



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

MUTACIONES GENÉTICAS
ASOCIADAS CON NEUTROPENIA
CONGÉNITA GRAVE Y SUS
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN :

HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

P R E S E N T A :

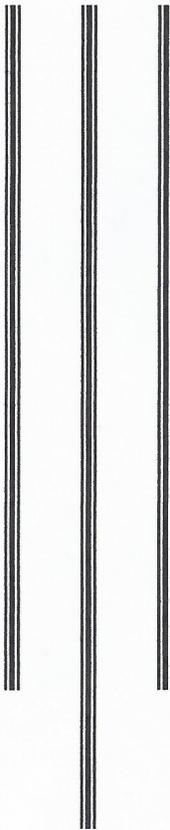
DRA. LUCÍA MARIANA MUÑOZ
JUÁREZ DÍAZ

TUTOR:

DRA. AÍDA MASHENKA MORENO GONZÁLEZ

CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2020





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

HOJA DE FIRMAS

**DR. SARBELIO MORENO ESPINOSA
DIRECTOR DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADÉMICO**

Aida Mashenka

ASESOR DE TESIS

**DRA. AIDA MASHENKA MORENO GONZÁLEZ
JEFE DE SERVICIO HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**



ASESOR METODOLÓGICO DE TESIS

**DR. JOSÉ ANTONIO OROZCO MORALES
MÉDICO ADSCRITO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**

Dedicatorias:

A mis padres, Susana y Jorge, por creer en mi y darme el mejor ejemplo siempre.

A mi hermana Fabiola, gracias por ser mi cómplice hasta el día de hoy.

A mis maestras, Doctora Mashenka, Doctora lo y Doctora Liz, por compartir sus conocimientos, apoyarme, darme la oportunidad para crecer y ser mejor cada día como médico y persona.

A todos los niños del Hospital Infantil de México por hacerme amar la hematología.

Índice:

| | |
|---|----|
| Antecedentes: | 5 |
| Marco teórico: | 7 |
| Planteamiento del problema:..... | 18 |
| Pregunta de investigación: | 19 |
| Justificación: | 20 |
| Objetivos (general y específico): | 22 |
| Métodos: | 22 |
| Plan de análisis estadístico: | 28 |
| Consideraciones éticas:..... | 28 |
| Descripción de variables: | 29 |
| Resultados del estudio: | 31 |
| Discusión: | 38 |
| Conclusión: | 41 |
| Cronograma de actividades: | 41 |
| Referencias bibliográficas: | 42 |
| Limitación del estudio..... | 44 |

ANTECEDENTES

La neutropenia congénita grave es un grupo heterogéneo de enfermedades hematológicas raras, causada por la incapacidad de maduración de los granulocitos. Estos pacientes presentan infecciones recurrentes que ponen en riesgo la vida desde los primeros meses de vida. ¹

La neutropenia congénita grave se describió por primera vez en 1922, pero inicialmente fue descrita como agranulocitosis o Síndrome de Schultz. Posteriormente en 1956 Rolf Kostmann describió por primera vez una agranulocitosis familiar heredada de forma autosómica recesiva llamada “agranulocitosis genética infantil” por mucho tiempo, pero posteriormente se utilizó el término Síndrome de Kostmann.

En 1959, se describió una familia con neutropenia heredada con un patrón autosómico dominante por primera vez; y fue hasta 1970, que la neutropenia congénita grave fue reportada como síndrome pre-leucémico. ²

En 1985 se clonó y se reprodujo al factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF o filgrastim) humano recombinante y se empezó a utilizar para investigación en 1987. Fue hasta 1993 que la Administración de alimentos y medicamentos (FDA) aprobó el filgrastim para el tratamiento de neutropenia congénita.

Durante el periodo de 1998 a 2000, se describieron una serie de mutaciones genéticas asociadas con esta enfermedad entre las que destaca *ELANE*, la cual es una elastasa de los neutrófilos, una serina citotóxica proteasa que se almacena en los gránulos azurófilos y se libera durante la activación de los neutrófilos. Mutaciones en *CXR4*, *SBDS*, *GFI1*, fueron descritas en 2003. Hacia 2006 y 2007 se describió la mutación en *HAX1*, *LAMTOR2*. En 2009, mutaciones en *G6PC3* y finalmente entre 2012 y 2014 mutaciones adquiridas en *RUNX1*, *TCIRG1* y *JAGN1*. ³

De acuerdo con el Registro Internacional de Neutropenia Congénita Grave, durante los últimos 10 años, se han recopilado datos sobre más de 700 pacientes con neutropenia

crónica. Este registro se estableció inicialmente en 1994 con patrocinio de AMGEN (Applied Molecular Genetics Inc) en California, Estados Unidos; sin embargo, el 1 de julio de 2000 se convirtió en una organización independiente especializada en investigar y educar sobre la neutropenia crónica. ⁴

El conocimiento actual sobre la patogénia molecular de la neutropenia congénita grave indica que el diagnóstico clínico incluye un grupo heterogéneo de trastornos que siguen diferentes patrones de herencia. De manera similar, los síndromes asociados con la neutropenia pueden clasificarse molecularmente, lo que a su vez permite una mejor comprensión de la base de la neutropenia. ⁵

Se han descrito 2 formas de herencia; la primera autosómico dominante, definida por mutaciones de elastasa de neutrófilos *ELANE* (anteriormente llamado ELA2), la cual se presenta aproximadamente en el 60% de los pacientes y un subtipo autosómico recesivo aproximadamente en el 30% de los pacientes, ambos con el mismo fenotipo clínico y morfológico. Las mutaciones adquiridas de CSF3R se identifican en aproximadamente el 80% de los pacientes con neutropenia crónica que desarrollaron leucemia mieloide independiente del subtipo genético *ELANE* o *HAX1*, lo que sugiere que estas mutaciones están involucradas en la leucemogénesis. ⁶

En 2006, la Universidad de Michigan, durante 42 meses realizó un estudio para secuenciar el gen *ELANE* de 401 pacientes. Se demostró que en 5 pacientes estaba presente la misma mutación heterocigota del gen *ELANE* en el mismo exón. Al realizar historia clínica de estos 5 pacientes se identificó que 4 de ellos fueron fertilizados in vitro y 1 con inseminación artificial. Una revisión adicional de la información clínica reveló que los 5 niños fueron concebidos utilizando el mismo esperma donante.

No se detectó mutación *ELANE* en ninguna de las madres de estos pacientes por lo que se proporcionó evidencia única de herencia autosómica dominante para esta enfermedad en el estudio mencionado.

Estudios recientes han identificado además de las mutaciones ya descritas que la deficiencia de *G6PC3* es una variante que asocia neutropenia congénita con varios defectos del desarrollo, incluyendo malformaciones cardíacas o urogenitales. La fisiopatología de las distintas variantes genéticas es compleja. El aumento de la apoptosis de los granulocitos neutrófilos puede ser causado por diversos mecanismos moleculares.⁸

En un estudio multicéntrico aleatorizado fase III de 374 pacientes se asignaron 2 brazos de pacientes, al primero con 120 pacientes se administraron dosis de filgrastim al diagnóstico (1.5 a 3.45mcgkgdía), al segundo se mantuvo en observación por un periodo de 4 meses y posteriormente se inició filgrastim (1.5 a 3.45mcgkgdía). De los 120 pacientes a quienes se les administró filgrastim, 108 tuvieron una media mayor o igual a 1500 neutrófilos totales, 4 respondieron parcialmente (alcanzando neutrófilos totales entre 500 y 1500); 8 no respondieron a tratamiento con cuenta de neutrófilos menores a 500. El uso de filgrastim se asoció a una reducción en la incidencia y duración de eventos infecciosos hasta en un 50% en el primer brazo mientras que en el segundo se presentaron más infecciones durante el periodo sin tratamiento.

Para aquellos pacientes con más de 8mcgkgdía de filgrastim se presentó un 18% (95% IC 7-28%) de riesgo para sepsis y 34% (95% IC 21-47%) para síndrome mielodisplásico o leucemia aguda.⁹

En la actualidad, no se tiene registro de la incidencia, prevalencia, características clínicas ni mutaciones genéticas asociadas, en México o Latinoamérica de la neutropenia congénita grave.

MARCO TEÓRICO

La hematopoyesis fue descrita desde finales del siglo XIX, es un proceso complejo y dinámico que ocurre para la formación, desarrollo y maduración de las células sanguíneas, llevada a cabo en la médula ósea y es extremadamente regulado para satisfacer las demandas diarias.

Las células madre se pueden dividir en 3 tipos; totipotenciales, pluripotenciales y multipotenciales entre las cuales se encuentran las del sistema hematopoyético.

Las células progenitoras ya comprometidas no poseen rasgos morfológicos distintivos que permitan reconocerlas como pertenecientes a una estirpe celular sino más bien se pueden identificar por su capacidad para formar colonias en cultivos.

Las células progenitoras de la serie granulocítica/macrofágica provienen de un progenitor común, la UFC-GM, cuya maduración está regulada por los factores estimulantes de colonias de granulocitos y monocitos (FEC-G, FEC-M y FEC-GM) y las cuales dan origen a la unidad formadora de granulocitos (UFC-G) y a la unidad formadora de monocitos (UFC-M).

Granulopoyesis

Se define como la formación de neutrófilos, eosinófilos y basófilos, los cuales comparten el mismo patrón de proliferación, diferenciación y almacenamiento en la médula ósea. El progenitor se compromete con la línea mieloide y en respuesta a varios estímulos el pool de proliferación contiene mieloblastos, promielocitos, mielocitos, metamielocitos y bandas. Finalmente, al terminar la división celular se encuentran los neutrófilos maduros. Los neutrófilos en sangre periférica se encuentran tanto en la circulación como en la zona marginal del endotelio. Los principales factores de crecimiento para la granulopoyesis son la interleucina 3 (IL-3) y factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (FEC-GM, FEC-G y FEC-M). Los neutrófilos circulantes en sangre periférica tienen una vida media de 6-10 horas.⁸

La mayoría de los casos de neutropenia son adquiridos y se deben a destrucción periférica más que a disminución en la producción en la médula ósea, como causa menos común se presentan las neutropenias congénitas.

La neutropenia se define como una cuenta absoluta de neutrófilos <1500 células \times mm^3 , la cual se obtiene al contar el porcentaje de neutrófilos y bandas presentes en la cuenta leucocitaria total.

El término leucopenia y granulocitopenia por lo general conllevan a neutropenia, pero es importante señalar que granulocitopenia se refiere a una cuenta disminuida de neutrófilos, eosinófilos y basófilos; y leucopenia, a todos los leucocitos incluyendo granulocitos y linfocitos.

El término neutropenia congénita se refiere a neutropenia secundaria a un síndrome de falla medular. Se debe principalmente a 3 condiciones clínicas; neutropenia congénita severa, neutropenia cíclica y Síndrome de Shwachman-Diamond.⁹

El riesgo de infecciones inicia con una cuenta total de neutrófilos menor a 1000 células/ mm^3 .

| Cuenta de neutrófilos | Riesgo de infección |
|--|--|
| 1500 células/mm ³ (>1.5 x 10 ⁹ /L) | Ninguno |
| 1000 a 1500 células/mm ³ | No hay riesgo significativo de infección; la fiebre se puede tratar de forma ambulatoria |
| 500 a 999 células/mm ³ | Riesgo bajo de infección; la fiebre se puede tratar de forma ambulatoria |
| 200 a 499 células/mm ³ | Riesgo significativo de infección; la fiebre siempre se debe tratar de forma hospitalaria con antibióticos parenterales |
| <200 cels x mm ³ | Riesgo de infección muy significativo; la fiebre siempre se debe tratar de forma hospitalaria con antibióticos parenterales; pocos o ningún signo clínico de infección |

TABLA 1. Correlación entre el recuento absoluto de neutrófilos y el riesgo infeccioso. ¹⁰

Neutropenia congénita grave

La neutropenia congénita grave (NCG) se define como una enfermedad heterogénea con recuento absoluto de neutrófilos inferior a 500 células/mm³ debido a un fallo primario en la mielopoyesis. Se caracteriza por estar presente desde el nacimiento, con detención en la diferenciación de neutrófilos en la etapa promielocito/mielocito y una marcada propensión a desarrollar mielodisplasia y leucemia mieloide aguda, así como muerte por infecciones bacterianas. ¹¹

Epidemiología

El espectro de la neutropenia congénita puede ir desde formas intermitentes hasta una ausencia permanente, dependiendo la mutación genética como la neutropenia cíclica, Enfermedad de Bath, Schwachman-Diamond, Síndrome de Cohen entre otros. Todas estas formas de neutropenia congénita son extremadamente raras y tienen herencia monogénica, que puede ser ligada al X, autosómica recesiva o dominante.

Además de la neutropenia congénita con un defecto genético documentado, varios pacientes que presentan neutropenia crónica de origen genético probable son considerados como neutropenia congénita. Esta categoría representa del 30% al 50% de los pacientes. Los estudios epidemiológicos han demostrado que la prevalencia de neutropenia es de aproximadamente 4.5% en raza negra y 0.8% en caucásicos. ¹²

Hay pocos datos disponibles sobre otras poblaciones, pero se ha observado una alta frecuencia en la península arábiga, y la frecuente neutropenia leve reportada en Creta probablemente corresponda a la misma entidad.

La neutropenia congénita es poco reconocida por el sistema de salud pública a nivel mundial por su baja prevalencia.

Incidencia

Hasta ahora, no existe un enfoque homogéneo para un registro de la neutropenia congénita. En Israel y Canadá, 27 pacientes están incluidos en el registro del síndrome de insuficiencia de la médula ósea.

En Suecia y Francia, una estructura específica está dedicada a registrar casos de neutropenia congénita, pero en Francia el Registro de Neutropenia Crónica Severa también participa en la base de datos del Registro Nacional Francés de Enfermedades de Inmunodeficiencia Primarias y la Sociedad Europea para la Inmunodeficiencia (ESID). En Irán, los casos de neutropenia congénita son registrado en un registro general de inmunodeficiencia. En México, no se tiene registro de pacientes con neutropenias crónicas o congénitas. ¹³

La incidencia al nacimiento es un indicador relevante para una condición genética. Hasta la fecha, solo 2 estudios han investigado esta incidencia al establecer una proporción entre el número de casos nuevos observados durante un período específico y el número de nacimientos durante el mismo intervalo.

En el estudio canadiense, se informó una tasa de 15.9 casos de neutropenia congénita por millón de nacimientos, mientras que el estudio sueco informó una tasa de incidencia de 10 casos por millón de nacimientos.

La magnitud de estas tasas de incidencia parece ser similar al nacer, pero surgen diferencias significativas para algunas otras patologías que incluyen neutropenia, que tiene una tasa de incidencia de 8.5 casos por millón de nacimientos en Canadá; y 2.5 casos por millón de nacimientos en Suecia. Hasta ahora, es difícil establecer si tal diferencia refleja los antecedentes genéticos de la población estudiada en lugar de algún sesgo que interfiera en la evaluación. ¹⁴

Prevalencia

La prevalencia es el número de pacientes vivos en un área geográfica definida. Este indicador es muy difícil de evaluar porque supone que todos los pacientes vivos en un territorio determinado pueden contabilizarse. Otro método es conocer la incidencia exacta del nacimiento y la esperanza media de vida para cada enfermedad.

Aún no se tiene mucho conocimiento sobre neutropenia congénita como para esperar información confiable respecto a la prevalencia en una población ya que de acuerdo con la Canadian Task Force on Preventive Health Care se tiene un grado de recomendación B; es decir, moderada evidencia para recomendar la intervención clínica de prevención,

Sin embargo, algunos registros incluyen neutropenia congénita y neutropenia idiopática, o incluso neutropenia autoinmune. Entre los diferentes países, la tasa de prevalencia más alta observada fue de 9 casos por millón de habitantes en Francia. Una tasa tan alta es probablemente un valor mínimo porque la cobertura de todos los registros, incluido el registro francés, es menos eficiente para los pacientes adultos, que pueden tener neutropenia congénita. El progreso en la inscripción en el registro debería ocurrir en todos los países para obtener mejores indicadores. ¹⁵

Epidemiología genética

Comprender la genética de la neutropenia congénita no solo es un progreso para la fisiopatología de las enfermedades, también es útil para clasificar a los pacientes y permite las comparaciones entre cohortes de pacientes, ofreciendo la posibilidad de determinar la epidemiología genética de la neutropenia congénita.

Sin embargo, se necesitan 2 condiciones mínimas para estudiar epidemiología genética: el gen responsable de un subtipo y que los pacientes deben ser examinados. Tal proceso lleva tiempo en ser difundido en todo el mundo. Para un recién nacido afectado por neutropenia congénita, la enfermedad es reconocida fenotípicamente por un médico, si la tecnología está disponible para el diagnóstico, se estudia el gen. Toda esta consideración lleva a un retraso en la detección de casos después del nacimiento, además del tiempo necesario para obtención de resultados.

Este contexto explica por qué muchos pacientes permanecen sin diagnosticar y por qué los estudios epidemiológicos genéticos de neutropenia congénita son un proceso largo. La mutación para el gen *ELANE* es la más frecuentes en todos los países y está presente en aproximadamente el 40 a 60% de los casos.

En el registro francés, 20% de los 527 pacientes tenían neutropenia con mutación de *ELANE* (10% neutropenia congénita grave y 10% neutropenia cíclica), 20% tenían síndrome de Shwachman Diamond, 6% tenían enfermedad de almacenamiento de glucógeno Ib, 4% tenían enfermedad de Barth, 3% tenía la enfermedad de Cohen y entre el 1% y el 2% tenía mutaciones de *HAX1*, *G6PC3*, *STK4 / MST1* o *GATA2*, mientras que el 30% de los casos permaneció sin determinar.

Sin embargo, la distribución de las diferentes formas se vio influenciada por los orígenes geográficos de los pacientes (por ejemplo, inmigrantes a países occidentales). Algunas mutaciones parecían estar vinculadas con el origen geográfico (*HAX1* en Kurdistán y Suecia, *LAMTOR2* en menonitas), mientras que las mutaciones de *ELANE*, *SBDS*, *SLC37A4* y *CXCR4* parecen estar distribuidas universalmente.¹⁶

Descripción clínica

In vitro, la actividad antibacteriana de los neutrófilos puede representarse mediante una curva de dilución simple, pero in vivo es un proceso más complejo.

La neutropenia central conlleva un riesgo mucho mayor de infecciones bacterianas y fúngicas que la neutropenia periférica. El riesgo de infección también depende de la duración de la neutropenia, y el riesgo de infecciones fúngicas aumenta después de varias semanas.

Los sitios de infección son variables. Los más frecuentes son la piel y las mucosas, presentan gingivitis erosiva, hemorrágica y dolorosa asociada con pápulas. Las lesiones gastrointestinales difusas a veces están presentes, lo que provoca dolor abdominal y diarrea, y en ocasiones imita la enfermedad de Crohn en estudios radiológicos. Estas lesiones también pueden estar relacionadas con la enteritis bacteriana. Debe recordarse que los síntomas de tales infecciones pueden ser atípicos en pacientes con neutropenia profunda, presentando inflamación local, ausencia de pus y una tendencia necrótica.

Una manifestación que aparece de forma particular en estos pacientes es el *ecthyma gangrenosum* (ulceración perianal infecciosa). Las infecciones bacterianas son más frecuentes, y generalmente involucran a *Staphylococcus aureus* y *epidermis*, estreptococos, enterococos, neumococos, *Pseudomonas aeruginosa* y bacilos gramnegativos. La mayoría de las infecciones por hongos involucran especies de *Candida* o *Aspergillus*.¹⁷

En el momento del diagnóstico, el sitio de infecciones y la morfología de la médula ósea no distinguen entre los pacientes que presentan mutaciones de *ELANE* o *HAX1*. Sin embargo, los antecedentes familiares de paternidad consanguínea pueden ser indicativos del subtipo recesivo con mutaciones de *HAX1*. En el curso de la enfermedad, ambos grupos de pacientes responden bien al tratamiento con el factor de crecimiento de colonias de granulocitos G-CSF, pero no responden al factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos GM-CSF.

En pacientes con deficiencia de HAX1, la aparición de síntomas neurológicos durante la infancia (defectos cognitivos, discapacidad intelectual, epilepsia) puede estar asociado a neutropenia congénita. Los hallazgos recientes sugieren una correlación genotipo-fenotipo que depende de la localización de la mutación HAX1 y su influencia en las variantes de transcripción.

La distribución genética en 114 pacientes con neutropenia congénita de la Rama Europea del Registro Internacional de Neutropenia Crónica Grave (SCNIR) realizó secuenciación para mutaciones de *ELANE* y *HAX1*. De 114 pacientes evaluados, 65 presentó mutación de *ELANE* y 14, mutaciones de *HAX1*, 35 pacientes fueron negativos para ambas mutaciones. Actualmente se está realizando un análisis genético completo de todos los pacientes registrados dentro del SCNIR para determinar la prevalencia de las mutaciones. ¹⁸

Tratamiento

El G-CSF es el tratamiento de primera elección en casi todos los pacientes con neutropenia congénita grave para lograr mantener una cuenta de neutrófilos totales entre 1000 y 1500 células/mm³.

En general, al inicio del tratamiento, se administra diariamente por vía subcutánea; al comenzar con una dosis moderada de 5-10 mcg por kg por día. La dosis se incrementa gradualmente en algunos pacientes en intervalos de 10 a 14 días hasta que el paciente mantiene constantemente una cuenta de más de 1000 neutrófilos totales, el cual es un umbral que suele ser suficiente para mejorar los síntomas y prevenir infecciones. El subtipo genético aún no se correlaciona bien con la dosis de G-CSF necesaria para elevar el recuento total de neutrófilos. ¹⁹

Los pacientes tratados con G-CSF deben tener recuentos de neutrófilos de forma periódica para asegurar un tratamiento adecuado. El paciente se considera un "no respondedor" en dosis de G-CSF de más de 50 mcg por kg por día y neutrófilos totales menores a 500 células/mm³. Estos pacientes deben considerarse como candidatos para el trasplante de células hematopoyéticas progenitoras.

La mayoría de los pacientes en tratamiento con G-CSF pueden mantener neutrófilos totales en cuenta normal o casi normal, pero aún pueden experimentar algunas infecciones y desarrollar gingivitis. El incumplimiento en la continuidad del tratamiento es la razón más común de los fracasos del tratamiento. El tratamiento con G-CSF puede revertir la deficiencia cuantitativa de los neutrófilos, pero las funciones completas de estas células en pacientes con neutropenia congénita grave pueden no ser completamente restauradas.

Los neutrófilos de los pacientes mostraron una generación defectuosa de radicales de oxígeno y una reducción de la quimiotaxis in vitro. CYBB, que codifica un componente clave de la NADPH oxidasa, está regulado a la baja en pacientes con neutropenia congénita grave. La disfunción de los neutrófilos también podría deberse a defectos específicos en las proteínas bactericidas de los neutrófilos (por ejemplo, deficiencia en el péptido antibacteriano LL37). Sin embargo, el tratamiento con G-CSF tiene muchos efectos para mejorar las funciones de los neutrófilos: prepara el estallido metabólico asociado con la fagocitosis y estimula la producción de varias proteínas antibacterianas de neutrófilos, y de ese modo media un aumento neto en la actividad funcional de los neutrófilos.

El G-CSF es más efectivo como tratamiento preventivo, pero los pacientes con neutropenia congénita grave que presentan infecciones deben comenzar a recibir una combinación de G-CSF y antibióticos lo antes posible.²⁰

El riesgo de complicaciones hematológicas a largo plazo, como el riesgo de desarrollar síndrome mielodisplásico o leucemia mieloide aguda, varía considerablemente en todo el espectro de las etiologías genéticas de la neutropenia congénita grave. El riesgo específico para cada gen o mutación es difícil de determinar, porque el número de casos conocidos en todo el mundo es muy bajo y la duración del seguimiento es demasiado corta para extraer conclusiones sólidas.

En pacientes tanto pediátricos como adultos, con subtipos con un alto riesgo conocido (por ejemplo, mutaciones en *ELANE*, *HAX1* o *SBDS*), se deberá realizar monitoreo con aspirados anuales de médula ósea, incluidos análisis citogenéticos y pruebas de detección mutacional CSF3R. Como las aberraciones del cariotipo o las mutaciones asociadas a la leucemia, como en *RUNX1*, se producen antes de la leucemia, su detección podría sugerir iniciar el trasplante de médula ósea antes de que se presente transformación leucémica.

El desarrollo de osteopenia y osteoporosis de inicio precoz se informó en aproximadamente el 40% de los pacientes con neutropenia congénita grave, según las mediciones de densidad ósea. Los mecanismos patológicos subyacentes aún no están claros, y, afortunadamente, las fracturas son eventos muy poco frecuentes. El desarrollo de osteopenia y rara vez la osteoporosis parece ser independiente del defecto genético subyacente, pero se requieren más análisis de correlación genotipo-fenotipo.

Para los pacientes que no responden al tratamiento con G-CSF, el trasplante de células madre hematopoyéticas progenitoras es el único tratamiento curativo actualmente disponible. Tras un trasplante exitoso, los pacientes normalizan sus recuentos de sangre periférica y no requieren más tratamiento con G-CSF. Sin embargo, el G-CSF sigue siendo el tratamiento de elección.²¹

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las neutropenias congénitas graves se presentan en 1 a 10 casos por millón de habitantes. No se han determinado las mutaciones genéticas en pacientes con neutropenia congénita grave en México ni en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, así como la asociación con sus características clínicas. La importancia de este estudio reside en la necesidad de conocer las mutaciones asociadas, así como las características clínicas de los pacientes, lo que nos permitirá al momento del diagnóstico genético conocer el curso de la enfermedad con un tratamiento oportuno para mejorar la supervivencia y la calidad de vida.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué mutaciones genéticas se presentan en pacientes con neutropenia congénita grave del Hospital Infantil de México Federico Gómez y cuáles son sus características clínicas?

JUSTIFICACIÓN

Se ha determinado que pacientes con neutropenia congénita grave tienen asociación con la mutación de los genes *ELANE*, *HAX1*, *G6PC3*, *GFI1*, *CSF3R* y *WAS*.

En el servicio de Hematología pediátrica del Hospital Infantil de México Federico Gómez no se cuenta con la mutación genética asociada a pacientes con diagnóstico de neutropenia congénita grave lo cual es un factor el cual puede influir en la evolución de la enfermedad.

Es importante identificar el tipo de mutación, así como las características y manifestaciones clínicas para establecer una correlación y así saber cuáles son los factores que pueden influir en una evolución favorable o desfavorable de la enfermedad.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Realizar secuenciación genética de los pacientes con neutropenia congénita grave para identificar la mutación asociada.

Objetivos específicos

- Describir las características clínicas al momento del diagnóstico.
- Describir qué tipo de mutación tiene mejor respuesta a tratamiento con G-CSF.
- Describir con cuántos neutrófilos totales se hizo el diagnóstico.
- Identificar las complicaciones presentadas.

MÉTODOS

- DISEÑO:

Se trata de un estudio de cohorte con características observacional, descriptivo y retrospectivo.

- POBLACIÓN DEL ESTUDIO:

Universo: Pacientes del Hospital Infantil de México Federico Gómez con diagnóstico de neutropenia congénita grave por características clínicas y aspirado de médula ósea.

- CRITERIOS

Criterios de inclusión:

- Pacientes con neutropenia congénita grave diagnosticada en el Hospital Infantil de México Federico Gómez por el servicio de hematología que presente los siguientes criterios:
 - o Cuenta de neutrófilos <200 cels x mm^3 que no tenga recuperación espontánea.
 - o Aspirado de médula ósea con detención en la maduración de los promielocitos/mielocitos o ausencia de los mismos
- Periodo de enero de 2010 a enero de 2019.
- Edad de 0 a 18 años.
- Sexo masculino y femenino.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con otro tipo de neutropenia.
- Pérdida de seguimiento por un periodo de más de 12 meses.
- Pacientes que no deseen participar en el estudio.

- DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO:

Recursos y materiales:

Equipo de cómputo, Software SPSS, tubos de muestra con EDTA, jeringas 5ml, agujas amarillas, toallas alcoholadas al 70% con isopropil, guantes, cubrebocas, expedientes de archivo clínico.

Procedimiento:

- 1.- Seleccionar a los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión.
- 2.- Al tener la sospecha diagnóstica por clínica y laboratorio de neutropenia congénita severa se realizó toma de muestra para secuenciación genética.

Descripción de toma de muestras:

Realizar lavado de manos con clorhexidina al 2%, selección sitio de punción, limpiar la piel con toalla alcoholada con isopropil al 70% del centro a la periferia 3cm, aproximadamente, del centro a la periferia en círculos. Colocar torniquete 5 cm proximal al sitio de venopunción, insertar la aguja y extraer 2ml de sangre. Colocar la sangre en el tubo EDTA y mover suavemente el tubo utilizando la técnica de inversión. Realizar eliminación de residuos, así como del material punzocortante teniendo en cuenta las normas de bioseguridad Institucional. Enviar la muestra al laboratorio de genómica, genética y bioinformática.

El análisis de la muestra se basa en amplificación mediante PCR de puente. Para la secuenciación se utilizan 4 nucleótidos con terminaciones reversibles y cada ciclo tiene lugar con los 4 nucleótidos simultáneamente, se divide en 4 etapas:

- I. Preparación de la genoteca: Se definen como muestras de fragmentos aleatorios de ADN, seguidos de adaptadores 5' y 3'. El marcaje combina reacciones de fragmentación y unión en un solo paso que incrementa la eficiencia del proceso de preparación de la genoteca. Posteriormente los fragmentos unidos con los adaptadores son amplificados y purificados. (illumina)

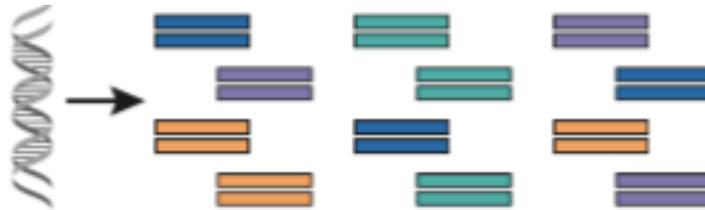


FIGURA 1. Fragmentación de ADN ²²

- II. Generación del cluster: En una superficie de celdillas los moldes para la secuenciación son inmovilizados, que presenta el ADN accesible para las enzimas asegurando alta estabilidad de los moldes ligados a una superficie y uniones no específicas de nucleótidos marcados con fluorocromos. Cada fragmento se amplifica creando hasta 1000 copias idénticas de cada molde de moléculas. Ésta, se realiza por PCR de puente. Para la secuenciación de las cadenas sencillas se añade un cebador, mientras que, para el DNA de doble cadena, se elimina la cadena original y únicamente permanece la cadena complementaria la cual servirá de molde para la segunda secuenciación.

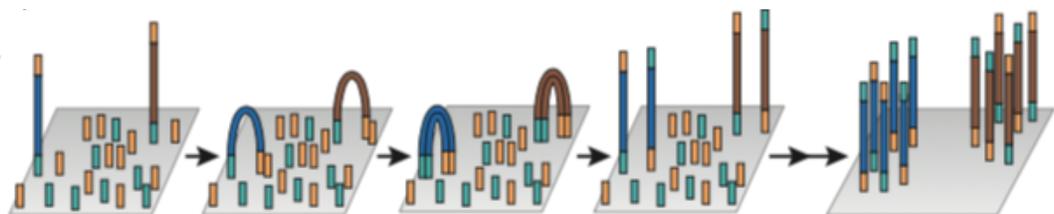


FIGURA 2. Amplificación en puente ²²

- III. Secuenciación por síntesis: Se secuencian cadenas de molde de ADN por ciclos repetidos en los que va añadiendo cada base de forma individual. La secuenciación por síntesis utiliza cuatro terminadores reversibles, marcados con fluoróforo diferente, de forma que se detecta cada base cuando son incorporadas a las cadenas de moldes de ADN. Los 4 terminadores se encuentran ligados a los nucleótidos y bloquean la polimerización, por lo que la polimerasa sólo puede añadir una base a cada cadena de ADN. Como las bases individuales se añaden de modo uniforme a los moldes, el proceso de secuenciación produce secuencias de ADN de longitud uniforme dando como resultado una secuenciación base a base permitiendo asignaciones de bases fuertes entre el genoma. Se consigue de esta forma secuenciar millones de clusters de la superficie celular al mismo tiempo.

Después de cada ciclo de incorporación, se eliminan los terminadores y se determina la identidad de la base insertada por la excitación inducida y la formación de imágenes que se registran. La asignación de las bases está hecha directamente de las medidas de intensidad de señal durante cada ciclo.

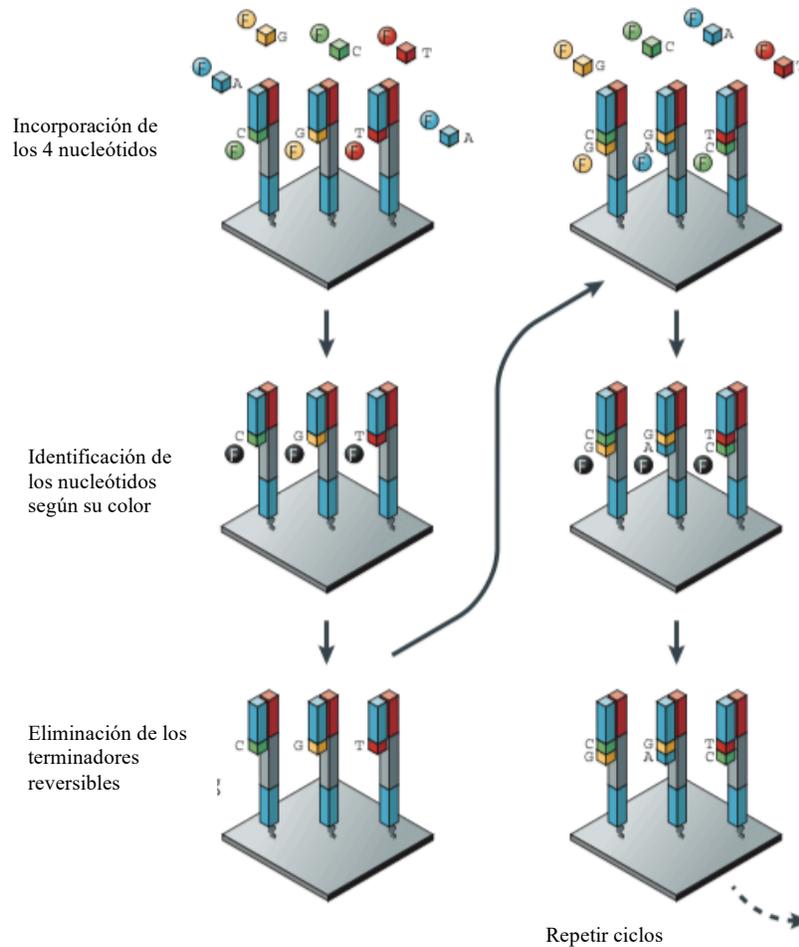


FIGURA 3. Secuenciación por síntesis mediante terminadores reversibles. ²³

IV. Análisis de datos: Cada lectura de base tiene una puntuación asignada según la calidad por lo que el Software utilizado puede hacer diferencias y generar puntuaciones seguras. Se equilibra la contribución de cada base a la secuencia y se detectan las variantes de las secuencias. ²⁴

Se acudió al archivo del Hospital Infantil de México Federico Gómez para la revisión de expedientes clínicos de pacientes con diagnóstico de neutropenia congénita grave. Del total de expedientes clínicos se extrajeron los datos para cubrir los objetivos de este estudio incluyendo características clínicas, de laboratorio, tratamiento y la aparición de evento adverso (leucemia, infecciones, muerte).

PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se capturaron y analizaron en el programa estadístico SPSS versión 20.0, se realizó estadística descriptiva con frecuencias y porcentajes de las variables cualitativas, nominales y ordinales. Se presentaron todos los resultados en tablas y gráficas.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Se considera una investigación con riesgo mínimo de acuerdo con el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud; ya que es un estudio prospectivo que emplea el riesgo de datos a través de procedimientos comunes en exámenes físicos o de diagnóstico y tratamiento. Se utilizaron procedimientos de riesgo mínimo como son: extracción de sangre por punción venosa y recolección de epitelio. Además en el artículo 17 considera la investigación sin riesgo como aquellos estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquellos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran: cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, en los que no se le identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta.

DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

| NOMBRE DE LA VARIABLE | TIPO DE VARIABLE | UNIDAD DE MEDIDA | DEFINICION CONCEPTUAL |
|-------------------------------------|--|-------------------------|---|
| Género | Nominal, dicotómica, categórica, cualitativa | Masculino Femenino | Conjunto de características fisiológicas y sexuales diferenciadas fenotípicamente |
| Edad | Cuantitativa, ordinal, continua | Meses | Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo hasta el momento del estudio |
| Edad al diagnóstico | Cuantitativa, ordinal, continua | Meses | Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo hasta el diagnóstico |
| Hemoglobina | Cualitativa, ordinal, continúa | g/dL | Proteína presente en los eritrocitos |
| Leucocitos | Cualitativa, ordinal, continúa | Células/mm ³ | Célula derivada de la serie granulocítica incluye neutrófilos, linfocitos y en ocasiones bandas |
| Neutrófilos totales | Cualitativa, ordinal, continúa | Número | Cuenta absoluta de neutrófilos |
| Neutropenia | Cuantitativa, ordinal, continua | Celulas/microL | Cuenta absoluta de neutrófilos <1500cels x microL |
| Plaquetas | Cualitativa, ordinal, continúa | Células/mm ³ | Célula derivada de megacariocitos participa en la hemostasia primaria |
| Infección de tejidos blandos | Cualitativa, ordinal, dicotómica, categórica | Ausente. Presente | Sobrecrecimiento bacteriano o fúngico en tejidos blandos |
| Mutación asociada | Cualitativa, ordinal | Ausente Presente | Mutación estructural asociada |
| ELANE | Cualitativa, ordinal dicotómica | Ausente Presente | Elastasa de neutrófilos |
| HAX1 | Cualitativa, ordinal dicotómica | Ausente Presente | HCLS1 asociado a proteína X-1 |
| G6PC3 | Cualitativa, ordinal dicotómica | Ausente Presente | Glucosa-6-fosfatasa subunidad catalítica 3 |
| GFI1 | Cualitativa, ordinal dicotómica | Ausente Presente | Factor de crecimiento independiente transcripcional 1 |

| | | | |
|-------------------------------------|------------------------------------|---------------------|---|
| CSF3R | Cualitativa, ordinal dicotómica | Ausente Presente | Receptor 3 de factor estimulante de colonias |
| WAS | Cualitativa, ordinal dicotómica | Ausente Presente | Wiskott |
| Antecedentes familiares | Cualitativa, ordinal dicotómica | Ausente Presente | Antecedentes familiares de neutropenia |
| Tratamiento | Cualitativa, nominal | Ausente Presente | Filgrastim, factor estimulante de colonias de granulocitos |
| Respuesta al tratamiento | Cuantitativa, discreta | Ausente Presente | Tiempo de respuesta con NT >1000 en 3 semanas |

RESULTADOS DEL ESTUDIO

En total se revisaron 18 expedientes con diagnóstico de neutropenia en el servicio de Hematología del Hospital Infantil de México entre los años 2010-2019; de los cuales se excluyeron 13 por diagnóstico de neutropenia cíclica. Finalmente 5 pacientes fueron aptos para el estudio, todos con aspirado de médula ósea con reporte de detención en la maduración o ausencia de precursores mieloides.

La distribución por sexo de los pacientes con neutropenia congénita grave demuestra un predominio del sexo masculino en un 80% con una relación 4:1.

La edad promedio al momento del diagnóstico es de 11 meses, encontrándose una edad mínima de 4 meses y una máxima de 1 año 10 meses.

En cuanto a la presentación clínica, el 80% de los pacientes debutó con abscesos en diferentes sitios y sólo uno con otitis media aguda complicada.

| Presentación clínica | Número pacientes | |
|-----------------------------|---|-----|
| Absceso (80%) | Absceso pulmonar | 1/5 |
| | Absceso submandibular | 1/5 |
| | Absceso hepático | 1/5 |
| | Abscesos perianales y submandibulares | 1/5 |
| Otitis media aguda (20%) | OMA complicada con destrucción de celdillas mastoideas | 1/5 |

TABLA 2. Presentación clínica en la población de estudio.

Los parámetros de laboratorio que sobresalen al diagnóstico fueron: valor de hemoglobina con valores mínimos de 5.5g/dL y máximos de 12g/dL, con una DS de 2.651. La cuenta leucocitaria con valores desde 5,500 a 10,900 células/mm³ con una DS 1,835.647 células/mm³. El valor de neutrófilos totales con una media de 118 y DS de 121.391 células/mm³ así como la cuenta plaquetaria al diagnóstico entre 250 y 430,000 células/mm³

| VARIABLE | MÍNIMO | MÁXIMO | MEDIA | MEDIANA | DS |
|--|---------------|---------------|--------------|----------------|-----------|
| <i>Hemoglobina g/dL</i> | 5.5 | 12 | 9.16 | 9.2 | 2.561 |
| <i>Leucocitos células/mm³</i> | 5,500 | 10,900 | 7780 | 7540 | 1835.647 |
| <i>Neutrófilos totales</i> | 0 | 300 | 118 | 94 | 121.391 |
| <i>Plaquetas células/mm³</i> | 250,000 | 430,000 | 354,000 | 357,500 | 66893.945 |

TABLA 3. Valores de laboratorio al momento del diagnóstico en pacientes con neutropenia congénita grave.

Se realizó secuenciación genética a los siguientes genes asociados con neutropenia:

- CLPB. ClpB homolog, mitochondrial AAA ATPase chaperonin localizado en 11q13.4
- CSF3R. Colony stimulating factor 3 receptor localizado en 1p34.3
- DNM2. Dynamin2 localizalizado en 19p13.2
- ELANE. Elastase, neutrophil expressed localizado en 19p13.3
- G6PC3. Glucose-6-phosphatase catalytic subunit 3 localizado en 17q21.31
- GATA1. GATA binding protein 1 localizado en Xp11.23
- GFI1. Growth factor independent 1 transcriptional repressor localizado en 1p22.1
- HAX1. HCLS1 associated protein X-1 localizado en 1p21.3
- JAGN1. Jagunal homolog 1 localizado en 3p25.5
- LAMTOR2. Late endosomal/lysosomal adaptor, MAPK and MTOR activator 2 localizado en 1q22
- SLC37A4. Solute carrier family 37 member 4 localizado en 11q23.3
- TAZ. Tafazzin localizado en Xq28
- USB1. U6 snRNA biogénesis phosphodiesterase 1 localizado en 16q21
- VPS13B. Vacuolar protein sorting 13 homolog B localizado en 8q22
- VP45. Vacuolar protein sorting 45 homolog (VP45) 1q21.2
- WAS. Wiskott-Aldrich syndrome localizado en Xp11.23

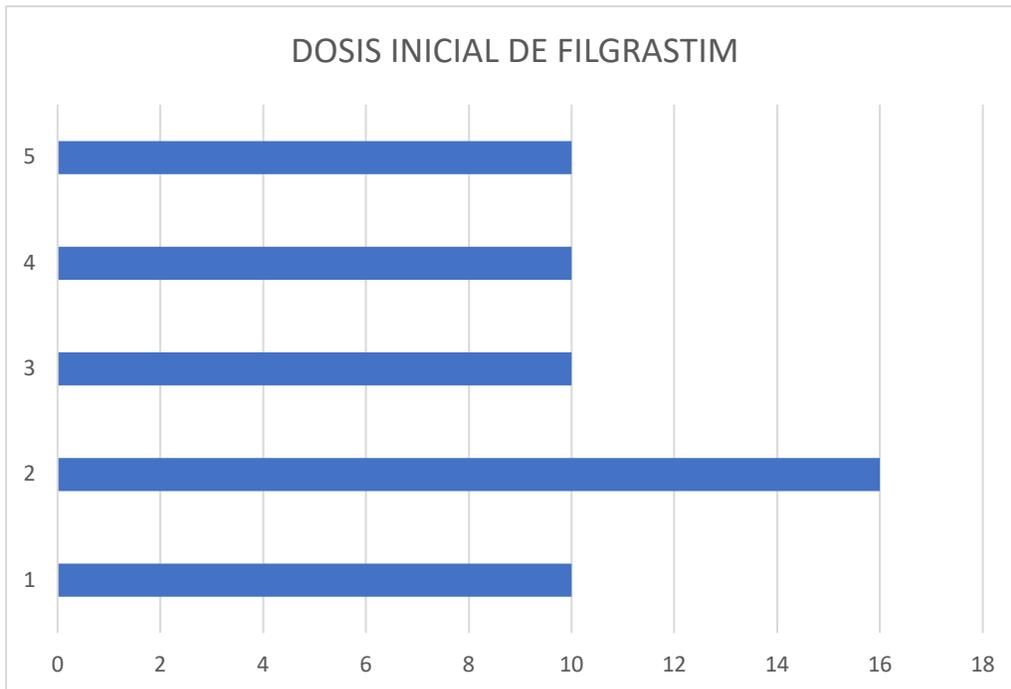
El 100% de los pacientes presentaron mutación para el gen *ELANE* en el exón 6/6, con genotipo heterocigoto con herencia autosómica dominante.

El 60% se clasificó como delección del gen y el 40% como una mutación sin sentido o “nonsense”.

| Paciente | Gen | Localización | Variante | Genotipo | Clasificación | Herencia |
|----------|--------------|--------------|-------------|--------------|---------------|----------------------|
| 1 | <i>ELANE</i> | Exón 6 | p.Gly214Arg | Heterocigoto | Delección | Autosómico dominante |
| 2 | <i>ELANE</i> | Exón 6 | p.Met188Val | Heterocigoto | Delección | Autosómico dominante |
| 3 | <i>ELANE</i> | Exón 6 | p.Gly210Trp | Heterocigoto | Nonsense | Autosómica dominante |
| 4 | <i>ELANE</i> | Exón 6 | p.Met216Trp | Heterocigoto | Nonsense | Autosómico dominante |
| 5 | <i>ELANE</i> | Exón 6 | p.Gly214Arg | Heterocigoto | Delección | Autosómico dominante |

TABLA 4. Mutación genética asociada a neutropenia congénita severa en pacientes de hospital Infantil de México Federico Gómez.

En cuanto al tratamiento se inició con factor estimulante de colonias de granulocitos, (filgrastim). La dosis inicial en 4/5 pacientes fue 10mcgkgdía cada 24 horas y en un paciente se utilizó dosis inicial de 16mcgkgdía cada 24 horas.

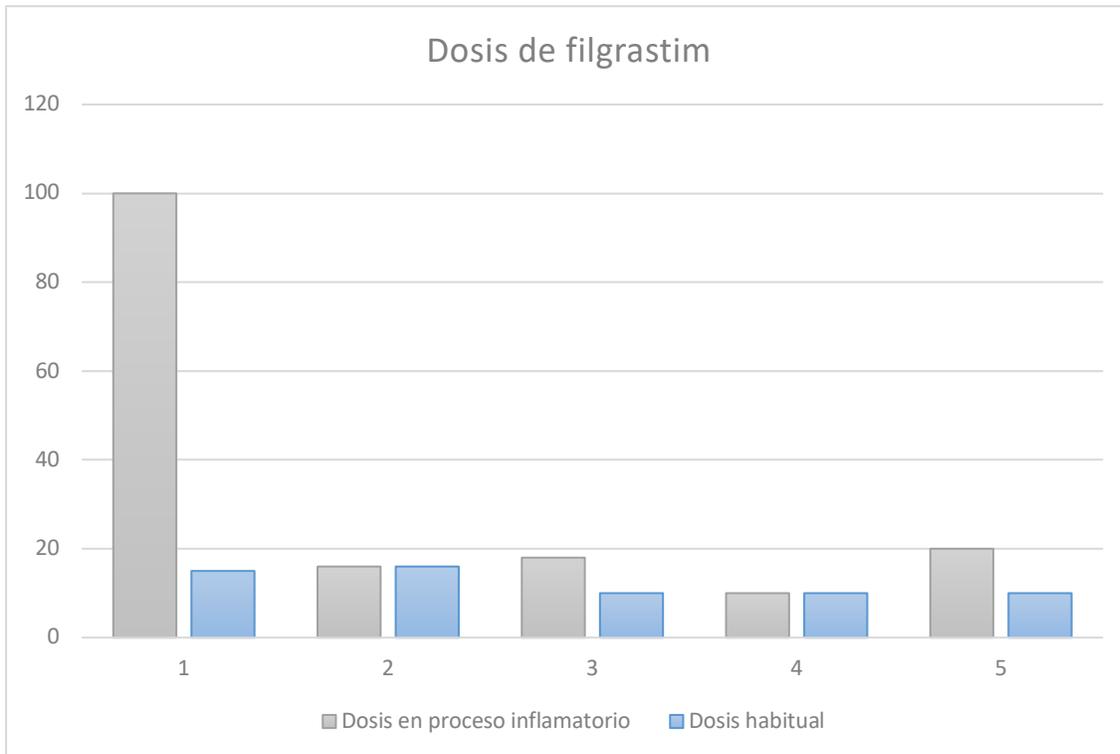


GRÁFICA 2. Dosis inicial de filgrastim al momento del diagnóstico expresada en mcg por kilogramo de peso.

Posteriormente se valoró respuesta al tratamiento con recuperación de neutrófilos a más de 1000 células/mm³ en 15 días, el 60% requirió incremento de dosis de filgrastim hasta 26mcgkgdo para lograr la respuesta deseada.

Durante los procesos inflamatorios asociados a infecciones o sepsis, los pacientes requirieron incremento de dosis de filgrastim para mejorar la cuenta de neutrófilos totales y así mejorar condiciones clínicas. Durante el proceso infeccioso, la dosis máxima fue de 100mcg por kilogramo de peso cada 24 horas en 1/5 pacientes; 20, 16 y 18 mcgkg cada 24 horas en 3/5 pacientes respectivamente y 10 mcgkg cada 24 horas en un paciente, logrando con estas dosis adecuada respuesta; es decir, más de 1000 neutrófilos totales hasta resolver el proceso inflamatorio.

Posterior a la resolución del proceso infeccioso, se continuó con dosis habitual de filgrastim para tener una cuenta neutrófilos totales entre 700 y 1500. Las dosis requeridas fueron de 10mcg/kg tres veces por semana en el 60% de los pacientes y 15-16mcg/kg 3 veces por semana en 40% restante.



GRÁFICA 3. Dosis máxima de filgrastim expresada en mcg por kilogramo de peso en proceso inflamatorio o infección y dosis máxima habitual sin proceso inflamatorio o infección.

Únicamente uno de los pacientes (20%) se envió a trasplante de células hematopoyéticas progenitoras como tratamiento definitivo posterior al uso de filgrastim por considerarse “no respondedor”; sin embargo, presentó falla al injerto primario en 2 ocasiones.

Dentro de las complicaciones más frecuentes se encuentran las infecciones. En el primer año de diagnóstico se presentaron un máximo de 5 y un mínimo de 2, requiriendo hospitalización por más de 7 días con uso de antibiótico de amplio espectro.

Sin embargo, no se contabilizaron las infecciones que únicamente requirieron tratamiento ambulatorio ya que en muchas ocasiones los pacientes acudieron a hospitales de segundo o primer nivel de atención por lo que se estima que la prevalencia de infecciones es mayor.

Como complicación de los procesos infecciosos se requirieron intervenciones quirúrgicas llevadas a cabo en el 100% de los pacientes para resolución de abscesos pulmonares, hepáticos, apendicitis y otomastoriditis.

Un paciente, (20%) presentó transformación a leucemia mieloide aguda M2. Otro paciente presentó absceso perianal, así como sepsis con foco pulmonar, con datos de respuesta inflamatoria sistémica requiriendo apoyo aminérgico, presentó 2 paros cardiorespiratorios y finalmente falleció presentando falla orgánica múltiple secundaria a sepsis.

| Paciente | Infecciones por año | Cirugías | Transformación leucémica | Muerte |
|-----------------|----------------------------|--|---------------------------------|---------------|
| 1 | 3 | OP lobectomía | No | No |
| 2 | 4 | OP mastoidectomía | No | No |
| 3 | 5 | OP mastoidectomia y meatoconchoplastia | No | Si |
| 4 | 3 | OP apendicectomía Mastoiditis bilateral | LMA M2 | No |
| 5 | 2 | OP drenaje absceso hepático | No | No |

TABLA 5. Complicaciones en pacientes con neutropenia congénita grave

DISCUSIÓN

En este estudio, la neutropenia congénita grave fue más frecuente en el sexo masculino que en el femenino a comparación de la literatura donde no hay predominio de género en población caucásica.¹²

En cuanto a la edad, se obtuvo una edad media de presentación de 11 meses. De acuerdo con el registro Nacional de Neutropenia Congénita grave, en el 50% de los pacientes se presentará una infección grave durante el primer mes de vida y en el 90% a los 6 meses de edad.

Al ser definida como una enfermedad rara por presentarse en menos de 100 pacientes por un millón de habitantes, de forma mundial no se tiene adecuada conciencia de la enfermedad porque no se toma en cuenta dentro las sospechas diagnósticas iniciales retrasando el diagnóstico por lo que se tiene una prevalencia menor a la reportada por lo que es importante como subespecialista tener en cuenta las posibilidades diagnósticas más raras. Sería de gran utilidad hacer mayor difusión de la enfermedad para un diagnóstico oportuno, sobre todo en nuestro país.

Se pudo observar que las infecciones de tejidos blandos y abscesos predominaron como manifestación clínica de presentación, datos similares a los reportados en la literatura además de otras infecciones como celulitis, otitis media, estomatitis y gingivitis.

El 100% de los pacientes presentaron mutación para el gen de elastasa de neutrófilos *ELANE* en el exón 6 el cual se ha descrito ocurre en hasta un 60% de los pacientes; sin embargo, existen más de 100 mutaciones en más de 20 genes y por el número de muestra no fue posible demostrar el porcentaje extrapolado al registrado en la población mundial, por este motivo no fue posible correlacionar con las características clínicas, ya que solo se encontró una mutación.

El tratamiento inicial de acuerdo con el Registro Nacional de Neutropenia congénita grave deberá ser estimulante de factor de crecimiento de colonias de granulocitos o filgrastim a dosis de 5 a 10mcg/kg cada 3 a 5 días hasta presentar respuesta.

En el Hospital Infantil de México el tratamiento con filgrastim se inicia al diagnóstico a una dosis de 10mcg por kilogramo de peso cada 24 horas por lo que no se vio diferencia comparado con estudios que lo inician 4 meses posteriores.

Una de las complicaciones del uso de filgrastim es presentar osteopenia y osteoporosis, sin embargo, en el Hospital Infantil de México Federico Gómez no se cuenta con seguimiento para valorar esta complicación por lo que habría que considerar realizar de forma anual Rx de huesos largos para valorar osteopenia o densitometría ósea para valorar osteoporosis e iniciar tratamiento oportuno.

Los pacientes que presentan una respuesta subóptima a dosis de filgrastim que exceden los 6mcg/kg/día tienen mayores tasas de mortalidad por sepsis, así como desarrollo de síndrome mielodisplásico o leucemia aguda.

En este estudio, del total de pacientes, el 20% presentó leucemia mieloide aguda después del uso prolongado de filgrastim a dosis mayores a 8mcg/kg/día, lo cual concuerda con el estudio multicéntrico realizado donde se presentó un 34% de riesgo para síndrome mielodisplásico o leucemia aguda a dosis mayores a 8mcg/kg/día.

La mortalidad en este estudio se presentó en el 20% secundaria a sepsis grave con foco pulmonar requiriendo dosis máxima de filgrastim a 20mcg/kg/día presentando una adecuada respuesta con neutrófilos totales arriba de 1500 en los primeros 15 días lo cual corresponde a lo reportado en los estudios ya mencionados previamente donde una dosis mayor a 8mcg/kg/día presenta riesgo de sepsis y mortalidad hasta en un 18%.

CONCLUSIÓN

El estudio genético es útil para conocer el tipo de mutación y establecer una correlación entre el genotipo y el fenotipo de los pacientes con neutropenia congénita severa sin embargo no se pudo comparar con los resultados reportados a nivel internacional por el tamaño de muestra.

La neutropenia congénita grave se considera una enfermedad rara según la OMS por tener una incidencia con menos de 500 casos nuevos en 1,000,000 de habitantes. Por este motivo la muestra no es estadísticamente significativa, pero presenta gran valor para estudios posteriores.

A pesar de ser una muestra pequeña, se demostró que la mutación genética con mayor prevalencia es *ELANE*, reportada en el 100% de nuestros pacientes coincidiendo con la literatura al ser la más frecuente.

No fue posible comparar características clínicas entre mutaciones ni respuesta a tratamiento ya que el 100% de la muestra resultó con mutación del mismo gen.

El tratamiento de elección es la administración de filgrastim por vía subcutánea al cual respondieron dos terceras partes de los pacientes.

A pesar de que el trasplante de células hematopoyéticas progenitoras es el tratamiento curativo debe cumplir con ciertas características como tener donador 100% compatible o ser considerado en el caso de pacientes con uso prolongado de filgrastim con mala respuesta o en aquellos con síndrome mielodisplásico o leucemia aguda.

Las causas de mortalidad son las asociadas a infecciones y sepsis, demostrada en este estudio en el 20% de nuestros pacientes.

No fue posible establecer una correlación entre las características clínicas y la mutación asociada sin embargo se describió como la mutación para *ELANE* como la más frecuente.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

| ACTIVIDAD | FECHA |
|--|---------------------------------|
| Búsqueda de antecedentes | Septiembre-Octubre 2018 |
| Elaboración del protocolo | Noviembre-Diciembre 2018 |
| Recolección y análisis de datos | Enero 2019 |
| Discusión de resultados | Febrero 2019 |
| Conclusiones | Marzo– Abril 2019 |
| Entrega de tesis | Mayo 2019 |

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Welte, K., Zeidler, C. & Dale, D. C. Severe congenital neutropenia. *Semin.Hematol.* **43**, 189–195 (2006)
2. Gilman, P. A., Jackson, D. P. & Guild, H. G. Congenital agranulocytosis: prolonged survival and terminal acute leukemia. *Blood* **36**, 576–585 (1970)
3. Sokowa, J., Dale, D., Touw, I., Zeidler, C., Welte, K., Severe congenital neutropenias. *Nature reviews, Disease Prim.* **3**, 4-6 (2017)
4. The Severe Chronic Neutropenia International Registry (acceso 16 marzo de 2019) Disponible en: <https://depts.washington.edu/registry/index.html>
5. Boxer, L., Newburger, P., A molecular classification of congenital neutropenia syndromes. *Pediatr Blood Cancer.* **49**(5):609 (2007)
6. Zeidler, C., Germeshausen, M., Klein, C., Welte, K., Clinical implications of ELA2, HAX1-, and G-CSF-receptor (CSF3R) mutations in severe congenital neutropenia. *Br J Haematol.* **144**(4):459 (2009).
7. Laurence, A., Boxer, M., Steven, S., Strong evidence for autosomal dominant inheritance of severe congenital neutropenia associated with ELA2 mutations. *The Journal of Pediatrics.* 633-36. (2006).
8. Boztug, K., Klein, C., Genetic etiologies of severe congenital neutropenia. *Curr Opin Pediatr.* **23**(1):21 (2011).
9. Dreyer, N., Garner S. Registries for robust evidence. *JAMA*; **302**(7):790–1 (2009).
10. Sieff, C., Zon, L., Anatomy and Physiology of Hematopoiesis. *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood.* Saunders-Elsevier.195-273 (2009).
11. Thomas. D., Coates, M., Congenital neutropenia. (acceso 10 enero 2019) Disponible en www.uptodate.com
12. Milá. M., Neutropenia congénita grave: análisis de las características clínicas, estudios diagnósticos, tratamiento y seguimiento a largo plazo. *An Pediatr (Barc)* **75**(6):396-400 (2011).
13. Hsieh, M., et al. Prevalence of neutropenia in the U.S. population: age, sex, smoking status, and ethnic differences. *Ann Intern Med*; **146**(7):486-92 (2007).

14. Donadieu, J., et al. Epidemiology of Congenital Neutropenia. *Hematol Oncol Clin N Am* 27;1-17 (2013).
15. Dale, D., Bolyard, A., The Severe Chronic Neutropenia International Registry: 10-year follow-up report. *Support Cancer Ther*;3(4):220–31. (2006).
16. Bellanne-Chantelzo, C., Clauin, S., et al. Mutations in the ELA2 gene correlate with more severe expression of neutropenia: a study of 81 patients from the French Neutropenia Register. *Blood*; **103**(11):4119–25. (2004).
17. Donadieu, J., et al, Congenital neutropenia: diagnosis, molecular bases and patient management. *Journal of Rare Diseases*, **6**:26 (2011).
18. Zeidler, C., et al, Clinical implications of ELA2-, HAX1-, and G-CSF-receptor (CSF3R) mutations in severe congenital neutropenia, *British Journal of Haematology*, **144**, 459–467 (2008).
19. Zeidler, C. et al. Management of Kostmann syndrome in the G-CSF era. *Br. J. Haematol.* **109**, 490–495 (2000).
20. Pütsep, K., Carlsson, G., Deficiency of antibacterial peptides in patients with morbus Kostmann: an observation study. *Lancet* **360**, 1144–1149 (2002).
21. Skokowa, J., Severe congenital neutropenias *NATURE REVIEWS | DISEASE PRIMERS*; **3**, 1-18 (2017).
22. Shendure J., Ji H. Next-generation DNA sequencing. *Nature*; **26**(19):1135-1145 (2008).
23. Michael, L., Sequencing technologies, the next generation. *Nature Rev.* **11**. 31-46 (2010).
24. Bentley D.R., Balasubramanian S., Swedlow H.P., et al. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature*; **456**(7218):53-59 (2008).

LIMITACIÓN DEL ESTUDIO

Una limitación importante para este estudio es el tamaño de la muestra, ya que, a pesar de ser un centro de referencia nacional, la prevalencia de esta enfermedad es baja, por lo que sería interesante ampliar la muestra con pacientes de diferentes centros de referencia en México para conocer la prevalencia de mutaciones, así como reportar sus características clínicas.