

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UMAE ESPECIALIDADES “DR ANTONIO FRAGA MOURET”
CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA

*INMUNOFENOTIPO LINFOCITARIO DE PACIENTES CON PÚRPURA
TROMBOCITOPÉNICA INMUNE REFRACTARIA EN TRATAMIENTO CON
RITUXIMAB.*

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIZACION EN
HEMATOLOGIA**

PRESENTA

María Eugenia Gómez Uribe

ASESOR DE TESIS: Dr. Jaime García Chàvez

México, Distrito Federal, 2008.



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.

Dr. Jesús Arenas Osuna
División de Educación en Salud

Dr. Jorge Vela Ojeda
Titular del Curso Universitario

Dra María Eugenia Gómez Uribe
Médico Residente, 4º año Hematología

No. Registro Final 2008-350116

INDICE

Página.

4	RESUMEN
6	INTRODUCCIÓN. ANTECEDENTES CIENTIFICOS.
13	MATERIAL Y MÉTODOS
14	RESULTADOS
19	DISCUSIÓN
22	CONCLUSIÓN
23	BIBLIOGRAFIA
	ANEXOS
25	Anexo 1.
26	Anexo 2.

García-Chávez J, Gómez-Uribe ME, Vela-Ojeda J. Inmunofenotipo Linfocitario de pacientes con Púrpura Trombocitopénica Inmune refractaria, en tratamiento con Rituximab.

Objetivo: Conocer el inmunofenotipo linfocitario de los pacientes con púrpura trombocitopénica inmune refractaria en el día 0, 30, 90, y 180 del tratamiento con rituximab.

Pacientes, material y método: Estudio descriptivo, observacional y retrospectivo en pacientes con PTI crónica refractaria en manejo con rituximab, de la clínica de hemostasia y trombosis del servicio de Hematología del Hospital de Especialidades “Antonio Fraga Mouret”, del Centro Médico Nacional “La Raza” en México, DF, de enero del 2005 a enero 2008, obtenido como análisis secundario del trabajo previo titulado “Rituximab en el tratamiento de la PTI crónica refractaria” realizado en el 2005. se recolectó una muestra basal de sangre en cantidad de 5 ml, con tomas a los 30, 60, 90 y 180 días.

Resultados: Se estudiaron 7 pacientes. Encontramos, a la par del aumento en la cifra plaquetaria respecto a la muestra basal contra la final, disminución en la cantidad de linfocitos totales, con incremento en los marcados como CD3, CD8 y CD20, así como incremento en los de estirpe NKT.

Conclusión: El manejo de los pacientes de PTI crónica refractaria con inmunoterapia, en este caso con un anticuerpo monoclonal anti CD20, Rituximab, disminuye la población de linfocitos B, que suelen ser los efectores de la respuesta inmune, al mismo tiempo que aumenta las subpoblaciones de linfocitos NKT y CD3, estableciendo así un mecanismo de acción alterno del medicamento en este grupo de pacientes, enfatizando la función reguladora y antitumoral de estas moléculas

Palabras clave: PTI crónica. Rituximab. PTI refractaria. Inmunofenotipo

García-Chávez J, Gómez-Uribe ME, Vela-Ojeda J. Lymphocitary immunophenotype in refractory-chronic Immune Thrombocytopenic Purpura patients, in Rituximab-salvage therapy.

Purpose: To know the lymphocitary immunofenotype in refractory-chronic Immune Thrombocytopenic Purpura patients, in Rituximab-salvage therapy at days 0, 30, 90, y 180 of treatment.

Materials and Methods: Observational, descriptive, retrospective assay, in cronic ITP patients in Rituximab-salvage therapy. The patient source was the Hematology department, at Hospital de Especialidades “Antonio Fraga Mouret”, in Centro Médico Nacional “La Raza” México, DF, in a period between january 2005-2008. The data in this study were obtained as a secondary assay of the previous work “Rituximab en el tratamiento de la PTI crònica refractaria” in this department, at 2005. We obtained a 5cc periferal blood basal simple. Outpatient follow-up was scheduled monthly for 5 months

Results: Seven patients were analyzed. We found, besides the platelet count rise, notable lymphocyte count drop, at same time we found a CD3, CD8 and CD20 count increase, as well as a rise at NKT cell levels.

Conclusions: The Rituximab-salvage therapy, in chronic ITP patients, decreases the B cell population, which are the immune response effectors, as well it causes an increase of NKT-CD3 lines, setting up an alternative antibody`s action way, emphasizing the regulator-antitumoral function of these molecules.

Keywords. *Chronic ITP. Rituximab. Refractory ITP.Immunophenotype*

ANTECEDENTES CIENTIFICOS

La trombocitopenia es la disminución de la cifra de plaquetas por debajo del límite inferior normal. Los mecanismos patogénicos de las trombocitopenias se dividen, clásicamente, en mecanismos centrales –debido a falta de aporte- y mecanismos periféricos –causados por aumento de las pérdidas o alteración en la distribución-. En las de origen central, el efecto patógeno se produce a nivel de los precursores plaquetarios. Las de origen periférico desencadenan una serie de respuestas compensadoras, por ejemplo, el aumento del volumen plaquetario y la producción de trombopoyetina por la médula que se traduce en que, a partir de las 48 hrs, exista un aumento en la ploidia y el tamaño de los megacariocitos y, en consecuencia, aumente su capacidad para producir plaquetas. Si la causa de la trombocitopenia actúa durante un período de tiempo mayor, aumenta la actividad estimulante de las colonias megacariocíticas (CSA-Meg), la cual estimula la proliferación de los progenitores con el fin de que pueda persistir la hiperproducción de plaquetas. (1) La púrpura trombocitopénica inmune es una condición patológica que se cree ocurre cuando las plaquetas son prematuramente destruidas como resultado del depósito de autoanticuerpos o complejos inmunes en su membrana. Se denomina púrpura “seca” cuando solamente se afecta la piel, y “húmeda” cuando también involucra mucosas. (2) El sitio de destrucción por lo general es el sistema reticuloendotelial del bazo y, menos frecuentemente, el hígado. En muchos casos, la patología subyacente responsable de la formación de los complejos inmunes o de los anticuerpos, es conocida, llamándose entonces trombocitopenia inmune secundaria. Otras veces, no hay factores etiológicos conocidos, definiéndose como trombocitopenia inmune idiopática. (3) La idea de que la trombocitopenia es mediada por anticuerpos viene desde que se encuentra que los neonatos

de madres afectadas la padecen, confirmándose posteriormente con base en el desarrollo de trombocitopenia transitoria en receptores sanos luego de la transferencia pasiva de plasma, incluyendo fracciones ricas en IgG, de pacientes con trombocitopenia inmune. Las plaquetas cubiertas con autoanticuerpos IgG son sometidas a una depuración acelerada a través de los receptores FC γ de los macrófagos titulares, principalmente del bazo e hígado.

(4) En cuanto a la incidencia, para el 2003, en Estados Unidos y el Reino Unido se estimaba de 58 a 66 casos por millón por año. En nuestro servicio, tenemos una incidencia de aproximadamente 3 a 4 casos nuevos mensuales, con una prevalencia total de 67 casos. Afecta predominantemente a mujeres en edad reproductiva, con una relación mujer:hombre de 3:1. Tiene un inicio insidioso, sin pródromos, y los signos y síntomas son variables, desde los pacientes asintomáticos hasta las hemorragias floridas, las cuales son mucho más frecuentes en quienes tienen cuentas plaquetarias menores a 10,000. Una cuestión importante en esta patología es el diagnóstico oportuno, y la aseveración del mismo, descartando por completo que se trate de una trombocitopenia secundaria. Dentro de los estudios necesarios para la confirmación diagnóstica, se encuentran la citometría hemática completa y un extendido de sangre periférica para descartar la pseudotrombocitopenia. Otro tipo de exámenes, como la determinación de anticuerpos antiplaqueta, son poco útiles por su baja sensibilidad y especificidad, y en poco alteran el manejo. (5) El repertorio antigénico en esta patología es limitado y, en ocasiones, compartido e idéntico. La unión de anticuerpos monoclonales antiGpII a las plaquetas de la PTI está disminuída en comparación a la unión a las plaquetas normales. Además, se ha encontrado que fragmentos de anticuerpos séricos de ciertos pacientes, bloquean la unión de más anticuerpos a las plaquetas de otros pacientes. Los epítopes pueden ser lineares o no lineares. Se ha determinado que muchos autoanticuerpos se unen a epítopes cation-dependiente. Para la

detección de anticuerpos antiplaquetarios, existen, entre muchos otros, dos de gran utilidad: el IMMUNOBEAD assay y el MAIPA. Si bien, no hacen el diagnóstico, un resultado positivo provee de fuerte evidencia sobre la presencia de trombocitopenia inmune, aunque uno negativo tampoco la excluye, pues, de hecho, de un 34 a un 51% de pacientes con diagnóstico de PTI, tiene negatividad a estos ensayos. (6) Por otro lado, la realización del aspirado de médula es innecesaria cuando la clínica es típica, pero debe considerarse si el paciente es mayor de 60 años, el cuadro es atípico, tiene mala respuesta al tratamiento de primera línea o es candidato a esplenectomía. (5,7) De hecho, se postula que no debe realizarse previo al inicio del esteroide en pacientes con trombocitopenia aislada y de reciente diagnóstico. Una opción a esto, es asegurar que en el extendido de sangre periférica no hay blastos o células atípicas. Si no los hay, se puede iniciar el tratamiento, con vigilancia estrecha del paciente. (7,8) En cuanto a este, depende del requerimiento de los pacientes, y ésta necesidad es influida por el estado clínico. La muerte por sangrado es un punto importante a considerar. Hay datos recientes que muestran que la tasa de hemorragia fatal va de 0.0162 a 0.0389 casos/paciente en riesgo, definiéndose el paciente en riesgo como aquel cuya cuenta plaquetaria es menor a 30,000. (8,9) No existen estudios aleatorizados que comparen la opción de no tratamiento con la del manejo esteroide o con globulina intravenosa. Por lo general, los pacientes asintomáticos y asignológicos no tienen necesidad de manejo médico, así como aquellos con cuentas plaquetarias mayores a 30,000. La inmunoglobulina humana es efectiva en 75% de los pacientes, pero la respuesta a la misma es transitoria y, a las 3 a 4 semanas después de su infusión, la cifra es similar a la previa. El mecanismo de acción de la inmunoglobulina involucra el bloqueo de los receptores Fc de las células retículoendoteliales y otros efectores de citotoxicidad dependiente de anticuerpos.

La metilprednisolona es un tratamiento de segunda línea, especialmente cuando hay urgencia de elevar la cifra plaquetaria, en combinación con ciclofosfamida o globulina intravenosas. La esplenectomía no es una opción terapéutica “curativa” pues sigue habiendo opsonización plaquetaria, pero la vida media de las plaquetas cubiertas de anticuerpos es mayor pues hay menor destrucción de las mismas por los macrófagos esplénicos. El mejor predictor de respuesta a la esplenectomía es el rastreo de plaquetas marcadas con Indio. (5) Aproximadamente el 25 al 30% de los adultos desarrollan cronicidad de la enfermedad, la cual se torna refractaria a esteroides y esplenectomía, así como a otros agentes disponibles. Debido a que la tasa de mortalidad a 10 años de estos pacientes aumenta, hasta oscilar entre el 10 y el 20%, se hace necesario establecer intervenciones terapéuticas más efectivas. (10) Un paciente refractario se define, entonces, como aquel que falla a la dosis estándar de esteroides y a la esplenectomía, y que requiere tratamiento posterior debido a la cifra plaquetaria no segura, o a episodios de hemorragia. Si un paciente se vuelve refractario, algunas alternativas son el danazol, la azatioprina, la dapsona, o esquemas de quimioterapia de combinación como CHOP(11)

Los intentos actuales para el tratamiento de la PTI refractaria se basan en el mejor entendimiento de las anormalidades inmunológicas asociadas, así como en la disponibilidad de productos biotecnológicos sofisticados. Uno de esos intentos involucra el uso de anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno CD20, una proteína transmembrana hallada en la superficie de las células B malignas y su contraparte normal, pero no en las células hemopoyéticas, plasmáticas normales, células pre B u otros tejidos. Esta molécula CD20 es un buen blanco terapéutico pues no se desprende de la superficie celular y no se internaliza al unirse con anticuerpos. (9) Debido a que las células productoras de anticuerpos son de estirpe B, y CD20+, se ha utilizado al rituximab dentro del tratamiento

de enfermedades con etiología autoinmune. (10) EL rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico utilizado en el tratamiento del linfoma no hodgkin. Es una inmunoglobulina IgG1kappa que consta de secuencias variables murinas con cadenas pesadas y ligeras, y secuencias constantes de origen humano. El dominio Fab del rituximab se une al CD20 de los linfocitos B, y el dominio Fc realiza funciones efectoras inmunes para mediar la lisis de las células B in vivo. Algunos mecanismos posibles para la lisis celular incluyen a la citotoxicidad dependiente de complemento, dependiente de anticuerpos y la inducción de apoptosis.

Un estudio en Roma, Italia, que incluyó 25 pacientes con PTI refractaria, a quienes se les administró Rituximab a 375mg/m² semanal por 4 infusiones, encuentra, al término del mismo, una tasa de RC en 5 pacientes (5%) y de RP en 5 más, así como Rm en 3 sin necesidad de manejo. Del total de pacientes, 7 permanecieron en remisión con un conteo estable de plaquetas durante un seguimiento entre 6 y 27 meses. De cuatro pacientes que recayeron después de esto, a quienes se les repitió la dosis de rituximab, dos obtuvieron nueva respuesta, uno de ellos permaneciendo en ella durante 8 meses más.

De este estudio se concluye que hay mayor tendencia a la respuesta a tratamiento en mujeres y pacientes jóvenes. Se realizó la determinación de células B de sangre periférica, con una mediana basal de 189x10⁶/L (rango 56-418), misma que fue declinando con el tratamiento, a niveles subnormales luego de la primera dosis en la mayoría de los pacientes. El nadir de los valores fue, en todos los pacientes, en números inferiores al rango normal. La recuperación de las células B comenzó entre los 6 y 9 meses, alcanzando valores normales entre los 9 y los 12 meses. La mediana de la cuenta absoluta de células T, determinada como niveles de CD3, 4 y 8, permaneció estable durante el período de

estudio.(9) Por otro lado, en la clínica Mayo de Rochester, Minnesota, de 12 pacientes con PTI tratados con Rituximab, en los que 4 eran del sexo femenino, se documentaron 5 respuestas completas (60%), de los cuales, a un seguimiento de hasta 11 meses, 3 continuaban con estabilidad de la cuenta plaquetaria. (10) En otro estudio, en Duisburg, Alemania, se trató a 12 pacientes, con 375mg/m² semanales por 4 semanas, con una respuesta global del 75%, con 5 pacientes (41%) alcanzando la remisión completa, 2 (17%) en remisión parcial y dos más (17%) con respuesta menor. Cuatro de los cinco pacientes que alcanzaron remisión completa la mantuvieron de 230 a 398 días. Los dos pacientes en remisión parcial se mantuvieron con cuentas de 38 a 148 x10⁽⁹⁾. (9) Aún más, en una revisión sistemática de la literatura, que involucró estudios realizados en EUA, Italia, Dinamarca, Alemania, Reino Unido y México, documenta respuestas completas en 43.6% del total de pacientes, con respuestas globales del 62.5%, y medianas de duración de la respuesta de 10.5 meses (12) Un estudio recién publicado, del grupo para el estudio de la hematología en México, que manejó pacientes refractarios con Rituximab a 375mg/m², por seis dosis, concluye que la esplenectomía es un factor que se relaciona con un período de tiempo más largo para respuesta, sin mostrar el conteo de células B previo y posterior al tratamiento, ni la cuantificación ni monitoreo de los anticuerpos antiplaquetas en el mismo lapso. Proponen, también, tres patrones de respuesta al anticuerpo: 1) temprana, la que se obtiene antes de la 4ª dosis; 2) intermedia, de la 7ª a la 11ª ; y 3) tardía, 13 semanas después de la última dosis. De lo aquí referido, se puede concluir que el Rituximab tiene una actividad adecuada y una toxicidad tolerable en pacientes con recaída o refractariedad a PTI. (9-15)

JUSTIFICACIÓN

No se tiene descripción alguna de los marcadores celulares expresados por los pacientes con púrpura trombocitopénica inmune refractaria, de si existen coincidencias entre ellos, ni de si hay cambios en el mismo provocados por el tratamiento. Además, con los avances tecnológicos actuales en cuanto al desarrollo de nuevos blancos moleculares, y siendo esta una enfermedad común en nuestro medio, este trabajo ofrece la oportunidad de que, a partir de el, se documenten las coincidencias inmunofenotípicas en este grupo de enfermos y se abra la oportunidad de establecer nuevos blancos terapéuticos que disminuyan la incidencia de refractariedad y recaída y aumenten las tasas de remisión completa. Ahora bien, en México no se tiene constancia de trabajos que incluyan pacientes con trombocitopenia inmune refractaria, mucho menos en tratamiento de rescate con anticuerpos monoclonales, y menos aún estudios donde se establezca el perfil inmunofenotípico de los mismos. Sabiendo que las características genéticas e inmunológicas de la población mexicana son diferentes a la de los países desarrollados, donde se han realizado los trabajos hasta ahora publicado, resulta relevante determinar las características de los mismos en nuestros pacientes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio Descriptivo, Observacional y retrospectivo, en pacientes con púrpura trombocitopénica inmune refractaria en tratamiento con rituximab, de la clínica de hemostasia y trombosis en adultos, del Centro Médico Nacional La Raza.

Los pacientes fueron detectados en la Clínica de Hemostasia y trombosis de esta unidad, e invitados a participar en el protocolo de Rituximab como tratamiento de rescate para trombocitopenia inmune refractaria. Una vez que se contó con la carta de consentimiento informado se recolectó, por parte del investigador principal, la muestra basal de sangre en cantidad de 5 ml. El mismo investigador recogió los resultados y se vaciaron a la tabla de recolección, citando al paciente para la toma subsecuente los días 30, 60, 90 y 150 del tratamiento. La información de este estudio, entonces, se obtendrá como análisis secundario del trabajo previo titulado “Rituximab en el tratamiento de la PTI crónica refractaria” realizado en el Servicio de Hematología de esta unidad, en el 2005.

Resultados:

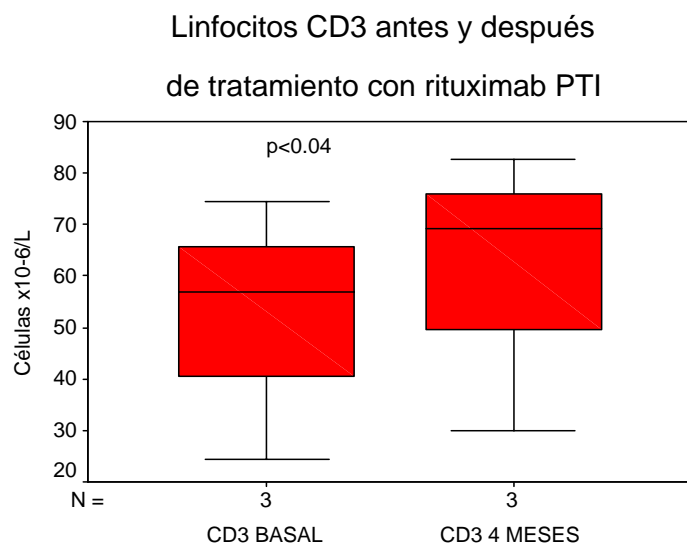
Del total de pacientes con trombocitopenia inmune refractaria incluidos entre marzo del 2005 y diciembre del 2007, ocho cumplieron criterios para entrar al protocolo de tratamiento con Rituximab. De estos, uno (12.5%), aumentó la cifra plaquetaria de manera espontánea y se excluyó del trabajo. De los 7 restantes, se obtuvieron los datos de este proyecto. Se analizaron 7 pacientes, 4 mujeres (57.1%) y 3 hombres (42.8%), con medianas de edad de 33 años (rango 21-61) y media de 40 años (rango 21-61). (Tabla 1) Se analizaron 7 marcadores linfocitarios diferentes: CD 20 y CD19 para estirpe B, CD3, CD 8 y CD 4 para estirpe T así como NK y NKT para poblaciones específicas. Simultáneamente, se analizaron los valores de Hb, leucocitos con sus subpoblaciones, y plaquetas.

Tabla 1. Características de los pacientes

Sexo		Edad	Prednisona	Tratamientos previos		
Masc	Fem	años		Danazol	Azatioprina	Esplenectomía
	Fem	55	x	x	x	x
	Fem	27	x	x	x	x
	Fem	53	x	x	x	x
	Masc	21	x	x	x	x
	Masc	30	x	x	x	x
	Masc	33	x	x	x	x
	Fem	61	x	x	x	x

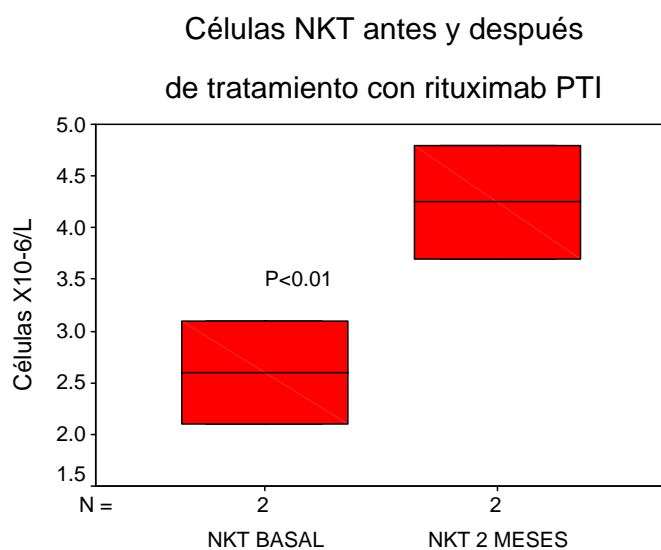
Se encontró significancia estadística en la medición de CD3, con un franco incremento en la cifra total de los mismos a los 4 meses (120 días) de iniciado el tratamiento con Rituximab, (IC 95%, rango -17.09 a -.501, $p < 0.04$). (Figura 1)

Figura 1.



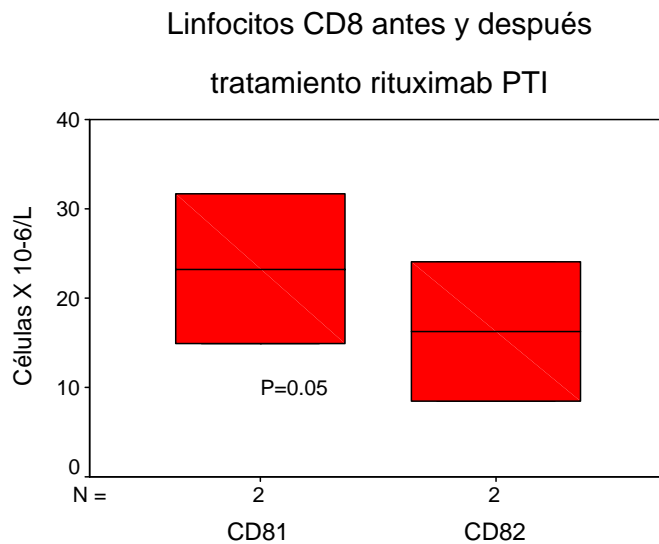
En los marcadores para linfocitos NKT (**Figura 2**), también se encontró aumento en la cifra absoluta de estas células comparando la basal con la muestra tomada a los 60 días (*IC 95% rango -2.28 a -1.01, $p<0.019$*)

Fig. 2



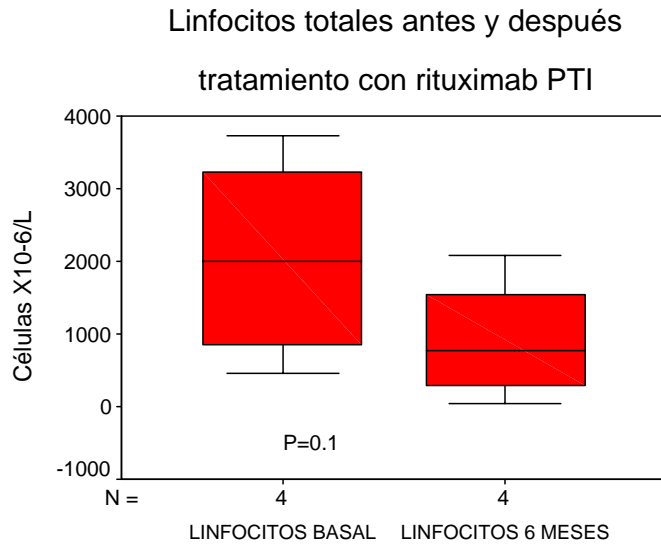
En la medición de CD8, hubo disminución en cifras absolutas (**Figura 3**), comparando la basal con los valores obtenidos a los 30 días (1 mes) (*IC95% rango 6.159 a 14.03, $p < 0.05$*)

Fig. 3



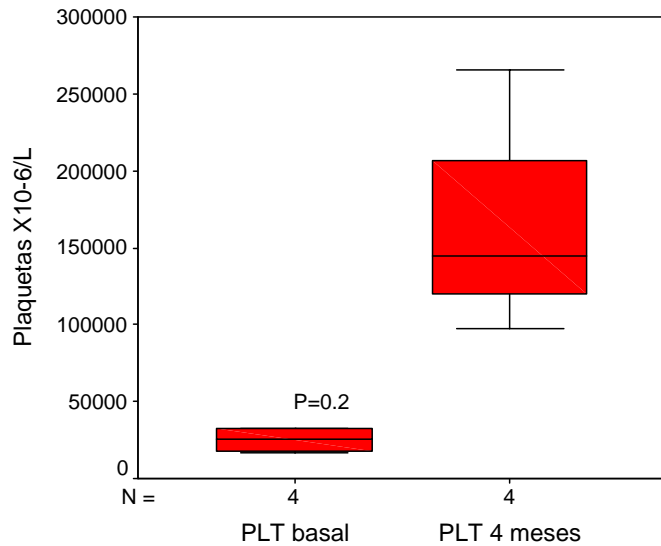
La medición simultánea de los parámetros de la Citometría Hemática seriada, arroja diferencias (**figura 4**) en los conteos linfocitarios totales del muestreo basal contra las muestras a los 150 días (*IC95% rango -920 a 3195, $p = 0.1$*)

Fig. 4



Asimismo, la cuenta plaquetaria muestra un claro (figura 5), aunque sin significancia estadística, aumento en la cifra obtenida a los 4 meses (120 días) (IC95% rango -286 a 951, $p=0.2$)

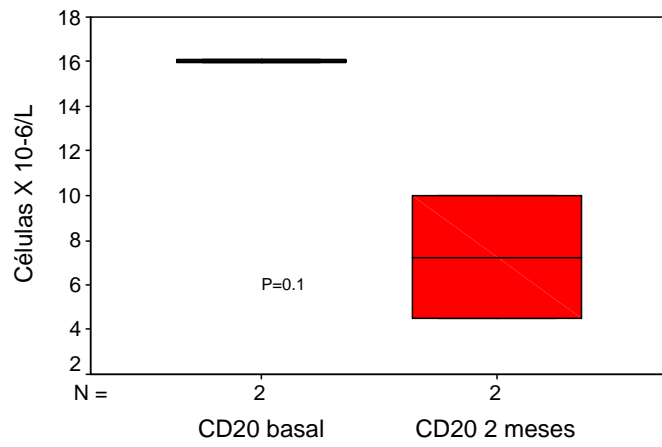
Fig. 5



También CD20 (Figura 6), con disminución ya a los 60 días con respecto de la basal (IC95% rango -25 a 43, $p= 0.1$)

(Fig. 6)

Cantidad de CD20 antes y después
tratamiento rituximab PTI



No se encontraron diferencias significativas entre el resto de los marcadores medidos.

Discusión:

El estudio aquí reportado muestra que el tratamiento con Rituximab de la PTI crónica refractaria disminuye la población linfocitaria total de los pacientes, específicamente las subpoblaciones CD3 y NKT, mientras que, a la par, se muestra una tendencia a la disminución de las poblaciones CD20 y CD8.

Las poblaciones CD3 y NKT tienen en común el ser linfocitos T con actividad antitumoral. El aumento de sus cifras en los pacientes de esta muestra pudiera explicarse como un efecto adicional al uso de rituximab, análogo al que muestran los pacientes con neoplasias de células B manejados con este, donde aumenta la cantidad y actividad de las células con propiedades antitumorales a la par del efecto conocido de lisis de los linfocitos B mediante citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), toxicidad celular dependiente del anticuerpo (ADCC), e inducción a la apoptosis. Respecto a la población NKT, es conocido que algunas de sus variantes tienen función reguladora y supresora. Sabiendo esto último, y sin evidencia publicada hasta el momento, podemos suponer que, al igual que con su función antitumor, el aumento aislado de las mismas es secundario al uso de rituximab y, el incremento en su actividad supresora tiene efecto sobre las células productoras de anticuerpos manteniéndolas al margen y evitando que ejerzan su toxicidad.

El marcador CD8 es característico de los linfocitos T citotóxicos. Dentro de esta población hay subvariedades que, dependiendo del resto de marcadores expresados, tienen distinta función. En este estudio la medición fue solamente de la población general, sin definición de los subgrupos, por lo que no es posible dar una explicación certera de la disminución del

mismo. Sabemos que, con base en su característica principal, se esperaría un incremento en su cantidad y actividad, sin embargo, tanto lo escaso de la muestra como la no definición de los marcadores secundarios, hacen poco valorable la respuesta en este grupo de pacientes, a pesar de la significancia estadística mostrada.

De los resultados obtenidos respecto a los linfocitos de estirpe T, el único estudio reportado hasta el momento, de Bromberg ME (9), realizado en Italia, reporta que la mediana de la cuenta absoluta de células T de una muestra de pacientes con características similares a la nuestra, determinada como niveles de CD3, 4 y 8, permaneció estable durante el período de estudio, distinto a lo encontrado por nosotros.

La disminución de los linfocitos B, manifestada por la baja en los marcadores CD20, es un resultado esperado, acorde con lo reportado en la literatura. En el estudio de Bromberg ME se realizó la determinación de células B de sangre periférica, con una mediana basal de $189 \times 10^6/L$ (rango 56-418), misma que fue declinando con el tratamiento, a niveles subnormales luego de la primera dosis en la mayoría de los pacientes. El nadir de los valores fue, en todos, en números inferiores al rango normal. La recuperación de las células B comenzó entre los 6 y 9 meses, alcanzando valores normales entre los 9 y los 12 meses.(9)

La cuenta plaquetaria mostrada en los resultados, ilustra solamente el grado de respuesta de los pacientes al anticuerpo monoclonal, acorde con la literatura, donde se han demostrado en estudios realizados en EUA, Italia, Dinamarca, Alemania, Reino Unido y México,

respuestas completas en 43.6% del total de pacientes, con respuestas globales del 62.5%, y medianas de duración de la respuesta de 10.5 meses (11,14).

El tamaño de la muestra de este estudio es poco, debido a la rigidez de los criterios de inclusión al estudio en el cual nos basamos. No obstante, a pesar de la poca cantidad de pacientes, se encuentran resultados estadísticamente significativos y otros que, a pesar de no alcanzar significancia, muestran una clara tendencia a establecer diferencias importantes entre las muestras basales y las posteriores.

Nuestros resultados no pueden, por estas razones, tomarse como definitivos, sin embargo establecen un punto de partida para estudios subsecuentes, ya iniciados, con seguimientos mayores y mucho más completos en cuanto al panel inmunofenotípico, así como con mayor rigor metodológico, que validen las conclusiones.

Conclusiones.

El manejo de los pacientes de PTI crónica refractaria con inmunoterapia, en este caso con un anticuerpo monoclonal anti CD20, Rituximab, disminuye la población de linfocitos B , que suelen ser los efectores de la respuesta inmune, al mismo tiempo que aumenta las subpoblaciones de linfocitos NKT y CD3, estableciendo así un mecanismo de acción alternativo del medicamento en este grupo de pacientes, enfatizando la función reguladora y antitumoral de estas moléculas

BIBLIOGRAFIA

1. Pújol-Moix N, Púrpura Trombocitopenica Autoimmune. En Pújol-Moix N. *Trombocitopenias*. Ed Mosby/Doyma libros. 1995, pp. 120-144
2. George JM, Woolf SH, Raskob GE, Wasser JS, Aledort LM, Ballem PJ, et al.. Idiopathic Thrombocytopenic Purpura: A Practice Guideline Developed by Explicit Methods for The American Society of Hematology. *Blood* 1996(88)3-
3. Lee M. Immune thrombocytopenic purpura. En Wintrobe's Clinical Hematology. 10^a edición. 1999. pp 456-464
4. Cines D, Blanchette V. Immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med* 2002(346)13:995-1002
5. Provan D, Newland A. Idiopathic thrombocytopenic purpura in adults. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25;S34-S52
6. Mc Millan R. Antiplatelet Antibodies in Chronic Adult immune Thrombocytopenic Purpura: Assays and epitopes. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003;25:S57-61
7. British Committee for Standards in Haematology General Haematology Task Force Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults, children and in pregnancy. *Br J Haematol*. 2003; 120: 574-96
8. Klaassen R. Decisión Análisis Techniques to Deal with "Unanswerable" Questions in idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003;25:S62-63
9. Bromberg ME. Immune thrombocytopenic Purpura- The changing Therapeutic Landscape. *N Eng J Med* 2006;355:1643-1645
10. Stasi R, Pagano A, Stipa E, Amadori S. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody treatment for adults with chornic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2001;98:4:952-7

11. García-Chavez J, Majluf-Cruz A, Montiel-Cervantes L, García-Ruiz Esparza M, Vela-Ojeda J. Rituximab therapy for chronic and refractory immune thrombocytopenic purpura: a long-term follow-up analysis. *Ann Hematol* 2007. 86(12): 871–877
12. Giagounidis AAN, Anhuf J, Schneider P, Germing U, Söhngen D, Quabeck K, et al. Treatment of relapsed idiopathic thrombocytopenic purpura with the anti-CD20 monoclonal antibody rituximab: a pilot study. *Eur J Haematol* 2002;69:95-100
13. *Diccionario de especialidades farmacéuticas PLM. Edición 53. 2007*
14. Arnold DM, Dentali FD, Crowther MA, Meyer RM, Cook RJ, Sigouin C, et al. Systematic Review: Efficacy and Safety of Rituximab for Adults with Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Ann Intern Med* 2007;146:25-33
15. Shanafelt TD, Madueme HL, Wolf RC. Rituximab for immune cytopenia in adults: Idiopathic thrombocytopenic purpura, autoimmune hemolytic anemia, and evans syndrome. *Mayo Clin Proc.* 2003;78:1340-46

Anexo 2. Hojas de recolección de datos.

N O	Nombre y afiliación	Edad	Teléfono	Inmunofenotipo basal	Visita 1	Visita 2	Visita 3	Visita 4
1				CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT
2				CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT
3				CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT
4				CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT	CD 19 CD20 CD 3 CD 8 CD4 NK NKT