
	SIMPLES	COMPLEJAS	SIMPLES	COMPLEJAS
AR	-7 (2) +6 (1) del 6 (1) del 7 (1) hiperdiploidia (2) hipodiploidia (2)	-12, del 6p -22, del 5q, del 7 +1, +6, +10, del 5, t(12;17)	+6 (1) hiperdiploidia (1)	Bp+, 2q-, hiperdiploidia Bq-, hiperdiploidia t(2;14), hiperdiploidia
ARS	hiperdiploidia (1)	2p+, 18q-, t(2;18)	hipodiploidia (1)	t(2;18), t(7;17) t(7;11), +8, hiperdiploidia
AREB	12q+ (1)	t(2;17), hiperdiploidia	-5 (1) t(4;17) (1)	t(2;4), -15, -18 t(8;16), -21
AREB-T		-1, -5		45XY, -6, 46XX, -5
LMNC				del 7q- 5q-, del 5, +8, hiperdiploidia

El 50% de los pacientes con alteraciones citogenéticas tenía menos de 60 años de edad más a menudo alteraciones simples. Hubo más alteraciones múltiples en los mayores de 60 años, como se resume en la Tabla V.

TABLA V

ESTUDIO DE CITOGENETICA POR GRUPOS DE EDAD				
Edad	Normal	Simple	Complejas	
< 60 años	6 (14.6%)	11 (26.8%)	6 (14.6%)	
> 60 años	3 (7.3%)	5 (12.1%)	10 (24.3%)	

Cuando se comparan los informes de las anomalías citogenéticas más frecuentes descritas en la literatura con las observaciones del presente trabajo, encontramos similitud para las anomalías de mayor frecuencia, además encontramos anomalías de los cromosomas 2 y 6; translocaciones para el primero y deleciones para el segundo, las cuales se han informado muy poco en la literatura como lo muestra la Tabla VI.

TABLA VI

ANORMALIDADES CITOGENETICAS MAS FRECUENTE			
HE CMN SIGLO XXI		Noel, P. et al (32)	
	(n)		(%)
-7	(2)	5q-	(27)
+8	(2)	+8	(19)
del 8	(1)	-7	(15)
del 7	(2)	11q-	(7)
12q+	(1)	+7	(5)
-5	(1)	12q-	(5)
t(2:18)	(1)	20q-	(5)
t(7:11)	(1)	i(17)q	(4)
t(4:17)	(1)	t(1;7)	(2)
hiperdiploidia	(4)	13q-	(2)
hipodiploidia	(3)	inv3	(1)
normal	(9)	t(1;3)	(1)
		t(3;3)	(1)
		t(6;9)	(<1)

VII. Discusión:

La presencia de un cariotipo normal se ha relacionado con larga sobrevida y baja frecuencia de transformación leucémica. Se sabe que las alteraciones del cariotipo pueden ser precedidas por alteraciones moleculares que llevan a la expansión de una clona de células hematopoyéticas, en cuyo caso múltiples oncogenes y oncogenes supresores pueden estar implicados (32).

En los SMD, se ha utilizado el estudio citogenético, junto con estudios de cromosomas por enzimas de restricción, en un intento por describir el origen clonal de esta enfermedad, las alteraciones acompañantes y el comportamiento de una enfermedad que progresa a leucemia aguda, e incluso presenta alta resistencia a los tratamientos habituales (11-15, 21 y 29).

Las alteraciones citogenéticas se encuentran con frecuencias que varían de 40 a 80% (4-6); las alteraciones informadas con mayor frecuencia son las de los cromosomas 5, 7, 8, 11, 13 y 20 (14-17).

La presentación clínica en este trabajo encontramos que en los grupos de SMD de bajo riesgo se observaron citopenias en (20/29) o bicitopenias (8/29) como manifestación predominante; en cambio, en los grupos de alto riesgo la bicitopenia y pancitopenia predominan como dato de insuficiencia medular.

En este informe se encontraron alteraciones citogenéticas con una frecuencia de 78%. Las principales fueron -7, del 7q-, +6, -5 y del 5q, las cuales también se señalan como la más frecuentes en la literatura (11, 13, 17 y 28).

No obstante, se encontraron alteraciones simples y complejas para el cromosoma 6 y 2 en seis y siete enfermos respectivamente; deleciones para el primero y translocaciones para el segundo, lo cual difiere de lo informado puesto que sólo rara vez se menciona.

Llama la atención que el 50% de alteraciones cromosómicas se observó en el grupo de menores de 60 años, lo que corresponde a la mitad de las alteraciones encontradas en el total de los casos y lo cual no se había mencionado en la literatura, donde los cuadros se presentan principalmente en mayores de 60 años.

Así mismo, cabe mencionar que en el grupo de mayores de 60 años, las alteraciones cromosómicas compjas o múltiples ocurrieron con mayor frecuencia en los subtipos definidos como de alto riesgo (AREB, AREB-T y LMMC), con el mismo patrón que el informado en la literatura anglosajona, y que generalmente cursan con una evolución desfavorable.

Las alteraciones de los cromosomas 5, 7 y 8, en tres, siete y dos enfermos, las cuales se acompañan con mal pronóstico, probablemente pueden explicar en estudios posteriores la SVT breve de nuestra población. Por lo anterior, podríamos concluir que un mayor número de alteraciones citogenéticas se relaciona con enfermedad clínica más agresiva, como la AREB y AREB-T.

Dado que la mitad de las anomalías ocurrieron en nuestros pacientes en menores de 60 años, es posible que sean formas tempranas de presentación de la enfermedad. El seguimiento de estos casos permitirá establecer la evolución clínica de estos enfermos.

Concluimos que el estudio de citogenética tiene utilidad en el diagnóstico y la caracterización de los SMD en nuestra población y deberá incluirse entre los auxiliares diagnósticos en la identificación de cuadros de citopenias refractarias aún en pacientes menores de 60 años.

Se requieren estudios subsecuentes de tipo longitudinal en nuestra población, para determinar su significado como factor pronóstico de SVT y en un futuro como factor de decisión terapéutica.

ANEXO 1.

SINDRÓMES MIELODISPLÁSICOS.
CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DEL GRUPO F.A.B.

SUBTIPO	SANGRE PERIFÉRICA	MEDULA OSEA *
A.R.	Hemoglobina < 12 gr/dl	Blastos < 5%
	Monocitos < 1x10(9)/L	Siderocitos anillados < 15%
	Blastos < 1 %	
A.R.S.	Hemoglobina < 12 gr/dl	Blastos < 5%
	Monocitos < 1x10(9)/L	Siderocitos anillados > 15%
	Blastos < 1 %	
A.R.E.B.	Hemoglobina < 12 gr/dl	Blastos 5 - 20 %
	Blastos < 5 %	
	Blastos > 5%	Blastos 20 - 30 %
A.R.E.B.T.	*Cuerpos de Auer en blastos en S.P. o M.O.	
L.M.M.C.	Monocitos > 1x10(9)/L	Blastos > 20 %
	Hiperplasia de Granulocitos y/o Promonocitos	
	Blastos < 5%	

* Conteo en 500 células

Cambios morfológicos caracterizados por:

Médula con hiperplasia en 1 ó 3 de las series de precursores hematopoyéticos

Dispoiesis anormal en la maduración en 1 ó 3 de las series de precursores hematopoyéticos

Desproporción en la maduración núcleo/citoplasma

Disgranulopoyesis y precursores en mismo estado de maduración

Formas pseudo-Pelger Huet

En caso de ausencia de Hb < 2gr/L, presencia de citopenias refractarias persistentes: leucopenia y trombocitopenia.

ANEXO 2.

SISTEMA DE NOMENCLATURA DE CITOGENETICA HUMANA INTERNACIONAL (ISCN) (1985)

La descripción del cariotipo se refiere primero el número de cromosomas (autosomas), que en general suman 44; seguidos de coma para mencionar a continuación los cromosomas sexuales con dos letras (xx o xy).

Las alteraciones estructurales específicas de los cromosomas se refieren con abreviación de una a tres letras siendo principalmente, las primeras letras de la alteración a describir. Los cromosomas involucrados se agrupan dentro de un paréntesis inmediatamente después de la abreviación y símbolo que defina el tipo de alteración.

Si más de un cromosoma están alterados, se utiliza punto y coma para separar la designación, mencionándose siempre en orden numérico. Si uno de los cromosomas afectados, es uno sexual éste se menciona en primer término.

Las alteraciones pueden ser simples o complejas, afectando varias células, se requiere que por lo menos un 40% de las células presenten una alteración específica para que se considere no fortuita.

Las alteraciones son de dos órdenes: estructural, aquellas que son anomalías intersticiales del cromosoma y pueden ser simples o complejas. Numéricas, aquellas que presentan ganancia o pérdida de material cromosómico en forma íntegra es decir aumento o disminución en el número total de cromosomas por célula.

Los puntos de ruptura son dados dentro del paréntesis, en el mismo orden que los cromosomas afectados. Las abreviaturas para describir las alteraciones citogenéticas más frecuentes se mencionan a continuación :

p	Brazo corto del cromosoma
q	Brazo largo del cromosoma
p+	Ganancia de material cromosómico al brazo corto.
q+	Ganancia de material cromosómico al brazo largo.
p-	Pérdida de material cromosómico al brazo corto.
q-	Pérdida de material cromosómico al brazo largo.
del	Delección o pérdida de un segmento del cromosoma.
der	Derivación, es un cromosoma anormal derivado de dos o más cromosomas tomando el número del cromosoma que contribuye con el centrómero.
dic	Dicéntrico, es un cromosoma con dos centrómeros.
inv	Inversión, es la rotación de 180 grados de un segmento dentro de un cromosoma.
ins	Inserción, cuando un segmento de un cromosoma es removido a una nueva posición, la cual puede ser directa (dir) o invertida (inv)
iso	Isocromosoma, es un cromosoma formado por la duplicación de un brazo corto o brazo largo
mar	Marker, es un cromosoma anormal no completamente caracterizado
r	Cromosoma anillado
t	Translocación, un segmento de un cromosoma ha sido trasladado de un cromosoma a otro
+	Ganancia de un cromosoma.
-	Pérdida de un cromosoma
aneuploidia	Célula con un número anormal de cromosomas, que ni es mitad ni múltiplo de 46.
diploidia	Célula con número completo de 46 cromosomas
haploidia	Células con 23 cromosomas
pseudoploidia	Células con 46 cromosomas pero con anomalías estructurales presentes
tetraploidia	Células con 92 cromosomas (4 sets)

(25)

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

ANEXO 3.

TECNICA DE CARIOTIPO MODIFICADA DE HOZIER Y LINQUIST PARA M.O Y S.P.

1. - Agregar 0.5 a 1.0 ml de médula ósea heparinizada a un frasco de vidrio o tubo cónico el cual lleva 10 ml de la siguiente solución:
 - * 9 partes de KCL 0.075% M más una parte de solución de Tripsina-EDTA al 0.25% más Colchicina a una concentración final de 0.08 gr/ml.
2. Esta suspensión se incuba a 37 grados centígrados por 30 minutos y se basea en tubos cónicos de centrifuga de 15 ml, para centrifugarlo a 3000 rpm durante 5 minutos.
3. Decanar el sobrenadante y resuspender el botón, fijar en metanol-ácido acético 3:1 en fresco. Dejar reposar 30 minutos a temperatura ambiente.
4. Centrifugar a 3000 rpm durante 5 minutos y resuspender de nuevo con fijador, Repetir el procedimiento cuantos cambios sean necesarios, aproximadamente 10.
5. La preparación se hace goteando la suspensión de células a una altura de 1.5 m sobre portaobjetos, obteniéndose mejores resultados a la flama. Se procede a tefir con Giemsa más 47 ml de amortiguador de fosfatos (pH 6.8) durante 5 a 8 minutos.
6. Se observan al microscopio de luz y se procede al análisis.
7. Parte de las laminillas se someten a técnicas de bandas G.

Carlotipo en Linfocitos de Sangre Periférica

1. Las muestras de sangre se toman en condiciones estériles en jeringa Heparinizada, 5 ml aproximadamente.
2. Colocar 0.5 ml de sangre en 4.5 ml de medio de cultivo (Mc Coy 5a) suplementado con suero fetal de ternera (0.5 ml), y antibióticos (penicilina 2000 un/ml + estreptomicina 275 mg/ml). Las muestras se trabajan por duplicado adicionando sólo a uno de los frascos nitrógeno en forma de fitohemaglutinina, PHA.
3. Incubar a 37 grados centígrados durante 70.5 hrs adicionando 0.5 ml de solución de colchicina al 0.2 % (en agua destilada estéril) e incubar a 37 grados centígrados por 1.5 hrs.
4. El Cultivo se transfiere a tubos cónicos de centrifuga de 15 ml para centrifugar a 3000 rpm durante 5 minutos.
5. Decantar el sobrenadante y resuspender el botón. Agregar 5 ml de solución hipotónica (KCL 0.075 M) a 37°C.
6. Centrifugar a 3000 rpm durante 5 minutos, decantar el sobrenadante y agregar gota a gota agitando en el vortex 5 ml de fijador recién preparado con metanól/ácido acético 3:1, dejar reposar 30 minutos a temperatura ambiente.
7. Centrifugar a 3000 rpm durante 5 minutos y decantar el sobrenadante, resuspender en 5 ml de fijador y repetir la operación 5 veces aproximadamente o hasta obtener un botón blanco.
8. Para hacer las preparaciones decantar el sobrenadante y adicionar 10 gotas de fijador para suspender. Tomar con la pipeta Pateur y dejar caer 2 a 3 gotas sobre cada laminilla perfectamente limpia y desengrasada desde una altura de 1.0 a 1.5 cm. Dejar secar al aire.
9. Teñir con Giemsa durante 5 minutos (3 ml de Giemsa + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8).
10. Observar al microscopio.
11. Si las metafases están muy cerradas se pueden abrir haciendo las laminillas desde una altura mayor o dando cambios de fijador.

Bandas G

Las bandas G son consideradas como un tipo de bandeo positivo, son estructuras constituidas por heteróromatina intercalar que comprende cerca del 50% de las cromátidas. Se reconocen por sus cualidades cromofólicas especialmente para el colorante de Giemsa, Whngt y otros.

Relativamente resistente a la digestión con enzimas proteolíticas, urea, detergente y al calor.

- Las preparaciones cromosómicas se dejan envejecer al aire durante una semana. Se colocan las laminillas por 10 segundos o más en una solución que contiene 3 ml de solución de tripsina al 1 % + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8 en baño maría a 37°C.
- Se lavan con solución salina isotónica y posteriormente en agua corriente.
- Se tiñen durante un minuto con Giemsa (Giemsa 3 ml + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8), nuevamente se lavan con agua corriente y se secan al aire.
- Se analizan al microscopio de luz y se seleccionan las metafases bien bandeadas para fotografía.

Bandas C :

Las Bandas C identifican heterocromatina constitutiva localizada en el centrómero y regiones pericentroméricas de los cromosomas 1, 9, 16 y Y.

Estas bandas son sumamente resistentes a la extracción con ácidos y bases, tiñen intensamente con Giemsa .

1. - Colocar las laminillas en HCl 0.2 N por 15 a 30 minutos.
2. - Lavar con agua destilada.
3. - Colocar en Ba(OH)₂ (0.065 M) por 37°C por 15 a 30 minutos.
4. - Lavar con agua destilada a 37°C.
5. - Colocar las laminillas en 2 SSC (8.82 g citrato de sodio + 17.53 g Na Cl en 1000 ml de agua destilada) a 60°C durante 2 horas.
6. - Lavar con agua destilada a 60°C y agua corriente.
7. - Teñir con Giemsa.
8. - Observar y analizar al microscopio.

ANEXO 4.

Tinción de Whright.

Material:

- **Solución de Whright 0.5 g. + Alcohol Metílico absoluto 100ml.**
- **Solución Buffer (pH 6.4) : KH₂PO₄ 6.63 g.**
- **Na₂HPO₄ 2.56 g.**
- **Agua destilada esteril 1000 ml.**
- **Extendidos de sangre periférica por la técnica pluma de ave o extensiones delgadas de aspirado de médula ósea.**

Método:

1. **Dejar secar las laminillas al aire.**
2. **Agregar Solución de Whright a la laminilla cubriéndola en su totalidad por espacio de 4 minutos.**
3. **Agregar a la laminilla sin desechar la solución de Whright, la solución Buffer cubriéndola en su totalidad y homogeneizando la mezcla suavemente con aire soplando con ayuda de una pipeta.**
4. **Dejar reposar por 9 minutos.**
5. **Lavar al chorro del agua y dejar secar al aire.**
6. **Observar al microscopio de luz.**

ANEXO 5.

Tinción de Pearis para hierro modificada

Material:

- Solución de azul de Prusia: pesar 20 g de Ferrocianato de potasio y disolver perfectamente en 100 ml de agua destilada. Agregar 40 ml de ácido clorhídrico concentrado hasta formar un precipitado blanco lechoso. Filtrar a través de papel filtro de Wathman 40. Este filtrado será la solución de trabajo y se preparará antes de usarse, dado sus características de inestabilidad.
- Solución de Contrainsión: En una probeta colocar 50 ml de agua destilada o desmineralizada agregar con un gotero 15 gotas de safranina, mezclar por inversión y filtrar con papel filtro corriente .

Método:

1. Dejar secar al aire las preparaciones de extendidos de Médula ósea.
2. Fijar las preparaciones de extendidos de médula ósea con alcohol metílico por 4 minutos y lavar con agua desmineralizada.
3. Dejar secar al aire y sumergirlas posteriormente en la solución de trabajo (solución azul de Prusia) recién preparada, dejando en incubación por 30 minutos.
4. Lavar las preparaciones con agua desmineralizada, teniendo cuidado de no tomar las laminillas con pinzas metálicas ya que el reactivo reacciona con el metal y contaminará la preparación, dando falsas positividad.
5. Secar las laminillas y sumergirlas posteriormente en la solución de contrainsión, dejando en incubación por 15 minutos.
6. Lavar las preparaciones con agua corriente. Y secar al aire .
7. Montar las preparaciones con resina y cubrirlas con portaobjeto
8. Observar al microscopio de luz .

FALTA PAGINA

No. 25

X. Bibliografia:

1. Richard Lee, T.C. Bittel, J. Foerster, J. Athens, J. Lukens. (1993) *Wintrobe's Clinical Hematology*. 9th Edition. Lea & Febiger. U.S.A.
2. Hoffman, E. J. Benz, S. Shattil, B. Furie, H. Cohen. (1991) *Hematology. Basic Principles & Practice*. 1st Edition. Churchill Livingstone. N.Y. U.S.A.
3. Merchav, A. Nagler, G. Fleischer & I. Tatarsky. (1989) Regulatory abnormalities in the marrow of patients with myelodysplastic syndromes. *Br. J. Haem.* 73, 158-164.
4. Aul, N. Gatterman & W. Schneider. (1992) Age-related incidence and other epidemiological aspects of myelodysplastic syndromes. *Br. J. Haem.* 82, 358-367.
5. Barbara J. Bain. (1990) *Leukemia-Diagnosis. A guide to the FAB classification*. 1st edition. Gower Medical Publishing London, England.
6. W. Gray, D. Pinkel. (1992) Molecular cytogenetics in human cancer diagnosis. *Cancer* 69, 1536-1542
7. Janssen, M. Buschle, M. Laykon, H. G. Drexler, J. Lyons, & H. Van der Berghe. (1989) Clonal analysis of myelodysplastic syndromes: evidence of multipotent stem cell origin. *Blood* 73, 248-254
8. Nowell, E. Besa, T. Steiman & J. B. Finan (1986) Chromosome studies in preleukemic states. *Cancer* 58, 2571-1575
9. J. Culligan, C. Whittaker, A. Jacobs & R. Padua (1992) Clonal lymphocytes are detectable in only some cases of SMD. *Br. J. Haem.* 81, 346-352.
10. Pierre Noel M.D. (1991) Management of patients with myelodys-plastic syndromes *Mayo Clin. Proc.* 66, 485-497.
11. S. Zuckerman, G. Bagby, P. Emanuel & A. Schafer (1992) Myeloproliferative disorders. Education Program American Society of Hematology. Annhaheim, Cal. U.S.A. Dec. 3-7, 1992 pp. 7-17
12. Yunis, M. Lobell, A. Arnesen, M. Oken, G. Mayer, R. Rydell & R. Brunning. (1988) Refined chromosome study helps define prognostic subgroups in most patients with primary myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia. *Br. J. Haem.* 68, 189-194.
13. Heim, F. Mitelman (1988) Chromosomal abnormalities in the myelodysplastic syndromes. J. D. Griffin (ed), *Hematol/Oncol. Cl. of N.A.* 15, 1003-1021.
14. Mathew, A. teffen, G. Dewald, L. Goldberg, J. Su & P. Neol (1993) The Sq-Syndrome. A single institution study of 43 consecutive patients. *Blood* 81, 1040-1045.
15. D. Rowhwy, H. Golomb & J. Vardiman. (1981) Nonrandom chromosome abnormalities in acute leukemia and dysmyelopoietic syndromes with previously treated malignant disease. *Blood* 58, 759-767.
16. P. Grig, D. Gascoyne, L. Phillips & E. Horsman (1993) Clinical, haematological and cytogenetic features in 24 patients with structural rearrangements of the Q arm of chromosome 3. *Br. J. Haem.* 83, 158-165.
17. Mecucci, H. Van den Berghe. (1992) *Cytogenetics*. H. P. Koefler (ed) *Hematol/Oncol. Cl. N. A.* 6, 523-542.

18. Hasle, B. Jacobsen & N. T. Pedersen (1992) Myelodysplastic syndromes in childhood : a population based study of nine cases. *Br. J. Haem.* 81, 495-498.19.- J. P. Bjergaard, P. Philip, S. O. Larsen, G. Jensen & K. Byrting. (1990) Chromosome aberrations and prognostic factors in therapy-related myelodysplasia and acute nonlymphocytic leukemia. *Blood* 76, 1083-1091.
19. Bjergaard, P. Philip, S. O. Larsen, G. Jensen & K. Byrting. Chromosome aberrations and prognostic factors in therapy-related myelodysplasia and acute nonlymphocytic leukemia. *Blood* 1990; 76; 1083-1091.
20. Mitani, Y. Sato, Y. Hayashi, K. Miyagawa, Y. Yazaki & H. Hirai. (1992) Two myelodysplastic syndrome cases with the inv(11)(p15;q23) as a sole chromosomal anomaly. *Br. J. Haem.* 81, 512-515.
21. White, D. Cullinan, T. Hoy & A. Jacobs (1992) Extended cytogenetic follow-up of patients with myelodysplastic syndrome (MDS). *Br. J. Haem.* 81, 499-503.
22. Fenaux, P. Morel, C. Rose, J. Nuc Lai, J. Jouet & F. Bauters (1991) Prognostic factors in adult de novo myelodysplastic syndromes treated by intensive chemotherapy. *Br. J. Haem.* 77, 497-501.
23. F. Sanz, M. A. Sanz, T. Vallespi, M. C. Cañizo, M. Torrabadella, S. Garcia, D. Iribuile & J. San Migel. (1989) Two Regression model and a scoring system for predicting survival and planning treatment in myelodysplastic syndromes: A multivariate analysis of prognostic factors in 370 patients. *Blood* 74, 395-408.
24. Toyama, K. Ohyashiki, Y. Yoshida, et al. Clinical implication of chromosomal abnormalities in 401 patients with myelodysplastic syndromes: a multicentric study in Japan. *Leukemia* 1994; 7 (4); 499-508.
25. Hozier, C.L. Linquist. (1980) Banded Kanotypes from bone marrow: a clinical useful approach. *Human Genetics.* 53 ; 205-209.
26. Standing Committee on Human Cytogenetics Nomenclature (1978) An international system for human cytogenetic nomenclature. *Cytogenetics and Cell Genetics* 21, 211-225.
27. Koss Leopold George. (1979) *Diagnosis cytology and histopatologic base.* 3 ed. Phidadelphia, N.Y.
28. Keneth, S. Zuckerman, Michelle M, Le Beau, Peter L, Geenberg & Josef T, Prchal. Myelodysplasia and myeloproliferative disorders. Education program 1991, 33th Annual meeting. American Society of Hematology.
29. Volgestein B, Tearan Ξ , R. Hamilton S. R, & Feinburg A.P. Use of restriction fragments length polymorphism to determine the clonal origin of human tumors. *Science* 1985; 227: 642-645.
30. D. Rios. Manual de Procedimientos en técnicas de histoquímica especial. Laboratorio de Hematología Especial, Area de investigación. Servicio de Hematología, Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI, IMSS. Publicación personal.
31. Dacie, S.M. Lewis. *Practical Haematology.* Fifth Edition, Churchill Livingstone. 1978, N.Y. USA.
32. Noel P, Tefferi A, Pierre V, Jenkins B, Dewald GW. Karyotypic Analysis in Primary Myelodysplastic Syndromes. *Blood Reviews.* 1993; 10-18.

FE DE ERRATAS

1.- Y Material y métodos. El rubro (a) procedimientos, debe ser después de las variables (7).

2.- Tabla IV. Se imprimio en el último renglón.

LMMC			del 7a
			5a. del 5.,+8. hiperdiploidia
<u>debe decir</u>			
LMMC		del 7a	5a. del 5.,+8. hiperdiploidia

3.- Tabla VI. Se imprimio en la columna Hospital de Especialidades C.M.N. Siglo XXI.

- 7	(2)
- 6	(2)
del 6	(1)
del 7	(2)
12q+	(1)
- 5	(1)
t (2:18)	(1)
t (7:11)	(1)
t (4:17)	(1)
Hiperdiploidia	(4)
Hipodiploidia	(3)
normal	(9)

debe ser

Hospital de Especialidades C.M.N. Siglo XXI

- 7	(2)
- 6	(2)
del 6	(1)
del 7	(2)
12q+	(1)
- 5	(1)
t(4:17)	(1)
Hiperdiploidia	(4)
Hipodiploidia	(3)
normal	(9)
Complejas	(15)