

## EDITORIAL

- 159 Reflexiones personales sobre el síndrome de plaquetas pegajosas

*Peter Kubisz*

- 161 La Odisea en Hematología

*Alberto A. Palacios Boix*

## ARTÍCULOS ORIGINALES

- 166 Caracterización molecular de las mutaciones FLT3-ITD en pacientes colombianos con leucemia mieloide aguda

*Angélica María Jiménez-Mejía, Carlos Muskus, José Domingo Torres, Francisco Cuéllar-Ambrossi, Mauricio Camargo-Guerrero, Gonzalo Vásquez-Palacio*

- 173 Eficacia y seguridad en la recolección de células hematopoyéticas de sangre periférica en donadores pediátricos utilizando un catéter central

*César Homero Gutiérrez-Aguirre, Rosario Salazar-Riojas, Olga Cantú-Rodríguez, Óscar González-Llano, Josué Emmanuel Ríos-Solís, David Gómez-Almaguer*

- 178 Leucemia mieloide crónica: curso del embarazo en pacientes tratadas con inhibidores de cinasa de tirosina

*Osiris Da Costa, Mildred Borrego, María Gil, José López*

## ARTÍCULO DE OPINIÓN

- 182 Ingresar a un hospital puede ser un fracaso para algunos pacientes

*Guillermo J Ruiz-Argüelles*

- 185 ÍNDICE DE ARTÍCULOS DEL VOLUMEN 14, 2013

- 187 ÍNDICE DE AUTORES DEL VOLUMEN 14, 2013

# Revista de Hematología

Rev Hematol Mex 2013;14:octubre-diciembre

## EDITOR

Guillermo J. RUIZ-ARGÜELLES. Puebla, México

## COMITÉ EDITORIAL

Álvaro AGUAYO. Ciudad de México, México

Javier BOLAÑOS-MEADE. Baltimore, EUA

Jorge CORTÉS. Houston, EUA

Aurora DE-LA-PEÑA. Ciudad de México, México

Sergio GIRALT. Nueva York, EUA

David GÓMEZ-ALMAGUER. Monterrey, México

Renán A. GÓNGORA-BIACHI. Mérida, México

Bertha IBARRA. Guadalajara, México

José Carlos JAIME-PÉREZ. Monterrey, México

Francesco Lo COCO. Roma, Italia

Xavier LÓPEZ-KARPOVITCH. Ciudad de México, México

Alejandro MADRIGAL. Londres, Inglaterra

Carlos MARTÍNEZ-MURILLO. Ciudad de México, México

Héctor MAYANI. Ciudad de México, México

Rubén A. MESA. Scottsdale, EUA

José María MORALEDA. Murcia, España

Rubén NIESVIZKY. Nueva York, EUA

Guillermo J. RUIZ-DELGADO. Puebla, México

Arlette RUIZ-de-SAEZ, Caracas, Venezuela

Jesús F. SAN-MIGUEL. Salamanca, España

Luz del Carmen TARIN-ARZAGA. Monterrey, México

Enrique TORRE-LÓPEZ. San Luis Potosí, México

José Francisco TOMAS. Madrid, España

Jorge VELA-OJEDA. Ciudad de México, México

Luis A. VILLELA. Monterrey, México

## PRESIDENTE

Dr. Xavier LÓPEZ-KARPOVITCH

## VICEPRESIDENTE

Dr. Ramón RIVAS LLAMAS

## SECRETARIA

Dra. Herminia BENÍTEZ ARANDA

## TESORERO

Dr. Salvador SILVA LÓPEZ

## VOCAL DE ACTIVIDADES CIENTÍFICAS

Dr. Erick CRESPO SOLÍS

## VOCAL DE MEMBRESÍA

Dr. Ignacio J. AGUIRRE-AGUIRRE

## COORDINADORA ACADÉMICA

Q.F.B. Josefa PIEDRAS ROSS

## COORDINADORA ADMINISTRATIVA

Mayra OVIEDO PELL

**Revista de Hematología** es una publicación trimestral, órgano oficial de la Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, AC, calle San Francisco 1626-406, colonia Del Valle, México 03100, DF. Teléfono: (55) 55 241112. sitio web: <http://amehac.org>. Registros de título y licitud de contenido, en trámite. Editada, producida y comercializada por: Edición y Farmacia, SA de CV (Grupo Nieto Editores), Calle José Martí Núm. 55, colonia Escandón, México 11800, DF. Teléfono: (55) 56782811. [www.nietoeditores.com.mx](http://www.nietoeditores.com.mx). Ventas: Georgina González T y Alejandra Nieto S. Diseño y formación: Elidé Morales R. Toda la correspondencia relacionada con el contenido editorial debe dirigirse al editor: Dr. Guillermo J RUIZ-ARGÜELLES, 8B Sur 3710 - Puebla 72530, Pue. Correo electrónico: [gruiz1@clinicaruiz.com](mailto:gruiz1@clinicaruiz.com). Impresa en México.



## CONTENIDO

### EDITORIAL

- 159 Reflexiones personales sobre el síndrome de plaquetas pegajosas  
*Peter Kubisz*
- 161 La Odisea en Hematología  
*Alberto A. Palacios Boix*

### ARTÍCULOS ORIGINALES

- 166 Caracterización molecular de las mutaciones FLT3-ITD en pacientes colombianos con leucemia mieloide aguda  
*Angélica María Jiménez-Mejía, Carlos Muskus, José Domingo Torres, Francisco Cuéllar-Ambrossi, Mauricio Camargo-Guerrero, Gonzalo Vásquez-Palacio*
- 173 Eficacia y seguridad en la recolección de células hematopoyéticas de sangre periférica en donadores pediátricos utilizando un catéter central  
*César Homero Gutiérrez-Aguirre, Rosario Salazar-Riojas, Olga Cantú-Rodríguez, Óscar González-Llano, Josué Emmanuel Ríos-Solís, David Gómez-Almaguer*
- 178 Leucemia mieloide crónica: curso del embarazo en pacientes tratadas con inhibidores de cinasa de tirosina  
*Osiris Da Costa, Mildred Borrego, María Gil, José López*

### ARTÍCULO DE OPINIÓN

- 182 Ingresar a un hospital puede ser un fracaso para algunos pacientes  
*Guillermo J Ruiz-Argüelles*
- 185 **ÍNDICE DE ARTÍCULOS DEL VOLUMEN 14, 2013**
- 187 **ÍNDICE DE AUTORES DEL VOLUMEN 14, 2013**

## CONTENTS

### EDITORIAL

- 159 Personal reflections on the Sticky Platelet Syndrome (SPS)  
*Peter Kubisz*
- 161 An odyssey in Hematology  
*Alberto A. Palacios Boix*

### ORIGINAL ARTICLES

- 166 Molecular characterization of FLT3-ITD mutations in Colombian patients with acute myelogenous leukemia  
*Angélica María Jiménez-Mejía, Carlos Muskus, José Domingo Torres, Francisco Cuéllar-Ambrossi, Mauricio Camargo-Guerrero, Gonzalo Vásquez-Palacio*
- 173 Efficacy and safety in the collection of hematopoietic stem cells from peripheral blood in pediatric donors using a central catheter  
*César Homero Gutiérrez-Aguirre, Rosario Salazar-Riojas, Olga Cantú-Rodríguez, Óscar González-Llano, Josué Emmanuel Ríos-Solís, David Gómez-Almaguer*
- 178 Course of pregnancy in chronic myelogenous leukemia patients given tyrosine kinase inhibitors  
*Osiris Da Costa, Mildred Borrego, María Gil, José López*

### OPINION ARTICLE

- 182 Being admitted to a hospital may be a failure for some patients  
*Guillermo J Ruiz-Argüelles*
- 185 **ARTICLE INDEX OF VOLUMEN 14, 2013**
- 187 **AUTHOR INDEX OF VOLUMEN 14, 2013**



## Personal reflections on the Sticky Platelet Syndrome (SPS)

Peter Kubisz, prof., M.D., D.Sc

*Once a platelet says to his comrades: lets aggregate, let it be our way. Though the clinicians liked our clotting, we can not all the time, it is not our wish! It is our destiny. No one understands us.*

G.V. Born

**S**ticky platelet syndrome (SPS) is a thrombophilic thrombocytopathy with familial occurrence and autosomal dominant trait, characterized by an increased in vitro platelet aggregation in response to low concentrations of adenosine diphosphate (ADP) and/or epinephrine (EPI).<sup>1,2</sup> SPS was for the first time publicly described as a separate clinical syndrome by Holiday and associates at the Ninth International Joint Conference on Stroke and Cerebral Circulation in Arizona in 1983.<sup>3</sup> The relation between platelet hyperaggregability and ischemic stroke was initially recognized by al-Mefty et al in 1979.<sup>4</sup> In 1984, Mammen treated a female patient who suffered from myocardial infarction during the third trimester of her first pregnancy and in whom the extensive laboratory testing of hemostasis revealed no abnormalities except in vitro increased platelet aggregation after ADP and EPI.<sup>5</sup> In the following years, Mammen and associates published their studies on a larger series of patients, defined generally accepted laboratory diagnostic criteria, and proposed two types (I and II) of the syndrome.<sup>5-8</sup> In the late 2000s, Mühlfeld et al<sup>9</sup> and El-Amm et al<sup>10</sup> regarded the syndro-

me as a possible cause of thrombotic complications and impaired function of the graft in kidney transplantation. Throughout the years, several studies focused on the etiology and pathogenesis of the syndrome, but they had failed to fully reveal the genetic basis underlying the syndrome.<sup>11</sup> Physicians working in different fields of medicine were interested in the SPS research in recent years (cardiology, surgery, and ophthalmology).<sup>12-14</sup>

Since 2002 the methods for diagnosis of SPS were introduced in Martin (The National Center of Hemostasis and Thrombosis in Slovakia). Currently, our Working Group devotes to all areas of hemostasis systematically, with the main emphasis on primary hemostasis. This group composes of 11 members (Dobrotova, Holly, Chudej, Chudy, Chuda, Ivankova, Lisa, Plamenova, Stasko, Sokol and Skerenova). We appreciate international cooperation with our Czech colleagues, Danubian League against Thrombosis and Haemorrhagic Disorders (DLTH), International Society on Thrombosis and Hemostasis (ISTH) and Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis (CLAHT).

Over 1500 people were examined on SPS since 2002. SPS was confirmed in 315 people. The most common clinical manifestation in our group of patients was: deep vein thrombosis, abortion, stroke, myocardial infarction, thrombophlebitis, and retinal vein occlusion. Also, we found arterial thrombosis in approximately two-thirds of all patients with SPS (with stroke and coronary syndro-

---

Department of Hematology and Transfusion Medicine, National Center of Hemostasis and Thrombosis, Jessenius Faculty of Medicine, Comenius University, Kollarova 2, 036 59 Martin, Slovakia

[www.nietoeditores.com.mx](http://www.nietoeditores.com.mx)

mes). SPS Type II is the most common in our population, SPS Type III is rare. This is very interesting because both SPS Type I and III are more frequent than SPS Type II in the Mexican population.<sup>15</sup> However, the aim of our work is not just a statistical analysis of SPS occurrence, but especially revealing its causes. It has been supposed that glycoprotein receptors on the platelet surface membrane may be involved, its abnormality leading into platelet hyperfunction. Up to now, no molecular substrate has been found to explain the platelet hyperaggregability. This being the reason why only few research groups have accepted this entity as a true thrombophilic condition. Our research had focused on GPIIIa, Gas6, and GPVI proteins. These glycoproteins were interesting because certain mutations in their genes were shown to modulate the risk of thrombosis event in humans. In our studies, we have confirmed for the first time that the SPS has probably the polygenic mode of inheritance. Each gene locus had an independent effect on a single phenotype. Therefore, hyperaggregability seems a phenotypic expression of several genes. There is an open question: are there genes of small or large effect? Further research in this area is needed. Platelets still hiding other secrets.<sup>11</sup>

Despite several unresolved issues and likely infrequent prevalence in general population, sticky platelet syndrome seems to be a disorder relevant for clinical practice. With its affection of predominantly young adults, relation to fertility issues, familial occurrence, distinct laboratory diagnostics, and treatment.<sup>11,16</sup>

## REFERENCES

- Mammen, EF. Ten-years' experience with the "Sticky platelet syndrome". *Clin Appl Thromb Hemost* 1995;1:66-72.
- Cesarman-Maus G. Myths and reality of the sticky platelet syndrome. *Rev Hematol Mex* 2011;12:55-56.
- Holiday PL, Mammen E, Gilroy J. Sticky platelet syndrome and cerebral infarction in young adults. Paper presented at: The Ninth International Joint Conference on Stroke and Cerebral Circulation 1983; Phoenix, AZ, USA.
- al-Mefty O, Marano G, Raiaraman S, Nugent GR, Rodman N. Transient ischemic attacks due to increased platelet aggregation and adhesiveness. Ultrastructural and functional correlation. *J Neurosurg* 1979;50:449-453.
- Mammen EF. Ten years' experience with the "Sticky platelet syndrome". *Clin Appl Thromb Hemost* 1995;1:66-72.
- Rubensfire M, Blevins RD, Barnhart M, Housholder S, Selik N, Mammen EF. Platelet hyperaggregability in patients with chest pain and angiographically normal coronary arteries. *Am J Cardiol* 1986;57:657-660.
- Mammen EF, Barnhart MI, Selik NR, Gilroy J, Klepach GL. "Sticky platelet syndrome": a congenital platelet abnormality predisposing to thrombosis? *Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch* 1988;115:361-365.
- Mammen EF. Sticky platelet syndrome. *Semin Thromb Hemost* 1999;25: 361-365
- Mühlfeld AS, Ketteler M, Schwamborn K, et al. Sticky platelet syndrome: an underrecognized cause of graft dysfunction and thromboembolic complications in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2007;7:1865-1868.
- El-Amm JM, Andersen J, Gruber SA. Sticky platelet syndrome: a manageable risk factor for posttransplant thromboembolic events. *Am J Transplant* 2008;8:465.
- Kubisz P, Stasko J, Holly P. Sticky Platelet Syndrome. *Semin Thromb Hemost* 2013;39:674-683.
- Randhawa S, Van Stavern GP. Sticky platelet syndrome and anterior- or ischaemic optic neuropathy. *Clin Experiment Ophthalmol* 2007;35:779-781.
- Bojalian MO, Akingba AG, Andersen JC, et al. Sticky platelet syndrome: an unusual presentation of arterial ischemia. *Ann Vasc Surg* 2010;24:e1-e6.
- Gehoff A, Kluge JG, Gehoff P, et al. Recurrent strokes under anticoagulation therapy: Sticky platelet syndrome combined with a patent foramen ovale. *J Cardiovasc Dis Res* 2011;2:68-70.
- Ruiz-Argüelles GJ, López-Martínez B, Valdés-Tapia P, Gómez-Rangel JD, Reyes-Núñez V, Garcés-Eisele J. Primary thrombophilia in Mexico. V. A comprehensive prospective study indicates that most cases are multifactorial. *Am J Hematol* 2005;78:21-26.
- Sokol J, Biringir K, Skerenova M, Hasko M, Bartosova L, Stasko J, Danko J, Kubisz P. Platelet aggregation abnormalities in patients with fetal losses: the GP6 gene polymorphism. *Fertility and Sterility* 2012;98:1170-1174.

## La Odisea en Hematología

Alberto A. Palacios Boix

### Zarpar hacia Ítaca

Desde la Antigüedad, la sangre y su contenido han atraído la atención de los hombres y los médicos. Investida por la teoría de los humores propuesta por Hipócrates (460- 377 a.n.e.), la sangre acarrea las metáforas de la vida y su permanencia. Pero no fue hasta los descubrimientos seminales de William Harvey (1628) en que la circulación adquirió una dimensión física y química. Si bien los hallazgos celulares y las técnicas de coagulación lo anticiparon, la Hematología se ha visto revolucionada con la patología clínica y la inmunología del siglo XX. Más radicalmente, por los avances moleculares que han impactado en la supervivencia de enfermedades linfó y mieloproliferativas, lo que abre una dimensión inusitada en este fascinante campo del conocimiento científico.

### El concilio de los dioses

Como sabemos por el poema épico referido, las mejores armas de la ciencia son la astucia (*mētis*) y la perseverancia. Odiseo escapa de los diversos obstáculos que le impone su regreso a la tierra prometida, Ítaca, gracias a Palas Atenea, su fuente de inspiración y recursos, urdiendo audaces réplicas y disfraces para encontrar la solución a sus dificultades. En Hematología, el empleo de técnicas de extracción, mantenimiento, licuación y modificación de los componentes formes y fluidos ha sido determinante para el descubrimiento de beneficios para los pacientes en diversas ramas de la Medicina. Aquí vale señalar las contribuciones de van Leeuwenhoek (1628), primero en describir los componentes sanguíneos; Christopher Wren (1656) y JC Major (1662), los primeros en aplicar inyecciones

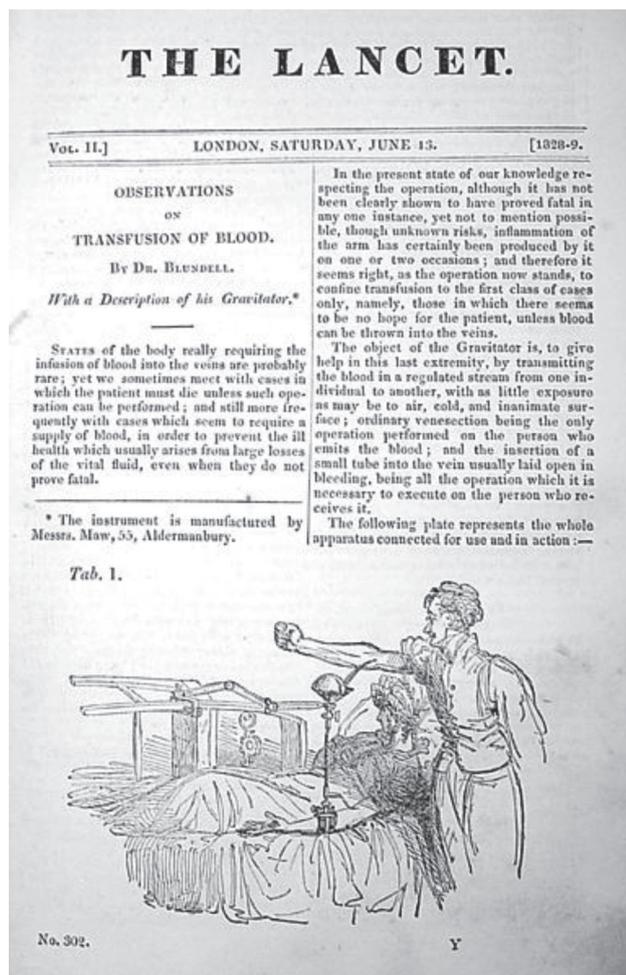
endovenosas a animales y humanos, respectivamente; y de Richard Lower y Jean Baptist Denis (1667), quienes aplicaron la primera transfusión sanguínea documentada en la Historia, que fue prohibida por orden eclesiástica, retrasando con ello tan necesario recurso otros 150 años.

### Telémaco

Hubo de pasar un siglo entero para que los alcances de la microscopia y el apego a la verdad científica, rindieran nuevos resultados. Considerado el “padre de la Hematología”, William Hewson (1739- 1774) cirujano formado en la Newcastle Infirmary y elegido a la Royal Society en 1770, describió las diferencias morfológicas entre eritrocitos y leucocitos. Además, hipotetizó la existencia de un sistema linfático y aisló la fibrina. Poco antes de morir propuso el concepto de que los eritrocitos tienen membrana, algo que no pudo probar y que cayó en el olvido.

### Dejar a Calipso

Un capítulo crucial en el desarrollo de la Hematología moderna lo constituye el empleo de transfusiones con fines terapéuticos, precursor del trasplante de médula ósea y la reposición de elementos formadores de colonias en la inmunopatología actual. La primera transfusión exitosa de sangre completa se hizo en el Hospital Guy's (segunda casa de quien esto escribe) para tratar una hemorragia postparto. Su autor, James Blundell, obstetra londinense graduado en Edimburgo, extrajo cuatro onzas de sangre del marido y se las transfundió a la parturienta, evitando su muerte inminente. En los siguientes diez años practicó diversas transfusiones en condiciones análogas, con éxito rotundo en cirugía abdominal y obstetricia. Como gran innovador, publicó sus observaciones exhaustivas y discretas en el *Lancet* como se aprecia en la Figura 1.



El valor de este trabajo permitió aplicar la primera transfusión a un paciente hemofílico en el hospital Saint George's de Londres (1840), identificar las plaquetas como un componente esencial de la coagulación (Alexandre Donne en 1842) y sentar las bases para la antisepsia, que el cirujano inglés John Lister (1867) estableció para combatir infecciones, justamente durante las transfusiones sanguíneas.

### Nausícaa y Alcínoo

El romanticismo en Europa sirvió de telón de fondo para los descubrimientos que dieron un giro determinante a la Hematología. Como las aventuras de Odiseo, prometían enlaces y distracciones que no se materializaron, gracias a la aguda observación científica de grandes investigadores. Baste mencionar algunos ejemplos ilustres. Antes de

trascender en su descripción de los anticuerpos y el empleo de neosalvarsán en sífilis (el famoso compuesto “Ehrlich 914”), el bacteriólogo del Hospital Charité en Berlín, Paul Ehrlich, fue quien identificó los componentes formes de la sangre con sus técnicas de tinción al microscopio. En 1908, Ehrlich compartió el Premio Nobel de Medicina y Fisiología con el bacteriólogo Ilya Méchnikov por sus contribuciones a la inmunología celular y humoral.

Sin duda, fueron Rudolf Virchow (1821-1902), el eminente patólogo prusiano, y Karl Landsteiner (1868-1943) quienes acumularon las leyendas y allanaron el camino a Ítaca.

El primero se acredita como el fundador de la teoría celular (de ahí su famoso epigrama, *Omnis cellula e cellula*) y con ello, el descubrimiento de las células que caracterizan las leucemias. Demostró también la importancia de la fibrina en el proceso de coagulación y acuñó los términos embolismo y trombosis, vigentes hasta nuestros días. Una aportación que se extendió a diversas especialidades fue su descripción del proceso inflamatorio, con la cascada de factores procoagulantes y cicatriciales en juego. A este ilustre personaje de la vida política alemana debemos la triada de Virchow, presente en toda flebotrombosis: hipercoagulabilidad, cambios hemodinámicos y disfunción endotelial. Con ella se anticipó un siglo y medio al papel activo del endotelio vascular en los fenómenos de trombofilia.

Landsteiner fue otro gigante científico, cuya detallada descripción de las aglutininas permitió establecer los grupos sanguíneos y el factor Rhesus en la coagulación. A su extraordinaria visión debemos la posibilidad de haber hecho segura toda transfusión y ofrecer el sedimento para investigar la esencia inmunológica de los transplantes de tejidos y de elementos celulares.

### Los lestrigiones y la hechicera Circe

Muchos obstáculos, de orden circunstancial y ante todo, la injerencia de la Gran Guerra (1914-1918) que devastaría Europa y dividiría lealtades, interfirieron con la difusión de los hallazgos científicos a principios del siglo XX. El citrato de sodio se empleó por primera vez para conservar residuos de sangre para uso en hospitales militares (1914) y la literatura médica se abrió paso lento entre los conflictos bélicos y sus rezagos. Apenas sanadas las heridas, en 1924 se publican simultáneamente a ambos lados del Atlántico *Pediatrics*, la primera revista dedicada a la Hematología infantil y *Traité d'hématologie clinique*, donde el Dr.

Rieux (homónimo del médico protagonista de *La Peste* de Albert Camus) establece los requerimientos del laboratorio de Hematología: microscopio, hematímetro, hematoscopio, centrífuga, laminillas, colorantes y accesorios. Ese mismo año se propone el concepto de sistema retículo endotelial (Aschoff y Kiyono) con el advenimiento de un tercer tipo de leucemia, la monocítica.

En el encierro de los laboratorios por aquellos años de entre guerras se materializó la sofisticación de las técnicas de tinción celular que abrirían la puerta a la clasificación morfológica de las afecciones sanguíneas. Y, mientras Hitler lanzaba sus arengas a la conquista de la Polonia de Ehrlich y Marie Curie, en el Cook County Hospital de Chicago se instalaba el primer banco de sangre (1936) y se ingeniaba la prueba de Coombs en Cambridge, que habría de esperar el desenlace de las hostilidades para salir al mundo.

Más aún, la versatilidad de la exploración de la médula ósea (que data de los estudios de Arinkin en 1929) se estableció apenas reparado el daño de la posguerra por el Dr. Weil, pionero en el empleo de un trocar tipo Kuss con anestesia local para aspirados que después teñiría con Giemsa y May-Grunwald (colorantes diseñados respectivamente en 1900 y 1901), que ha sido de enorme utilidad en el diagnóstico a la vera del enfermo.

### Ulises

Entre las contribuciones más significativas que cruzaron mares y derrotaron cíclopes (aquellos de visión restringida) está la trayectoria del Dr. Maxwell Wintrobe, cuyo texto de la especialidad se publicó durante seis décadas bajo su tutela. Zarpó de Manitoba, donde su preeminencia y su entusiasmo juvenil lo embarcaron hasta las riberas del Mississippi. Ahí, en la Universidad de Tulane, descubrió las vertientes de la sangre y diseñó el tubo para hematocrito que lleva su nombre, siendo el primero en documentar estadísticamente los valores normales en sangre para adultos y niños. Es notable que su carrera meteórica se basara en la adquisición de datos tan simples y a la vez tan indispensables para el reconocimiento de lo patológico, que sentaron las bases para la descripción morfológica de las anemias.

Como el Dr. Ruiz Argüelles, Wintrobe se interesó en el estudio de los requerimientos nutricionales en la eritropoiesis y con su trabajo de graduación permitió identificar el papel de la piridoxina como cofactor de la sintetasa

del ácido aminolevulínico en el metabolismo del cobre y del hierro.

Su siguiente desembarco fue a orillas del Atlántico, en la prestigiosa Universidad Johns Hopkins, donde describió la herencia mendeliana en la llamada anemia de Cooley y halló a la vez el fenotipo de la talasemia menor. Con el ímpetu que congregan las grandes instituciones, Wintrobe editó su tratado de *Hematología Clínica*, un texto de 792 páginas que escribió en su totalidad hasta la séptima edición, cuando cedió algunos temas a sus discípulos. Fue presidente de la American Society of Hematology (ASH) y elegido a la National Academy of Sciences hace 40 años, tras haber formado a una pléyade de discípulos que han ocupado lugares preeminentes en la Hematología de todo el orbe.

### El canto de las sirenas

Con el advenimiento de la aféresis (1972) y las técnicas de detección de hepatitis B (1971), los bancos de sangre crecieron exponencialmente. Se planteó entonces el uso comercial de los diversos componentes sanguíneos e incluso llegó a proponerse la venta de los anticuerpos monoclonales (diseñados por Georges Köhler y Cesar Milstein en 1975). Ambos investigadores, radicados en Cambridge y ganadores a posteriori del Premio Nobel, se negaron a patentar este extraordinario hallazgo, que a la sazón ha servido de recurso terapéutico para incontables pacientes.

Pero ya en el decenio de 1960 los cultivos de tejidos y células habían escalado un salto cuántico: se contaba con aparatos automatizados para contabilizar los leucocitos y se iniciaba la dilución de diferentes linajes, así como la medición de la hemoglobina corpuscular, el hematocrito y el cálculo del volumen corpuscular medio en la definición de estados de salud y patológicos.

Los primeros factores de crecimiento se demostraron a partir de la sospecha de un factor humoral insinuado por Carnot y Deflandre (1906), que estimularía el crecimiento de los eritrocitos. Pero no fue sino hasta 1953 que se descubrió la eritropoietina y, gracias a su caracterización bioquímica, que se pudo ubicar su origen en el aparato yuxtglomerular. Este contundente hallazgo desató la investigación molecular para identificar numerosos factores de crecimiento de colonias a partir de la década de 1970, incentivados de manera exponencial por las técnicas de hibridación *in situ* en la década siguiente. El primero de

ellos, una sustancia denominada elocuentemente *Burst-Promoting Activity*, detrás de las células pluripotenciales, capaz de inducir granulocitos, macrófagos y megacariocitos con la misma intensidad. La lógica planteaba, ya en 1978, que tales factores de diferenciación y proliferación celular deben tener receptores específicos en la membrana de las células que responden a su estímulo. Eso dio lugar a la descripción de cúmulos moleculares (los llamados *Clusters of Differentiation* o CD), compuestos de diversas proteínas homo y heterólogas, que plagan literalmente la superficie de las células hematopoyéticas. El primero al que se le atribuyeron funciones de diferenciación multipotenciales en el microambiente medular fue la interleucina 3 y a partir de la clonación de numerosísimos factores afines, se ha podido determinar la secuencia de eventos que subyace a la generación de elementos formes en la sangre, como habría soñado Hipócrates al zarpar en su Odisea.

Actualmente rondamos los 350 CDs (¡nada que ver con colecciones musicales!), el más reciente denominado CD350 que reconoce a una proteína involucrada en la señalización del adenocarcinoma de colon (Frizzled-10). Además, se conocen más de doscientos factores de crecimiento, ya clonados, que actúan en diversas células y tejidos para inducir proliferación, diferenciación o actividad tumoral.

### Disuadir a los pretendientes

Como en toda batalla por la supremacía, las clasificaciones de los padecimientos hematológicos han sufrido transformaciones y debates. Tocó a Ebstein, en 1889, distinguir las leucemias agudas de las crónicas y sentar con ello el sustrato de una clasificación que diera cuenta de los perfiles y los pronósticos de los enfermos afectados por procesos malignos. A partir de ese momento los esquemas para comprender la hematopoyesis y la génesis de los trastornos proliferativos se hicieron indisolubles. Opuesto al dualismo de Naegli, que identificó los mieloblastos, Pappenheim propuso una concepción citogenética con lo que abrió el horizonte a la morfocitogénesis. En 1913, con el progreso en las técnicas de tinción, se precisan los gránulos propios de cada estirpe celular, y se distinguen los componentes subcelulares y mitóticos que refuerzan la idea de una concepción dinámica en la Hematología contemporánea.

Pero las voces abundaban en la corte de Ítaca, queriendo arrebatar el trono y la mano de la reina en su desvelo por

entretejer la fidelidad a los orígenes. Una abundancia de nomenclaturas se maniataron a lo largo de buena parte del siglo XX hasta que el consenso francés, americano y británico (FAB) acordó un sistema de clasificación en 1976 que permitió redondear los protocolos terapéuticos y los criterios morfológicos y citoquímicos propios de cada padecimiento hematológico. Este encomiable esfuerzo brindó una plataforma de despegue a los especialistas de todo el mundo enfrentados con la disyuntiva de esquemas de quimioterapia controversiales y variables. Además, fue una de las primeras aportaciones para reconocer la importancia de los consensos de expertos y de la vigencia del metanálisis en la clínica.

Con ello se amplió el panorama para introducir marcadores moleculares más precisos al estudio de los trastornos de la sangre. La correlación inmunopatológica y molecular desplegaron las alas, dejando atrás las translocaciones y mutaciones citogenéticas, para dar paso al tratamiento orientado hacia la regulación de los protooncogenes y las cinasas que disparan el mecanismo de immortalización celular.



### Penélope y el futuro de la investigación

Reconocer, como Penélope entre andrajos y disfraces, la certeza de que se vuelve al camino olvidado, es una convicción que ilumina en la actualidad la investigación y la terapia biológica en Hematología.

La ASH propuso una agenda de trabajo para el futuro inmediato, a saber:

1. Células precursoras y medicina regenerativa: transformar las células iPS en curas potenciales para enfermedades humanas.
2. Síndrome mielodisplásico y leucemia mieloide aguda: encontrar tratamientos personalizados para pacientes de la tercera edad.
3. Transplante de células hematopoyéticas: aumentar los índices de éxito terapéutico y mejorar el tratamiento de la enfermedad injerto contra huésped.
4. Anemia de células falciformes: reducir las barreras que afectan su detección y tratamiento, impedir el daño orgánico y reducir la muerte prematura.
5. Trombosis venosa: entender los factores de riesgo en detalle y diseñar terapias a la medida de cada caso.
6. Leucemia en niños: ponderar los índices de curación mediante investigación coordinada de todos los centros pediátricos involucrados en descubrimientos preclínicos y terapéuticos.
7. Traducir los avances de laboratorio en certidumbres clínicas.
8. Emplear las tecnologías proteómicas y genómicas novedosas para mejorar el tratamiento de las enfermedades hematológicas.

Como se puede deducir, estamos lejos, pero cabalgando sobre los hombros de los grandes investigadores que nos antecedieron en esta travesía. Podríamos agregar el esfuerzo de médicos mexicanos, como el Dr. Ruiz Argüelles y su equipo, que orientan sus conocimientos a quienes más los necesitan. Hoy, aquellos que no alcanzan a ver la luz que brilla en el horizonte de los grandes microscopios y las salas de terapia intensiva, tienen un puerto en donde recalar y la promesa de que el futuro no puede ahogarse en una gota de sangre.

#### BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

1. Bagot CN, Arya R. Virchow and his triad: a question of attribution. *Br J Haematol* 2008;143:180-190.
2. Bennet JH. Case of hypertrophy of the spleen and liver, in which death took place from suppuration of the blood. *Edin Med Surg J* 1845;64:413-423.
3. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for classification of the acute leukemias. *Br J Haematol* 1976;33:415-459.
4. Erslev AJ. Humoral regulation of red cell production. *Blood* 1953;8:349-357.
5. Fagles R, Knox B. *The Odyssey by Homer*. London: Penguin Classics, 1997.
6. Foon KA, Todd RF. Immunologic classification of leukemia and lymphoma. *Blood* 1986;68:1-31.
7. Jacobson LO, Goldwasser E, Fried W, Pizak L. Role of kidney in erythropoiesis. *Nature* 1957;179:633-634.
8. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of unidentified specificity. *Nature* 1975;256:495-497.
9. Lewis JP, Trobaugh FE Jr. Haematopoietic stem cells. *Nature* 1964;204:589-590.
10. Moxon CA, Wassmer SC, Milner Jr. DA, et al. Loss of endothelial protein C receptors links coagulation and inflammation to parasite sequestration in cerebral malaria in African children. *Blood* 2013; <http://bloodjournal.hematologylibrary.org/content/early/2013/06/05/blood-2013-03-490219.full.pdf+html>
11. Natelson A, Pyatt D. Acquired myelodysplasia and myelodysplastic syndrome: clearing the fog. *Adv Hematology* 2013; Article ID 309637, 11 pages.
12. Rabbits TH. Chromosomal translocations in human cancer. *Nature* 1994;372:143-149.
13. Rieux J. *Traité d'hématologie clinique*. Paris: Gaston Doin, 1924.
14. Ruiz-Delgado GJ, Ruiz-Argüelles GJ. A Mexican way to cope with stem cell transplantation. *Hematology* 2012;17(Suppl 1): 195-197.
15. Shtivelman E, Lifshitz B, Gale RP, Canaani E. Fused transcripts of abl and bcr genes in chronic myelogenous leukemia. *Nature* 1985;315:550-554.
16. Staudt LM. Molecular diagnosis of hematologic cancers. *N Eng J Med* 2003;348: 1777-1785.
17. The Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Eng J Med* 2013;368:2059-2064.

## Caracterización molecular de las mutaciones FLT3-ITD en pacientes colombianos con leucemia mieloide aguda

Angélica María Jiménez-Mejía,<sup>1</sup> Carlos Muskus,<sup>2</sup> José Domingo Torres,<sup>3</sup> Francisco Cuéllar-Ambrossi,<sup>4</sup> Mauricio Camargo-Guerrero,<sup>5</sup> Gonzalo Vásquez-Palacio<sup>1</sup>

### RESUMEN

**Antecedentes:** en pacientes con leucemia mieloide aguda la mutación en el gen *FLT3* tiene una frecuencia de 15 a 30%, con implicaciones pronósticas. En Colombia se desconocen la frecuencia y tipo de mutaciones en este gen.

**Objetivo:** determinar la frecuencia de las mutaciones del gen *FLT3* en población colombiana con leucemia mieloide aguda.

**Material y método:** estudio descriptivo, de corte transversal, efectuado con base en la evaluación de pacientes con diagnóstico reciente de leucemia mieloide aguda remitidos de diferentes centros de salud del país a la Unidad de Genética Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Mediante el *QIAamp DNA Blood Mini Kit* y PCR se extrajo ADN a partir de muestras de sangre periférica o médula ósea; se amplificaron los dominios yuxtamembrana y tirosina cinasa del gen *FLT3*. Para determinar las mutaciones todos los productos se secuenciaron.

**Resultados:** se analizaron las muestras de 31 pacientes con leucemia mieloide aguda y se encontraron 3/31 pacientes con la mutación *FLT3-ITD*. En el dominio tirosina cinasa de *FLT3* no se encontró la mutación.

**Conclusiones:** este es el primer estudio efectuado en Colombia que determina la frecuencia de las mutaciones en el gen *FLT3*. En nuestra población la mutación *FLT3-ITD* es más baja (9.7%) que la informada en la bibliografía. Esta mutación se relaciona con recuentos altos de leucocitos en sangre periférica ( $p=0.023$ ). Para determinar el significado clínico de estas mutaciones en la población colombiana se plantea la necesidad de efectuar en nuestro país estudios metacéntricos.

**Palabras clave:** leucemia mieloide aguda, Fms Like tyrosine Kinase (*FLT3*), PCR

### ABSTRACT

**Background:** In the past years, several studies detected high frequencies (15-30%) of mutations in the *FLT3* gene in AML cases, which has prognosis implications. In Colombia, the frequency and type of mutations in *FLT3* in AML cases is still unknown.

**Objective:** The aim of this study was to determine the frequency and type of mutations in the *FLT3* gene that might be involved in the leukomogenesis in a cohort of Colombian AML patients.

**Methodology:** Descriptive and cohort study made in Colombia genomic DNA was isolated from mononucleated cells of AML patients peripheral blood or bone marrow using *QIAamp DNA Blood Mini Kit*. Mutations in juxtamembrane and tyrosine kinase domains of *FLT3* gene were sequenced.

**Results:** Thirty-one AML patients were included in the present study. We found 3/31 with *FLT3* ITD mutation. The patients with the mutation *FLT3* ITD showed higher white blood counts.

**Conclusions:** This is the first study in Colombia that has been undertaken to determine mutations in *FLT3* gene in our population. The frequencies of mutations in *FLT3* ITD gene were lower (9.7%) than those informed in the literature. Besides, the presence of *FLT3* ITD was associated with higher leukocyte counts in peripheral blood ( $p=0.023$ ). The results of the present study entail the necessity of multicenter studies in our country to determine the clinical significance of these mutations in the Colombian population.

**Key words:** Acute myeloid leukemia, FMS Like Tyrosine Kinase (*FLT3*), PCR

<sup>1</sup> Unidad de Genética Médica. Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

<sup>2</sup> Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales-PECET, Sede de Investigaciones Universitarias.

<sup>3</sup> Profesor Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

<sup>4</sup> Hematologías de Adultos, IPS Universitaria.

<sup>5</sup> Genética de poblaciones, Regeneración y Cáncer, Sede de Investigaciones Universitarias. Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Colombia.

Correspondencia: Dr. Gonzalo Vasquez Palacio  
Unidad de Genética Médica  
Facultad de Medicina  
Universidad de Antioquia

Teléfono: (574)2196930 Fax:(574)2196932  
Carrera 51 D # 62-29 Medellín, Colombia  
gvasquezp@gmail.com

Recibido: octubre 2013  
Aceptado: noviembre 2013

Este artículo debe citarse como: Jiménez-Mejía AM, Muskus C, Domingo-Torres J, Cuéllar-Ambrossi F, Camargo-Guerrero M, Vásquez-Palacio G. Caracterización molecular de las mutaciones *FLT3-ITD* en pacientes colombianos con leucemia mieloide aguda. Rev Hematol Mex 2013;14:166-172.

[www.nietoeditores.com.mx](http://www.nietoeditores.com.mx)

La leucemia mieloide aguda es una neoplasia agresiva, clonal, mieloide, con detención de la maduración de la mielopoyesis y acumulación de mieloblastos en la médula ósea o en la sangre periférica, o en ambos. La tasa de supervivencia a largo plazo es de 25-70% en pacientes menores de 60 años y sólo 10-15% en los de edad más avanzada.<sup>1</sup> En la actualidad, los cambios citogenéticos y moleculares se han establecido como marcadores pronóstico y de respuesta a la quimioterapia de inducción y para predecir la tasa de recaída, supervivencia libre de enfermedad y general.<sup>2</sup>

En las actuales guías de práctica clínica en oncología para pacientes con leucemia mieloide aguda se reconocen tres grupos de riesgo citogenético: favorable, intermedio y de alto riesgo. El grupo de riesgo favorable incluye: t(8;21), t(15;17), inv(16) y t(16;16) con tasas de remisión completa mayores de 90%, y supervivencia general de 60%. Para consolidar la remisión completa, en este grupo de pacientes se aconseja la administración de dosis altas de citarabina. El grupo de alto riesgo comprende la coexistencia de: inv(3), t(3;3), t(6;9), t(6;11), t(11;19), del(5q), -5, -7 o cariotipos complejos. Estos tienen un alto índice de resistencia al tratamiento de inducción de remisión, con elevada probabilidad de recaída y, en consecuencia, baja supervivencia libre de enfermedad y supervivencia general de apenas 5-15%; por esto, para intentar mejorar su pronóstico se sugiere la consolidación con trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas. El 45% de los pacientes adultos con leucemia mieloide aguda tiene cariotipo normal y se consideran de riesgo intermedio. Puesto que en estos pacientes los desenlaces y resultados del tratamiento son muy heterogéneos se sugiere incluir marcadores moleculares que complementen la información citogenética.<sup>3</sup>

Las mutaciones dentro del gen *FMS-like tyrosine kinase 3* (*FLT3*) representan una de las alteraciones genéticas más frecuentes en pacientes con leucemia mieloide aguda. El *FLT3* pertenece a la familia de receptores tirosina cinasa (RTK) clase III, que incluye FMS, c-KIT, y PDGFR  $\alpha$  y  $\beta$ .<sup>4</sup> La unión de su ligando *FLT3-ligand* (FL) induce un cambio conformacional, homodimerización y activación subsecuente de vías de señalización intracelular. La estimulación de los progenitores hematopoyéticos por el FL, sin ningún otro factor de crecimiento, induce la diferenciación monocítica, mientras que en presencia del factor de células madre y la interleucina 3 (IL-3), el FL produce

proliferación y mantenimiento de las células progenitoras CD34<sup>+</sup>/CD38<sup>-</sup>.<sup>4</sup>

El gen *FLT3* (*Fms-like tyrosine kinase 3*) contiene 24 exones, se localiza en el cromosoma 13q12 y en humanos codifica una proteína de 993 aminoácidos que se expresa en las células progenitoras hematopoyéticas e interviene en su proliferación y diferenciación. La proteína *FLT3* está compuesta por una región extracelular con cinco dominios, semejantes a las inmunoglobulinas, una secuencia transmembrana y una porción intracelular conformada por un segmento yuxtamembrana (JM) seguido de un dominio tirosina cinasa (TKD). También se ha encontrado en la placenta, las gónadas, el cerebro y otros órganos linfo-hematopoyéticos, como el hígado, el bazo y el timo.<sup>5</sup>

En leucemia mieloide aguda se han identificado dos clases mayores de mutaciones activadoras de *FLT3*: duplicaciones en tándem interno (ITDs) y mutaciones puntuales del dominio tirosina cinasa (TKD). Las ITDs en el dominio JM de *FLT3* se detectan en el 15%-35%<sup>6</sup> de pacientes con leucemia mieloide aguda y resulta de la duplicación de un fragmento dentro de la región del dominio JM codificado por los exones 14 y 15 de *FLT3*, que puede variar entre 3-400 pb y siempre ocurre en múltiplos de tres por lo que se mantiene dentro del marco de lectura.<sup>6</sup>

Las mutaciones en duplicaciones en tándem interno activan en forma constitutiva a *FLT3*, lo que promueve diferentes vías de transducción y señalización, como: fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K)/AKT, MAPK/ERK y (JAK2)STAT5. Además, entre 5 y 10% de pacientes con leucemia mieloide aguda exhiben mutaciones puntuales dentro del dominio tirosina cinasa. En la mayoría de los casos estas mutaciones resultan de la sustitución de tirosina por ácido aspártico en el codón 835 (D835Y).<sup>7</sup>

Aunque existen algunas discrepancias, la mayoría de los estudios publicados hasta la fecha coincide en otorgar un papel pronóstico adverso para las mutaciones en *FLT3-ITD*. La peor evolución de los pacientes con mutaciones de *FLT3* estaría determinada por mayor riesgo de recaída (RR) y menor supervivencia libre de enfermedad. La interpretación de los resultados de los distintos trabajos en este sentido es compleja. En general, casi todos orientan hacia menor supervivencia libre de enfermedad, libre de evento (SLEV) y un riesgo relativo mayor.<sup>8</sup>

La leucemia mieloide aguda es una causa importante de mortalidad en el panorama general del cáncer en el mundo

y en nuestro país.<sup>9,10</sup> Debido a esto, la investigación se ha centrado en la detección de las alteraciones genéticas que repercuten en su pronóstico y tratamiento. A la fecha no existen publicaciones nacionales que den cuenta de la situación con respecto a las mutaciones del gen *FLT3*; por eso el objetivo de este trabajo fue: determinar la frecuencia de estas mutaciones en población colombiana con leucemia mieloide aguda.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio descriptivo, de corte transversal, en el que se evaluaron pacientes con diagnóstico reciente de leucemia mieloide aguda remitidos de diferentes centros de salud del país a la Unidad de Genética Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia entre junio 2007 y noviembre 2009. Las características clínicas y de laboratorio (edad, sexo, subtipo, Hgb, RGBs y recuento de plaquetas) se consignaron en el momento de la toma de la muestra y, con base en los hallazgos citogenéticos se clasificó el riesgo en favorable, intermedio y alto. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado, aprobado previamente por los comités de bioética de cada institución.

El ADN se aisló a partir de médula ósea o sangre periférica mediante *QIAamp DNA Blood Mini Kit* (Qiagen®). Se amplificaron los exones 14 y 15 del gen *FLT3* de acuerdo con el protocolo de Kiyoi y Naoe.<sup>11</sup> La reacción se efectuó en un volumen final de 25 µL, con 2µL de ADN genómico (1µg), 1 µM de los cebadores 14F 5'-CAATTTAGGTATGAAAGCCAGC-3' y 15R 5'-CTTTCAGCATTTTGACGGCAACC-3', 12.5 µL para la de Ampli Taq Gold® PCR Master Mix 2X (Applied Biosystem) y el volumen de reacción se completó con agua desionizada. La amplificación se realizó con un paso inicial de desnaturalización a 95°C durante nueve minutos, seguido de 35 ciclos a 94°C por 30 segundos, 56°C por 1 minuto y 72°C durante dos minutos, terminando con un ciclo final de extensión de 72°C por espacio de 10 minutos.

Posteriormente se amplificó el exón 20 del gen *FLT3* con cebadores 20F 5'-CCGCCAGGAACGTGCCTTG-3' y 20R5-GCAGCCTCACATTGCCCC-3' con una concentración final de cada cebador de 1 µM y en las mismas condiciones de amplificación anteriores, excepto que la temperatura de alineamiento de los cebadores se efectuó a 60°C durante 30 segundos. Los productos de la ampli-

ficación se corrieron en gel de agarosa al 2% a 80 Voltios durante 70 minutos, teñidos con SYBR Safe (Invitrogen®) y visualizados en un fotodocumentador Chemidoc (BioRad) y uso del programa *Quantity One*®. Los productos de la amplificación del exón 14 y 15 del gen *FLT3* debían generar una banda de 329 pb para el alelo normal y una banda de mayor tamaño correspondiente a la duplicación interna en tándem (ITD). Para el exón 20 del gen *FLT3* que codifica para el dominio tirosina cinasa se espera una banda de 114 pb.

Los productos amplificados se purificaron del gel con el equipo PureLink® Quick Gel Extraction (Invitrogen®) y se secuenciaron en Macrogen, Corea. En dos casos en los que se observaron los dos productos amplificados para los exones 14 y 15, se purificó una banda a partir del gel y se clonó en un vector empleando el sistema TA Cloning®. Se secuenciaron varias clonas de cada amplificado. Los resultados de las secuencias se editaron en el programa Chromas Lite® y se hizo análisis de homología con *Blast*. Las variaciones en las secuencias se determinaron por alineamiento múltiple utilizando el programa ClustalW2.

### Análisis estadístico

Para los análisis estadísticos se empleó el programa *Statistical Package for the Social Sciences for Windows software* (SPSS) versión 17.0. Para evaluar las variables y sus asociaciones se utilizó la prueba de normalidad Shapiro Wilk, la prueba de la t de Student, de Mann-Whitney y  $\chi^2$ . En los análisis estadísticos se consideró un nivel de significación con  $p \leq 0.05$ .

## RESULTADOS

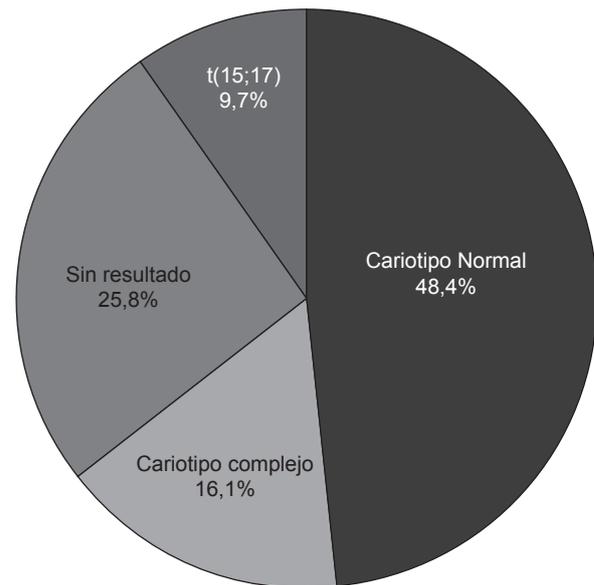
De los 31 pacientes con leucemia mieloide aguda estudiados 19 (61.3%) eran mujeres y 12 (38.7%) hombres; cinco (16.13%) eran menores de 15 años. La edad promedio fue de 44 años (límites: 4-96 años). Al realizar la comparación de los promedios de leucocitos en sangre periférica, se encontró que los pacientes con la mutación *FLT3-ITD* tenían un recuento más alto que quienes no tenían la mutación ( $p=0.023$ ). Las características clínicas, grupos de riesgo citogenético y la mutación *FLT3-ITD* de los pacientes estudiados se indican en el Cuadro 1. La distribución de los pacientes con leucemia mieloide aguda y las alteraciones cromosómicas recurrentes se ilustran en la Figura 1.

**Cuadro 1.** Características demográficas y de laboratorio de pacientes con leucemia mieloide aguda; presencia o ausencia de mutación *FLT3-ITD*

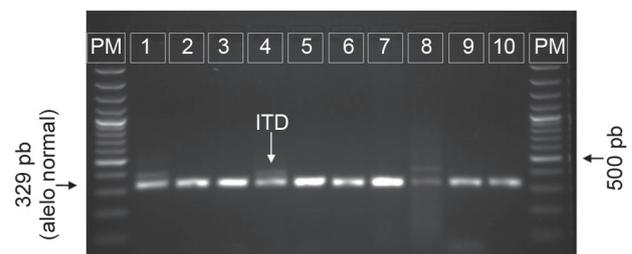
Característica	No.
<b>Sexo</b>	
Masculino	12
Femenino	19
<b>Edad</b>	
60 años o menos	21
Mayor a 60 años	10
Media, en años	45,2
Rango, en años	(4-96)
<b>Recuento de glóbulos blancos</b>	
10 X 10 <sup>9</sup> /L o más	18
Menos de 10 X 10 <sup>9</sup> /L	13
Media	47508
Rango	(1300-130400)
<b>Plaquetas</b>	
Menos de 100 X 10 <sup>9</sup> /L	23
Al menos 100 X 10 <sup>9</sup> /L pero menos de 450 X 10 <sup>9</sup> /L	7
450 X 10 <sup>9</sup> /L o más	1
Media	78258,06
Rango	(6000-482000)
<b>Clasificación del riesgo</b>	
Favorable	3
Intermedio	15
Alto	5
Sin resultado	8
<b>Mutación FLT3-ITD</b>	
Positivo	3
Negativo	28

De la cohorte de estudio conformada por 31 pacientes, sólo 3 (9.7%) tuvieron mutaciones en el dominio yuxtamembrana *FLT3* con los subtipos FAB M1, M2 y M5, respectivamente. En el análisis de los productos de amplificación obtenidos por PCR (Figura 2) se observó que en los tres casos *FLT3/ITD(+)* tenían dos bandas: una de 366pb correspondiente al alelo *wild-type* y otra adicional de mayor peso molecular, correspondiente a las duplicaciones en tandem (ITD); similar a la encontrada por Gaich P.<sup>13</sup>

Con respecto a otras variables estudiadas, la edad media de estos pacientes fue de 46 años, el recuento medio de leucocitos de 105.700/mm<sup>3</sup>, de blastos 43.7% y de plaquetas de 58.700/mm<sup>3</sup>. En los 31 pacientes analizados no se encontró ninguna de las mutaciones puntuales descritas en otros estudios para este dominio. Además, todos los

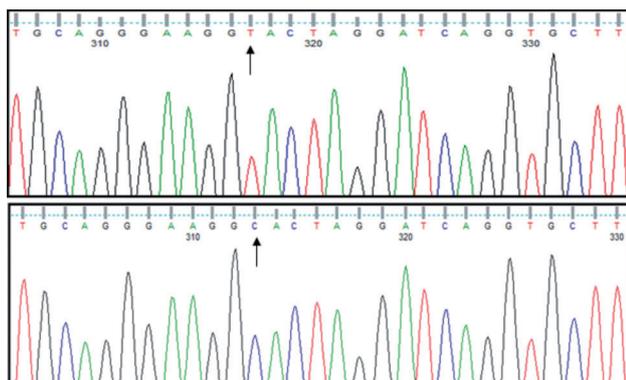


**Figura.1** Distribución de pacientes con leucemia mieloide aguda según la alteración cromosómica recurrente



**Figura 2.** Gel de agarosa de productos de RT-PCR para mutaciones *FLT3*. Se observan los productos de amplificación para la mutación *FLT3* en tres pacientes (carriles 1, 4 y 8). Las bandas inferiores de 366pb corresponden al alelo normal *wt*, y las superiores a las ITD. Los carriles 2, 3, 5, 6, 7, 9 y 10 corresponden a los productos de PCR de individuos con leucemia mieloide aguda sin la inserción de nucleótidos. Las muestras se corrieron en gel de agarosa al 2% y se colorearon con Sybr safe. En el Carril 1: Marcador de peso molecular (PM)

pacientes tuvieron alelos normales para el exón 20 del gen *FLT3*. En el análisis de una de las colonias clonadas y secuenciadas por ambas cadenas, correspondientes al paciente 31, se halló un cambio de nucleótidos de una timina por una citosina (Figura 3).



**Figura 3.** Cromatograma del exón 15 del gen FLT3. En el cromatograma del panel izquierdo se observa la secuencia de un individuo normal, en el panel derecho se aprecia el cromatograma del paciente 31 un cambio de una timina por citosina, c. 66.608T>C p.V615A. Secuencia de referencia utilizada NG\_007066.

## DISCUSIÓN

En este estudio se analizaron 31 pacientes con leucemia mieloide aguda de novo y se encontró que la prevalencia para la mutación FLT3-ITD fue de 9.4%, menor a la informada en la bibliografía: 15-35%.<sup>6</sup> En Latinoamérica son pocas las publicaciones al respecto: en México Ruiz-Arguelles y colaboradores<sup>12</sup> encontraron una prevalencia de 13%, Gaich y su grupo<sup>13</sup> en Argentina, de 16.7% y Lucena y colaboradores,<sup>14</sup> en Brasil, de 23.6%. En Europa Gorin y su grupo<sup>15</sup> informaron una prevalencia de 27.7% y Nazha y su grupo<sup>16</sup> en Estados Unidos de 17.3%. Estas mutaciones se producen debido a diferencias en el número de duplicaciones (3-400 pb) que se originan en inestabilidad genética subyacente y cuya presencia parece incidir en el pronóstico adverso de FLT3-ITD en leucemia mieloide aguda,<sup>13</sup> aunque en este estudio no se pudo determinar el tipo de repetición. Los pacientes con esta mutación fallecieron durante el transcurso de la investigación.

La baja prevalencia encontrada en nuestro estudio, comparada con las anteriores, podría explicarse por distintas razones: 1. Al alto rango de variación del alelo normal o al bajo porcentaje de mutaciones FLT3-ITD. 2. Diferencias en el tamaño de las poblaciones estudiadas. 3. En este estudio se incluyeron pacientes con leucemia mieloide aguda independiente del resultado del cariotipo. En otras investigaciones<sup>17</sup> sólo se seleccionaron pacientes con cariotipo normal, que se clasifica como un subgrupo con alta incidencia de mutaciones moleculares. 4. Dife-

rencias en las metodologías utilizadas para detectar esta mutación.<sup>18</sup> En este trabajo, y en el mexicano y argentino, se empleó electroforesis de gel de agarosa, mientras que en otros se utilizó electroforesis capilar y HRM (High Resolution Melting) que pueden ofrecer mayor sensibilidad. Por último, otros factores, que en la actualidad aún están en discusión plantean posibles diferencias con respecto a la raza y etnicidad.<sup>19</sup>

En el presente estudio se encontró asociación entre el hallazgo de la mutación FLT3-ITD y el recuento elevado de leucocitos, en comparación con los pacientes libres de mutación ( $p=0.023$ ), lo que concuerda con lo informado en la bibliografía.<sup>20</sup> Con respecto a la caracterización citogenética, dos de los tres pacientes con mutaciones FLT3-ITD tenían cariotipo normal (subtipos FAB M1, M2) y otro cariotipo complejo (subtipo FAB M5). Otro hallazgo importante en este trabajo fue la mutación puntual adicional en uno de los pacientes con FLT3-ITD en el que se observó un cambio de timina por citosina, 30712T>C p.V615A. Esta mutación sólo se ha informado en la base de datos COSMIC en pacientes con cáncer de ovario y se desconocen sus implicaciones en pacientes con leucemia mieloide aguda. Estudios previos han informado mutaciones puntuales en ITD y en el dominio tirosina cinasa TKD, que pueden afectar el marco de lectura o ser mutaciones sin sentido. Al respecto, Mills y su grupo,<sup>21</sup> en un estudio de 235 casos de leucemia mieloide aguda identificaron mutaciones puntuales ITD en los codones 835/836/839 en 13.6% (35 muestras). Gianfelici y su grupo publicaron, en 2011, una revisión en la que informaron varias mutaciones puntuales en dominio yuxtamembrana del FLT3: Y591C, F594L, F590G, Y591D, V579A, V592A, S574G, E598G, K567I, V579Q, F594I.<sup>22</sup> Estudios recientes se han enfocado en identificar mutaciones puntuales en el dominio JM en pacientes con leucemia mieloide aguda y establecer su valor pronóstico. En este estudio no se hizo seguimiento de los pacientes, por lo que no se pudo corroborar el pronóstico adverso que confiere esta mutación en lo que respecta al mayor riesgo relativo, menor supervivencia libre de enfermedad y menor supervivencia general. En nuestra población estudiada no se detectaron mutaciones puntuales del gen FLT3 en el dominio TKD.

Entre las limitaciones en la realización de este estudio pueden considerarse: el bajo número de pacientes reclutado que impidió analizar, apropiadamente, las variables estu-

diadas y, por tanto, emitir conclusiones definitivas, sobre todo las relacionadas con la constitución del cariotipo y estratificación, grupo de riesgo y tipo de mutación.

## CONCLUSIONES

En este estudio se encontró que la frecuencia de la mutación *FLT3 ITD* (9.4%) en los pacientes con leucemia mieloide aguda fue más baja que la reportada en la bibliografía (20-35%) y no se halló en ningún caso la mutación *FLT3 TK*. Además, se confirmó que la mutación *FLT3 ITD* se asocia con recuentos altos de leucocitos en pacientes con leucemia mieloide aguda y que no hay diferencia significativa en el número de plaquetas y porcentaje de blastos entre los individuos con la mutación y negativos para *FLT3 ITD*. Debido a la baja frecuencia de la mutación *FLT3 ITD* en este estudio, no se pudo determinar la relación de ésta con la clasificación *FAB*. Además, se plantea la necesidad de estudiar otros genes involucrados en la patología molecular de la leucemia mieloide aguda, como *CEBPA*, *EVII*, *BAALC*, *KIT*, *MLL* y valorar la importancia de estos genes en nuestros pacientes. Por último, es prioritaria la realización de estudios multicéntricos con el fin de confirmar la frecuencia de mutaciones en *FLT3* y evaluar este gen en el algoritmo diagnóstico de los pacientes con leucemia mieloide aguda en nuestro país, con el propósito de brindarles un tratamiento adecuado, oportuno e incrementar la supervivencia.

Entre las recomendaciones para la elaboración de trabajos futuros donde se evalúe la mutación *FLT3 ITD* se encuentran: utilizar métodos más sensibles de separación de productos amplificados, como gel de poliacrilamida, detección de mutaciones HRM (High Resolution Melting) y secuenciamiento de nueva generación, de tal manera que se puedan obtener resultados concluyentes acerca de la inserción de nucleótidos. Asimismo, realizar investigaciones para el estudio de estos genes en muestras poblacionales más grandes, que sea representativa para la extrapolación de resultados.

## Agradecimientos

A los pacientes, médicos hematólogos e instituciones que colaboraron con la ejecución del proyecto. Al joven investigador Juan David Vélez Aguirre, estudiante de Medicina de la Universidad de Antioquia, por su colabo-

ración durante el proyecto. Este trabajo de investigación fue financiado por la Universidad de Antioquia. Proyecto CODI - CPT-0703.

## REFERENCIAS

- Vardiman JW, Matutes E, Arber DA, Le Beau MM, Porwit A, Tefferi A, et al. Therapy related myeloid neoplasms. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (eds). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4<sup>th</sup> ed. Lyon: IARC, 2008;127-129.
- Patel JP, Gonen M, Figueroa ME, Fernandez H, Sun Z, Racevskis J, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2012;366:1079-1089.
- Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, Walker H, Chatters C, Goldstone AH, et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom. *Research Council trials*. *Blood* 2010;116:354-365.
- Takahashi S. Downstream molecular pathways of FLT3 in the pathogenesis of acute myeloid leukemia: biology and therapeutic implications. *J Hematol Oncol* 2011;4:13.
- Nakao M, Yokota S, Iwai T, Kaneko H, Horike S, Kashima K, et al. Internal tandem duplication of the FLT3 gene found in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1996;10:1911-1918.
- Hatzimichael E, Georgiou G, Benetatos L, Briasoulis E. (Review Article) Gene mutations and molecularly targeted therapies in acute myeloid leukemia. *Am J Blood Res* 2013;3:29-51.
- Renneville A, Roumier C, Biggio V, Nibourel O, Boissel N, Fenaux P, et al. Cooperating gene mutation in acute myeloid leukemia: a review of literature. *Leukemia* 2008;22:915-931.
- Schnittger S, Schoch C, Dugas M, Kern W, Staib P, Wuchter C, et al. Analysis of FLT3 length mutations in 1003 patients with acute myeloid leukemia: correlation to cytogenetics, FAB subtype, and prognosis in the AMLCG study and usefulness as a marker for the detection of minimal residual disease. *Blood* 2002;100:59-66.
- GLOBOCAN 2008 (IARC) Section of cancer information (26762013)
- Instituto Nacional de Cancerología. Anuario estadístico 2008, Santafé de Bogotá, Colombia.
- Kiyoi H, Naoe T. FLT3 Mutations in Acute Myeloid Leukemia. *Methods in Molecular Medicine, Myeloid Leukemia. Methods and Protocols* 2006;125:189-197.
- Ruiz-Argüelles GJ, Garcés-Eisele J, Alarcón-Urdaneta C, Lutz-Presno J, Ruiz-Delgado GJ. Primary FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3) mutations in Mexican mestizo patients with de novo acute myelogenous leukemia. Presentado como cartel en XXXIV World Congress-ISH / LIII Congreso Nacional - AMEH, Cancún, abril de 2012. Citado en: Cuervo-Sierra J, Jaime-Pérez JC, Gómez-Almaguer D. Mutaciones del módulo FLT3 en leucemia aguda mieloblástica. *Rev Hematol Mex* 2012;13:177-184.
- Gaich Pamela B, Sastre Darío A, Rodríguez CM. Prevalencia de mutaciones flt3 en leucemias mieloblásticas agudas. [www.cobico.com.ar/...dad-cientifica/publicaciones](http://www.cobico.com.ar/...dad-cientifica/publicaciones).

14. Lucena-Araujo AR, Souza DL, Morato de Oliveira F, Benicio MT, Figueiredo-Pontes LL, Santana-Lemos BA, et al. Results of FLT3 mutation screening and correlations with immunophenotyping in 169 Brazilian patients with acute myeloid leukemia. *Annals of Hematology* 2010;89:225-228.
15. Gorin NC, Labopin M, Meloni G, Pigneux A, Esteve J, Mohty M. Impact of FLT3 ITD/NPM1 mutation status in adult patients with acute myelocytic leukemia autografted in first remission. *Haematologica* 2013;98:e12.
16. Nazha A, Cortés J, Faderl S, Pierce S, Daver N, Kadia T, et al. Activating internal tandem duplication mutations of the fms-like tyrosine kinase-3 (FLT3-ITD) at complete response and relapse in patients with acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2012;97(8):1242-1245.
17. Ghanem H, Tank N, Tabbara IA. Prognostic implications of genetic aberrations in acute myelogenous leukemia with normal cytogenetics. *Am J Hematol* 2012;87:69-77.
18. Thiede C, Steudel C, Mohr B, Schaich M, Schäkel M, Platzbecker U, et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood* 2002;99:4326-4335.
19. Goldschmidt N, Cohen SB, Gatt ME, Safrai M, Rund D. Influence of ethnicity and improved outcome of acute myeloid leukaemia: two decades of follow-up of Israeli patient cohort. *Hematol Oncol* 2013 Sep. Published online.
20. Daver N, Strati P, Jabbour E, Kadia T, Luthra R, Wang S, et al. FLT3 mutations in myelodysplastic syndrome and chronic myelomonocytic leukemia. *American Journal of Hematology* 2013;88:56-59.
21. Mills KI, Gilkes AF, Walsh V, Sweeney M, Gale R. Rapid and sensitive detection of internal tandem duplication and activating loop mutations of FLT3. *British Journal of Haematology* 2005;130:203-208.
22. Gianfelici V, Diverio D, Breccia M, Buffolino S, Derme V, Di Lascio A, et al. A novel point mutation within the juxtamembrane domain of the flt3 gene in acute myeloid leukemia. *Ann Hematol* 2011;90:845-846.

## Eficacia y seguridad en la recolección de células hematopoyéticas de sangre periférica en donadores pediátricos utilizando un catéter central

César Homero Gutiérrez-Aguirre, Rosario Salazar-Riojas, Olga Cantú-Rodríguez, Óscar González-Llano, Josué Emmanuel Ríos-Solís, David Gómez-Almaguer

### RESUMEN

**Antecedentes:** la aféresis para obtención de células hematopoyéticas de sangre periférica está reemplazando paulatinamente al aspirado de médula ósea como fuente de obtención de células para trasplante. Por las ventajas que confiere se recomienda realizar este procedimiento en donadores pediátricos con un catéter central.

**Objetivo:** analizar el resultado de los procedimientos de aféresis realizados en donadores pediátricos mediante un acceso venoso a través de un catéter central yugular.

**Material y método:** estudio retrospectivo y análisis del resultado de los procedimientos de aféresis efectuados en donadores pediátricos con más de 20 kg de peso mediante un catéter central yugular 7.5 Fr de doble lumen colocado mediante apoyo de ultrasonido y fluoroscopia.

**Resultados:** se incluyeron 55 donadores: 36 para trasplante autólogo y 19 para trasplante alogénico. En los procedimientos para trasplante autólogo, la mediana de volumen de sangre procesada, duración de la aféresis y células CD34+ recolectadas por kilo de peso del receptor fue de 11,986 mL, 217 minutos y  $4.4 \times 10^6$ , respectivamente. En los procedimientos para trasplante alogénico, la mediana de volumen de sangre procesada, duración de la aféresis y células CD34+ recolectadas por kilo de peso del receptor fue de 15,014 mL, 230 minutos y  $7.6 \times 10^6$ , respectivamente. Durante su colocación, ni en el trascurso del procedimiento de recolección celular se observaron complicaciones relacionadas con el catéter central. Para recolectar el número de células CD34+ deseado, ocho pacientes requirieron dos procedimientos de aféresis.

**Conclusión:** el procedimiento de recolección celular mediante un catéter central guiado por ecografía y fluoroscopia es efectivo y seguro en donadores pediátricos.

**Palabras clave:** recolección de células hematopoyéticas, sangre periférica, donadores pediátricos, catéter central.

Servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey NL, México.

Correspondencia: Dr. David Gómez Almaguer. dgomezalmaguer@gmail.com

Recibido: septiembre 2013  
Aceptado: noviembre 2013

### ABSTRACT

**Background:** The apheresis procedure to obtain peripheral blood hematopoietic stem cells is gradually replacing the bone marrow harvest as the main procedure for obtaining cells for transplantation. In pediatric donors, it is recommended to use a central line for this procedure due to the advantages offered.

**Objective:** Analyze the results of procedures performed in pediatric apheresis donors by venous access via a jugular central catheter.

**Methods:** We retrospectively analyzed the outcome of apheresis procedures performed in pediatric donors of over 20 kg weight through a 7.5 Fr dual lumen central jugular catheter placed by ultrasound and fluoroscopy.

**Results:** Fifty-five donors were included, 36 for autologous transplant and 19 for allogeneic transplant. In autologous transplantation procedures, the median of blood volume processed, duration of apheresis and CD34+ cells collected per kilo of weight receptor was 11,986 mL, 217 minutes and  $4.4 \times 10^6$  respectively. In allogeneic transplantation procedures, the median of blood volume processed, duration of apheresis and CD34+ cells collected per kilo of weight receptor was 15,014 mL, 230 minutes, and  $7.6 \times 10^6$  respectively. No complications related to central catheter placement or during the cell collection procedure were observed. Eight patients required 2 apheresis procedures in order to collect the desired amount of CD34+.

**Conclusion:** The stem cell collection procedure using a central catheter guided by ultrasound and fluoroscopy is both effective and safe in pediatric donors.

**Key words:** Collection of hematopoietic cells, Peripheral blood, Pediatric donors, Central catheter

Este artículo debe citarse como: Gutiérrez-Aguirre CH, Salazar-Riojas R, Cantú-Rodríguez O, González-Llano O, Ríos-Solís JM, Gómez-Almaguer D. Eficacia y seguridad en la recolección de células hematopoyéticas de sangre periférica en donadores pediátricos utilizando un catéter central. Rev Hematol Mex 2013;14:173-177.

[www.nietoeditores.com.mx](http://www.nietoeditores.com.mx)

La aféresis para obtención de células hematopoyéticas de sangre periférica está reemplazando, paulatinamente, al aspirado de médula ósea como fuente de obtención de células para trasplante autólogo o alogénico. Entre las ventajas de utilizar células hematopoyéticas de sangre periférica están: que los procedimientos de aféresis se realizan sin necesidad de quirófano o anestesia, ocasionan menor molestia o dolor para el donador porque se evitan las múltiples punciones óseas, el costo del procedimiento es menor, el receptor del trasplante tiene una recuperación hematológica más rápida y requiere menor número de transfusiones, entre otras.<sup>1-5</sup> La recolección de células hematopoyéticas de sangre periférica se realiza mediante un proceso de aféresis en un separador celular después que el donador ha sido estimulado con factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF). Cuando es posible, principalmente en donadores adultos, la aféresis se realiza mediante la punción de una vena periférica, para evitar el proceso de instalar un catéter central yugular o subclavio; sin embargo, en donadores pediátricos con frecuencia es difícil encontrar una vena periférica que tenga el calibre adecuado para puncionar y que proporcione el flujo de sangre necesario para la aféresis; además, puede ser difícil lograr que el donador pediátrico permanezca en la misma posición durante todo el procedimiento por lo que en este grupo de donadores se prefiere utilizar un catéter central.<sup>6</sup> De cualquier forma, al momento de elegir la vía por la que se obtendrán las células hematopoyéticas, el donador pediátrico siempre debe ser evaluado de manera individual, tomando en cuenta su edad, condición de sus venas periféricas y la posibilidad de su cooperación durante el procedimiento. Un factor que se debe considerar al momento de planear un trasplante alogénico es el número de recolecciones celulares necesarias para obtener la cantidad de células CD34+ deseadas según el peso del receptor. Cuando la diferencia de peso entre donador y receptor es importante, es muy probable que se requiera de más de un procedimiento de aféresis para obtener la cantidad de células hematopoyéticas necesarias para el trasplante, por lo que en estas circunstancias la instalación de un catéter central es la mejor opción.<sup>7,8,9</sup> Otro aspecto relevante que debe tenerse en cuenta cuando planeamos obtener células hematopoyéticas por aféresis de un donador pediátrico es el volumen sanguíneo del donador y el volumen que permanecerá en la circulación extracorporal durante el procedimiento de aféresis varía de 163 mL hasta 453 mL,

dependiendo del separador celular utilizado.<sup>10</sup> Esto representa un riesgo potencial para donadores pediátricos con menos de 30 kg, porque pueden manifestar datos clínicos de hipovolemia. Para minimizar este riesgo es necesario llenar el sistema del separador celular con eritrocitos compatibles con el donador, para evitar las complicaciones hemodinámicas durante la aféresis.<sup>11</sup>

En este estudio se analiza el resultado de las aféresis realizadas en donadores pediátricos mediante un acceso venoso a través de un catéter central yugular.

## MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo de expedientes de los procedimientos de recolección de células hematopoyéticas de sangre periférica para trasplante autólogo o alogénico que se realizaron en el servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González en Monterrey NL, entre los meses de enero de 2006 a diciembre de 2012. Se incluyeron todos los procedimientos de aféresis realizados en donadores menores de 18 años de edad con más de 20 kg con acceso venoso a través de un catéter central.

### Movilización celular y colocación del catéter

La movilización de células hematopoyéticas a la sangre periférica para trasplante autólogo o alogénico se realizó con 10 µg/kg/día de filgrastim (G-CSF) administrado por vía subcutánea los cuatro días previos a la recolección celular. Se analizó un grupo de pacientes con diabetes tipo 1 tratados con trasplante autólogo, en ellos la estimulación celular se realizó con 1.5 g/m<sup>2</sup>/día/2 días de ciclofosfamida administrada por vía intravenosa seguida de filgrastim 10 µg/kg/día durante seis días.

En todos los donadores se instaló un catéter central de poliuretano flexible de 7.5 Fr de diámetro, de doble lumen, en una sala de fluoroscopia, con sedación a dosis bajas de midazolam, equipo quirúrgico para protección de infecciones y antisepsia local con polividona yodada al 10%. Como primera opción se eligió la vena yugular interna derecha. Con un equipo de ultrasonido antes de la punción se examinó el tamaño y la permeabilidad de la vena yugular interna. En el sitio de la punción se administró lidocaína al 1% subcutánea. Después de la colocación del catéter se verificó su funcionamiento y posición correcta en la aurícula derecha, mediante fluoroscopia para posteriormente efectuar la aféresis para recolección celular.

### Recolección celular

Los procedimientos de aféresis se realizaron en uno o dos días, de acuerdo con la cantidad de células CD34 obtenidas en cada procedimiento, utilizando un separador celular Baxter CS3000 PLUS® (Baxter Healthcare, Deerfield, Illinois, USA) o COBE SPECTRA® Apheresis System (Terumo BCT, Lakewood, Colorado, USA). El objetivo de la aféresis fue: procesar 10,000 mL/m<sup>2</sup> de sangre para obtener de 2 a 6 x 10<sup>6</sup> de células CD34+ por kilo de peso del receptor. La cuenta de células CD34+ se realizó por citometría en un clitómetro FACScalibur, utilizando un anticuerpo monoclonal anti-CD34 (Becton Dickinson, BD Biosciences, San Jose, California, USA). En todos los donadores que pesaron menos de 30 kg se utilizaron 285 mL de paquete globular reducido en leucocitos, ABO y Rh compatible, para llenar el sistema del separador celular antes de iniciar la aféresis. Antes de iniciar el protocolo de movilización y recolección celular todos los padres de los donadores firmaron un consentimiento informado del procedimiento.

### RESULTADOS

Se revisaron los expedientes de 62 donadores de células hematopoyéticas menores de 18 años de edad, con peso mayor de 20 kg; se excluyeron siete en los que la recolección celular se efectuó por punción de vena periférica y se incluyeron 55 en los que se utilizó un catéter central para el procedimiento de aféresis. En 36 casos la recolección de células hematopoyéticas se realizó para trasplante autólogo y en 19 casos para trasplante alogénico. Las características demográficas de los donadores incluidos en el estudio se muestran en el Cuadro 1. En el grupo de donadores para trasplante autólogo la mediana de la volemia calculada fue de 3,164 mL (rango: 1,851-5,589), la mediana de volumen de sangre procesada fue 11,986 mL (rango: 6,000-24,015), la mediana de duración de la aféresis fue de 217 minutos (rango: 144-385), la mediana de anticoagulante ACD-A (*Anticoagulant Citrate Dextrose-formula A*) administrado durante el procedimiento fue de 573 mL (rango 260-1,200 mL). En el grupo de donadores para trasplante alogénico la mediana de la volemia calculada fue de 3,489 mL (rango: 493-4,998), la mediana de volumen de sangre procesada fue de 15,014 mL (rango: 6,582-20,200), la mediana de duración de la aféresis fue de 230 minutos (rango: 150-390), la mediana de anticoagulante ACD-A administrado durante el procedimiento fue de 665 mL (rango 253-1200).

**Cuadro 1.** Características de los donadores de células hematopoyéticas y diagnóstico de los receptores de acuerdo al tipo de trasplante

	Trasplante autólogo	Trasplante alogénico
n=	36	19
Sexo m/f	25/11	10/9
Edad, mediana (rango)	13 años (7-17)	12 años (7-17)
Peso, mediana (rango)	47.5 kg (21-102)	58.8 kg (22-83)
Diagnósticos		
Linfoma Hodgkin	11	1
Linfoma no Hodgkin	4	0
Leucemia mieloblastica	0	5
Leucemia linfoblástica	2	7
Anemia aplásica	0	2
Mielodisplasia	0	2
Leucemia mieloide crónica	0	1
Neuroblastoma	3	0
Talasemia	0	1
Diabetes tipo 1	15	0
Lupus	1	0

En relación con la cuenta de células, la mediana de leucocitos totales en la biometría hemática del donador antes de la recolección de células hematopoyéticas fue de 22,050 K/uL (rango: 1.14-82.400) en autólogos y 46.00 K/uL (rango: 22.400-64.100) en alogénicos. La mediana de células CD34+ recolectadas por kilo de peso del receptor fue de 4.4 x 10<sup>6</sup> (rango: 0.1-29.1 x 10<sup>6</sup>) en autólogos y de 7.6 x 10<sup>6</sup> (rango: 2.0-29.5 x 10<sup>6</sup>) en alogénicos. Para lograr obtener al menos 2 x 10<sup>6</sup>/kg de peso de células CD34+ en cuatro donadores de cada grupo fue necesario realizar dos procedimientos de recolección de células hematopoyéticas. Para llenar el sistema del separador celular antes de iniciar el procedimiento de aféresis en cinco donadores (9%): tres para trasplante autólogo y dos para trasplante alogénico, fue necesario utilizar 285 mL de paquete globular reducido en leucocitos, ABO y Rh compatible.

No se observó toxicidad relacionada con la administración de filgrastim (G-CSF). En todos los casos los procedimientos de colocación del catéter y recolección celular se realizaron de manera ambulatoria. No se observaron complicaciones relacionadas con el catéter central durante su colocación ni durante el procedimiento de recolección celular.

## DISCUSIÓN

Las células hematopoyéticas obtenidas de sangre periférica, como fuente para trasplante, se utilizan cada vez con mayor frecuencia. En la actualidad 99% de los trasplantes autólogos y 71% de los alogénicos se realizan mediante la obtención de las células por aféresis.<sup>12,13</sup> En el Hospital Universitario de Monterrey más de 95% de las recolecciones celulares para trasplante se efectúan de esta forma. La elección de este método de recolección celular se debe a su menor costo, mayor cantidad de células CD34+ obtenidas y más rápida recuperación hematológica del receptor, por la infusión de gran cantidad de estas células.<sup>2,4</sup>

En este estudio las principales indicaciones para trasplante en pacientes con neoplasias hematológicas fueron: linfoma de Hodgkin en el grupo de trasplante autólogo y leucemia linfoblástica aguda en el grupo de trasplante alogénico. No encontramos diferencia significativa al comparar la edad, peso y volemia calculada entre los donadores de los grupos para trasplante autólogo o alogénico.

La cuenta de leucocitos totales alcanzada con el proceso de movilización celular, antes de la recolección de células, fue diferente en el grupo de trasplante autólogo (mediana: 22.050 K/uL) que en el grupo de trasplante alogénico (mediana: 46.00 K/uL). Esta diferencia es el resultado, en parte, de la exposición previa a la quimioterapia de la mayoría de los donadores en el grupo de trasplante autólogo, en contraste con los donadores sanos del grupo de trasplante alogénico.

El citrato es el anticoagulante base del ACD-A que se utiliza en los procedimientos de aféresis, tiene la capacidad de disminuir el calcio iónico y debido a esto puede ocasionar síntomas como parestesias y contracciones musculares en los donadores de células hematopoyéticas.<sup>10,14</sup> Durante la aféresis, todos los donadores de células de este estudio recibieron gluconato de calcio intravenoso para prevenir los síntomas relacionados con el ACD-A y en ninguno de ellos se observaron efectos secundarios graves relacionados con el anticoagulante. En relación con la utilización de un catéter central, se recurre a un protocolo de seguridad, que incluye el uso de fluoroscopia para guía en la colocación y al mismo grupo de cirujanos que ha acumulado experiencia con nuestros pacientes. Por eso en este proceso no hubo complicaciones.

La cantidad de células hematopoyéticas CD34+ recolectadas se relaciona con algunos factores: edad del donador, exposición previa a radiación o quimioterapia, donadores con médula hipocelular y el método de movilización celular utilizado.<sup>15</sup> Los métodos de movilización celular más frecuentemente aplicados son: administración de un factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y la combinación de quimioterapia con un G-CSF. Éste induce hiperplasia mieloide y liberación de células CD34+ hacia la circulación sanguínea. En donadores para trasplante autólogo la liberación de células CD34+ a la sangre periférica puede ser mayor utilizando quimioterapia combinada con G-CSF en el esquema de movilización.<sup>16</sup> En el grupo de donadores para trasplante autólogo de nuestro estudio utilizamos ambos esquemas de movilización, de acuerdo con la enfermedad de base del paciente. En estos dos grupos se observó que los donadores con enfermedades hematológicas que sólo se movilizaron con G-CSF tuvieron mayor elevación de leucocitos totales antes de la aféresis que los pacientes con diagnóstico de diabetes tipo 1 que se movilizaron con quimioterapia-G-CSF (30.1 K/uL vs 13.0 K/uL); sin embargo, la cuenta de células CD34+ recolectadas fue mayor en el grupo de donadores con diabetes tipo 1 ( $7.6 \times 10^6$  vs  $3.5 \times 10^6$ ). Esto se explica por la exposición previa a la quimioterapia en pacientes con enfermedades hematológicas y por el esquema de movilización utilizado. La cantidad de células CD34+ suficientes para realizar el trasplante se obtuvo en un sólo procedimiento de recolección en 89% de los donadores autólogos y en 79% de los donadores alogénicos. La necesidad de realizar dos procedimientos de aféresis para obtener al menos  $2.0 \times 10^6$  células CD34+ fue más frecuente en el grupo de donadores para trasplante alogénico. Esta diferencia se explica por la distinta superficie corporal entre el donador y el receptor del trasplante.

En conclusión, en donadores pediátricos para trasplante autólogo y alogénico de células hematopoyéticas, los esquemas de movilización y el procedimiento de recolección celular mediante un catéter central colocado con el apoyo de ecografía y fluoroscopia fueron efectivos y seguros. Este procedimiento es útil, de bajo riesgo y muy eficaz, siempre y cuando se siga un protocolo riguroso dirigido a minimizar las complicaciones.

## REFERENCIAS

1. Moog R. Apheresis techniques for collection of peripheral blood progenitor cells. *Transfusion and apheresis science. Journal of the European Society for Haemapheresis* 2004;31:207-220.
2. Ottinger HD, Beelen DW, Scheulen B, Schaefer UW, Grosse-Wilde H. Improved immune reconstitution after allotransplantation of peripheral blood stem cells instead of bone marrow. *Blood* 1996;88:2775-2779.
3. Bensinger WI, Weaver C, Appelbaum F, et al. Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1995;85:1655-1658.
4. Korbiling M, Dörken B, Ho AD, Pezzutto A, Hunstein W, Fliedner TM. Autologous transplantation of blood-derived hemopoietic stem cells after myeloablative therapy in a patient with Burkitt's lymphoma. *Blood* 1986;67:529-532.
5. Korbiling M, Przepiorka D, Huth YO, et al. Allogeneic blood stem cell transplantation for refractory leukemia and lymphoma: potential advantage of blood over marrow allografts [see comments]. *Blood* 1995;85:1659-1665.
6. Hölig K, Blechschmidt M, Kramer M, et al. Peripheral blood stem cell collection in allogeneic donors: impact of venous access. *Transfusion* 2012;52:2600-2605.
7. Kalantari K. The choice of vascular access for therapeutic apheresis. *Journal of Clinical Apheresis* 2012;27:153-159.
8. Sadler DJ, Gordon AC, Klassen J, Saliken JC, So CB, Gray RR. Image-guided central venous catheters for apheresis. *Bone Marrow Transplant* 1999;23:179-182.
9. Hahn U, Goldschmidt H, Salwender H, Haas R, Hunstein W. Large-bore central venous catheters for the collection of peripheral blood stem cells. *J Clin Apher* 1995;10:12-16.
10. Moog R. Peripheral blood stem cell collection in children: Management, techniques and safety. *Transfusion and apheresis science. Journal of the European Society for Haemapheresis* 2010;43:203-205.
11. Galacki, D.M., An overview of therapeutic apheresis in pediatrics. *J Clin Apher* 1997;12:1-3.
12. Rinaldi C, Savignano C, Pasca S, et al. Efficacy and safety of peripheral blood stem cell mobilization and collection: a single-center experience in 190 allogeneic donors. *Transfusion* 2012;52:2387-2394.
13. Baldomero H, Gratwohl M, Tichelli A, et al. The EBMT activity survey 2009: trends over the past 5 years. *Bone Marrow Transplant* 2011;46:485-501.
14. Marson P, Petris MG, De Silvestro G. Collection of peripheral blood stem cells in pediatric patients: a concise review on technical aspects. *Bone Marrow Transplant* 1998 **22** Suppl 5:S7-11.
15. Han X, Ma L, Zhao L, et al. Predictive factors for inadequate stem cell mobilization in Chinese patients with NHL and HL: 14-year experience of a single-center study. *Journal of Clinical Apheresis* 2012;27:64-74.
16. Sung AD, Grima DT, Bernard LM, et al. Outcomes and costs of autologous stem cell mobilization with chemotherapy plus G-CSF vs G-CSF alone. *Bone Marrow Transplantation* 2013;48:1444-1449.

## Leucemia mieloide crónica: curso del embarazo en pacientes con inhibidores de cinasas de tirosina

Osiris Da Costa, Mildred Borrego, María Gil, José López

### RESUMEN

**Antecedentes:** los inhibidores de cinasas de tirosina son el tratamiento de elección en pacientes con leucemia mieloide crónica. Puesto que muchas pacientes con esta enfermedad se encuentran en edad reproductiva se les recomienda el uso de métodos anticonceptivos debido a la teratogenicidad demostrada de imatinib en animales y el desconocimiento del perfil de seguridad de una exposición inadvertida durante la embriogénesis a nilotinib o dasatinib.

**Objetivo:** analizar la evolución del embarazo, parto y las características del hijo de pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica que concibieron de forma planificada o inadvertida mientras eran tratadas con inhibidores de cinasas de tirosina.

**Material y método:** estudio retrospectivo efectuado con base en la información de la evolución del embarazo, parto y características del hijo de pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica que procrearon en forma planificada o inadvertida durante el tratamiento con inhibidores de cinasas de tirosina, que asisten a la consulta del Banco Metropolitano de Sangre de Caracas, Venezuela. Se revisaron todas las historias clínicas de las pacientes tratadas con inhibidores de cinasas de tirosina por diagnóstico de leucemia mieloide crónica y se seleccionaron nueve de ellas que se embarazaron durante o después del tratamiento con inhibidores de cinasas de tirosina.

**Resultados:** de las pacientes embarazadas, seis se encontraban en fase crónica, dos en fase acelerada y una en crisis blástica. Al momento del embarazo tres pacientes se encontraban en respuesta molecular mayor; cinco recibían tratamiento con imatinib, tres con nilotinib y una con dasatinib; sólo dos pacientes habían suspendido el tratamiento con inhibidores de cinasas de tirosina antes de embarazarse (de manera planificada). Todas las pacientes que no se encontraban en fase crónica tuvieron complicaciones que ameritaron hospitalización. Salvo dos gemelos que se perdieron durante el seguimiento del estudio, el resto de los niños permanece en buenas condiciones, sin alteración.

**Conclusiones:** ningún recién nacido resultó con defectos debidos a teratogenicidad. Las pacientes con enfermedad debidamente controlada al momento del embarazo tuvieron buena evolución, pero en las mal controladas la enfermedad progresó en el posparto a crisis blástica, con evolución fatal. Con base en lo señalado no se recomienda el tratamiento con inhibidores de cinasas de tirosina durante la concepción.

**Palabras claves:** leucemia mieloide crónica, respuesta molecular mayor: RMM. Fase Crónica: FC. Fase Acelerada: FA. Crisis blástica: CB. Embarazo.

### ABSTRACT

**Background:** Tyrosine kinase Inhibitors (TKIs), constitute the treatment of choice of the CML, since that they achieve a higher response rate and have improved the life expectancy of this disease. Many female patients, are in reproductive age, in them it is recommended the use of contraceptive methods since to Imatinib demonstrated teratogenicity in animals and to the unknown safety profile of an inadvertent exposure during the embryogenesis to Nilotinib or Dasatinib.

We described the pregnancy evolution, delivery and characteristics of the product of patients with CML diagnosis who have procreated on a planned or inadvertent way during the treatment with TKIs, who assist to consultation in the BMS (Caracas-Venezuela).

All Medical reports of female gender treated with TKIs were reviewed by diagnose of CML in the BMS, and 9 females became pregnant during or after the TKI treatment.

Six patients were in chronic phase, 2 in accelerated phase and 1 in blast crisis. Only 2 patients were in MMR at the moment of pregnancy. Five patients were receiving treatment with Imatinib, 1 with Nilotinib and 1 with Dasatinib. Only 2 patients were suspended the TKI treatment previous to the gestation (planned pregnancy). All patients who were not in CP, presented complications that required hospitalization. Every product has good health except the twins that lost their control visits.

**Discussion and conclusion.** Any product presented congenital malformation. The patients with CML in chronic phase, well controlled with MMR at the pregnancy moment, had then good evolution, but those who were not in MMR, progressed in the postpartum period to blast crisis with fatal outcome. It is not recommended the use of TKIs during the conception period or in embryogenesis phase.

**Key words:** Chronic Myeloid Leukemia: CML. Mayor Molecular Response: MMR. Chronica Phase: CP. Accelerate phase: AP. Blastic Crisis: BC. Pregnancy

Los inhibidores de cinasa de tirosina imatinib, nilotinib y dasatinib se desarrollaron para bloquear la actividad cinasa de la oncoproteína BCR-ABL, que coexiste en pacientes con leucemia mieloide crónica, y que es codificada por la t(9;22), conocida también como cromosoma Ph+. Los inhibidores de cinasa de tirosina son el tratamiento de elección para pacientes con leucemia mieloide crónica porque logran mayor tasa de respuesta e incrementan la expectativa de vida, con buena tolerancia y calidad de vida.<sup>1</sup> En la actualidad, miles de pacientes reciben tratamiento con imatinib y muchos son jóvenes en edad fértil. El beneficio obtenido en la calidad de la vida de estos pacientes les permite continuar su desarrollo físico y social normal, incluida la posibilidad de reproducirse. La leucemia mieloide crónica se diagnostica con más frecuencia en adultos jóvenes de uno y otro sexo y muchas pacientes se encuentran en la edad reproductiva: en ellas se recomienda el uso de métodos anticonceptivos debido a:

1) La teratogenicidad del imatinib demostrada en animales.<sup>2,3</sup> Los ensayos preclínicos con imatinib evidenciaron teratogénesis en ratas y anomalías en la espermatogénesis en otros animales de experimentación; esto condujo a que durante los ensayos posteriores en seres humanos se observara un estricto control de la concepción. La vigilancia efectuada durante los ensayos clínicos no demostró que hubiera espermatogénesis reducida; en pocos casos se observó disminución transitoria, que se recuperó sin intervención médica.

2) Al desconocimiento del perfil de seguridad de una exposición inadvertida durante la embriogénesis a nilotinib o dasatinib. Aunque existen pocos reportes de mujeres que se hayan embarazado en transcurso del tratamiento con inhibidores de cinasas de tirosina.<sup>4</sup>

En el año 2003, una publicación de Hensey y Ford, del Departamento de Investigación Clínica Oncológica de la casa farmacéutica, recopiló 44 embarazos en cerca de 12,000 pacientes con leucemia mieloide crónica o tumores estromales gastrointestinales tratados con imatinib; de ellos 15 casos de parejas de varones en tratamiento.<sup>5</sup>

La publicación de Seonaid señaló mayor tendencia a malformaciones complejas con afectación ósea y del sistema nervioso central, sin constituir un síndrome definido, quizá relacionadas con la inhibición de otros sistemas de la gran familia de las cinasas de tirosina.<sup>6</sup>

La interrupción terapéutica del embarazo, permitida en algunos países frente al riesgo para la madre o de malformación fetal, es una decisión difícil, de carácter individual, en la que intervienen creencias personales y tradiciones culturales, familiares, sociales, religiosas y éticas de gran complejidad.

Las opciones de preservación de la fertilidad pretratamiento son, también, decisiones complejas por la ausencia de aprobación oficial o por la no disponibilidad local para criopreservación en bancos de esperma y de otros medios para preservación de óvulos.

Cualquiera sea la decisión a este respecto, los pacientes, hombres o mujeres, en edad fértil afectados con leucemia mieloide crónica que inician tratamiento con un inhibidor de cinasas de tirosina deben ser advertidos claramente de los riesgos de teratogenicidad y ser instruidos acerca de las medidas anticonceptivas eficaces.

En pacientes que desean embarazarse con el conocimiento del riesgo, se recomienda, en lo posible, que la enfermedad se encuentre en respuesta óptima: respuesta molecular mayor o no detectables al menos por dos años. Puede considerarse la discontinuación del inhibidor de cinasas de tirosina con o sin interferón.<sup>7</sup>

Para los varones en tratamiento, de acuerdo con la fisiología de la espermatogénesis, se recomienda suspender el medicamento 2 a 3 meses antes de la concepción.

Son pocas las series publicadas de pacientes embarazadas en tratamiento con inhibidores de cinasas de tirosina. El objetivo de este estudio fue: analizar la evolución del embarazo, parto y características del recién nacido de pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica que concibieron de forma planificada o inadvertida durante el tratamiento con inhibidores de cinasas de tirosina.

Banco Metropolitano de Sangre, Caracas. Venezuela

Correspondencia: Dra. Osiris Da Costa. osirisdacosta@yahoo.com

Recibido: octubre 2013

Aceptado: noviembre 2013

Este artículo debe citarse como: Da Costa O, Borrego M, Gil M, López J. Leucemia mieloide crónica: curso del embarazo en pacientes con inhibidores de cinasas de tirosina. *Rev Hematol Mex* 2013;14:178-181.

[www.nietoeditores.com.mx](http://www.nietoeditores.com.mx)

## MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo efectuado con base en la información de la evolución del embarazo, parto y características del hijo de 125 pacientes con diagnóstico de leucemia mieloide crónica que procrearon en forma planificada o inadvertida durante el tratamiento con inhibidores de cinasas de tiro-sina, que asisten a la consulta del Banco Metropolitano de Sangre de Caracas, Venezuela.

## RESULTADOS

El 56% (70/125) de las pacientes se encontraba en edad de procrear, de éstas 17.14% (12/70) se embarazaron, 3/10 tuvieron abortos no estudiados (Cuadro 1). Se evaluó el curso clínico del embarazo de nueve pacientes con leuce-mia mieloide crónica tratadas con inhibidores de cinasas de tirosina. La mediana de edad al momento del embarazo fue de 31 años, 6 pacientes se encontraban en fase crónica, 2 en fase acelerada y 1 en crisis blástica. Sólo 3 pacientes se encontraban en respuesta molecular mayor al momento del embarazo. Cinco pacientes estaban recibiendo trata-miento con imatinib, 3 con nilotinib y 1 con dasatinib. Sólo 2 pacientes habían suspendido el tratamiento con inhibidores de cinasas de tirosina antes de emarazarse de manera planificada. Todas las pacientes que no se encon-traban en fase crónica (4) tuvieron complicaciones que ameritaron hospitalización. Sólo uno de los recién nacidos fue pretérmino. Ningún neonato tuvo malformación con-génita, excepto los gemelos perdidos en el seguimiento, el

resto de los niños se encuentra en buenas condiciones, sin alteración y con buen desarrollo; el mayor de ellos tiene ahora 7 años. En la actualidad, dos embarazadas (35 y 36 semanas) cursan sin complicaciones, sus fetos muestran buen desarrollo, sin malformaciones según el reporte de los ultrasonidos tridimensionales.

Las pacientes que no se encontraban en respuesta mole-cular mayor o habían progresado a fase acelerada o crisis blástica al momento del embarazo, evolucionaron de forma tórpida en el puerperio, con desenlace fatal.

## DISCUSIÓN

Las pacientes con leucemia mieloide crónica debidamente controladas, con respuesta molecular mayor al momento del embarazo, evolución de manera satisfactoria, pero no las que se encontraban en respuesta molecular mayor, que en el postparto evolucionaron a crisis blástica, con evolu-ción fatal.<sup>8</sup> Ningún recién nacido tuvo defectos debidos a teratogenicidad, tal como está reportado en la bibliografía.<sup>4</sup>

Los hijos de madres con leucemia mieloide crónica han tenido buena evolución, sin complicaciones, el mayor de ellos tiene ahora siete años de edad.

Es importante ponderar entre los riesgos, los potenciales de teratogenicidad para el feto y los de recaída y progresión para las madres sin control adecuado. No se recomienda la indicación de inhibidores de cinasas de tirosina durante el periodo de la concepción o en la fase de embriogénesis. Si la paciente desea concebir debe llegar a un acuerdo con el médico.<sup>9</sup>

**Cuadro 1.** (Continúa en la siguiente página)

	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4	Paciente 5	Paciente 6	Paciente 7	Paciente 8	Paciente 9
Fecha de diag-nóstico	21/06/1999	30/11/2000	25/02/2000	28/04/2006	26/07/2001	20/05/2003	30/07/2003	03-07-2012	30-04-2003
Edad al emba-razo	30 años	31 años	27 años	34 años	33 años	27 años	31 años	30 años	31 años
FC/FA/CB	FC	CB linfoide	FA	FC	FC	FC	FA T315I positivo	FC	FC
RM al inicio de embarazo	0,01%	13,14%	13%	0,008%	1,28%	Desconocido	1,28%	0,52%	0,0072%
Medicamentos antes o al mo-mento del emba-razo/dosis	Imatinib 600 mg/d	Imatinib 600 mg/d	Dasatinib 140 mg/d	Imatinib 400 mg/d	Imatinib 6 meses antes (embarazo planificado)	Imatinib 12 meses antes del emba-razo	Nilotinib 800 mg/d	Nilotinib 600 mg/d 1era línea	Nilotinib 800 mg 2da línea
Tiempo de expo-sición durante la embriogénesis	7 sem	6 sem	13 sem	4 sem	0	0	5 sem	6 sem	12 sem

Cuadro 1. (Continuación)

	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4	Paciente 5	Paciente 6	Paciente 7	Paciente 8	Paciente 9
Tratamiento durante el embarazo	Ninguno	Vincristina-Prednisona-Purinetol-Metrotexate	Citarabina	Hidroxiurea en el tercer trimestre	Ninguno	Hidroxiurea al tercer trimestre	Hidroxiurea en el 2º trimestre	Ninguno	Ninguno
Complicaciones durante el embarazo	No	Hospitalización por pancitopenia	Hospitalización	No	No	No	Aborto a las 19 semanas	No	No
Cesárea-parto	39 sem/parto normal	Cesárea	Cesárea	Cesárea a las 34 sem por oligoamnios	Cesárea a las 39 semanas	Cesárea	No	Cesárea programada para octubre 2013	Cesárea programada finales de sep
Recién nacido/peso/condiciones	Fem/3750 gr/sano	Fem/3100 gr Sano	Gemelar/femenino 2200 grs y masculino 2100 grs/sanos	Masculino/ 2200 gr/ Sano	Femenino/ 3000 gr/ sano	Femenino/ sano	Feto muerto masculino. Sin malformaciones	Feto masculino, buen desarrollo	Feto femenino. Buen desarrollo
Evolución del producto	7 años/ sano	4 años y 2 meses. Sano	Hasta 2 años sanos, luego perdidos de vista	3 años 3 meses/sano	2 años y 1 mes sana	2 años y 2 meses. Sano	NA	NA	NA
Evolución de la leucemia mieloide aguda	FC en tratamiento con Imatinib/RMM	CB con infiltración del SNC. Fallece a los 4 meses postparto	Progresión a CB y fallece 6 meses postparto	FC en tratamiento con Imatinib/RMM	FC no RM	FC no RM	FA, recibe hidroxiurea actualmente	FC RHC	FC RMM

## REFERENCIAS

- Baccarani M, Cortes J, Panel F, et al. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet: an update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. *J Clin Oncol* 2009;27:604-605.
- Pye S, Cortes J, Ault P, et al. The effects of imatinib on pregnancy outcome. *Blood* 2008;111:5505-5508.
- Ault P, Kantarjian H, O'Brien S. Pregnancy among Patients with Chronic Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol* 2008;24:1204-1208.
- Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi. Pregnancy outcome among patients with chronic myelogenous leukemia treated with tyrosine kinase inhibitors. *J Clin Oncol* 2012;33:6-9.
- Hensley M, Ford JM. Imatinib Treatment: Specific Issues Related to Safety. *Fertility and Pregnancy Semin Hematol* 2003;40(Suppl 2):21-25.
- Seonaid MP, Cortes J, Ault P. The Effects of Imatinib on Pregnancy Outcome. *Blood* 2008;111:5505-5509.
- Baccarani M, Deininger M, Rosti G, Hochhaus A, Soverini S, Apperley J, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia 2013. *Blood* 2013;122:872-884.
- Kuwabara A, Babb A, et al. Poor outcome after reintroduction of imatinib in patients with chronic myeloid leukemia who interrupt therapy on account of pregnancy without having achieved an optimal response. *Blood* 2011;116:1014-1016.
- Pavlovsky C, Giere I, Van Thillo G. Hindawi Publishing Corporation. *Case Reports in Hematology* 2012, Article ID 624590, 4 pag.

## Ingresar a un hospital puede ser un fracaso para algunos pacientes

Guillermo J Ruiz-Argüelles

**S**iempre he considerado que internar a un paciente en el hospital puede ser un fracaso. Durante más de 30 años de practicar la medicina privada me he esforzado para evitar internamientos innecesarios de pacientes con diversos tipos de enfermedades. Con esta idea en mente, nosotros y el grupo de David Gómez-Almaguer en Monterrey, hemos podido demostrar que es posible administrar fuera del hospital: quimioterapia no mieloablativa<sup>1</sup> o mieloablativa,<sup>2,3</sup> hacer trasplantes de células hematopoyéticas autólogas<sup>3-5</sup> y trasplantes de células hematopoyéticas alogénicas.<sup>3,6-8</sup> En estas condiciones, nuestra conducta en relación con las necesidades de internar a los pacientes se limita a admitirlos sólo cuando hay alguna complicación, es decir, cuando hemos sido insuficientes en nuestro intento de mantenerlos fuera del hospital. Por ello, internar a un paciente es una evidencia de las limitaciones de nuestra conducta terapéutica, por lo que internar a un paciente en el hospital pudiera ser la evidencia de un fracaso, como lo señala el título de este ensayo.

Es muy claro que los hospitales son sitios inadecuados para la mayoría de los pacientes. Mantener lejos de los

hospitales a los pacientes con citopenias graves, como frecuentemente ocurre en los tratamientos hematológicos u oncológicos, no sólo es posible sino deseable.<sup>2, 9-10</sup> En los hospitales, los pacientes citopénicos adquieren infecciones más graves y por gérmenes más resistentes que las adquiridas en la comunidad: en consecuencia, su morbilidad y mortalidad son mucho mayores.<sup>2, 9-10</sup> Esto, que parece una verdad de Perogrullo, se ha demostrado no sólo en nuestro país, sino en otros países del mundo desarrollado.<sup>11-13</sup> Además de las complicaciones infecciosas, otras complicaciones como la enfermedad de injerto contra huésped aguda y crónica, son más frecuentes y más graves si los trasplantes alogénicos se llevan a cabo dentro de los hospitales.<sup>9,10</sup> Tener que internar a un paciente trasplantado es admitir el fracaso de nuestra terapéutica extrahospitalaria y, además, es exponerlo a complicaciones nosocomiales mucho más graves.

Sin embargo, en la práctica actual de la medicina, permeada y envenenada por la dicotomía, una de las más grandes vergüenzas de la práctica médica actual y los intereses meramente económicos, las razones injustificadas para internar a los pacientes son cada vez más frecuentes y jamás toman en cuenta su bienestar, sino los intereses económicos de los médicos, de los hospitales, de las compañías aseguradoras, etc. A continuación enumero algunas de las razones discutibles que, con mucha frecuencia, se esgrimen hoy en día para internar pacientes y que yo he podido advertir después de trabajar más de 30 años en la medicina privada:

- a) Si no internas al paciente, la aseguradora no le paga la quimioterapia, aún cuando no sea mieloablativa. *Es lamentable advertir que algunos pacientes son admitidos al hospital varios días sólo para inyectarles dexametasona intravenosa. Es más caro y peligroso administrar quimioterapias dentro de*

---

Director General del Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla.

Correspondencia: Dr. Guillermo Ruiz-Argüelles  
8B Sur 3710  
72530 Puebla, Puebla, México  
gruiz1@clinicaruiz.com

Debe citarse como: Ruiz-Argüelles G. Ingresar a un hospital puede ser un fracaso para algunos pacientes. Rev Hematol Mex 2013;14:182-184.

[www.nietoeditores.com.mx](http://www.nietoeditores.com.mx)

los hospitales.<sup>2,3</sup> Las compañías aseguradoras les pagan a los médicos y a los hospitales la aplicación de quimioterapias, que las más de las veces son administradas por las enfermeras.

- b) Hay que internar al paciente para “estudiarlo”... y exponerlo a complicaciones nosocomiales; con los métodos diagnósticos actuales esto no es una necesidad.
- c) Si no internas suficientes pacientes te voy a tener que subir el costo de la renta de tu consultorio. ¿... será cierto? o... ¿es una leyenda urbana?
- d) En el hospital el paciente está más seguro... más seguro es que adquiera una infección nosocomial.<sup>2,3</sup>
- e) Como ya se construyó en el hospital una “unidad de trasplantes” con aislamiento, presión positiva y flujo laminar, debemos amortizarla y mantener en esas unidades a pacientes por periodos largos. Después de muchos años de trabajo y de haber trasplantado a más de 400 pacientes fuera del hospital, es claro que esas unidades no son estrictamente necesarias para trasplantar células hematopoyéticas autólogas, alogénicas ni haploidénticas.<sup>14,14</sup> Es aún peor advertir cómo en esas unidades se internan pacientes que van a recibir quimioterapias que ni siquiera son mieloablativas, para usarlas, para amortizarlas.
- f) Si interno a varios pacientes en un mismo hospital me será más fácil pasar visita. Cómodo para el médico... ¿y el paciente?

También claro que, además de las razones o complicaciones médicas que obligan a un médico a admitir a un paciente al hospital (empleo de quimioterapia en infusión continua, fiebre neutropénica, mucositis grave, náusea o vómito incoercibles, etc.), existen razones no médicas válidas para internar pacientes: en la medicina social es frecuente tener que admitir pacientes al hospital por la lejanía de su sitio de residencia, por su incapacidad para encontrar alojamiento en la ciudad donde se lleva a cabo el tratamiento, por el nivel socio cultural de quien (es) cuida (n) al paciente, etc.;<sup>3</sup> sin embargo, en la medicina privada este tipo de razones son realmente excepcionales.

Es lamentable advertir que, sobre todo en la práctica de la medicina privada en nuestro país, las razones principales para admitir a los pacientes onco-hematológicos en los hospitales no son médicas y sí tendientes a engorzar el bolsillo de los médicos, hospitales, aseguradoras,

administradores de servicios de salud, etc. Sirvan estas líneas para llamar la atención acerca de los riesgos de otra conducta innecesaria en la que los médicos nos seguimos involucrando.<sup>16</sup>

Admitir a un paciente al hospital puede ser, para algunos, un fracaso médico y económico.

## REFERENCIAS

1. Ruiz-Argüelles GJ, Lobato-Mendizábal E, Delgado-Lamas JL, Gómez-Almaguer D. All trans-retinoic acid decreases early mortality in patients with promyelocytic leukemia and can be given entirely on an outpatient basis. *Am J Hematol* 1999;62:139-143.
2. Ruiz-Argüelles GJ, Apreza-Molina MG, Alemán-Hoey DD, Gómez-Almaguer D, Marín-López A, Mercado-Díaz L. Outpatient supportive therapy after induction to remission therapy in adult acute myelogenous leukaemia (AML) is feasible: A multicentre study. *Eur J Haematol* 1995;54:18-20.
3. Ruiz-Argüelles GJ. Outpatient programs of myeloablative chemotherapy, autologous and allogeneic bone marrow transplantation. *Haematologica* 2000;85:1233-1234.
4. Ruiz-Argüelles GJ, Ruiz-Argüelles A, Pérez-Romano B, Marín-López A, Delgado-Lamas JL. Non-cryopreserved peripheral blood stem cells autotransplants for hematological malignancies can be performed entirely on an outpatient basis. *Am J Hematol* 1998;58:161-164.
5. López-Otero A, Ruiz-Delgado GJ, Ruiz-Argüelles GJ. A simplified method for stem cell autografting in multiple myeloma: A single institution experience. *Bone Marrow Transplant* 2009;44:715-719.
6. Gómez-Almaguer D, Ruiz-Argüelles GJ, Ruiz-Argüelles A, González-Llano O, Cantú OE, Hernández NE. Hematopoietic stem cell allografts using a non-myeloablative conditioning regimen can be safely performed on an outpatient basis. *Bone Marrow Transpl* 2000;25:131-133.
7. Ruiz-Argüelles GJ, Gómez-Almaguer D, Ruiz-Argüelles A, González-Llano O, Cantú OG, Jaime-Pérez JC. Results of an outpatient-based stem cell allotransplant program using non-myeloablative conditioning regimens. *Am J Hematol* 2001;66:241-244.
8. Cantú-Rodríguez OG, Gutiérrez-Aguirre CH, González-Llano O, Mancías-Guerra C, Jaime-Pérez JC, Tarín-Arzaga LC, Ruiz-Delgado GJ, Sandoval-Villa CC, Marfil-Rivera J, Morales-Toquero A, Ruiz-Argüelles GJ, Gómez-Almaguer D. Outpatient allografting using non-myeloablative conditioning: The Mexican experience. *Bone Marrow Transplant* 2007;40:119-123.
9. Cantú-Rodríguez OG, Gutiérrez-Aguirre CH, Jaime-Pérez JC, Treviño-Montemayor OR, Martínez-Cabriales SA, Gómez-Peña A, López-Otero A, Ruiz-Delgado GJ, González-Llano O, Mancías-Guerra MC, Tarín-Arzaga LC, Rodríguez-Romo LN, Ruiz-Argüelles GJ, Gómez-Almaguer D. Low incidence and severity of graft-versus-host disease after outpatient allogeneic peripheral blood stem cell transplantation employing a reduced-intensity conditioning. *Eur J Haematol* 2011;87:521-530.

10. Ruiz-Argüelles GJ, Gómez-Almaguer D.: Editorial: Allografting on outpatient basis can decrease GVHD prevalence and severity. *Hem Onc Today* 2012; Aug. 25:8.
11. Svahn BM, Ringden O, Remberger M. Long-term follow-up of patients treated at home during the pancytopenic phase after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2005;36:511-516.
12. Petersen SL, Madsen HO, Ryder LP, Svejgaard A, Jakobsen BK, Sengelov H, et al. Haematopoietic stem cell transplantation with non-myeloablative conditioning in the outpatient setting: results, complications and admission requirements in a single institution. *Br J Haematol* 2004;125:225-231.
13. Ringden O, Remberger M, Holmberg K, Edeskog C, Wikström M, Eriksson B, Finnbogadottir S, Fransson K, Milovsavljevic R, Omazic B, Svenberg P, Mattsson J, Svahn BM. Many days at home during neutropenia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation correlates with low incidence of acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013 Feb;19(2):314-20.
14. Ruiz-Delgado GJ, Ruiz-Argüelles GJ. A Mexican way to cope with stem cell transplantation. *Hematology* 2012;17(Suppl 1):195-197.
15. González-Llano O, Rodríguez-Romo LN, Mancías-Guerra MD, Tarín-Arzaga L, Jaime-Pérez JC, Herrera-Garza JL, Cantú-Rodríguez OG, Gutiérrez-Aguirre CH, García-Sepúlveda RD, García-Marín AY, Villarreal-Martínez L, Salazar-Riojas MD, Gómez-Almaguer D. Feasibility of an outpatient HLA haploidentical stem cell transplantation program in children using a reduced-intensity conditioning regimen and CD3-CD19 depletion. *Hematology* 2013 Apr 18. [Epub ahead of print]
16. Ruiz-Argüelles GJ. ¿Por qué los médicos seguimos haciendo cosas innecesarias? Algunas reflexiones con sesgo hematológico. *Rev Hematol Méx* 2012;13:43-44.

## Índice de artículos del volumen 14, 2013

- A propósito de bioética y ética médica, 107
- Acerca del uso de las guías internacionales en México, 111
- Aislamientos microbiológicos en pacientes con neutropenia febril. ¿Es apropiado el uso de las guías clínicas internacionales en México?, 113
- Análisis del tratamiento de inducción a la remisión con 7+3+7E o con dosis intermedias de citarabina en pacientes adultos  $\leq$  55 años con leucemia mieloide aguda. Reporte preliminar, 15
- Aspectos históricos de la medicina en Puerto Rico: la contribución del Dr. Bailey K. Ashford, 105
- Aspectos sobresalientes del cinc, con atención especial en la drepanocitosis, 145
- Caracterización molecular de las mutaciones FLT3-ITD en pacientes colombianos con leucemia mieloide aguda, 166
- Correlación entre la edad y la cifra de leucocitos al diagnóstico de leucemia aguda, 9
- Eficacia y seguridad en la recolección de células hematopoyéticas de sangre periférica en donadores pediátricos utilizando un catéter central, 173
- El género como factor pronóstico de supervivencia posttrasplante de células hematopoyéticas totipotenciales autólogas ó alogénicas: Experiencia de una sola institución, 120
- El trasplante de médula ósea, el premio Nobel y la muerte del Dr. Edward Donnall Thomas, 1
- El síndrome de plaquetas pegajosas (SPP), 149
- El trasplante de células hematopoyéticas número un millón marca la historia de la medicina. La cooperación internacional entre médicos recibe el crédito por este logro, 84
- Enfermedad de injerto contra huésped pulmonar crónica posttrasplante de células hematopoyéticas alogénicas. Aspectos diagnósticos y terapéuticos, 138
- Hacer lo correcto, 57
- Influencia del índice de masa corporal en la tasa de supervivencia general de niños con leucemia linfoblástica aguda en un Hospital Universitario del Noreste de México, 124
- Ingresar a un hospital puede ser un fracaso para algunos pacientes, 182
- Inhibición de JAK-2: su empleo en mielofibrosis y leucemias iniciales aprendidas de la experiencia mexicana, 26
- La Odisea en Hematología, 161
- Leucemia mieloide crónica: curso del embarazo en pacientes tratadas con inhibidores de cinasa de tirosina, 178
- Linfoma no Hodgkin con presentación testicular. A propósito de un caso pediátrico, 154
- ¿Magia y arte en la Medicina? A propósito del plasma rico en plaquetas, 109
- Más sobre la lealtad en Medicina, 54
- Monofosfato de fludarabina como primera línea en el tratamiento de los síndromes linfoproliferativos crónicos. Estudio multicéntrico, Uruguay 1997-2012, 21
- Nuestra guerra en contra del cáncer: un enfoque darwinista de nuestro enemigo, 47
- Osteonecrosis mandibular asociada con bisfosfonatos. Tratamiento efectivo en un paciente con mieloma múltiple, 37
- Panorámica de la púrpura trombocitopénica inmunológica en la zona noreste de México. Experiencia en un Centro de Referencia, 131
- Pobreza y salud, 60
- Púrpura trombocitopénica trombótica congénita (síndrome de Upshaw-Schulman). Reporte de caso y revisión de la bibliografía, 91

- Reflexiones personales sobre el síndrome de plaquetas pegajosas, 159
- Reflexiones sobre cómo reflexionar más, 55
- Resolviendo el rompecabezas de la trombopoyetina, 78
- Respuesta exitosa con CHOP en un paciente con enfermedad de Castleman multicéntrica variedad plasmocítica, 96
- Rompiendo otro dogma: Los trasplantes hematopoyéticos pueden hacerse exitosamente en pacientes mayores de 60 años de edad: Experiencia de 20 años en una sola institución, 3
- Timoma asociado con aplasia pura de serie roja en una paciente de 78 años de edad. Informe de un caso, 101
- Trombocitopenia persistente parecida a púrpura trombocitopénica inmune asociada al dengue hemorrágico: informe de tres casos, 86
- Un 23 de febrero en España: dieciocho horas de angustia, 51
- Un caso de urticaria pigmentosa identificado por mutación concordante, con revisión de la bibliografía, 43
- Utilidad del PFA-100 en una población colombiana como método de tamizaje en enfermedad de von Willebrand y trastornos de función plaquetaria, 71
- Veinte años de experiencia en trasplantes de células hematopoyéticas en la Clínica Ruiz de Puebla, México, 63

## Índice de autores del volumen 14, 2013

- Alvarado Yuridia, 154  
Arias-González María Leilanie, 101
- Barrera-Chairez E., 86  
Beñaran Beatriz, 21  
Bolaños-Meade Javier, 113  
Borrego Mildred, 178  
Brignoni Silvia, 21
- Cabrera Antonio, 21  
Calvo Hugo, 21  
Camargo-Guerrero Mauricio, 166  
Cantú-Rodríguez Olga, 173  
Caride Rubén, 21  
Césarman-Maus Gabriela, 149  
Chávez-Martínez Sareni, 101  
Collazo-Jaloma Juan, 9, 47  
Corolla Madia, 154  
Crespo-Solis Erick, 15  
Cruz-Contreras Luis Humberto, 101  
Cuéllar-Ambrossi Francisco, 166  
Cuña Algenor, 21
- Da Costa Osiris, 178  
De-Bellis Roberto, 21  
Díaz-Estrada Ismael, 9  
Domínguez-Cid Mónica, 138
- Fernández-Lara Danitza, 138  
Flores-Parkman-Sevilla Felipe de Jesús, 107  
Fragoso-Flores Jaime, 91
- Galo-Hoker Evelyn, 91  
Garcés-Eisele Javier, 43  
García Villaseñor A., 120  
Geyer Holly L., 26  
Gil María, 178
- Gómez-Almaguer David, 1, 109, 124, 131, 154, 173  
González-Llano Óscar, 173  
González-Leal Xitlaly J., 113  
González-Llano Óscar, 124, 131, 154  
González-Ramírez Mónica, 149  
González Valdés José Alberto, 51  
Gutiérrez-Aguirre César Homero, 173  
Gutiérrez-Díaz Adys, 37
- Hernández-Reyes Jesús, 63  
Herrera-Garza José Luis, 124, 131  
Herrera-Rojas Miguel Ángel, 109
- Iriondo Nilsa, 21  
Izquierdo-Cano Lissete, 37
- Jaime-Pérez José C., 131  
Jaime-Pérez José Carlos, 124  
Jiménez-Mejía Angélica María, 166
- Kraus Arnoldo, 60  
Kubisz Peter, 149, 159  
Kumar-Pandey Sanjay, 145  
Kumari-Chauhan Ugam, 145
- Lombana Milton Alberto, 71  
López Adela, 154  
López José, 178  
López-Razo Olga N., 131  
Luongo Álvaro, 21

- Maldonado Norman, 105  
Marfil-Rivera Luis Javier, 124,131  
Martínez-Colette Carlos, 21  
Martínez-Murillo Carlos, 9  
Martínez-Tovar Adolfo, 47  
Mesa Rubén A., 26  
Milena Torres Ana, 71  
Molina-Gamboa Julio, 113  
Morales-Floranes Roberto, 120  
Muñoz-Fernández Luis, 57  
Muskus Carlos, 166
- Niederwieser Dietger, 84  
Novoa José Ernesto, 21
- Olarte-Carrillo Irma, 47
- Palacios-Boix Alberto, 43, 161  
Pevet Matías, 21  
Ponce de León-Rosales Samuel, 111
- Ramírez Ana C., 154  
Ramírez-Duarte Shelly, 9  
Ramón-Rodríguez Luis G., 37  
Ramos Ramos Gloria, 71  
Ramos-Peñañiel Christian Omar, 9,47  
Razón-Gutiérrez JE., 86
- Recio-Martínez Raquel de los A, 37  
Reyes-Escobedo Alfonso, 124  
Ríos-Solís Josué Emmanuel, 173  
Rivero Marta, 21  
Rojo Ana Luz, 21  
Ron-Guerrero Carlos S, 86,96  
Ron-Magaña Ana Lucía, 86, 96  
Rosas-López Adriana, 15  
Ruiz-Argüelles Guillermo J, 1,3,63,91,120,138,149,182  
Ruiz-Delgado Guillermo J, 3,63,91,138,149
- Salazar-Riojas Rosario, 173  
Salinas-Meritú Isabel, 9  
Santoyo-Sánchez Adrián, 9  
Solberg Jr. Lawrence A., 78
- Tibes Raoul, 26  
Torres José Domingo, 166
- Vargas-Espinosa Jocelyn, 63  
Vásquez-Palacio Gonzalo, 166  
Velázquez-Sánchez-de-Cima Sara, 3,63,120  
Vera-Zertuche Mauricio, 15  
Villa Rosario, 149  
Villela Luis, 113
- Zamora-Ortíz Gabriela, 3,63,120

# Normas para autores

Los manuscritos deben elaborarse siguiendo las recomendaciones del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (N Engl J Med 1997;336:309-15) y se ajustan a las siguientes normas:

1. El texto debe enviarse por correo electrónico a la atención del Editor: [gruiz1@clinaruiz.com](mailto:gruiz1@clinaruiz.com).
2. Las secciones se ordenan de la siguiente manera: autores, descripciones, dirección para envío de correspondencia al editor
3. La extensión máxima de los *originales* será de 15 hojas, de los *casos clínicos* 8 hojas y cuatro figuras o cuadros. Las *revisiones* no excederán 15 hojas.  
Si todos los autores pertenecen a servicios diferentes pero a una misma institución el nombre de ésta se pondrá una sola vez y al final. La identificación de los autores deberá hacerse con números en superíndice.
4. Todo el material gráfico (cuadros, figuras y fotografías) deberá ser de calidad (nitidez y enfoque) para que su reproducción sea excelente. Se recomienda incluir todo tipo de ilustración enseguida de las referencias bibliográficas.
5. Las gráficas, dibujos y otras ilustraciones deben dibujarse profesionalmente o elaborarse con un programa de cómputo y adjuntarlas al mismo archivo del texto.
6. Los cuadros (y no tablas) deberán numerarse con caracteres arábigos. Cada uno deberá tener un título breve; al pie del mismo se incluirán las notas explicativas que aclaren las abreviaturas poco conocidas. No se usarán líneas horizontales o verticales internas. Todos los cuadros deberán citarse en el texto.
7. Tipo de artículos: la revista publica artículos originales en el área de investigación clínica o de laboratorio, editoriales, artículos de revisión, biotecnología, comunicación de casos y cartas al editor. Se reciben artículos en los idiomas español e inglés.
8. Resumen no mayor de 250 palabras, y deberá estar estructurado en antecedentes, material y método, resulta dos y conclusiones. Con esta estructura se deberán enunciar claramente los propósitos, procedimientos básicos, metodología, principales hallazgos (datos concretos y su relevancia estadística), así como las conclusiones más relevantes. Al final del resumen proporcionarán de 3 a 10 palabras o frases clave. Enseguida se incluirá un resumen (abstract) en inglés.
9. Abstract. Es una traducción correcta del resumen al inglés.
10. Texto. Deberá contener antecedentes, material y métodos, resultados y discusión, si se tratara de un artículo experimental o de observación. Otro tipo de artículos, como comunicación de casos, artículos de revisión y editoriales no utilizarán este formato.
  - a) Introducción. Expresé brevemente el propósito del artículo. Resume el fundamento lógico del estudio u observación. Mencione las referencias estrictamente pertinentes, sin hacer una revisión extensa del tema. No incluya datos ni conclusiones del trabajo que está dando a conocer.
  - b) Material y método. Describa claramente la forma de selección de los sujetos observados o que participaron en los experimentos (pacientes o animales de laboratorio, incluidos los testigos). Identifique los métodos, aparatos (nombre y dirección del fabricante entre paréntesis) y procedimientos con detalles suficientes para que otros investigadores puedan reproducir los resultados. Explique brevemente los métodos ya publicados pero que no son bien conocidos, describa los métodos nuevos o sustancialmente

modificados, manifestando las razones por las cuales se usaron y evaluando sus limitaciones. Identifique exactamente todos los medicamentos y productos químicos utilizados, con nombres genéricos, dosis y vías de administración.

- c) Resultados. Preséntelos siguiendo una secuencia lógica. No repita en el texto los datos de los cuadros o figuras; sólo destaque o resume las observaciones importantes.
  - d) Discusión. Insista en los aspectos nuevos e importantes del estudio. No repita pormenores de los datos u otra información ya presentados en las secciones previas. Explique el significado de los resultados y sus limitaciones, incluidas sus consecuencias para la investigación futura. Establezca el nexo de las conclusiones con los objetivos del estudio y absténgase de hacer afirmaciones generales y extraer conclusiones que carezcan de respaldo. Proponga nueva hipótesis cuando haya justificación para ello.
  - e) Referencias. Numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden de aparición en el texto (identifique las referencias en el texto colocando los números en superíndice y sin paréntesis). Cuando la redacción del texto requiera puntuación, la referencia será anotada después de los signos pertinentes. Para referir el nombre de la revista utilizará las abreviaturas que aparecen enlistadas en el número de enero de cada año del Index Medicus. No debe utilizarse el término "comunicación personal". Si se permite, en cambio, la expresión "en prensa" cuando se trata de un texto ya aceptado por alguna revista, pero cuando la información provenga de textos enviados a una revista que no los haya aceptado aún, citarse como "observaciones no publicadas". Se mencionarán todos los autores cuando éstos sean seis o menos, cuando sean más se añadirán las palabras y *col.* (en caso de autores nacionales) o *et al.* (si son extranjeros). Si el artículo referido se encuentra en un suplemento, agregará *Suppl X* entre el volumen y la página inicial. La cita bibliográfica se ordenará de la siguiente forma en caso de revista:  
Torres BG, García RE, Robles DG y col. Complicaciones tardías de la diabetes mellitus de origen pancreático. Rev Gastroenterol Mex 1992;57:226-229.  
Si se trata de libros o monografías se referirá de la siguiente forma: Hernández RF. Manual de anatomía. 2ª ed. México: Méndez Cervantes, 1991;120-129.  
Si se tratara del capítulo de un libro se indicarán el o los autores del capítulo, nombre del mismo, ciudad de la casa editorial, editor del libro, año y páginas.
11. Transmisión de los derechos de autor. Se incluirá con el manuscrito una carta firmada por todos los autores, conteniendo el siguiente párrafo: "El/los abajo firmante/s transfieren todos los derechos de autor a la revista, que será propietaria de todo el material remitido para publicación". Esta cesión tendrá validez sólo en el caso de que el trabajo sea publicado por la revista. No se podrá reproducir ningún material publicado en la revista sin autorización.

**Revista de Hematología** se reserva el derecho de realizar cambios o introducir modificaciones en el estudio en aras de una mejor comprensión del mismo, sin que ello derive en un cambio de su contenido. Los artículos y toda correspondencia relacionada con esta publicación pueden dirigirse al e-mail: [gruiz1@clinaruiz.com](mailto:gruiz1@clinaruiz.com)

# Author requirements

Manuscripts should be made following recommendations of the International Committee of Medical Journal Editors (N Engl J Med 1997;336:309-15) and adjusted to the following guidelines:

1. The document printed in letter size (21 × 27 cm) sheets must be delivered, using double-spacing, along with its with corresponding computer disk data and indicating the article's title on the label, leading author's name and computer program with version. (e.g., Estrogen and climaterium. Guillermo Martínez. Word 6.0).  
Sections are ordered in the following form: page title, structured abstract, summary, introduction, materials and methods, results, discussion, references, tables and captions.
3. The maximum extension of originals will be 15 pages, for clinical cases 8 pages, and four for figures or tables. Reviews will not exceed 15 pages.  
The first page will contain the full title of the article, not exceeding 85 characters, the names of the authors, services or departments and institution(s) they belong to and the leading author's address. If all the authors belong to different services of the same institution, their name will be mentioned only once at the end. Authors identification should be done superscript Arabic numbers.
4. For identification, each page of the article should have, on the upper left corner, the initial of the name and last name of the leading author, and on the upper right corner, the consecutive page number.
5. All graphic material should be sent in slides, black-and-white, sharp and clearly defined. In the slide frame write in ink the code word to identify the article, the figure number, last name of the leading author and with an arrow the top part of the figure will be marked. If the slide includes material formerly published, it should come with the written authorization of the copyright holder.
6. Graphs, drawings and other illustrations should be professionally drawn or made by computer and attached in the same disk the text writing is, on the label written the program used.
7. Tables (and non-charts) should be numbered with Arabic numbers. Each should have a brief title; the footnotes will include explanatory notes to clarify abbreviations poorly known. Do not use horizontal or vertical inner lines. All tables should be quoted in the text.
8. Type of articles: the journal publishes original articles in the area of clinical or laboratory research, editorials, review articles, biotechnology, case communications and letters to the editor. Articles are received in Spanish and English languages.
9. Summary. The second page will include a summary, no longer than 250 words and will be structured in background, materials and methods, results and conclusions. Following this structure, purposes, basic proceedings, methodology, main outcomes (hard data and statistical significance), and most relevant conclusions. At the end of the summary there will be 3 to 10 keywords or sentences. Following this, an abstract written in English will be provided.
10. Abstract. This is the right translation of the summary to English.
11. Text. Text should contain introduction, materials and methods, results and discussion, if this is an experimental or observational article. Other articles, like case communications, review articles and editorials will not use this format.
  - a) Introduction. Briefly express the purpose of the article. Summarize the logic grounds of the study or observation. Quote only strictly pertinent references, without making a extensive review of the topic. Do not include data or conclusions of the job you are making known.

- b) Materials and methods. Describe clearly in the selection the way you selected the observed subjects or those who participated in the experiments (patients or laboratory animals, including controls) Identify methods, devices (name and address of the manufacturer in parentheses) and detailed procedures for others to reproduce the results. Briefly explain formerly published methods which are not widely known, describe new or substantially modified methods manifesting the reasons why you used them and assessing their limitations. Identify every single medication and chemical product used, with generic name, dose and route of administration.
  - c) Results. Present them following in a logical sequence. Do not repeat data from tables or figures within the text; just emphasize or summarize the pertinent observations.
  - d) Discussion. Emphasize new and important aspects of the study. Do not repeat details in the data or other information previously mentioned in other sections. Explain the meaning of the results and their limitations, including their consequences for future research. Establish the connection of the conclusions with the study objectives and refrain from making general statements and making conclusions without support. Suggest a new hypothesis when it is justified.
  - e) References. Number the references consecutively following the appearance order in the text (identify the references within the text with superscript numbers without parentheses). When the text needs punctuation, the reference will be annotated after the pertinent signs. To refer the name of a journal use abbreviations listed every year in the January number of the Index Medicus. The term "personal communication" should not be used. On the other hand it is allowed to use the expression "in press" when it refers to an already accepted text by some journal, but when the information comes from texts sent to a journal which has not accepted it yet, it should be referred to as "non-published observations". All authors should be mentioned when there are six or less, when there are more, add the words and cols. (in the case of national authors) or et al. (if foreigners). If the cited article is located in a supplement add suppl X between the volume and the initial page.
- In the case of a journal, bibliographic citations will be ordered in this way:  
Torres BG, García RE, Robles DG et al. Late complications of diabetes mellitus of pancreatic origin. *Rev Gastroenterol Mex* 1992; 57:226-228  
In the case of books or monographs, reference will be:  
Hernández RF. *Anatomy manual*. 2nd edition. Mexico: Méndez Cervantes, 1991; 120-129.
- In the case of a book chapter, indicate the author(s) in the chapter, the name of the chapter, city of the publishing house, the book's editor year and pages.
12. Transfer-of-copyright. Along with the manuscript, deliver a letter signed by all the authors, with the following paragraph: "The undersigned author(s) transfer all copyrights to the journal, which will be the holder of all submitted material for publication". This transfer will be valid only in the case that the journal publishes the paper. No material can be reproduced without the journal's authorization.
  13. We recommend to include citations from Mexican or Latin American authors in the bibliographic references.

**Hematología** reserves the right to make changes or include modifications in the study in order of better understanding of such, without modifying its content. Articles and all mailing relating with this publication should be addressed to the following e-mail: [gruiz1@clinicaruiz.com](mailto:gruiz1@clinicaruiz.com)